

Carta al Director

Alberto Tenorio-Abreu

Identificación presuntiva de *Candida albicans* basado en la morfología de la colonia en agar chocolate

Servicio de Microbiología. Hospital Juan Ramón Jiménez. Huelva

Sr. Editor: La identificación de laboratorio de *Candida albicans* es sencillo y puede realizarse mediante diferentes métodos¹⁻⁴. Entre ellos, destaca el cultivo tradicional en agar glucosado de Sabouraud con la confirmación con el test de filamentación en suero, identificación mediante galerías de asimilación de azúcares o con la utilización de medios cromógenos. Sin embargo, además de crecer en agar glucosado de Sabouraud, también crecen rápidamente en otros medios enriquecidos comunes como agar sangre y chocolate dando colonias de aspecto blanquecino y cremoso⁵, y con frecuencia de aspecto estrellado^{6,7}. Característica esta última, que podría ser utilizada para la identificación directa "de visu", sin necesidad de aplicar otros métodos de confirmación antes mencionados. Por eso, el objetivo del presente estudio ha sido evaluar la eficacia de un método directo para la identificación de *C. albicans* aisladas en agar chocolate, basado en la morfología de las colonias de aspecto estrellado, en comparación con el test de filamentación y el medio cromógeno CHROMagar (Becton Dickinson, USA).

Se observó el crecimiento y morfología de las colonias de las levaduras a las 24 y 48 horas de incubación a 37°C en agar chocolate y en atmósfera al 5% de CO₂. La observación del aspecto de la colonia se realizó y evaluó sobre cultivos primarios de muestras que habitualmente se procesan en agar chocolate (exudados vaginales, muestras respiratorias y otros exudados de heridas y hemocultivos). Las colonias crecidas en agar chocolate con aspecto estrellado se consideraron presuntivamente como *C. albicans* (figura 1). A todos los aislados de levaduras se les realizó el test de filamentación y la identificación en el medio cromógeno, considerándose *C. albicans* las colonias de color verde como indican las instrucciones del fabricante (*C. dubliniensis* también produce una tonalidad verde más oscura). Todas las cepas de levaduras aisladas con coloración verde en el medio cromógeno, se sembraron en agar glucosado de Sabouraud y se incubaron en aerobiosis a 45°C de tempera-



Figura 1

Colonias de morfología estrelladas de *Candida albicans* en agar chocolate.

tura, con el fin de diferenciar *C. albicans* (crecimiento positivo a 45°C) de *C. dubliniensis*⁸. El test de filamentación consistió en la inoculación de la levadura en suero, incubación durante 2 horas a 37°C y observación al microscopio del crecimiento (positivo) o no (negativo) de los tubos germinales típicos de *C. albicans*. A las levaduras con resultado negativo en el test de filamentación y/o en el medio cromógeno, se las identificó mediante el sistema ID 32 C (Biomérieux®).

Se aislaron un total de 490 cepas de levaduras (430 *C. albicans*, 20 *C. parasilopsis*, 18 *C. tropicalis*, 12 *C. glabrata*, 8 *C. krusei*, 1 *C. famata* y 1 *C. dubliniensis*) procedentes de 376 exudados vaginales, 84 muestras respiratorias, 8 hemocultivos y 22 de otras muestras. El test de filamentación y el medio cromógeno fue concordante en el 100%. Todos los aislados de *C. albicans* produjeron el pigmento de color verde en el medio cromógeno. Se detectó un solo aislado de *C. dubliniensis*, que produjo una pigmentación verde oscura en el medio cromógeno, filamento y no creció a 45°C, y la identificación definitiva se confirmó con la galería ID 32 C. La sensibilidad y especificidad del método de identificación visual para *C. albicans* respecto al medio CHROMagar, fue del 86% y 100% respectivamente. El 79,5%

Correspondencia:
Dr. Alberto Tenorio Abreu.
Hospital Juan Ramón Jiménez. Ronda exterior Norte S/N 21005 Huelva.
Teléfono: 959 01 67 44.
E-mail: albeteno@hotmail.com

(342/430) de los identificados mediante el aspecto de la colonia, se observó su típica forma estrellada a las 24 horas. Por otra parte, se obtuvieron 59 cepas de levaduras con resultado negativo en el test de filamentación y negativo en el medio CHROMagar (consideradas presuntivamente como *Candida* no *Candida albicans* por no presentar pigmentación verdosa). Dichas cepas se identificaron mediante el sistema ID 32 C, confirmando todas ellas como especies de *Candida* no *Candida albicans*.

Todas las cepas aisladas en agar chocolate con forma estrellada se confirmaron como *C. albicans* mediante el test de filamentación positivo y por la producción del pigmento de color verde en el medio CHROMagar. De esta forma, ninguna cepa formadora de colonias estrelladas pudo ser confirmada como *Candida* no *Candida albicans* con los métodos empleados, por tanto, la especificidad de la prueba se muestra excelente en la serie estudiada. Por último, también se debe tener en cuenta que algunas cepas de *C. tropicalis* también producen falsos tubos germinales⁸, que en teoría podrían darle aspecto estrellado a sus colonias. No obstante, en el presente estudio, las 18 cepas identificadas como *C. tropicalis* no produjeron tales características morfológicas en agar chocolate.

En conclusión, en base a la excelente especificidad y alta sensibilidad, el método de identificación mediante la observación de colonias estrelladas, se presenta como un método sencillo y económico en la identificación de *C. albicans*, eliminando pruebas adicionales de diagnóstico que encarecen y aumentan el tiempo de respuesta. En este sentido, se muestra especialmente útil en aquellas infecciones banales como candidiasis vaginales o en identificación de portadores (muestras del tracto respiratorio, digestivo o piel), en los cuales, con solo una identificación presuntiva por su morfología podría ser suficiente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cooke VM, Miles RJ, Price RG, Midgley G, Khamri W, Richardson AC. New chromogenic agar medium for the identification of *Candida* spp. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68:3622-7.
2. Mähns B, Stehr F, Schäfer W, Neuber K. Comparison of standard phenotypic assays with a PCR method to discriminate *Candida albicans* and *C. dubliniensis*. *Mycoses* 2005; 48:55-61.
3. Mesa LM, Arcaya N, Cañas O, Machado Y, Calvo B. Phenotypic evaluation to differentiate *Candida albicans* from *Candida dubliniensis*. *Rev Iberoam Micol* 2004; 21:135-8.
4. Seyfarth F, Wiegand C, Erhard M, Gräser Y, Elsner P, Hipler UC. Identification of yeast isolated from dermatological patients by MALDI-TOF mass spectrometry. *Mycoses* 2012; 55:276-80.
5. Gamazo C, López-Goñi I, Diaz R. Manual práctico de Microbiología. 3 ed. Barcelona: Masson; 2005.
6. Dutton S, Penn CW. Biological attributes of colony-type variants of *Candida albicans*. *J Gen Microbiol* 1989; 135:3363-72.
7. Buschelman B, Jones RN, Pfaller MA, Koontz FP, Doern GV. Colony morphology of *Candida* spp. as a guide to species identification. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999; 35:89-91.
8. Susan A. Howell and Kevin C. Hazen. *Candida, Cryptococcus, and Other Yeasts of Medical Importance*. En: James Versalovic, Karen C. Carroll, Guido Funke, James H. Jorgensen, Marie Louise Landry, David W. Warnock, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 10th ed. Washington DC. ASM Press 2011. P. 1693-1711.