

LEITE, João Jaime Giffoni. **Caracterização fenotípica, perfil de sensibilidade antifúngica e estocagem de *Malassezia* spp.** 2008. 138 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Médica) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008. Disponível em: <[http://www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/1900/1/2008\\_dis\\_jjgleite.pdf](http://www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/1900/1/2008_dis_jjgleite.pdf)>. Acesso em: 23 maio 2015.

## RESUMO

O gênero *Malassezia* abrange leveduras lipofílicas e lipodependentes que, após várias mudanças em sua classificação taxonômica, compreende na atualidade 13 espécies, incluindo *M. pachydermatis*, *M. furfur*, *M. globosa*, *M. obtusa*, *M. sympodialis*, *M. slooffiae*, *M. restricta*, *M. dermatis*, *M. japonica*, *M. yamatoensis*, *M. nana*, *M. caprae* e *M. equina*. Estas leveduras estão associadas a várias enfermidades que incluem infecções, como a pitiríase versicolor ou dermatoses, dermatite seborréica e dermatite atópica, entre outras. O objetivo geral deste trabalho foi contribuir para melhor entendimento sobre a identificação fenotípica, manutenção em micoteca e sensibilidade a antifúngicos *in vitro* de *Malassezia* spp. A fenotipagem baseou-se nas características macro e micromorfológicas, bem como análises em bioquímicas e nutricionais. Doze cepas de diferentes espécies de *Malassezia* spp. sofreram estocagem a -80°C sob óleos vegetais. A técnica de microdiluição foi realizada em caldo RPMI 1640, suplementado com bile, glicerol e Tween 20, sendo complementada com subcultivo em ágar Dixon, para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração fungicida mínima (CFM). As drogas testadas foram Cetoconazol (CET), Itraconazol (ITR), Fluconazol (FLU), Voriconazol (VOR), Anfotericina B (ANB) e Caspofungina (CAS). Com a análise fenotípica convencional das cepas (n=38), pode-se sugerir a presença de *M. furfur*/ *M. dermatis* (n=17), *M. sympodialis* (n=8), *M. slooffiae* (n=5) e *M. pachydermatis* (n=8). O estoque realizado em óleos vegetais a -80°C demonstrou significativas taxas de recuperação, no entanto características fisiológicas foram alteradas como  $\beta$ -glicosidase e assimilação de Chremophor EL. A maioria das cepas estudadas (84,21%), *M. pachydermatis* e cepas lipodependentes, foram sensíveis ao CET e ITR, obtendo valores de CIM  $\leq 0,03\mu\text{g/mL}$ . Para o FLU, os valores de CIM variaram de 4 a  $64\mu\text{g/mL}$  e frente ao VOR as cepas de *M. pachydermatis* obtiveram CIMs que variaram de  $<0,03$  a  $2\mu\text{g/mL}$ , enquanto as cepas lipodependentes de *Malassezia* spp. obtiveram resultados mais dispersos que variaram de  $<0,03$  a  $>16\mu\text{g/mL}$ . Perante ANB, o intervalo de CIM encontrado foi de 1 a  $>16\mu\text{g/mL}$ . Não foi possível determinar os valores de CIM e CFM frente à caspofungina. Os extratos oriundos das sementes do abacate foram ativos contra as cepas de *M. pachydermatis*.

**Palavras-chave:** *Malassezia* spp. Fenotipagem. Criopreservação. Sementes. Sensibilidade antifúngica.

## ABSTRACT

The genus *Malassezia* enclose lipophilic and lipid-dependent yeast that after many changes in its taxonomic classification, comprises in the actuality 13 species, including *M. pachydermatis*, *M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. globosa*, *M. obtusa*, *M. restricta*, *M. slooffiae*, *M. dermatis*, *M. japonica*, *M. yamatoensis*, *M. nana*, *M. equine*, and *M. caprae*. These yeasts are associated to several diseases including, such as pityriasis versicolor, or dermatoses, seborrheic dermatitis and atopic dermatitis, among others. The general aim of this study was to contribute to better knowledge about the phenotypical identification, storage in fungal collection and *in vitro* antifungal susceptibility of *Malassezia* spp. The phenotyping was based on macro and micromorphological characteristics, as well as biochemistry and nutritional analysis. Twenteen strains suffers storage at -80°C in vegetables oils. The microdilution technique was accomplished in RPMI 1640 broth, supplemented with ox bile, Tween 20 and glycerol, being complemented with subculture on Dixon agar, for determination of the minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal fungicidal concentration (CFM). The drugs tested were ketoconazole (KET), itraconazole (ITR), fluconazole (FLC), amphotericin B (AMB) and caspofungine (CAS). With the conventional phenotypical analysis of the strains (n=38), could suggest the presence of the *M. furfur*/ *M. dermatis* (n=17), *M. sympodialis* (n=8), *M. slooffiae* (n=5) and *M. pachydermatis* (n=8). The stored accomplished in vegetable oils at -80°C showed meaningful rate of recover, but physiologic characteristics was modified, such as  $\beta$ -glucosidase activity and Chremophor EL assimilation. Most of the strains (84,21%) was sensitive for KET and ITR, obtaining values of MIC  $\leq 0.03\mu\text{g/mL}$ . For FLC the MIC range was 4 to  $64\mu\text{g/mL}$ , against VOR the strains of *M. pachydermatis* obtained MIC range  $<0,03$  a  $2\mu\text{g/mL}$ , therefore the lipid-dependents strains of *Malassezia* spp. obtained dispersive results from  $<0.03$  to  $>16\mu\text{g/mL}$ . Against ANB, the MIC range was 1 to  $>16\mu\text{g/mL}$ . It was not possible determinate the MIC and MFC values for caspofungine. The extracts from avocado seeds were active against strains of *M. pachydermatis*.

**Keywords:** *Malassezia* spp. Phenotyping. Cryopreservation. Seeds. Antifungal susceptibility.