

CONTROL DE CALIDAD DE MICOLOGÍA (M-1/12)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única levadura que fue identificada por el laboratorio de referencia como *Candida albicans*. La historia clínica correspondía a una paciente de 21 años de edad, sin antecedentes patológicos de interés, que acudía a su ginecólogo por presentar, desde hacía una semana, un cuadro de prurito vulvar de intensidad creciente, acompañado de aumento de la cantidad y consistencia del exudado vaginal. A la exploración, se observaba un importante eritema vulvar, junto a un exudado espeso y blanquecino. Como datos de interés, la paciente había tenido reiteradamente episodios similares, negaba relaciones sexuales en el último mes y tan sólo relataba la toma durante 7 días de amoxicilina-clavulanato por un cuadro de faringoamigdalitis, que había finalizado poco antes del inicio del cuadro actual. Se tomó una muestra de exudado vaginal que fue remitida al Servicio de Microbiología para estudio micológico, aislándose a las 48 h el hongo levaduriforme que fue objeto del presente control.

Se solicitó a los laboratorios participantes la **identificación** del hongo implicado en este cuadro clínico, el **estudio de sensibilidad** si procedía, así como que formularan los **comentarios** que consideraran oportunos.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN MICOLÓGICA

La cepa problema fue enviada a 226 laboratorios participantes, de los que 210 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables. El porcentaje de participación fue del 92,9%, muy similar al del control M-1/11 (91,8%) en el que se remitió una cepa de *Candida parapsilosis*.

Como se puede observar en la tabla 1, la gran mayoría de los participantes identificaron correctamente la especie (94,3%). Las otras especies identificadas fueron *Candida tropicalis* (en 6 ocasiones), *Candida dubliniensis* (en 5 ocasiones), mientras que un centro informó *Trichosporon mucoides*. El Programa de Control de Calidad sólo consideró válida la identificación de especie *C. albicans*, informada por el laboratorio de referencia, el cual realizó una batería bioquímica comercial (Auxacolor, Bio-Rad), y posterior secuenciación.

Tabla 1. Resultados de la identificación micológica.

Identificación	Número	%
<i>Candida albicans</i>	198	94,3
<i>Candida tropicalis</i>	6	2,9
<i>Candida dubliniensis</i>	5	2,4
<i>Trichosporon mucoides</i>	1	0,4
Total	210	100,0

Por lo que respecta a los métodos empleados en la identificación, las galerías comerciales de pruebas bioquímicas (API, Vitek, etc.), fueron la técnica mayoritariamente utilizada por los participantes (157 centros, 74,8%), seguida del cultivo en medios cromogénicos (68 laboratorios, 32,4%). Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 2.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Métodos	Número	%
Pruebas bioquímicas	108	51,4
Cultivo cromogénico	30	14,3
Cultivo cromogénico + Pruebas bioquímicas	22	10,5
Espectrometría de masas	7	3,3
Pruebas bioquímicas + Test de filamentación	7	3,3
Test de filamentación	5	2,4
Cultivo cromogénico + Pruebas bioquímicas + Test de filamentación	4	1,9
Manual	4	1,9
Cultivo cromogénico + Pruebas bioquímicas + Incubación a 42-45°C	3	1,4
Espectrometría de masas + Pruebas bioquímicas	3	1,4
Espectrometría de masas + Cultivo cromogénico	2	0,9
Pruebas bioquímicas + Incubación 42-45°C + Test de filamentación	2	0,9
Pruebas bioquímicas + Secuenciación	2	0,9
Características morfológicas + Técnicas moleculares	1	0,5
Cultivo + Microscopía	1	0,5
Cultivo cromogénico + Incubación a 42-45°C	1	0,5
Cultivo cromogénico + Pruebas bioquímicas + Incubación a 42-45°C + PCR	1	0,5
Cultivo cromogénico + Pruebas bioquímicas + Incuba. a 42-45°C + T. filamentación	1	0,5
Cultivo cromogénico + Test de filamentación	1	0,5
Cultivo cromogénico + Incubación a 42-45°C + Test de filamentación	1	0,5
Cultivo cromogénico + Pruebas bioquímicas + Secuenciación	1	0,5
Espectrometría de masas + Cultivo cromogénico + Pruebas bioquímicas	1	0,5
Pruebas bioquímicas + Incubación 42-45°C	1	0,5
Pruebas bioquímicas + Sondas de ADN	1	0,5
Total	210	100,0

La tabla 3 resume las marcas y sistemas comerciales empleados para la identificación bioquímica y la espectrometría de masas. Las galerías bioquímicas API® de bioMérieux fueron, en conjunto, el sistema mayoritariamente empleado (72 centros, el 42,3%), con un porcentaje de acierto en conjunto del 86,5% (5 de los 33 centros que emplearon API 20C AUX® informaron erróneamente *C. tropicalis*). Le siguió en frecuencia el sistema Vitek® de bioMérieux, usado por un 38,2% de los participantes, obteniéndose con él un índice de aciertos del 98,5%. Otros sistemas menos utilizados fueron: el Maldi-Tof® (informado por un 7,6% de los participantes), el Auxacolor® de Bio-Rad (informado por el 4,1% de los participantes) y el Microscan® (usado por el 2,4% de los centros), todos ellos con un 100% de aciertos. Respecto a la galería Rapid Yeast Plus® de Remel sólo fue usada por dos centros, mientras que los sistemas Candifast® de Oxoid y el Phoenix Yeast ID se emplearon por un único centro.

Tabla 3. Sistemas comerciales de pruebas bioquímicas.

Método comercial	Número (%)	Acierto (%)
Galerías API (bioMérieux)		
API 20 C AUX	33 (19,4)	27 (81,8)
API ID 32 C	30 (17,6)	28 (93,4)
API no especificado	9 (5,3)	9 (100,0)
Vitek (bioMérieux)	65 (38,2)	64 (98,5)
Maldi-Tof	13 (7,6)	13 (100,0)
Auxacolor (BioRad)	7 (4,1)	7 (100,0)
Microscan (Siemens)	4 (2,4)	4 (100,0)
Rapid Yeast Plus (Remel)	2 (1,2)	2 (100,0)
bioMérieux*	1 (0,6)	0 (0,0)
Candifast (Oxoid)	1 (0,6)	1 (100,0)
Phoenix Yeast ID	1 (0,6)	1 (100,0)
No informan	4 (2,4)	4 (100,0)
Total	170 (100,0)	160 (94,1)

*No especifica si es API o Vitek.

Hay que destacar que 10 participantes mencionan explícitamente el haber empleado la incubación a 42-45°C como método para diferenciar *C. albicans* (capaz de crecer a estas temperaturas) de *C. dubliniensis* (que no crece a 42°C). De estos 10 centros, 5 informaron correctamente *C. albicans* (50,0%) y los 5 restantes *C. dubliniensis*. Dos de los cinco centros que respondieron *C. dubliniensis* comentaron que mediante el sistema comercial de identificación de levaduras obtuvieron *C. albicans*, pero que informaron *C. dubliniensis* debido al escaso crecimiento de la colonia incubada a 42-45°C.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFÚNGICOS

De los 210 centros que remitieron hoja de respuesta, 137 (65,2%) realizaron estudio de sensibilidad. Este porcentaje es más bajo que otros controles en que se remitió también una levadura debido probablemente (como comentan algunos centros explícitamente) a que consideraban que el antifungigrama no estaba indicado en el caso clínico presentado, ya que se trataba de una cepa de *C. albicans* aislada en un exudado vaginal de una paciente inmunocompetente que, en principio, no había recibido tratamiento antifúngico previo.

La tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante microdilución en caldo, utilizada por el 64,2% de los participantes y, de forma exclusiva, por el 62,8% de los mismos. El estudio de la CMI mediante E-test® fue utilizado por 22 centros (16,1%), 20 de ellos (14,6%) como única técnica. Por último, el método de concentraciones críticas y el del disco placa fue empleado cada uno por el 10,2% de los participantes que realizaron antifungigrama (tabla 4).

Tabla 4. Métodos empleados en el antifungigrama.

Método	Número	%
CMI ^a	86	62,8
E-test®	20	14,6
Concentraciones críticas	14	10,2
Disco-placa	12	8,8
CMI ^a + disco-placa	1	0,7
CMI ^a + E-test®	1	0,7
Disco-placa + E-test®	1	0,7
No especificado	2	1,5
Total	137	100,0

^aCMI por microdilución en caldo.

Respecto a las marcas empleadas para realizar las CMIs o las concentraciones críticas, el sistema comercial más utilizado fue el Sensititre® (50,0%), seguido del Vitek® (35,3%) y ATB-Fungus® (6,9%), ambos de bioMérieux, y del Fungitest® de Bio-Rad (5,8%). En una ocasión no se especificó la marca comercial empleada, debido a que se remitió la cepa a un centro de referencia para realizar el estudio de sensibilidad (tabla 5).

Tabla 5. Marcas empleadas en el antifungigrama para CMI o concentración crítica.

Marca	Número	%
Sensititre® (Izasa)	51	50,0
Vitek® (bioMérieux)	36	35,3
ATB-Fungus® (bioMérieux)	7	6,9
Fungitest® (Bio-Rad)	6	5,8
Candifast® (Oxoid)	1	1,0
No especifican	1	1,0
Total	102	100,0

El laboratorio de referencia empleó el método de dilución en caldo de Sensititre® para la determinación de la CMI, basándose para su interpretación en los criterios del *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) para el género *Candida* recogidos en el documento M-27A2 y en datos referidos en la bibliografía y en la experiencia. Los resultados obtenidos por el centro que actuó como laboratorio de referencia se especifican en la tabla 6. La lista se incluye como término de comparación para los participantes, sin que suponga una recomendación de uso en el tratamiento de las infecciones por este hongo.

Tabla 6. Sensibilidad de la cepa según el laboratorio de referencia.

Antifúngico	CMI ^a	Interpretación ^b
5-Fluorocitosina	0,125	S
Anfotericina B	0,5	S
Anidulafungina	0,03	S
Caspofungina	0,125	S
Fluconazol	1	S
Itraconazol	0,125	S
Micafungina	0,015	S
Posaconazol	0,06	S
Voriconazol	0,015	S

^aCMI expresada en µg/ml. ^bS: Sensible.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

La tabla 7 resume los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad a los antifúngicos. En total, se recibieron resultados correspondientes a 16 antifúngicos diferentes, aunque sólo se detallan los que fueron referidos por 15 ó más participantes que, en este caso, coinciden con los aportados por el laboratorio de referencia.

Tabla 7. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antifúngicos.

Antifúngico	Número	Interpretación ^a				
		Sensible	Intermedio	Resistente	SDD ^b	No interpreta
Fluconazol	132	127 (96,2)	0	5 (3,8)	0	0
Anfotericina B	98	91 (92,9)	1 (1,0)	0	0	6 (6,1)
Voriconazol	96	91 (94,8)	0	5 (5,2)	0	0
5-fluorocitosina	84	82 (97,6)	0	0	0	2 (2,4)
Caspofungina	73	71 (97,3)	0	0	0	2 (2,7)
Itraconazol	66	53 (80,4)	3 (4,5)	4 (6,1)	3 (4,5)	3 (4,5)
Anidulafungina	42	41 (97,6)	0	0	0	1 (2,4)
Posaconazol	41	33 (80,5)	0	1 (2,4)	0	7 (17,1)
Micafungina	40	39 (97,5)	0	0	0	1 (2,5)
Ketoconazol	20	19 (95,0)	0	0	0	1 (5,0)
Miconazol	16	12 (75,0)	3 (18,8)	1 (6,2)	0	0

^aLos números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antifúngico.

^bSDD: Sensible Dependiente de la Dosis.

Como se observa en la tabla 7, la interpretación de los resultados obtenidos con los distintos antifúngicos, en comparación con los aportados por el laboratorio de referencia, muestra unos porcentajes de concordancia que oscilan entre el 80,5% y el 97,6%. Algunos laboratorios no interpretaron los resultados cuantitativos obtenidos, ya que no existen puntos de corte establecidos para algunos de los antifúngicos estudiados.

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Por lo que respecta a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la identificación de la cepa o para el estudio de la sensibilidad, se obtuvieron los siguiente datos: 204 (97,1%) centros comentan no utilizarlo, 1 (0,5%) afirma haberlo usado, y 4 lo utilizaron parcialmente (1,9%). Por último, sólo hubo 1 centro que no aportó este dato (0,5%).

COMENTARIOS

La mayoría de comentarios se referían a recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con clotrimazol tópico o fluconazol oral (19 centros). Algunos laboratorios (13) afirmaban que no estaba indicado realizar el estudio de sensibilidad a la cepa, mientras que otros centros (3) únicamente informarían la sensibilidad al fluconazol.

Cuatro centros comentaron que la cepa no crecía, o bien lo hacía de forma deficiente, a 42-45°C, de los cuales dos informaron *C. dubliniensis*.

Tres centros mencionaron que la paciente había desarrollado una vulvovaginitis candidiásica secundaria al tratamiento antibiótico. Tres centros comentaron erróneamente que la cepa era resistente a los azoles. Por último, tres centros especificaron que habían aplicado los puntos de corte sugeridos por el CLSI y/o EUCAST, y que todavía no había puntos de corte aprobados para algunos antifúngicos.