



Evaluación micológica de un nuevo medio de cultivo cromógeno (Candida ID®) para el aislamiento e identificación presuntiva de *Candida albicans* y otras levaduras de interés médico

Guillermo Quindós¹, Rocío Alonso-Vargas¹, Silvia Helou², Alicia Arechavala², Estrella Martín-Mazuelos³ y Ricardo Negroni²

¹Laboratorio de Micología Médica, Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco, Bilbao, España; ²Servicio de Micología Médica, Hospital F.J. Muñiz, Buenos Aires, Argentina; ³Servicio de Microbiología Médica, Hospital Universitario Valme, Sevilla, España

Resumen

La candidiasis es una infección frecuente en el ser humano causada principalmente por *Candida albicans*. Sin embargo, especies como *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* o *Candida guilliermondii*, están emergiendo como patógenos importantes. Una identificación rápida de los aislamientos es de gran ayuda en el diagnóstico y tratamiento de las infecciones. Candida ID® (bioMérieux, España) es un nuevo medio comercial para el aislamiento e identificación presuntiva de levaduras: *C. albicans* crece como colonias azules y *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *Candida kefyr* y *Candida lusitanae* como colonias rosas.

Se ha evaluado la utilidad del medio Candida ID con más de 700 aislamientos clínicos y cepas de colección de diferentes géneros, incluyendo *Candida*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces*, y *Rhodotorula*. La identificación presuntiva se confirmó con las pruebas de producción de tubo germinal en suero, morfología microscópica y producción de clamidosporas en agar harina de maíz, y asimilación de sustratos carbonados mediante los sistemas API-ATB ID 32C o Vitek (bioMérieux).

El crecimiento en Candida ID fue rápido (18-24 h) para la mayor parte de los aislamientos evaluados. La sensibilidad y especificidad para *C. albicans* fueron altas (>98 %), encontrándose muy pocos aislamientos falsos negativos o falsos positivos. Para las especies que presentan colonias rosas, estos valores fueron aún más altos (>99,5 %). La diferenciación de las diversas especies de levaduras de importancia médica en el medio Candida ID fue sencilla por la clara distinción de colores y texturas en el medio. Candida ID permitió diferenciar entre *C. glabrata* (colonias cremosas y lisas) y *C. krusei* (colonias blancas y rugosas). Otras especies mostraron diferentes colores y texturas, siendo el color blanco el predominante. Candida ID fue de gran utilidad en la identificación presuntiva de *C. albicans*.

Palabras clave

Medio Candida ID®, Agar cromógeno, *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida tropicalis*, Levaduras, Identificación presuntiva

Dirección para correspondencia:

Dr. Guillermo Quindós
Laboratorio de Micología Médica
Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología
Facultad de Medicina y Odontología
Universidad del País Vasco
Apdo. 699, E-48080 Bilbao, España
Fax: +34 94 464 8152
E-mail: oipquang@lg.ehu.es

Aceptado para publicación el 14 de Marzo de 2001

Evaluation of a new chromogenic medium (Candida ID™) for the isolation and presumptive identification of *Candida albicans* and other medically important yeasts

Summary

Candidiasis is a frequent human infection caused mainly by *Candida albicans*. However, other species are emerging as important pathogens, as *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* or *Candida guilliermondii*. Rapid identification of clinical isolates could facilitate diagnosis and treatment. Candida ID™ (bioMérieux, Spain) is a new medium for the isolation and presumptive identification of yeasts: *C. albicans* grows as blue colonies, and *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *Candida kefir* and *Candida lusitaniae* as pink ones.

The utility of Candida ID was evaluated with more than 700 clinical isolates and type culture collection strains from different genera including *Candida*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces*, and *Rhodotorula*. Presumptive identification was confirmed by germ tube test, microscopic morphology and chlamydoconidia production on corn meal agar and carbohydrate assimilation on API-ATB ID 32C or Vitek (bioMérieux).

Growth on Candida ID was rapid (18-24 h) for most of the yeast strains tested. Sensitivity and specificity of identification of *C. albicans* was significantly high (> 98 %), since a very low number of isolates were found to be false negative or false positive. A better result was obtained for species growing as pink colonies (> 99.5 %). Detection of different species of medical important yeasts was easy with Candida ID, as perfectly distinct colors and textures of colonies were observed on this medium. Candida ID allowed the discrimination between *C. glabrata* (creamy and smooth) and *C. krusei* (rough and white) colonies. Other species showed different colony textures and colours, white being the predominant colour. Candida ID was very useful for the presumptive identification *C. albicans* isolates.

Key words

Candida ID™ agar, Chromogenic agar, *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida tropicalis*, Yeasts, Presumptive identification

Candida albicans está incluida entre los diez patógenos más frecuentemente aislados de pacientes con infecciones nosocomiales (el cuarto por detrás de *Staphylococcus aureus*, estafilococos coagulasa-negativos y enterococos en EE.UU.) y se asocia de una manera importante y común a diferentes cuadros infecciosos mucocutáneos [1,2]. Es por lo tanto, sumamente importante realizar un diagnóstico rápido y preciso de las candidiasis, que permita conocer la identidad de la especie implicada para poder instaurar un tratamiento antifúngico precoz y adecuado.

La mayoría de las técnicas convencionales de identificación de *Candida* se basan en métodos bioquímicos que requieren uno o más días para su correcta interpretación y que emplean colonias previamente aisladas que retrasan esta identificación. Los avances científico-tecnológicos están permitiendo obtener técnicas rápidas de identificación basadas en indicadores de pH, fermentación de compuestos específicos o sustratos cromógenos o fluorógenos que facilitan la detección de actividades enzimáticas fúngicas [3-5]. Dentro de estas últimas, se han estudiado las actividades β -D-glucosidasa, pirofosfatodiesterasa, fosfatasa ácida, L-prolina-aminopeptidasa y N-D-acetil- β -D-galactosaminidasa con resultados prometedores que han permitido la comercialización de varios medios de cultivo, como Albicans ID® [6-13] y Candida ID® (bioMérieux, España) [12-15], CHROMagar Candida® (CHROMagar Company, Francia) [10,12,16-21], Fluoroplate Candida® (Merck, Alemania) [7,12,13,22,23], o Chromalbicans® (Biolife, Italia) [8].

El objetivo de este estudio ha sido evaluar la eficacia de las placas de agar Candida ID como método de identificación macroscópica rápida de *C. albicans* y otras levaduras de interés médico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Microorganismos. Se estudiaron un total de 779 aislamientos clínicos y cepas de colección pertenecientes a 17 especies fúngicas: *Candida albicans* (421 aislamientos), *Candida glabrata* (118), *Candida krusei* (70), *Candida dubliniensis* (49), *Candida parapsilosis* (30), *Candida tropicalis* (25), *Candida lusitaniae* (21), *Cryptococcus neoformans* (20), *Saccharomyces cerevisiae* (8), *Candida guilliermondii* (7), *Rhodotorula rubra* (3), *Candida famata* (2), y un aislamiento de cada una de las siguientes especies, *Candida kefir*, *Candida rugosa*, *Candida sake*, *Cryptococcus albidus* y *Pichia etchellsii*.

Identificación de referencia. Los aislamientos estudiados fueron identificados por métodos micológicos convencionales que incluían la prueba de producción de tubo germinal en suero de caballo después de una incubación de 2 a 3 h a 37 °C [24], observación de la morfología microscópica y formación de clamidosporas en agar harina de maíz-Tween 80 (Oxoid, Inglaterra) por la técnica de Dalmau [25] y asimilación de fuentes de carbono con el método comercial API-ATB ID 32C (bioMérieux) o con el Vitek 2 (bioMérieux) [26]. La identificación de *C. dubliniensis* se realizó por inmunofluorescencia indirecta según la técnica descrita por Bikandi *et al.* [27].

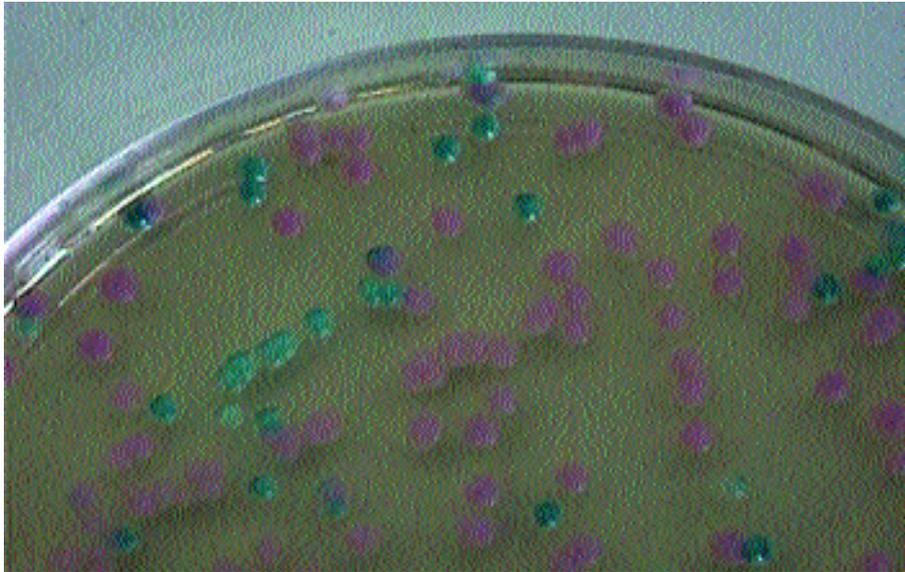


Figura 1. Crecimiento de colonias de *Candida albicans* (azules) y *Candida tropicalis* (rosas) en el medio Candida ID.

Inoculación e incubación. Todos los aislamientos se sembraron previamente en placas de agar glucosado de Sabouraud (Difco, EEUU) que se incubaron durante 24-48 h a 30 °C. Posteriormente, de tres a cuatro colonias de cada aislamiento fueron recogidas con un asa de siembra microbiológica e inoculadas en placas de agar Candida ID que se incubaron durante 24-72 h a 37 °C. Después de la incubación se procedió a su interpretación según el color, textura y otras características macroscópicas de las colonias.

Agar Candida ID. Las placas de agar Candida ID están comercializadas y su composición por litro de agua es la siguiente: extracto de levadura 6 g, extracto de malta 4,5 g, peptona de caseína 5 g, substratos y reguladores enzimáticos 1,71 g, mezcla selectiva 0,21 g y agar 14 g. El pH del medio es 6,7. Cuando los substratos son hidrolizados por las hexosaminidasas correspondientes permiten la identificación específica de las colonias de *C. albicans* en base a su color azulado (Figura 1). Las colonias de las especies *C. tropicalis*, *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii* y *C. kefyr* se pigmentan de color rosa (Figura 2). Las colonias del resto de las especies de levaduras de interés médico pueden presentar variaciones de color que van desde el blanco o crema hasta el marrón o naranja sin confundirse con los colores descritos para las especies anteriores.

Evaluación de la utilidad. Para la valoración de la sensibilidad, especificidad, valores predictivos de las pruebas positiva y negativa y la eficiencia del agar Candida ID en la identificación de *C. albicans* y del grupo de especies que incluía *C. tropicalis*, *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii* y *C. kefyr*, se han utilizado las formulas: sensibilidad (%) = positivos verdaderos x 100 / (positivos verdaderos + falsos negativos); especificidad (%) = negativos verdaderos x 100 / (negativos verdaderos + falsos positivos); valor predictivo de la prueba positiva (%) = positivos verdaderos x 100 / (positivos verdaderos + falsos positivos); valor predictivo de la prueba negativa (%) = negativos verdaderos x 100 / (negativos verdaderos + falsos negativos); y eficiencia (%) = (positivos verdaderos + negativos verdaderos) x 100 / (positivos verdaderos + falsos positivos + negativos verdaderos + falsos negativos).

RESULTADOS

El crecimiento en Candida ID fue rápido (18-24 h) para la mayoría de las especies estudiadas. Las colonias azules de *C. albicans* se diferenciaban de forma sencilla después de este periodo de incubación. De los aislamientos cultivados, 463 mostraron colonias de color azul, de los que 419 correspondían a *C. albicans*, 43 a *C. dubliniensis* y uno a *C. albidus*. Otros 57 aislamientos mostraron colonias rosas, de los que 25 correspondían a *C. tropicalis*, 21 a *C. lusitaniae*, siete a *C. guilliermondii* y uno a *C. kefyr*, pero hubo tres falsos positivos, que fueron identificados como *C. albicans* (dos aislamientos) y *C. sake* (un aislamiento). La concordancia de la lectura de las colonias en el medio Candida ID realizada por tres observadores independientes fue absoluta.

La evaluación de las colonias de los 49 aislamientos de *C. dubliniensis* mostró una variación del color de las colonias en comparación a las de *C. albicans*. Las colonias de *C. dubliniensis* mostraron un color azul turquesa (más claro y con tonos verdosos) en 43 de los aislamientos estudiados, aunque los otros seis aislamientos crecieron formando colonias blancas. En contraste, las colonias de la mayoría de los aislamientos de *C. albicans* (419 de 421 aislamientos) eran de un color azul más intenso y oscuro (Figura 3).

Para evaluar la utilidad de la técnica en identificar *C. albicans*, se consideraron que 462 resultados eran positivos verdaderos, 308 negativos verdaderos, ocho falsos negativos y un falso positivo (Tabla 1) que daban a la interpretación como *C. albicans* de las colonias azules, una sensibilidad del 98,3 %, una especificidad del 99,7 %, una eficiencia del 98,8 % y unos valores predictivos de las pruebas positiva y negativa del 99,8 % y del 97,5 %, respectivamente.

La evaluación de la utilidad de la técnica para identificar los aislamientos del grupo de especies que incluía a *C. tropicalis*, *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii* y *C. kefyr* (54 positivos verdaderos, 722 negativos verdaderos y tres falsos positivos) mostraba que la interpretación como perteneciente a estas especies de las colonias rosas, tenía una sensibilidad del 100 %, una especificidad del 99,6 %, una

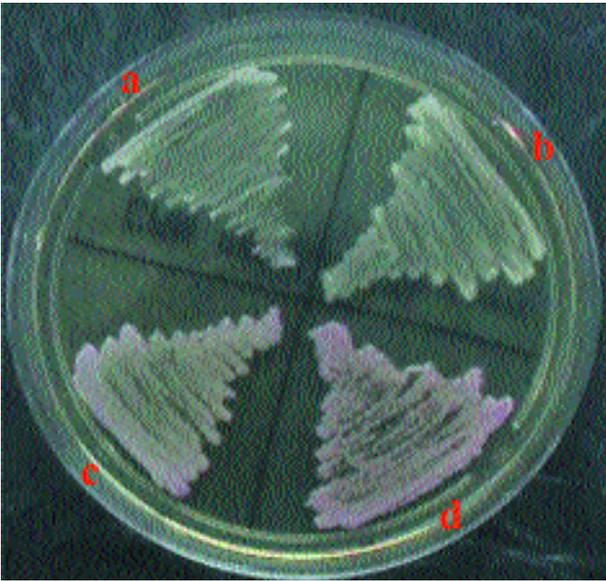


Figura 2. Crecimiento de las colonias de las especies *Candida glabrata* (a), *Candida krusei* (b), *Candida lusitanae* (c) y *Candida tropicalis* (d) en el medio Candida ID.

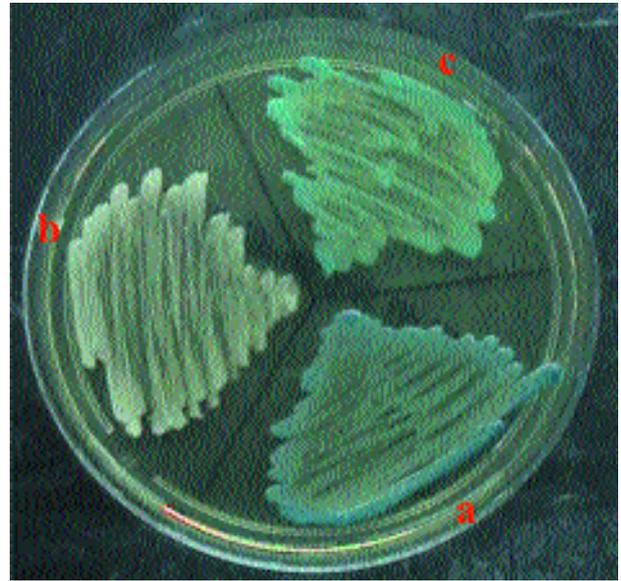


Figura 3. Diferencia entre las colonias de *Candida albicans* (a) y de *Candida dubliniensis* (b y c) en el medio Candida ID.

eficiencia del 99,6 % y unos valores predictivos de las pruebas positiva y negativa del 94,7 % y del 100 %, respectivamente.

DISCUSIÓN

El aumento de las micosis ha creado la necesidad de emplear medios de cultivo específicos para hongos en el procesamiento de aquellas muestras clínicas de enfermos en los que se sospecha una enfermedad de etiología fúngica. El agar glucosado de Sabouraud con antibióticos antibacterianos es una alternativa válida sobre medios no selectivos para hongos, como el agar sangre o chocolate [28]. Sin embargo, la detección de infecciones mixtas o la identificación presuntiva del aislamiento en base a su morfología colonial son difíciles en este medio que no ha sido diseñado con esta finalidad. La utilización de los medios que contienen sustratos de las hexosaminidasas han supuesto un gran avance en el laboratorio de Microbiología clínica por poseer una utilidad mayor que otros medios tradicionales de aislamiento e identificación rápida de *C. albicans* [23]. Algunos de estos métodos permiten el aislamiento e identificación de las colonias de *C. albicans*, como Albicans ID, Chromalbicans o Fluoroplate Candida [6-15,22,23]. CHROMagar Candida permite la identificación presuntiva de dos especies adicionales, *C. tropicalis* y *C. krusei* [10,12,16-21].

Un nuevo y prometedor ejemplo de estos medios es el agar Candida ID que emplea una mezcla cromógena que permite visualizar de forma eficaz y rápida las colonias pertenecientes a *C. albicans* y otras especies de levaduras de interés médico, como *C. tropicalis*, *C. lusitanae* o *C. guilliermondii*. En el presente estudio, hemos observado con este medio que la sensibilidad y la especificidad (98,3 y 99,7%, respectivamente) son excelentes para la identificación de *C. albicans* y que se observan muy pocos resultados falsos positivos o negativos. Dos aislamientos de *C. albicans* no formaron colonias azules y en cambio, sí lo hizo un aislamiento de *C. albidus*. Estos resultados concuerdan con los de Orenga *et al.* [14] que observan valores de sensibilidad y especificidad de 100 % y 90%, respectivamente, para esta especie. Valores simila-

res han sido expuestos por Fricker-Hidalgo *et al.* [15], con una sensibilidad de 98,7 % y una especificidad de 100 %.

Las técnicas convencionales de identificación de *C. albicans*, como la producción de tubo germinal en suero o de clamidosporas en agar harina de maíz o de arroz, presentan un porcentaje variable de falsos negativos (entre 5 y 10%). Por otro lado, otras especies como *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *Cryptococcus gastricus* o, la recientemente descrita, *C. dubliniensis* [3,6,29,30], pueden producir tubos germinales y/o clamidosporas. Estos dos métodos requieren experiencia para su interpretación, lo que plantea problemas en aquellos laboratorios de Microbiología clínica poco familiarizados con los hongos. Además, el medio Candida ID permite identificar a los aislamientos de *C. albicans* que no producen tubo germinal o clamidosporas. En nuestro estudio, los escasos aislamientos de esta especie que no producían tubo germinal en suero de caballo formaban colonias azules en Candida ID.

La detección de una actividad enzimática diferente para *C. tropicalis* en el medio Candida ID, que hace que las colonias de esta especie sean de color rosa, permite superar el problema que planteaban los falsos positivos observados por Lipperheide *et al.* [12] con *C. tropicalis* en el medio Albicans ID (13 de 26 aislamientos de esta especie formaban colonias azules). Estos autores [12] observaron falsos positivos con algunos aislamientos de *C. lusitanae* y *T. beigeli*. Los aislamientos de *C. lusitanae* tampoco dan falsos positivos en nuestro estudio con Candida ID. La sensibilidad y especificidad para *C. tropicalis* y el resto de las especies con colonias rosas (sensibilidad 100 % y especificidad 99,6 %) era tan excelente en el estudio presente como las obtenidas para *C. albicans* y dichos valores eran similares a los comprobados por otros autores [14,15].

La búsqueda de métodos rápidos que permitan la diferenciación entre los aislamientos de *C. albicans* y de la nueva especie emergente *C. dubliniensis*, ha llevado a la búsqueda de contrastes morfológicos entre sus colonias en medios como el CHROMagar Candida [19], el crecimiento o inhibición de los aislamientos a temperaturas cercanas a 45 °C [31], la producción de clamidosporas en medios especiales, como el de Staib [32], la utilización de

Tabla 1. Resultados obtenidos con diferentes medios comercializados con substratos fluorógenos o cromógenos para la identificación rápida de *C. albicans*.

Medios	A ¹	B	PV	FN	NV	FP	S	E	EF	VPP	VPN
<i>Candida ID</i>											
Este estudio	779 (470) ²	16 (39,7)	462	8	308	1	98,3	99,7	98,8	99,8	97,5
<i>Albicans ID</i>											
Baumgartner et al. (10)	615 (281)	22 (54,3)	263	18	333	1	93,6	99,8	96,9	99,6	94,9
Champs et al. (9)	320 (177)	10 (44,7)	170	7	140	3	96,0	97,9	96,9	98,3	95,2
Contreras et al. (11)	250 (122)	7 (51,2)	121	1	128	0	99,2	100	99,6	100	99,2
Lipperheide et al. (6)	330 (186)	20 (43,6)	186	0	130	14	100	90,3	95,8	93,0	100
Rousselle et al. (7)	723 (352)	13 (51,3)	330	22	366	5	93,8	98,6	96,3	98,5	94,3
Willinger et al. (8)	340 (247)	11 (27,4)	246	1	92	1	99,6	98,9	99,4	99,6	98,9
<i>CHROMagar Candida</i>											
Baumgartner et al. (10)	615 (281)	22 (54,3)	259	22	334	0	92,2	100	96,4	100	93,8
Bernal et al. (18)	618 (341)	12 (44,8)	339	2	277	0	99,4	100	99,7	100	99,3
García-Martos et al. (21)	2230 (1235)	36 (44,6)	1235	0	995	0	100	100	100	100	100
Odds & Bernaerts (16)	726 (285)	21 (60,7)	285	0	439	2	100	99,5	99,7	99,3	100
San Millán et al. (17)	1537 (970)	21 (36,9)	960	10	567	0	98,9	100	99,3	100	98,3
Willinger & Manafi (20)	441 (322)	14 (26,9)	318	4	119	0	98,8	100	99,1	100	96,7
<i>Fluoroplate Candida</i>											
Manafi & Willinger (23)	150 (104)	11 (30,7)	103	1	43	3	99,0	93,5	97,3	97,2	97,7
Quindós et al. (22)	653 (307)	22 (52,9)	305	2	345	1	99,3	99,7	99,5	99,7	99,4
Rousselle et al. (7)	723 (352)	13 (51,3)	330	22	366	5	93,8	98,6	96,3	98,5	94,3
Willinger et al. (8)	340 (247)	11 (27,4)	244	3	91	2	98,8	97,8	98,5	99,2	96,8

¹A= Número de aislamientos de levaduras (número de aislamientos de *C. albicans*); B= Número de especies diferentes de *C. albicans* (% de aislamientos); PV= positivos verdaderos; FN= falsos negativos; NV= negativos verdaderos; FP= falsos positivos; S= sensibilidad (%); E= especificidad (%); EF= eficiencia (%); VPP= valor predictivo de la prueba positiva; VPN= valor predictivo de la prueba negativa.

² Corresponden a aislamientos de *C. albicans* (421) y *C. dubliniensis* (49).

diversas fuentes de carbono con el método API-ATB ID 32 C o antigénicas mediante inmunofluorescencia [27], que permitan agilizar y abaratar los costes de su identificación molecular [30]. En el estudio presente, las mayoría de las colonias de *C. dubliniensis* (43 de 49) mostraron un color azul turquesa que las diferenciaba de las colonias de color azul más intenso y oscuro de *C. albicans*. La posibilidad de diferenciar entre ambas especies en un medio de aislamiento primario como Candida ID es una solución atractiva para el estudio de las muestras de pacientes con candidiasis oral, donde la especie *C. dubliniensis* tiene su mayor prevalencia y puede plantear problemas terapéuticos por su menor sensibilidad a algunos de los fármacos antifúngicos más empleados como el fluconazol [33].

C. guilliermondii y *C. famata* son difíciles de diferenciar por métodos convencionales [25,26] y cualquier medio que aporte diferencias claras entre ambas especies puede ser de gran utilidad. En nuestro estudio, las colonias de *C. guilliermondii* eran de color rosa y las de *C. famata* de color blanco. El escaso número de aislamientos estudiados de esta última especie (dos) hace que sean necesarios nuevos estudios para poder aclarar la utilidad que puede aportar este medio como método rápido y barato de diferenciación entre estas especies.

La mayoría de los estudios con medios cromógenos o fluorógenos [10,12-20,24] han mostrado valores de eficacia muy similares y que eran superiores al 95% para la mayoría de los parámetros evaluados, por lo que también debemos tener en cuenta otros factores a la hora de

decidir qué medio emplear en el laboratorio clínico. Un factor importante en la utilización de un método comercializado es su coste económico. La valoración del coste de algunos de estos medios de identificación de *C. albicans* ha sido determinada por Quindós et al. [29], que han tomado como referencia el coste de la prueba del tubo germinal en suero de caballo (una unidad por cada aislamiento evaluado). En base a este coste de referencia, la producción de clamidosporas en agar harina de maíz o el aislamiento en los agares Albicans ID o Fluoroplate Candida costaban dos unidades, el aislamiento en CHROMagar Candida, nueve unidades; la utilización del método ATB ID 32C, 23 unidades y del Fongiscreen 4H, 30 unidades [6,17,22,29]. Cada aislamiento en las placas de agar Candida ID costaría dos unidades, hecho que sitúa a este medio de cultivo entre los métodos más económicos.

Los resultados expuestos en el estudio, indican que el medio Candida ID permite una excelente identificación de las colonias de *C. albicans* y la separación presuntiva de las especies pertenecientes al grupo que incluye a *C. tropicalis*, *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii* y *C. kefyr*, pudiendo ser utilizado con seguridad para el procesamiento de muestras clínicas en las que se sospecha la presencia de levaduras del género *Candida*.

Los autores quieren agradecer a Dña. Myriam Müller, a D. Ignacio Urrechaga y a bioMérieux España, la ayuda prestada en la realización de este estudio con la gentil cesión de las placas empleadas y el soporte técnico. Silvia Helou disfrutó de una beca de la International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM) para su estancia en Bilbao durante el periodo de realización de este estudio. Rocío Alonso-Vargas es becaria de la Universidad del País Vasco. Este trabajo ha sido financiado parcialmente con el proyecto UPV 093.327-EB157/99 de la Universidad del País Vasco-Euskal Herriko Unibertsitatea.

Bibliografía

1. Trick WE, Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infection in the 1990s. *Rev Iberoam Micol* 1998; 15: 2-6.
2. Sandven P. Epidemiology of candidemia. *Rev Iberoam Micol* 2000; 17: 73-81.
3. Perry JL, Miller GR. Umbelliferyl-labeled galactosaminide as an aid in identification of *Candida albicans*. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 2424-2425.
4. Dalton MT, Haldane DJM, MacDonald J. Rapid identification of *Candida albicans* using 4-methylumbelliferyl N-acetyl- β -galactosaminidase. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1989; 12: 521-523.
5. Dealler SF. Chromogenic and fluorogenic indicators and substrates in diagnostic microbiology. *Rev Med Microbiol* 1993; 4: 198-206.
6. Lipperheide V, Andracka L, Pontón J, Quindós G. Evaluation of the Albicans ID[®] plate method for the rapid identification of *Candida albicans*. *Mycoses* 1993; 36: 417-420.
7. Rousselle P, Freydière AM, Couillerot PJ, Montclos H de, Gille Y. Rapid identification of *Candida albicans* by using Albicans ID and Fluoroplate agar plates. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 3034-3036.
8. Willinger B, Manafi M, Rotter ML. Comparison of rapid methods using fluorogenic-chromogenic assays for detecting *Candida albicans*. *Lett Appl Microbiol* 1994; 18: 47-49.
9. Champs C de, Lebeau B, Ambroise-Thomas P, Grillot R. Evaluation of Albicans ID plates. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2227-2228.
10. Baumgartner C, Freydière A-M, Gille Y. Direct identification and recognition of yeast species from clinical material by using Albicans ID and CHROMagar *Candida* plates. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 454-456.
11. Contreras I, San-Millán R, Agustín-Barrasa A, Pontón J, Quindós G. Utility of Albicans ID plate for rapid identification of *Candida albicans* in clinical samples. *Mycopathologia* 1996; 136: 17-20.
12. Freydière AM, Buchaille L, Gille Y. Comparison of three commercial media for direct identification and discrimination of *Candida* species in clinical specimens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16: 464-467.
13. Hoppe JE, Frey P. Evaluation of six commercial tests and the germ-tube test for presumptive identification of *Candida albicans*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 18: 188-191.
14. Orensa S, Barbaux L, Cotte C *et al*. Evaluation of *Candida* ID, a new chromogenic medium for yeasts. 9th ECCMID Congress, Berlin, 1999: poster P0731.
15. Fricker-Hidalgo H, Lebeau B, Pelloux H, Ambroise-Thomas P, Grillot R. Evaluation of *Candida* ID, a new chromogenic medium for fungi isolation. 6th Congress of the European Confederation of Medical Mycology Societies, Barcelona, 2000: poster P3-001. *Rev Iberoam Micol* 2000; 17: S129.
16. Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar *Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1923-1929.
17. San-Millán R, Ribacoba L, Pontón J, Quindós G. Evaluation of a commercial medium for identification of *Candida* species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15: 153-158.
18. Bernal S, Martín-Mazuelos E, García M, Aller AI, Martínez MA, Gutiérrez MJ. Evaluation of CHROMagar *Candida* medium for the isolation and presumptive identification of species of *Candida* of clinical importance. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1996; 24: 201-204.
19. Schoofs A, Odds FC, Colebunders R, Ieven M, Goosens H. Use of specialized isolation media for recognition and identification of *Candida dubliniensis* isolates from HIV-infected patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16: 296-300.
20. Willinger B, Manafi M. Evaluation of CHROMagar *Candida* for rapid screening of clinical specimens for *Candida* species. *Mycoses* 1999; 42: 61-65.
21. García Martos P, García-Agudo R, Hernández-Molina JM, Marín P, Tallero E, Mira J. Identificación de levaduras de interés clínico en el medio de cultivo CHROMagar *Candida*. *Rev Iberoam Micol* 1998; 15: 131-135.
22. Quindós G, San Millán R, Bikandi J, Pontón J. Utilidad de las placas de agar Fluoroplate *Candida* para la identificación rápida de *Candida albicans*. *Enferm Infec Microbiol Clin* 1996; 14: 586-589.
23. Manafi M, Willinger B. Rapid identification of *Candida albicans* by Fluoroplate *Candida* agar. *J Microbiol Methods* 1991; 14: 103-107.
24. Mackenzie DWR. Serum germ tube identification of *Candida albicans*. *J Clin Pathol* 1962; 15: 563-565.
25. McGinnis MR. *Laboratory Handbook of Medical Mycology*. Nueva York: Academic Press, 1980; 357-359.
26. Hernández-Molina JM, Coque MT, Campos E, Rando C, Leiva EF. Estudio de un método automático de identificación de levaduras: ATB 32C. *Enferm Infec Microbiol Clin* 1992; 10: 293-295.
27. Bikandi J, San Millán R, Moragues MD, *et al*. Rapid identification of *Candida dubliniensis* by indirect immunofluorescence based on differential localization of antigens on *C. dubliniensis* blastospores and *Candida albicans* germ tubes. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2428-2433.
28. Sandven P, Lassen J. Importance of selective media for recovery of yeasts from clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3731-3732.
29. Quindós G, Lipperheide V, Pontón J. Evaluation of two commercialized systems for the rapid identification of medically important yeasts. *Mycoses* 1993; 36: 299-303.
30. Sullivan DJ, Westerneng TJ, Haynes KA, Bennett DE, Coleman DC. *Candida dubliniensis* sp. nov.: phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV-infected individuals. *Microbiology* 1995; 141: 1507-1521.
31. Pinjon E, Sullivan D, Salkin I, Shanley D, Coleman D. Simple, inexpensive, reliable method for differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2093-2095.
32. Staib P, Morschhäuser J. Chlamydoconidia formation on Staib agar as a species-specific characteristic of *Candida dubliniensis*. *Mycoses* 1999; 42: 521-524.
33. Quindós G, Carrillo-Muñoz AJ, Arévalo MP, *et al*. In vitro susceptibility of *Candida dubliniensis* to current and new antifungal agents. *Chemotherapy* 2000; 46: 395-401.