

## CONTROL DE CALIDAD DE MICOLOGÍA (M-2/13)

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 la de un paciente varón de 75 años de edad con antecedentes de hipertensión arterial y sustitución valvular aórtica. Aproximadamente un año después de su ingreso hospitalario, consultó a su médico por ligero dolor torácico y en el examen se detectó un cuadro de insuficiencia ventricular izquierda con fibrilación auricular rápida que obligó a su ingreso. El estudio ecocardiográfico permitió observar una vegetación sobre válvula aórtica protésica. Con el diagnóstico de endocarditis sobre válvula protésica se inició tratamiento antibiótico empírico (ceftriaxona y vancomicina) y se tomaron hemocultivos que fueron remitidos al Servicio de Microbiología. Se realizó cirugía de sustitución valvular y se le añadió fluconazol ante el hallazgo de un hemocultivo positivo para la levadura 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 223 laboratorios participantes, de los que 208 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con resultados valorables. El porcentaje de participación fue del 93,3%, superior al del último control de Micología (87,9%, un cultivo de *Microsporum canis*), si bien, casi idéntico al control M-2/12, en el que se remitió una cepa de *Candida krusei* (92,4%).

La gran mayoría de los participantes identificaron correctamente la especie como *C. parapsilosis* (97,6%), mientras que dos laboratorios (0,9%) informaron *Candida glabrata*. 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 (Vitek, bioMérieux) y posterior secuenciación.

**Tabla 1. Resultados de la identificación micológica.**

Identificación	Número	%
<i>Candida parapsilosis</i>	203	97,6
<i>Candida glabrata</i>	2	0,9
<i>Candida famata</i>	1	0,5
<i>Candida guilliermondii</i>	1	0,5
<i>Candida krusei</i>	1	0,5
Total	208	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 (178 centros, 85,6%), de los que 158 (76,0%) lo hicieron de forma única. La espectrometría de masas fue utilizada por 34 laboratorios (16,4%), de los que 24 (11,5%) informaron exclusivamente este método. Por último, los cultivos en medios cromogénicos fueron informados por 18 participantes (8,7%), aunque sólo en dos casos (0,9%) 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	158	76,0
Espectrometría de masas	24	11,5
Cultivo cromogénico + pruebas bioquímicas	11	5,3
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas	5	2,4
Espectrometría de masas + cultivo cromogénico	4	2,0
Cultivo cromogénico	2	0,9
Pruebas bioquímicas + secuenciación	2	0,9
Características morfológicas + pruebas bioquímicas + técnicas moleculares	1	0,5
Espectrometría de masas + pruebas bioquímicas + cultivo cromogénico	1	0,5
Total	208	100,0

La tabla 3 resume las marcas y sistemas comerciales empleados para la identificación bioquímica. Las distintas galerías bioquímicas API® de bioMérieux fueron el sistema mayoritariamente empleado (77 centros, el 43,3% de los centros que emplearon pruebas bioquímicas), con un porcentaje de acierto, en conjunto, del 97,4% de las ocasiones. De los 40 centros que utilizaron el API 20 C AUX®, sólo uno informó erróneamente *Candida guilliermondii*; mientras que, de los 29 laboratorios que emplearon el API ID 32 C®, sólo uno informó erróneamente *Candida famata*.

El sistema Vitek® de bioMérieux, fue usado por un 40,5% de los participantes que utilizaron pruebas bioquímicas, obteniéndose un excelente índice de aciertos (100,0%). Otros sistemas menos utilizados fueron: la galería Auxacolor® de Bio-Rad (informada por el 6,7% de los participantes con el 100% de aciertos), el sistema Microscan® (usado por el 4,5% de los centros con también un 100% de aciertos). Respecto a las galerías Candifast® de Oxoid y Rapid Yeast Plus® de Remel fueron empleadas por muy pocos centros, por lo que no es posible obtener conclusiones

sobre su eficiencia real para la identificación de esta cepa. Uno de los dos centros que utilizaron Rapid Yeast Plus® informó erróneamente *Candida krusei*. Curiosamente, los dos centros que utilizaron únicamente un medio de cultivo cromogénico (uno de bioMérieux y otro de Oxoid) informaron *C. glabrata*.

**Tabla 3. Sistemas comerciales de pruebas bioquímicas.**

Método comercial	Número (%)	Acierto (%)
Galerías API (bioMérieux)		
API 20 C AUX	40 (22,5)	39 (97,5)
API ID 32 C	29 (16,3)	28 (96,6)
API <i>Candida</i>	2 (1,1)	2 (100)
API no especificado	6 (3,4)	6 (100)
Vitek (bioMérieux)	72 (40,5)	72 (100)
Auxacolor (BioRad)	12 (6,7)	12 (100)
Microscan (Siemens)	8 (4,5)	8 (100)
Candifast (Oxoid)	2 (1,1)	2 (100)
Rapid Yeast Plus (Remel)	2 (1,1)	1 (50,0)
No informan	5 (2,8)	5 (100)
Total	178 (100,0)	175 (98,3)

## RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFÚNGICOS

De los 208 centros que remitieron respuesta, 168 (80,8%) informaron estudio de sensibilidad. Algunos de los restantes 40 laboratorios que no realizaron el antifungigrama indicaron que remitirían la cepa a un centro de referencia. La tendencia mayoritaria fue determinar la CMI mediante microdilución en caldo, utilizada por el 70,2% de los participantes y, de forma exclusiva, por el 69,0% de los mismos. En segundo lugar, destaca la determinación de la CMI mediante el E-test®, que fue realizado por el 17,9% de los centros, de los cuales en un 14,3% fue la única técnica empleada. Por último, el método de concentraciones críticas fue empleado por el 9,5% de los participantes, mientras que el método de disco-placa se informó únicamente por el 5,4% de los centros que realizaron antifungigrama (tabla 4).

**Tabla 4. Métodos empleados en el antifungigrama.**

Método	Número	%
CMI <sup>a</sup>	116	69,0
E-test®	24	14,3
Concentraciones críticas	16	9,5
Disco-placa	5	3,0
Disco-placa + E-test®	4	2,4
CMI <sup>a</sup> + E-test®	2	1,2
No especificado	1	0,6
Total	168	100,0

<sup>a</sup>CMI 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® (54,5%), seguido del Vitek® AST–YS07 (32,1%) y del ATB-Fungus® (6,7%), 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)	73	54,5
Vitek® YS07 (bioMérieux)	43	32,1
ATB-Fungus® (bioMérieux)	9	6,7
Fungitest® (Bio-Rad)	6	4,5
Candifast® (Oxoid)	1	0,7
No especifican	2	1,5
Total	134	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-S3 del *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) para el género *Candida* y para los siguientes antifúngicos: 5-fluorocitosina, anidulafungina, caspofungina, fluconazol, itraconazol, micafungina y voriconazol. Respecto a la anfotericina B y al posaconazol, el centro de referencia utilizó los puntos de corte de EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) para la especie *C. parapsilosis*.

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 <sup>a</sup>	Interpretación <sup>b</sup>
Anfotericina B	0,25	S
Posaconazol	0,06	S
Anidulafungina	0,5	S
Micafungina	1	S
Fluconazol	2	S
Itraconazol	0,125	S
Voriconazol	0,03	S
5-fluorocitosina	0,125	S
Caspofungina	0,5	S

<sup>a</sup>CMI expresada en µg/ml. <sup>b</sup>S: Sensible.

#### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

En este control, se volvió a solicitar a los participantes que informasen que puntos de corte utilizaron para la interpretación del antifungigrama. De los 168 laboratorios que realizaron antifungigrama, 111 (66,1%) utilizaron los criterios del CLSI, otros 38 (22,6%) los del EUCAST, 12 (7,1%) según la bibliografía, 3 (1,8%) utilizaron los criterios CLSI para unos antifúngicos y los del EUCAST para otros, otros 3 (1,8%) utilizaron los puntos de corte recomendados por su sistema comercial (Fungitest o ATB-Fungus). Por último, un participante (0,6%) envió la cepa a un centro de referencia para fungigrama y desconocía este aspecto (tabla 7).

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

Marca	Número	%
CLSI	111	66,1
EUCAST	38	22,6
Bibliografía	12	7,1
CLSI y EUCAST	3	1,8
Según interpretación del sistema comercial	3	1,8
Desconocido (antifungigrama realizado en centro referencia)	1	0,6
Total	168	100,0

La tabla 8 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 15 ó más participantes que, en este caso, coinciden con los aportados por el laboratorio de referencia.

**Tabla 8. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antifúngicos.**

Antifúngico	Número	Interpretación <sup>a</sup>				
		Sensible	SDD <sup>b</sup>	Intermedio	Resistente	No interpreta
Fluconazol	167	161 (96,4)	1 (0,6)	1 (0,6)	3 (1,8)	1 (0,6)
Anfotericina B	154	144 (93,5)	0	0	4 (2,6)	6 (3,9)
Voriconazol	156	155 (99,4)	0	0	0	1 (0,6)
Caspofungina	128	114 (89,1)	0	3 (2,3)	2 (1,6)	9 (7,0)
5-fluorocitosina	111	105 (94,6)	0	0	0	6 (5,4)
Micafungina	104	87 (83,6)	1 (1,0)	11 (10,5)	1 (1,0)	4 (3,9)
Itraconazol	77	63 (81,8)	5 (6,5)	3 (3,9)	0	6 (7,8)
Anidulafungina	75	57 (76,0)	1 (1,3)	11 (14,7)	3 (4,0)	3 (4,0)
Posaconazol	69	61 (88,4)	0	0	1 (1,5)	7 (10,1)

<sup>a</sup>Los números entre paréntesis indican porcentajes sobre el total de ensayos para cada antifúngico.

<sup>b</sup>SDD: 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 que oscilan entre el 76,0% (en el caso de la anidulafungina) y el 99,4% (para el voriconazol). Algunos laboratorios no interpretaron los resultados cuantitativos obtenidos, ya que no existen puntos de corte establecidos para algunos de los antifúngicos estudiados.

Analizados los resultados de los participantes desde un punto de vista general, hay bastante concordancia con los aportados por el laboratorio de referencia. Respecto a la anidulafungina, diez de los once centros que informaron sensibilidad intermedia obtuvieron una CMI de 0,5-1 µg/mL, si bien probablemente prefirieron cambiar la interpretación a "intermedia" debido a que las equinocandinas presentan "menor actividad" frente a *C. parapsilosis*.

## 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 (93,3%) centros comentan no utilizarlo, 4 (1,9%) afirman haberlo usado y 10 lo utilizaron parcialmente (4,8%).

## COMENTARIOS

La mayoría de comentarios afirmaban que el paciente había desarrollado una endocarditis por *C. parapsilosis* sobre válvula protésica. 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. Tras la negativización de los hemocultivos, muchos centros aconsejaban el tratamiento con fluconazol oral de por vida.

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.

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.

Por último, un laboratorio comentó que con la galería API ID 32C obtenía repetidamente la especie *Debaryomyces etchelsii*.