

CONTROL DE CALIDAD DE MICOLOGÍA (M-1/09)

En el presente control se envió a los participantes una levadura que fue identificada por el laboratorio de referencia como *Candida dubliniensis*. La historia clínica correspondía a una paciente de 72 años, fumadora y con hábito alcohólico, que fue ingresada en el Servicio de Cuidados Intensivos por presentar un cuadro de *shock* séptico secundario a una neumonía por *Streptococcus pneumoniae*. La paciente requirió ventilación mecánica y le fue implantado un catéter central. A pesar de llevar tratamiento antibiótico y haber experimentado una notable mejoría inicial, presentó un cuadro de fiebre de 38°C y empeoramiento de su estado general. Se remitieron muestras de esputo y sangre para cultivo microbiológico al laboratorio de Microbiología. Se procedió a la retirada del catéter y se pautó un tratamiento con antibióticos de amplio espectro, sin que se produjese una mejoría clínica de la paciente. A las 48 h de incubación creció, a partir de los frascos de hemocultivo, el hongo levaduriforme que fue objeto de este control.

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

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE IDENTIFICACIÓN MICOLÓGICA

La cepa problema fue enviada a 237 laboratorios participantes, de los que 216 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables. El porcentaje de participación fue del 91,1%, superior al del último control de Micología, que fue del 75,5%.

Como se observa en la tabla 1, más de la mitad de los participantes identificaron correctamente la especie (65,3%), mientras que 69 laboratorios (32,0%) informaron *Candida albicans*. Dos centros informaron solamente el género. El resto de identificaciones se detallan en la tabla 1. El Programa de Control de Calidad sólo consideró válida la identificación de especie *C. dubliniensis*, informada por el laboratorio de referencia, obtenida mediante una batería bioquímica comercial (Auxacolor®, Bio-Rad), la ausencia de crecimiento a 42-45°C, y posterior secuenciación. Estos resultados mejoran los del control de 2004 (M-2/04), cuyo porcentaje de aciertos fue del 43,1% y los que la confundieron con *C. albicans*, del 53,1%, lo que indica el valor del Programa SEIMC como herramienta de formación continuada.

Tabla 1. Resultados de la identificación micológica.

Identificación	Número	%
<i>Candida dubliniensis</i>	141	65,3
<i>Candida albicans</i>	69	32,0
Género <i>Candida</i>	2	0,9
Otros ^a	4	1,8
Total	216	100,0

^a*Candida glabrata*, *Candida lusitanae*, *Candida parapsilosis*, *Saccharomyces cerevisiae*.

Por lo que respecta a los métodos empleados en la identificación, las pruebas bioquímicas, principalmente mediante sistemas comerciales (API, Vitek, etc.) fueron la técnica mayoritariamente utilizada por los participantes (182 centros, 84,3%), de los que 137 (63,4%) lo hicieron de forma única. Todos estos datos quedan reflejados en la tabla 2.

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Métodos	Número	%
Pruebas bioquímicas	137	63,4
Cultivo cromogénico + Pruebas bioquímicas	12	5,6
Cultivo cromogénico	11	5,1
Filamentación + Pruebas bioquímicas	8	3,7
Pruebas bioquímicas + Incubación 42-45°C + Filamentación	7	3,2
Pruebas bioquímicas + Incubación a 42-45°C	5	2,3
Pruebas bioquímicas + Incubación 42-45°C + Cultivo cromogénico + Filamentación	3	1,4
Pruebas bioquímicas + Incubación 42-45°C + Cultivo cromogénico	3	1,4
Secuenciación	3	1,4
Manual	3	1,4
Manual + Comercial	2	0,9
Características morfológicas + Pruebas bioquímicas	2	0,9
Cultivo cromogénico + Pruebas bioquímicas + Filamentación	2	0,9
Cultivo cromogénico + Incubación 42-45°C	2	0,9
Filamentación	2	0,9
Características morfológicas + Pruebas bioquímicas + Métodos moleculares	1	0,5
Cultivo cromogénico + Filamentación + Incubación 42-45°C	1	0,5
Cultivo cromogénico + Filamentación	1	0,5
Pruebas bioquímicas + Aglutinación látex	1	0,5
Pruebas bioquímicas + Secuenciación + Incubación 42-45°C	1	0,5
No informa del método empleado	9	4,1
Total	216	100,0

La tabla 3 resume las marcas y sistemas comerciales empleados para la identificación bioquímica. Las galerías bioquímicas API fueron, en conjunto, el sistema mayoritariamente empleado (92 centros, el 50,5%) aunque, en esta ocasión el porcentaje de acierto fue subóptimo, ya que sólo se identificó correctamente la cepa en el 60,9% de las ocasiones. Le siguieron en frecuencia otros sistemas comerciales automatizados de bioMérieux (Vitek YBC, Vitek 2), usados por un 31,9% de los participantes, presentando un índice de aciertos elevado (93,1%). El sistema Auxacolor de Bio-Rad, utilizado sólo por el 7,7% de participantes, mostró también un buen comportamiento, con un 92,9% de aciertos. El resto de métodos, empleados escasamente, condujo a un alto porcentaje de identificación errónea. No obstante, dado el bajo número de efectivos, no es posible obtener conclusiones sobre su eficiencia real para la identificación de esta cepa. De nuevo, los resultados de este control mejoran los de 2004 para la mayoría de métodos comerciales, probablemente porque ahora han sido complementados con pruebas manuales

Tabla 3. Sistemas comerciales de pruebas bioquímicas.

Método comercial	Número (%)	Acierto (%)
Galerías API (bioMérieux)		
API 20 C AUX	51 (28,0)	31 (60,8)
API ID 32 C	39 (21,4)	24 (61,5)
API no especificado	2 (1,1)	1 (50,0)
Vitek (bioMérieux)	58 (31,9)	54 (93,1)
Auxacolor (BioRad)	14 (7,7)	13 (92,9)
Microscan (Siemens)	7 (3,9)	1 (14,3)
Rapid Yeast Plus (Remel)	3 (1,6)	2 (66,7)
Candifast (Oxoid)	2 (1,1)	2 (0,0)
Manual	2 (1,1)	1 (50,0)
No informan	4 (2,2)	1 (25,0)
Total	182 (100,0)	130 (71,4)

Hay que destacar que 22 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 22 centros, 18 de ellos (81,8%) informan correctamente *C. dubliniensis*.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFÚNGICOS

De los 216 centros que remitieron respuesta, 153 (70,8%) realizaron estudio de sensibilidad. La tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante microdilución en caldo, utilizada de forma exclusiva en el 54,2% de los casos. El método de concentraciones críticas fue empleado por el 19,6% de los participantes. La determinación de la CMI mediante E-test® fue utilizada por 25 centros (16,3%), 20 de ellos como método único (tabla 4).

Tabla 4. Métodos empleados en el antifungigrama.

Método	Número	%
CMI ^a	83	54,2
Concentraciones críticas	30	19,6
E-test®	20	13,1
Disco-placa	9	5,9
CMI ^a + E-test®	4	2,6
Disco-placa + E-test®	1	0,7
No especificado	6	3,9
Total	153	100,0

^aCMI por microdilución en caldo.

Respecto a las marcas empleadas, el sistema comercial más utilizado fue Sensititre® (50,4%), de Vitek YBC y ATB-Fungus de bioMérieux (15,4%). En 3 ocasiones no se especificó la marca comercial empleada (tabla 5).

Tabla 5. Marcas empleadas en el antifungigrama.

Marca	Número	%
Sensititre® (Izasa)	59	50,4
Vitek YBC	24	20,5
ATB-Fungus (bioMérieux)	18	15,4
Fungitest® (Bio-Rad)	10	8,5
Candifast® (Oxoid)	2	1,7
Manual	1	0,9
No especifican	3	2,6
Total	117	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	0,06	S
Anfotericina B	0,12	S
Anidulafungina	0,03	S
Caspofungina	0,03	S
Fluconazol	0,125	S
Itraconazol	0,015	S
Micafungina	0,015	S
Posaconazol	0,015	S
Voriconazol	0,008	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 20 o 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	152	137 (90,1)	1 (0,7)	10 (6,6)	0	4 (2,6)
Anfotericina B	144	131 (91,0)	0	0	0	13 (9,0)
Voriconazol	122	112 (91,8)	1 (0,8)	3 (2,5)	0	6 (4,9)
5-fluorocitosina	111	108 (97,3)	0	0	0	3 (2,7)
Itraconazol	98	83 (84,7)	1 (1,0)	9 (9,2)	0	5 (5,1)
Caspofungina	70	60 (85,7)	0	1 (1,4)	0	9 (12,9)
Posaconazol	50	40 (80,0)	0	0	0	10 (20,0)
Ketoconazol	40	39 (97,5)	0	0	0	1 (2,5)
Micafungina	36	29 (80,6)	0	0	0	7 (19,4)
Anidulafungina	35	28 (80,0)	0	0	0	7 (20,0)

^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 80,0% y el 97,5%. 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: 194 (89,8%) centros comentan no utilizarlo, 7 (3,3%) afirman haberlo usado, y 5 lo utilizaron parcialmente (2,3%). Fueron 10 los centros que no aportaron este dato (4,6%).

COMENTARIOS

La mayoría de comentarios señalaron la similitud entre *C. dubliniensis* con *C. albicans*, ya que ambas producen tubos germinales (prueba de filamentación positiva), las colonias de ambas especies tienen el mismo pigmento al crecer en los medios de agar comerciales y muchos sistemas comerciales no son capaces de discriminarlas. La principal diferencia entre ambas, recalcan muchos centros en sus comentarios, fue la ausencia de crecimiento a 42-45°C.

Otros comentarios mayoritarios fueron acerca de recomendaciones terapéuticas, principalmente el tratamiento con anfotericina B, ya que *C. dubliniensis* puede desarrollar con cierta frecuencia resistencia al fluconazol durante el tratamiento.

Algunos centros manifestaron que no realizan antibiograma para levaduras y que no existen puntos de corte para ciertos antifúngicos.