

CONTROL DE CALIDAD DE MICOLOGÍA (M-1/11)

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 parapsilosis*. La historia clínica correspondía a un paciente varón de 81 años, que había sido intervenido por un ampuloma, recibiendo durante su estancia en el hospital, antibioterapia prolongada de amplio espectro. El paciente acudía al servicio de Urgencias al cabo de 2 meses tras el alta y reingresaba por un cuadro de isquemia arterial aguda de extremidades inferiores; presentando un claro deterioro de su estado general y fiebre de 37,9°C. El estudio angiográfico mostró múltiples lesiones arteriales segmentarias y oclusivas, la auscultación sugería la existencia de una insuficiencia aórtica y, posteriormente, se diagnosticó una endocarditis aórtica mediante ecocardiografía. Se realizó resección valvular, y el material extraído junto con muestras de hemocultivos fueron remitidos al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico y micológico. A las 48 horas de incubación creció, a partir de todas las muestras, 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 MICOLOGICA

La cepa problema fue enviada a 220 laboratorios participantes, de los que 202 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables. El porcentaje de participación fue del 91,8%, ligeramente superior al control M-1/10 (que fue entonces del 89,3%), en el que se remitió una cepa de *Candida glabrata*. La gran mayoría de los participantes identificaron correctamente la especie (97,0%), mientras que dos laboratorios (1,0%) informaron *Candida tropicalis*. Un único centro informó 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. parapsilosis*, 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 parapsilosis</i>	196	97,0
<i>Candida tropicalis</i>	2	1,0
<i>Candida dubliniensis</i>	1	0,5
<i>Candida glabrata</i>	1	0,5
<i>Candida no albicans</i>	1	0,5
Género <i>Candida</i>	1	0,5
Total	202	100,0

Por lo que respecta a los métodos empleados en la identificación, las galerías de pruebas bioquímicas, principalmente comerciales (API, Vitek, etc.), fueron la técnica mayoritariamente utilizada por los participantes (188 centros, 93,1%), de los que 167 (82,6%) 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	167	82,6
Cultivo cromogénico + Pruebas bioquímicas	15	7,4
Cultivo cromogénico	5	2,5
Espectrometría de masas	4	2,0
Espectrometría de masas + Pruebas bioquímicas	3	1,5
Filamentación + Pruebas bioquímicas	2	1,0
Secuenciación	2	1,0
Cultivo en agar corn-meal + Pruebas bioquímicas	1	0,5
Estudio macro-microscópico + Técnicas moleculares	1	0,5
PCR	1	0,5
No informa del método empleado	1	0,5
Total	202	100,0

La tabla 3 resume las marcas y sistemas comerciales empleados para la identificación bioquímica. Las galerías bioquímicas API® de bioMérieux fueron, en conjunto, el sistema mayoritariamente empleado (92 centros, el 45,5%), con un porcentaje de acierto del 97,8% (de los 40 centros que utilizaron el API 20 C AUX®, dos informaron erróneamente *C. tropicalis*). Le siguió en frecuencia el sistema Vitek® de bioMérieux, usado por un 36,1% de los participantes, obteniéndose un índice de aciertos excelente (100,0%). Otros sistemas menos utilizados fueron: la galería Auxacolor® de Bio-Rad (informada por el 6,3% de los participantes con un 91,7% de aciertos), el sistema Microscan® (usado por el 5,2% de los centros con un 100,0% de aciertos) y la galería Rapid Yeast Plus® de Remel (informada por el 2,6% de los laboratorios y también con el 100% de aciertos). Respecto al sistema Candifast® de Oxoid, sólo fue empleado por un único centro, por lo que no es posible obtener conclusiones sobre su eficiencia real para la identificación de esta cepa.

Tabla 3. Sistemas comerciales de pruebas bioquímicas.

Método comercial	Número (%)	Acierto (%)
Galerías API (bioMérieux)		
API 20 C AUX	40 (21,0)	38 (95,0)
API ID 32 C	43 (22,5)	43 (100,0)
API <i>Candida</i>	3 (1,6)	3 (100,0)
API no especificado	6 (3,2)	6 (100,0)
Vitek (bioMérieux)	69 (36,1)	69 (100,0)
Auxacolor (BioRad)	12 (6,3)	11 (91,7)
Microscan (Siemens)	10 (5,2)	10 (100,0)
Rapid Yeast Plus (Remel)	5 (2,6)	5 (100,0)
Candifast (Oxoid)	1 (0,5)	1 (100,0)
bioMérieux ^a	1 (0,5)	1 (100,0)
No informan	1 (0,5)	1 (100,0)
Total	191 (100,0)	182 (98,4)

^aNo especifica si API o Vitek.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFÚNGICOS

De los 202 centros que remitieron respuesta, 148 (73,3%) realizaron estudio de sensibilidad. La tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante microdilución en caldo, utilizada por el 69,6% de los participantes y, de forma exclusiva, por el 64,8% de los mismos. El estudio de CMI mediante E-test® fue utilizado por 30 centros (20,3%), 22 de ellos como único método. Por último, el método de concentraciones críticas fue empleado por el 10,8% de los participantes, mientras que el disco-placa fue informado únicamente por el 4,0% de los centros que realizaron antifungigrama (tabla 4).

Tabla 4. Métodos empleados en el antifungigrama.

Método	Número	%
CMI ^a	96	64,8
E-test®	22	14,9
Concentraciones críticas	16	10,8
CMI ^a + E-test®	7	4,7
Disco-placa	5	3,4
Disco-placa + E-test®	1	0,7
No especificado	1	0,7
Total	148	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 Sensititre® (57,2%), seguido de Vitek® YBC (25,2%) y ATB-Fungus® (9,2%), ambos de bioMérieux. En 5 ocasiones no se especificó la marca comercial empleada, probablemente debido a que remitieron 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)	68	57,2
Vitek® YBC (bioMérieux)	30	25,2
ATB-Fungus® (bioMérieux)	11	9,2
Fungitest® (Bio-Rad)	4	3,4
Candifast® (Oxoid)	1	0,8
No especifican	5	4,2
Total	119	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	0,25	S
Anidulafungina	0,5	S
Caspofungina	0,5	S
Fluconazol	2	S
Itraconazol	0,125	S
Micafungina	1	S
Posaconazol	0,06	S
Voriconazol	0,03	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 15 antifúngicos diferentes, aunque sólo se detallan los que fueron referidos por 60 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	146	140 (95,9)	1 (0,7)	0	1 (0,7)	4 (2,7)
Anfotericina B	138	130 (94,2)	1 (0,7)	0	1 (0,7)	6 (4,4)
Voriconazol	136	131 (96,3)	0	0	0	5 (3,7)
5-fluorocitosina	109	103 (94,5)	0	2 (1,8)	1 (0,9)	3 (2,8)
Caspofungina	90	77 (85,6)	1 (1,1)	2 (2,2)	0	10 (11,1)
Itraconazol	89	69 (77,5)	8 (9,0)	0	7 (7,9)	5 (5,6)
Anidulafungina	75	64 (85,3)	2 (2,7)	2 (2,7)	0	7 (9,3)
Posaconazol	68	58 (85,3)	0	0	0	10 (14,7)
Micafungina	66	58 (87,9)	0	1 (1,5)	0	7 (10,6)

^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 77,5% y el 96,3%. 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: 191 (94,5%) centros comentan no utilizarlo, 2 (1,0%) afirman haberlo usado, y 8 lo utilizaron parcialmente (4,0%). Por último, sólo hubo 1 centro que no aportó este dato (0,5%).

COMENTARIOS

La mayoría de comentarios afirmaban que el paciente había desarrollado una endocarditis por *C. parapsilosis*. Para el tratamiento muchos centros aconsejaban el recambio valvular del paciente junto con un tratamiento antifúngico prolongado (por más de 6 semanas). Las recomendaciones terapéuticas fueron muy variadas, principalmente el tratamiento con anfotericina B liposomal, o bien con un azol (fluconazol o voriconazol), o bien con una equinocandina, pudiéndose asociar con 5-fluorocitosina. Por otra parte, otros participantes comentaron que las equinocandinas estaban desaconsejadas en el tratamiento de la infección por *C. parapsilosis*, ya que esta especie de levaduras suele presentar unas CMI elevadas a este grupo de fármacos.

Algunos laboratorios comentaron que *C. parapsilosis* era indistinguible fenotípicamente de *Candida orthopsilosis* y de *Candida metapsilosis*. Para la diferenciación de estas tres especies se requeriría de secuenciación, por lo que algunos participantes señalaban que no disponían de técnicas moleculares en sus centros para la diferenciación de estas tres especies.

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