

MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS

Candida spp. y *Cryptococcus* spp.

MÉTODOS CONVENCIONALES – IDENTIFICACIÓN PRESUNTIVA

MACROMORFOLOGÍA	>	Color de la colonia, luz reflejada, superficie, borde de la colonia, consistencia, aspecto.
MICROMORFOLOGÍA	>	Agar harina de maíz con tween 80 al 1%, agar leche con tween 80 al 1%, extracto de malta al 5%. Observar forma y tamaño de las blastoconidias, presencia de clamidiosporas, pseudomicelio desarrollado o rudimentario.
PRUEBAS BIOQUÍMICAS	>	Prueba del tubo germinativo, prueba de ureasa, prueba de asimilación de trehalosa, agar cromogénico, agar opacidad, agar tabaco, agar semilla, agar CGB (canavanina – glicina – azul de bromotimol).

Identificación presuntiva de *Candida* spp.

	Prueba del tubo germinativo	>	0,3-0,5 ml-suero fetal bovino o humano - incubar a 35 °C por 1-3 h. Observar en microscopio a 400x. Prueba positiva: Complejo <i>Candida albicans</i> (<i>C. albicans</i> , <i>C. dubliniensis</i> y <i>C. africana</i>).
	Agar opacidad	>	Detección de estereasa - incubar a 30 °C, 48-72 h. Diferencia <i>C. albicans</i> de <i>C. dubliniensis</i> . Prueba positiva: se observa halo de opacidad alrededor de la colonia de <i>C. albicans</i> .
	Agar cromogénico para levaduras	>	Medio selectivo y diferencial. Aislamiento de cultivos mixtos. Incubar a 35 °C, 24-72 h. Identificación presuntiva de algunas especies de <i>Candida</i> . CHROMagar™ <i>Candida</i> Plus, es capaz de identificar de forma presuntiva <i>C. auris</i> .
	Agar tabaco modificado Agar semilla alpiste	>	Diferencia <i>C. albicans</i> de <i>C. dubliniensis</i> . <i>Candida dubliniensis</i> : colonia marrón, borde festoneado y rugosa. <i>Candida albicans</i> : colonia blanca, borde regular, lisa.
	Asimilación rápida de trehalosa	>	Identificación presuntiva del Complejo <i>Candida glabrata</i> . Tableta ROSCO trehalosa (2,5mg) + 300 µl de inóculo 2 Mc Farland en solución fisiológica estéril. Incubar a 35 °C. Lectura hasta 2 horas.

Identificación presuntiva de *Cryptococcus* spp.

	Agar semilla de girasol/alpiste Agar tabaco	>	Detección de enzima fenoxidasa producida por <i>C. neoformans</i> y <i>C. gattii</i> . <i>C. neoformans/gattii</i> : colonias color marrón.
	Prueba de ureasa	>	Detección de <i>Cryptococcus</i> spp.
	Medio CGB	>	Diferencia <i>C. neoformans</i> (amarillo verdoso) / <i>C. gattii</i> (azul intenso)

MÉTODOS MANUALES – IDENTIFICACIÓN DEFINITIVA

API 20C, API ID 32C (pruebas de asimilación de azúcares), RAPID ID YEAST PLUS (sustratos cromogénicos y convencionales).

MÉTODOS AUTOMATIZADOS- IDENTIFICACIÓN DEFINITIVA

	Vitek® 2	>	Tarjeta YEAST – se basa en métodos bioquímicos (46) que miden la utilización de la fuente de carbono y de nitrógeno y las actividades enzimáticas. Vitek® 2 versión 8.01 puede identificar <i>C. auris</i> . Resultados en 15 – 18 horas.
	BD Phoenix™	>	Emplea 47 sustratos deshidratados. Incluye pruebas de fermentación, oxidación, degradación e hidrólisis, y además tiene sustratos de fuente única de carbono fluorogénicos y cromogénicos. Resultados en 4-18 horas.
	MicroScan®	>	La tecnología que emplea es colorimétrica, turbidimétrica y fluorométrica. Cuenta con el panel Rapid Yeast ID basado en pruebas convencionales cromogénicas en una placa de 96 pocillos, la cual utiliza 27 sustratos deshidratados. Identificación definitiva en 4 horas.
	MALDI TOF Vitek® MS (BioMérieux) Biotyper® (Bruker Daltonics)	>	Espectrometría de masa que compara el perfil proteico del microorganismo con una base de datos y obtiene un score en base al grado de identidad o similitud. Resultados en pocos minutos.
	Identificación molecular	>	Identificación de género y especie: secuenciación basada en ADN ribosomal, PCR con primers específicos, PCR-RFLP, PCR secuenciación con primers panfúngicos. Identificación de levaduras a partir de muestras clínicas: <ul style="list-style-type: none"> • T2Candida® (sangre entera) • PNA FISH® (hemocultivos positivos) • Filmarray® (panel de sepsis)