

Viabilidade das leveduras estocadas a -20°C em diferentes períodos de tempo

Jaqueline Otero SILVA; Patricia Pereira COSTA; Silvia Helena Chinarelli RECHE
Instituto Adolfo Lutz, Laboratório I de Ribeirão Preto.

A conservação de leveduras em micotecas é de fundamental importância para estudos retrospectivos e prospectivos, que enfoquem sua biologia, etiologia e aspectos epidemiológicos. Uma vez que estes estudos, geralmente, demandam um longo período de tempo, é importante que se faça a escolha adequada do método de preservação.

Os métodos tradicionais de conservação de leveduras (ex: repiques sucessivos em ágar Sabouraud) tem apresentado inúmeros problemas como: contaminação por fungos ambientais, presença de ácaros, desidratação do meio de cultura e alteração das características morfológicas e fisiológicas, culminando com a morte do microrganismo. Os processos de desidratação ou congelamento são os melhores métodos de preservação de culturas de fungos pois, baseiam-se na redução do metabolismo até um nível de dormência artificial². Este trabalho teve como objetivo, determinar a viabilidade de leveduras, em caldo infusão cérebro-coração, contendo 20% de glicerol, quando conservadas a -20°C em três diferentes períodos de tempo. Para tanto, após o processo de identificação segundo a metodologia descrita por Kurtzman e Fell¹, 311 leveduras isoladas de diferentes materiais humanos foram semeadas em caldo infusão cérebro – coração com 20% de glicerol distribuídos em flaconetes. Após 48 horas de incubação a 30°C , os flaconetes foram mantidos em refrigerador por 7 dias, o que impede as diferenças drásticas de temperaturas (choque térmico), e posteriormente, estocados em freezer a -20°C . Para verificar a viabilidade das

cepas, as mesmas foram semeadas em meio de Agar Sabouraud e incubadas a 30°C por 48 horas.

Os três períodos de tempo de congelamento e as espécies avaliadas estão apresentadas na Tabela 1.

Foram recuperadas 99,0% das cepas referentes aos períodos de 3 anos e 3 anos e 6 meses de congelamento. A viabilidade das cepas com 4 anos de congelamento foi de 89,7% (131 cepas). *C. albicans* foi a espécie não recuperada em todas as situações.

Estudos demonstram que o congelamento a -70°C possibilitam total viabilidade das culturas, no entanto, o equipamento a -80°C nem sempre está disponível nos laboratórios de micologia. O congelamento de amostras a -20°C contendo o crioprotetor glicerol, assim como, a refrigeração entre 2 a 8°C , pode ser uma técnica alternativa para conservação desses microrganismos por um período aproximado de até 42 meses, como observado neste estudo. A metodologia também oferece a vantagem de baixo custo, facilidade na realização e no armazenamento com a utilização de flaconetes.

REFERÊNCIAS

1. Kurtzman, P. C. & Fell, J. W. - **The yeasts: a taxonomic study**. 4 Ed. Amsterdam: Elsevier: 1998, 1055 p.
2. Nery S. A.; Melhem, M. S. C. & Gomes, A. M. L. Manutenção da levedura *Cryptococcus* sp por congelamento. **Laes & Haes**, 129:194, 2001.

Tabela 1. Total de espécies de leveduras, conservadas a -20°C , em três diferentes períodos de tempo:

ESPÉCIES	TEMPO DE CONGELAMENTO		
	3 anos (congelamento em janeiro de 2001)	3 anos e 6 meses (congelamento em novembro de 2000)	4 anos (congelamento em junho de 2001)
<i>C. albicans</i>	73	61	94
<i>C. parapsilosis</i>	-	16	26
<i>C. glabrata</i>	-	8	9
<i>C. tropicalis</i>	-	5	-
<i>C. guiliermondii</i>	-	4	4
<i>C. krusei</i>	-	2	2
<i>Trichosporon</i> sp	-	-	4
<i>Rodhotorula</i> sp	-	-	7
Total de cepas	73	96	146