

Identificación de *Candida albicans* utilizando el medio cromogénico Albicans ID

Patricio Godoy, Leila P. Almeida y Arnaldo Lopes Colombo

Disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias, Laboratório Especial de Micologia, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brasil

Resumen

La identificación correcta y precisa de los microorganismos es la base para la caracterización epidemiológica y tratamiento de las infecciones. El objetivo de nuestro estudio fue evaluar la eficiencia del medio cromogénico Albicans ID (bioMérieux, Francia) en la identificación de *Candida albicans*. De las 190 cepas evaluadas en el estudio, *Candida albicans* (80) y *Candida dubliniensis* (5) evidenciaron el color azul en un 100%. Sin embargo, esta coloración fue también observada en cultivos de *Candida rugosa* 60% (3/5) y *Candida tropicalis* 18% (3/17). El medio cromogénico Albicans ID presentó una especificidad del 90% y valor predictivo positivo y negativo de 88% y 100% respectivamente, en la identificación de *C. albicans*.

Palabras clave

Candida albicans, Medio cromogénico, Albicans ID

Identification of *Candida albicans* using the chromogenic medium Albicans ID

Summary

The correct identification of the microorganism is the base for epidemiological studies and treatment of infections. The aim of our study was to evaluate the efficiency of the chromogenic media Albicans ID (bioMérieux, France) in the identification of *Candida albicans*. A total of 190 yeasts strains were evaluated in the study. A rate of 100% of all *C. albicans* (80) and *Candida dubliniensis* (five) strains exhibited blue color. Nevertheless, the blue color was also observed with cultures of *Candida rugosa* (3/5) and *Candida tropicalis* (3/17). Albicans ID chromogenic media presented specificity rate of 90% and positive and negative predictive values of 88% and 100%, respectively, in the identification of *C. albicans*.

Key words

Candida albicans, Chromogenic media, Albicans ID

En las dos últimas décadas ha habido un progresivo aumento en la frecuencia de infecciones fúngicas nosocomiales en pacientes recibiendo terapia antibiótica o inmunosupresora, así como en pacientes expuestos a procedimientos médicos extensos [1]. Las infecciones por levaduras del género *Candida* representan cerca del 80% de las infecciones fúngicas nosocomiales. A pesar de que un gran número de levaduras no pertenecientes a la especie *Candida albicans* pueden ser la causa de la infección, la mayoría de los casos de candidiasis todavía son causados por *C. albicans* [2,3]. La identificación correcta y pre-

cisa del agente causal es la base para la caracterización epidemiológica de las infecciones, como también para la elección del tratamiento. De esta manera, los métodos rápidos y sensibles de identificación de *C. albicans* son de extrema utilidad en los laboratorios de rutina.

Tradicionalmente, la identificación de *C. albicans* se realiza por la técnica de tubo germinativo, test simple, rápido y económico que permite la identificación en 2-3 h. El problema que posee esta técnica es que un 5% de los aislamientos de *C. albicans* no producen tubo germinativo, además de darse falsos positivos en otras especies del género como *Candida tropicalis* y *Candida parapsilosis* que producen estructuras semejantes a un tubo germinativo [4-6]. Otros tests son utilizados para una identificación presuntiva de *C. albicans* como la búsqueda de las actividades enzimáticas β -galatosaminidasa y L-prolina aminopeptidasa. Sin embargo, la lectura de estos tests necesita de lámpara UV para visualizar metabolitos fluorescentes, lo que aumenta los costes de la prueba [7,8].

Los medios cromogénicos son muy sencillos en su utilización, presentando una lectura rápida y objetiva. El objetivo de este estudio ha sido evaluar la eficiencia del medio cromogénico Albicans ID (bioMérieux, Francia) en la identificación de *C. albicans* entre los aislamientos clínicos de levaduras. Es importante observar que el sistema Albicans ID2 no fue utilizado por no estar disponible en Brasil.

Dirección para correspondencia:

Prof. Dr. Arnaldo Lopes Colombo
Rua Cayowá 854, Apto. 41
CEP: 05018-001, Perdizes,
São Paulo, Brasil
Tel.: +55 11 5576 4334
Fax: +55 11 5081 2820
E-mail: lemidipa@vento.com.br

Aceptado para publicación el 25 de Junio de 2001

Evaluamos un total de 190 cepas de levaduras, previamente identificadas por metodología convencional, incluyendo *Cryptococcus neoformans* y nueve especies de *Candida* spp. Las cepas fueron escogidas entre las almacenadas en el Banco de Microorganismos del Laboratorio Especial de Micología, EPM-UNIFESP. Se utilizaron colonias aisladas para la identificación y confirmación de la especie a través de morfología microscópica y pruebas bioquímicas realizadas con galería API-32C (bioMérieux, Francia) [9]. La identificación de *Candida dubliniensis* fue realizada genotípicamente por RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), utilizando el oligonucleótido sugerido por Sullivan *et al.* [10].

Para la evaluación del sistema comercial Albicans ID utilizamos las siguientes especies: *C. albicans* (80 aislamientos incluyendo la cepa de colección ATCC 90028), *C. dubliniensis* (cinco aislamientos), *Candida glabrata* (20 aislamientos), *Candida krusei* (10 aislamientos incluyendo la cepa de colección ATCC 6258), *Candida lusitanae* (10 aislamientos), *Candida guilliermondii* (10 aislamientos), *C. tropicalis* (20 aislamientos), *C. parapsilosis* (20 aislamientos), *Candida rugosa* (cinco aislamientos) y *C. neoformans* (10 aislamientos).

Siguiendo las instrucciones del fabricante, para la preparación del inóculo se cultivó una única colonia de cada aislamiento, en agar glucosado de Sabouraud a 37 °C, por un período de 48 h. A partir de este cultivo puro, se preparó la suspensión del inóculo con turbidez equivalente a 3 en la escala de McFarland. El inóculo se sembró en placa con medio Albicans ID, incubándose a 37 °C. Se realizaron lecturas de las características del cultivo a 48 y 72 h. Siguiendo normas del manual, se identificaron las colonias de color azul como *C. albicans* [11]. Se calcularon los valores de sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo, evaluando los resultados del test comercial Albicans ID en relación a la identificación clásica considerada patrón [12].

La tabla 1 ilustra los resultados obtenidos con los 190 aislamientos cultivados en Albicans ID. Todas las levaduras testadas crecieron en el medio, después de 48 h de incubación a 37 °C. Los colores de las colonias fueron azul y blanco, siendo el color azul observado en 91 cepas a las 48 h de incubación. Todas las cepas de *C. albicans* (80) y *C. dubliniensis* (5) testadas en el medio Albicans ID evidenciaron el color azul. Sin embargo, esta coloración fue observada también en el 60% de los cultivos de *C. rugosa* (3/5) y en el 18% de los de *C. tropicalis* (3/17).

En vista de los resultados, es posible afirmar que la coloración azul en Albicans ID presentó una sensibilidad y especificidad de 100% y 90%, respectivamente. Los valores predictivos positivo y negativo fueron de 88% y 100%, respectivamente, en la identificación de *C. albicans*, siempre considerando los aislamientos de *C. dubliniensis* como falsos positivos.

Tabla 1. Color de la colonia observada después de 48 h de incubación en medio Albicans ID.

Especie	Nº de aislamientos			Total
	Azul oscuro	Azul claro	Blanco	
<i>Candida albicans</i>	78	2	0	80
<i>Candida dubliniensis</i>	4	1	0	5
<i>Candida tropicalis</i>	0	3	17	20
<i>Candida glabrata</i>	0	0	20	20
<i>Candida parapsilosis</i>	0	0	20	20
<i>Candida lusitanae</i>	0	0	10	10
<i>Candida guilliermondii</i>	0	0	10	10
<i>Candida krusei</i>	0	0	10	10
<i>Cryptococcus neoformans</i>	0	0	10	10
<i>Candida rugosa</i>	1	2	2	5
Total	83	8	99	190

Los datos de sensibilidad y especificidad fueron similares a los obtenidos por Lipperheide *et al.* [13], que observaron valores de sensibilidad del 100% y especificidad del 87% para la identificación de *C. albicans*. Estos autores obtuvieron resultados falsos positivos en el 19% de los aislamientos, indicando a las especies *Trichosporon beigelii* 12/16 (75%), *C. tropicalis* 13/23 (56%), *C. lusitanae* 1/1 (100%), *C. neoformans* 1/1 (100%) y *C. membranaefaciens* 1/1 (100%). Cabe mencionar que estos autores utilizaron tres aislamientos de *C. rugosa* y en los tres el resultado fue negativo. *C. dubliniensis* no fue analizada en este estudio.

De Champs *et al.* [14], estudiando 300 aislamientos de levaduras, obtuvieron una sensibilidad y especificidad del 96% y 98% respectivamente, y resultados falsos positivos apenas con tres aislamientos de *C. tropicalis* (17%). Este estudio es el único que detectó falsos negativos utilizando el medio cromogénico Albicans ID con siete aislamientos de *C. albicans* de un total de 177 cepas estudiadas.

Hoppe *et al.* [5] evaluando 485 aislamientos de levaduras obtuvieron una sensibilidad del 99,7%, especificidad del 99% y resultados falsos positivos fueron obtenidos con un aislamiento de *C. tropicalis*.

Podemos concluir que, tanto en nuestro estudio como en los revisados de la literatura, de todas las levaduras analizadas utilizando el medio cromogénico Albicans ID, *C. tropicalis* es la que presenta mayor problema, siendo los falsos positivos frecuentes.

A pesar de ser este medio de fácil uso y sencilla interpretación, la incidencia de resultados falsos positivos con diferentes especies de levaduras limita su utilización en la rutina de identificación de *C. albicans*.

Bibliografía

1. Colombo AL, Nucci M, Salomão R, et al. High rate of non-*albicans* candidemia in Brazilian tertiary care hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 34: 281-286.
2. Wingard JR. Importance of *Candida* species other than *C. albicans* as pathogens in oncology patients. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 115-125.
3. Campbell CK, Holmes AD, Davey KG, Szekely A, Warnock DW. Comparison of a new chromogenic agar with the germ tube method for presumptive identification of *Candida albicans*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998; 17: 367-368.
4. Mackenzie DWR. Serum germ tube identification of *Candida albicans*. *J Clin Pathol* 1962; 15: 563-565.
5. 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.
6. Perry JL, Miller GR. Umbelliferil labelled galactosaminide as an aid identification of *Candida albicans*. *J Clin Microbiol* 1988; 25: 2424-2425.
7. Heelan JS, Siliezar D, Coon K. Comparison of rapid testing methods for enzyme production with the germ tube method for presumptive identification of *Candida albicans*. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 2847-2849.
8. Baumgartner C, Freydiere AM, 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.
9. Warren NG, Hazen KC. *Candida*, *Cryptococcus* and other yeasts of medical importance. In: *Manual of Clinical Microbiology*. Murray PR (Ed.) Washington D.C., ASM, 1995: 723-737.
10. Sullivan DJ, Werterneng 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.
11. Rousselle P, Freydiere AM, Couillerot PJ, De Montclos H, Gille E. Rapid identification of *Candida albicans* by using Albicans ID and fluoroplate agar plates. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 3034-3036.
12. Rouquayrol MZ, De Almeida N. *Epidemiologia e Saúde*. Rio de Janeiro, MEDSI 1999.
13. Lipperheide V, Andraka L, Pontón J, Quindós G. Evaluation of the Albicans ID® plate method for the rapid identification of *Candida albicans*. *Mycoses* 1993; 36: 417-420.
14. De Champs C, Lebeau B, Ambroise-Thomas P, Grillot R. Evaluation of Albicans ID plates. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2227-2228.