

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE MICOLOGÍA CONTROL M-1/15

En el presente control se envió a los participantes un tubo con medio Sabouraud que contenía un hongo filamentoso. El valor asignado de referencia de la muestra fue *Fusarium solani*, esta identificación se realizó mediante un examen microscópico con azul de lactofenol y fue confirmada mediante secuenciación del ARN ribosómico 18S. La historia clínica que acompañaba a la cepa correspondía a un varón de 53 años de edad, diagnosticado de leucemia mieloide aguda, que se encontraba en tratamiento quimioterápico. Había ingresado en el servicio de Oncología de su hospital de zona, presentando un cuadro febril de 24 horas de evolución, inicialmente sin foco aparente, que se acompañaba en las horas previas de la aparición de máculas eritematosas en miembros inferiores que comenzaron a extenderse a tronco y brazos. A la exploración, el paciente presentaba mal estado general, palidez mucocutánea y fiebre termometrada de 39,2°C con múltiples lesiones eritemato-violáceas de centro necrótico de 1 a 2 cm de diámetro que se extendían por miembros inferiores, tronco y miembros superiores. No se palpaban adenopatías ni visceromegalias, ni se observaba alteración de faneras. La analítica mostró: Hb 8,12 g/dl, Hto: 22,9, plaquetas: 13790, PCR: 29,14, leucocitos: 700/mm³ (algunos neutrófilos y linfocitos). Se tomaron muestras de sangre para hemocultivos, aunque el paciente llevaba tratamiento previo profiláctico con fluconazol, aciclovir y norfloxacin. A las 72 h de incubación creció en los medios habituales el hongo 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 209 laboratorios participantes, de los que 189 remitieron hoja de respuesta. Un centro, tras el subcultivo de la muestra, no obtuvo crecimiento (0,5%), por lo que hubo 188 respuestas analizables, lo que supone un porcentaje de participación real del 90,0%. Este porcentaje es similar al de los controles M-2/14 (94,8%, *Candida tropicalis*) y M-1/14 (91,5%, *Aspergillus fumigatus*).

El Programa de Control de Calidad SEIMC consideró óptima la identificación correcta de género y especie (*F. solani*), y aceptables las identificaciones de género *Fusarium* o bien, la de cualquier especie perteneciente al mismo. Un 42,9% de los participantes identificó *F. solani*, otro 40,7% respondió género *Fusarium*, mientras que un 3,7% identificó otra especie dentro de dicho género, con lo que hubo un 87,3% de respuestas aceptables. Todos estos datos se observan en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados de la identificación micológica.

Identificación	Número	%
<i>Fusarium solani</i>	81	42,9
Género <i>Fusarium</i>	77	40,7
<i>Acremonium strictum</i>	10	5,3
<i>Fusarium oxysporum</i>	6	3,2
<i>Sporothrix schenkii</i>	3	1,6
<i>Candida ciferrii</i>	2	1,1
Género <i>Acremonium</i>	2	1,1
<i>Scedosporium apiospermum</i>	2	1,1
<i>Candida albicans</i> var. <i>stellatoidea</i>	1	0,5

<i>Fusarium verticilloides</i>	1	0,5
Género <i>Candida</i>	1	0,5
Género <i>Scedosporium</i>	1	0,5
<i>Scedosporium prolificans</i>	1	0,5
No se obtiene crecimiento	1	0,5
Total	189	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 en cultivo y las microscópicas, con o sin azul de lactofenol (tabla 2).

Tabla 2. Métodos utilizados en la identificación.

Método	Número	%
Cultivo + tinción con azul de lactofenol	41	21,8
Estudio macro-microscópico con azul de lactofenol	31	16,5
Cultivo + Estudio macro-microscópico	30	16,0
Estudio macro-microscópico + Espectrometría de masas	24	12,8
Cultivo y Microscopía	16	8,5
Microscopía	14	7,5
Espectrometría de masas	6	3,2
Espectrometría de masas + azul de lactofenol	6	3,2
Estudio macroscópico y microscópico	4	2,1
Estudio macro-microscópico + Secuenciación	4	2,1
Pruebas bioquímicas	3	1,6
Microcultivo (laminocultivo) + Microscopía	2	1,1
Características macroscópicas	1	0,5
Estudio macro-microscópico + Espectrometría masas + Secuenciación	1	0,5
Estudio microscópico con azul de lactofenol	1	0,5
Microscopía + Secuenciación	1	0,5
Secuenciación	1	0,5
No informa	2	1,1
Total	188	100,0

Respecto a las marcas comerciales utilizadas en la identificación, 37 centros emplearon el Maldi-TOF (Bruker / Vitek MS). Asimismo, un centro que informó *Candida albicans* var. *stellatoidea* manifestó que utilizó el sistema MicroScan®, mientras que otro centro que informó *Candida ciferrii* utilizó una galería API® 20 C AUX.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIFÚNGICOS

De los 165 centros que remitieron respuesta con la identificación mínima de género *Fusarium*, solo 20 (12,1%) 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. La mayoría de los centros que informaron el antifungigrama (16, el 80,0%) utilizaron el E-test®, mientras que 7 (35,0%) de los participantes determinaron la CMI mediante microdilución en caldo. Por último, el método de disco-placa se informó únicamente por el 5,0% de los laboratorios que realizaron antifungigrama. Todos estos datos se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Métodos empleados en el antifungigrama.

Método	Número	%
E-test®	12	60,0
CMI ^a + E-test®	4	20,0
CMI ^a	3	15,0
Disco-placa	1	5,0
Total	20	100,0

^aCMI por microdilución en caldo.

Respecto a las marcas empleadas para realizar las CMIs, el sistema comercial más utilizado fue el Sensititre® (57,2%). Dos centros (28,5%) realizaron una microdilución manual. Por último, un participante (14,3%) no especificó la marca comercial empleada (tabla 4).

Tabla 4. Marcas empleadas en el antifungigrama para CMI.

Marca	Número	%
Sensititre®	4	57,2
Manual	2	28,5
No especifican	1	14,3
Total	7	100,0

En esta ocasión no se dispone de resultados de referencia para el antibiograma, por lo que los resultados de sensibilidad de los participantes no pudieron compararse con los de referencia.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS CUALITATIVOS

De los 20 laboratorios que realizaron antifungigrama, 9 (45,0%) utilizaron los criterios según la bibliografía, 4 (20,0%) los criterios del CLSI, otros 3 (15,0%) usaron los del CLSI junto con los del EUCAST y 2 centros (10,0%) según los criterios del EUCAST. Por último, hubo 2 centros (10,0%) que no interpretaron las CMI obtenidas (tabla 5).

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

Marca	Número	%
Bibliografía	9	45,0
CLSI	4	20,0
CLSI + EUCAST	3	15,0
EUCAST	2	10,0
No interpreta sensibilidad	2	10,0
Total	20	100,0

La tabla 6 resume los resultados de las pruebas cualitativas de sensibilidad a los antifúngicos. En total, se recibieron resultados correspondientes a 10 antifúngicos diferentes, aunque sólo se detallan los que fueron referidos por 10 ó más participantes. Algunos laboratorios no interpretaron los resultados cuantitativos obtenidos, por no existir puntos de corte establecidos en los criterios empleados.

Tabla 6. Resultados cualitativos de sensibilidad a los antifúngicos.

Antifúngico	Número	Interpretación ^a			
		Sensible	Intermedio	Resistente	No interpreta
Anfotericina B	20	8 (40,0)	0	4 (20,0)	8 (40,0)
Voriconazol	20	3 (15,0)	1 (5,0)	8 (40,0)	8 (40,0)
Caspofungina	13	0	0	8 (61,5)	5 (38,5)
Itraconazol	10	0	0	5 (50,0)	5 (50,0)
Posaconazol	10	0	0	6 (60,0)	4 (40,0)

^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, de los 188 centros que emitieron un resultado evaluable: 180 (95,8%) participantes comentan no utilizarlo, 4 (2,1%) afirman el haberlo usado y otros 4 (2,1%) lo usaron 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 anfotericina B liposomal asociada al voriconazol, o bien, a una equinocandina.

Bastantes centros, como ya se ha mencionado, comentaban explícitamente que no existían puntos de corte del CLSI ni del EUCAST para género *Fusarium*.

Por último, algunos laboratorios manifiestan que, no realizan antifungigrama de hongos filamentosos y que, de tratarse de una muestra clínica, enviarían la cepa a un centro de referencia para estudio de sensibilidad

Madrid, 30 de enero de 2016

El Coordinador del Programa de Control de Calidad SEIMC

Nota: la asignación del valor de referencia ha sido subcontratada a laboratorios externos.

Nota: si los datos anteriores son incorrectos o consideran oportuno apelar los resultados, rogamos se dirijan a la secretaría del Programa CCS.

Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

c/ Alcalá 35, 3º. 28014 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: ccs@seimc.org