

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)

USO PREVISTO

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate) (agar GC Sabouraud BD / medio CHROMagar para Candida [biplaca]) se utiliza para el aislamiento selectivo de hongos y para el aislamiento e identificación de *Candida albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei* a partir de muestras clínicas.

PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

El agar Sabouraud con glucosa es un medio de amplia utilización y parcialmente selectivo para hongos debido a su bajo pH y alta concentración de glucosa. Dado que muchas bacterias toleran el bajo pH y la alta concentración de glucosa y crecen en agar Sabouraud, en especial durante incubación prolongada, a menudo necesaria para el aislamiento de hongos, se han desarrollado numerosas fórmulas con inhibidores antibacterianos. Se ha demostrado que los antimicrobianos tales como penicilina, cloranfenicol, aminoglucósidos o combinaciones de los mismos son efectivos para inhibir bacterias sin afectar el crecimiento de los hongos¹⁻⁶. En Sabouraud GC Agar las peptonas son fuente de nitrógeno. La glucosa (=dextrosa) es una fuente de energía para el crecimiento de los hongos. El cloranfenicol y la gentamicina son antibióticos de amplio espectro que inhiben una amplia variedad de bacterias gram negativas y gram positivas.

CHROMagar Candida Medium es un medio selectivo y de diferenciación para el aislamiento de hongos. Al añadir sustratos cromógenos en el medio, las colonias de *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei* producen colores diferentes, lo que hace posible la detección directa de estas especies de levaduras en la placa de aislamiento⁷⁻¹². Las colonias de *C. albicans* presentan un color verde de claro a mediano, las colonias de *C. tropicalis* presentan un color azul verdoso a azul metálico y las colonias de *C. krusei* presentan un color rosa claro con un borde blancuzco. Es posible que otras especies de levaduras produzcan su color natural (crema) o presenten un color rosa o malva de claro a oscuro (por ejemplo, *Candida [Torulopsis] glabrata* y otras especies). Una ventaja adicional del medio es la fácil detección de cultivos mixtos de levaduras, debido a los diferentes colores que presentan sus colonias^{7,9-12}.

Las peptonas especialmente seleccionadas suministran los nutrientes en **CHROMagar Candida Medium**. La mezcla cromógena patentada está formada por sustratos artificiales (cromógenos), que liberan compuestos de colores diferentes al ser degradados por enzimas específicas. De esta manera es posible diferenciar determinadas especies o detectar ciertos grupos de organismos con sólo un mínimo de pruebas de confirmación. El cloranfenicol inhibe la mayoría de los contaminantes bacterianos.

CHROMagar Candida Medium fue desarrollado por A. Rambach y lo vende BD Diagnostic Systems mediante un acuerdo de licencia con CHROMagar, París, Francia.

REACTIVOS

Fórmulas* por litro de agua purificada

Sabouraud Agar with Gentamicin and Chloramphenicol		CHROMagar Candida Medium	
Digerido pancreático de caseína	5,0 g	Cromopeptona	10,0 g
Digerido péptico de tejido animal	5,0	Glucosa	20,0
Glucosa	40,0	Mezcla cromógena	2,0
Agar	15,0	Cloranfenicol	0,5
Gentamicina	0,04	Agar	15,0
Cloranfenicol	0,4	pH 6,0 ± 0,3	
pH 5,6 ± 0,2			

*Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

PRECAUCIONES

IVD . Solamente para uso profesional.

No utilizar las placas si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro.

Consultar los procedimientos de manipulación aséptica, riesgos biológicos y desecho del producto usado en el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**.

ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Al recibir las placas, almacenarlas **en un lugar oscuro** a una temperatura de 2 a 8 °C, en su envase original hasta justo antes de su uso. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. Las placas pueden inocularse hasta la fecha de caducidad (véase la etiqueta del paquete) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados.

Las placas de pilas abiertas de 10 unidades pueden utilizarse durante una semana cuando se almacenan en un área limpia a una temperatura de 2 – 8 °C.

Reducir al mínimo la exposición a la luz antes y durante la incubación, dado que la luz puede destruir los cromógenos.

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Inocular muestras representativas con las cepas siguientes (para obtener los detalles, véase el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**). Incubar las placas en atmósfera aerobia durante 20 – 48 h a 35 ± 2 °C.

Cepas	Sabouraud GC Agar	CHROMagar Candida Medium
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Crecimiento de bueno a excelente, colonias blancas	Crecimiento de bueno a excelente; colonias de color verde claro a mediano
<i>Candida krusei</i> ATCC 34135	Crecimiento de bueno a excelente; colonias planas, de color blanco a crema	Crecimiento de bueno a excelente; colonias planas, de color de rosa claro a rosa, con un borde blancuzco
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 1369	Crecimiento de bueno a excelente; colonias de color blanco a crema	Crecimiento de bueno a excelente; colonias de azul grisáceo a azul verdoso o azul metálico, con o sin halos violetas en el medio circundante
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Inhibición de parcial a completa	Inhibición de parcial a completa
* <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	Crecimiento de bueno a excelente	Crecimiento de bueno a excelente
Sin inocular	Ámbar claro, transparente	Ámbar claro, transparente

* puede incubarse durante un máximo de 4 días

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (biplacas **Stacker** de 90 mm). Controladas microbiológicamente.

Para la identificación de los medios en esta biplaca, Sabouraud GC Agar se rotula con un punto negro.

Materiales no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos y el equipo de laboratorio que se requiera.

Tipos de muestras

Los medios en esta biplaca se utilizan para el aislamiento de hongos y para el aislamiento e identificación de *Candida albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei* a partir de todo tipo de muestras clínicas (véase también **CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**).

Procedimiento de análisis

Extender la muestra o el cultivo para aislamiento en la superficie de cada medio. Si la muestra se cultiva de una torunda, hacer girar la misma sobre una superficie pequeña de cada superficie cercana al borde, para luego extenderse a partir de dichas zonas con un asa. Incubar las placas en atmósfera aerobia a 35 ± 2 °C. Reducir al mínimo la exposición a la luz antes y durante la incubación. Efectuar la lectura de **CHROMagar Candida Medium** después de 42 – 48 h. Dado que algunos hongos filamentosos de crecimiento lento pueden requerir una incubación más prolongada, colocar la placa nuevamente en la incubadora hasta el día 4 o posterior. Después de este lapso, examinar si **Sabouraud GC Agar** presenta más aislados que no se han detectado todavía en **CHROMagar Candida Medium**, pero no volver a observar **CHROMagar Candida Medium** después de la incubación prolongada. Los aislados en **Sabouraud GC Agar** deben someterse a pruebas adicionales de diferenciación para lograr una identificación completa³⁻⁶. Ciertos aislados ocasionales, tales como *Cryptococcus neoformans* y los hongos filamentosos, requerirán una incubación más prolongada y, posiblemente, una temperatura de incubación más baja. Por tanto, se recomienda inocular una placa de **BD Sabouraud Agar with Gentamicin and Chloramphenicol** con la muestra e incubar esta placa a 25 – 30 °C, si se espera obtener hongos que requieren una temperatura de incubación más baja.

Resultados

Después de una incubación suficiente, examinar si **Sabouraud GC Agar** presenta colonias fúngicas con color y morfología característicos. Deben realizarse pruebas bioquímicas y procedimientos microscópicos y serológicos para lograr una identificación completa de los aislados³⁻⁶.

CHROMagar Candida Medium: Se recomienda efectuar la lectura de este medio en un fondo blanco. Si hay presentes especies de *Candida*, las colonias presentarán un color verde de claro a mediano (*C. albicans*), rosa claro a rosa con un borde blancuzco (*C. krusei*) o bien azul verdoso a azul metálico con o sin halos violetas (*C. tropicalis*). Otras especies de *Candida* y otras levaduras presentan un color malva de claro a oscuro (rosa a violeta) o, si no se utilizan sustratos cromógenos, presentarán su color natural de colonias (de crema a blanco). Los datos de estudios diversos indican que no es necesario realizar pruebas de identificación adicionales para *Candida albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei*^{7,9-11}. Las colonias que presentan un color de rosa claro a oscuro o de malva a violeta, o bien si muestran su color crema natural, deben identificarse mediante los métodos estándar⁷⁻¹¹.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate) se utiliza para el aislamiento selectivo de hongos (**Sabouraud GC Agar**) y para el aislamiento e identificación de *C. albicans*, *C. krusei* y *C. tropicalis* (**CHROMagar Candida Medium**).

Sabouraud GC Agar es un medio convencional ampliamente utilizado para el aislamiento selectivo de hongos. Los aislados de este medio deben someterse a pruebas de diferenciación adicionales mediante los procedimientos clásicos de identificación de hongos¹⁻⁶.

Nocardia y *Actinomyces* son bacterias filamentosas (¡no son hongos!) y, por lo tanto, no crecen en todos los medios Sabouraud con inhibidores bacterianos.

Consultar en las referencias correspondientes la información detallada y los procedimientos recomendados para la identificación de aislados^{3-6,8}.

El uso de **CHROMagar Candida Medium** para la identificación directa de *C. albicans*, *C. krusei* y *C. tropicalis* ha sido documentado en numerosos estudios y manuales que también pueden consultarse para obtener información adicional acerca de los procedimientos recomendados^{7,9-12}. Los resultados de una evaluación de rendimiento reciente de **BD CHROMagar Candida Medium** fueron notificados por Jabra-Rizk y colegas¹¹.

Candida (Torulopsis) glabrata habitualmente produce colonias de color malva a malva oscuro en este medio⁹. No obstante, se recomienda que los organismos que aparecen con este color

se confirmen mediante pruebas bioquímicas adicionales, dado que este color de colonia puede ser producido por diversas especies de levaduras.

Las colonias que presentan un color de rosa o malva claro a oscuro, o bien muestran su color crema natural en este medio deben identificarse mediante los métodos estándar³⁻⁵.

Los hongos diferentes de las levaduras también pueden aislarse en este medio si se incuban a una temperatura y durante un período apropiados para estos organismos.

Dado que los hongos filamentosos pueden metabolizar los sustratos cromógenos, los colores presentados por estos organismos en **CHROMagar Candida Medium** pueden ser diferentes de los mostrados en otros medios fúngicos. No utilizar el aspecto del crecimiento de los hongos filamentosos en este medio para obtener una identificación morfológica tradicional.

Se ha informado que *C. dubliniensis* produce un color verde oscuro distintivo al realizar el aislamiento primario en **CHROMagar Candida Medium**¹³⁻¹⁵. Sin embargo, esta propiedad tal vez no se conserve en el subcultivo. Se requieren pruebas fenotípicas y genotípicas adicionales para confirmar la presencia de *C. dubliniensis*. Las pruebas fenotípicas sencillas, por ejemplo, crecimiento del aislado a 45 °C (*C. dubliniensis*: resultado negativo; *C. albicans*: resultado positivo) pueden utilizarse para la diferenciación de las dos especies¹².

Antes de utilizar **BD CHROMagar Candida Medium** por primera vez, se recomienda practicar con el aspecto de colonia característico de cepas definidas de *C. albicans*, *C. krusei* y *C. tropicalis*, por ejemplo, las cepas mencionadas en **CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO**.

Numerosos hongos filamentosos requieren temperaturas de incubación más bajas que las necesarias para **BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)**. Sin embargo, la incubación de esta biplaca a temperaturas inferiores a 35 °C puede demorar las reacciones cromógenas en **CHROMagar Candida Medium**.

REFERENCIAS

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for the isolation – cultivation – maintenance of medical bacteria. Volume 1. Williams and Wilkins, Baltimore, London.
2. Atlas, R.M. 1993: Handbook of Microbiological media; CRC Press, Boca Raton.
3. Ajello, L., L.K. Georg, W. Kaplan, and L. Kaufman. 1963. CDC laboratory manual for medical mycology. PHS Publication No. 994, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
4. Larone, D.H. 1995: Medically important fungi - a guide to identification. Third edition. American Society for Microbiology Press, Washington.
5. Merz, W.G., Roberts, G.D. 1995: Detection and recovery of fungi from clinical specimens. In: Manual of Clinical Microbiology (eds. Murray, P.R. et al.) , p. 709-722. ASM Press, Washington D.C.
6. Weitzman, I., J. Kane, and R.C. Summerbell. 1995. Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton and agents of superficial mycoses, p. 791-808. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Odds, F.C., and R. Bernaerts. 1994. CHROMagar Candida, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. J. Clin. Microbiol. 32: 1923-1929.
8. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Pfaller, M.A., A. Huston, and S. Coffman. 1996. Application of CHROMagar Candida for rapid screening of clinical specimens for *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, and *Candida (Torulopsis) glabrata*. J. Clin. Microbiol. 34: 56-61.
10. Beighton, D., R. Ludford, D.T. Clark, S.R. Brailsford, C.L. Pankhurst, G.F. Tinsley, J. Fiske, D. Lewis, B. Daly, N. Khalifa, V. Marren, and E. Lynch. 1995. Use of CHROMagar Candida medium for isolation of yeasts from dental samples. J. Clin. Microbiol. 32: 3025-3027.
11. Jabra-Rizk, M.A. et al. 2001. Evaluation of a reformulated CHROMagar Candida Medium. J. Clin. Microbiol. 30: 2015-2016.
12. Hazen, K.H., and S.A. Howell. 2003. *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeasts of medical importance. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Schoofs, A., F.C. Odds, R. Coleblunders, M. Ieven, and H. Goossens. 1997. Use of specialised isolation media for recognition and identification of *Candida dubliniensis* isolates from HIV-infected patients. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 16:296-300.
14. Kirkpatrick, W.R., S.G. Revankar, R.K. McAtee, J.L. Lopez-Ribot, A.W. Fothergill, D.I. McCarthy, S.E. Sanche, R.A. Cantu, M.G. Rinaldi, and T.F. Patterson. 1998. Detection of *Candida dubliniensis* in

oropharyngeal samples from Human Immunodeficiency Virus-infected patients in North America by primary CHROMagar Candida screening and susceptibility testing of isolates. J. Clin. Microbiol. 36:3007-3012.

15. Odds, F.C., L. Van Nuffel, and G. Dams. 1998. Prevalence of *Candida dubliensis* isolates in a yeast stock collection. J. Clin. Microbiol. 36:2869-2873.

ENVASE Y DISPONIBILIDAD

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)

Nº de cat. 254515 Medios en placa listos para usar, 20 placas

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para obtener más información, diríjase a su representante local de BD.



BD Diagnostic Systems

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD, BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

© 2003 Becton, Dickinson and Company