

# CANDIFAST

Identificación de levaduras y pruebas de resistencia a los antimicóticos  
30 pruebas (Ref. 44130)

## CANDIFAST ES TWIN

Prueba de resistencia de las levaduras a los antimicóticos  
30 pruebas (Ref. 44130)

CPB 0038- ES-2024-10

Para uso en diagnóstico in vitro, sólo para uso profesional.  
Pruebas de un solo uso.



### 1 - INTERÉS

El kit CANDIFAST se utiliza para identificar las principales levaduras de interés médico y para probar su resistencia a diversos agentes antimicóticos. El kit CANDIFAST ES TWIN se utiliza para probar la resistencia de la levadura a diversos agentes antimicóticos.

### 2 - INTRODUCCIÓN

La frecuencia de las infecciones fúngicas y, en particular, de las infecciones por levaduras ha aumentado considerablemente en los últimos diez años (5). Las levaduras son agentes oportunistas. La mayoría son saprófitos, pero pueden volverse patógenos cuando las condiciones del huésped son favorables. Estas condiciones son principalmente factores fisiológicos (recién nacidos, ancianos, mujeres embarazadas), factores locales (fricciones, maceraciones), factores patológicos (cáncer, inmunodeficiencia, trastornos metabólicos...), factores iatrogénicos (terapia antibiótica, píldoras anticonceptivas, inmunosupresores, radiación ionizante, cirugía). Los cuadros clínicos causados por estas levaduras son muy variados:

Trastornos cutáneos (intertrigo, onixis...), trastornos de las mucosas (candidiasis bucal, esofagitis, colitis, vaginitis...), trastornos viscerales y septicémicos.

El aumento del número de productos antimicóticos y la aparición de infecciones fúngicas resistentes a los tratamientos justifican la evaluación del comportamiento de las levaduras frente a los antimicóticos (1, 2).

### 3 - PRINCIPIO

La identificación de la levadura se basa en:

- la sensibilidad o no de la cepa a la actidione visualizada volviéndose amarillo, amarillo-naranja o fucsia del indicador de color,
- el estudio de la fermentación de siete azúcares visualizados por el cambio a amarillo o amarillo-naranja del indicador de color debido a la acidificación del medio,
- resaltando la actividad de la ureasa, que alcaliniza el medio y hace que el indicador de color se convierta en fucsia.

La determinación de la resistencia de las levaduras a los antimicóticos se basa en si estas levaduras crecen o no en presencia de diferentes antimicóticos. Este crecimiento se visualiza por un cambio de color del medio:

- la fermentación de la glucosa por parte de las levaduras provoca la acidificación del medio, lo que provoca que el rojo de fenol presente en el medio se vuelva amarillo o amarillo-naranja.
- la hidrólisis de la urea por levaduras ureasas positivas libera amoníaco que alcaliniza el medio y convierte el fenol rojo en rosa fucsia

### 4 - REACTIVOS

Empaquetado:

Reactivo	Cantidad	
	#44030	#44130
CANDIFAST	30	-
CANDIFAST ES Twin	-	15
R1: Frasco de Reactivo 1	35	35
R2: Frasco de Reactivo 2	30	30
TC: Frasco de control de turbidez	1	1

### Descripción:

**CANDIFAST:** Galería 20 pocillos listos para usar

Cada galería permite probar una muestra (identificación + prueba de resistencia)

#### Serie para la identificación

El pocillo 1 contiene actidione (ACT), glucosa y rojo de fenol.

Los pocillos 2 a 8 contienen diferentes azúcares y rojo de fenol

pocillos 2: (GLU) glucosa

pocillos 3: (GAL) galactosa

pocillos 4: (TRE) trehalosa

pocillos 5: (MAL) maltosa

pocillos 6: (CEL) celobiosa

pocillos 7: (RAF) rafinosa

pocillos 8: (LAC) lactosa

Los pocillos 9 y 10 están vacíos.

#### Serie para la prueba de resistencia

El pocillo 1 es un pocillo de control de crecimiento (C+). Los pocillos 2 a 8

contienen diferentes antimicóticos:

pocillos 2 (AB): anfotericina B (4 µg / mL)

pocillos 3 (NY): nistatina (200 uds/mL)

pocillos 4 (FCT): flucitosina (35 µg/mL)

pocillos 5 (ECZ): econazol (16 µg/mL)

pocillos 6 (KTZ): ketoconazol (16 µg/mL)

pocillos 7 (MCZ): miconazol (16 µg/mL)

pocillos 8 (FCZ): fluconazol (16 µg/mL)

Los pocillos 9 y 10 están vacíos.

**CANDIFAST ES Twin:** Galería 2x10 pocillos listos para usar

Las dos series de pocillos corresponden a la prueba de resistencia de la galería CANDIFAST. Cada galería permite probar dos muestras (solo pruebas de resistencia)

**R1:** Frasco de 4 mL de medio semiagregado tamponado para identificación y dilución.

Extracto de carne de res 1,3 g/L, peptona de caseína 1,8 g/L, extracto de levadura 0,8 g/L, aminoácidos, vitaminas, minerales 5,75 g/L, urea 20 g/L, agar 0,52 g/L, antibióticos 1,12 g/L. pH: 6,05 ± 0.1.

**R2:** Frasco de 2 mL de medio líquido para pruebas de resistencia.

Extracto de carne de res 1,3 g/L, peptona de caseína 1,8 g/L, extracto de levadura 0,8 g/L, aminoácidos, vitaminas, minerales 8,75 g/L, urea 20 g/L, glucosa 8,5 g/L, rojo de fenol 0,052 g/L, antibióticos 1,16 g/L. pH: 7,3 ± 0.1.

**TC:** Frasco de 4 mL de sulfato de bario para control de dilución.

### 5 - PRECAUCIONES

- Los reactivos de este estuche son solo para uso in vitro y deben ser manipulados por personal autorizado. Las pruebas son para un solo uso. Las muestras y los reactivos sembrados son potencialmente infecciosos; deben manipularse con precaución, respetando las reglas de higiene y la reglamentación en vigor en el país de utilización de este tipo de producto.
- Los reactivos que contienen materias primas de origen animal deben manipularse de acuerdo con las precauciones de uso.
- No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad.
- No utilizar los reactivos deteriorados o mal conservados antes de usar.

### 6 - RECOGIDA DE MUESTRAS

Las pruebas de identificación y resistencia deben realizarse en colonias:

- jóvenes (24 a 48 horas)
- perfectamente aislados a temperatura ambiente o 37 °C en un medio de agar, preferiblemente en una placa de Petri. Se recomienda realizar el aislamiento en medios de levadura específicos (3).

### 7 - CONSERVACIÓN DE REACTIVOS

Los reactivos conservados a 2-8 °C en su estado original se mantienen estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas. La mitad de la galería CANDIFAST ES Twin no utilizada puede conservarse durante 7 días a 2-8 °C en su embalaje original herméticamente cerrado y con sobre desecante.

### 8 - REACTIVO Y MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Aceite de parafina
- Pipetas estériles
- Horno a 37 °C
- Recipiente para residuos contaminados

### 9 - MODO OPERATIVO

Llevar los reactivos a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su uso.

#### 9.1 Preparación del inóculo

Recoger una colonia aislada con un asa bacteriológica o una pipeta Pasteur tapada. A continuación, descárguelo en un frasco de reactivo

1. Homogeneizar. La estandarización del inóculo se puede lograr de diferentes maneras:

#### • En comparación con el frasco TC de control de turbidez

Ajuste la opacidad del reactivo inoculado 1 a la del frasco TC con la ayuda de las líneas negras de las etiquetas del frasco.

Si el Reactivo 1 es más claro (inóculo deficiente), vuelva a sembrar el vial hasta una opacidad igual a la del vial TC.

Si el Reactivo 1 es más turbio (inóculo demasiado rico), diluir con un nuevo vial de Reactivo 1 hasta que la opacidad sea correcta.

#### • Con la ayuda de un densitómetro

Verificar con un densitómetro que la turbidez del Reactivo 1 sembrado es igual a 1 Mac Farland. Si es necesario, operar como se indicó anteriormente para ajustar el trastorno.

#### • Recuento de células de Malassez

Es posible estandarizar el inóculo realizando un recuento de levaduras en la célula de Malassez. Se debe obtener una solución de 2500 a 3500 levaduras por mm<sup>3</sup>.

#### 9.2a. Inoculación de la galería CANDIFAST

##### Serie para identificación

Identificar la galería. Levantar la etiqueta adhesiva y luego colocarla en cada uno de los primeros 8 pocillos:

- 100 µL de R1 sembrado y estandarizado

- 2 gotas de aceite de parafina.

Cubrir la serie de pocillos con la etiqueta adhesiva.

##### Serie para la prueba de resistencia

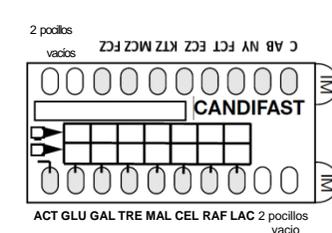
En un primer paso, inocular el Reactivo 2 por 100 µL de Reactivo 1 sembrado y estandarizado (véase apartado 9.1). Luego, en un segundo momento, levantar la etiqueta adhesiva y distribuirla en cada uno de los primeros 8 pocillos:

- 100 µL de R2 previamente sembrado

- 2 gotas de aceite de parafina.

Cubrir la serie de pocillos con la etiqueta adhesiva.

Cubrir la serie de pocillos con la etiqueta adhesiva.



#### 9.2b. Inoculación de la galería CANDIFAST ES Twin

##### Serie para una primera muestra

Inocular el reactivo R2 con 100 µL del reactivo R1 sembrado y estandarizado. Identificar bien cada lado de la galería.

Levantar la etiqueta adhesiva y colocarla en cada uno de los primeros 8 pocillos de la primera serie:

- 100 µL de Reactivo 2 previamente sembrado

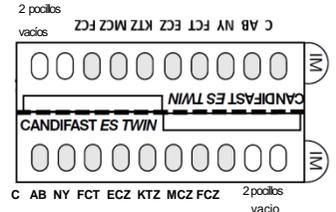
- 2 gotas de aceite de parafina.

Cubrir la serie de pocillos con la etiqueta adhesiva.

##### Serie para una segunda muestra

De forma similar, sembrar la segunda serie con otro frasco del Reactivo 2 previamente sembrado procediendo como se ha descrito anteriormente.

Cubrir la serie de pocillos con la etiqueta adhesiva.



### 9.3. Incubación

Incubar la galería a 37 °C durante 24 horas, si es necesario y, dependiendo de la cepa, continuar la incubación hasta 48 o incluso 72 horas.

Leer la galería cuando las levaduras hayan crecido en el pocillo de control.

### 10 - LECTURA E INTERPRETACIÓN DE LA GALERÍA

Leer toda la galería solo si en el pocillo de control (C+; Pocillo 1 de la serie para la prueba de resistencia) se observa un cambio de color del medio:

- se vuelve amarillo, o amarillo-naranja o fucsia\* (\* para tipos de ureasa positivos)

#### 10.1 Serie para identificación

##### Pocillo 1 (ACT)

El carácter es positivo cuando se observa un cambio de color del medio en el pocillo ACT:

- Se cambia al amarillo, o amarillo-naranja o fucsia

Un carácter negativo se traduce por una ausencia de cambio al amarillo, amarillo anaranjado o fucsia.

##### Pocillo 2 a 8 (GLU à RAF)

Un carácter es positivo cuando en uno de estos pocillos se observa un cambio de color del medio:

- Se cambia al amarillo, o amarillo-naranja o fucsia

Un carácter negativo se traduce por una ausencia de cambio al amarillo, amarillo anaranjado o fucsia.

La identificación de las levaduras se realiza utilizando la galería y los caracteres morfológicos de las colonias.

Para interpretación, consultar la tabla de abajo o la hoja incluida en el estuche. También es posible utilizar las indicaciones en el adhesivo de la galería: **leer el pocillo de actidione (ACT) y luego localizar el último pozo positivo a la derecha**. El nombre del germen se indica en el adhesivo en la intersección del carácter positivo (fila inferior) o negativo (fila superior) de la actidione y el azúcar identificados.

Levadura	ACT	GLU	GAL	TRE	MAL	CEL	RAF	LAC
<i>Candida albicans</i>	+	+	+	V	+	-	-	-
<i>Candida albicans (var stellatoidea)</i>	+	+	-	V	+	-	-	-
<i>Candida glabrata</i>	V	+	+	+	-	-	-	-
<i>Candida kefyr</i>	+	+	-	-	-	-	V	+
<i>Candida krusei</i>	V	+	+	-	-	-	-	-
<i>Candida lusitanae</i>	-	+	+	+	V	+	-	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	+	+	-	V	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	-	+	+	+	+	-	-	-
<i>Saccharomyces</i>	-	+	+	V	V	V	+	-
Géneros <i>Cryptococcus</i> o <i>Saccharomyces</i>								
<i>Trichosporon</i> o <i>Rhodotorula</i>	V							
V: variable (+ o -)								

### Diagnóstico diferencial

Los géneros *Cryptococcus*, *Trichosporon* y *Rhodotorula* se pueden diferenciar por caracteres morfológicos.

- *Rhodotorula* da colonias de color rojo salmón características en agar Sabouraud.  
- *Cryptococcus* tiene una cápsula de polisacárido evidenciada por la coloración con tinta china diluida al 1/5. Da en el agar Sabouraud colonias menos intensas de color rojo salmón que las colonias de *Rhodotorula*.

- *Trichosporon* tiene un pseudomicelio en un medio PCB.ss

### Observaciones

- En el género *Saccharomyces*, *Saccharomyces cerevisiae* es la principal especie patógena encontrada en humanos.
- Las cepas de *Saccharomyces boulardii* o de *Saccharomyces cerevisiae* se pueden aislar del paciente bajo tratamiento con levaduras.
- Un examen microscópico permite diferenciar las dos especies:
  - *S. cerevisiae* son grandes levaduras globulares.
  - *S. boulardii* son levaduras ovoides alargadas de menor tamaño.
- Con la galería CANDIFAST algunas cepas *Cryptococcus* pueden crecer en presencia de actidione.

### 10.2 Serie para la prueba de resistencia

#### Pocillos 2 a 8 (AB a FCZ)

Un cambio en el color del medio al amarillo o a amarillo-naranja o al fucsia indica la capacidad de la cepa evaluada para desarrollarse a la concentración probada del antimicótico. En este caso, la cepa se hace resistente.

Sin embargo, el color rojo-naranja del medio indica que la cepa ha sido inhibida por el antimicótico contenido en la taza.

### 11 - CONTROL DE CALIDAD

Para verificar la estandarización del método, se recomienda realizar un control de calidad periódicamente utilizando las cepas de referencia, *C. albicans* ATCC 90029 y *C. parapsilosis* ATCC 22019.

Cepa	incubación	Resultados esperados																
		ACT	GLU	GAL	TRE	MAL	CEL	RAF	LAC	C+	AB	N	FCT	ECZ	KTZ	MCZ	FCZ	
<i>C. albicans</i> (ATCC 90029)	24 horas	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>C. parapsilosis</i> (ATCC 22019)	48 horas	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-

### 12 - CAUSAS DE ERRORES

- Preparación de un inóculo demasiado rico o demasiado débil.
  - Preparación del inóculo a partir de una mezcla de cultivos o con colonias aisladas de más de 48 horas.
  - Lectura de la galería en ausencia de un cambio de color en los pocillos de control de crecimiento.
  - Lectura de la galería 24 o 48 horas después del cambio de color en los pocillos de control de crecimiento.
- Y, en general, el incumplimiento de las recomendaciones del presente documento.

### 13 - LÍMITES DEL MÉTODO

- Este método de determinación in vitro de la resistencia a los antimicóticos tiene un valor indicativo sobre la interacción del par antimicótico-levadura durante los tratamientos in vivo (2,4).
- El método CANDIFAST se ha desarrollado para identificar y detectar la resistencia de las cepas mucocutáneas, por lo que no se recomienda para cepas aisladas de micosis sistémicas.
- El método CANDIFAST no permite la categorización como Sensible-Intermedio-Resistente.
- Las cepas sensibles al calor aisladas a 20 °C crecen de forma diferente a 37 °C; en este caso, las levaduras no crecerán o crecerán mal y no se podrá lograr la identificación y la demostración de resistencia a ciertos antimicóticos.
- Para algunas cepas *C. lusitanae* un retraso del crecimiento en el pocillo del TRE no permite la identificación mediante la lectura de la tabla. Considerar la lectura de la etiqueta.
- Para algunas cepas de *C. glabrata* la dificultad de lectura del carácter GAL no permite la identificación por la tabla. Considerar la lectura de la etiqueta.
- La interpretación de la lectura de las pruebas de resistencia no debe tener en cuenta el trastorno, puede aparecer un velo después de la incubación para los antimicóticos azólicos.

### 14 - RENDIMIENTOS

#### Estudio sobre cepas de colección

El estudio se llevó a cabo en 80 cepas de colección (31 *Candida albicans*, 17 *C. glabrata*, 11 *C. tropicalis*, 6 *C. lusitanae*, 3 *C. parapsilosis*, 2 *C. kefyr*, 2 *C. krusei*, 5 *Saccharomyces spp.*, 2 *Cryptococcus neoformans* y 1 *Trichosporon cutaneum*... 78 cepas se identificaron correctamente leyendo con la etiqueta, es decir, una concordancia del 97,5 % en comparación con el método FUNGICHROM de ELITech MICROBIO o API 32C de Biomérieux.

La concordancia global de la prueba de resistencia, comparada con la FUNGITEST de Biorad y la galería ATB Fungus de Biomérieux, es del 87,4 %.

#### Estudio sobre cepas clínicas

El estudio se llevó a cabo en 100 cepas recién aisladas de muestras clínicas tomadas en medicina urbana (72 *Candida albicans*, 9 *C. glabrata*, 8 *C. parapsilosis*, 5 *C. tropicalis*, 3 *C. krusei*, 1 *C. kefyr*, 1 *C. inconspicua* y 1 *Saccharomyces spp.*). Se identificaron correctamente 98 cepas en relación con el sistema VITEK de Biomérieux.

La concordancia global de la prueba de resistencia, comparada con la FUNGITEST de Biorad y la galería ATB Fungus de Biomérieux, es del 98,5 %. Entre las 10 discrepancias, 3 son discrepancias importantes y 7 son discrepancias menores. Estas discrepancias se refieren a 4 cepas (2 *C. glabrata*, 1 *C. parapsilosis* y 1 *C. tropicalis*) y 3 antimicóticos que incluyen econazol (2 R/I y 1 R/S), ketoconazol (1 R/I y 2 R/S) y miconazol (4 R/I).

### 15 - ELIMINACIÓN DE RESIDUOS

Los residuos deben eliminarse de conformidad con las normas de higiene y la reglamentación en materia de este tipo de reactivos en el país de uso.

### 16 - BIBLIOGRAFÍA

- DUPONT B. 1987. Résistance de *Candida* aux antifongiques. Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Chap. 4, 23-26.
- DUPOUY-CAMET J., M.-E. BOUGNOUX, I. VICENS, et C. TOURTE-SCHAEFER. 1989. Intérêts et limites de l'antifongogramme. Rev. Fr. Lab. **197** : 69-72.
- GRILLOT R., B. LEBEAU et I. SELBMANN. 1989. Isolement et identification des levures, données récentes et perspectives. Rev. Fr. Lab. **197** : 24-32.
- PAUGAM A. 1996. Intérêt de l'étude in vitro de la sensibilité des levures aux antifongiques. Rev. Fr. Lab. **282** : 157-159.
- KOENIG H., J. WALLER et M. KREMER. 1989. Diagnostic et aspects épidémiologiques de 70 000 levures isolées en 8 ans. Rev. Fr. Lab., **197**, 34-38

Los cambios desde la revisión anterior están resaltados en gris.



**ELITech MICROBIO**  
Parc d'activités du plateau  
19, allée d'Athènes  
83870 SIGNES  
FRANCE  
Tel : 33 (0)4 94 88 55 00  
<http://elitechgroup.com>