

***Trichophyton mentagrophytes* (Moniliacea): Manutenção e viabilidade por hidropreservação**

Sara Jéssica Teixeira de ANDRADE¹; Jose Augusto Almendros de OLIVEIRA²; Ana Cláudia Alves CORTEZ³.

1. Bolsista PIBIC/FAPEAM
2 e 3. Orientadores INPA/CPCS

1. Introdução

No campo da microbiologia, os fungos apresentam grande importância, pois acometem todos os seres vivos causando doenças. Também são atribuídas atividades benéficas tanto para a medicina quanto para a indústria, devido à produção de metabólitos utilizados na obtenção de medicamentos, conservantes, fermentos, corantes (Smith & Onions, 1983; Lacaz *et al.*; 2002) além da ação como agente de controle biológico (Pelczar *et al.*, 1996). Os fungos filamentosos dermatofíticos compreendem um grupo denominado queratinofílico, capazes de invadir os tecidos queratinizados da pele de homens e animais, usando a queratina presente como nutriente (Lacaz *et al.*, 1998. Sidrim *et al.*, 1999; Minami, 2003; Trabulsi *et al.*, 2005;). Esse grupo compreende três gêneros: *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*. O gênero de *Trichophyton* alvo deste trabalho pode transmitir a infecção de homem a homem (Minami, 2003; Vidoto, 2004). Para que seus representantes sejam utilizados em pesquisas é necessário conservá-los de alguma forma. Quando se faz em meios de cultivo consomem rapidamente os substratos requerendo repiques frequentes, o que leva a perda de tempo além de possibilitar contaminações indesejáveis, acarretando mudanças em suas características morfofisiológicas, genéticas, de virulência e principalmente, quanto à produção de seus metabólitos. Devido a essas dificuldades foram desenvolvidos outros métodos para a sua conservação, como cultivo em meio sólido coberto com óleo mineral, cultivo em areia ou em sílica-gel, bem como em tecidos secos do hospedeiro e água destilada, liofilização e conservação em nitrogênio líquido (Lacaz *et al.*, 2002). A escolha do método de conservação depende das disponibilidades dos laboratórios, e é neste ponto que se encontram as maiores dificuldades das instituições, as quais necessitam preservar seu acervo. No laboratório de Micologia Médica do INPA, se aplica diversos métodos para a preservação dos fungos em longo prazo para realização de posteriores estudos de pesquisa. O presente trabalho consistiu em utilizar a técnica de preservação em água destilada esterilizada proposta por Castellani em 1938 e utilizada até a atualidade por vários laboratórios, para conservar fungos filamentosos da espécie *Trichophyton mentagrophytes* mantidas na Coleção de Fungos de Interesse Médico do INPA, dos anos de 1986 a 2009 verificando sua viabilidade a cada três meses. A técnica é simples, econômica e foi capaz de assegurar a estabilidade de grande número de organismos fúngicos.

2. Material e Métodos

Da Coleção de Fungos de Interesse Médico do INPA, foram selecionadas 138 amostras fúngicas de *Trichophyton mentagrophytes* e cultivadas em placas de Petri contendo meio de cultivo agar batata e incubadas a temperatura ambiente a fim de promover seu desenvolvimento. Foram cortados blocos das colônias jovens e transferidos para frascos de penicilina contendo água destilada esterilizada. Os frascos foram obturados e selados com alumínio sendo armazenados a temperatura ambiente. A viabilidade das cepas fúngicas foi verificada em 3, 6 e 9 meses por transferência de um bloco da amostra para meio de cultivo sólido.

3. Resultados e discussão

Após nove meses, 100% das amostras (138) se apresentaram viáveis (Figura 1), embora, na terceira verificação 10,14% (14) apresentaram contaminação.

Outros autores tais como McGinnis *et al.* (1974) e Komaid (1988) relatam elevados percentuais de preservação fúngica, empregando a mesma técnica, tendo como

alvo, fungos dermatofíticos. O mesmo relata Capriles *et al.* (1989) que verificou uma preservação prolongada de fungos dermatofitos por até 20 anos.



Figura 1. Crescimento das amostras viabilizadas.

4. Conclusão

A técnica de hidropreservação se mostrou viável para o fungo de *Trichophyton mentagrophytes*, no período proposto. Podemos afirmar que foi um método eficiente e vantajoso em relação ao armazenamento de amostras, preservação e manutenção fungica, ressaltando que os resultados esperados foram alcançados.

5. Referências (de acordo com as normas da *Acta Amazonica*)

Capriles, CH; Mata, S & Middelveen, M. Preservation of fungi in water (Castellani): 20 years. *Mycopathologia*. 106: 73-79,1989. Preservation of fungi in liquid nitrogen. *Mycologia*. 79: 82-89, 1987.

C.C. Aparecido, C.T.M. Huang, M.M. Passador, D. Finatti, M.B. Figueredo, 2007. Avaliação da viabilidade de culturas fúngicas preservadas pelos métodos de Castellani (água destilada) e Liofilização. São Paulo. Universidade Estadual Paulista.

Diogo, Hilda Conceição, 2005. Preservação de fungos em água destilada. São Paulo. Complexo Hospitalar Padre Bento de Guarulhos.

Komaid, AG. Viability of fungal cultures after ten years of storage in sterile distilled water at room temperature. *Rev. Lat-Amer. Microbiol.* 30: 219-221, 1988.

Lacaz CS, Porto E, Heins-Vaccari EM, Melo NT. Guia para identificação "Fungos 'Actinomicetos e Algas'" de interesse médico. São Paulo: Savier; 1998.

Lacaz, C.S.; Porto, E.; Martins, J.E.C.; Heins-Vaccari, E.M.; De Melo, N. T. 2002. Tratado de Micologia Médica. 9. ed. São Paulo: Sarvier.

Minami, P.S. 2003. *Micologia: métodos laboratoriais de diagnóstico das micoses*. Barueri, SP: Manole.

McGinnis, MR; Padhye, AA & Ajello, L. Storage of stock cultures of filamentous fungi, yeast and some aerobic actinomycetes in sterile water. *Appl. Microbiol.* 28 (2):218-222, 1974.

Neufeld, Paulo Murilo, Oliveira, Pedrina Cunha, 2008. Preservação de dermatofitos pela técnica de água destilada estéril. Rio de Janeiro. Faculdade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia.

Pelczar-jr, M.J.; Cham, E.C.S.; Krieg, N.R.1996. *Microbiologia: Conceitos e Aplicações*. 2. ed. vol-1. São Paulo: Makron Books.

Sidrim, J. J. C; Moreira, J. L. B. 1999. *Fundamentos Clínicos e Laboratoriais da Micologia Médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Smith, & Onions, A.H.S. 1983. *The preservations and Maintenance of Living Fungi*. International Center for Agriculture and Bioscience – CAB International, 2ed. 51pp.

Trabulsi, L.R.; Alterthum, F. 2005. *Microbiologia*. 4. ed. São Paulo: Atheneu.

Vidotto, V. 2004. *Manual de micologia médica*. Ribeirão Preto, SP: Tecmedd.

ROCHA, Renam Mori, 2009. *Trichophyton rubrum* (Moniliacea): Manutenção e viabilidade por crio e hidropreservação. Instituto Nacional em Pesquisas da Amazônia – INPA. Laboratório de Micologia Médica do INPA.