

CONTROL DE CALIDAD DE MICOLOGÍA (M-1/14)

En el presente control se envió a los participantes un tubo con medio Sabouraud que contenía un único hongo filamentoso que fue caracterizado por el laboratorio de referencia como *Aspergillus fumigatus*. La historia clínica que acompañaba a la cepa pertenecía a un paciente de 67 años de edad, que fue diagnosticado de leucemia mieloide aguda. Ingresó en el hospital por presentar un cuadro de fiebre con malestar general, tos con expectoración herrumbrosa y dolor de tipo pleurítico. En el momento de la exploración, la auscultación revelaba crepitantes en campos pulmonares superiores y era evidente la disnea ante mínimos esfuerzos. La radiografía de tórax mostró infiltrados pulmonares en lóbulo superior derecho y la TAC torácica objetivó la presencia de lesiones focales con cavitación y consolidación segmentaria en lóbulo superior derecho. Al paciente se le extrajo un broncoaspirado que fue remitido al Servicio de Microbiología para estudio bacteriológico y micológico. A las 72 horas de incubación, en medio de Sabouraud cloranfenicol, comenzó a crecer el hongo que fue objeto del presente control.

Se solicitó a los laboratorios participantes la **identificación** del hongo implicado en este cuadro clínico, el 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 194 remitieron hoja de respuesta, todos ellos con respuestas valorables. Así, el porcentaje de participación fue del 91,5%, similar al del último control de Micología (93,3%).

El Programa de Control de Calidad SEIMC aceptó como válida la identificación correcta de género y especie (*Aspergillus fumigatus*), y como aceptables la identificaciones *Aspergillus* sección *Fumigati* (también conocido como complejo *Aspergillus fumigatus*) y *Aspergillus neoellipticus*, especie perteneciente a este complejo. Así, el porcentaje de identificaciones correctas fue del 91,2% (tabla 1). El laboratorio de referencia obtuvo la identificación mediante examen microscópico con azul de lactofenol y posterior estudio de secuenciación.

Tabla 1. Resultados de la identificación micológica.

Identificación	Número	%
<i>Aspergillus fumigatus</i>	162	83,5
<i>Aspergillus</i> sección <i>Fumigati</i>	14	7,2
Género <i>Aspergillus</i>	9	4,7
<i>Aspergillus flavus</i>	4	2,1
<i>Aspergillus niger</i>	2	1,0
<i>Aspergillus neoellipticus</i>	1	0,5
<i>Candida tropicalis</i>	1	0,5
<i>Trichosporon asahii</i>	1	0,5
Total	194	100,0

En cuanto a los métodos empleados para la identificación, hay una amplia variabilidad de técnicas informadas aunque, en su mayoría, se basan en las características macroscópicas y microscópicas de la cepa, con o sin azul de lactofenol (tabla 2).

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Métodos	Número	%
Microscopía	59	30,4
Estudio macroscópico y microscópico	42	21,7
Estudio microscópico con azul de lactofenol	33	17,0
Estudio macro-microscópico + espectrometría de masas	15	7,8
Estudio macro-microscópico con azul de lactofenol	11	5,7
Manual	10	5,2
Cultivo + microscopía	5	2,6
Estudio macro-microscópico + secuenciación	4	2,1
Espectrometría de masas	3	1,5
Estudio macro-microscópico + temperaturas	3	1,5
Características morfológicas + técnicas moleculares	2	1,0
Cultivo + estudio macro-microscópico	2	1,0
Cultivo + tinción con azul de lactofenol	1	0,5
Espectrometría de masas + azul lactofenol	1	0,5
Pruebas bioquímicas	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
No informa	1	0,5
Total	194	100,0

Respecto a las marcas comerciales utilizadas en la identificación, 19 centros emplearon el MALDI-TOF, mientras que un centro que informó *Trichosporon asahii* manifiesta que utilizó la galería API® ID 32 C (de bioMérieux).

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFÚNGICOS

De los 192 centros que remitieron respuesta con la identificación mínima de género *Aspergillus*, 23 (12,0%) realizaron estudio de sensibilidad. Algunos de los laboratorios que no llevaron a cabo el antifungigrama indicaron que remitirían la cepa a un centro de referencia. Sólo 23 centros realizaron antifungigrama. Algo más de la mitad de éstos, concretamente 12, (52,2%) utilizaron el E-test®, mientras que el 43,5% de los participantes que determinaron la CMI lo hicieron mediante microdilución en caldo. Por último, el método de disco-placa se informó únicamente por el 8,6% de los laboratorios que realizaron antifungigrama (tabla 3).

Tabla 3. Métodos empleados en el antifungigrama.

Método	Número	%
E-test®	11	47,9
CMI ^a	10	43,5
Disco-placa	1	4,3
Disco-placa + E-test®	1	4,3
Total	23	100,0

^aCMI por microdilución en caldo.

Respecto a las marcas empleadas para realizar las CMIs, el sistema comercial más utilizado fue el Sensititre® (80,0%). Un centro realizó el Vitek® comentando que este sistema no estaba estandarizado para hongos filamentosos. Por último, un participante no especificó la marca comercial empleada, probablemente por tratarse de una técnica manual de desarrollo propio (tabla 4).

Tabla 4. Marcas empleadas en el antifungigrama para CMI.

Marca	Número	%
Sensititre®	8	80,0
Vitek® YS07 (bioMérieux)	1	10,0
No especifican	1	10,0
Total	10	100,0

El laboratorio utilizado como de referencia no realizó antifungigrama, por lo que esta información de la sensibilidad es a título orientativo.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

De los 23 laboratorios que realizaron estudio de sensibilidad, 11 (47,9%) emplearon los criterios del CLSI, otros 10 (43,5%) los del EUCAST, un centro (4,3%) según la bibliografía, mientras que otro centro no interpretó las CMI obtenidas (tabla 5).

Tabla 5. Criterios seguidos para la interpretación de los resultados.

Marca	Número	%
CLSI	11	47,9
EUCAST	10	43,5
Bibliografía	1	4,3
No interpreta sensibilidad	1	4,3
Total	23	100,0

La tabla 6 resume los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad a los antifúngicos. En total, se recibieron resultados correspondientes a 11 antifúngicos diferentes, aunque sólo se detallan los que fueron referidos por 5 ó más participantes. Algunos laboratorios no interpretaron los resultados cuantitativos obtenidos, ya que no existen puntos de corte establecidos para alguno de los antifúngicos estudiados.

Tabla 6. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antifúngicos.

Antifúngico	Número	Interpretación ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Voriconazol	23	20 (87,0)	0	0	3 (13,0)
Anfotericina B	22	16 (72,7)	1 (4,6)	2 (9,1)	3 (13,6)
Itraconazol	18	13 (72,2)	0	3 (16,7)	2 (11,1)
Caspofungina	16	7 (43,8)	0	2 (12,4)	7 (43,8)
Posaconazol	15	14 (93,3)	0	0	1 (6,7)
Anidulafungina	9	3 (33,3)	0	1 (11,1)	5 (55,6)
Micafungina	9	3 (33,3)	0	1 (11,1)	5 (55,6)
Fluconazol	6	0	0	5 (83,4)	1 (16,6)

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

UTILIZACIÓN DE LABORATORIO EXTERNO

Por lo que respecta a la necesidad de utilizar un laboratorio externo para la identificación del hongo objeto del control, se obtuvieron los siguiente datos: 189 (97,4%) participantes comentan no utilizarlo, 2 (1,0%) afirman haberlo usado y 3 (1,6%) lo emplearon parcialmente.

COMENTARIOS

Entre los comentarios más habituales de los participantes se encuentran los que hacen referencia a la pauta terapéutica, aconsejándose con mayor frecuencia el tratamiento precoz con voriconazol asociado a una equinocandina, o bien, a la anfotericina B liposomal.

Algunos participantes comentan que se trata de un cuadro de aspergilosis pulmonar invasiva con alta mortalidad y otros que sería recomendable completar el estudio realizando pruebas como la detección de galactomanano.

Algunos centros aconsejan realizar una PCR con secuenciación para diferenciar *A. fumigatus* de otras especies crípticas que son indistinguibles microscópicamente de esta especie. Por último, como ya se ha mencionado, algunos laboratorios manifiestan que, de tratarse de una muestra clínica, enviarían la cepa a un centro de referencia para estudio de sensibilidad o que únicamente lo realizarían en caso de fallo terapéutico.