

CONTROL DE CALIDAD DE MICOLOGÍA (M-1/05)

En el presente control se envió a los participantes un producto liofilizado con una única cepa identificada por el laboratorio de referencia como *Candida krusei*. Se acompañaba de la historia clínica de una paciente de 50 años de edad, portadora de un catéter para la administración de quimioterapia desde hacía mes y medio, que acudió a urgencias médicas por presentar en las últimas 24 h, fiebre de 39°C, escalofríos y rápido empeoramiento de su estado general. Se recogieron hemocultivos, que fueron remitidos al laboratorio de Microbiología y se decidió el ingreso de la paciente en la sala de Oncología, donde se procedió a la retirada del catéter y se pautó tratamiento con antibióticos de amplio espectro y fluconazol, sin que se produjera mejoría clínica evidente. A las 48 h de incubación, creció a partir de las muestras de hemocultivos el hongo objeto del control.

Se solicitó a los laboratorios participantes la **identificación** de la cepa remitida y la realización, si procedía, del estudio de sensibilidad, así como que formularan los **comentarios** que consideraran oportunos.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN MICOLÓGICA

La cepa problema fue enviada a 238 laboratorios participantes, de los que 214 remitieron hoja de respuesta, todas ellas con resultados valorables, lo que supone un porcentaje de participación del 89,9%.

Como se puede observar en la tabla 1, la gran mayoría de los participantes identificaron correctamente la especie como *C. krusei* (92,1%). Hubo seis laboratorios (2,8%) que se limitaron a aportar una aproximación genérica. Las otras identificaciones informadas fueron *Candida inconspicua* en 4 ocasiones (1,8%), *Candida lipolytica* en otras cuatro (1,8%) y *Candida parapsilosis* en una ocasión (0,5%). Uno de los participantes identificó la cepa simplemente como una levadura y otro aportó una identificación totalmente apartada del hongo objeto de este control. El Programa de Control de Calidad sólo consideró válida la identificación de especie *C. krusei*, tal y como aportó el laboratorio de referencia, el cual empleó una batería bioquímica comercial (API ID 32C de bioMérieux). Además, y como es norma habitual, fueron revisados todos los lotes de líofilos por parte del Programa de Control de Calidad antes de realizar el envío, no encontrándose contaminación en ninguno de ellos.

Tabla 1. Resultados de la identificación micológica.

Identificación	Número	%
<i>Candida krusei</i>	197	92,1
<i>Candida inconspicua</i>	4	1,8
<i>Candida lipolytica</i>	4	1,8
Género <i>Candida</i>	6	2,8
<i>Candida parapsilosis</i>	1	0,5
<i>Geotrichum capitatum</i>	1	0,5
Levadura, sin especificar	1	0,5
Total	214	100,0

Por lo que respecta a los métodos empleados en la identificación, las pruebas bioquímicas, en su mayoría sistemas comerciales (API, Vitek, Microscan, etc.) fueron las más utilizadas (184 participantes, el 86,0%), de los que 156 (72,9%) lo hicieron de forma exclusiva. Los restantes laboratorios combinaron dichas pruebas con métodos manuales (cultivo, filamentación, etc.). Usaron métodos manuales (cultivo, prueba de filamentación y microscopía) 54 laboratorios (25,2%); de ellos ocho centros (3,7%) informaron exclusivamente el cultivo, dos participantes (0,9%) la prueba de filamentación, tres centros el cultivo y la filamentación y uno la filamentación junto a microscopía. Todos estos datos, quedan resumidos en la tabla 2.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Métodos	Número	%
Pruebas bioquímicas	156	72,9
Cultivo + pruebas bioquímicas	24	11,2
Pruebas bioquímicas + filamentación	2	0,9
Pruebas bioquímicas + filamentación + zimograma	1	0,5
Cultivo	8	3,7
Cultivo + filamentación	3	1,4
Cultivo + filamentación + pruebas bioquímicas	1	0,5
Prueba de filamentación	2	0,9
No informa del método empleado	4	1,9
Manual + comercial	9	4,2
Técnicas manuales sin especificar	2	0,9
Características morfológicas y culturales	1	0,5
Filamentación + microscopía	1	0,5
Total	214	100,0

En la tabla 3 se especifican las marcas y sistemas comerciales empleados para la identificación. En alguna ocasión los participantes informaron del uso de más de un sistema, por lo que en estos casos se analiza más de una

marca por laboratorio. Las distintas galerías bioquímicas API (API no especificado, API 20C auxonograma y API Id 32C) fueron, en su conjunto, el sistema mayoritariamente empleado (54,7%), consiguiendo un porcentaje muy elevado de identificaciones correctas, sobre todo con el equipo API Id 32C con el que se obtuvieron un 100% de aciertos. Cabe destacar que hubo dos laboratorios que, en sus comentarios, indican la dificultad del sistema API 20C para diferenciar la especie *C. krusei* de *C. inconspicua*. Le siguieron en frecuencia los sistemas comerciales automatizados de bioMérieux (Vitek YBC y Vitek 2) con un 16,4%. También, en este caso, el índice de aciertos fue elevado. Otros métodos utilizados fueron, el sistema Auxacolor de Bio-Rad, las placas de cultivo cromogénicas (*Candida* Id®, Chromagar® *Candida* y otras de marca no especificada) y el sistema Microscan de Dade-Behring, usados por el 7,0%, 4,2% y 4,2% respectivamente.

Hubo seis centros que combinaron un sistema API con el Vitek, obteniendo un 100% de aciertos en la identificación. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 3.

Tabla 3. Sistemas comerciales utilizados en la identificación.

Método comercial	Número (%)	Identificación		
		<i>C. krusei</i>	Género <i>Candida</i>	Otras especies
Galerías API (bioMérieux)	117 (54,7)			
API 20C auxonograma	48 (22,5)	45	—	3
API Id 32C	46 (21,5)	46	—	—
API no especificado	12 (5,6)	11	—	1
API AUX	11 (5,1)	11	—	—
Vitek (bioMérieux)	35 (16,4)			
Vitek YBC (bioMérieux)	15 (7,0)	13	—	2
Vitek 2 (bioMérieux)	20 (9,3)	19	—	1
Auxacolor (BioRad)	15 (7,0)	13	—	2
Placas cromogénicas	9 (4,2)	8	1	—
Microscan (Dade-Behring)	9 (4,2)	9	—	—
Candifast (Oxoid)	3 (1,4)	3	—	—
Rapid Yeast Plus (Remel)	2 (0,9)	2	—	—
Auxonograma manual	1 (0,5)	1	—	—
Mycotube (BBL)	1 (0,5)	1	—	—
API Id 32C + Vitek 2	3 (1,4)	3	—	—
API 20C aux + Vitek YBC	3 (1,4)	3	—	—
Manual	10 (4,7)	4	5	1
No informan	6 (2,8)	5	—	1
Total	214 (100,0)	197	6	11

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFÚNGICOS

GENERALIDADES

De los 214 centros que remitieron hoja de respuesta con resultados valorables, fueron 138 participantes (64,5%) los que realizaron estudio de sensibilidad. Los restantes 76 laboratorios no llevaron a cabo antifungigrama, aunque algunos de ellos indicaron que remitirían la cepa a un centro de referencia. Como puede observarse en la tabla 4, la tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante un método de microdilución en caldo, que se usó de forma exclusiva en el 48,6% de los casos y junto con el E-test® en el 5,8%. En segundo lugar, destaca el método de concentraciones críticas, empleado por el 29,7% de los participantes. La determinación de la CMI mediante E-test® fue realizada por 15 centros, siete de ellos la usaron como única técnica y ocho en combinación con un método de dilución en caldo. El método de disco-placa se utilizó en 7,9% de los casos.

Tabla 4. Métodos empleados en el antifungigrama.

Método	Número	%
CMI ^a	67	48,6
CMI ^a + E-test®	8	5,8
Concentraciones críticas	41	29,7
Disco-placa	11	7,9
E-test®	7	5,1
No especificado	4	2,9
Total	138	100

^aCMI por microdilución en caldo.

Respecto a las marcas empleadas, el sistema comercial más utilizado fue Sensititre (50,0%), seguido de ATB-Fungus (15,2%) y Fungitest (Bio-Rad) (13,0%). Fueron 18 centros los que no informaron marca, por emplear un método

de difusión en disco-placa o E-test®. En siete ocasiones, no se especificó nada acerca de la marca comercial empleada. Todos los datos quedan resumidos en la tabla 5.

Tabla 5. Marcas empleadas en el antifungigrama.

Marca	Número	%
Sensititre (Izasa)	69	50,0
ATB-fungus (bioMérieux)	21	15,2
Fungitest (Bio-Rad)	18	13,0
Candifast (Oxoid)	2	1,4
Manual	2	1,4
No informan (por disco-placa)	11	8,0
No informan (por E-test)	7	5,1
Microscan	1	0,7
No especifican	7	5,1
Total	138	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 el documento NCCLS M-27A en el caso del fluconazol, itraconazol y 5-fluorocitosina, mientras que para la interpretación de los resultados obtenidos con anfotericina B y voriconazol, se apoyó 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 y 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
Anfotericina B	0,5	S
Fluconazol	32	R
Itraconazol	0,25	SDD ^b
5-Fluorocitosina	8	I
Voriconazol	0,25	S

^aCMI expresada en µg/ml.

^bSDD: Sensible Dependiente de la Dosis.

La CMI obtenida por el laboratorio de referencia en el caso de fluconazol fue de 32 µg/mL. Dicha CMI, según los puntos de corte NCCLS, debería interpretarse como sensible dosis-dependiente, pero hay que tener en cuenta que **Candida krusei presenta resistencia intrínseca al fluconazol**, por lo que la interpretación final fue "**Resistente**". La CMI de 5-fluorocitosina osciló entre 4 µg/ml ("Sensible") y 8 µg/ml ("Intermedio") en ensayos repetidos, por lo que ambas interpretaciones fueron aceptables por parte del Control.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

En la tabla 7 se resumen los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad a los antifúngicos remitidos por los participantes. En total, se recibieron resultados correspondientes a 11 antifúngicos diferentes, número superior a la lista proporcionada 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
Anfotericina B	134	114 (85,1)	3 (2,2)	6 (4,4)	—	11 (8,3)
Fluconazol	132	5 (3,8)	18 (13,6)	96 (72,7)	8 (6,1)	5 (3,8)
Itraconazol	119	23 (19,3)	25 (21,0)	32 (26,9)	29 (24,4)	10 (8,4)
5-fluorocitosina	116	38 (32,8)	48 (41,4)	20 (17,2)	—	10 (8,6)
Ketoconazol	82	37 (45,1)	20 (24,4)	14 (17,1)	1 (1,2)	10 (12,2)
Voriconazol	76	62 (81,6)	1 (1,3)	2 (2,6)	—	11 (14,5)
Miconazol	21	3 (14,3)	13 (61,9)	4 (19,0)	—	1 (4,8)
Econazol	7	4 (57,1)	—	3 (42,9)	—	—
Nistatina	8	6 (75,0)	1 (12,5)	1 (12,5)	—	—
Clotrimazol	2	1 (50,0)	1 (50,0)	—	—	—
Caspofungina	7	3 (42,9)	—	—	—	4 (57,1)

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

^bSDD: Sensible Dependiente de la Dosis.

Analizados los resultados de los participantes desde un punto de vista general, hay bastante concordancia con los aportados por el laboratorio de referencia, aunque existen puntos que requieren algún comentario. En el caso del fluconazol, la mayoría de laboratorios consideran la cepa como Resistente, aportando un amplio rango de CMI, que va desde 0,125 a 128. Hay ocho centros que la interpretan como Sensible Dependiente de la Dosis según los puntos de corte del NCCLS, sin tener en cuenta la resistencia intrínseca de esta especie al fluconazol.

Con respecto a la 5-fluorocitosina, existe mayor variabilidad en cuanto a la interpretación de resultados, pues el 32,8% informa la cepa como sensible y el 41,4% como de sensibilidad intermedia. Dado que la mayoría de las CMIs obtenidas presentaba valores entre 4 µg/ml y 16 µg/ml, y que la diferente interpretación viene determinada por una sola dilución, se aceptaron como válidas ambas opciones, aunque el laboratorio de referencia informó sensibilidad intermedia para este antibiótico.

El itraconazol es el antifúngico que presenta una mayor discordancia de resultados con respecto al aportado por el laboratorio de referencia, ya que un 26,9% de los centros informó resistencia a este fármaco y un 19,3% sensibilidad, aportando en ambos casos valores cuantitativos de CMI, que eran correctos y que tendrían que haber sido interpretados como Sensible Dependiente de la Dosis, siguiendo los puntos de corte del NCCLS.

Finalmente, tanto los resultados para la anfotericina B como para el voriconazol fueron mayoritariamente concordantes con el laboratorio de referencia.

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 obtenemos los siguiente datos: 178 (83,2%) laboratorios dicen no utilizarlo, tres centros (1,4%) afirman haberlo utilizado y diez (4,7%) lo hicieron parcialmente. Fueron diez participantes (10,7%) los que no informaron acerca de este dato, por lo que desde la organización del Control de Calidad SEIMC se sigue insistiendo en la necesidad de remitir todos los datos requeridos para poder hacer un análisis ajustado de éstos.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

En el presente control, fueron 95 (44,4%) laboratorios de los 214 que remitieron hoja de respuesta, los que realizaron algún tipo de comentario sobre el caso clínico que nos ocupa, las dificultades técnicas encontradas o las posibilidades de tratamiento. Algunos de ellos aportaron varios comentarios, por lo que el número total a analizar asciende a 113. Como en otras ocasiones, algunos fueron extensos, lo que nos obligó a sintetizarlos. Se recomienda de nuevo, por parte del Control de Calidad SEIMC que se hagan de la forma más concisa posible, con el fin de facilitar su interpretación y evitar que se desvirtúe, al ser resumidos, la idea que se pretendían transmitir.

En la tabla 8 se resumen los comentarios técnico-microbiológicos. Una gran parte de ellos hacen referencia a la necesidad de recurrir a un laboratorio externo de referencia por parte de muchos centros, a la hora de realizar el estudio de sensibilidad a los antifúngicos. Son cuatro los participantes que indicaron la ausencia de puntos de corte (según las normas NCCLS) para la interpretación de los resultados obtenidos con el voriconazol y la anfotericina B. También hay varios centros que comentan las dificultades existentes con los sistemas comerciales empleados para diferenciar entre las especies *C. krusei* y *C. inconspicua*. Por lo que se refiere a los comentarios sobre el caso clínico que nos ocupa, tan sólo tres centros hicieron alguna referencia, indicando que se trataba de una candidiasis diseminada y apuntando la posibilidad de que el catéter fuera su origen.

Tabla 8. Comentarios técnico-microbiológicos y clínicos efectuados por los participantes.

Comentario	Número
Antifungigrama lo realiza el laboratorio de referencia	11
No hay puntos de corte para voriconazol o anfotericina B (NCCLS)	4
API 20 aux no diferencia de <i>C. inconspicua</i>	2
<i>C. krusei</i> / <i>C. inconspicua</i>	2
Vitek 2 no diferencia de <i>C. inconspicua</i>	1
<i>Candida no albicans</i>	1
Para identificación completa se recurre a laboratorio de referencia	1
Método para antifungigrama: microdilución del EUCAST	1
Interpretación de antifungigrama según NCCLS M27-A y por bibliografía	1
No forma artrosporas en leche diluida. No crece en SAC	1
Candidiasis hematógena diseminada	1
Fungemia por catéter	1
Preguntar si se trataba de hemocultivos periféricos o a través de catéter	1
Total	28

La tabla 9 resume los comentarios en que los laboratorios participantes hicieron referencia a la resistencia de la cepa frente a distintos antifúngicos y las posibilidades de tratamiento. Por lo que se refiere a las resistencias encontradas, un porcentaje considerable de centros (44,2%) comentó explícitamente que las cepas identificadas como *C. krusei* presentaban resistencia intrínseca al fluconazol, un 57,1% si se tienen en cuenta los comentarios en general. Este índice tan elevado, contrasta con los cuatro centros que en el control del año 98 hicieron este mismo comentario al estudiar la misma cepa, lo que es indicativo de la evolución positiva en la capacitación técnica que, a lo largo de estos

años, han ido adquiriendo los centros participantes en el Control.

En cuanto a las posibilidades de tratamiento, la mayoría de los centros que dan alguna indicación, aportan la anfotericina B como opción a considerar, pudiendo optar en muchos casos por otro antifúngico como el voriconazol, la caspofungina o el itraconazol.

Tabla 9. Comentarios sobre tratamiento y resistencias realizados por los participantes.

Comentario	Número	%^a
Comentarios a las resistencias	55	
Resistencia intrínseca a fluconazol	42 ^b	44,2
Resistencia a azoles	6	6,3
Resistencia intrínseca a fluconazol y sensibilidad disminuida al resto de azoles	1	1,1
Resistencia intrínseca a triazoles de 1 ^a G	1	1,1
Resistencia a itraconazol (a pesar de que por CMI es SDD)	1	1,1
No usar fluconazol	1	1,1
Resistente a fluconazol y ketoconazol (a pesar de sensibilidad <i>in vitro</i>)	1	1,1
Probable resistencia a fluconazol	1	1,1
Fluconazol e itraconazol SDD	1	1,1
Posibilidades de tratamiento	29	30,5
Tratamiento: anfotericina B	9	9,5
Tratamiento: anfotericina B o caspofungina	5	5,3
Tratamiento: anfotericina B o itraconazol	1	1,1
Tratamiento: anfotericina B, voriconazol o caspofungina	2	2,1
Tratamiento: anfotericina B o voriconazol	4	4,2
Tratamiento: caspofungina o voriconazol	2	2,1
Tratamiento: caspofungina	1	1,1
Tratamiento: itraconazol a altas dosis	1	1,1
Se debe retirar el catéter al paciente	2	2,1
Se debe cambiar el tratamiento	2	2,1

^aSobre los 95 centros que remitieron algún tipo de comentario.

^bDe ellos, trece laboratorios también indicaron distintas opciones de tratamiento.