

Utilização do ágar suco de tomate (ágar V8) na identificação presumtiva de *Candida dubliniensis*

Utilization of tomato juice agar (V8 agar) in the presumptive identification of *Candida dubliniensis*

Sydney Hartz Alves¹, Carlos Eduardo Linares², Érico Silva de Loreto², Magnus Rodrigues³, Diego I. Thomazi³, Felipe Souza³ e Janio M. Santurio¹

RESUMO

Avaliou-se a capacidade do ágar suco de tomate (ágar V8) em diferenciar *Candida dubliniensis* de *Candida albicans* com base na produção de clamidoconídios. Noventa e três isolados de *Candida albicans* e vinte e seis de *Candida dubliniensis* foram incluídos; 100% de *Candida dubliniensis* formaram clamidoconídios e 92,5% de *Candida albicans* não evidenciaram estas estruturas. Estes resultados permitem sugerir este meio como recurso alternativo na identificação presumtiva de *Candida dubliniensis*.

Palavras-chaves: *Candida dubliniensis*. Clamidoconídios. Ágar suco de tomate. Ágar V8.

ABSTRACT

We evaluated the capacity of tomato juice agar (V8 agar) to differentiate *Candida dubliniensis* from *Candida albicans* based on chlamydospore production. *Candida albicans* (n= 93) and *Candida dubliniensis* (n= 26) were studied; 100% of *Candida dubliniensis* showed chlamydospores and in 92.5% of *Candida albicans* isolates these elements were absent. These results suggest this medium as an alternative tool for presumptive differentiation between these species.

Key-words: *Candida dubliniensis*. Chlamydospores. Tomato juice agar. V8 agar.

Candida dubliniensis foi descrita como nova espécie do gênero *Candida* em 1995, na Irlanda, por Sullivan cols⁶. Embora inicialmente associada com candidíase da orofaringe de pacientes infectados pelo vírus HIV, onde ainda é mais prevalente, atualmente tem sido reconhecida como causa de infecção em pacientes com câncer, com fibrose cística e pacientes com diversas patologias e diferentes graus de imunocomprometimento^{1 3 4 5 6}. Um dos problemas que interferem na realização de estudos epidemiológicos mais amplos com esta espécie é a dificuldade da rápida identificação, a partir de meios de triagem de baixo custo. Cabe salientar que, atualmente, a rigorosa identificação de *C. dubliniensis* requer a utilização de técnicas genotípicas como o RAPD, PCR ou sequenciamento da região V3 do gene que codifica o RNA ribossômico⁶. Neste contexto, vários autores vêm contribuindo na busca de métodos fenotípicos alternativos que possam, com segurança, serem aplicados às rotinas de laboratórios

de microbiologia clínica^{3 5}. No presente trabalho, relatamos a utilização do ágar suco de tomate (ágar V8) na diferenciação entre *Candida albicans* e *Candida dubliniensis*, com base na formação de clamidoconídios.

Nos ensaios foram utilizados 26 isolados de *C. dubliniensis* previamente identificadas através de técnicas genotípicas e 93 isolados de *C. albicans*. Todos os isolados estavam conservados em freezer a -80°C sendo reativados em ágar YPD (10g extrato de leveduras; 20g de peptona; 20g de dextrose; 15g de ágar/litro) a 30°C². Em placas de Petri o ágar suco de tomate² (200ml de suco de tomate industrializado; 3g de CaCO₃; 5g de dextrose; 20g de ágar-ágar) era distribuído após esterilização em autoclave (121°C/15 min). A seguir, volumes de 10µL de uma suspensão de células fúngicas em água destilada eram semeados na superfície do ágar suco de tomate; a incubação era a 25°C durante 48h. Os ensaios foram realizados em duplicata. A leitura

1. Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. 2. Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. 3. Curso de Graduação em Medicina da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

Endereço para correspondência: Dr. Sydney Hartz Alves. R. Andradas 1985/201, 97010-033 Santa Maria, RS, Brasil.

Telefax: 55 55 3222-1024

e-mail: hartzsa@ccs.ufsm.br

Recebido para publicação em 1/8/2005

Aceito em 8/9/2005

consistiu na observação microscópica das colônias as quais eram observadas com objetivas de 10X e de 40X classificando-se as colônias como lisas ou rugosas e com ou sem franjas (micélio irregular nos bordos da colônia). Simultaneamente, a esta avaliação, pesquisava-se a presença de clamidoconídios. Quando ausentes, um fragmento da colônia era colocado em lactofenol azul-algodão, montado entre lâmina e lamínula, e após 15 minutos de repouso, pesquisava-se a presença de clamidoconídios.

Todos os isolados de *C. dubliniensis* evidenciaram a formação de clamidoconídios, embora com alguma variação na quantidade destas estruturas. O exame direto das colônias com objetivas de 10X e 40X permitiu a nítida observação dos clamidoconídios. Das 93 culturas de *C. albicans*, 86 (92,5%) não evidenciaram a presença de clamidoconídios mas em 7 (7,5%), raríssimos clamidoconídios foram observados. Quanto à morfologia colonial observou-se que 23 isolados de *C. dubliniensis* (88,5%) evidenciavam colônias rugosas com bordos franjados enquanto 3 (11,5%) não mostraram estas características. Dentre os cultivos de *C. albicans*, 84 (90,4%) evidenciaram colônias lisas sem franjas e 8 (8,6%) com bordos pouco franjados (Tabela 1). Os resultados

Tabela 1 - Características coloniais e presença de clamidoconídios no ágar suco de tomate.

Espécies	Colônia rugosa			Colônia lisa		Clamidoconídios	
	Nº	nº	%	nº	%	nº	%
<i>C. dubliniensis</i>	26	23	88,5	3	11,5	26	100,0
<i>C. albicans</i>	93	8	8,6	84	90,3	7	7,4

deste estudo, sugerem que o ágar suco de tomate (ágar V8) pode se constituir numa nova alternativa para a diferenciação destas duas espécies. A inclusão de antibacterianos poderá permitir seu emprego no primo-isolamento, facilitando a rápida suspeição de *C. dubliniensis* com segurança e baixo custo. Alternativas similares, isto é, a diferenciação entre *C. albicans* e *C. dubliniensis* com base na produção de clamidoconídios já

foram propostas como o ágar caseína³ entretanto, a necessidade de incubação a 24°C para a produção de clamidoconídios requer um estufa adicional, dificultando seu uso. O ágar citrato férrico-ácido cafeico¹ evidenciou resultados muito similares aos aqui apresentados. Finalmente, considerando-se que o ágar suco de tomate ou ágar V8 é um meio amplamente conhecido e utilizado em micologia, ressaltamos que seu emprego não se restrinja somente à detecção de ascósporos, mas que possa também ser utilizado na identificação presuntiva de *C. dubliniensis*.

AGRADECIMENTO

Ao Dr. Arnaldo L. Colombo e Dra Eveline P. Milan, pela colaboração com amostras de *C. dubliniensis* utilizadas neste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Al Mosaid A, Sullivan D, Salkin IF, Shanley D, Coleman DC. Differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans* on Staib agar and caffeic acid-ferrous citrate agar. *Journal of Clinical Microbiology* 39: 323-327, 2001.
2. Larone DH. Medically important fungi: a guide to identification. ASM Press, Washington, 1995.
3. Mosca CO, Moragues MD, Llovo J, Al Mosaid A, Coleman DC, Pontón J. Casein agar: a useful medium for differentiating *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *Journal Clinical Microbiology* 41: 1259-1262, 2003.
4. Peltrouche-Llacsahuanga H, Dohmen H, Haase G. Recovery of *Candida dubliniensis* from sputum of cystic fibrosis patients. *Mycoses* 45: 15-18, 2002.
5. Staib P, Morschhauser J. Chlamyospore formation on Staib agar as a species-specific characteristic of *Candida dubliniensis*. *Mycoses* 42: 521-524, 1999.
6. Sullivan DJ, Westerneng TJ, Haynes KA, Bennett DE, Coleman DC. *Candida dubliniensis* sp nov.: phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV-infected individuals. *Microbiology* 141: 1507-1521, 1995.