

Evaluación de la calidad del diagnóstico micológico: cultivos

Quality assessment of the mycological diagnosis: cultures

► Amadeo Javier Bava^{1*}, María Fernanda Zuiani^{2*}

1. Doctor en Medicina.
2. Bioquímica.

* Sub Programa Micología. Programa de Evaluación Externa de Calidad. Fundación Bioquímica Argentina. Cátedra de Micología y Parasitología. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata. Calle 115 y 47. La Plata. Buenos Aires. Argentina.

Resumen

Se evaluó la capacidad de los laboratorios participantes del Sub Programa Micología para identificar diferentes cepas de hongos al nivel de género o especie. Tomados los resultados en conjunto, el 66% de los laboratorios identificó en forma correcta las cepas, mientras que otro 25% lo hizo en forma parcial. En el caso de los dermatofitos hubo un mayor porcentaje de respuestas correctas para el reconocimiento de *Trichophyton mentagrophytes* (76%) respecto de las especies de *Microsporum* evaluadas: *M. canis* (66%) y *M. gypseum* (65%). Los resultados de la identificación de las especies de levaduras mostraron dos grupos diferentes: uno conformado por *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans*, con elevados porcentajes de respuestas correctas (87 y 95%, respectivamente) y otro por *C. tropicalis* y *C. glabrata*, que ocasionó dificultades para su correcta identificación (sólo 28 y 32% de respuestas correctas). Las especies de *Aspergillus* evaluadas (*A. fumigatus* y *A. niger*) fueron reconocidas en forma correcta por el 63 y 72% de los participantes. Los resultados obtenidos, si bien son considerados como aceptables, evidencian la necesidad de mejorar la capacidad evaluada, teniendo en cuenta su influencia decisiva sobre la calidad del diagnóstico micológico

Palabras clave: cultivos * control de calidad * micología

Summary

The ability to identify different fungal strains at genera or specie level for participant laboratories of the Mycology Sub-Program, was evaluated. Taking into account all results as a whole, 66% of laboratories identified the strains correctly, while another 25% recognized the strains partially. Regarding dermatophytes, a higher percentage of correct responses for Trichophyton mentagrophytes recognition was observed with respect to (76%) those of the evaluated Microsporum species: M. canis (66%) and M. gypseum (65%). The results produced by the identification of yeasts species showed 2 different groups: one constituted by Candida albicans and Cryptococcus neoformans, with higher percentages of correct responses (87 and 95%, respectively) and another one constituted by C. tropicalis and C. glabrata, which presented difficulties for their correct identification (28 and 32% correct responses). The evaluated species of Aspergillus (A. fumigatus and A. niger) were recognized by 63% and 72% of the participants. The results obtained, considered as acceptable, show the need to improve the evaluated capacity, taking into account their decisive influence on mycologic diagnosis quality.

Keywords: cultures * quality control * mycology

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

Introducción

La certeza del diagnóstico micológico se basa en la identificación precisa de los agentes causales de las micosis, aislados a partir de muestras clínicas representativas. Si bien la sensibilidad de los cultivos es variable según el caso, su especificidad es absoluta cuando permite la identificación del aislamiento (1) (2).

El diagnóstico etiológico de las micosis adquiere enorme implicancia terapéutica, teniendo en cuenta la eclosión de especies intrínsecamente resistentes a los tratamientos actualmente disponibles, las cuales pueden ser causantes de cuadros graves que ponen en peligro la vida del paciente (3).

La metodología empleada para la tipificación de los aislamientos fúngicos difiere de acuerdo a las características de estos últimos, basándose según el caso, en las características micromorfológicas, bioquímicas y/o fisiológicas de cada una de las especie (1) (2).

El Sub Programa Micología del Programa de Evaluación Externa de Calidad ha evaluado periódicamente en sus entregas la capacidad de los profesionales participantes para tipificar algunas especies fúngicas relacionadas en la producción de las micosis humanas (4).

El propósito de este trabajo es analizar los resultados obtenidos por los participantes del Sub Programa Micología en aquellas encuestas en las cuales fue incluida la tipificación de cepas de hongos.

Materiales y Métodos

Se incluyeron en el presente estudio todas aquellas encuestas practicadas por el Sub Programa Micología durante el lapso septiembre de 2002 - enero 2006, en las cuales los participantes debían identificar las cepas remitidas, al nivel de género o especie, según el caso.

Los participantes recibieron colonias de cepas de hongos de la colección de la Cátedra de Micología de la

Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata. Las mismas se hallaban desarrolladas en medios de cultivo simples (Sabouraud glucosado o Lac-trimel), tras 1 ó 2 semanas de incubación a 28 °C, según la especie en cuestión.

Las respuestas se ajustaron a los Números de Código oportunamente prefijados en la Tabla de Códigos del Sub-Programa, la cual obra en poder de cada uno de los participantes. Los géneros y especies incluidas en las encuestas analizadas (N° 4 al 8, 10 y 12 al 14) en el presente trabajo, se observan en la Tabla I.

Para analizar los resultados se establecieron los siguientes criterios de evaluación: respuesta correcta (identificación correcta del género y/o la especie de la cepa enviada, según los requerimientos del programa), parcialmente correcta (reconocimiento parcial de las cepas: sólo el género, cuando se requirió además la especie) e incorrecta.

Resultados

Son resumidos en la Tabla II, en la cual se puede observar el número y porcentaje de respuestas correctas, parcialmente correctas e incorrectas, obtenidos por los participantes en cada una de las 9 encuestas tomadas en cuenta.

Sobre un promedio de 611 (rango 579-703) laboratorios inscriptos, respondieron a las encuestas evaluadas en el presente trabajo, un promedio de 397 (rango 343-543), de los cuales el 65,8% identificó correctamente las cepas enviadas, el 24,8% lo hizo en forma parcialmente correcta y el 9,3% restante respondió incorrectamente.

En la Tabla III se agrupan las encuestas según las características micológicas de la especie fúngica enviada, y allí se observa una marcada homogeneidad de los resultados obtenidos por los participantes en la identificación de cada uno de los 3 grupos: dermatofitos, especies de *Aspergillus* y levaduras.

Tabla I. Cepas enviadas en las distintas encuestas del Sub Programa Micología del PEEC para su identificación, según el caso, al nivel de género o especie.

Encuesta	Género	Especie
4	<i>Trichophyton</i>	<i>mentagrophytes</i>
5	<i>Microsporum</i>	<i>gypseum</i>
6	<i>Aspergillus</i>	<i>fumigatus</i>
7	<i>Candida</i>	<i>albicans</i>
8	<i>Candida</i>	<i>tropicalis</i>
10	<i>Cryptococcus</i>	<i>neoformans</i>
12	<i>Aspergillus</i>	<i>niger</i>
13	<i>Microsporum</i>	<i>canis</i>
14	<i>Candida</i>	<i>glabrata</i>

Tabla II. Resultados de las encuestas enviadas por el Sub Programa Micología del PEEC, en las cuales se requería la tipificación de una cepa de hongo.

Encuesta	Cepa	Participantes	Correcta		Parcialmente correcta		Incorrecta	
			Nº	%	Nº	%	Nº	%
4	<i>T. mentagrophytes</i>	431	328	76,1	56	13,0	47	10,9
5	<i>M. gypseum</i>	408	263	64,5	126	30,8	19	4,7
6	<i>A. fumigatus</i>	430	271	63,0	120	27,9	39	9,1
7	<i>C. albicans</i>	402	349	86,8	35	8,7	18	4,5
8	<i>C. tropicalis</i>	379	106	28,0	225	59,3	48	12,7
10	<i>C. neoformans</i>	425	403	94,8	0	0,00	22	5,2
12	<i>A. niger</i>	383	275	71,8	71	18,5	37	9,7
13	<i>M. canis</i>	379	250	66,0	74	19,5	55	14,6
14	<i>C. glabrata</i>	343	112	32,6	182	53,1	49	14,3
		3580	2357	65,8	889	24,8	334	9,4

Tabla III. Resultados de las encuestas enviadas por el Sub Programa Micología del PEEC, discriminados de acuerdo al tipo de hongos enviado.

Encuestas	Cepas enviadas	Participantes	Correcta		Parcialmente correcta		Incorrecta	
			Nº	%	Nº	%	Nº	%
4	Levaduras	1549	970	62,6	442	28,5	137	8,9
3	Dermatofitos	1218	841	69,0	256	21,0	121	9,9
2	Especies de <i>Aspergillus</i>	813	546	67,2	191	23,5	76	9,3
		3580	2357	65,8	889	24,8	334	9,4

Por el contrario, en la Tabla IV se advierten las diferencias referentes a la identificación de las distintas especies de levaduras, conformándose 2 grupos, de acuerdo a los resultados obtenidos: uno compuesto por *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans*, con elevado porcentaje de reconocimiento, y otro por *C. tropicalis* y *C. glabrata*, con un porcentaje bajo.

Discusión y Conclusiones

La identificación de cepas al nivel de género o especie constituye una de las modalidades más frecuentemente empleadas por diferentes Programas encarga-

dos de evaluar la calidad del diagnóstico micológico de los laboratorios (5).

Este Programa, desde hace más de 5 años incluye, entre otros procedimientos de evaluación de la calidad del diagnóstico micológico, el envío de cepas de las especies fúngicas más frecuentemente aisladas de los materiales clínicos (4).

El diagnóstico micológico de certeza, basado principalmente en la identificación de los aislamientos al nivel de especie, proporciona mayores posibilidades de éxito terapéutico y desde el punto de vista epidemiológico, mejores oportunidades para el control de las enfermedades fúngicas.

Tabla IV. Resultados de las encuestas enviadas por el Sub Programa Micología del PEEC, discriminados de acuerdo al tipo de levadura enviada.

Encuesta	Cepa enviada	Total de participantes	Respuestas					
			Correctas		Parcialmente correctas		Incorrectas	
			Nº	%	Nº	%	Nº	%
7	<i>Candida albicans</i>	402	349	86,8	35	8,7	18	4,5
8	<i>Candida tropicalis</i>	379	106	28,0	225	59,4	48	12,6
10	<i>Cryptococcus neoformans</i>	425	403	94,8	0	0,0	22	5,2
14	<i>Candida glabrata</i>	343	112	32,6	182	53,1	49	14,3
		1549	970	62,6	442	28,6	137	8,8

La metodología empleada en la tipificación de los aislamientos, ya sea mediante el estudio de la micro-morfología de las cepas o bien de sus características bioquímicas y /o fisiológicas, es variable según las especies, y es descripta en detalle en múltiples manuales de la especialidad (1) (2).

Los resultados obtenidos en el presente estudio pueden ser considerados como aceptables, cuando son analizados de manera general, teniendo en cuenta que alrededor del 90% de los participantes logró la identificación de la cepa remitida, al menos al nivel de género, y de ellos, el 65,8% lo hizo correctamente al nivel de especie.

Cuando los resultados son discriminados en aquellos obtenidos de la identificación de dermatofitos, levaduras y especies de *Aspergillus*, se observaron similitud para cada uno de estos grupos, en los 3 tipos de respuesta, tal como se observa en la Tabla III.

Sin embargo, los resultados obtenidos tras el análisis de las respuestas para cada una de las 4 especies de levaduras evaluadas fueron totalmente heterogéneos. Los mismos pueden clasificarse en dos grupos: uno conformado por *C. albicans* y *C. neoformans* (cuyos porcentajes de resultados correctos fueron elevados: 87% y 95%, respectivamente) y el otro por *C. glabrata* y *C. tropicalis* (con porcentajes muy bajos de resultados correctos: 29% y 33%, respectivamente).

Tales diferencias pueden ser atribuidas a la metodología empleada para tipificación de ambos grupos de levaduras. Mientras que la identificación de *C. albicans* y *C. neoformans* puede hacerse mediante pruebas accesibles a los laboratorios de baja complejidad (micro-morfología y pruebas fisiológicas), las últimas requieren de costosos equipos comerciales (2), no siempre disponibles por lo laboratorios participantes en este Programa (4).

Se consideran satisfactorios los resultados obtenidos respecto de la identificación de *C. albicans*, una levadura que constituye una causa de enfermedad importante y extremadamente frecuente, tanto en los pacientes ambulatorios como en los hospitalizados (6).

Las restantes especies de *Candida* evaluadas son generalmente agentes causales de infecciones nosocomiales (6) y en el caso particular de *C. neoformans*, afecta a pacientes con SIDA y otras alteraciones de la inmunidad mediada por células (7).

Hoy día no puede menospreciarse la importancia de las especies de *Candida* diferentes de *C. albicans*, las cuales constituyen una causa cada vez más frecuente de infecciones fúngicas, preferentemente nosocomiales, y en menor medida de pacientes ambulatorios. Una de las especies evaluadas, *C. glabrata*, suele presentar un patrón de susceptibilidad a los antifúngicos variable, con valores de CIM superiores a los habitua-

les para los antifúngicos comúnmente empleados (6). Cabe entonces destacar que, de la correcta identificación de ésta y otras especies de levadura puede depender en algunos casos el éxito terapéutico y finalmente la vida del paciente (6).

Respecto de los dermatofitos, se observó una mayor capacidad para identificar correctamente a *Trichophyton mentagrophytes* (76,1%) respecto de ambas especies de *Microporum* evaluadas: *M. canis* (66%) y *M. gypseum* (64,5%).

Si bien en el caso de los dermatofitos, el reconocimiento de las especies puede no alcanzar desde el punto de vista terapéutico la relevancia que adquiere con otras especies fúngicas, puede tenerla desde la óptica epidemiológica (especies zoo, antropo o geófilas), brindando información precisa acerca del origen de una infección (8).

En el caso de las especies de *Aspergillus*, el 90% de los participantes logró la identificación correcta del género *Aspergillus*, y sólo el 63% y el 71% de los participantes hizo lo propio con las especies *A. fumigatus* y *A. niger*, respectivamente.

Estos últimos valores, que hoy podrían considerarse satisfactorios, en un futuro pueden no serlo, según informes recientes, que adjudican a ciertas especies de *Aspergillus* no *fumigatus* una eventual resistencia a los antifúngicos (9).

La recuperación de *Aspergillus* como agente causal de enfermedad cobra relevancia dentro del ámbito hospitalario, donde se presenta en individuos portadores de determinadas causas favorecedoras. También puede aislarse de pacientes ambulatorios como agente causal de onicomicosis, otomicosis y de la forma pulmonar cavitaria de la aspergilosis. Finalmente, las especies de *Aspergillus* constituyen un contaminante extremadamente frecuente en los laboratorios cuyo reconocimiento no puede obviarse (10). Inclusive, la asociación más frecuente de *A. fumigatus* con procesos patológicos respecto de otras especies del género, obliga a establecer una segura diferenciación entre ésta y otras especies del género (10).

A manera de síntesis, los resultados obtenidos por el Sub Programa Micología hasta el momento, a partir de la identificación de cepas de hongos, si bien pueden ser considerados aceptables, evidencian la necesidad de mejorar la capacidad evaluada, teniendo en cuenta su influencia decisiva sobre la calidad del diagnóstico micológico.

CORRESPONDENCIA

DR. AMADEO JAVIER BAVA

Darregueyra 2470. 7° "C".

1425. Buenos Aires

E-mail: javibava@biol.unlp.edu.ar

Referencias bibliográficas

1. Larone DH. Medically Important Fungi. 4th. ed. Washington DC: ASM; 2002.
2. Freydiere AM, Guinet R, Boiron P. Yeast identification in the clinical microbiology laboratory: phenotypical methods. *Med Mycol* 2001; 39: 9-33.
3. Perfect JR, Schell WA. The new fungal opportunists are coming. *Clin Infect Dis* 1996; 22 (Suppl 2): S112-8.
4. Bava AJ, Zuiani MF. Evaluación de la calidad del diagnóstico micológico: microscopia. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2006; 40 (4): 561-5.
5. Barlett RC, Mazzens-Sullivan M, Tetreault JZ, Lobel S, Nivard J. Evolving approaches to management of quality in clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev* 1994; 7: 55-88.
6. Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections with emphasis on *Candida* species. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 1526-30.
7. Mitchell TG, Perfect JR. Cryptococcosis in the era of AIDS—100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 515-48.
8. Weitzman I, Summerbell RC. The dermatophytes. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 240-59.
9. Chamilos G, Kontoyiannis DP. Update on antifungal drug resistance mechanisms of *Aspergillus fumigatus*. *Drug Resist Updat* 2005; 8: 344-58.
10. Latgé JP. *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 310-50.

Aceptado para su publicación el 5 de septiembre de 2006

