

Finalidade:

Meio utilizado para o isolamento e diferenciação das espécies de *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Candida tropicalis*. Devido às diferenças na morfologia e nas cores das colônias das leveduras, este meio facilita a detecção de misturas de culturas de leveduras em espécies.

Registro ANVISA:

10097010166

Apresentações:

540115 - CANDIDA CROMOGENICO-20mL-PL 90X15-PC 10PL

LB 172292
Rev 11 - 09/2024

1. INTRODUÇÃO

A inclusão de substratos cromogênicos no meio, as colônias de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* produzem diferentes cores, permitindo a detecção direta destas espécies de leveduras na placa de isolamento primário. A presença de cloranfenicol presente no meio inibe a maioria de contaminantes bacterianos. Devido às diferenças na morfologia e cores das colônias de leveduras o meio facilita a identificação de contaminantes ou culturas mistas. Também pode ser utilizado para cultivo de outras espécies de leveduras e fungos filamentosos ao invés de ágar sabouraud ou similar, porém sem resposta cromogênica definida.

A utilidade de um meio seletivo e diferencial para o isolamento primário de espécies de *Candida* tem sido observado há muito tempo. Dentro 1953, Nickerson desenvolveu um meio seguindo um estudo da redução de sulfito pelas espécies de *Candida*. Em 1958, Pagano *et al.* adicionou cloreto de trifêniltetrazólio ao ágar Sabouraud Dextrose para diferenciar *C. albicans* de outras leveduras. Com a inclusão de substratos cromogênicos no meio, as colônias de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* produzem cores diferentes, permitindo a detecção direta dessas espécies de leveduras na placa de isolamento.

Peptonas fornecem os nutrientes, a mistura de cromógenos é metabolizada e degradada por enzimas específicas, sendo liberado compostos coloridos no meio de cultura, formando colônias com cor, permitindo a diferenciação de certas espécies, ou a detecção de determinados grupos de microrganismos, com um mínimo de testes confirmatórios. O cloranfenicol inibe a maioria das bactérias contaminantes.

2. COMPOSIÇÃO

Formulação	g/L
Cromopectona	10,0
Dextrose	20,0
Mistura de cromógenos	2,0
Cloranfenicol	0,5
Ágar Base	15,0
H ₂ O ultra purificada	1L
pH 5,9 ±0,2 a 25°C	

A formulação pode ser ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para cumprir os critérios de desempenho.

3. MATERIAL

a- Amostras

- Vários tipos de amostra podem ser inoculados no Candida Cromogênico Ágar, como por exemplo, amostras de cosméticos, farmacêuticas, ambientais e outros materiais. Não há restrições quanto ao tipo de amostra a ser utilizada neste meio de cultura.

- O laboratório deve estabelecer critérios de coleta, rejeição e conservação das amostras, conforme sua política da qualidade.

- Sempre considerar as necessidades específicas dos microrganismos alvos das análises, microrganismos com necessidades especiais (suplementos específicos ou ambiente controlados) podem não apresentar crescimento adequado se semeados em meio de cultura que não apresente os requisitos mínimos.

4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

a- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte, o produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72h. No laboratório as placas devem ser armazenadas em temperatura de 2 a 8°C, condições em que se mantém estáveis até a data de vencimento expressa em rótulo, desde que isento de contaminação de qualquer natureza. O uso de refrigerador tipo *frost-free* não é recomendado para meios de cultura devido ao efeito desidratante deste tipo de equipamento.

Considerando que este produto é gelatinoso e sua composição pode apresentar até 80% de água, ao sofrer variações de temperatura (quente-frio ou frio-quente) todo meio de cultura pode gerar condensação, de pouco a muita, acumulando água na placa. Recomenda-se guardar as placas com os meios de cultura virados para cima e, quando necessário, desprezar a água acumulada e deixar o meio de cultura estabilizar a temperatura antes de sua utilização.

Conforme descrito em literatura, o laboratório deve retirar da refrigeração apenas a quantidade de produto que deverá ser utilizada em sua rotina e deixar estabilizar a temperatura, ou secar a água condensada, antes de sua utilização, em temperatura ambiente, podendo utilizar a incubação em estufa (±37°C) para redução do tempo de secagem ou estabilização. A repetição do processo de refrigeração/estabilização não é recomendada, a constante troca de temperatura pode levar a desidratação do meio, expor o produto a contaminações, perda de performance dos cromógenos no meio ou gerar um acúmulo de água excessivo.

A água acumulada por condensação, ocasionada por alguma variação de temperatura, não influencia no desempenho do produto, desde que este não apresente ressecamento, contaminação ou diminuição de espessura.

b- Precauções e cuidados especiais

- O produto destinado apenas para o uso *in vitro*;
- Uso restrito por profissionais;
- Mesmo se tratando de produto livre de agentes infecciosos, recomenda-se tratar este produto como potencialmente infeccioso, observando o uso de equipamentos de proteção individual e coletivo;
- Não inalar ou ingerir;
- Não utilizar placas com sinais de contaminação, ressecamento ou com alterações de cor ou espessura;
- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado;
- Recomenda-se a leitura da diretriz aprovada para "Proteção de Trabalhadores de Laboratório e Infecções Obtidas no Trabalho - CLSI® M29-A" para o manuseio seguro;
- O procedimento de descarte do produto se baseia na RDC 222 (ANVISA) de 28 de março de 2018, que regulamenta as boas práticas de gerenciamento dos resíduos de serviços de saúde.
- Para acondicionamento e descarte do material usado, autoclavar a 121°C por 20 minutos. Recomendamos o uso dos sacos Detrilab.
- Contate o serviço de vigilância sanitária de sua região para garantir o cumprimento correto da legislação de descarte de produtos potencialmente contaminantes.

5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Estufa bacteriológica;
- Bico de Bunsen;
- Alças bacteriológicas (ou outro aparato para dispensação de amostra).

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

- Retirar o pacote de placas da geladeira e separar as placas a serem usadas, retornando o pacote à geladeira;
- Colocar as placas em estufa bacteriológica entre 35-37°C pelo tempo necessário para adquirirem esta temperatura;
- Semear o material de acordo com técnicas estabelecidas pelo laboratório referentes ao acondicionamento, preparo e diluições;
- Incubar por período de tempo exigido pela técnica adotada.
- Realizar leitura.

7. RESULTADOS

Analisar as colônias isoladas após incubação de acordo com as seguintes características:

- *Candida albicans*: Colônia verde claro a verde médio.
- *Candida krusei*: Colônia rosa claro a rosa pink, fosca, podendo desenvolver borda esbranquiçada.
- *Candida tropicalis*: Colônia azul acinzentada, azul esverdeada ou azul metalizadas, podendo apresentar halo violeta no meio de cultura.

8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 830/2023)

Os resultados falsamente positivos ou negativos podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:

- Outras espécies de leveduras podem desenvolver colônias com sua cor natural (creme) ou colônias de cor malva a malva escura (p.ex. *C. glabrata* e outras espécies) devendo ser identificadas por metodologias tradicionais.
- Algumas cepas de *Candida dubliniensis* podem desenvolver colônias com coloração verde escuro no isolamento primário, no entanto, esta propriedade pode não se manter na subcultura. Para a identificação provas bioquímicas ou ensaios genotípicos podem ser realizados para confirmação das identificações.
- Fungos filamentosos podem metabolizar os substratos cromogênicos, presentes no meio e desenvolver cores nas suas colônias. Não utilizar a cor desenvolvida por fungos filamentosos no agar Candida Cromogênico para identificação destes fungos. Para isso deve ser realizada cultura e identificação em meios tradicionais como, por exemplo, agar Sabouraud Dextrose.
- A exposição do produto à luz durante o armazenamento e durante a incubação pode levar a degradação dos cromógenos e com isso a alteração das cores das colônias.
- *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida dubliniensis* e outras espécies que não *C. albicans*, *C. krusei* e *C. tropicalis*, não podem ser diferenciadas com este produto.
- Podem ser observadas variações de coloração nas colônias, como morfologia, tamanho ou intensidade de cor, devido a características únicas dos isolados analisados.
- Tempo longo entre a semeadura da amostra e análise. Ao utilizar colônias isoladas em um período superior a 24 horas, o metabolismo bacteriano pode ficar comprometido e a leitura de alguns parâmetros podem consequentemente ficar defasados ou até mesmo não ocorrer. Em colônias recentes (inferior ao período de 18 horas) não se encontram com o metabolismo bem definido, e algumas provas podem não ocorrer.
- Incubação em temperatura inadequada.
- Sobrecarga de inóculo ou falta de inóculo. Placas com inóculos mais carregados podem gerar resultados falsamente positivos e inóculos em menor quantidade podem fornecer resultados falsamente negativos.
- Interpretação equivocada de resultados.
- Técnica de assepsia inadequada.
- Tempo excessivo ou insuficiente de incubação. Tempo excessivo de incubação fornece resultados falsamente positivos e tempo insuficiente fornece resultados falsamente negativos.
- Utilização de material vencido, contaminado ou em condições inadequadas.

- Contaminação cruzada por uso de acessórios não esterilizados corretamente ou ambiente não asséptico.
- Utilização de meios de cultura com aparência alterada.
- Não aguardar para que os materiais atinjam a temperatura ambiente no momento do uso.
- Erro na conservação do produto pode ocasionar desidratação do meio e alteração das propriedades dos componentes

9. CONTROLE DA QUALIDADE

- *Materiais necessários*

Cepas padrão: ATCC® (*American Type Culture Collection*) ou derivadas).

- *Controle de qualidade recomendado:*

Parâmetros	Resultado esperado	
Produtividade qualitativa - <i>C. albicans</i> ATCC 10231	Crescimento bom – colônias verdes a verde claras	Incubação 33-37°C 36-48h
Produtividade qualitativa - <i>Candida tropicalis</i> ATCC 4563	Crescimento bom – Colônias azul acinzentadas, azul esverdeadas ou azul metalizadas, podendo apresentar halo violeta no meio de cultura.	Incubação 33-37°C 36-48h
Produtividade qualitativa - <i>Candida krusei</i> ATCC 34135	Crescimento bom – colônias planas, de grande dimensão, coloração rósea, foscas e com bordas esbranquiçadas	Incubação 33-37°C 36-48h
Meio não inoculado	Meio sólido de coloração amarela.	

- *Periodicidade*

Testar a cada novo lote recebido ou em periodicidade estabelecida pelo próprio laboratório.

- *Análise dos resultados*

As cepas inoculadas no material devem apresentar características de crescimento esperados. Caso se constate algum problema ou diferença, os resultados de amostras clínicas não devem ser liberados até que as causas tenham sido apuradas devidamente e os problemas constatados sanados.

10. GARANTIA DA QUALIDADE

A Laborclin obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário que:

- O usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
 - Os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas;
 - Os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.
- Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente conforme calendário estabelecido pela empresa até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos no site www.laborclin.com.br. Em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, entrar em contato com o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente através do telefone 0800-0410027 ou pelo e-mail sac@laborclin.com.br. Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da Laborclin serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

11. REFERÊNCIAS

- ANDRADE, Nélito José de. Higiene na Indústria de Alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos. São Paulo, 2008.
- ARAUJO, Crystiane Rodrigues *et al.* Identificação das leveduras do gênero *Candida* por métodos manuais convencionais e pelo método cromogênico CHROMagar candida, Goiânia, v. 34, n. 1, p. 37-42, jan/abr 2005.
- Brasil. Farmacopeia Brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.

4. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media. 1st ed. The International Organization for Standardization, 2014.

5. Guia ABC de Microbiologia – Controle Microbiológico na Indústria de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes. 4°. Ed. São Paulo 2014.



Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

CNPJ 76.619.113/0001-31

Insc. Estadual 1370012926

Rua Casimiro de Abreu, 521

Pinhais/PR CEP 83.321-210

Telefone (41) 3661-9000

www.laborclin.com.br

Responsável Técnico:

Maire Wakamori – CRF/PR-20176

Serviço de Assessoria ao Cliente

SAC 0800-0410027

sac@laborclin.com.br

ANEXO 1 – LISTA DE SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS

	Código do produto		Número de lote
	Número de série		Fabricante
	Consultar instruções para utilização		Validade
	Temperatura de armazenagem (limite de temperatura)		Produto para saúde para diagnóstico in vitro.
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada		Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Quantidade suficiente para <n> ensaios		Frágil, manusear com cuidado
	Esterilizado utilizando técnicas assépticas de processamento		Esterilização utilizando óxido de etileno
	Esterilização utilizando irradiação		Esterilizado utilizando vapor ou calor seco.
	Risco biológico		Cuidado. Importante consultar instruções de uso.
	Controle		Controle Negativo
	Controle Positivo		Manter seco
	Manter afastado da luz solar e longe do calor		Somente para avaliação de desempenho
	Não utilizar		Não reesterilizar

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Terceira edição (24.08.2022)