



## BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)

### UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O **BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)** é utilizado para o isolamento selectivo de fungos e para o isolamento e identificação de *Candida albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* provenientes de amostras clínicas.

### PRINCÍPIOS E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Método microbiológico.

O Agar Sabouraud com glucose consiste num meio largamente utilizado que, devido ao seu pH reduzido e à concentração glucose elevada, é parcialmente selectivo relativamente aos fungos. Uma vez que existe um grande número de bactérias que toleram um pH baixo e uma concentração de glucose elevada e que irão desenvolver-se no agar Sabouraud, especialmente durante o período de incubação prolongado frequentemente necessário para o isolamento fúngico, foram desenvolvidas várias formulações contendo inibidores antibacterianos. Alguns antimicrobianos como, por exemplo, penicilina, cloranfenicol, aminoglicosídeos ou combinações destes componentes demonstraram ser eficazes na inibição de bactérias sem afectar o crescimento fúngico.<sup>1-6</sup>

No Sabouraud GC Agar as peptonas são fontes de nitrogénio. A glucose (=dextrose) proporciona uma fonte de energia para o desenvolvimento de fungos. O cloranfenicol e a gentamicina são antibióticos de largo espectro que inibem uma grande variedade de bactérias gram-negativas e gram-positivas.

O CHROMagar Candida Medium é um meio selectivo para diferenciação utilizado para o isolamento de fungos. Através da inclusão de substratos cromogénicos no meio, as colónias de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* produzem cores diferentes, permitindo a detecção directa destas espécies de levedura na placa de isolamento.<sup>7-12</sup> As colónias de *C. albicans* aparecem a verde-claro a verde médio, as colónias *C. tropicalis* a azul esverdeado a azul metalizado e as colónias de *C. krusei* com um tom cor-de-rosa claro com um rebordo esbranquiçado. Existem outras espécies de leveduras que poderão desenvolver a sua cor natural (creme), cor-de-rosa ou cor de malva claro ou escuro [por exemplo *Candida (Torulopsis) glabrata* entre outras espécies]. Uma vantagem adicional deste meio consiste na fácil detecção de culturas mistas de leveduras devido à aparência das colónias com cores diferentes.<sup>7,9-12</sup>

As peptonas especialmente seleccionadas para o efeito fornecem os nutrientes no **CHROMagar Candida Medium**. A mistura exclusiva de cromogénios é composta por substratos artificiais (cromogénios), que libertam compostos de várias cores na sequência da degradação de enzimas específicas. Tal permite a diferenciação de determinadas espécies, ou a detecção de determinados grupos de organismos, utilizando apenas um número mínimo de testes de confirmação. O cloranfenicol inibe a maioria dos contaminantes bacterianos. Adicionou-se dióxido de titânio para diferenciar este meio do **Sabouraud GC Agar**.

O **CHROMagar Candida Medium** foi desenvolvido por A. Rambach e é comercializado pela BD Diagnostic Systems no âmbito de um acordo de licença com a CHROMagar, Paris, França.

## REAGENTES

Fórmulas\* por Litro de Água Purificada

Sabouraud Agar with Gentamicin and Chloramphenicol		CHROMagar Candida Medium	
Hidrolisado pancreático de caseína	5,0 g	Cromopeptona	10,0 g
Hidrolisado péptico de tecido animal	5,0	Glucose	20,0
Glucose	40,0	Mistura de cromogénios	2,0
Agar	15,0	Cloranfenicol	0,5
Gentamicina	0,04	Dióxido de titânio	0,35
Cloranfenicol	0,4	Agar	15,0
pH 5,6 ± 0,3		pH 6,0 ± 0,3	

\*Ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios do desempenho.

## PRECAUÇÕES

**IVD** . Apenas para uso profissional. ☒

Não utilizar as placas que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secura, fissuras ou outros sinais de deterioração.

Consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO** para informação sobre os procedimentos de manuseamento asséptico, os riscos biológicos e os procedimentos de eliminação do produto usado.

## ARMAZENAMENTO E PRAZO DE VALIDADE

Após recepção das placas, conservar **no escuro** a uma temperatura entre 2 e 8°C, dentro do invólucro original até ao momento da utilização. Evitar congelar e aquecer excessivamente. As placas podem ser inoculadas até ao prazo de validade (ver a etiqueta da embalagem) e incubadas durante o tempo de incubação recomendado.

As placas são fornecidas em pilhas de 10 e, quando uma destas pilhas é aberta, as respectivas placas terão de ser utilizadas no prazo máximo de uma semana, se forem conservadas em local limpo a uma temperatura entre 2 e 8°C.

Minimizar a exposição à luz antes e durante a incubação, uma vez que a luz poderá destruir os cromogénios.

## CONTROLO DE QUALIDADE PELO UTILIZADOR

Inocular amostras representativas com as seguintes estirpes (para mais detalhes, consultar as **INSTRUÇÕES GERAIS DE UTILIZAÇÃO**). Incubar as placas em condições aeróbias, durante 20 a 48 h a uma temperatura de 35 ± 2°C.

Estirpes	Sabouraud GC Agar	CHROMagar Candida Medium
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Crescimento bom a excelente; colónias brancas	Crescimento bom a excelente; colónias verde-claro a verde médio
<i>Candida krusei</i> ATCC 34135	Crescimento bom a excelente; colónias planas, brancas a creme	Crescimento bom a excelente; colónias planas, cor-de-rosa claro a vermelho claro com um rebordo esbranquiçado
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 1369	Crescimento bom a excelente; colónias brancas a creme	Crescimento bom a excelente; colónias azuis acinzentadas a azuis esverdeadas ou azuis metalizadas com ou sem halos violetas no meio circundante
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Inibição parcial a completa	Inibição parcial a completa
* <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	Crescimento bom a excelente	Crescimento bom a excelente
Não inoculadas	Âmbar claro, transparente	Branco leitoso, opaco

\* podem ser incubadas durante, no máximo, 4 dias

## PROCEDIMENTO

### Materiais fornecidos

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

Microbiologicamente controlados.

Para diferenciar os dois meios desta biplaca, o **CHROMagar Candida Medium** contém dióxido de titânio (veja a fórmula) que torna o meio branco leitoso e opaco, enquanto o **Sabouraud GC Agar** é transparente.

### Materiais não fornecidos

Meios de cultura auxiliares, reagentes e equipamento laboratorial, conforme necessário.

### Tipos de amostra

Os meios existentes nesta biplaca são utilizados para o isolamento de fungos e para o isolamento e identificação de *Candida albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* provenientes de todo o tipo de amostras clínicas (consultar também **CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO**).

### Procedimento do teste

Espalhar a amostra ou cultura para isolamento sobre a superfície de cada meio. Se a amostra estiver a ser cultivada a partir de uma zaragatoa, fazer rolar suavemente a zaragatoa sobre uma pequena área de cada superfície e, em seguida, espalhar a partir destas áreas com um anso. Incubar as placas em condições aeróbias, a uma temperatura de 35 +/- 2°C. Minimizar a exposição à luz antes e durante a incubação. Ler os resultados do **CHROMagar Candida Medium** após 42 a 48 h. Tendo em conta que alguns fungos filamentosos de crescimento lento poderão necessitar de um período de incubação mais longo, voltar a colocar a placa na incubadora até ao 4º dia ou por um período superior. Uma vez decorrido este período, inspeccionar o **Sabouraud GC Agar** para verificar se existem isolados adicionais ainda não detectados no **CHROMagar Candida Medium**, não sendo, no entanto, necessária uma nova leitura do **CHROMagar Candida Medium** após o período de incubação prolongado. Os isolados no **Sabouraud GC Agar** devem ser ainda mais diferenciados de forma a obter uma identificação completa.<sup>3-6</sup> Os isolados ocasionais como é o caso de *Cryptococcus neoformans* e dos fungos filamentosos irão necessitar de um período de incubação mais longo e, possivelmente, uma temperatura de incubação mais baixa. Por essa razão, recomenda-se a inoculação de uma placa de agar de **BD Sabouraud Agar with Gentamicin and Chloramphenicol** em conjunto com a amostra e a incubação desta placa a uma temperatura entre 25 e 30°C, caso se preveja a existência de fungos que necessitem de uma temperatura de incubação mais baixa.

### Resultados

Após o período de incubação suficiente, examinar o **Sabouraud GC Agar** para verificar a existência de colónias fúngicas que apresentem morfologia e cor típicas. Para obter uma identificação completa dos isolados, devem realizar-se testes bioquímicos bem como procedimentos microscópicos e serológicos.<sup>3-6</sup>

**CHROMagar Candida Medium:** Recomenda-se a leitura deste meio num fundo branco. Se estiverem presentes espécies de *Candida*, as colónias irão aparecer com uma cor verde-claro a verde médio (*C. albicans*), cor-de-rosa claro a vermelho claro com um rebordo esbranquiçado (*C. krusei*), ou azuis esverdeadas a azul metalizado com ou sem halos violetas (*C. tropicalis*). As restantes espécies de *Candida* e outro tipo de leveduras aparecerão com uma cor de malva claro a escura (rosa a violeta) ou, no casos em que não é utilizado nenhum dos substratos cromogénicos, irão apresentar a sua cor natural das colónias (creme a branco). Os dados dos vários estudos realizados indicam que não são necessários mais testes de identificação relativamente às espécies *Candida albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*.<sup>7-11</sup> As colónias que aparecem a cor-de-rosa claro a escuro ou cor de malva a violeta ou que aparecem na sua cor creme natural devem ser identificadas utilizando os métodos padrão.<sup>7-11</sup>

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O **BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)** é utilizado para o isolamento selectivo de fungos (Sabouraud GC Agar) e para o isolamento e identificação de *C. albicans*, *C. krusei* e *C. tropicalis* (**CHROMagar Candida Medium**).

O **Sabouraud GC Agar** consiste num meio convencional, largamente utilizado para o isolamento selectivo de fungos. Os isolados obtidos a partir deste meio deverão ser mais uma vez diferenciados utilizando os procedimentos clássicos para a identificação fúngica.<sup>1-6</sup>

*Nocardia* e *Actinomyces* são bactérias filamentosas (e não fungos!) pelo que não se desenvolvem nos meios Sabouraud que contêm inibidores bacterianos.

Para obter informações pormenorizadas e os procedimentos recomendados relativamente à identificação de isolados, consultar a bibliografia apropriada.<sup>3-6,8</sup>

A utilização do **CHROMagar Candida Medium** para a identificação directa de *C. albicans*, *C. krusei* e *C. tropicalis* foi documentada em diversos estudos e manuais que também podem ser consultados para se obter informações adicionais sobre os procedimentos recomendados.<sup>7,9-12</sup> Os resultados de uma avaliação recente sobre o desempenho do **BD CHROMagar Candida Medium** são referidos por Jabra-Rizk e colaboradores.<sup>11</sup>

A *Candida (Torulopsis) glabrata* produz normalmente colónias cor de malva a malva escuro neste meio.<sup>9</sup> No entanto, recomenda-se que os organismos que apareceram com esta cor sejam confirmados com testes bioquímicos adicionais uma vez que esta cor de colónias pode ser produzida uma vasta variedade de espécies de leveduras.

As colónias que aparecem neste meio a cor-de-rosa claro ou cor de malva claro a escuro ou que aparecem na sua cor creme natural devem ser identificadas utilizando os métodos padrão.<sup>3-5</sup>

Os fungos, à excepção das leveduras, também podem ser isolados neste meio caso sejam incubados a uma temperatura e durante um período de tempo adequados para estes organismos.

Uma vez que os fungos filamentosos poderão metabolizar os substratos cromogénicos, as cores apresentadas por estes organismos no **CHROMagar Candida Medium** poderão diferir das apresentadas em outros meios fúngicos. Não utilizar a aparência do crescimento dos fungos filamentosos neste meio para uma identificação morfológica.

Foi referido que a *C. dubliniensis* produz uma cor verde-escuro distinta no isolamento primário com **CHROMagar Candida Medium**.<sup>13-15</sup> No entanto, esta propriedade poderá não ser mantida no processo de repicagem. É necessária a execução de testes fenotípicos e genotípicos adicionais para a confirmação de *C. dubliniensis*. Os testes fenotípicos simples como, por exemplo, o desenvolvimento do isolado a 45°C (*C. dubliniensis*: negativo; *C. albicans*: positivo) poderão ser utilizado para a diferenciação entre as duas espécies.<sup>12</sup>

Antes da primeira utilização do **BD CHROMagar Candida Medium**, recomendamos a preparação da aparência típica das colónias com estirpes definidas de *C. albicans*, *C. krusei*, e *C. tropicalis*, por exemplo, as estirpes descritas na secção **CONTROLO DE QUALIDADE PELO UTILIZADOR**.

Existe um grande número de fungos filamentosos que necessitam de temperaturas de incubação inferiores às necessárias para o **BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)**. No entanto, a incubação desta biplaca a temperaturas inferiores a 35°C poderá retardar as reacções cromogénicas no **CHROMagar Candida Medium**.

## BIBLIOGRAFIA

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, Microsporium, 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. Bornaert. 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 dubliensis* 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.

## EMBALAGEM/APRESENTAÇÃO

### BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)

No. de cat. 254515                      Meios em placas prontos a usar, 20 placas  
 No. de cat. 257663                      Meios em placas prontos a usar, 120 placas

## INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Para obter informações adicionais, contacte o representante local da BD.



### Becton Dickinson GmbH

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

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach.  
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.  
Todas as outras marcas comerciais são propriedade da Becton, Dickinson and Company.  
© 2014 BD