

CONTROL DE CALIDAD DE MICOLOGÍA (M-2/14)

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 tropicalis*, mediante el sistema comercial Vitek 2 (bioMérieux). La historia clínica correspondía a una paciente de 47 años de edad sometida a un segundo ciclo de quimioterapia, que acudía a urgencias de su hospital por haber presentado fiebre de 38,2°C. La paciente relataba que, desde hacía unos días, presentaba una intensa astenia, anorexia y malestar general, sin constatarse síntomas respiratorios ni digestivos. En la palpación abdominal, no se objetivaban masas ni megalias, ni defensa abdominal y la auscultación pulmonar mostraba un murmullo vesicular normal. El análisis de sangre mostraba una importante neutropenia. La paciente ingresó a cargo del Servicio de Oncología y, tras la extracción de los hemocultivos, se le pautó tratamiento antibiótico empírico para cubrir bacterias grampositivas y gramnegativas. Sin embargo, la fiebre persistía. A las 48 horas de incubación se aisló en el hemocultivo el hongo que es objeto de este control.

Se solicitó a los laboratorios participantes la **identificación** del hongo implicado en este cuadro clínico, la realización del **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 212 laboratorios participantes, de los que 201 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 94,8%, similar al control M-2/13, en el cual se remitió una cepa de *Candida parapsilosis* (93,3% de participación).

La gran mayoría de los participantes identificaron correctamente la especie como *C. tropicalis* (95,5%), mientras que 3 laboratorios (1,5%) informaron únicamente el género y otros dos respondieron *Candida albicans*. El resto de identificaciones se detallan en la tabla 1. El Programa de Control de Calidad SEIMC sólo consideró válida la identificación de especie *C. tropicalis*, informada por el laboratorio de referencia.

Tabla 1. Resultados de la identificación micológica.

Identificación	Número	%
<i>Candida tropicalis</i>	192	95,5
Género <i>Candida</i>	3	1,5
<i>Candida albicans</i>	2	1,0
<i>Candida dubliniensis</i>	1	0,5
<i>Candida glabrata</i>	1	0,5
<i>Candida lusitanae</i>	1	0,5
<i>Candida no albicans</i>	1	0,5
Total	201	100,0

Por lo que respecta a los métodos empleados en la identificación, las galerías de pruebas bioquímicas, principalmente comerciales (API, Vitek, etc.), fueron las técnicas mayoritariamente utilizadas por los participantes (146 centros, 72,6%), de los que 124 (61,7%) lo hicieron de forma única. La espectrometría de masas fue empleada por 45 laboratorios (22,4%), de los que 36 (17,9%) informaron exclusivamente este método. Por último, el cultivo en medio cromogénico fue informado por 31 participantes (15,5%), aunque sólo en nueve casos (4,5%) fue el único método empleado. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 2.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Métodos	Número	%
Pruebas bioquímicas	124	61,7
Espectrometría de masas	36	17,9
Cultivo cromogénico + pruebas bioquímicas	17	8,4
Cultivo cromogénico	9	4,5
Espectrometría de masas + cultivo cromogénico	5	2,5
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas	4	2,0
Características morfológicas + técnicas moleculares	1	0,5
Crecimiento en agar Sabouraud	1	0,5
Cultivo + pruebas bioquímicas	1	0,5
Manual	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
No informa	1	0,5
Total	201	100,0

La tabla 3 resume las marcas y sistemas comerciales empleados para la identificación bioquímica. La tarjeta de Vitek® de bioMérieux fue el sistema mayoritariamente utilizado (67 centros, el 45,9% de los centros que emplearon pruebas bioquímicas), obteniéndose un excelente índice de aciertos (100,0%).

Le siguen las distintas galerías bioquímicas API® de bioMérieux (58 centros, el 39,7% de los centros que emplearon pruebas bioquímicas). Los porcentajes de acierto de las galerías API ID 32 C® y API *Candida*® fueron también del 100,0%, sin embargo, en el caso del API 20 C AUX® este porcentaje fue del 91,7%. Así, de los 36 centros que utilizaron esta galería, hubo tres identificaciones discordantes: un centro que respondió *Candida dubliniensis*, otro que respondió *Candida lusitanae*, mientras que hubo un centro que informó únicamente el género.

Otros sistemas menos utilizados fueron: la galería Auxacolor® de Bio-Rad (informada por el 7,5% de los participantes con el 90,9% de aciertos, ya que uno de los once centros que la emplearon informó *C. albicans*) y el sistema Microscan® (usado por el 3,4% de los centros con un 100,0% de aciertos).

Respecto a la galería Rapid Yeast Plus® de Remel, fue empleada por únicamente dos centros, por lo que no es posible obtener conclusiones sobre su eficiencia real para la identificación de esta cepa. Uno de estos dos centros informó únicamente el género.

Tabla 3. Sistemas comerciales de pruebas bioquímicas.

Método comercial	Número (%)	Acierto (%)
Vitek (bioMérieux)	67 (45,9)	67 (100,0)
Galerías API (bioMérieux)		
API 20 C AUX	36 (24,7)	33 (91,7)
API ID 32 C	17 (11,7)	17 (96,6)
API <i>Candida</i>	3 (2,0)	3 (100,0)
API no especificado	2 (1,4)	2 (100,0)
Auxacolor (BioRad)	11 (7,5)	10 (90,9)
Microscan (Siemens)	5 (3,4)	5 (100,0)
bioMérieux ^a	3 (2,0)	3 (100,0)
Rapid Yeast Plus (Remel)	2 (1,4)	1 (50,0)
Total	146 (100,0)	141 (96,6)

^aNo especifican si API o Vitek.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFÚNGICOS

De los 201 centros que remitieron respuesta, 163 (81,1%) realizaron estudio de sensibilidad. Algunos de los 38 laboratorios que no realizaron antifungigrama indicaron que remitirían la cepa a su centro de referencia. La tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante microdilución en caldo, utilizada por el 73,0% de los participantes que realizaron antifungigrama y, de forma exclusiva, por el 70,6% de los mismos. En segundo lugar, destaca la determinación de la CMI mediante el E-test®, que fue realizado por el 17,8% de los centros, de los cuales un 13,5% fue la única técnica empleada. Por último, el método de concentraciones críticas fue empleado por el 7,4% de los participantes, mientras que el método de disco-placa se informó únicamente por el 4,9% de los centros que realizaron antifungigrama (tabla 4).

Tabla 4. Métodos empleados en el antifungigrama.

Método	Número	%
CMI ^a	115	70,6
E-test®	22	13,5
Concentraciones críticas	11	6,8
Disco-placa	6	3,7
CMI ^a + E-test®	4	2,4
Disco-placa + E-test®	2	1,2
Concentraciones críticas + E-test®	1	0,6
No especificado	2	1,2
Total	163	100,0

^aCMI por microdilución en caldo.

Respecto a las marcas empleadas para realizar las CMI o las concentraciones críticas, el sistema comercial más utilizado fue el Sensititre® (48,9%), seguido del Vitek® AST–YS07 (39,7%) y del ATB-Fungus® (6,9%), ambos de bioMérieux. En dos ocasiones no se especificó la marca comercial empleada (tabla 5).

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

Marca	Número	%
Sensititre® (Izasa)	64	48,9
Vitek® YS07 (bioMérieux)	52	39,7
ATB-Fungus® (bioMérieux)	9	6,9
Fungitest® (Bio-Rad)	3	2,3
Microscan®	1	0,7

No especifican	2	1,5
Total	131	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 recogidos en el documento M27-S4 del *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) para *C. tropicalis* y para los siguientes antifúngicos: anidulafungina, caspofungina, micafungina, fluconazol y voriconazol. Respecto a la anfotericina B, el centro de referencia no interpretó los resultados debido a la ausencia de criterios CLSI. Si bien, de acuerdo a criterios EUCAST, la CMI obtenida para la anfotericina B se interpretaría como sensible.

Los resultados obtenidos por el centro que actuó 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
Anfotericina B	0,5	NI
Anidulafungina	0,03	S
Caspofungina	0,015	S
Micafungina	0,03	S
Fluconazol	1	S
Voriconazol	0,06	S

^aCMI expresada en µg/mL. ^bS: Sensible; R: Resistente; NI: No Interpretado.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

En este control, se volvió a solicitar a los participantes que informasen los puntos de corte que utilizaron para la interpretación del antifungigrama. De los 163 laboratorios que lo realizaron, 103 (63,2%) emplearon los criterios del CLSI, otros 48 (29,5%) los del EUCAST y 6 centros (3,7%) según la bibliografía. Hubo 2 participantes (1,2%) que enviaron la cepa a un centro de referencia para fungigrama y desconocían este aspecto, mientras que un centro (0,6%) comentó explícitamente que había utilizado los criterios CLSI para algunos antifúngicos y los del EUCAST para otros, y otro (0,6%) utilizó los puntos de corte recomendados por su sistema comercial (Fungitest). Por último, dos centros (1,2%) enviaron la hoja de respuesta de forma manual y no aportaron información al respecto (tabla 7).

Tabla 7. Criterios seguidos para la interpretación de los resultados.

Marca	Número	%
CLSI	103	63,2
EUCAST	48	29,5
Bibliografía	6	3,7
Desconocido (antifungigrama realizado en centro referencia)	2	1,2
CLSI y EUCAST	1	0,6
Según interpretación del sistema comercial	1	0,6
No informan (respuestas manuales)	2	1,2
Total	163	100,0

La tabla 8 resume los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad a los antifúngicos. En total, se recibieron resultados correspondientes a 13 antifúngicos diferentes, aunque sólo se detallan los que fueron referidos por 15 o más participantes.

Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antifúngicos.

Antifúngico	Número	Interpretación ^a					
		Sensible	SDD ^b	Intermedio	Resistente	No interpreta	
Fluconazol	161	139 (86,3)	1 (0,6)	3 (1,9)	18 (11,2)	0	
Anfotericina B	150	141 (94,0)	0	1 (0,7)	2 (1,3)	6 (4,0)	
Voriconazol	144	133 (92,3)	0	0	11 (7,7)	0	
Caspofungina	131	122 (93,1)	0	1 (0,8)	1 (0,8)	7 (5,3)	
Micafungina	108	97 (89,8)	0	0	3 (2,8)	8 (7,4)	
5-fluorocitosina	101	97 (96,0)	0	0	0	4 (4,0)	
Anidulafungina	74	64 (86,5)	0	1 (1,4)	9 (12,1)	0	
Itraconazol	71	40 (56,3)	8 (11,3)	9 (12,7)	11 (15,5)	3 (4,2)	
Posaconazol	56	39 (69,6)	0	1 (1,8)	10 (17,9)	6 (10,7)	

^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 8, 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 aceptables, aunque bajos para algunos de los azoles. Al igual que el laboratorio de referencia, unos pocos participantes no interpretaron alguna de las CMI obtenidas debido a la ausencia de puntos de corte establecidos. Respecto a los azoles y las equinocandinas, algunos centros que los informaron como resistentes, comentaron explícitamente que la cepa presentaba un importante efecto *trailing* (arrastre) en el panel de microdilución, lo que podría estar en relación con estos resultados.

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: 188 (93,5%) centros comentan no utilizarlo, 4 (2,0%) afirman haberlo usado y 8 lo utilizaron parcialmente (4,0%). Por último, un centro (0,5%) que envió la hoja de respuesta de forma manual, no informó de esta premisa.

COMENTARIOS

La mayoría de comentarios se referían a recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con fluconazol hasta 6 semanas después del último hemocultivo positivo. Algunos centros aconsejaban además la retirada del catéter y la administración de factores de crecimiento de neutrófilos (G-CSF).

Algunos participantes comentaron que la cepa presentaba un importante efecto *trailing*, en la placa de Sensititre, para todos los azoles y las equinocandinas. Otros centros especificaron en sus comentarios los puntos de corte utilizados para unos determinados antifúngicos y su interpretación, o bien, comentaron que no existían puntos de corte para determinados antifúngicos.

Por último, otros centros manifestaron que no realizan antibiograma para levaduras o que, en caso de una muestra clínica, enviarían la cepa a un centro de referencia.