



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS**

**ANE TELES REIS**

**LEVEDURAS ISOLADAS DE PACIENTES COM PSORÍASE E INDIVÍDUOS  
SAUDÁVEIS: CORRELAÇÃO CLÍNICA E SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE  
*Malassezia spp.* E *Candida spp.* A ANTIFÚNGICOS**

**FORTALEZA**

**2020**

ANE TELES REIS

LEVEDURAS ISOLADAS DE PACIENTES COM PSORÍASE E INDIVÍDUOS  
SAUDÁVEIS: CORRELAÇÃO CLÍNICA E SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE  
*Malassezia* spp. E *Candida* spp. A ANTIFÚNGICOS

Dissertação de Mestrado apresentado à Banca de Defesa do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre do referido programa.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Rossana de Aguiar Cordeiro.

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Xinaida Taligare Vasconcelos Lima.

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- R11 REIS, ANE TELES.  
LEVEDURAS ISOLADAS DE PACIENTES COM PSORÍASE E INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS:  
CORRELAÇÃO CLÍNICA E SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE *Malassezia* spp. E *Candida* spp. A  
ANTIFÚNGICOS / ANE TELES REIS. – 2020.  
94 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Fortaleza, 2020.

Orientação: Profa. Dra. Rossana de Aguiar Cordeiro.

Coorientação: Profa. Dra. Xinaida Taligare Vasconcelos Lima.

1. Micobiota. 2. Leveduras. 3. lipodependentes. 4. Antifúngicos. 5. Identificação laboratorial. I. Título.  
CDD 610

---

ANE TELES REIS

LEVEDURAS ISOLADAS DE PACIENTES COM PSORÍASE E INDIVÍDUOS  
SAUDÁVEIS: CORRELAÇÃO CLÍNICA E SENSIBILIDADE DE ISOLADOS DE  
*Malassezia* spp. E *Candida* spp. A ANTIFÚNGICOS

Dissertação de Mestrado apresentado à Banca de Defesa do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre do referido programa.

Aprovada em: 08/05/2020.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Rossana de Aguiar Cordeiro (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Erika Helena Salles de Brito  
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

---

Prof. Dr. Reginaldo Gonçalves de Lima Neto  
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

## AGRADECIMENTOS

Expresso o meu agradecimento à Universidade Federal do Ceará, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas (PPGCM) e ao Centro Especializado em Micologia Médica pela oportunidade de desenvolver a pesquisa.

À Profa. Dra. Rossana de Aguiar Cordeiro, por todo acolhimento, disponibilidade, paciência e principalmente por todos os ensinamentos.

À Dra. Xinaida Taligare Vasconcelos Lima, pelo acolhimento, por toda a confiança, por cada ensinamento e disponibilidade do precioso tempo.

Aos professores Júlio Sidrim, Marcos Fábio Rocha, Débora Castelo-Branco e aos professores do PPGCM, pela oportunidade de crescer com seus ensinamentos.

À Profa. Dra. Sâmia Brilhante, por toda preocupação e palavras de acalanto.

Às secretárias do PPGCM, Ivone e Rita, pelo auxílio ao longo deste trabalho.

À profa. Dra. Gláucia Guedes, pelos incentivos e pelo auxílio inestimável.

À Tereza Rodrigues e Dra. Silviane Praciano pelos auxílios e as incríveis observações.

Às profas. Germana Paixão e Lydia Pantoja pelo acolhimento, todos os ensinamentos e por terem me feito apaixonado pelo incrível mundo da Microbiologia.

Ao prof. Oriel Herrera por me ensinar a pesquisar, incentivar e todos conselhos.

À Dra. Jamille Alencar, pela amizade, por dividir aflições científicas e por contribuir de forma tão valiosa em várias etapas do meu processo acadêmico.

Aos colegas e amigos de pós-graduação, pelo agradável convívio diário. Alguns em especial que me proporcionaram ajudas inestimáveis, Gerlane Luiziane, Fernando Victor Monteiro, Lívia Maria Galdino, Ana Luiza Ribeiro, Vandberg Santos, Santiago Gonçalves, Bruno Nascimento, Raquel Colares.

Aos meus familiares por serem os alicerces da minha vida e por todo amor.

Ao meu padrasto, José Édesio Dias Vasconcelos, por todos os incentivos, por torcer pelas minhas conquistas, pela oportunidade de convivência e por todo o carinho.

Às minhas melhores amigas da vida que tiveram a maior paciência, parceria e apoio.

Ao Paulo Henrique Costa, por toda força e ao apoio que me deu ao longo de tantos anos e sempre acreditado no meu potencial.

Aos órgãos de fomento CAPES, CNPq, FUNCAP que viabilizaram as pesquisas pelos investimentos financeiros.

## RESUMO

A psoríase é uma doença inflamatória crônica que vários fatores estão relacionados com o aparecimento ou a piora da doença, inclusive os microrganismos como as leveduras dos gêneros *Malassezia* e *Candida* que fazem parte da microbiota da pele humana, mas são associados a doenças como pitiríase versicolor, dermatites e candidíase. Desse modo, o objetivo do presente estudo foi identificar as leveduras presentes em lesões de pacientes com psoríase e comparar com a pele de indivíduos saudáveis atendidos no Hospital Universitário Walter Cantídio. Foram considerados três grupos de estudo: (I) Pacientes com a doença em atividade sem tratamento; (II) Pacientes em tratamento para psoríase; (III) Indivíduos saudáveis, sem psoríase. Foram avaliados os dados clínico-epidemiológicos dos pacientes. Foram coletados até cinco amostras de pele nos três grupos. As identificações das espécies isoladas foram feitas por características fenotípicas, moleculares (rDNA-RFLP) e MALDI-TOF MS. Foram feitos teste de sensibilidade *in vitro* aos antifúngicos miconazol (MCZ), cetoconazol (KTZ), fluconazol (FLC), itraconazol (ITZ), voriconazol (VCZ), terbinafina (TRB) e anfotericina B (AMB) pelo método de microdiluição em *Malassezia* spp. e *Candida* spp., também formação de biofilme de *Malassezia* spp. *in vitro*. Participaram do estudo 61 pessoas entre pacientes e indivíduos saudáveis. Em relação aos pacientes com psoríase, 60% eram do sexo masculino (n = 21); os pacientes do grupo I eram mais jovens (36,7 anos ± 14,4) do que os do grupo II (47,7 anos ± 15,2). A apresentação clínica mais comum foi a psoríase em placas (85,71%), seguida pela pustular (5,71%). No grupo I 57,2% dos pacientes apresentaram doença moderada a grave. Em termos de tratamento, 13 (50%) dos pacientes do grupo II receberam fototerapia e / ou tratamento tópico e os outros 50% receberam terapia sistêmica. Foram isoladas espécies de *Malassezia*, *Candida*, *Rhodotorula* e *Trichosporon* nos três grupos de estudo. *Candida* spp. foram isoladas em 76,9% das amostras de pele dos indivíduos saudáveis. Observou-se que os isolados de *Malassezia* spp. oriundos de pacientes apresentaram maiores valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) para KTZ (0,29) e TRB (4,60), em comparação com aqueles oriundos dos indivíduos saudáveis. Os isolados de *Candida* spp. oriundos de pacientes apresentaram maior valor de CIM para FLC (0,80) e menor para AMB (0,36) em comparação com aqueles oriundos dos indivíduos saudáveis. Houve formação de biofilmes de *Malassezia* spp. em todas os isolados testados. O presente estudo apesar de limitações amostrais traz dados importantes para possíveis investigações posteriores.

**Palavras-chave:** Micobiota. Leveduras lipodependentes. Antifúngicos. Identificação laboratorial.

## ABSTRACT

Psoriasis is a chronic inflammatory disease where several factors are related to the onset or worsening of the disease, including microorganisms such as yeasts of the genera *Malassezia* and *Candida* that are part of the human skin microbiota, but are associated with diseases such as pityriasis versicolor, dermatitis and candidiasis. Thus, the objective of the present study was to identify the yeasts present in lesions of patients with psoriasis and to compare with the skin of healthy individuals treated at the Hospital Universitário Walter Cantídio. Three study groups were considered: (I) Patients with the disease in activity without treatment; (II) Patients undergoing treatment for psoriasis; (III) Healthy individuals, without psoriasis. The patients' clinical-epidemiological data were evaluated. Up to five skin samples were collected in the three groups. The identifications of the isolated species were made by phenotypic, molecular characteristics (rDNA-RFLP) and MALDI-TOF MS. In vitro sensitivity tests for miconazole (MCZ), ketoconazole (KTZ), fluconazole (FLC), itraconazole (ITZ), voriconazole (VCZ), terbinafine (TRB) and amphotericin B (AMB) were performed using the *Malassezia* microdilution method. *spp.* and *Candida spp.*, also biofilm formation of *Malassezia spp.* in vitro. 61 people participated in the study, including patients and healthy individuals. Regarding patients with psoriasis, 60% were male (n = 21); patients in group I were younger (36.7 years  $\pm$  14.4) than those in group II (47.7 years  $\pm$  15.2). The most common clinical presentation was plaque psoriasis (85.71%), followed by pustular psoriasis (5.71%). In group I 57.2% of the patients had moderate to severe disease. In terms of treatment, 13 (50%) of patients in group II received phototherapy and / or topical treatment and the other 50% received systemic therapy. *Malassezia*, *Candida*, *Rhodotorula* and *Trichosporon* species were isolated in the three study groups. *Candida spp.* were isolated in 76.9% of the skin samples from healthy individuals. It was observed that the isolates of *Malassezia spp.* from patients had higher values of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) for KTZ (0.29) and TRB (4.60), compared to those from healthy individuals. The *Candida spp.* from patients had higher MIC values for FLC (0.80) and lower for AMB (0.36) compared to those from healthy individuals. There was the formation of biofilms from *Malassezia spp.* in all tested isolates. The present study, despite sample limitations, brings important data for possible further investigations.

**Keywords:** Mycobiota. Lipodependent yeasts. Antifungals. Laboratory identification.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – A patogênese da psoríase.....	14
Figura 2 – Manifestação clínica de psoríase.....	16
Figura 3 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de <i>M. japônica</i> , seta indicando leveduras cilíndricas.....	20
Figura 4 – Morfologia de colônias e células de <i>Malassezia</i> spp. cultivada em ASD + azeite de oliva. (A) Colônias após 4 dias de crescimento; (B) Morfologia celular de <i>Malassezia</i> spp. de cultura com 4 dias.....	21
Figura 5 – Ciclo de vida do biofilme.....	25
Figura 6 – (A) Colônias de <i>Candida albicans</i> em CHROMO ágar <i>Candida</i> . (B) Microscópicas de <i>Candida parapsilosis</i> em ágar batata após 24 horas de cultivo.....	27

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Tipos de tratamento utilizados para a psoríase nos pacientes do Grupo II (n=26).....	35
Gráfico 2 – Número de colônias fúngicas nas áreas investigadas nos pacientes (Grupos I e II) e indivíduos saudáveis (Grupo III) .....	37
Gráfico 3 – Biomassa de biofilmes formados com isolados de <i>Malassezia</i> spp. oriundos de pacientes (Grupos I e II) e indivíduos saudáveis (Grupo III). Experimentos foram realizados com inóculos nas densidades 0,5 e 4 da escala de Mc Farland; biofilmes foram formados por 48 e 72 horas e analisados pelo Método de Cristal Violeta. Asteriscos indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em cada grupo.....	42

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Opções de tratamentos para psoríase.....	17
Tabela 2 – Espécies de <i>Malassezia</i> isoladas em humanos.....	21
Tabela 3 – Características fenotípicas de algumas espécies de <i>Malassezia</i> .....	23
Tabela 4 – Características morfológicas de espécies de <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. parapsilosis</i> lato sensu e <i>C. glabrata</i> .....	26
Tabela 5 – Características gerais dos grupos de estudo.....	34
Tabela 6 – Principais achados clínicos dos pacientes com psoríase.....	35
Tabela 7 – Condições e fatores autorreferidos pelos pacientes relacionadas à piora do quadro clínico.....	36
Tabela 8 – Positividade ao isolamento fúngico em pacientes e controles.....	36
Tabela 9 – Frequência de isolamento de leveduras nos pacientes (Grupos I + II) e indivíduos saudáveis (Grupo III).....	38
Tabela 10 – Distribuição de leveduras isoladas nos pacientes sem tratamento (Grupo I), pacientes com tratamento (Grupo II) e indivíduos saudáveis (Grupo III) e sua ocorrência quanto ao sítio anatômico. Números entre parênteses indicam a quantidade de indivíduos positivos para cada espécie fúngica.....	38
Tabela 11 – Concentração Inibitória Mínima ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) de antifúngicos frente aos isolados (n) de <i>Malassezia</i> spp. oriundos de pacientes com psoríase e indivíduos controle.....	40
Tabela 12 – Concentração Inibitória Mínima ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) de antifúngicos frente aos isolados (n) de <i>Candida</i> spp. oriundos de pacientes com psoríase e indivíduos controle.....	41

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	10
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1	Psoríase .....	11
2.1.1	<i>Epidemiologia</i> .....	12
2.1.2	<i>Patogênese</i> .....	13
2.1.3	<i>Manifestações clínicas</i> .....	14
2.1.4	<i>Diagnóstico e Tratamento</i> .....	16
2.2	Os fungos e a pele.....	18
2.3	O gênero <i>Malassezia</i> .....	19
2.4	O gênero <i>Candida</i> .....	25
3	HIPÓTESES.....	28
4	OBJETIVOS.....	29
4.1	Geral.....	29
4.2	Específicos.....	29
5	METODOLOGIA.....	30
5.1	Público alvo.....	30
5.2	Questões éticas.....	30
5.3	Dados clínicos-epistemológicos.....	30
5.4	Coleta de amostras para análise micológica.....	31
5.5	Identificação micológica.....	31
5.6	Caracterização fenotípica.....	32
5.6.1	<i>Sensibilidade a antifúngicos</i> .....	32
5.6.2	<i>Biofilmes</i> .....	33
5.7	Análise Estatística.....	33
6	RESULTADOS.....	34
6.1	Dados clínico-epidemiológicos.....	34
6.2	Isolamento de fungos.....	36
6.3	Identificação micológica.....	37
6.4	Sensibilidade a antifúngicos.....	38
6.5	Formação de Biofilmes.....	42

7	<b>DISCUSSÃO</b> .....	43
8	<b>CONCLUSÕES</b> .....	47
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	48
	<b>APÊNDICE A – TCLE</b> .....	57
	<b>APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO</b> .....	59
	<b>APÊNDICE C - TABELA DOS ISOLADOS POR GRUPO</b> .....	61
	<b>APÊNDICE D - VALORES DE CIM PARA ISOLADOS DE <i>Malassezia</i>...</b>	63
	<b>APÊNDICE E - VALORES DE CIM PARA ISOLADOS DE <i>Candida</i>.....</b>	64
	<b>APÊNDICE F – MANUSCRITO SUBMETIDO A REVISTA</b> .....	65
	<b>ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA</b> .....	66
	<b>ANEXO B – ARTIGO PUBLICADO: <i>Journal of Medical Microbiology</i></b>	67

## 1 INTRODUÇÃO

A psoríase é uma doença inflamatória crônica, sem cura, que pode acarretar consequências sistêmicas. A prevalência mundial da psoríase é variável, sendo as populações asiáticas e algumas africanas menos prevalentes ( $\cong 1\%$ ), nas populações caucasianas e escandinavas pode chegar até 11%. No Nordeste brasileiro a prevalência da psoríase é de 1.06%. A psoríase pode apresentar-se de diversas formas clínicas, a mais comum é a psoríase vulgar ou em placas, que afeta aproximadamente 85 a 90% dos indivíduos com psoríase, as lesões são placas eritematosas, descamativas que recobrem superfícies do corpo. Outros tipos de psoríase são: pustulosa, invertida, gutata e eritrodérmica.

O diagnóstico da psoríase é realizado pelo médico dermatologista e baseia-se nas características clínicas das lesões, dada à distribuição típica das placas. Em quadros clínicos menos típicos pode ser feito o exame histopatológico da lesão cutânea para o diagnóstico. No tratamento da psoríase, a gravidade da doença e extensão do acometimento clínico são determinantes. Na forma leve de psoríase pode ser feita terapêutica tópica que costuma ser eficiente para o controle das lesões, consistindo na aplicação de queratolíticos, emolientes e/ou umectantes. Nas formas moderadas a graves, a fototerapia e/ou a terapia sistêmica podem ser necessárias para melhor controle da atividade da doença cutânea.

As causas do aparecimento ou piora da psoríase são identificadas como uma complexa interação de fatores genéticos, imunológicos, ambientais, bem como a microbiota da pele. Vários estudos ao longo dos anos investigam a relação da psoríase com a microbiota e suas disfunções para tentar encontrar marcadores da doença. Estudos anteriores relataram a melhora clínica das lesões psoriáticas do couro cabeludo em pacientes que realizaram tratamento com drogas antifúngicas, então notou-se que os fungos como as leveduras dos gêneros *Malassezia* e *Candida* podem ser gatilhos para a exacerbação e persistência da psoríase. Entretanto, ocorre uma contradição nos estudos, alguns relatam uma maior diversidade dos fungos na pele com lesões de psoríase quando comparada a pele saudável. As pesquisas que investigam as relações da psoríase com os microrganismos são importantes para o maior entendimento da doença.

Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi identificar as leveduras presentes em lesões de pacientes com psoríase e comparar com indivíduos saudáveis atendidos em um hospital terciário de Fortaleza; bem como, verificar a sensibilidade antifúngica *in vitro* dos isolados de *Malassezia* e *Candida*.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Psoríase

A psoríase é uma doença inflamatória crônica, não transmissível, que afeta tipicamente a pele, mas pode cursar com consequências sistêmicas (AUGUSTIN *et al.*, 2018; ARMSTRONG; BUKHALO; BLAUVELT, 2016). A causa do aparecimento ou a piora da psoríase é uma complexa interação de fatores genéticos, alterações no sistema imunológico dos indivíduos, diversos fatores ambientais. Incluindo os fatores psicológicos, estresse mecânico, tabagismo, álcool, medicamentos e a alteração da microbiota (MAMIZADEH; TARDEH; AZAMI, 2019; WITTE; THAÇI, 2019).

A microbiota refere-se ao conjunto de microrganismo presente em regiões do corpo, como intestino, nariz, mucosa oral, mucosa pulmonar, couro cabeludo e pele (DRÉNO *et al.*, 2016). Estudos que relacionaram a psoríase com a microbiota eram feitos desde o início do século XX, que demonstraram a psoríase gutata frequentemente seguia a infecção estreptocócica (WITTE; THAÇI, 2019). Tervaert e Esseveld (1970) comprovaram que é possível isolar *Streptococos* em 80% dos casos de pacientes com crise aguda de psoríase. Outros estudos sugeriram grupos bacterianos que poderiam desempenhar um papel na indução e manutenção da psoríase, dentre eles podemos citar: Actinobactérias, Firmicutes e Proteobactérias (GAO *et al.*, 2008; ALEKSEYENKO *et al.*, 2013; LOESCHE *et al.*, 2018).

Em relação aos fungos, estudos mostraram melhora clínica de lesões psoriáticas em couro cabeludo de pacientes que realizaram tratamento com cetoconazol, o que levou pesquisadores a considerar a presença de fungos nas patogêneses da psoríase, como as leveduras do gênero *Malassezia* e *Candida* (FARR *et al.*, 1985; ROSENBERG; BELEW, 1982; FRY; BAKER, 2007). Além disso, um teste de contato com *suspensões sonicadas* de *Malassezia* spp. foi feito em dez pacientes com psoríase e dez controles saudáveis, e descobriu que os pacientes desenvolveram lesões quando em contato com *Malassezia* spp., as amostras de biópsia mostraram características consistentes com as lesões de psoríase (LOBER *et al.*, 1982; ASHBEE; EVANS, 2002).

Rudramurthy *et al.* (2014) observaram isolamento de *Malassezia* sp. em 68% dos pacientes com psoríase, sendo *M. furfur* mais isolada ( $n = 24$ ; 70,6%), seguida por *M. japonica* ( $n = 4$ ; 11,8%) e *M. globosa* ( $n = 3$ ; 8,8%). O estudo observou que na região do couro cabeludo dos pacientes com psoríase o número médio de colônias de *Malassezia* sp. isoladas nas lesões

foi significativamente ( $P = 0,03$ ) maior do que nas áreas saudáveis (RUDRAMURTHY *et al.*, 2014).

Além disso, o gênero *Candida* também foi mais isolado na saliva e nas fezes de paciente com psoríase. A quantidade de *Candida* na saliva e nas fezes de pacientes psoriáticos mostrou-se significativamente ( $P < 0,01$ ) maior do que nos controles saudáveis. *Candida* foi detectada em 78% das amostras de saliva dos pacientes, mas em apenas 50% dos controles, e nas amostras de fezes em 72% dos psoriáticos e 46% dos controles. Esses resultados reforçam a hipótese de que *Candida* spp. é um dos gatilhos para a exacerbação e persistência da psoríase (WALDMAN *et al.*, 2001).

Porém, ocorre uma controvérsia entre os estudos, alguns mostram uma maior diversidade de microrganismos na pele com lesões de psoríase quando comparada a pele sem lesão ou pele saudável. Em outros estudos ocorre uma redução dessa diversidade na pele lesionada (LOESCHE *et al.*, 2018). Isso pode ocorrer devido as diferenças em amostragem, método de análise, regiões do corpo analisadas e pela alta variabilidade do microbioma da pele. Assim, pesquisas que investigam as relações da psoríase e os microrganismos são importantes para o maior entendimento da doença (PROHIĆ, 2012; GRICE; DAWSON, 2017).

### **2.1.1 Epidemiologia**

A prevalência mundial da psoríase é variável, sendo as populações asiáticas e algumas africanas menos prevalentes, em torno de 1%, já nas populações caucasianas e escandinavas a prevalência pode chegar até em 11% (RENDON, SCHÄKEL, 2019). Na América, a prevalência de psoríase varia entre 2,2% e 4,6% nos Estados Unidos (LIMA *et al.*, 2013; PARISI *et al.*, 2013). Um estudo de revisão sugeriu uma prevalência de psoríase de aproximadamente 2% na América Latina (CHOUELA *et al.*, 2016). No Brasil, em um estudo com 12 mil indivíduos, 205 eram pacientes com psoríase, detectando uma prevalência de 1,3% e destes 53% era mulheres (FUJII *et al.*, 2012). Uma pesquisa telefônica randomizada em residências brasileiras verificou indivíduos diagnosticados com psoríase por um médico, participando 8.947 habitantes e concluiu que a prevalência de psoríase no Nordeste foi 1.06% (ROMITI *et al.*, 2017).

Devido as diferentes metodologias realizadas em estudos da psoríase, não é possível comparar entre si as prevalências. Ocorrem problemas como diferentes definições de prevalência, o diagnóstico de psoríase diferente (seja pelo relato do próprio indivíduo ou pelo

dermatologista), diferença nas faixas etárias das populações de cada estudo e os tipos de coletas (MICHALEK; LORING; JOHN, 2016).

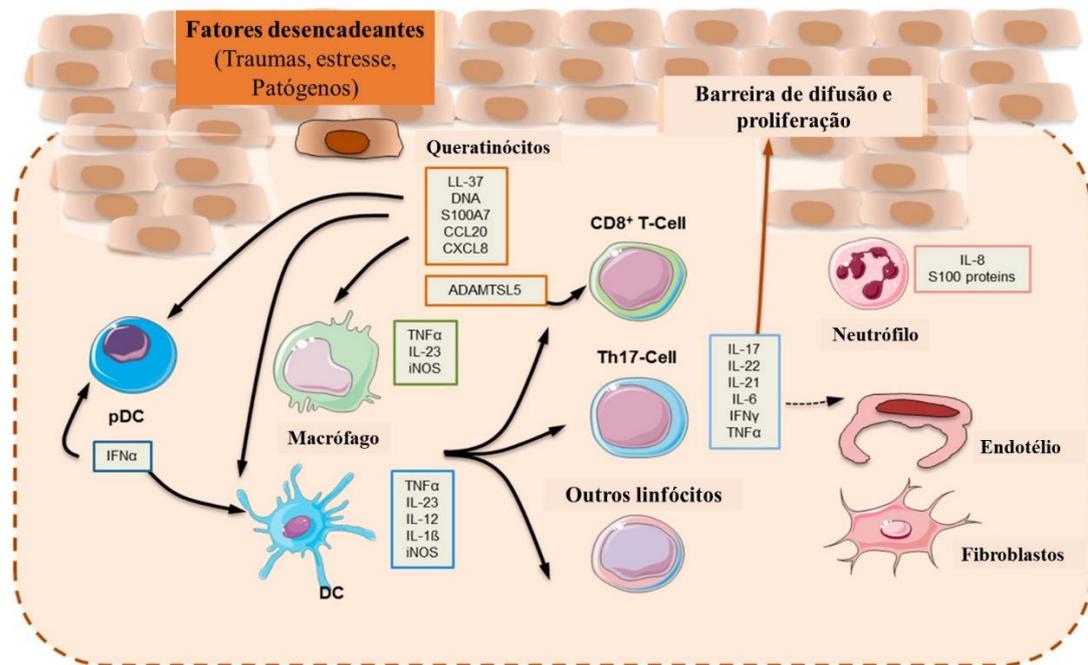
Acredita-se que quanto maior a prevalência da psoríase em uma população, menor será a idade média de início da doença (FERRÁNDIZ *et al.*, 2002; RUDRAMURTHY *et al.*, 2014). A manifestação inicial da doença ocorre mais frequentemente em duas faixas etárias: a primeira, entre 15 e 25 anos e a segunda, entre 40 e 50 anos de idade (SMITH *et al.*, 1993; LANGLEY; KRUEGER; GRIFFITHS, 2005).

### **2.1.2 Patogênese**

O sistema imunológico da pele abriga uma gama de células que pertencem ou desempenham funções da imunidade inata e adaptativa contra microorganismos patogênicos, que inclui os queratinócitos, macrófagos, células dendríticas, linfócitos inatos, diferentes populações de células T e os peptídeos antimicrobianos (PAMs) que têm como alvo reconhecer e inativar os microorganismos por ruptura da membrana, degradação enzimática da parede celular ou outros mecanismos ainda desconhecidos (GALLO; HOOPER, 2012; MAGUIRE, 2013; ALEXANDER *et al.*, 2015; MAGUIRE; MAGUIRE, 2017; EGERT; SIMMERING; RIEDEL, 2017).

O papel do sistema imunológico na patogênese da psoríase foi sendo observado de acordo com a melhora clínica da doença com a administração dos agentes imunossuppressores, como ciclosporina, denileucina difitox e alefacept (HARDEN; KRUEGER; BOWCOCK, 2015). A pele psoriática é infiltrada por células imunes, além de uma quantidade aumentada de células endoteliais (por angiogênese), que desempenham um papel na patogênese da psoríase (Figura 1). Estão fortemente presentes nas lesões psoriáticas as células T, particularmente aquelas com polarização Th1 e Th17, fator de necrose tumoral (TNF) e interleucina-23 (IL-23) (MEGLIO; NESTLE, 2010; HARDEN; KRUEGER; BOWCOCK, 2015).

Figura 1 – A patogênese da psoríase



Fonte: Extraído e adaptado de Rendon e Schäkel, 2019.

A lesão epidérmica da psoríase nos queratinócitos faz a produção de altos níveis de quimiocinas que tem função de recrutar células dendríticas mielóides e células Th17 na pele com psoríase ativa. A infecção da pele também pode ativar vias imunológicas levando a produção de TNF. Este induz quimiocinas e medeia o recrutamento de neutrófilos. A indução de quimiocinas CXCL10 e CXCL11 em queratinócitos leva a recrutamento de células Th1, além de aumentar a síntese Mx-1 e outros produtos genéticos em queratinócitos (KIM; KRUEGER, 2015; SCHÄKEL; SCHÖN; GHORESCHI, 2016).

### 2.1.3 Manifestações clínicas

As manifestações clínicas de lesões na pele psoriática incluem eritema, escamação, coceira, possível ardência, sendo o eritema vermelho claro ou rosa intenso e as escamas branco-prateadas que podem ser removidas ao coçar (Figura 2). Em geral, as lesões assemelham entre si, têm bordas demarcadas nitidamente quando estão sem tratamento, são frequentemente encontradas no couro cabeludo e superfícies extensoras, mas podem ser difundidas por todo corpo (GOTTLIEB; RYAN; MURASE, 2019). Os tipos de psoríase mais comuns estão retratados abaixo.

A psoríase vulgar é o tipo mais frequente entre os pacientes, afeta aproximadamente 85 a 90% dos indivíduos com psoríase (NESTLE; KAPLAN; SCHON, 2009). As placas de psoríase têm características eritematosas, nitidamente demarcadas, ressecadas, com tamanho diferente, geralmente cobertas por prateado ou escamas brancas (Figura 2 – A, B e C). Podem cobrir grandes áreas da pele. Os locais comuns incluem o tronco, as superfícies extensoras dos membros e o couro cabeludo (ORTONNE *et al.*, 2009).

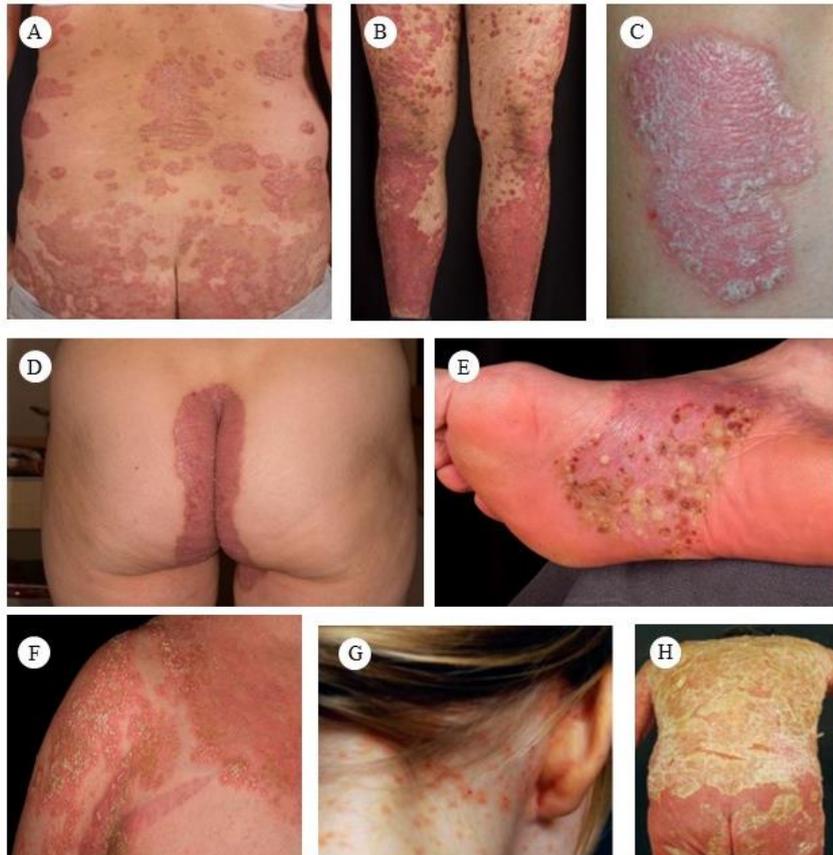
A psoríase invertida afeta entre 12% e 26% de todos casos de psoríase (FANNI; AHMAD; GULÁCSI, 2015). É o tipo de psoríase flexural – acomete locais como axilas, fossas antecubitais, sulcos inframamários, umbigo, virilha, área genital, sulco interglúteo, fossas poplíteas e outras dobras corporais. Caracteriza-se clinicamente por placas eritematosas levemente erosivas e bem demarcadas (Figura 2 – D) (DUBERTRET *et al.*, 2006).

A psoríase gutata afeta entre 0,6% e 20% dos indivíduos diagnosticados com psoríase e geralmente ocorre na infância e adolescência. Caracteriza-se por pápulas e placas avermelhadas, semelhantes a gotas, principalmente envolvendo o tronco, braços e pernas (Figura 2 – E e F) (KUBOTA *et al.*, 2015). Em crianças, o início da psoríase gutata pode ocorrer após infecção estreptocócica do trato respiratório superior e afetar qualquer sítio do corpo (BOEHNCKE; SCHÖN, 2015).

A psoríase pustular afeta entre 1,1% e 12% de todos casos de psoríase. Caracteriza-se por pústulas coalescentes, com pus não infeccioso. Envolve pequenas áreas, como as palmas das mãos, pontas dos dedos, unhas e solas dos pés ou pode ocorrer a qualquer área da superfície corporal em um único episódio depois de um gatilho (Figura 2 – G) (KUBOTA *et al.*, 2015).

A psoríase eritrodérmica afeta entre 0,4% e 7% de todos casos de psoríase. O tipo mais grave de psoríase, potencialmente ameaçador a vida, porque pode levar à hipotermia, hipoalbuminemia e insuficiência cardíaca de alto débito. Caracteriza-se por vermelhidão ardente e esfoliação aguda de mais de 80% da área total da superfície corpórea (Figura 2 – H). (KUBOTA *et al.*, 2015; MICHALEK; LORING; JOHN, 2016). A eritrodermia pode se desenvolver em qualquer tipo de psoríase e requer tratamento de emergência (RENDON, SCHÄKEL, 2019).

Figura 2 – Manifestação clínica de psoríase. (A) Psoríase vulgar com placas eritematosas escamosas no tronco. (B) Psoríase vulgar com placas eritematosas escamosas nas superfícies extensoras dos membros. (C) Psoríase vulgar, placas eritematosas típicas com escamas prateadas. (D) Psoríase invertida com lesão na fissura glútea. (E) Psoríase pustulosa localizada nas solas dos pés. (F) Psoríase pustulosa generalizada. (G) Psoríase gutata com apresentação de pequenas feridas, em forma de gota na nuca. (H) Psoríase eritrodérmica com descamação aguda



Fonte: Extraído e adaptado de Boehncke, Schön, 2015; Rendon, Schäkel, 2019.

#### **2.1.4 Diagnóstico e Tratamento**

Na psoríase o diagnóstico é eminentemente clínico, dada à distribuição típica das lesões (GRIFFITHS; CAMP; BARKER, 2005). Somente em quadro menos típicos, o exame histopatológico de amostra de lesão cutânea deve ser realizado para diferenciar de outras doenças (MICHALEK; LORING; JOHN, 2016). As opções de tratamento disponíveis para psoríase, incluem agentes tópicos, fototerapia, agentes sistêmicos orais e biológicos (Tabela 1) (GOTTLIEB; RYAN; MURASE, 2019). Na psoríase, a gravidade da doença e extensão do acometimento clínico são determinantes para a decisão de tratamento.

Para o tratamento das formas leves de psoríase, a terapêutica tópica costuma ser suficiente para o controle das lesões. Nas formas de psoríase moderada a grave a terapia sistêmica e/ou fototerapia podem ser necessárias para o melhor controle da doença. Os queratolíticos, emolientes ou umectantes devem ser incluídos em quaisquer programas terapêuticos, mesmo em fases assintomáticas da doença auxiliando o tratamento (MAIA *et al.*, 2012).

Tabela 1 – Opções de tratamentos para psoríase

<b>Terapias tópicas (pomadas, cremes, loções, géis ou espumas aplicados à pele)</b>	Vitamina D, análogos
	Corticosteróides, por exemplo. betametasona e hidrocortisona
	Antralina / ditranol
	Retinóides tópicos
<b>Fototerapia</b>	Luz ultravioleta
<b>Terapias sistêmicas (injeções / infusão)</b>	Metotrexato
	Ciclosporina
	Acitretina
	Agentes biológicos

Fonte: Extraído e adaptado de Michalek, Loring, John, 2016.

Caso os indivíduos não façam o uso adequado do tratamento para os seus tipos e gravidades da psoríase pode ocorrer uma diminuição na qualidade de vida. Isso pode aumentar o risco de desenvolver depressão, ansiedade e até mesmo cometer suicídio (OLIVIER *et al.*, 2010; McDONOUGH *et al.*, 2014; GOTTLIEB; RYAN; MURASE, 2019). Outra tribulação que pode aparecer em indivíduos com psoríase são problemas sexuais, a pesquisa realizada por Meeuwis *et al.*, (2011) concluiu que a saúde sexual de paciente com psoríase genital é diminuída, particularmente em mulheres, apresentando altos níveis de sofrimento sexual. Uma vez que os sintomas da psoríase se apresentam a doença tem curso crônico, com remissões espontâneas. Apesar de muitos avanços no tratamento, a maioria dos pacientes com psoríase grave, particularmente, tem uma patologia cutânea contínua (NIJSTEN; LOOMAN; STERN, 2007).

## 2.2 Os fungos e a pele

Algumas técnicas moleculares como a amplificação direta por PCR e o sequenciamento do gene rRNA (18S e ITS1) auxiliaram na identificação dos fungos no microbioma da pele. Uma diversidade de fungos como espécies de *Malassezia*, *Rhodotorula*, *Debaromyces*, *Candida*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Chaetomium*, *Chrysosporium*, *Cladosporium*, *Mucor* e *Trichophyton* podem relacionar-se de forma comensal a pele humana (GAO *et al.*, 2010; FINDLEY *et al.*, 2013; DRÉNO *et al.*, 2016). Sendo que as espécies de *Malassezia* representam 47% (62 de 130) dos isolados da pele saudável de humanos (FINDLEY *et al.*, 2013).

Entretanto, pode ocorrer uma disbiose, designação dada ao desequilíbrio da microbiota, no estrato córneo e alterar a abundância e a diversidade de espécies comensais, podendo favorecer a proliferação de microrganismos patogênicos que perturbam a função da barreira cutânea e agrava doenças crônicas da pele como a psoríase (TOMI; KRÄNKE; ABERER, 2005; WILLIAMS; GALLO, 2015; DRÉNO *et al.*, 2016).

Especialmente, as espécies de *Malassezia* diferem-se pela a sua capacidade de induzir diferentes respostas inflamatórias, resultando em manifestações clínicas e patológicas variadas. Além disso, pode invadir queratinócitos humanos, modular síntese de citocinas pró-inflamatórias e afetar a expressão de proteínas cutâneas (BARONI *et al.*, 2001; ASHBEE; EVANS, 2002; PROHIĆ, 2012). Um estudo feito por Baroni *et al.* (2004) acrescentou o papel que *Malassezia* como indutor da superprodução de moléculas inflamatórias envolvidas na psoríase, favorecendo assim a exacerbação das lesões (BARONI *et al.*, 2004; PROHIĆ, 2012). Então, apesar da sua natureza comensal, *Malassezia* spp. está associada com doenças cutâneas como pitiríase versicolor, dermatite seborreica, entre outras (BOND; GUILLOT; CABAÑES, 2010; PROHIĆ, *et al.*, 2016; SPARBER; LEIBUNDGUT-LANDMANN, 2017).

A pitiríase versicolor é uma micose superficial crônica do estrato córneo por invasão tecidual, despigmentação e inflamação. É comumente uma doença de adolescentes e adultos jovens, devido ao pico da infecção coincidir com as idades em que produção de sebo está em seu nível mais alto (DIONGUE *et al.*, 2018). A dermatite seborreica é uma doença crônica da pele causando principalmente descamação, placas vermelhas demarcadas com escalas gordurosas em áreas com maior densidade de glândulas sebáceas, como o couro cabeludo, rosto, sobrancelha, glabella, dobras nasolabiais, orelhas e tronco superior. A intensidade dos sintomas, incluindo inflamação e coceira, varia dependendo de fatores

endógenos, como hormônios (andrógenos), resposta imune alterada e fatores neurológicos (HAY, 2011; ARSENIJEVIC *et al.*, 2014).

A comutação de *Malassezia* spp. comensal em patogênica ocorre na presença de certos fatores predisponentes que podem ser hiperidrose (transpiração excessiva), desnutrição, síndrome de Cushing, uso de corticosteróides sistêmicos e imunossupressão predispõem o indivíduo a desenvolver doenças (SNEKAVALLI *et al.*, 2018). As características dos gêneros fúngicos *Trichosporon*, *Rhodotorula*, *Malassezia* e *Candida* foram descritos abaixo.

Os fungos do gênero *Trichosporon* pertencem ao filo Basidiomycota, classe Basidiomycetes, são predominantemente leveduriformes. São organismos envolvidos em um amplo espectro de doenças, desde infecção superficial benigna, pneumonia alérgica e infecção invasiva. As espécies de *Trichosporon* mais associadas a infecções em humanos são *T. asahii*, *T. cutaneum*, *T. inkin*, *T. mucoides* e *T. ovoides* (KRCMERY *et al.*, 2002; BENTUBO, 2008; CHAGAS-NETO *et al.*, 2008; MENEZES *et al.*, 2012). Espécies deste gênero também são reconhecidas por apresentar antígenos imunorreativos em sua superfície celular, além da capacidade de produzir exoenzimas hidrolíticas e formar biofilmes. Algumas espécies de *Trichosporon* spp. demonstram pouca sensibilidade a antifúngicos de uso terapêutico.

Leveduras do gênero *Rhodotorula* fazem parte do filo de Basidiomycota, colonizam plantas, seres humanos e outros mamíferos. Inclui oito espécies, das quais *R. mucilaginosa*, *R. glutinis* e *R. minuta* são conhecidas por causar doenças em seres humanos. A maioria dos casos de infecção por *Rhodotorula* em humanos foram fungemia associada ao uso de cateter venoso central (CVC) e algumas infecções localizadas, incluindo infecções nas articulações meníngea, cutânea, ocular, peritoneal e protética, não estão necessariamente relacionadas ao uso de CVCs ou imunossupressão (WIRTH; GOLDANI, 2012).

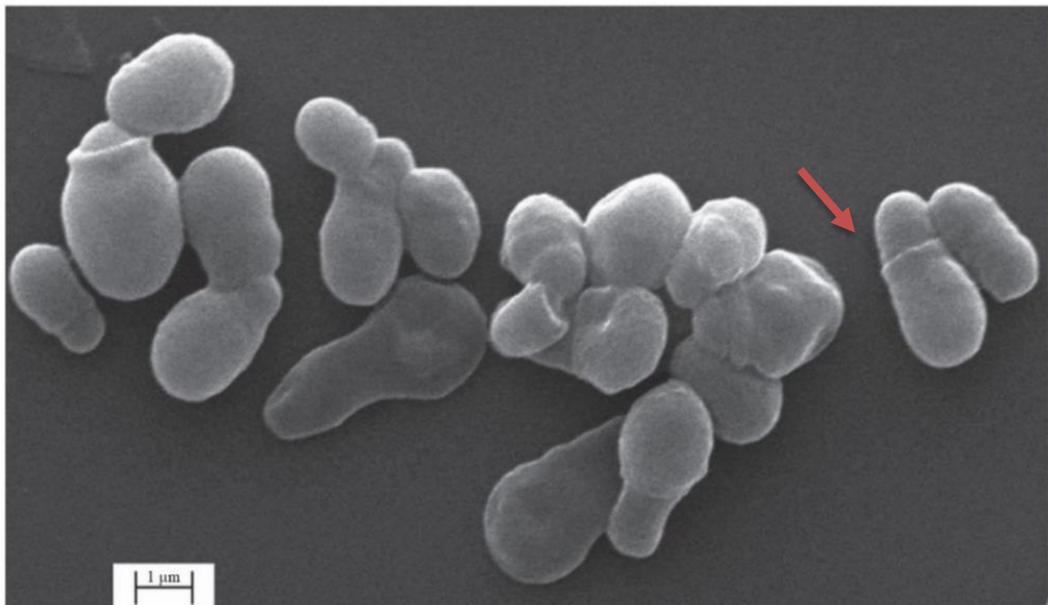
### 2.3 O gênero *Malassezia*

Espécies do gênero *Malassezia* são leveduras lipofílicas, pertencentes ao filo Basidiomycota, classe Malasseziomycetes, já conhecidas como parte da microbiota da pele humana (GAO *et al.*, 2010). Devido a necessidade de lipídios externos para sobrevivência, as espécies de *Malassezia* estão em maior frequência nas regiões do corpo ricas em sebo, como couro cabeludo, rosto e tronco (ASJA *et al.*, 2016). Este fungo é capaz de existir nas formas leveduriforme e filamentosa, sendo considerado um organismo pleomórfico (PROHIĆ, 2012). A forma de levedura os blastoconídios são predominantes em meio ágar sabouraud dextrose (ASD) acrescido de azeite 2%, incubado a 35° por 48h, sendo mais comumente associada à pele

saudável. A produção de hifas está mais associada as infecções de pele (GRICE; DAWSON, 2017).

Espécies de *Malassezia* apresentam reprodução assexuada por brotamento monopolar, as células mãe e filha são divididas por um septo, e a célula filha, após ser separada por fissão, deixa uma cicatriz ou “colarete” (Figura 3) através do qual emergem sucessivas células filhas. A parede celular de *Malassezia* spp. é mais espessa em comparação com outras leveduras e constitui cerca de 26 a 37% do volume total da célula. O componente majoritário da parede celular são açúcares (~70%), proteína (~10%), e lipídios (15 a 20%), contendo pequenas quantidades de enxofre e de nitrogênio (ASHBEE; EVANS, 2002; LEITE, 2008).

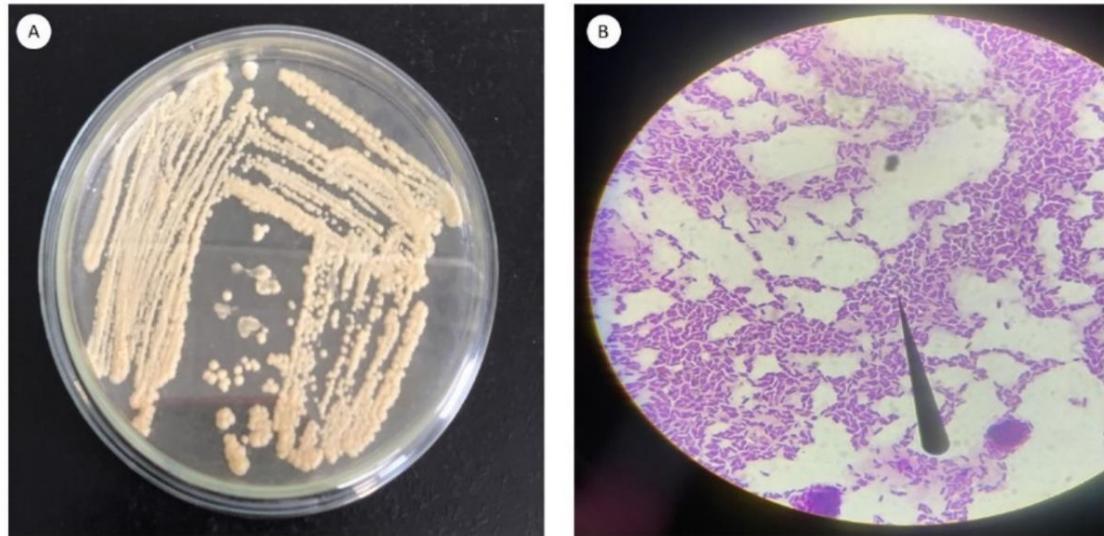
Figura 3 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de *M. japonica*, seta indicando leveduras cilíndricas curtas com um local de brotamento amplo e proeminente, formando um “colarete”



Fonte: Extraído de Honnavar *et al.* 2015.

As colônias de *Malassezia* spp. aparecem entre o segundo e quarto dia de incubação, a uma temperatura entre 32-35 °C, possuem textura cremosa, relevo rugoso e coloração variável, no tom amarelo-creme (Figura 4) e o reverso da mesma cor da colônia (FAR; AL-OBAIDI; DESA, 2018).

Figura 4 – Morfologia de colônias e células de *Malassezia* spp. cultivada em ASD + azeite de oliva. (A) Colônias após 4 dias de crescimento; (B) Morfologia celular de *Malassezia* spp. de cultura com 4 dias



Fonte: Centro Especializado em Micologia Médica, 2019.

As principais espécies de *Malassezia* estão descritas na Tabela 2, juntamente com a data da primeira descrição e os tipos de relações encontradas com os humanos.

Tabela 2 – Espécies de *Malassezia* isoladas em humanos

<b>Espécies</b>	<b>Primeira descrição</b>	<b>Isolamento</b>
		Pele saudável
<i>M. furfur</i>	Baillon 1889	Doenças da pele: principalmente pitiríase versicolor, infecções sistêmicas
<i>M. pachydermatis</i>	(Weidman) Dodge 1925	Infecções sistêmicas
<i>M. sympodialis</i>	Simmons & Guého 1990	Pele saudável Doenças da pele: dermatite atópica
<i>M. slooffiae</i>	Guillot, Midgley & Guého 1996	Pele saudável: canal auditivo externo Doenças de pele: pitiríase versicolor

<i>M. globosa</i>	Midgley, Guého & Guillot 1996	Pele saudável Doença de pele: principalmente pitiríase versicolor
<i>M. obtusa</i>	Midgley, Guillot & Guého 1996	Pele saudável Doenças da pele: principalmente pitiríase versicolor
<i>M. restricta</i>	Guého, Guillot & Midgley 1996	Pele saudável Doenças da pele: principalmente dermatite seborréica e psoríase no couro cabeludo
<i>M. dermatis</i>	Sugita, Takashima, Nishikawa & Shinoda 2002	Pele saudável Doenças da pele: dermatite atópica
<i>M. japonica</i>	Sugita, Takashima, Kodama, Tsuboi & Nishikawa 2003	Pele saudável Doenças da pele: dermatite atópica
<i>M. yamatoensis</i>	Sugita, Takashima, Tajima, Tsuboi & Nishikawa 2004	Pele saudável Doenças de pele: dermatite seborréica

---

Fonte: Extraído e adaptado de Prohić, 2012.

As espécies de *Malassezia* podem ser parcialmente diferenciadas por meio de critérios morfofisiológicos, nos quais são observadas as atividades enzimáticas, como catalase e esculina, as necessidades nutricionais, como adição de gordura. Embora, para a identificação ao nível de espécie sejam necessários outros métodos como análise molecular (rDNA-RFLP) da região 26S (GUPTA; KOHLI; SUMMERBELL, 2000; OH, et al., 2009). Na Tabela 3 podemos observar as características fisiológicas de algumas espécies de *Malassezia* que podem auxiliar em uma identificação parcial.

Tabela 3 – Características fenotípicas de algumas espécies de *Malassezia*.

<i>Espécie</i>	Crescimento Sab <sup>a</sup> a 32°C	Assimilação de Tween				Assimilação de Cremofor EL	Hidrólise da esculina	Reação de catalase	Crescimento em Dixon a	
		T20(10%)	T40(0,5%)	T60(0,5%)	T80(0,1%)				37°	40°
<i>M. pachydermatis</i>	+	+	+	+	+	+	+ (-)	± ou +	+	+
<i>M. furfur</i>	-	+	+	+	+	+ (-)	- (±)	+ ou -	+	+
<i>M. sympodialis</i>	-	-	+	+	+	- (±)	+	+	+	+
<i>M. globosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	- (±)	-
<i>M. obtusa</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	- (±)	-
<i>M. restricta</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	v	-
<i>M. slooffiae</i>	-	+ (±)	+	+	-	-	-	+	+	+
<i>M. dermatis</i>	-	+	+	+	+	± (+)	?	+	+	+
<i>M. japonica</i>	-	-	±	+	-	?	?	+	+	-
<i>M. yamatoensis</i>	-	+	+	+	+	?	?	+	+	-
<i>M. nana</i>	-	+ (-)	+	+	±	-	-	+	+	v
<i>M. caprae</i>	-	-	± (-)	±	±	+ (-)	+ (-)	+	- (±)	-
<i>M. equina</i>	-	±	±	±	±	- (+)	- (+)	+	±	-

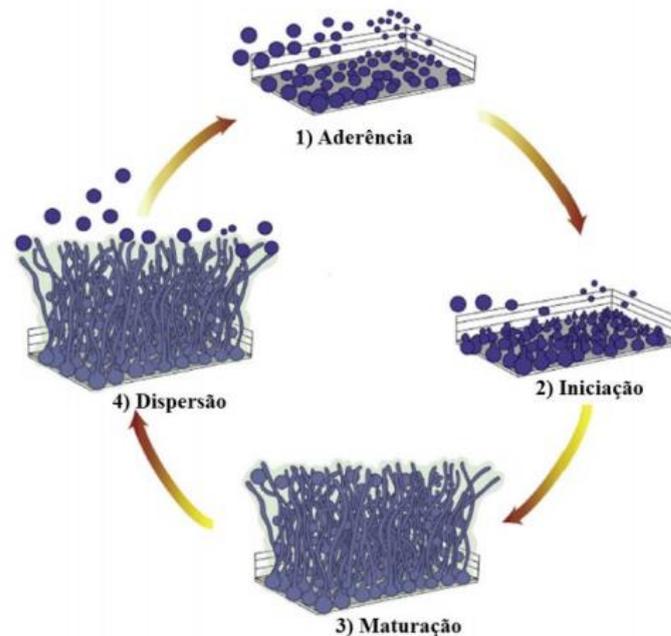
<sup>a</sup> Ágar Sabouraud; +, positivo; -, negativo; ±, fracamente positivo; v, variável; ( ), indica raras divergências do padrão principal Fonte: Cabañes *et al.*, 2007.

O Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais (CLSI - Comitê Nacional de Padrões Clínicos Laboratoriais) padroniza testes de sensibilidade *in vitro* de fungos leveduriformes com o documento M28-A2. Entretanto, apesar das técnicas preconizadas serem consolidadas para *Candida* spp. e *Cryptococcus* spp, não é aplicável para espécies lipodependentes de gênero *Malassezia* (GARAU, et al., 2003; LEITE, 2008). Desse modo, as pesquisas para identificação da sensibilidade a antifúngicos desse gênero deve utilizar meios de cultura modificados para o crescimento, como Leeming-Notman, Sabouraud com azeite de oliva ou outros.

Velegraki *et al.* (2004) descreveram um método de microdiluição em caldo para oito espécies de *Malassezia* com uso de meio RPMI 1640, suplementado com Tween 20, glicerol, glicerol e bile bovina, onde foram testados como antifúngicos usados: fluconazol, itraconazol, voriconazol, cetoconazol, posaconazol, terbinafina e anfotericina B. Miranda *et al.* (2007) avaliaram a sensibilidade *in vitro* de *M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. obtusa* e *M. globosa*, frente ao fluconazol, itraconazol, cetoconazol e voriconazol pela técnica de microdiluição utilizando o Leeming-Notman incluindo 0,1% de glicose, 0,1% de peptona, 0,8% de sais biliares, 0,2% de extrato de levedura, 0,1% de glicerol, 0,5 % de Tween 60, 3% de azeite de oliva e 50 µg / mL de cloranfenicol. Prado *et al.* (2008) utilizaram a técnica preconizada por Velegraki *et al.* (2004) (LEITE, 2008).

Espécies de *Malassezia* tem como fator de virulência a capacidade de desenvolver biofilmes que representando uma séria ameaça à saúde e pode criar uma fonte de infecções persistentes. A maioria das infecções invasivas presentes na literatura são associados à *M. furfur* (ANGIOLELLA *et al.*, 2018). O processo de formação do biofilme é um processo complexo baseado em algumas etapas que abrangem a adesão, formação de colônias, proliferação e diferenciação, secreção de matriz extracelular, maturação e dispersão (Figura 5) (VALENTÍN *et al.*, 2012; KAZAK *et al.*, 2014; TABBENE *et al.*, 2016). Para permitir um melhor conhecimento da patogenicidade dos isolados é importante investigar a expressão dos fatores de virulência do microrganismo.

Figura 5 – Ciclo de vida do biofilme. 1) Aderência das células a superfície; 2) Iniciação da formação do biofilme, as células proliferam para formar uma camada basal de células aderentes; 3) Maturação do biofilme, presença de células de diferentes morfologias envolta em uma matriz extracelular; 4) Dispersão, em que as células na forma de leveduras saem do biofilme para aderir em novos locais.



Fonte: Extraído e modificado de Gulati e Nobile, 2016.

## 2.4 O gênero *Candida*

Espécies do gênero *Candida* pertencentes ao filo Ascomycota e classe Saccharomycetes. Fazem parte da microbiota normal da pele, cavidade oral, orofarínge, trato respiratório inferior, geniturinário e vulvovaginal (POLKE; HUBE; JACOBSEN, 2015). Podendo serem encontradas em cerca de 25 a 75% de indivíduos saudáveis como microrganismo comensal, sem causar nenhum dano ou inflamação do tecido (SILVA *et al.*, 2012). Porém, espécies como *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. krusei* são patógenos fúngicos de infecções, como candidíase, mais prevalentes (YAPAR, 2014; KATRAGKOU; WALSH; ROILIDES, 2015). As infecções causadas por *Candida* podem ser superficiais (afetam pele, cabelos, unhas, mucosas) ou sistêmicas (candidemia) envolvendo os principais órgãos do corpo (SIFUENTES-OSORNIO *et al.*, 2012).

O gênero *Candida* possui mais de 150 espécies no ambiente (YAPAR, 2014; SPIVAK, HANSON, 2018), sendo *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. dubliniensis*, *C. pelliculosa*, *C. kefyr*, *C. lipolytica*, *C. famata*, *C. inconspicua*, *C. rugosa*, *C. norvegensis* e *C. auris* as mais isoladas de humanos (CALDERONE, 2011; SILVA *et al.*, 2012; SPIVAK; HANSON, 2018).

As espécies de *Candida* formam um grupo extremamente heterogêneo de organismos fúngicos que podem crescer como morfologia de levedura (Tabela 4) e algumas espécies, como *C. albicans* e *C. dubliniensis* podem produzir um tipo de crescimento filamentosos, como as hifas verdadeiras ou pseudo-hifas (SILVA *et al.*, 2012). *C. glabrata* não é polimórfico, crescendo apenas na forma de blastoconídios. O complexo *C. parapsilosis* não produz hifas verdadeiras, mas pode gerar pseudo-hifas que são caracteristicamente grandes e curvas, que podem ser chamadas de “células gigantes”. *C. tropicalis* em ágar fubá com Tween 80, a 25 °C após 72h, produz blastoconídios ovais, pseudo-hifas em alguns relatos até hifas verdadeiras (YOSHIO; KOUJI, 2006; CALDERONE; CLANCY, 2011).

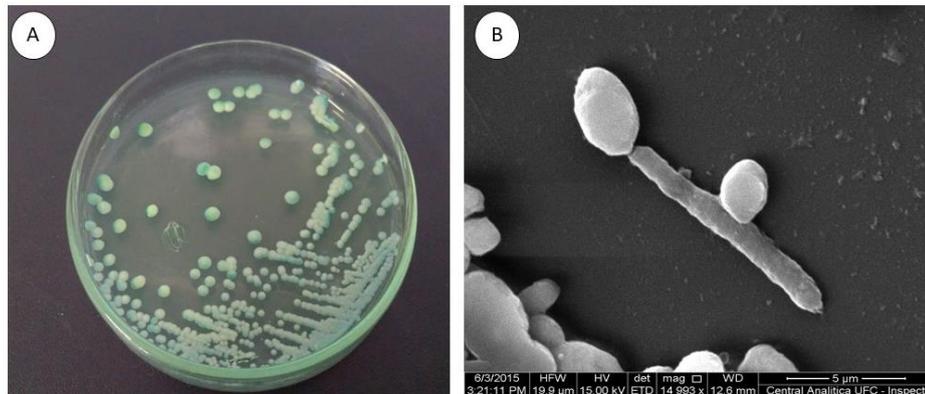
As colônias de espécies de *Candida* em ASD, meio de cultura usado rotineiramente, são de cor creme a amarela. Dependendo da espécie, a textura da colônia pode ser lisa, brilhante ou seca, ou enrugada e opaca (Figura 6). Sob condições padrão com nutrientes ideais, a levedura cresce em fase logarítmica com blastoconídios que brotam de forma esférica a oval e com aproximadamente 2 a 5 × 3 a 7 μm de tamanho (SILVA *et al.*, 2012).

Tabela 4 – Características morfológicas de espécies de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* lato sensu e *C. glabrata*

Espécies	Produção de tubos germinativos	Hifas / pseudo-hifas	Tamanho das leveduras (μm)	Cor da colônia de ágar-CHROM
<i>C. albicans</i>	+	+ / +	4–6 × 6–10	Azul verde
<i>C. tropicalis</i>	-	± / +	4–8 × 5-11	Azul escuro
<i>C. parapsilosis</i> lato sensu	-	- / +	2.5–4 × 2.5–9	Branco
<i>C. glabrata</i>	-	- / -	1–4	Branco, rosa-roxo

Fonte: Extraído de Silva *et al.*, 2012.

Figura 6 – (A) Colônias de *Candida albicans* em CHROMO ágar *Candida*. (B) Microscópicas de *Candida parapsilosis* em ágar batata após 24 horas de cultivo



Fonte: Centro Especializado em Micologia Médica, 2019.

Em relação aos antifúngicos disponíveis para o tratamento de candidíase estão incluídos os poliênicos (anfotericina B); azólicos (fluconazol, itraconazol, voriconazol, miconazol, cetoconazol); alilaminas (terbinafina) (MATTHAIIOU; CHRISTODOULOPOULOU; DIMOLOPOULOS, 2015).

### 3 HIPÓTESES

Ocorre menor diversidade de leveduras na pele com lesões psoríticas comparada a pele de indivíduos saudáveis.

Espécies de *Malassezia* e *Candida* são mais frequentes na pele de pacientes com psoríase em comparação com indivíduos saudáveis.

A sensibilidade planctônica *in vitro* a antifúngicos é maior nos isolados dos pacientes do que do grupo controle.

Os isolados de *Malassezia* são capazes de formar biofilme *in vitro*.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 Geral

Identificar as leveduras presentes em lesões de pacientes com psoríase e comparar com indivíduos saudáveis atendidos em um hospital terciário de Fortaleza.

### 4.2 Específicos

- a) Descrever as características clínicas dos pacientes diagnosticados com psoríase;
- b) Identificar as espécies de leveduras presentes na pele de pacientes com psoríase e dos indivíduos saudáveis;
- c) Determinar a frequência de isolamento das leveduras dos pacientes com psoríase e indivíduos saudáveis;
- d) Verificar a sensibilidade *in vitro* a antifúngicos de espécies de *Malassezia* e *Candida* isoladas dos pacientes com psoríase e indivíduos saudáveis;
- e) Verificar a formação de biofilme *in vitro* dos isolados de *Malassezia*.

## **5 METODOLOGIA**

### **5.1 Público alvo**

A pesquisa foi realizada durante os meses de Agosto/2018 a Maio/2019 com pacientes psoriáticos e indivíduos saudáveis atendidos no Setor de Dermatologia do Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC / UFC), os quais foram selecionados do ambulatório geral e ambulatório especializado em psoríase. Os critérios de inclusão foram: idade maior que 18 anos; indivíduos com capacidade de compreender, concordar e consentir por escrito com a pesquisa. Foram excluídos indivíduos com infecções fúngicas ou bacterianas clinicamente evidentes, outras doenças dermatológicas inflamatórias crônicas e doenças autoimunes.

A pesquisa tratou-se de um estudo transversal; foram considerados três grupos de estudo: (I) Pacientes com a doença em atividade, mas que ainda não fizeram tratamento ou tiveram o tratamento suspenso (“*wash out*”) por um período mínimo de quatro semanas para medicamentos de uso tópico e doze semanas para aqueles de uso sistêmico; (II) Pacientes em tratamento atual (medicamentos tópicos e/ou sistêmicos) para psoríase; (III) Indivíduos saudáveis, sem psoríase que compareciam ao setor de dermatologia para checagem de sintomas diversos.

### **5.2 Questões éticas**

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFC, sendo o CAAE: 90710218.5.0000.5054 (ANEXO I). Foram incluídos apenas os indivíduos que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE I).

### **5.3 Dados clínico-epidemiológicos**

Por meio de questionário estruturado (APÊNDICE II) foram avaliados os seguintes dados clínico-epidemiológico dos pacientes: identificação (sexo, idade); exame clínico (tipo de psoríase, distribuição das lesões e gravidade da doença) tratamento atual (medicação tópica; fototerapia; medicação sistêmica); prurido (ausente, leve a moderado ou intenso); fatores relacionados com o surgimento ou piora do quadro clínico (fatores emocionais, diabetes, hipertensão, alcoolismo, tabagismo).

#### 5.4 Coleta de amostras para análise micológica

Para a coleta de amostras foi empregado o protocolo descrito por Jagielski *et al.* (2014), com adaptações. Para cada paciente, foram coletadas amostras em até cinco sítios anatômicos, selecionados em quatro áreas de investigação (cabeça, regiões invertidas, membros superiores e membros inferiores). Pacientes com lesões numerosas (>20) e/ou doença moderada a grave tiveram amostras coletadas em cinco sítios anatômicos; pacientes com poucas lesões (<20) e/ou doença leve procederam à coleta em três sítios anatômicos. Nos indivíduos saudáveis (controles) foram investigados os mesmos sítios anatômicos coletados nos pacientes, sendo coletados até cinco amostras de diferentes sítios anatômicos. Previamente à coleta, as áreas foram limpas com gaze embebida em água destilada estéril, a fim de remover sujidades; em seguida foi utilizado um *swab* estéril de algodão previamente umedecido com água destilada estéril para cada sítio anatômico coletado. O *swab* foi rotacionado sob a superfície da pele por 15 segundos, em uma área de 2 cm<sup>2</sup> e imediatamente semeados em uma placa de Petri de tamanho médio contendo ágar Sabouraud suplementado com 2% de Azeite de oliva e 0,5% de Tween 80, pH 5,6, para o isolamento de *Malassezia* spp. e outras leveduras.

#### 5.5 Identificação micológica

As placas com ágar Sabouraud modificado foram incubadas em estufa a 35 °C por até quatro semanas para observação de colônias sugestivas de leveduras. Para cada sítio anatômico, foi isolada uma colônia sugestiva de *Malassezia* spp., *Candida* spp., *Trichosporon* spp. e/ou *Rhodotorula* spp. para posterior identificação. Para a identificação fenotípica das leveduras foram empregados os testes: coloração de Gram, prova de urease, microcultivo e coloração no meio CHROMagar *Candida*. Foram utilizadas cepas de *C. albicans* ATCC 10231; *C. krusei* ATCC 6258 oriundas da American Type Culture Collection como controle de qualidade dos testes (KURTZMAN *et al.*, 2010). A identificação molecular dos isolados de *Malassezia* sp. foi realizada pela reação 26S (5'-3' F= TAA CAA GGA TTC CCC TAG TA) rDNA-RFLP com *Cfo*I (Thermo Fisher Scientific, EUA) and *Bst*F51 (Thermo Fisher Scientific, EUA), baseada no protocolo de OH e colaboradores (2009). A identificação definitiva foi baseada em ionização por dessorção a laser assistida por matriz, MALDI-TOF MS (Autoflex III, Bruker Daltonics Inc., EUA), os espectros obtidos foram comparados com os espectros do banco de dados Biotyper™ versão 3.1 (Bruker Daltonics /EUA) para identificação de leveduras, considerando a identificação com valores de escore  $\geq 2$  (Lima-Neto *et al.*, 2014).

## 5.6 Caracterização fenotípica

### 5.6.1 Sensibilidade a antifúngicos

O método de microdiluição em caldo foi realizado conforme descrito no documento do CLSI (M27-A3), para *Candida* sp. e adaptações foram feitas para garantir o crescimento de *Malassezia* spp. durante o teste. Para assegurar o crescimento de leveduras dependentes de lipídios o meio de cultura RPMI 1640 constituído de glicose, sais, aminoácido, vitaminas e indicador de pH foi suplementado com glicose (2%), peptona (1%), bÍlis de boi (1%), azeite de oliva (3%), glicerol (0,2%), extrato de malte (0,5%), extrato de levedura (0,5%) seguindo o método de Rojas *et al.* (2016) com adaptações.

As culturas de *Malassezia* spp. foram cultivadas em cinco dias em ágar Sabouraud modificado a 32 °C. As suspensões de inóculo de *Malassezia* foram preparadas em solução salina 0,9% acrescida de 0,5% de Tween 80. Após agitação em vórtex para dispersar os aglomerados celulares de *Malassezia*, o inóculo foi padronizado empregando-se o padrão n° 2 da escala de McFarland e validado pela contagem quantitativa de placa em ágar Sabouraud modificado ( $10^6$  UFC/mL). Os inóculos foram diluídos 1:100 em RPMI 1640 modificado, com densidade de aproximadamente  $0,5$  a  $2,5 \times 10^3$  CFU / mL. Para o controle de qualidade do teste foi incluído *Candida parapsilosis* ATCC em cada ensaio. As placas de microdiluição foram incubadas a 32 °C e a leitura visual foi realizada após 72 horas de crescimento.

Os antifúngicos utilizados foram estocados 100 vezes a maior concentração utilizada no teste diluídos em dimetilsulfóxido ou água milli-q e armazenados a -70 °C até o uso. Foram utilizados os antifúngicos: miconazol (MCZ; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), cetoconazol (KTZ; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), fluconazol (FLC; Merck KGaA, Darmstadt, Germany), itraconazol (ITZ; Janssen Pharmaceutica, Bélgica), voriconazol (VCZ; Pfizer, USA), terbinafina (TRB; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) e anfotericina B (AMB; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA). As concentrações finais para todas as drogas foram 0,03–16 µg /mL, exceto para FLC (0,125– 64 µg /mL).

Para os azólicos e TRB a Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi definida como a menor concentração que produz uma redução proeminente no crescimento até 50% de inibição em relação ao controle de crescimento livre de drogas; para a AMB, a CIM foi determinada como completa inibição do crescimento fúngico (100%) (ROJAS *et al.*, 2016).

### 5.6.2 Biofilmes

A formação de biofilme foi realizada em microplacas de poliestireno pré-esterilizado contendo 96 poços de fundo plano (Corning, EUA). As culturas de *Malassezia* spp. foram cultivadas durante cinco dias em ágar Sabouraud modificado a 32 °C. Para formação dos inóculos, as colônias de *Malassezia* foram suspensas em RPMI-1640 modificado e a suspensão obtida foi ajustada até atingir a turbidez equivalente a 0,5 ( $1 \times 10^6$  células/mL) e 4 ( $1 \times 10^7$  células/mL) na escala de McFarland. Após adição dos inóculos, às placas de 96 poços foram incubadas a 35 °C por até 72 horas para completa formação do biofilme.

Após a formação do biofilme, o meio foi aspirado e células não aderentes foram removidas. Foi seguido o protocolo de Peeters e colaboradores (2008) para quantificação da biomassa do biofilme utilizando o método de coloração por Cristal Violeta, através da mensuração da absorbância do sobrenadante obtido após a descoloração do biofilme formado. O biofilme foi fixado utilizando 200 µL de metanol 99% durante 15 min. O excesso de metanol foi removido com uma micropipeta e então as amostras foram secas a temperatura ambiente até a evaporação total do fixador. Para a coloração do biofilme, foram transferidas para as amostras 200 µL de solução aquosa de Cristal Violeta 0,33%. Foram aguardados 20 min para que ocorresse a completa difusão do corante ao biofilme. A absorbância da solução foi quantificada pelo espectrofotômetro utilizando o comprimento de onda de 540 nm.

## 5.7 Análise Estatística

O teste qui-quadrado e teste exato de Fisher foram empregados para avaliar as diferenças na frequência das leveduras entre os pacientes com psoríase e indivíduos saudáveis. Foi empregada análise descritiva dos dados clínico-epidemiológicos, por meio de frequências para variáveis categóricas, e médias e desvios-padrões para variáveis contínuas, caso a distribuição dos dados fosse normal. Foi utilizado o teste t não pareado para analisar sensibilidade a antifúngico e formação de biofilme. Para todas as análises, considerou-se  $p < 0,05$  para significância estatística.

## 6 RESULTADOS

### 6.1 Dados clínico-epidemiológicos

A pesquisa foi realizada com 61 indivíduos, assim distribuídos: nove pacientes no Grupo I (sem tratamento); 26 pacientes no Grupo II (com tratamento); 26 indivíduos saudáveis no Grupo III (controle). A Tabela 5 demonstra as características gerais de cada grupo.

Tabela 5 – Características gerais dos grupos de estudo

GRUPOS	Idade (anos) Média ± DP	Sexo n (%)	
		Feminino	Masculino
I (n=9)	36,7 ± 14,4	4 (44,4)	5 (55,6)
II (n=26)	47,7 ± 15,2	10 (38,5)	16 (61,5)
III (n=26)	54,3 ± 14,4	12 (46,2)	14 (53,8)

Em relação aos exames clínicos, foi observado que o tipo de psoríase mais frequente foi a vulgar ou em placas, correspondendo a 77,8% e 92,3% dos pacientes nos Grupos I e II respectivamente (Tabela 6). A gravidade da psoríase foi calculada a partir dos valores de PASI (*Psoriasis Activity and Severity Index*) sendo um índice que leva em consideração o tamanho, quantidade, vermelhidão e escamação das lesões de psoríase. Os resultados mostraram que, no Grupo I, 42,8% dos pacientes apresentaram a forma leve e 57,2% apresentaram a forma moderada a grave. Os pacientes do Grupo II, devido ao tratamento atual para psoríase não se aplicam identificar a gravidade da doença, pois apenas pacientes com psoríase moderada a grave recebem tratamento sistêmico e com o uso adequado da medicação a psoríase altera-se.

Tabela 6 – Principais achados clínicos dos pacientes com psoríase.

Grupo	Formas clínicas n (%)					Gravidade n (%)	
	Vulgar	Eritrodérmica	Pustulosa	Invertida	Gutatta	Leve	Moderado a grave
<b>I (n=9)</b>	7 (77,8)	0	2 (22,2)	0	0	3 (42,8)	4 (57,2)
<b>II (n=26)</b>	23 (88,5)	1 (3,84)	0	1 (3,84)	1 (3,84)	n/a	n/a

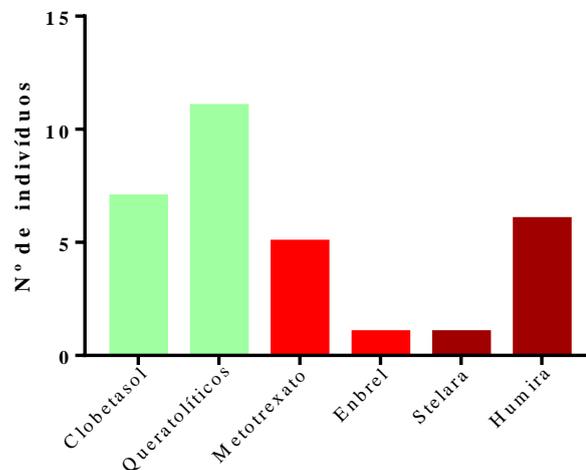
N/a = não aplicado

Gravidade leva em consideração PASI.

Psoríase leve: PASI < 10; psoríase moderada a grave: PASI > 10 (NALDI; GAMBINI, 2007).

Com relação ao tratamento da psoríase (Grupo II), observou-se tanto o uso de medicamentos tópicos e/ou fototerapia (n=13), bem como medicamentos sistêmicos (n=13). No Gráfico 1, podemos observar os medicamentos utilizados pelos pacientes do Grupo II, sendo clobetasol e queratolíticos tratamento tópico, metotrexato, enbrel, stelara e humira fazendo parte do tratamento sistêmico, sendo os dois últimos imunobiológicos. A fototerapia foi descrita por apenas um paciente, fazendo uso conjunto com tratamento tópico.

Gráfico 1 – Tipos de tratamento utilizados para a psoríase nos pacientes do Grupo II (n=26).



Dentre as condições associadas com a piora do quadro clínico (aumento do número de lesões, aumento da extensão das lesões) relatadas pelos pacientes, destacam-se: eventos de cunho emocional, hipertensão, descontrole da diabetes, alcoolismo/tabagismo. Os pacientes também relataram o histórico familiar da psoríase em primeiro e segundo grau de parentesco (Tabela 7). O prurido foi relatado como intenso (n=2) apenas pelos pacientes do Grupo I que apresentaram psoríase pustulosa.

Tabela 7 – Condições e fatores autorreferidos pelos pacientes relacionadas à piora do quadro clínico

Grupos	Condições e Fatores n (%)				
	Emocional	Hipertensão	Diabetes	Alcoolismo /Tabagismo	Histórico Familiar
<b>I (n=9)</b>	7 (87,5)	2 (22,2)	2 (22,2)	1 (11,1)	3 (33,3)
<b>II (n=26)</b>	22 (88)	5 (19,2)	4 (15,4)	3 (11,5)	7 (26,9)

## 6.2 Isolamento de fungos

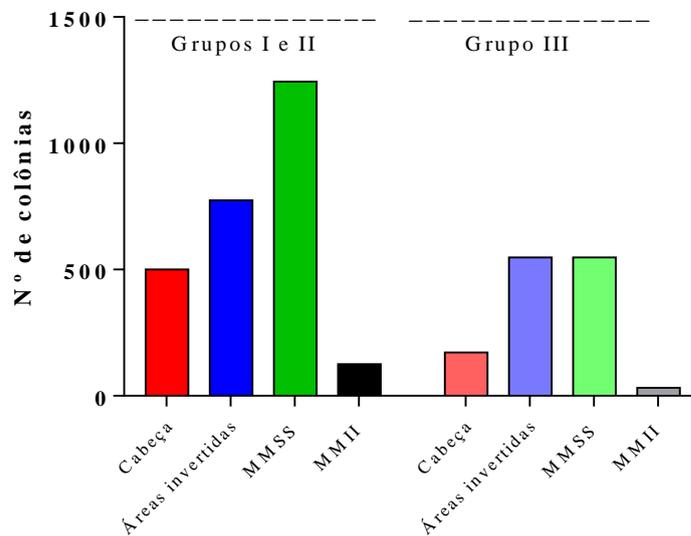
Observou-se positividade ao isolamento fúngico nos sítios anatômicos coletados em todas as áreas corporais investigadas nos três grupos (Tabela 8). Não foi observada diferença estatística entre os pacientes (Grupos I e II) e os indivíduos controle.

Tabela 8 – Positividade ao isolamento fúngico em pacientes e controles

Grupos	Áreas investigadas n (%)			
	Cabeça	Áreas invertidas	Membros superiores	Membros inferiores
<b>I + II (n=35)</b>	23/34 (67,6)	17/26 (65,4)	16/32 (50)	6/10 (66,7)
<b>III (n=26)</b>	15/26 (60)	18/24 (75)	14/22 (63,6)	3/7 (33,3)

A soma das colônias de leveduras considerando os três grupos (I, II e III) em todas as áreas investigadas foi 3.924 Unidades Formadoras de Colônias (UFC). O número total de colônias na cabeça foi 501 UFC/mL nos pacientes (Grupos I+II) e 172 UFC/mL nos controles (Grupo III). Nas áreas invertidas os números de colônias foram 774 e 548 UFC/mL nos Grupos I+II e Grupo III, respectivamente. Nos membros superiores, os números de colônias foram 1.224 e 548 UFC/mL nos Grupos I+II e Grupo III, respectivamente. Nos membros inferiores os números de colônias foram 125 (Grupos I+II) e 32 UFC/mL no Grupo III. A distribuição geral do número de colônias está mostrada no Gráfico 2.

Gráfico 2 – Número de colônias fúngicas nas áreas investigadas nos pacientes (Grupos I e II) e indivíduos saudáveis (Grupo III).



MMSS: membros superiores; MMII: membros inferiores

### 6.3 Identificação micológica

Foram isoladas espécies de *Malassezia* spp., *Candida* spp., *Trichosporon* spp. e *Rhodotorula* spp., foi calculando a frequência em que cada levedura foi positiva por indivíduo em qualquer das áreas investigadas nos pacientes com psoríase (Grupos I e II) e controle (Grupo III). O gênero *Candida* foi mais frequente em indivíduos saudáveis ( $p < 0,05$ ). Detalhes sobre a frequência de isolamento das leveduras em cada grupo estão exibidos na tabela 9.

Por meio de testes fenotípicos, moleculares e análise proteômica, foi possível identificar espécies de leveduras isoladas nos pacientes com psoríase e indivíduos saudáveis (controle). A tabela 10 apresenta a identificação de 70 isolados fúngicos, correlacionando os dados com os sítios anatômicos e os grupos populacionais investigados.

Tabela 9 – Frequência de isolamento de leveduras nos pacientes (Grupos I + II) e indivíduos saudáveis (Grupo III).

Grupos	Isolamento (%)			
	<i>Malassezia</i>	<i>Candida</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>Trichosporon</i>
<b>I + II (n=35)</b>	22 (62.9)	16 (45.7)	1 (2.9)	6 (17.1)
<b>III (n=26)</b>	16 (61.5)	20 (76.9)*	5 (19.2)	10 (38.5)

\* p<0,05

Tabela 10 – Distribuição de leveduras isoladas nos pacientes sem tratamento (Grupo I), pacientes com tratamento (Grupo II) e indivíduos saudáveis (Grupo III) e sua ocorrência quanto ao sítio anatômico. Números entre parênteses indicam a quantidade de indivíduos positivos para cada espécie fúngica.

Área investigada	Grupo I	Grupo II	Grupo III
<b>CABEÇA</b>	<i>Malassezia</i> spp. (1) <i>C. orthopsilosis</i> (1) <i>C. parapsilosis</i> (1)	<i>Malassezia</i> spp. (4) <i>C. parapsilosis</i> (2) <i>C. haemulonii</i> (1) <i>Candida</i> spp. (1) <i>Trichosporon</i> spp. (1)	<i>Malassezia</i> spp. (4) <i>M. furfur</i> (1) <i>C. parapsilosis</i> (2) <i>Candida</i> spp. (1) <i>Rhodotorula</i> spp. (1) <i>Trichosporon</i> spp. (2)
<b>ÁREAS INVERTIDAS</b>	<i>Malassezia</i> spp. (4)	<i>Malassezia</i> spp. (4) <i>Candida</i> spp. (4) <i>C. parapsilosis</i> (1) <i>Rhodotorula</i> spp. (1) <i>Trichosporon</i> spp. (1)	<i>Malassezia</i> spp. (8) <i>Candida</i> spp. (7) <i>M. furfur</i> (1) <i>C. parapsilosis</i> (4) <i>T. coremiforme</i> (1) <i>Rhodotorula</i> spp. (2) <i>Trichosporon</i> spp. (3)
<b>MEMBROS SUPERIORES</b>	<i>Malassezia</i> spp. (2) <i>C. parapsilosis</i> (3) <i>Trichosporon</i> spp. (2)	<i>Malassezia</i> spp. (9) <i>C. parapsilosis</i> (1) <i>Trichosporon</i> spp. (1)	<i>Candida</i> spp. (5) <i>Malassezia</i> spp. (4) <i>M. furfur</i> (1) <i>C. haemuloni</i> (1) <i>Rhodotorula</i> spp. (2) <i>Trichosporon</i> spp. (4)
<b>MEMBROS INFERIORES</b>	<i>C. parapsilosis</i> (1) <i>Trichosporon</i> spp. (1)	<i>Malassezia</i> spp. (4) <i>C. parapsilosis</i> (1)	<i>Malassezia</i> spp. (3)

#### 6.4 Sensibilidade a antifúngicos

Os resultados de sensibilidade de *Malassezia* spp. e *Candida* spp. oriundas de pacientes e do grupo controle podem ser observadas nas Tabela 11 e Tabela 12. Ampla variação

nos valores de CIM foram observados para todos os antifúngicos testados, em ambos os grupos investigados (pacientes e saudáveis).

O meio RPMI modificado permitiu um crescimento abundante da *Malassezia* após 72 horas de incubação. Variações nos valores de CIM de todos os antifúngicos foram observadas nas cepas de *Malassezia*, tanto dos pacientes quanto dos grupos controle. Valores mais altos de CIM para KTC e TRB foram observados em cepas de *Malassezia* obtidas de pacientes; baixa suscetibilidade ao FCZ, ITZ e VCZ foi observada em 80%, 20% e 65%, respectivamente, das cepas de *Malassezia* obtidas de pacientes com psoríase ( $p < 0,05$ ). Todas as cepas de *Malassezia* foram capazes de crescer na presença de AMB  $> 1 \mu\text{g} / \text{mL}$ . A Tabela 11 mostra em frequência absoluta o número de cepas isoladas de *Malassezia* de acordo com o valor de CIM obtido.

A maioria dos isolados de *Candida* de pacientes psoriáticos e indivíduos saudáveis apresentou suscetibilidade a antifúngicos, exceto a ITZ: 42,1% (8/19) dos isolados de *Candida* de pacientes psoriáticos apresentaram resistência a esse medicamento, em contraste com 12,5% (1/8) dos isolados de controles saudáveis. Os valores de CIM para FCZ e AMB foram significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) entre isolados de *Candida* de pacientes psoriáticos e indivíduos saudáveis (Tabela 12).

Tabela 11 – Concentração Inibitória Mínima ( $\mu\text{g} / \text{mL}$ ) de antifúngicos frente aos isolados (n) de *Malassezia* spp. oriundos de pacientes com psoríase e indivíduos controle.

ATF	Pacientes (Grupos I e II)		Controle (Grupo III)	
	Categorias (n)	Média $\pm$ DP	Categorias (n)	Média $\pm$ DP
MCZ	0,5 (3)	6,20 $\pm$ 6,42	0,25 (1)	3,82 $\pm$ 7,09
	2,0 (2)		0,5 (2)	
	8,0 (5)		1,0 (1)	
	16,0 (9)		2,0 (1)	
	>16,0 (1)		4,0 (4)	
		16 (6)		
KTZ	0,06 (1)	*0,29 $\pm$ 0,74	0,03 (6)	0,097 $\pm$ 0,27
	0,125 (10)		0,125 (6)	
	0,25 (1)		0,5 (2)	
	0,5 (4)		1,0 (1)	
	2,0 (4)			
FLC	4,0 (4)	18,38 $\pm$ 17,30	4,0 (5)	12,70 $\pm$ 26,12
	16,0 (6)		8,0 (4)	
	32,0 (8)		16,0 (1)	
	64,0 (2)		32,0 (1)	
			64,0 (4)	
ITZ	0,03 (8)	0,24 $\pm$ 0,62	0,03 (9)	0,03 $\pm$ 0,01
	0,06 (7)		0,06 (6)	
	0,125 (1)			
	0,5 (2)			
	1,0 (1)			
	2,0 (2)			
VCZ	0,03 (3)	0,23 $\pm$ 0,61	0,03 (4)	0,16 $\pm$ 0,67
	0,06 (3)		0,06 (1)	
	0,125 (1)		0,125 (5)	
	0,25 (6)		0,25 (1)	
	0,5 (1)		1,0 (2)	
	1,0 (4)		2,0 (4)	
	2,0 (2)			
TRB	2,0 (5)	*4,60 $\pm$ 4,16	0,5 (7)	1,51 $\pm$ 4,58
	4,0 (8)		1,0 (2)	
	8,0 (5)		2,0 (1)	
	16,0 (2)		4,0 (1)	
			8,0 (3)	
			16,0 (1)	
AMB	8,0 (4)	11,31 $\pm$ 4,27	2,0 (1)	8,0 $\pm$ 6,0
	16,0 (4)		4,0 (2)	
	>16,0 (12)		8,0 (2)	
			16,0 (4)	
			>16,0 (6)	

\*p<0,05. DP: desvio padrão. ATF: antifúngico; MCZ: miconazol, KTZ: cetoconazol, FLC: fluconazol; ITZ: itraconazol; VR: voriconazol; TRB: terbinafina; AMB: anfotericina B.

Tabela 12 – Concentração Inibitória Mínima ( $\mu\text{g} / \text{mL}$ ) de antifúngicos frente aos isolados (n) de *Candida* spp. oriundos de pacientes com psoríase e indivíduos controle

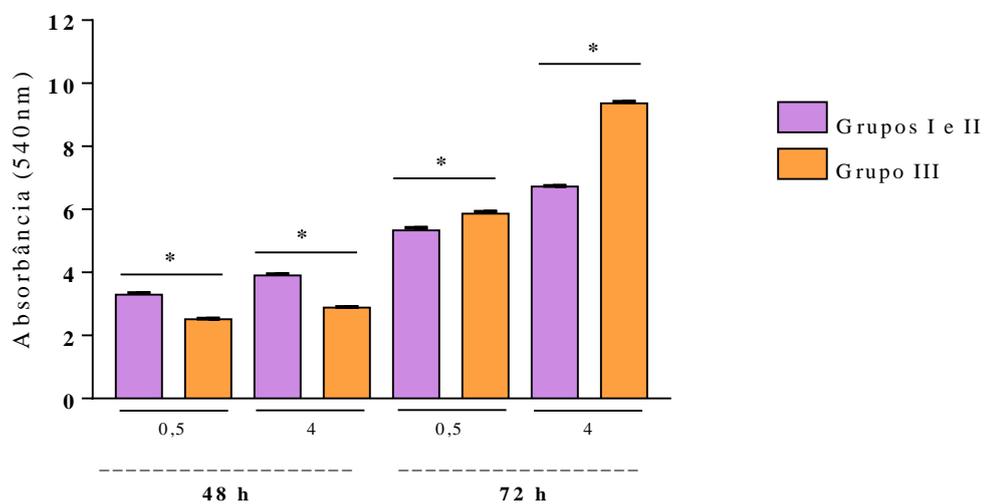
ATF	Pacientes (Grupos I e II)		Controle (Grupo III)	
	Categorias (n)	Média $\pm$ DP	Categorias (n)	Média $\pm$ DP
<b>MCZ</b>	0,03 (1)	0,18 $\pm$ 0,23	0,03 (2) 0,06 (2) 0,125 (3) 0,5 (1)	0,13 $\pm$ 0,15
	0,06 (6)			
	0,125 (8)			
	0,25 (2)			
	1,0 (1)			
	0,5 (1)			
<b>KTZ</b>	0,03 (16)	0,04 $\pm$ 0,05	0,03 (6) 0,06 (2)	0,04 $\pm$ 0,01
	0,06 (2)			
	0,25 (1)			
<b>FLC</b>	0,25 (7)	*0,80 $\pm$ 0,62	0,125 (1) 0,25 (5) 0,5 (2)	0,30 $\pm$ 0,13
	0,5 (3)			
	1 (6)			
	2 (3)			
<b>ITZ</b>	0,03 (5)	0,15 $\pm$ 0,12	0,03 (2) 0,06 (1) 0,125 (4) 0,25 (1)	0,11 $\pm$ 0,07
	0,125 (6)			
	0,25 (5)			
	0,5 (1)			
	0,06 (2)			
<b>VCZ</b>	0,03 (13)	0,06 $\pm$ 0,11	0,03 (8)	0,03 $\pm$ 0,0
	0,06 (5)			
	0,5 (1)			
<b>TRB</b>	0,03 (3)	1,05 $\pm$ 3,65	0,03 (1) 0,06 (3) 0,125 (2) 0,25 (2)	0,12 $\pm$ 0,09
	0,06 (5)			
	0,125 (6)			
	0,25 (3)			
	2,0 (1)			
	16,0 (1)			
<b>AMB</b>	0,06 (2)	*0,36 $\pm$ 0,42	0,125 (1) 0,25 (1) 0,5 (5) 1,0 (1)	0,48 $\pm$ 0,25
	0,125 (1)			
	0,25 (12)			
	0,5 (3)			
	2,0 (1)			

\*p<0,05. DP: desvio padrão. ATF: antifúngico; MCZ: miconazol, KTZ: cetoconazol, FLC: fluconazol; ITZ: itraconazol; VRZ: voriconazol; TRB: terbinafina; AMB: anfotericina B.

## 6.5 Formação de Biofilmes

Todos os isolados de *Malassezia* spp. foram capazes de formar biofilme *in vitro*. Em 48h de cultivo, observou-se que os biofilmes formados com cepas de *Malassezia* spp. oriundas de pacientes apresentaram maior biomassa que os biofilmes formados com cepas oriundas de indivíduos saudáveis ( $p < 0,05$ ), independente da densidade do inóculo iniciador. Todavia, após 72 de cultivo, observou-se um efeito inverso, com maior biomassa nos biofilmes formados com cepas oriundas de indivíduos saudáveis ( $p < 0,05$ ), em ambas escalas de densidade celular do inóculo iniciador (Gráfico 3).

Gráfico 3 – Biomassa de biofilmes formados com isolados de *Malassezia* spp. oriundos de pacientes (Grupos I e II) e indivíduos saudáveis (Grupo III). Experimentos foram realizados com inóculos nas densidades 0,5 e 4 da escala de Mc Farland; biofilmes foram formados por 48 e 72 horas e analisados pelo Método de Cristal Violeta. Asteriscos indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em cada grupo



## 7 DISCUSSÃO

Neste estudo, os resultados de gênero foram condizentes com a literatura, Augustin *et al.* (2018) observaram 56,3% homens; Loesche *et al.* (2018) 68% de homens e Fanni, Ahmad e Gulácsi (2015) 76% homens. A psoríase ser mais comum nos homens não é estatisticamente significativa. Esta questão de gênero necessita de uma investigação mais aprofundada, em particular a diferenciação de fatores genéticos e comportamentais. A idade média dos pacientes foi menor no grupo que não estava em tratamento para psoríase, isso pode ser devido ao fato de serem diagnosticados recentemente. A idade média em geral nos grupos (I e II) condiz com Loesche *et al.* (2018) que observaram 44,7 anos de idade média; Fanni, Ahmad e Gulácsi (2015) 40,4 anos de idade média.

As formas clínicas observadas neste estudo estão dentro do padrão observado na literatura. Nestle, Kaplan e Schon, (2009) relataram que a psoríase vulgar é o tipo mais frequente entre os pacientes, afeta aproximadamente 85 a 90% dos indivíduos com psoríase. Kubota *et al.* (2015) que a psoríase pustular afeta entre 1,1% e 12% de todos casos de psoríase. Rendon, Schäkel (2019) que a psoríase eritrodérmica afeta entre 0,4% e 7% de todos casos de psoríase. Em relação ao PASI, os dados observados na pesquisa também condizem com Augustin *et al.* (2018) que o PASI médio geral foi 10,1, sendo os grupos PASI foram: PASI <5 = 33,0%; PASI 5-10 = 28,0%; PASI 10-20 = 27,4%; PASI > 20 = 11,6%; Fanni, Ahmad e Gulácsi (2015) encontram o PASI médio de 11,75. O grupo II que fazia uso de tratamento dividiu-se entre os tipos de tratamento, um resultado semelhante foi observado por Fanni, Ahmad e Gulácsi (2015) 48,4% fez uso de tratamento tópico e 38,7% fez uso de tratamento sistêmico.

As comorbidades são relatados com coexistência de psoríase e outras doenças sistêmicas graves, como cardiovasculares, síndrome metabólica, incluindo hipertensão e diabetes mellitus. O tabagismo é um fator de risco da psoríase, e foi encontrado para ser significativamente maior em pacientes diagnosticados com psoríase (TASLIYURT *et al.*, 2014). Apesar de um alto número de estudos sobre a associação de psoríase com comorbidade, a causalidade e a independência de algumas doenças associadas permanecem incertas e precisam de mais pesquisas (PARISI *et al.*, 2015). A maioria dos pacientes relatou o estresse como um fator agravante para a exacerbação da psoríase. De fato, sabe-se que situações estressantes (estresse psicológico) podem modular respostas imunológicas e, provavelmente, uma resposta neuroendócrina anormal ao estresse pode contribuir para a patogênese de doenças inflamatórias crônicas (ROJAS *et al.*, 2014).

Estudos atuais sugerem que a colonização da pele por *Malassezia* tem um papel secundário na psoríase, principalmente como fator exacerbador (GAO *et al.*, 2008). Acredita-se que *Malassezia* possa aumentar a resposta inflamatória na psoríase por um dos seguintes mecanismos: a) dano da função da barreira epidérmica por lipases e fosfolipases; (b) aumento da resposta imune local invadindo queratinócitos e modificando a síntese de citocinas, pois os queratinócitos podem produzir pró-inflamatórios (como IL-6, IL-8 e TNF- $\alpha$ ) e anti-inflamatórios (IL-4, IL-10) citocinas após estimulação com células de *Malassezia*; e (c) sensibilização a antígenos de *Malassezia*, como pitiriarubinas e indirubina - ligantes do receptor de aril hidrocarboneto em células humanas (PROHIĆ, 2012; GAO *et al.*, 2008).

No entanto, é difícil provar o papel da *Malassezia* na psoríase. Metodologias divergentes para seleção da população estudada e testes distintos de recuperação da *Malassezia* (técnicas baseadas na cultura *versus* técnicas independentes) levam a resultados ambivalentes: estudos apontaram como predominante a *M. globosa*, *M. furfur*, *M. sympodialis* ou a *M. restrita* espécies em pacientes psoriáticos (PROHIĆ, 2012). Além disso, divergências quanto a abundância de *Malassezia* em pacientes com psoríase e em indivíduos saudáveis (LOESCHE *et al.*, 2018; TAKEMOTO *et al.*, 2014; GUPTA; KOHLI; SUMMERBELL, 2000).

No presente estudo, observou-se maior carga fúngica em pacientes com psoriática em comparação com controles saudáveis. Diferentes resultados foram obtidos no estudo realizado por Gupta e colaboradores (2000) após análise da contagem de UFC em 28 pacientes psoriáticos e 20 indivíduos saudáveis, que revelaram contagens significativamente mais altas no couro cabeludo, na testa e no tronco. Possivelmente, diferenças nos procedimentos de amostragem em ambos os estudos (esfregaço *versus* placa de contato) podem ser responsáveis por esses resultados contraditórios.

Apesar das diferenças na carga de fungos, pacientes e indivíduos saudáveis apresentaram frequências semelhantes de isolamento de *Malassezia* (62,9% nos pacientes *versus* 61,53% nos controles). Resultados análogos foram encontrados por Gupta e colaboradores (2000) e Rudramurthy *et al.* (2014), que relataram taxa de isolamento semelhante de *Malassezia* entre pacientes e controles psoriáticos. Pelo contrário, Gomez-Moyano *et al.* (2014) encontraram diferença significativa na frequência da *Malassezia* em amostras colhidas da pele do couro cabeludo de pacientes com psoríase (85%) em comparação com amostras de indivíduos saudáveis (50%). Diante de todas essas controvérsias, é aceito que os dados científicos disponíveis não atestam níveis diferentes de *Malassezia* em pacientes com psoríase (LEWIS *et al.*, 2019).

No presente estudo, as espécies de *Candida* foram menos frequentes em pacientes com psoríase (45,71%) do que em indivíduos saudáveis (76,92%). Até o momento, poucos estudos avaliaram a frequência da colonização por *Candida* na pele de pacientes com psoríase (FLYTSRÖM *et al.*, 2003; LEIBOVICI *et al.*, 2008; SARVTIN *et al.*, 2014). Entre eles, apenas um estudo (SARVTIN *et al.*, 2014) descreveu diferença significativa na frequência de colonização na pele de pacientes com psoríase (15%) em comparação com controles saudáveis (4%). No entanto, uma metanálise com nove estudos transversais concluiu que pacientes com psoriática e controles saudáveis não diferiram significativamente na taxa de *Candida* spp. colonização da pele, embora os pacientes tenham apresentado taxas mais altas de detecção *Candida* nas membranas mucosas (PIETRZAK *et al.*, 2018). Possivelmente, peptídeos / proteínas antimicrobianos da pele humana, como Calprotectin e Dermcidin, que exibem atividade fungistática (PIETRZAK *et al.*, 2018) e são altamente expressos em lesões psoriáticas (NIYONSABA *et al.*, 2017), podem suprimir a densidade de *C. albicans* na pele de pacientes psoriáticos. A hipótese de que a densidade de *Malassezia* pode não ser reduzida por esses peptídeos / proteínas antimicrobianos foi sugerida por Rudramurthy *et al.* (2014).

Embora não exista protocolo padronizado disponível para o teste de suscetibilidade de espécies de *Malassezia* dependentes de lipídios, alguns estudos foram realizados com metodologias de difusão em ágar ou microdiluição em caldo (ROJAS *et al.*, 2014; ROJAS *et al.*, 2016; PEDROSA *et al.*, 2019; IATTA *et al.*, 2015). Entretanto, variações em relação à composição do meio, tamanho do inóculo, tempo de incubação e desfechos da CIM impedem comparações entre esses estudos. No geral, variações na suscetibilidade a azóis e TRB foram descritas; resistência ao AMB é comum em cepas clínicas de *Malassezia* (PROHIĆ, 2012, ROJAS *et al.*, 2016, PEDROSA *et al.*, 2019; IATTA *et al.*, 2015), mas o padrão de suscetibilidade de cepas de *Malassezia* de pacientes com psoríase é desconhecido. Os dados obtidos em nosso estudo mostraram que cepas de *Malassezia* de pacientes apresentaram valores mais altos de CIM contra KTZ e TRB do que aqueles obtidos para controles saudáveis; foi observada resistência ao AMB em todos os isolados de *Malassezia*, tanto de pacientes quanto de controles. Estudos anteriores já descreveram alta variabilidade da CIM para *Malassezia* contra antifúngicos (CARRILLO-MUÑOZ *et al.*, 2013; VELEGRAKI *et al.*, 2015.).

Além disso, nossos resultados mostraram que cepas de *Candida* de pacientes com psoríase apresentaram maiores valores de CIM para FCZ em comparação com isolados obtidos de controles. Embora o padrão de suscetibilidade antifúngica de *Candida* de pacientes com psoríase seja desconhecido, acreditamos que esse resultado possa ter alguma relevância clínica,

pois a FCZ tem amplo uso profilático e terapêutico, inclusive em pacientes com psoríase, e já foi relatada resistência adquirida à *Candida* pelo FCZ (BERKOW; LOCKHART, 2017).

A importância da microbiota na exacerbação da psoríase já foi demonstrada. No entanto, os dados apresentados não mostraram correlação entre a gravidade da psoríase e a densidade de fungos na pele. No entanto, este estudo mostrou que cepas de *Malassezia* e *Candida* de pacientes com psoríase apresentaram valores mais altos de CIM para antifúngicos generalizados que indivíduos saudáveis e diferença na biomassa do biofilme formado de *Malassezia* spp. Estudos futuros devem avaliar o significado clínico desses achados.

As limitações do estudo são: a média de idade menor nos grupos dos pacientes comparado a média de idade dos indivíduos saudáveis, essa diferença deu-se porque os indivíduos que iam verificar sinais e sintomas no setor de dermatologia eram de mais idade. Contudo, para um melhor pareamento dos grupos também foram considerados os acompanhantes de pacientes e indivíduos saudáveis. O número reduzido de pacientes no grupo sem tratamento (I), apenas nove, sendo o grupo que estava dando início aos atendimentos no hospital. E também o uso de imunobiológicos como tratamento de alguns pacientes do Grupo II, que pode alterar os microrganismos na pele desses pacientes.

## 8 CONCLUSÕES

Houve positividade ao isolamento fúngico nos sítios anatômicos coletados em todas as áreas corporais investigadas nos três grupos.

Foram isoladas leveduras dos gêneros *Malassezia*, *Candida*, *Trichosporon* e *Rhodotorula*.

As espécies identificadas foram *Malassezia furfur*, *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, *Candida haemulonii*, *Trichosporum coremiforme*.

Houve diferença entre a sensibilidade *in vitro* dos isolados de *Malassezia* spp. oriundos de pacientes apresentando valores maiores de CIM para KTZ e TRB, em comparação com os isolados oriundos dos indivíduos controle.

Houve diferença entre a sensibilidade *in vitro* dos isolados de *Candida* spp. oriundos de pacientes apresentando valor maior de CIM para FLC e menor para AMB em comparação com os isolados oriundos dos indivíduos controle.

Houve formação de biofilmes dos isolados de *Malassezia* oriundas de pacientes e indivíduos saudáveis em 48 e 72 horas, em ambas concentrações de inóculo.

## REFERÊNCIAS

- ALEKSEYENKO, A. V., PEREZ-PEREZ, G. I., DE SOUZA, A., STROBER, B., GAO, Z., BIHAN, M., ... & BLASER, M. J. Community differentiation of the cutaneous microbiota in psoriasis. **Microbiome**, v. 1, n. 1, p. 31, 2013.
- ALEXANDER, CM, KASZA, I., YEN, CE, REEDER, SB, HERNANDO, D., GALLO, RL, ... & MACDOUGALD, AO. Dermal white adipose tissue: a new component of the thermogenic response. **Journal of lipid research**, v. 56, n. 11, p. 2061-2069, 2015.
- ANGIOLELLA, L., LEONE, C., ROJAS, F., MUSSIN, J., DE LOS ANGELES SOSA, M., & GIUSIANO, G. Biofilm, adherence, and hydrophobicity as virulence factors in *Malassezia furfur*. **Medical Mycology**, v. 56, n. 1, p. 110-116, 2018.
- ARMSTRONG, A. W.; BUKHALO, M.; BLAUVELT, A. A clinician's guide to the diagnosis and treatment of candidiasis in patients with psoriasis. **American journal of clinical dermatology**, v. 17, n. 4, p. 329-336, 2016.
- ARSENJEVIC, V. S. A., MILOBRATOVIC, D., BARAC, A. M., VEKIC, B., MARINKOVIC, J., & KOSTIC, V. S. A laboratory-based study on patients with Parkinson's disease and seborrheic dermatitis: the presence and density of *Malassezia* yeasts, their different species and enzymes production. **BMC dermatology**, v. 14, n. 1, p. 5, 2014.
- ASHBEE, H. R.; EVANS, E. G. V. Immunology of Diseases Associated with *Malassezia* species. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 15, p. 21–57, 2002.
- ASJA, P.; TAMARA, J. S.; SUADA, K.V. et al. Distribution of *Malassezia* Species in Patients with Different Dermatological Disorders and Healthy Individuals. **Acta Dermatovenerol Croat - CLINICAL ARTICLE**, v. 24, n. 4, p. 274-281, 2016.
- AUGUSTIN, M., SOMMER, R., KIRSTEN, N., DANCKWORTH, A., RADTKE, MA, REICH, K., ... & MROWIETZ, U. Topology of psoriasis in routine care: results from high-resolution analysis of 2009 patients. **British Journal of Dermatology**, 2018.
- BARONI A, PAOLETTI I, RUOCCO E, AGOZZINO M, TUFANO MA, DONNARUMMA G. Possible role of *Malassezia furfur* in psoriasis: modulation of TGF-beta1, integrin, and HSP70 expression in human keratinocytes and in the skin of psoriasis-affected patients. **Journal of cutaneous pathology**, v. 31, n. 1, p. 35-42, 2004.
- BARONI A, PERFETTO B, PAOLETTI I, RUOCCO E, CANOZO N, ORLANDO M, BUOMMINO E. *Malassezia furfur* invasiveness in a keratinocyte cell line (HaCat): effects on cytoskeleton and on adhesion molecule and cytokine expression. **Archives of dermatological research**, v. 293, n. 8, p. 414-419, 2001.
- BERKOW EL, LOCKHART SR. Fluconazole resistance in *Candida* species: a current perspective. **Infection and drug resistance**, v. 10, p. 237, 2017.
- BOEHNCKE, W.H.; SCHÖN, M. P. Psoriasis. **Lancet**, v. 386, p. 983- 994, 2015.

BOND, ROSS; GUILLOT, JACQUES; CABAÑES, F. Javier. *Malassezia* yeasts in animal disease. In: **Malassezia and the skin**. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 271-299, 2010.

CABAÑES, F. J., THEELEN, B., CASTELLÁ, G., & BOEKHOUT, T. Two new lipid-dependent *Malassezia* species from domestic animals. **FEMS yeast research**, v. 7, n. 6, p. 1064-1076, 2007.

CALDERONE, Richard A.; CLANCY, Cornelius J. (Ed.). *Candida* and candidiasis. **American Society for Microbiology Press**, 2011.

CARRILLO-MUÑOZ AJ, ROJAS F, TUR-TUR C, DE LOS ÁNGELES SOSA M, DIEZ GO, ESPADA CM, et al. *In vitro* antifungal activity of topical and systemic antifungal drugs against *Malassezia* species. **Mycoses**, v. 56, n. 5, p. 571-575, 2013.

CHOUELA, E., AMAYA, M., LONDOÑO, A., ROMITI, R., VALENZUELA, F., DUARTE, A. A., ... & BORLENGHI, C. Psoriasis in Latin America. **Dermatology online journal**, v. 22, n. 9, 2016.

DIONGUE, K., KÉBÉ, O., FAYE, M. D., SAMB, D., DIALLO, M. A., NDIAYE, M., ... & NDIAYE, D. MALDI-TOF MS identification of *Malassezia* species isolated from patients with pityriasis versicolor at the Seafarers' Medical Service in Dakar, Senegal. **Journal de mycologie medicale**, v. 28, n. 4, p. 590-593, 2018.

DRÉNO, B., ARAVIISKAIA, E., BERARDESCA, E., GONTIJO, G., SANCHEZ VIERA, M., XIANG, L. F., ... & BIEBER, T. Microbiome in healthy skin, update for dermatologists. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 30, n. 12, p. 2038-2047, 2016.

DUBERTRET L, MROWIETZ U, RANKI A, VAN DE KERKHOF PC, CHIMENTI S, LOTTI T et al. European patient perspectives on the impact of psoriasis: the EUROPSO patient membership survey. **British Journal of Dermatology**, v. 155, n. 4, p. 729-736, 2006.

EGERT, M., SIMMERING, R., & RIEDEL, C. U. The association of the skin microbiota with health, immunity, and disease. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 102, n. 1, p. 62-69, 2017.

FANNI RENCZ, M.; AHMAD MORADI, M.; GULÁCSI, LÁSZLÓ. Health status and quality of life in patients with psoriasis: an Iranian cross-sectional survey. **Archives of Iranian medicine**, v. 18, n. 3, p. 153, 2015.

FAR, F. E.; AL-OBAIDI, M. M. J.; DESA, M. N. M. Efficacy of modified Leeming-Notman media in a resazurin microtiter assay in the evaluation of in-vitro activity of fluconazole against *Malassezia furfur* ATCC 14521. **Journal de mycologie medicale**, v. 28, n. 3, p. 486-491, 2018.

FARR, P. M.; KRAUSE, L. B.; MARKS, J. M. et al. Response of scalp psoriasis to oral ketoconazole. **The Lancet**, v. 326, n. 8461, p. 921-922, 1985.

- FERRÁNDIZ, C.; PUJOL, R.; GARCÍA-PATOS, V. et al. Psoriasis of early and late onset: a clinical and epidemiologic study from Spain. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 46, n. 6, p. 867-873, 2002.
- FINDLEY, K., OH, J., YANG, J., CONLAN, S., DEMING, C., MEYER, J. A., ... & BECKER, J. Topographic diversity of fungal and bacterial communities in human skin. **Nature**, v. 498, n. 7454, p. 367, 2013.
- FLYTSTRÖM I, BERGBRANT IM, BRARED J, BRANDBERG LL. Microorganisms in intertriginous psoriasis: no evidence of *Candida*. **Acta dermato-venereologica**, v. 83, n. 2, 2003.
- FRY, LIONEL; BAKER, BARBARA S. Triggering psoriasis: the role of infections and medications. **Clinics in dermatology**, v. 25, n. 6, p. 606-615, 2007.
- FUJII, R. K., MOULD, J. F., TANG, B., BRANDT, H., POMERANTZ, D., CHAPNICK, J., ... & MANFRIN, D. F. PSY46 Burden of Disease in Patients With Diagnosed Psoriasis in Brazil: Results From 2011 National Health and Wellness Survey (NHWS). **Value in Health**, v. 15, n. 4, p. A107, 2012.
- GALLO, RL.; HOOPER, LV. Epithelial antimicrobial defence of the skin and intestine. **Nature Reviews Immunology**, v. 12, n. 7, p. 503, 2012.
- GAO, Z., PEREZ-PEREZ, G. I., CHEN, Y., & BLASER, M. J. Quantitation of major human cutaneous bacterial and fungal populations. **Journal of clinical microbiology**, v. 48, n. 10, p. 3575-3581, 2010.
- GAO, Z., TSENG, C. H., STROBER, B. E., PEI, Z., & BLASER, M. J. Substantial alterations of the cutaneous bacterial biota in psoriatic lesions. **PloS one**, v. 3, n. 7, 2008.
- GOMEZ-MOYANO E, CRESPO-ERCHIGA V, MARTÍNEZ-PILAR L, DIAZ DG, MARTÍNEZ-GARCÍA S, NAVARRO ML, CASAÑO AV. Do *Malassezia* species play a role in exacerbation of scalp psoriasis? **Journal de mycologie medicale**, v. 24, n. 2, p. 87-92, 2014.
- GOTTLIEB, A. B., RYAN, C., & MURASE, J. E. Clinical Considerations for the Management of Psoriasis in Women. **International journal of women's dermatology**, 2019.
- GRICE, E. A., & DAWSON, T. L. Host–microbe interactions: *Malassezia* and human skin. **Current opinion in microbiology**, v. 40, p. 81-87, 2017.
- GRIFFITHS, C. E. M.; CAMP, R. D. R.; BARKER, J. N. W. N. Psoriasis. In: Textbook of Dermatology. Burns T, Breathnach SN, Cox N and Griffiths CEM (eds). 7th edition. London: **Blackwell Science**, p. 35.1-35.69, 2005.
- GUÉHO E, MIDGLEY G, GUILLOT J. The genus *Malassezia* with description of four new species. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 69, n.4, p. 337-355, 1996.
- GUILLOT, J.& GUÉHO, E. The diversity of *Malassezia* yeasts confirmed by rRNA sequence and nuclear DNA comparisons. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 67, n. 3, p. 297-314,1996.

GULATI, M.; NOBILE, C. J. *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. **Microbes and Infection**, n. 18, v. 5, p. 310-321, 2016.

GUPTA, A.K.; KOHLI, Y. & SUMMERBELL, R.C. Molecular differentiation of seven *Malassezia* species. **Journal Clinic of Microbiology**., v. 38, n. 5, p. 1869 – 875, 2000.

HARDEN, J. L., KRUEGER, J. G., & BOWCOCK, A. M. The immunogenetics of psoriasis: a comprehensive review. **Journal of autoimmunity**, v. 64, p. 66-73, 2015.

HAY, R. J. *Malassezia*, dandruff and seborrhoeic dermatitis: an overview. **British Journal of Dermatology**, v. 165, p. 2-8, 2011.

HONNAVAR, P., CHAKRABARTI, A., DOGRA, S., HANDA, S., & RUDRAMURTHY, S. M. Phenotypic and molecular characterization of *Malassezia japonica* isolated from psoriasis vulgaris patients. **Journal of medical microbiology**, v. 64, n. 3, p. 232-236, 2015.

IATTA R, IMMEDIATO D, MONTAGNA MT, OTRANTO D, CAFARCHIA C. In vitro activity of two amphotericin B formulations against *Malassezia furfur* strains recovered from patients with bloodstream infections. **Medical mycology**, v. 53, n. 3, p. 269-274, 2015.

JAGIELSKI, T.; RUP E; ZIOŁKOWSKA, A.; ROESKE, K.; MACURA, A.B.; BIELECKI, J. Distribution of *Malassezia* species on the skin of patients with atopic dermatitis, psoriasis, and healthy volunteers assessed by conventional and molecular identification methods. **BMC dermatology**, v. 14, n. 1, p. 3, 2014.

KATRAGKOU, A.; WALSH, T. J.; ROILIDES, E. Invasive fungal infections in pediatric solid organ transplant patients: epidemiology and management. **Current Fungal Infection Reports**, v. 9, n. 2, p. 57- 64, 2015.

KAZAK, E. et al. An investigation of *Candida* species isolated from blood cultures during 17 years in a university hospital. **Mycoses**, v. 57, n. 10, p. 623- 9, 2014.

KIM, J.; KRUEGER, J.G. The immunopathogenesis of psoriasis. **Dermatologic clinics**, v. 33, n. 1, p. 13-23, 2015.

KUBOTA K, KAMIJIMA Y, SATO T, OOBA N, KOIDE D, IIZUKA H et al. Epidemiology of psoriasis and palmoplantar pustulosis: a nationwide study using the Japanese national claims database. **BMJ open**, v. 5, n. 1, e006450, 2015.

KURTZMAN, C. P.; FELL, J.W.; BOEKHOUT, T.; ROBERT, V. Methods for isolation, phenotypic characterization, and maintenance of yeasts. In **The Yeasts, a Taxonomic Study**. 5th edition. Edited by Kurtzman CP, Fell JW, Boekhout T. Amsterdam: Elsevier; p.87–111. 2010.

LANGLEY, RGB; KRUEGER, GG; GRIFFITHS, CEM Psoríase: epidemiologia, características clínicas e qualidade de vida. **Anais das doenças reumáticas**, v. 64, n. supl 2, p. ii18-ii23, 2005.

LEIBOVICI V, ALKALAY R, HERSHKO K, INGBER A, WESTERMAN M, LEVIATAN-  
STRAUSS N, HOCHBERG M. Prevalence of *Candida* on the tongue and intertriginous areas  
of psoriatic and atopic dermatitis patients. **Mycoses**, v. 51, n. 1, p. 63-66, 2008.

LEITE, J. J. G. **Caracterização fenotípica, perfil de sensibilidade antifúngica e estocagem  
de *Malassezia* spp.** 2008. 139f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Médica) -  
Faculdade de Medicina. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

LEWIS DJ, CHAN WH, HINOJOSA T, HSU S, FELDMAN SR. Mechanisms of microbial  
pathogenesis and the role of the skin microbiome in psoriasis: A review. **Clinics in  
dermatology**, v. 37, n. 2, p. 160-166, 2019.

LIMA, X. T., MINNILLO, R., SPENCER, J. M., & KIMBALL, A. B. Psoriasis prevalence  
among the 2009 AAD National Melanoma/Skin Cancer Screening Program  
participants. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 27,  
n. 6, p. 680-685, 2013.

LIMA-NETO, R., SANTOS, C., LIMA, N., SAMPAIO, P., PAIS, C., & NEVES, R.  
P. Application of MALDI-TOF MS for requalification of a *Candida* clinical isolates culture  
collection. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 2, p. 515-522, 2014.

LOBER, C. W., P. W. BELEW, E. W. ROSENBERG, G. BALE. Patch tests with killed  
sonicated microflora in patients with psoriasis. **Archives of dermatology**, v. 118, n. 5, p. 322-  
325, 1982.

LOESCHE MA, FARAHI K, CAPONE K, FAKHARZADEH S, BLAUVELT A, DUFFIN  
KC, et al. Longitudinal study of the psoriasis-associated skin microbiome during therapy with  
ustekinumab in a randomized phase 3b clinical trial. **Journal of Investigative Dermatology**,  
v. 138, n. 9, p. 1973-1981, 2018.

MAGUIRE, G. Stem cell therapy without the cells. **Communicative & integrative biology**,  
v. 6, n. 6, p. e26631, 2013.

MAGUIRE, M., & MAGUIRE, G. The role of microbiota, and probiotics and prebiotics in  
skin health. **Archives of dermatological research**, v. 309, n. 6, p. 411-421, 2017.

MAIA, C.; TAKAHASHI, M.; ROMITI, R. CONSENSO BRASILEIRO DE PSORÍASE  
2012: **Guias de avaliação e tratamento**. 2ª ed. São Paulo: Sociedade Brasileira de  
Dermatologia, 2012.

MAMIZADEH, M., TARDEH, Z., & AZAMI, M. The association between psoriasis and  
diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. **Diabetes & Metabolic Syndrome:  
Clinical Research & Reviews**, 2019.

MATTHAIYOU, D. K.; CHRISTODOULOPOULOU, T.; DIMOLOPOULOS, G. How to treat  
fungal infections in ICU patients. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, n. 205, 2015.

MCDONOUGH E., AYEARST R., EDER L., CHANDRAN V., ROSEN C.F.,  
THAVANESWARAN A. Depression and anxiety in psoriatic disease: prevalence and  
associated factors. **The Journal of rheumatology**, v. 41, n. 5, p. 887-896, 2014.

MEEUWIS K.A., DE HULLU J.A., VAN DE NIEUWENHOF H.P., EVERS A.W., MASSUGER L.F., VAN DE KERKHOF P.C. Quality of life and sexual health in patients with genital psoriasis. **British Journal of Dermatology**, v. 164, n. 6, p. 1247-1255, 2011.

MEGLIO, P.; NESTLE, FO. The role of IL-23 in the immunopathogenesis of psoriasis. **F1000 biology reports**, v. 2, 2010.

MICHALEK, Irmina Maria; LORING, Belinda; JOHN, Swen Malte. **Global report on psoriasis**. World Health Organization, 2016.

MIRANDA, K.C., ARAÚJO, C.R., COSTA, C.R., PASSOS, X.S., FERNANDES, O.F.L., SILVA, M.R.R. Antifungal activities of azole agents against the *Malassezia* species. **Int. J. Antimicrob. Ag.**, v. 29, p. 3, p. 281-284, 2007.

NALDI, Luigi; GAMBINI, Daniele. The clinical spectrum of psoriasis. **Clinics in dermatology**, v. 25, n. 6, p. 510-518, 2007.

NESTLE, F. O.; KAPLAN, D. H.; SCHON, M. P. Barker J: Psoriasis. **N Engl J Med**, v. 361, n. 17, p. 496-509, 2009.

NIJSTEN, T., LOOMAN, C. W., & STERN, R. S. Clinical severity of psoriasis in last 20 years of PUVA study. **Archives of dermatology**, v. 143, n. 9, p. 1113-1121, 2007.

NIYONSABA F, KIATSURAYANON C, CHIEOSILAPATHAM P, OGAWA H. Friends or Foes? Host defense (antimicrobial) peptides and proteins in human skin diseases. **Experimental dermatology**, v. 26, n. 11, p. 989-998, 2017.

OLIVIER, C., ROBERT, P. D., Daihung, D. O., URBÀ, G., CATALIN, M. P., HYWEL, W., ... & Gelfand, J. M. The risk of depression, anxiety, and suicidality in patients with psoriasis: a population-based cohort study. **Archives of dermatology**, v. 146, n. 8, p. 891-895, 2010.

ORTONNE, J.; CHIMENTI, S.; LUGER, T.; PUIG, L.; REID, F.; TRUEB, R.M. Scalp psoriasis: European consensus on grading and treatment algorithm. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 23, n. 12, p. 1435-1444, 2009.

PARISI R, RUTTER MK, LUNT M, YOUNG HS, SYMMONS DP, GRIFFITHS CE, ASHCROFT DM. Psoriasis and the risk of major cardiovascular events: cohort study using the clinical practice research datalink. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 135, n. 9, p. 2189-2197, 2015.

PARISI, R., SYMMONS, D. P., GRIFFITHS, C. E., & ASHCROFT, D. M. Global epidemiology of psoriasis: a systematic review of incidence and prevalence. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 133, n. 2, p. 377-385, 2013.

PEDROSA AF, LISBOA C, BRANCO J, ALMEIDA AC, MENDES C, PELLEVOISIN C, et al. *Malassezia* colonisation on a reconstructed human epidermis: Imaging studies. **Mycoses**, v. 62, n. 12, p. 1194-1201, 2019.

- PIETRZAK A, GRYWALSKA E, SOCHA M, ROLIŃSKI J, FRANCISZKIEWICZ-PIETRZAK K, RUDNICKA L, et al. Prevalence and possible role of *Candida* species in patients with psoriasis: A systematic review and meta-analysis. **Mediators of inflammation**, v. 2018, 2018.
- POLKE, MELANIE; HUBE, BERNHARD; JACOBSEN, ILSE D. *Candida* survival strategies. In: **Advances in Applied Microbiology**. Academic Press, p. 139-235, 2015.
- PRADO, M. R., BRITO, É. H., BRILHANTE, R. S., CORDEIRO, R. A., LEITE, J. J., SIDRIM, J. J., & ROCHA, M. F. Subculture on potato dextrose agar as a complement to the broth microdilution assay for *Malassezia pachydermatis*. **Journal of microbiological methods**, v. 75, n. 2, p. 341-343, 2008.
- PROHIĆ A. **Psoriasis and Malassezia Yeasts. Psoriasis – A Systemic Disease**, p. 89, 2012.
- ROJAS FD, SOSA MDLA, FERNANDEZ MS, CATTANA ME, CORDOBA SB, GIUSIANO GE. Antifungal susceptibility of *Malassezia furfur*, *Malassezia sympodialis*, and *Malassezia globosa* to azole drugs and amphotericin B evaluated using a broth microdilution method. **Medical Mycology**, v. 52, n. 6, p. 641-646, 2014.
- ROJAS, F. D., CORDOBA, S. B., DE LOS ÁNGELES SOSA, M., ZALAZAR, L. C., FERNÁNDEZ, M. S., CATTANA, M. E., ... & GIUSIANO, G. E. Antifungal susceptibility testing of *Malassezia* yeast: comparison of two different methodologies. **Mycoses**, v. 60, n. 2, p. 104-111, 2016.
- ROMITI, R., AMONE, M., MENTER, A., & MIOT, H. A. Prevalence of psoriasis in Brazil—a geographical survey. **International journal of dermatology**, v. 56, n. 8, p. e167-e168, 2017.
- ROSENBERG, E. W., & BELEW, P. W. Improvement of psoriasis of the scalp with ketoconazole. **Archives of dermatology**, v. 118, n. 6, p. 370-371, 1982.
- RUDRAMURTHY, S. M., HONNAVAR, P., CHAKRABARTI, A., DOGRA, S., SINGH, P., & HANDA, S. Association of *Malassezia* species with psoriatic lesions. **Mycoses**, v. 57, n. 8, p. 483-488, 2014.
- SARVTIN MT, SHOKOHI T, HAJHEYDARI Z, YAZDANI J, HEDAYATI MT. Evaluation of candidal colonization and specific humoral responses against *Candida albicans* in patients with psoriasis. **International journal of dermatology**, v. 53, n. 12, p. e555-e560, 2014.
- SCHÄKEL, K., SCHÖN, M. P., & GHORESCHI, K. Pathogenese der Psoriasis vulgaris. **Der Hautarzt**, v. 67, n. 6, p. 422-431, 2016.
- SIFUENTES-OSORNIO, J. et al. Epidemiology of invasive fungal infections in latin america current managment of fungal infections. **Current Fungal Infection Reports**, v. 6, n. 1, p. 23–34, 2012.
- SILVA, S., NEGRI, M., HENRIQUES, M., OLIVEIRA, R., WILLIAMS, D. W., & AZEREDO, J. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, n. 2 p. 288– 305, 2012.

SMITH A. E.; KASSAB J. Y.; ROWLAND P. C. M. et al. Bimodality in age of onset of psoriasis, in both patients and their relatives. **Dermatology**, v. 186, n. 3, p. 181-186, 1993.

SNEKAVALLI, R. MADHU, A. RAMESH, C. JANAKI, U. R. DHANALAKSHMI. Clinico epidemiological and mycological study of pityriasis versicolor. **International Journal of Research in Medical Sciences**, v. 6, n. 6, 2018.

SPARBER, F., & LEIBUNDGUT-LANDMANN, S. Host responses to *Malassezia* spp. in the mammalian skin. **Frontiers in immunology**, v. 8, p. 1614, 2017.

SPIVAK, Emily S.; HANSON, Kimberly E. *Candida auris*: an emerging fungal pathogen. **Journal of clinical microbiology**, v. 56, n. 2, p. e01588-17, 2018.

TABBENE, O. et al. Bacillomycin D and its combination with amphotericin B: promising antifungal compounds with powerful antibiofilm activity and wound-healing potency. **Journal of Applied Microbiology**, v. 120, n. 2, p. 289- 300, 2016.

TAKEMOTO A, CHO O, MOROHOSHI Y, SUGITA, T, MUTO M. Molecular characterization of the skin fungal microbiome in patients with psoriasis. **The Journal of dermatology**, v. 42, n. 2, p. 166-170, 2014.

TASLIYURT T, BILIR Y, SAHIN S, SECKIN HY, KAYA SU, SIVGIN H, *et al.* Erectile dysfunction in patients with psoriasis: potential impact of the metabolic syndrome. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, v. 18, n. 4, p. 581-586, 2014.

TERVAERT, WC COHEN; ESSEVELD, H. A study of the incidence of haemolytic streptococci in the throat in patients with psoriasis vulgaris, with reference to their role in the pathogenesis of this disease. **Dermatology**, v. 140, n. 5, p. 282-290, 1970.

TOMI, N. S., KRÄNKE, B., & ABERER, E. Staphylococcal toxins in patients with psoriasis, atopic dermatitis, and erythroderma, and in healthy control subjects. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 53, n. 1, p. 67-72, 2005.

VALENTÍN, A. et al. Voriconazole inhibits biofilm formation in different species of the genus *Candida*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, n. 10, p. 2418- 23, 2012.

VELEGRAKI A, CAFARCHIA C, GAITANIS G, IATTA R, BOEKHOUT T. *Malassezia* infections in humans and animals: pathophysiology, detection, and treatment. **PLoS pathogens**, v. 11, n. 1, 2015.

VELEGRAKI, A., ALEXOPOULOS, E. C., KRITIKOU, S., & GAITANIS, G. Use of fatty acid RPMI 1640 media for testing susceptibilities of eight *Malassezia* species to the new triazole posaconazole and to six established antifungal agents by a modified NCCLS M27-A2 microdilution method and Etest. **Journal of clinical microbiology**, v. 42, n. 8, p. 3589-3593, 2004.

WALDMAN, A., GILHAR, A., DUEK, L., & BERDICEVSKY, I. Incidence of *Candida* in psoriasis—a study on the fungal flora of psoriatic patients. **Mycoses**, v. 44, n. 3-4, p. 77-81, 2001.

- WILLIAMS, M. R., & GALLO, R. L. The role of the skin microbiome in atopic dermatitis. **Current allergy and asthma reports**, v. 15, n. 11, p. 65, 2015.
- WIRTH, FERNANDA; GOLDANI, LUCIANO Z. Epidemiology of *Rhodotorula*: an emerging pathogen. **Interdisciplinary perspectives on infectious diseases**, v. 2012, 2012.
- WITTE, M.; THAÇI, D. Psoriasis und Mikrobiom. **Der Hautarzt**, v. 70, n. 6, p. 416-421, 2019.
- YAPAR, N. Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, v. 10, p. 95- 105, 2014.
- YOSHIO, O.; KOUJI, G. Antigenicity of *Candida tropicalis* strain cells cultured at 27 and 37 C. **FEMS Immunol Med Mic**, v. 46, p. 438-443, 2006.

## APÊNDICE A – TCLE

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidada pela pesquisadora Ane Teles Reis para participar da pesquisa intitulada como: “**Isolamento de *Malassezia spp.* e *Trichosporon spp.* em pacientes com psoríase em um hospital terciário em Fortaleza**”. Você não deve participar contra a sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar, para que todos os procedimentos desta pesquisa sejam esclarecidos.

A sua participação envolve responder um questionário com sete seções de perguntas (Identificação paciente: com 6 perguntas; História clínica: com 7 perguntas; Exame Clínico: com 5 perguntas; Tratamento: com 5 perguntas, Fatores relacionados: com 8 perguntas; Prurido: com 4 perguntas; Exames laboratoriais: com 7 perguntas) no total de 42 perguntas, em um tempo estimado de 20 minutos, aplicado no próprio ambulatório da consulta. Além disso, o fornecimento de até 5 amostra de pele que serão coletadas pelo pesquisador responsável. Essa coleta será feita utilizando um dispositivo semelhante a um cotonete de algodão, chamado “swabs” previamente umedecidos com salina estéril, o qual será girado sobre a superfície da pele por 15 segundos e uma pequena raspagem da superfície da pele com uma lâmina, após esses procedimentos os dispositivos serão removidos para análises no laboratório.

Informo que esses procedimentos já são empregados de forma rotineira pelo seu médico como parte da consulta dermatológica, quando se suspeita que a paciente tenha alguma infecção. O objetivo desta pesquisa é conhecer os microrganismos que podem estar causando a sua doença. Informo que não haverá pagamentos, entrega de brindes ou vantagens financeiras para nenhuma participante desta pesquisa.

Os riscos desta pesquisa: embora seja um procedimento comum nos ambulatórios de dermatologia, você poderá sentir-se constrangida durante o exame. Há também a possibilidade de que você sinta ardência local no momento da coleta. No entanto, este desconforto é passageiro e rápido, durando apenas alguns minutos.

Os benefícios desta pesquisa: a sua participação poderá contribuir para a geração de dados que, no futuro, auxiliarão os médicos na descoberta de novas formas de tratar a psoríase. Sua privacidade será respeitada ao longo desta pesquisa. Você pode se recusar a participar do estudo, ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem justificativa e sem prejuízo ao seu atendimento.

As informações conseguidas por meio da sua participação não permitirão a identificação da sua pessoa, exceto aos responsáveis pela pesquisa, e a divulgação das informações mencionadas só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto.

Dados do responsável pela pesquisa: Ane Teles Reis, Universidade Federal do Ceará – Faculdade de Medicina – Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas.

Endereço: Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Bloco da Biomedicina, Laboratório de Micologia. Rua Coronel Nunes de Melo, 1315, Bairro: Rodolfo Teófilo, Fortaleza-Ceará, CP: 60.430-270. Telefones para contato: (85) 3366-8594 / 996.710.197

ATENÇÃO: Se você tiver alguma consideração ou dúvida, sobre a sua participação na pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC/PROPESQ. Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 - Rodolfo Teófilo, fone: 3366-8344/46. (Horário: 08:00-12:00 horas de segunda a sexta-feira). O CEP/UFC/PROPESQ é a instância da Universidade Federal do Ceará responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos.

O abaixo assinado \_\_\_\_\_,  
 RG: \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_, declara que é de livre e espontânea vontade que está como participante de uma pesquisa. Eu declaro que li cuidadosamente este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após sua leitura, tive a oportunidade de fazer perguntas sobre o seu conteúdo, como também sobre a pesquisa, e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas. E declaro, ainda, estar recebendo uma via assinada deste termo.

Fortaleza, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Nome da participante da pesquisa: \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

Nome do pesquisador: \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

Nome do profissional que aplicou o TCLE: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

## APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO

### 1. IDENTIFICAÇÃO

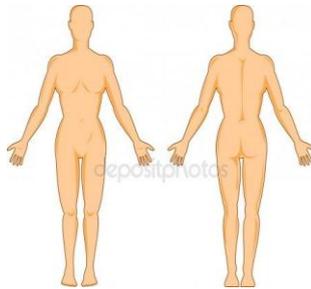
Nome: \_\_\_\_\_  
 Nascimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_ N° Ficha: \_\_\_\_\_  
 Data coleta: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_ N° Prontuário: \_\_\_\_\_  
 Profissão: \_\_\_\_\_ Sexo: FEM ( ) MAS ( )  
 Estado Civil: \_\_\_\_\_ Naturalidade: \_\_\_\_\_

### 2. HISTÓRIA CLÍNICA

Início da doença: \_\_\_\_\_  
 Tempo de evolução: \_\_\_\_\_  
 Comp. articular: ( ) Não ( ) Anterior ( ) Concomitante  
 ( ) Evolução Posterior ( ) Simétrico  
 Tipo Comp. articular: ( ) Axial ( ) Periférico ( ) Artralgia ( ) Artrite  
 ( ) Outros: \_\_\_\_\_  
 Articulações Acometidas: ( ) Ombros ( ) Punhos ( ) Mcfs  
 ( ) Ifps ( ) Ifds ( ) Cx.Femurais ( ) Joelhos  
 ( ) Tornozelos ( ) Mtfs ( ) Ifs  
 Episódios de eritrodermia: ( ) Sim ( ) Não Quantos: \_\_\_\_\_  
 Internações relacionadas: ( ) Sim ( ) Não Quantas: \_\_\_\_\_

### 3. EXAME CLÍNICO

Distribuição das lesões:



Morfologia atual das lesões: ( ) Placas ( ) Gutata ( ) Numular  
 ( ) Eritrodérmica ( ) Pustulosa  
 Simetria das lesões de pele: ( ) Sim ( ) Não  
 Fenômeno de Koebner: ( ) Sim ( ) Não  
 PASI \_\_\_\_\_

### 4. TRATAMENTOS

Tópicos: ( ) Antralina ( ) Análogos da Vitamina D3  
 ( ) Tazaroteno ( ) Derivados do Alcatrão  
 ( ) Corticóides ( ) Emolientes  
 ( ) Outros: \_\_\_\_\_  
 Fototerapia ( ) UV ( ) PUVA ( ) UVB ( ) UVB+  
 Sistêmicos: ( ) Metotrexato ( ) Ciclosporina  
 ( ) Retinóide ( ) Corticóides  
 ( ) DDS ( ) Outras: \_\_\_\_\_  
 Tratamento atual: \_\_\_\_\_  
 Remissão: \_\_\_\_\_

**5. FATORES RELACIONADOS**

- Emoção associasse com a piora?  Sim  Não  
Qual(is)? \_\_\_\_\_
- Possui doenças associadas com psoríase?  Diabetes  Alcoolismo  
 Depressão  Epilepsia  
 Artrite  Hipertensão  
 Outros: \_\_\_\_\_
- Na família possui histórico de psoríase?  familiar(es) portador(es) de psoríase  
Grau de parentesco: \_\_\_\_\_
- Clima associasse com a piora?  Sim  Não  
Qual(is)? \_\_\_\_\_
- Banho associasse com a piora?  Sim  Não  
Qual?  Banho Frio  Banho Quente  Nenhum
- Qual tipo de pele da(s) região(ões) c/ lesão(ões)  
Cor da Pele:  pele seca  pele úmida  
 pele oleosa  pele mista  
 Muito clara ou “branca”  
 Pouco escura  
 Escura ou parda  
 Muito escura ou negra
- Possui infecções associadas?  Sim  Não  
Qual(is)? \_\_\_\_\_

**6. PRURIDO**

- Prurido:  Ausente  Moderado  Intenso  
Escala Prurido: 0-----5-----10  
Gera:  Agitação  Depressão  
 Dificuldade de Concentração  Ansiedade  
 Alteração do Desempenho Sexual  
 Outros: \_\_\_\_\_
- Frequência do prurido:  Diária  Semanal  Menos frequente

**APÊNDICE C – TABELA DOS ISOLADOS POR GRUPO DE PESQUISA**

<b>Grupos</b>	<b>Código indivíduo</b>	<b>Sítio anatômico</b>	<b>Código</b>	<b>Espécie isolada</b>
<b>I</b>	1	Couro Cabeludo	P1CC1	<i>Candida orthopsilosis.</i>
	1	Couro Cabeludo	P1CC2	<i>Candida parapsilosis</i>
	1	Coxa	P1CX3	<i>Outras lev.</i>
	1	Coxa	P1CX4	<i>Candida parapsilosis</i>
	4	Intermamária	P4IM8	<i>Malassezia</i>
	9	Umbigo	P9UMB14	<i>Malassezia</i>
	9	Umbigo	P9UMB15	<i>Malassezia</i>
	9	Couro Cabeludo	P9CC16	<i>Malassezia</i>
	9	Dorso	P9DR19	<i>Candida parapsilosis</i>
	9	Braço	P9BR21	<i>Malassezia</i>
	9	Braço	P9BR22	<i>Malassezia</i>
	12	Umbigo	P12UMB44	<i>Malassezia</i>
	26	Cotovelo	P26COT91	<i>Candida parapsilosis</i>
	<b>II</b>	3	Couro Cabeludo	P3CC5
4		Couro Cabeludo	P4CC6	<i>Outras lev.</i>
4		Couro Cabeludo	P4CC7	<i>Outras lev.</i>
10		Couro Cabeludo	P10CC26	<i>Outras lev.</i>
10		Cotovelo	P10COT28	<i>Malassezia</i>
10		Dorso	P10DR34	<i>Malassezia</i>
11		Couro Cabeludo	P11CC35	<i>Candida haemulonii</i>
11		Axila	P11AX38	<i>Malassezia</i>
11		Cotovelo	P11COT39	<i>Candida parapsilosis</i>
13		Perna	P13PER48	<i>Malassezia</i>
13		Dorso	P13DR50	<i>Malassezia</i>
13		Dorso	P13DR53	<i>Malassezia</i>
14		Intermamária	P14IM56	<i>Malassezia</i>
14		Braço	P14BR65	<i>Malassezia</i>
19		Braço	P19BR71	<i>Malassezia</i>
20		Intermamária	P20IM75	<i>Malassezia</i>
21		Couro Cabeludo	P21CC76	<i>Malassezia</i>
22		Cotovelo	P22COT77	<i>Malassezia</i>
22		Umbigo	P22UMB79	<i>Malassezia</i>
23		Pé	P24PE85	<i>Malassezia</i>
23		Pé	P23PE84	<i>Candida parapsilosis</i>
24		Couro Cabeludo	P24CC83	<i>Malassezia</i>
24		Couro Cabeludo	P24CC87	<i>Candida parapsilosis</i>
24		Axila	P24AX88	<i>Candida parapsilosis</i>
24		Dorso	P24DOR89	<i>Malassezia</i>
30		Couro Cabeludo	P30CC94	<i>Outras lev.</i>
30		Dorso	P30DOR95	<i>Outras lev.</i>
30		Cotovelo	P30COT96	<i>Malassezia</i>
31		Joelho	P31JOE97	<i>Malassezia</i>
32		Joelho	P32JOE98	<i>Malassezia</i>
36		Couro Cabeludo	P36CC100	<i>Malassezia</i>
36		Couro Cabeludo	P36CC101	<i>Candida parapsilosis</i>
36	Couro Cabeludo	P36CC102	<i>Outras lev.</i>	
<b>III</b>	1	Couro Cabeludo	IS1CC1	<i>Candida parapsilosis</i>
	2	Couro Cabeludo	IS2CC1	<i>Candida parapsilosis</i>
	3	Dorso	ISDR5	<i>Malassezia</i>
	3	Intermamária	IS3IM4	<i>Malassezia</i>
	9	Couro Cabeludo	IS9CC1	<i>Malassezia</i>
	9	Dorso	IS9DR1	<i>Malassezia</i>
	12	Dorso	IS12DR1	<i>Candida parapsilosis</i>

13	Intermamária	IS13IM1	<i>Malassezia</i>
19	Umbigo	IS19UMB1	<i>Malassezia</i>
19	Couro Cabeludo	IS19CC1	<i>Malassezia</i>
19	Joelho	IS19JOE1	<i>Malassezia</i>
20	Umbigo	IS20UMB2	<i>Malassezia</i>
20	Couro Cabeludo	IS20CC1	<i>Malassezia</i>
20	Intermamária	IS20IM3	<i>Malassezia</i>
20	Intermamária	IS20IM1	<i>Outras lev.</i>
20	Intermamária	IS20IM2	<i>Candida parapsilosis</i>
20	Umbigo	IS20UMB1	<i>Candida parapsilosis</i>
21	Umbigo	IS21UMB2	<i>Malassezia furfur</i>
21	Intermamária	IS21IM1	<i>Outras lev.</i>
22	Axila	IS22AX1	<i>Trichosporum coremiforme</i>
22	Nádega	IS22NAD1	<i>Outras lev.</i>
22	Couro Cabeludo	IS22CC1	<i>Malassezia</i>
22	Nádega	IS22NAD1	<i>Malassezia</i>
23	Axila	IS23AX1	<i>Malassezia</i>
23	Cotovelo	IS23COT2	<i>Malassezia furfur</i>
23	Cotovelo	IS23COT1	<i>Candida haemuloni</i>
23	Cotovelo	IS23COT2	<i>Outras lev.</i>
24	Couro Cabeludo	IS24CC1	<i>Outras lev.</i>
24	Unha	IS24UN1	<i>Outras lev.</i>
24	Umbigo	IS24UMB1	<i>Candida parapsilosis</i>
24	Dorso	IS24DR3	<i>Malassezia furfur</i>
24	Umbigo	IS24UMB2	<i>Malassezia furfur</i>
24	Couro Cabeludo	IS24CC2	<i>Malassezia furfur</i>

**APÊNDICE D – VALORES DE CIM PARA ISOLADOS DE *Malassezia* spp.**

Isolados Grupo Controle	(CIM $\mu\text{g mL}^{-1}$ )						
	FLC	KTZ	AMB	MCZ	ITZ	VCZ	TBN
IS3DR	8	0,03	4	0,5	0,06	0,125	0,5
IS3IM	8	0,03	8	16	0,06	0,125	0,5
IS9CC	8	0,125	>16	0,25	0,03	0,125	0,5
IS9DR	16	0,03	16	16	0,06	0,125	2
IS12DR	32	0,03	>16	16	0,06	0,25	8
IS13IM	4	0,125	>16	4	0,06	0,03	0,5
IS19UMB	64	1	>16	4	0,03	2	1
IS19CC	8	0,5	8	4	0,03	1	0,5
IS20IM	4	0,125	>16	0,5	0,03	0,03	4
IS21UMB	64	0,125	16	16	0,03	2	16
IS22CC	64	0,5	16	16	0,06	0,125	0,5
IS23CC	4	0,125	16	1	0,03	1	8
IS23AX	64	0,125	>16	16	0,03	0,03	8
IS24CC	4	0,03	2	2	0,03	0,06	1
IS24UMB	4	0,03	4	4	0,03	0,03	0,5
<i>M. P3CC5</i>	4	0,125	16	2	0,5	0,06	2
<i>M. P4 IM8</i>	32	0,25	>16	8	0,03	1	4
<i>M. P9CC16</i>	16	0,125	16	8	0,03	0,06	16
<i>M. P9BR22</i>	16	2	>16	16	0,06	0,25	8
<i>M.P10DR34</i>	4	2	>16	0,5	0,5	0,125	8
<i>M. P10CC35</i>	16	0,5	>16	>16	2	0,25	16
<i>M. P12UMB44</i>	4	0,125	16	8	0,03	0,03	2
<i>M. P13PR48</i>	16	2	>16	8	0,125	2	8
<i>M. P13DR50</i>	16	0,5	16	16	0,06	1	4
<i>M. P14IM56</i>	32	0,125	>16	0,5	0,06	0,25	4
<i>M. P19BR71</i>	32	0,5	>16	16	0,06	0,25	4
<i>M. P20IM75</i>	32	2	>16	16	1	0,25	8
<i>M.. P21CC76</i>	32	0,5	>16	16	0,03	0,5	2
<i>M. P22UMB79</i>	32	0,125	8	16	0,03	1	4
<i>M. P23PE84</i>	64	0,06	8	16	0,06	1	8
<i>M. P24CC85</i>	64	0,125	8	16	0,06	2	4
<i>M. P24PR89</i>	32	0,125	>16	16	0,06	0,25	2
<i>M.P30COT96</i>	32	0,125	>16	2	0,03	0,06	4
<i>M.P31JOE97</i>	16	0,125	8	0,5	0,03	0,03	2
<i>M. P32JOE98</i>	4	0,125	>16	8	0,03	0,03	4

**APÊNDICE E - VALORES DE CIM PARA ISOLADOS DE *Candida* spp.**

CEPAS	<i>CIM</i> $\mu\text{g mL}^{-1}$						
	FLC	KTZ	AMB	MCZ	ITZ	VCZ	TBN
<b>P1CC1</b>	0,25	0,03	0,25	0,125	0,25	0,03	0,125
<b>P1CC2</b>	0,25	0,03	0,5	0,06	0,125	0,03	0,06
<b>P1CX4</b>	0,25	0,03	0,25	0,125	0,125	0,03	0,06
<b>P4CC6</b>	1	0,03	0,25	0,25	0,25	0,03	0,25
<b>P4CC7</b>	2	0,25	0,06	1	0,5	0,06	16
<b>P4DR19</b>	2	0,06	0,25	0,25	0,25	0,03	0,125
<b>P10CC26</b>	1	0,06	0,25	0,5	0,25	0,06	0,06
<b>P11CC35</b>	0,5	0,03	0,25	0,125	0,125	0,03	0,125
<b>P11COT39</b>	1	0,03	0,5	0,125	0,125	0,03	0,125
<b>P11COT40</b>	1	0,03	0,25	0,125	0,03	0,06	0,125
<b>P23PE83</b>	0,5	0,03	0,06	0,03	0,03	0,06	0,03
<b>P23PE84</b>	0,25	0,03	0,25	0,06	0,03	0,03	0,03
<b>P24CC87</b>	1	0,03	0,25	0,125	0,03	0,5	0,06
<b>P24AX88</b>	0,25	0,03	0,125	0,06	0,03	0,03	0,03
<b>P26COT91</b>	0,25	0,03	0,25	0,06	0,06	0,03	0,25
<b>P30CC94</b>	0,5	0,03	0,5	0,125	0,25	0,03	0,25
<b>P30DR95</b>	2	0,03	0,25	0,125	0,125	0,03	0,125
<b>P36CC2</b>	1	0,03	2	0,06	0,125	0,06	2
<b>P36CC3</b>	0,25	0,03	0,25	0,06	0,06	0,03	0,06
<b>ISCC0</b>	0,25	0,03	1	0,03	0,06	0,03	0,06
<b>IS2CC1</b>	0,25	0,03	0,25	0,03	0,03	0,03	0,125
<b>IS20IM1</b>	0,25	0,03	0,5	0,06	0,125	0,03	0,25
<b>IS20IM2</b>	0,5	0,03	0,125	0,125	0,03	0,03	0,25
<b>IS20UMB1</b>	0,5	0,06	0,5	0,5	0,25	0,03	0,06
<b>IS21IM2</b>	0,25	0,03	0,5	0,125	0,125	0,03	0,125
<b>IS22NAD1</b>	0,25	0,03	0,5	0,125	0,125	0,03	0,03
<b>IS23COT2</b>	0,125	0,06	0,5	0,06	0,125	0,03	0,06

**APÊNDICE F – MANUSCRITO SUBMETIDO À REVISTA**

**Journal of Medical Microbiology**

***Malassezia* spp. and *Candida* spp. from patients with psoriasis display reduced susceptibility to antifungals**

Rossana de Aguiar Cordeiro<sup>1§</sup>, Ane Teles Reis<sup>1§</sup>, Xinaida Taligare Vasconcelos Lima<sup>1</sup>, Ana Raquel Colares de Andrade<sup>1</sup>, Ana Luiza Ribeiro Aguiar<sup>1</sup>, Fernando Victor Monteiro Portela<sup>1</sup>, Lívia Maria Galdino Pereira<sup>1</sup>, Santiago Gonçalves Bezerra Moura<sup>1</sup>, Bruno Nascimento da Silva<sup>1</sup>, Reginaldo Gonçalves de Lima-Neto<sup>2</sup>, Raimunda Sâmia Nogueira Brilhante<sup>1</sup>, Débora Castelo-Branco Souza Collares Maia<sup>1</sup>, Marcos Fábio Gadelha Rocha<sup>1,3</sup>, José Júlio Costa Sidrim<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Federal University of Ceará, Brazil

<sup>2</sup> Federal University of Pernambuco, Brazil

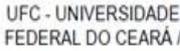
<sup>3</sup> State University of Ceará, Brazil

<sup>§</sup> Both authors contributed equally to this work.

**Keywords:** psoriasis; yeast; mycobiota; antifungal susceptibility

## ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

 	<p style="font-size: small;">Continuação do Parecer: 2.845.499</p> <p><b>Recomendações:</b> ajustar o cronograma para o início da coleta de dados após aprovação definitiva pelo cep</p> <p><b>Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:</b> Sem pendências.</p> <p><b>Considerações Finais a critério do CEP:</b></p> <p>Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:</p>																																																																																
<b>PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP</b>																																																																																	
<p><b>DADOS DO PROJETO DE PESQUISA</b></p> <p><b>Título da Pesquisa:</b> ISOLAMENTO DE <i>Malassezia</i> spp. E <i>Trichosporon</i> spp. EM PACIENTES COM PSORÍASE EM UM HOSPITAL TERCIÁRIO EM FORTALEZA</p> <p><b>Pesquisador:</b> ANE TELES REIS  <b>Área Temática:</b>  <b>Versão:</b> 1  <b>CAAE:</b> 00710218.5.0000.5054  <b>Instituição Proponente:</b> UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  <b>Patrocinador Principal:</b> Financiamento Próprio</p>																																																																																	
<p><b>DADOS DO PARECER</b></p> <p><b>Número do Parecer:</b> 2.845.499</p> <p><b>Apresentação do Projeto:</b>  A psoríase é uma doença inflamatória crônica que acomete 0,5 a 3% da população mundial e pode ter um importante impacto na qualidade de vida, principalmente em indivíduos que possuem quadros moderados a grave. Sabe-se que alguns patógenos estão associados à piora do quadro clínico da psoríase e, nesse contexto, destacam-se as espécies fúngicas do gênero <i>Malassezia</i> e <i>Trichosporon</i>. O presente estudo objetiva determinar a frequência de isolamento de <i>Malassezia</i> spp. e <i>Trichosporon</i> spp. em pacientes com lesões psoriáticas e comparar com indivíduos saudáveis. A pesquisa é um estudo transversal. Serão considerados três grupos de pacientes: (I) Indivíduos virgens de tratamento; (II) Indivíduos fazendo uso de medicamentos para psoríase; (III) Indivíduos que não apresentam psoríase. A coleta de amostras será de acordo com protocolo descrito por Jagielski et al. (2014), com adaptações. Os pacientes serão pareados por sexo e idade com indivíduos clinicamente saudáveis. Serão incluídos apenas os indivíduos que tenham assinado o termo de consentimento livre e esclarecido. Por meio de</p>																																																																																	
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; font-size: x-small;"> <thead> <tr> <th>Tipo Documento</th> <th>Arquivo</th> <th>Postagem</th> <th>Autor</th> <th>Situação</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Informações Básicas do Projeto</td> <td>PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1137274.pdf</td> <td>01/06/2018 15:19:43</td> <td></td> <td>Aceito</td> </tr> <tr> <td>TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência</td> <td>03_TCLE.pdf</td> <td>01/06/2018 15:17:18</td> <td>ANE TELES REIS</td> <td>Aceito</td> </tr> <tr> <td>Projeto Detalhado / Brochura Investigador</td> <td>02_Protocolo_de_pesquisa.pdf</td> <td>01/06/2018 15:17:05</td> <td>ANE TELES REIS</td> <td>Aceito</td> </tr> <tr> <td>Outros</td> <td>06_Curriculo_Xinaiida.pdf</td> <td>01/06/2018 08:42:08</td> <td>ANE TELES REIS</td> <td>Aceito</td> </tr> <tr> <td>Outros</td> <td>06_Curriculo_Rossana.pdf</td> <td>01/06/2018 08:40:36</td> <td>ANE TELES REIS</td> <td>Aceito</td> </tr> <tr> <td>Outros</td> <td>06_Curriculo_Ane.pdf</td> <td>01/06/2018 08:40:16</td> <td>ANE TELES REIS</td> <td>Aceito</td> </tr> <tr> <td>Outros</td> <td>00_Carta_Apreciacao_UFC.jpg</td> <td>01/06/2018 08:37:47</td> <td>ANE TELES REIS</td> <td>Aceito</td> </tr> <tr> <td>Outros</td> <td>00_Carta_Encami_HUWC2.jpg</td> <td>01/06/2018 08:36:24</td> <td>ANE TELES REIS</td> <td>Aceito</td> </tr> <tr> <td>Outros</td> <td>00_Carta_Encami_HUWC1.jpg</td> <td>01/06/2018 08:35:57</td> <td>ANE TELES REIS</td> <td>Aceito</td> </tr> <tr> <td>Declaração de Instituição e Infraestrutura</td> <td>05_Autorizacao_setor_pesquisa.jpg</td> <td>01/06/2018 08:32:54</td> <td>ANE TELES REIS</td> <td>Aceito</td> </tr> <tr> <td>Cronograma</td> <td>08_CRONOGRAMA.jpg</td> <td>01/06/2018 08:32:08</td> <td>ANE TELES REIS</td> <td>Aceito</td> </tr> <tr> <td>Outros</td> <td>09_Declaracao_de_Fiel_Depositario.pdf</td> <td>01/06/2018 08:31:15</td> <td>ANE TELES REIS</td> <td>Aceito</td> </tr> <tr> <td>Outros</td> <td>10_Termo_de_compromisso.jpg</td> <td>01/06/2018 08:30:48</td> <td>ANE TELES REIS</td> <td>Aceito</td> </tr> <tr> <td>Outros</td> <td>11_Carta_de_anuencia.pdf</td> <td>01/06/2018 08:30:06</td> <td>ANE TELES REIS</td> <td>Aceito</td> </tr> <tr> <td>Orçamento</td> <td>04_Orçamento.jpg</td> <td>01/06/2018 08:28:09</td> <td>ANE TELES REIS</td> <td>Aceito</td> </tr> </tbody> </table>		Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação	Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1137274.pdf	01/06/2018 15:19:43		Aceito	TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	03_TCLE.pdf	01/06/2018 15:17:18	ANE TELES REIS	Aceito	Projeto Detalhado / Brochura Investigador	02_Protocolo_de_pesquisa.pdf	01/06/2018 15:17:05	ANE TELES REIS	Aceito	Outros	06_Curriculo_Xinaiida.pdf	01/06/2018 08:42:08	ANE TELES REIS	Aceito	Outros	06_Curriculo_Rossana.pdf	01/06/2018 08:40:36	ANE TELES REIS	Aceito	Outros	06_Curriculo_Ane.pdf	01/06/2018 08:40:16	ANE TELES REIS	Aceito	Outros	00_Carta_Apreciacao_UFC.jpg	01/06/2018 08:37:47	ANE TELES REIS	Aceito	Outros	00_Carta_Encami_HUWC2.jpg	01/06/2018 08:36:24	ANE TELES REIS	Aceito	Outros	00_Carta_Encami_HUWC1.jpg	01/06/2018 08:35:57	ANE TELES REIS	Aceito	Declaração de Instituição e Infraestrutura	05_Autorizacao_setor_pesquisa.jpg	01/06/2018 08:32:54	ANE TELES REIS	Aceito	Cronograma	08_CRONOGRAMA.jpg	01/06/2018 08:32:08	ANE TELES REIS	Aceito	Outros	09_Declaracao_de_Fiel_Depositario.pdf	01/06/2018 08:31:15	ANE TELES REIS	Aceito	Outros	10_Termo_de_compromisso.jpg	01/06/2018 08:30:48	ANE TELES REIS	Aceito	Outros	11_Carta_de_anuencia.pdf	01/06/2018 08:30:06	ANE TELES REIS	Aceito	Orçamento	04_Orçamento.jpg	01/06/2018 08:28:09	ANE TELES REIS	Aceito
Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação																																																																													
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1137274.pdf	01/06/2018 15:19:43		Aceito																																																																													
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	03_TCLE.pdf	01/06/2018 15:17:18	ANE TELES REIS	Aceito																																																																													
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	02_Protocolo_de_pesquisa.pdf	01/06/2018 15:17:05	ANE TELES REIS	Aceito																																																																													
Outros	06_Curriculo_Xinaiida.pdf	01/06/2018 08:42:08	ANE TELES REIS	Aceito																																																																													
Outros	06_Curriculo_Rossana.pdf	01/06/2018 08:40:36	ANE TELES REIS	Aceito																																																																													
Outros	06_Curriculo_Ane.pdf	01/06/2018 08:40:16	ANE TELES REIS	Aceito																																																																													
Outros	00_Carta_Apreciacao_UFC.jpg	01/06/2018 08:37:47	ANE TELES REIS	Aceito																																																																													
Outros	00_Carta_Encami_HUWC2.jpg	01/06/2018 08:36:24	ANE TELES REIS	Aceito																																																																													
Outros	00_Carta_Encami_HUWC1.jpg	01/06/2018 08:35:57	ANE TELES REIS	Aceito																																																																													
Declaração de Instituição e Infraestrutura	05_Autorizacao_setor_pesquisa.jpg	01/06/2018 08:32:54	ANE TELES REIS	Aceito																																																																													
Cronograma	08_CRONOGRAMA.jpg	01/06/2018 08:32:08	ANE TELES REIS	Aceito																																																																													
Outros	09_Declaracao_de_Fiel_Depositario.pdf	01/06/2018 08:31:15	ANE TELES REIS	Aceito																																																																													
Outros	10_Termo_de_compromisso.jpg	01/06/2018 08:30:48	ANE TELES REIS	Aceito																																																																													
Outros	11_Carta_de_anuencia.pdf	01/06/2018 08:30:06	ANE TELES REIS	Aceito																																																																													
Orçamento	04_Orçamento.jpg	01/06/2018 08:28:09	ANE TELES REIS	Aceito																																																																													

 	<p style="font-size: small;">Continuação do Parecer: 2.845.499</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; font-size: x-small;"> <tbody> <tr> <td>Declaração de Pesquisadores</td> <td>07_Declaracao_de_Concordancia.pdf</td> <td>01/06/2018 08:27:12</td> <td>ANE TELES REIS</td> <td>Aceito</td> </tr> <tr> <td>Folha de Rosto</td> <td>01_Folha_de_rosto.pdf</td> <td>01/06/2018 08:26:15</td> <td>ANE TELES REIS</td> <td>Aceito</td> </tr> </tbody> </table>	Declaração de Pesquisadores	07_Declaracao_de_Concordancia.pdf	01/06/2018 08:27:12	ANE TELES REIS	Aceito	Folha de Rosto	01_Folha_de_rosto.pdf	01/06/2018 08:26:15	ANE TELES REIS	Aceito
Declaração de Pesquisadores	07_Declaracao_de_Concordancia.pdf	01/06/2018 08:27:12	ANE TELES REIS	Aceito							
Folha de Rosto	01_Folha_de_rosto.pdf	01/06/2018 08:26:15	ANE TELES REIS	Aceito							
<div style="border: 1px solid black; border-radius: 50%; width: 150px; height: 100px; margin: 0 auto; display: flex; flex-direction: column; align-items: center; justify-content: center; padding: 5px;"> <p><b>Situação do Parecer:</b> Aprovado</p> <p><b>Necessita Apreciação da CONEP:</b> Não</p> </div> <p style="font-size: small;">FORTALEZA, 27 de Agosto de 2018</p> <hr style="width: 20%; margin: 0 auto;"/> <p style="font-size: small; text-align: center;">Assinado por: <b>FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA</b> (Coordenador)</p>											

**ANEXO B – ARTIGO PUBLICADO: *Journal of Medical Microbiology*****Journal of Medical Microbiology*****Malassezia* spp. and *Candida* spp. from patients with psoriasis display reduced susceptibility to antifungals**

Rossana de Aguiar Cordeiro<sup>1§</sup>, Ane Teles Reis<sup>1§</sup>, Xinaida Taligare Vasconcelos Lima<sup>1</sup>, Ana Raquel Colares de Andrade<sup>1</sup>, Ana Luiza Ribeiro Aguiar<sup>1</sup>, Fernando Victor Monteiro Portela<sup>1</sup>, Lívia Maria Galdino Pereira<sup>1</sup>, Santiago Gonçalves Bezerra Moura<sup>1</sup>, Bruno Nascimento da Silva<sup>1</sup>, Reginaldo Gonçalves de Lima-Neto<sup>2</sup>, Raimunda Sâmia Nogueira Brilhante<sup>1</sup>, Débora Castelo-Branco Souza Collares Maia<sup>1</sup>, Marcos Fábio Gadelha Rocha<sup>1,3</sup>, José Júlio Costa Sidrim<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Federal University of Ceará, Brazil

<sup>2</sup> Federal University of Pernambuco, Brazil

<sup>3</sup> State University of Ceará, Brazil

**§ Both authors contributed equally to this work.**

**Keywords:** psoriasis; yeast; mycobiota; antifungal susceptibility

## Abstract

**Introduction.** Psoriasis is chronic inflammatory disease that affects over 125 million people worldwide. Many studies have shown the importance of microbiome for psoriasis exacerbation.

**Aim.** Explore the fungal load and species composition of cultivable yeasts on the skin of psoriatic patients (PP) and healthy volunteers living in a tropical area and evaluate the susceptibility to antifungals.

**Methodology.** A cross sectional study with 61 participants (35 patients and 26 healthy controls) was performed during August 2018 and May 2019. Clinical data were collected from patient interviewing or medical records review. Samples were collected by swabbing in up to five anatomic sites. Suggestive yeast colonies were counted and further identified by phenotypical tests, PCR-REA and MALDI-TOF. Susceptibility of *Malassezia* spp. and *Candida* spp. to azoles, terbinafine and amphotericin B was evaluated by broth microdilution.

**Results.** Nearly 50% of the patients had moderate to severe psoriasis and plaque-type was the most common clinical form. Yeast colonies count was significantly more abundant among PP than healthy controls. *Malassezia* and *Candida* were the most abundant genus detected in all participants. Higher MIC values for ketoconazole and terbinafine were observed in *Malassezia* strains obtained from PP. Approximately 42% of *Candida* isolates from PP showed resistance to itraconazole in contrast to 12.5% of isolates from healthy controls. MIC values for fluconazole and amphotericin B were significant different among *Candida* isolates from PP and healthy individuals.

**Conclusion.** This study showed that *Malassezia* and *Candida* strains from PP presented higher MIC values to widespread antifungal drugs than healthy individuals.

## Introduction

Psoriasis is a chronic inflammatory disease that affects over 125 million people worldwide – approximately 2 to 3% of the global population (1, 2). Scientific evidences attest that psoriasis is a T-cell mediated disease in which the interaction between T lymphocytes and keratinocytes trigger innate and adaptative responses, with up regulation of proinflammatory cytokines (3, 4). Genetic and immunological factors of the host are well related to the pathobiology of the disease. In addition, environmental conditions and allergens from skin microbiota exacerbate the disease: *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*,

*Malassezia* have been repeatedly related to psoriasis (4, 5, 6). *Malassezia* are members of skin mycobiota of human and warm-blooded animals. Since the first description of *M. furfur* in 1889, the taxonomy of the genus have evolved and actually advances in molecular biology techniques have allowed the recognition of 16 species, six of them found exclusively in animals (7). Lipid-dependent *Malassezia* species are found in the infundibulum of sebaceous glands where they can escape local immune response and coexist in a commensal / symbiotic status (7,8). However, under conditions that suppress this equilibrium state, *Malassezia* can act as a truly pathogen causing many diseases, such as pityriasis versicolor, dandruff, folliculitis, seborrheic dermatitis, onychomycosis, otitis, or even exacerbating previous diseases, such as atopic dermatitis and psoriasis (8, 9, 10). The purpose of this study was to explore the fungal load and species composition of cultivable yeast mycoflora on the skin of patients with psoriasis and healthy volunteers living in a tropical area. Antifungal susceptibility of yeast isolates from both patients and controls were also investigated and revealed interesting results.

## **Material and Methods**

### **Subjects**

The study was conducted with patients with psoriasis and healthy individuals attended at the Dermatology Service of Walter Cantídio Teaching Hospital / Federal University of Ceará, Brazil (HUWC / UFC) during August 2018 and May 2019. Patients under 18 years old, with clinically known infectious diseases, chronic inflammatory diseases, other autoimmune diseases and / or immunosuppression were excluded from the study. This cross sectional study included 61 participants categorized into three groups: I. Patients with active psoriasis, but who have not started the treatment or underwent a wash out period of at least four weeks for topic medications or 12 weeks for systemic medications (n=9); II. Patients with active psoriasis despite current topical or systemic treatment (n=26); III. Healthy individuals included patients that attended dermatology clinics for other reasons (n=26). The study was approved by the Ethics Committee of the Federal University of Ceará, Brazil (90710218.5.0000.5054). All subjects gave their written informed consent; details regarding demographic characteristics of all individuals were collected using a questionnaire. Clinical data were collected from patient interviewing or medical records review. Severity of psoriasis was evaluated using Psoriasis Area and Severity Index (PASI) (11).

## **Sample collection**

Samples were collected based on Jagielski *et al.* (12), with adaptations. For each individual, up to five samples from different anatomic body sites were collected. Patients with more than 20 lesions and/or moderate to severe disease had samples collected at five anatomic sites; patients with less than 20 lesions and/or mild disease, as well as healthy individuals, had samples collected in at least two anatomic sites. Samples were chosen from the following areas: head (scalp), intertriginous skin (armpit, gluteus, navel, inframammary skin), upper limbs (arm, forearm, elbow, back, hand, fingernails) and lower limbs (knee, leg, foot). For some patients with psoriasis, samples were also collected from non-affected areas. Skin areas were previously cleaned with sterile gauze embedded with sterile saline. For each anatomic site, a sterile cotton swab soaked with sterile saline was rubbed against a 2 cm<sup>2</sup> skin surface for 15 seconds and immediately spread onto modified Sabouraud agar (mSAB) supplemented with 2% olive oil and 0,5% Tween 80 pH 5.6. The plates were incubated for up to four weeks at 35 °C.

## **Culture conditions and yeast isolation**

Cream colored, smooth and pasty colonies, larger than 1 mm in diameter, suggestive of yeast growth on mSAB were counted using a stereomicroscope. For each anatomic site, one colony suggestive of *Malassezia* spp., *Candida* spp., *Trichosporon* spp. and/or *Rhodotorula* spp. was selected for further identification. Phenotypic identification was carried out by growth on chromogenic medium, Dalmau slide culture on corneal-Tween 80 agar, carbohydrate assimilation and urease test (13). Confirmation of phenotypic identification of *Malassezia* was performed by 26S rDNA-RFLP reaction with *CfoI* (Thermo Fisher Scientific, EUA) and *BstF51* (Thermo Fisher Scientific, EUA), as suggested by Mirhendi *et al.* (14). For the accurate identification, proteomic analysis by MALDI-TOF MS (Autoflex III, Bruker Daltonics Inc., USA / Germany) of all yeast strains were performed. The obtained spectra were compared with the spectra of the Biotyper™ version 3.1 database (Bruker Daltonics, Germany / USA) for yeast identification, considering the identification with score values  $\geq 2$  (15).

## **Antifungal susceptibility of *Malassezia* spp. and *Candida* spp. strains**

Susceptibility of *Malassezia* spp. and *Candida* spp. strains was evaluated by broth microdilution technique according to document M27-A3 (16). Assays were conducted in RPMI 1640

medium buffered with 0.165 M morpholinopropanesulfonic acid (MOPS; Sigma Chemical Co., USA), at pH 7.0 for *Candida* spp. or modified RRPI medium (mRPMI; 2% glucose, 1% peptone, 1% ox bile, 3% olive oil, 0.2% glycerol, 0.5% malt extract, 0.5% yeast extract) for *Malassezia* spp., as suggested by Rojas *et al* (16), with adaptations. The drugs tested were miconazole (MCZ; Sigma Chemical Co., USA), ketoconazole (KTZ; Sigma Chemical Co., USA), fluconazole (FCZ; Merck KGaA, Germany), itraconazole (ITZ; Janssen Pharmaceutica, Belgium), voriconazole (VCZ; Pfizer, USA), terbinafine (TRB; Sigma Chemical Co., USA) and amphotericin B (AMB; Sigma Chemical Co., USA). The concentrations tested ranged from 0.03 to 16 µg/mL for all drugs, except to FCZ, which ranged from 0.125 to 64 µg /mL. For *Malassezia* spp., inoculum suspensions were prepared in sterile saline with 0.5% Tween 80 from 5-day cultures grown on mSAB at 32 °C. Suspensions were vigorously vortexed for dispersing cell clumps, then inoculum was adjusted spectrophotometrically at 530 nm to 2 McFarland standard and further validated by colony counts on mSAB medium ( $10^6$  UFC/mL). Inoculum suspensions were diluted 1:100 in mRPMI to reach cell density of approximately  $0.5$  to  $2.5 \times 10^3$  UFC / mL. Plates were incubated at 32 °C and inspected for fungal growth daily for 72h (17). Minimum inhibitory concentrations (MIC) of azoles and TRB were defined as the lowest concentrations capable of inhibiting fungal growth by 50%, when compared to drug-free growth control; for AMB, MIC was defined as the lowest concentration able to inhibit fungal growth completely. All tests were performed in duplicate and *Candida parapsilosis* ATCC 22019 and *C. krusei* ATCC 6258 were included as quality control for each assay. This study adopted the interpretative breakpoints established in CLSI documents (16) for *Candida albicans*: for FLC, isolates with MIC  $\leq 2$  µg/mL were considered susceptible, and  $\geq 8$  µg/mL were considered resistant. For ITZ and VCZ, isolates with MIC  $\leq 0.125$  were classified as susceptible and  $\geq 1$  µg/mL as resistant. Regarding AMB, isolates with MIC  $> 1$  µg /mL were considered resistant. Parameters for MCZ, KTC and TRB were not established by CLSI (16).

### Statistical analysis

Differences on the frequencies of fungal isolation among patients and healthy individuals were analyzed by Qui-square and exact Fisher test (IBM SPSS, version 20, EUA). The unpaired t-test was used to analyze antifungal sensitivity. P value  $< 0.05$  was considered significant. Geometric mean and standard deviation for continuous variables, absolute and relative frequencies of categorical variables of clinical and epidemiological data were also

calculated.

## Results

### Clinical and epidemiological data

Regarding patients with psoriasis, 40% were female (n=14) and 60% were male (n=21); patients from Group I were significantly younger (36.7 years  $\pm$  14.4) than those from Group II (47.7 years  $\pm$  15.2). The most common clinical presentation was plaque- type psoriasis (85.71%), followed by pustular (5.71%). Flexural, guttate psoriasis and erythroderma were each represented by one patient. Nearly half of the patients with psoriasis (48.58%) had moderate to severe disease (PASI  $\geq$  10). In terms of treatment, 13 (50%) of patients on group II received phototherapy plus topical treatment (keratolytic agents and /or topical corticosteroids); remaining 13 (50%) received systemic therapy (corticosteroids and /or immunobiologics). Clinical and epidemiological information concerning to each group of participants is shown in Table 1. Details regarding each participant are shown in supplementary material (Tables S1. S2) Of the 35 patients, 97.4% reported aggravating factors for psoriasis. Most patients from both groups reported stress as an aggravating factor (87.5%). Other aggravating factors and comorbidities including smoking, alcohol abuse, positive family history of psoriasis and diabetes were less common (Table 2). Pruritus was a more prominent symptom in patients from Group I with pustular psoriasis (22.2%).

### Mycological studies

A total of 3,924 yeast colonies were obtained from clinical samples, being significantly more abundant among patients (n=2,644) than in healthy controls (n=1,300) ( $p < 0.05$ ). In patients with psoriasis, higher yeast counts were observed in the upper limbs (47.04%; 1,244/2,644 cfu); lower counts were seen in the lower limbs (4.72%; 125/2,644). With regard to control individuals, the areas with the highest yeast counts were intertriginous skin and upper limbs (42.15%; 548/1,300 cfu for both sites); the areas with the lowest counts were the lower limbs (2.46%; 32/1,300 cfu). Details regarding the number and percentages of positive sites, as well as yeast counting are shown in Table 3.

Based on conventional, molecular e proteomic approaches, a total of 23 yeast isolates were identified as follows: *Malassezia furfur* (n=3), *Candida orthopsilosis* (n=1), *C. parapsilosis*

(n=16), *Candida haemulonii* (n=2), *Trichosporum coremiforme* (n=1). Table 4 details identification of each fungal isolate, presenting their origin per anatomical sites and population groups investigated. *Malassezia* was isolated from 62.9% (22/35) of patients with psoriasis and from 61.53% (15/26) of healthy individuals. On the other hand, *Candida* was isolated from 45.71% (16/36) of psoriasis cases and from 76.92% (20/26) of healthy controls ( $p<0.05$ ) (Table 5).

Modified RPMI medium allowed abundant *Malassezia* growth after 72h of incubation. Variations in MIC values of all antifungals were observed in *Malassezia* strains from both patients and control groups. Higher MIC values for KTC and TRB were observed in *Malassezia* strains obtained from patients; poor susceptibility to FCZ, ITZ and VCZ was observed in 80%, 20% and 65%, respectively of *Malassezia* strains obtained from psoriatic patients ( $p<0.05$ ). All *Malassezia* strains were able to grow in the presence of AMB  $> 1 \mu\text{g/mL}$ . Table 6 shows in absolute frequency the number of isolated *Malassezia* strains according to MIC value obtained. Most of *Candida* isolates from both psoriatic patients and healthy individuals showed susceptibility to antifungals, except for ITZ: 42.1% (8/19) of *Candida* isolates from psoriatic patients showed resistance to this drug, in contrast to 12.5% (1/8) of isolates from healthy controls. MIC values for FCZ and AMB were significant different ( $p<0.05$ ) among *Candida* isolates from psoriatic patients and healthy individuals (Table 7).

## Discussion

In this study, nearly half of the patients had moderate to severe psoriasis and the majority of them presented plaque-type psoriasis (85.71%) –the most common clinical form of the disease (18). The majority of patients reported stress as an aggravating factor for psoriasis exacerbation. In fact, it is well known that stressful situations / psychological stress can modulate immunological responses and, probably, an abnormal neuroendocrine response to stress may contribute to the pathogenesis of chronic inflammatory diseases (19).

Current studies suggest that *Malassezia* skin colonization has a secondary role in psoriasis, mainly as exacerbating factor (8). It is believed that *Malassezia* can increase the inflammatory response in psoriasis by either of the following mechanisms:

(a) damage of the epidermal barrier function by lipases and phospholipases; (b) increase in the local immune response by invading keratinocytes and modifying the cytokines synthesis, as keratinocytes can produce both pro-inflammatory (such as IL-6, IL-8 and TNF- $\alpha$ ) and anti-inflammatory (IL-4, IL-10) cytokines after stimulation with *Malassezia* cells; and (c)

sensitization to *Malassezia* antigens, such as pityriarubins and indirubin - ligands of the aryl hydrocarbon receptor in human cells (3, 8).

Nevertheless, the role of *Malassezia* in psoriasis is difficult to prove. Divergent methodologies for selection of the study population and distinct *Malassezia* recovery tests (culture-based versus independent culture-based techniques) lead to ambivalent results: studies have pointed *M. globosa*, *M. furfur*, *M. sympodialis* or *M. restricta* as the predominant species in psoriatic patients (3). Additionally, divergences regarding abundance of *Malassezia* in psoriatic patients and healthy individuals have been reported (6, 21, 22).

In the present study, higher fungal load was observed in psoriatic patients in comparison with healthy controls. Different results were obtained in the seminal study performed by Gupta *et al.* (23), after analysis of cfu counting in 28 psoriatic patients and 20 healthy individuals, which revealed significant higher counts on the scalp, forehead and trunk. Possibly, differences in sampling procedures in both studies (swabbing versus contact plate) may account for these contradictory results.

Despite the differences in fungal load, patients and healthy individuals displayed similar frequencies of isolation of *Malassezia* (62.9% in patients versus 61.53% in controls). Analogous results were found by Gupta *et al.* (23) and Rudramurthy *et al.* (5), which reported similar isolation rate of *Malassezia* among psoriatic patients and controls. On the contrary, Gomez-Moyano *et al.* (21) found a significant difference in *Malassezia* frequency in samples taken from scalp skin of psoriatic patients (85%) in comparison with samples from healthy subjects (50%). In face of all these controversies, it is accepted that the scientific available data do not attest differing levels of *Malassezia* in psoriatic patients (24).

In the present study *Candida* species were less frequent in psoriatic patients (45.71%) than healthy individuals (76.92%). Until now, few studies have evaluated the frequency of *Candida* colonization on the skin of psoriatic patients (24, 25, 26). Among them, only one study (27) described significant difference in the frequency of colonization on the skin of psoriatic patients (15%) in comparison with healthy controls (4%). However, a meta-analysis with nine cross-sectional studies concluded that psoriatic patients and healthy controls did not differ significantly in the rate of *Candida* spp. colonization on the skin, although patients showed higher detection rates of *Candida* on mucosal membranes (28). Possibly, antimicrobial peptides / proteins of the human skin, such as Calprotectin and Dermcidin, which exhibits fungistatic activity and are highly expressed in psoriatic lesions (29), may suppress *C. albicans* density on the skin of psoriatic patients. The hypothesis that *Malassezia* density may not be reduced by these antimicrobial peptides / proteins has been suggested by other authors (5).

Although there is no available standardised protocol for susceptibility testing of lipid-dependent *Malassezia* species, some studies have been conducted with agar- diffusion or broth microdilution methodologies (17, 20, 30, 31). However, variations regarding medium composition, inoculum size, incubation time, and MIC endpoints hinder comparisons among such studies. Overall, variations in susceptibility to azoles and TRB have been described; resistance to AMB is common in clinical *Malassezia* strains (4, 17, 30, 31), but the susceptibility pattern of *Malassezia* strains from psoriatic patients is unknown. Data obtained in our study showed that *Malassezia* strains from patients presented higher MIC values against KTZ and TRB than those obtained towards healthy controls; resistance to AMB was observed in all *Malassezia* isolates from both patients and controls. Previous studies have already described high variability of MIC for *Malassezia* against antifungals (32, 33).

In addition, our results showed that *Candida* strains from psoriasis patients presented higher MIC values to FCZ in comparison with isolates obtained from controls. Although the antifungal susceptibility pattern of *Candida* from psoriasis patients is unknown, we believe that this result might have some clinical relevance as FCZ has widespread prophylactic and therapeutic use, including on psoriatic patients, and acquired resistance to FCZ by *Candida* has already been reported (34).

The importance of mycobiota in exacerbation of psoriasis has already been demonstrated. However, the presented data did not show a correlation between severity of psoriasis and fungal density on skin. Nevertheless this study showed that *Malassezia* and *Candida* strains from psoriatic patients presented higher MIC values to widespread antifungals than healthy individuals. Further studies should evaluate the clinical significance of this finding.

### **Conflict of interest**

None to declare

**Financial disclosure:** This work was supported by CNPq (*National Council for Scientific and Technological Development, Brazil*). Process number process 430193/2018-1).

## References

1. **Griffiths CE, van de Kerkhof P, Czarnecka-Operacz M.** Psoriasis and Atopic Dermatitis. *Dermatology and Therapy*, v. 7, p. 31, 2017.
2. **Griffiths CEM, Van der Walt JM, Ashcroft DM, Flohr C, Naldi L, Nijsten T, Augustin M.** The global state of psoriasis disease epidemiology: a workshop report. *British Journal of Dermatology*, v. 177, n. 1, p. e4-e7, 2017. doi.org/10.1111/bjd.15610.
3. **Prohić A.** Psoriasis and *Malassezia* Yeasts. *Psoriasis – A Systemic Disease*, p. 89, 2012.
4. **Tett A, Pasoli E, Farina S, Truong DT, Asnicar F, Zolfo M, et al.** Unexplored diversity and strain-level structure of the skin microbiome associated with psoriasis. *NPJ biofilms and microbiomes*, v. 3, n. 1, p. 1-12, 2017.
5. **Rudramurthy SM, Honnavar P, Chakrabarti A, Dogra S, Singh P, Handa S.** Association of *Malassezia* species with psoriatic lesions. *Mycoses*, v. 57, n. 8, p. 483-488, 2014. doi.org/10.1111/myc.12186.
6. **Loesche MA, Farahi K, Capone K, Fakharzadeh S, Blauvelt A, Duffin KC, et al.** Longitudinal study of the psoriasis-associated skin microbiome during therapy with ustekinumab in a randomized phase 3b clinical trial. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 138, n. 9, p. 1973-1981, 2018. doi.org/10.1016/j.jid.2018.03.1501.
7. **Lima-Neto RG, Macêdo DPC, Carvalho AMR, Silva AM, Neves RP.** *Malassezia. Pocket guide to mycological diagnosis*. CRC Press, 2019.
8. **Gaitanis G, Velegraki A, Mayser P, Bassukas ID.** Skin diseases associated with *Malassezia* yeasts: facts and controversies. *Clinics in dermatology*, v. 31, n. 4, p. 455-463, 2013. doi.org/10.1016/j.clindermatol.2013.01.012.
9. **Gao Z, Tseng CH, Strober BE, Pei Z, Blaser MJ.** Substantial alterations of the cutaneous bacterial biota in psoriatic lesions. *PloS one*, v. 3, n. 7, 2008. doi: 10.1371 / journal.pone.0002719.

10. **Grice EA, Dawson TL.** Host–microbe interactions: *Malassezia* and human skin. *Current opinion in microbiology*, v. 40, p. 81-87, 2017. doi.org/10.1016/j.mib.2017.10.024.
11. **Naldi L, Gambini D.** The clinical spectrum of psoriasis. *Clinics in dermatology*, v. 25, n. 6, p. 510-518, 2007. doi.org/10.1016/j.clindermatol.2007.08.003.
12. **Jagielski T, Rup E, Ziolkowska A, Roeske K, Macura AB, Bielecki J.** Distribution of *Malassezia* species on the skin of patients with atopic dermatitis, psoriasis, and healthy volunteers assessed by conventional and molecular identification methods. *BMC dermatology*, v. 14, n. 1, p. 3, 2014. doi.org/10.1186/1471-5945-14-3.
13. **De Hoog GS, Guarro J, Gené J, Figueras MJ.** *Atlas of clinical fungi*. Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS), 2000.
14. **Mirhendi H, Makimura K, Zomorodian K, Yamada T, Sugita T, Yamaguchi H.** A simple PCR-RFLP method for identification and differentiation of 11 *Malassezia* species. *Journal of microbiological methods*, v. 61, n. 2, p. 281-284, 2005. doi.org/10.1016/j.mimet.2004.11.016.
15. **Lima-Neto R, Santos C, Lima N, Sampaio P, Pais C, Neves RP.** Application of MALDI-TOF MS for requalification of a *Candida* clinical isolates culture collection. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 45, n. 2, p. 515-522, 2014. doi.org/10.1590/S1517-83822014005000044.
16. **CLSI Document M27-A3.** Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard—third edition. 2008.
17. **Rojas FD, Córdoba SB, de Los Ángeles Sosa M, Zalazar LC, Fernández MS, Cattana ME et al.** Antifungal susceptibility testing of *Malassezia* yeast: comparison of two different methodologies. *Mycoses*, v. 60, n. 2, p. 104-111, 2016. doi.org/10.1111/myc.12556.
18. **Nestle FO, Kaplan DH, Schon MP.** Barker J: Psoriasis. *N Engl J Med*, v. 361, n. 17, p. 496-509, 2009.

19. **Zunszain PA, Anacker C, Cattaneo A, Carvalho LA, Pariante CM.** Glucocorticoids, cytokines and brain abnormalities in depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, v. 35, n. 3, p. 722-729, 2011.
20. **Rojas FD, Sosa MDLA, Fernandez MS, Cattana ME, Cordoba SB, Giusiano GE.** Antifungal susceptibility of *Malassezia furfur*, *Malassezia sympodialis*, and *Malassezia globosa* to azole drugs and amphotericin B evaluated using a broth microdilution method. *Medical Mycology*, v. 52, n. 6, p. 641-646, 2014. doi.org/10.1093/mmy/myu010.
21. **Gomez-Moyano E, Crespo-Erchiga V, Martínez-Pilar L, Diaz DG, Martínez-García S, Navarro ML, Casaño AV.** Do *Malassezia* species play a role in exacerbation of scalp psoriasis? *Journal de mycologie medicale*, v. 24, n. 2, p. 87-92, 2014. doi.org/10.1016/j.mycmed.2013.10.007.
22. **Takemoto A, Cho O, Morohoshi Y, Sugita, T, Muto M.** Molecular characterization of the skin fungal microbiome in patients with psoriasis. *The Journal of dermatology*, v. 42, n. 2, p. 166-170, 2014. doi.org/10.1111/1346- 8138.12739.
23. **Gupta AK, Kohli Y, Summerbell RC.** Molecular Differentiation of Seven *Malassezia* Species. *Journal of clinical microbiology*, v. 38, n. 5, p. 1869-1875, 2000.
24. **Lewis DJ, Chan WH, Hinojosa T, Hsu S, Feldman SR.** Mechanisms of microbial pathogenesis and the role of the skin microbiome in psoriasis: A review. *Clinics in dermatology*, v. 37, n. 2, p. 160-166, 2019. doi.org/10.1016/j.clindermatol.2019.01.011.
25. **Flytsröm I, Bergbrant IM, Brared J, Brandberg LL.** Microorganisms in intertriginous psoriasis: no evidence of *Candida*. *Acta dermato-venereologica*, v. 83, n. 2, 2003.
26. **Leibovici V, Alkalay R, Hershko K, Ingber A, Westerman M, Leviatan- Strauss N, Hochberg M.** Prevalence of *Candida* on the tongue and intertriginous areas of psoriatic and atopic dermatitis patients. *Mycoses*, v. 51, n. 1, p. 63-66, 2008. doi.org/10.1111/j.1439-0507.2007.01443.x

27. **Sarvtin MT, Shokohi T, Hajheydari Z, Yazdani J, Hedayati MT.** Evaluation of candidal colonization and specific humoral responses against *Candida albicans* in patients with psoriasis. *International journal of dermatology*, v. 53, n. 12, p. e555-e560, 2014.
28. **Pietrzak A, Grywalska E, Socha M, Roliński J, Franciszkiewicz-Pietrzak K, Rudnicka L, et al.** Prevalence and possible role of *Candida* species in patients with psoriasis: A systematic review and meta-analysis. *Mediators of inflammation*, v. 2018, 2018. doi.org/10.1155/2018/9602362.
29. **Niyonsaba F, Kiatsurayanon C, Chieosilapatham P, Ogawa H.** Friends or Foes? Host defense (antimicrobial) peptides and proteins in human skin diseases. *Experimental dermatology*, v. 26, n. 11, p. 989-998, 2017. doi.org/10.1111/exd.13314.
30. **Pedrosa AF, Lisboa C, Branco J, Almeida AC, Mendes C, Pellevoisin C, et al.** *Malassezia* colonisation on a reconstructed human epidermis: Imaging studies. *Mycoses*, v. 62, n. 12, p. 1194-1201, 2019. doi.org/10.1111/myc.13011.
31. **Iatta R, Immediato D, Montagna MT, Otranto D, Cafarchia C.** *In vitro* activity of two amphotericin B formulations against *Malassezia furfur* strains recovered from patients with bloodstream infections. *Medical mycology*, v. 53, n. 3, p. 269-274, 2015. doi.org/10.1093/mmy/myu089.
32. **Carrillo-Muñoz AJ, Rojas F, Tur-Tur C, de Los Ángeles Sosa M, Diez GO, Espada CM, et al.** *In vitro* antifungal activity of topical and systemic antifungal drugs against *Malassezia* species. *Mycoses*, v. 56, n. 5, p. 571-575, 2013. doi.org/10.1111/myc.12076.
33. **Velegraki A, Cafarchia C, Gaitanis G, Iatta R, Boekhout T.** *Malassezia* infections in humans and animals: pathophysiology, detection, and treatment. *PLoS pathogens*, v. 11, n. 1, 2015.
34. **Berkow EL, Lockhart SR.** Fluconazole resistance in *Candida* species: a current perspective. *Infection and drug resistance*, v. 10, p. 237, 2017. doi: 10.2147 / IDR.S118892.

Table 1. Main clinical characteristics of patients investigated in this study.

Groups (n)	Age <sup>δ</sup>	Gender n (%)		Clinical forms n (%)					Severity* n (%)		Treatment n (%)		
		Female	Male	Plaque- type	Erythroderma	Pustular	Inverse	Guttate	Mild	Moderate to severe	W/T	PH+ TP	SYS
<b>I</b> (9)	36.7 ± 14.4	4 (44.4)	5 (55.6)	7 (77.8)	0	2 (22.2)	0	0	3 (42.8)	4 (57.2)	9 (100)	0	0
<b>II</b> (26)	47.7 ± 15.2	10 (38.5)	16 (61.5)	23 (88.5)	1 (3.8)	0	1 (3.8)	1 (3.8)	13 (50)	13 (50)	0	13 (50)	13 (50)
<b>III</b> (26)	54.3 ± 14.4	12 (46.2)	14 (53.8)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

<sup>δ</sup> Age (years): mean ± standard deviation; \* measured by

PASI n/a: not applicable

PASI: Psoriasis Area and Severity Index; BSA: Body Surface Area Index

Mild psoriasis: limited disease with PASI ≤10; moderate to severe psoriasis: PASI >10 (Naldi & Gambini, 2007)

W/T: without treatment; PH: phototherapy; TP: topic treatment; SYS: systemic treatment

**Table 2.** Self-reported aggravating factors and/or comorbidities for psoriasis.

<b>Factors and comorbidities n (%)</b>					
<b>Groups (n)</b>	<b>Emotional</b>	<b>Stress</b>	<b>Diabetes</b>	<b>Smoking/ Alcohol</b>	<b>Family history</b>
<b>I (9)</b>	7 (87.5)	7 (87.5)	2 (22.2)	1 (11.1)	3 (33.3)
<b>II (26)</b>	22 (88)	21 (87.5)	4 (15.4)	3 (11.5)	7 (26.9)

**Table 3.** Fungal load from psoriatic patients and controls.

Groups (n)	Investigated areas							
	Head		Intertriginous		Upper limbs		Lower limbs	
	n <sup>a</sup> (%)	CF U	n <sup>a</sup> (%)	CFU	n <sup>a</sup> (%)	CFU	n <sup>a</sup> (%)	CFU
<b>I + II</b> (35)	23/34 (67.6)	501	17/26 (65.4)	774	16/32 (50)	1244	6/ 10 (66.7)	125
<b>III</b> (26)	15/26 (60)	172	18/24 (75)	548	14/ 22 (63.6)	548	3/ 7 (33.3)	32

n<sup>a</sup> number of positive sites / total of investigated

sites CFU: counting forming units

**Table 4.** Yeast isolation in psoriatic patients and controls. For each anatomic site, one colony suggestive of *Malassezia* spp., *Candida* spp., *Trichosporon* spp. and/or *Rhodotorula* spp. was counted.

Groups (n)	Colony-forming units			
	<i>Malassezia</i>	<i>Candida</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>Trichosporon</i>
<b>I + II</b> (35)	22 (62.9)	16 (45.7)	1 (2.9)	6 (17.1)
<b>III</b> (26)	16 (61.5)	20 (76.9)*	5 (19.2)	10 (38.5)

\* p<0.05

**Table 5.** Distribution of yeasts isolated in untreated patients (Group I), treated patients (Group II) and healthy individuals (Group III) and their occurrence regarding the anatomical site. Numbers in parentheses indicate the quantity of positive individuals for each fungal species.

Investigated áreas	Group I	Group II	Group III
<b>Head</b>	<i>Malassezia</i> spp. (1) <i>C. orthopsilosis</i> (1) <i>C. parapsilosis</i> (1)	<i>Malassezia</i> spp. (4) <i>C. parapsilosis</i> (2) <i>C. haemulonii</i> (1) <i>Candida</i> spp. (1) <i>Trichosporon</i> spp. (1)	<i>Malassezia</i> spp. (4) <i>M. furfur</i> (1) <i>C. parapsilosis</i> (2) <i>Candida</i> spp. (1) <i>Rhodotorula</i> spp. (1) <i>Trichosporon</i> spp. (2)
<b>Intertriginous</b>	<i>Malassezia</i> spp. (4)	<i>Malassezia</i> spp. (4) <i>Candida</i> spp. (4) <i>C. parapsilosis</i> (1) <i>Rhodotorula</i> spp. (1) <i>Trichosporon</i> spp. (1)	<i>Malassezia</i> spp. (8) <i>Candida</i> spp. (7) <i>M. furfur</i> (1) <i>C. parapsilosis</i> (4) <i>T. coremiforme</i> (1) <i>Rhodotorula</i> spp. (2) <i>Trichosporon</i> spp. (3)
<b>Upper limbs</b>	<i>Malassezia</i> spp. (2) <i>C. parapsilosis</i> (3) <i>Trichosporon</i> spp. (2)	<i>Malassezia</i> spp. (9) <i>C. parapsilosis</i> (1) <i>Trichosporon</i> spp. (1)	<i>Candida</i> spp. (5) <i>Malassezia</i> spp. (4) <i>M. furfur</i> (1) <i>C. haemuloni</i> (1) <i>Rhodotorula</i> spp. (2) <i>Trichosporon</i> spp. (4)
<b>Lower limbs</b>	<i>C. parapsilosis</i> (1) <i>Trichosporon</i> spp. (1)	<i>Malassezia</i> spp. (4) <i>C. parapsilosis</i> (1)	<i>Malassezia</i> spp. (3)

**Table 6.** Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of antifungals against *Malassezia* spp. from patients with psoriasis and control subjects. Information in parentheses indicate the number of positive individuals for each fungal species. Results are shown in µg/mL.

ATF	Patients (Groups I and II)				Healthy individuals (Group III)			
	MIC (n)	Geometric mean ±SD	S	R	MIC (n)	Geometric mean ±SD	S	R
MCZ	0.5 (3)	6.20 ± 6.42	n/a	n/a	0.25 (1)	3.82 ± 7.09	n/a	n/a
	2.0 (2)				0.5 (2)			
	8.0 (5)				1.0 (1)			
	16.0 (9)				2.0 (1)			
	>16.0 (1)				4.0 (4)			
KTZ	0.06 (1)	0.29 ± 0.74*	n/a	n/a	0.03 (6)	0.097 ± 0.27	n/a	n/a
	0.125 (10)				0.125 (6) 0.5			
	0.25 (1)				(2) 1.0 (1)			
	0.5 (4)							
	2.0 (4)							
FCZ	4.0 (4)	18.38 ± 17.30	0	16	4.0 (5)	12.70 ± 26.12	0	10
	16.0 (6)				8.0 (4)			
	32.0 (8)				16.0 (1)			
	64.0 (2)				32.0 (1)			
					64.0 (4)			
ITZ	0.03 (8)	0.22 ± 0.47	16	4	0.03 (9)	0.03 ± 0.01	15	0
	0.06 (7)				0.06 (6)			
	0.125 (1)							
	0.5 (2) 1.0							
	(1) 2.0 (1)							
VCZ	0.03 (3)	0.23 ± 0.61	7	13	0.03 (4)	0.47 ± 0.69	10	5
	0.06 (3)				0.06 (1)			
	0.125 (1)				0.125 (5)			
	0.25 (6) 0.5				0.25 (1) 1.0			
	(1) 1.0 (4)				(2) 2.0 (2)			
2.0 (2)								
TRB	2.0 (5)	4.60 ± 4.16*	n/a	n/a	0.5 (7)	1.51 ± 4.58	n/a	n/a
	4.0 (8)				1.0 (2)			
	8.0 (5)				2.0 (1)			
	16.0 (2)				4.0 (1)			
					8.0 (3)			
AMB	8.0 (4)	11.31 ± 4.27	0	20	2.0 (1)	8.0 ± 6.0	0	15
	16.0 (4)				4.0 (2)			
	>16.0 (12)				8.0 (2)			
					16.0 (4)			
					>16.0 (6)			

n: number of strains; n/a: not available \*p<0.05; SD:standard deviation. ATF: antifungal; MCZ: miconazole, KTZ: ketoconazole, FCZ: fluconazole; ITZ: itraconazole; VCZ: voriconazole; TRB: terbinafine; AMB: amphotericin B.

**Table 7.** Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of antifungals against *Candida* spp. from patients with psoriasis and control subjects. Information in parentheses indicate the number of positive individuals for each fungal species. Results are shown in µg/mL.

ATF	Patients (Groups I and II)				Healthy individuals (Group III)			
	MIC (n)	Geometric mean ±SD	S	R	MIC (n)	Geometric mean ±SD	S	R
MCZ	0.03 (1)	0.18 ± 0.23	n/a	n/a	0.03 (2)	0.13 ± 0.15	n/a	n/a
	0.06 (6)							
	0.125 (8)							
	0.25 (2)							
	1.0 (1)							
	0.5 (1)							
KTZ	0.03 (16)	0.04 ± 0.05	n/a	n/a	0.03 (6)	0.04 ± 0.01	n/a	n/a
	0.06 (2)							
	0.25 (1)							
FCZ	0.25 (7)	0.80 ± 0.62*	19	0	0.125 (1)	0.30 ± 0.13	8	0
	0.5 (3)							
	1.0 (6)							
	2.0 (3)							
	0.25 (5) 0.5 (2)							
ITZ	0.03 (5)	0.15 ± 0.12	11	8	0.03 (2)	0.11 ± 0.07	7	1
	0.125 (6)							
	0.25 (5)							
	0.5 (1)							
	0.06 (2)							
VCZ	0.03 (13)	0.06 ± 0.11	18	1	0.03 (8)	0.03 ± 0.0	8	0
	0.06 (5)							
	0.5 (1)							
TRB	0.03 (3)	1.05 ± 3.65	n/a	n/a	0.03 (1)	0.12 ± 0.09	n/a	n/a
	0.06 (5)							
	0.125 (6)							
	0.25 (3)							
	2.0 (1)							
	16.0 (1)							
AMB	0.06 (2)	0.36 ± 0.42*	18	1	0.125 (1)	0.48 ± 0.25	7	1
	0.125 (1)							
	0.25 (12)							
	0.5 (3)							
	2.0 (1)							

n: number of strains

n/a: not available

\*p<0.05

SD: standard deviation

ATF: antifungal; MCZ: miconazole, KTZ: ketoconazole, FCZ: fluconazole; ITZ: itraconazole; VCZ: voriconazole; TRB: terbinafine; AMB: amphotericin B.

*Candida parapsilosis* ATCC 22019 MIC values: MCZ 0.125 µg/mL; KTZ 0.03 µg/mL; FLC 1 µg/mL; ITZ 0.25 µg/mL; VCZ 0.03 µg/mL; TRB 0.125 µg/mL; AMB 0.5 µg/mL.

*C. krusei* ATCC 6258 MIC values: MCZ 0.25 µg/mL; KTZ 0.25 µg/mL; FLC 8 µg/mL; ITZ 0.25 µg/mL; VCZ 0.06 µg/mL; TRB 0.5 µg/mL; AMB 0.5 µg/mL.

Table S1. Detailed information regarding patients with psoriasis investigated in the present study.

Patient <sup>a</sup>	Subject group <sup>b</sup>	Investigated body sites	Sex <sup>c</sup>	Age	Lesion severity <sup>d</sup>	Disease onset	Treatment <sup>e</sup>	Family history of disease	Other diseases <sup>f</sup>	Identification <sup>g</sup>
1	I	Scalp, thigh, armpit	F	21	N/A	2012	N/A	No	No	<i>C. orthopsilosis</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>Trichosporon</i> spp.
2	I	Scalp, navel, forearm, gluteus	M	21	>10	2004	N/A	No	No	Neg
3	II	Scalp, armpit, elbow, fingernail	M	49	>10	1990	T, S	No	D, Db, H	<i>Malassezia</i> spp.
4	I	Scalp, elbow, inframammary, navel, fingernail	F	64	N/A	2000	N/A	Yes	No	<i>Malassezia</i> spp. <i>Candida</i> spp.
6	II	Scalp, elbow, armpit, fingernail	M	42	<10	2013	T, P	No	No	<i>Rhodotorula</i> spp.
7	II	Scalp, elbow, fingernail, gluteus	M	44	>10	1994	T, S	No	D	Neg
8	I	Scalp, ear, gluteus, knee	F	30	<10	2017	N/A	No	No	<i>Malassezia</i> spp.
9	I	Scalp, navel, back, arms	M	26	<10	2018	N/A	No	H	<i>C. parapsilosis</i> <i>Malassezia</i> spp. <i>Trichosporon</i> spp.
10	II	Scalp, back, elbow, inframammary	F	70	>10	2011	S	Yes	Db	<i>C. haemulonii</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>Malassezia</i> spp. <i>Trichosporon</i> spp.
11	II	Scalp, elbow, armpit, gluteus	M	51	<10	2015	T, S	No	H	<i>Malassezia</i> spp. <i>Candida</i> spp.
12	I	Scalp, elbow, navel, gluteus	M	41	>10	2011	N/A	No	No	<i>Malassezia</i> spp.

13	II	Scalp, armpit, back, arm, leg	M	27	>10	2017	T	No	Db	<i>Malassezia</i> spp. <i>Candida</i> spp.
14	II	Scalp, arm, inframammary, back, elbow	M	61	>10	2017	T	No	No	<i>Malassezia</i> spp. <i>Candida</i> spp.
15	II	Scalp, inframammary, elbow, gluteus	F	31	>10	2010	T	No	No	<i>Malassezia</i> spp.
16	II	Scalp, arm	M	61	<10	2014	T, S	No	Db, H	<i>Malassezia</i> spp.
17	II	Scalp, arm	M	66	<10	2015	T, S	Yes	No	<i>Candida</i> spp.
18	II	Scalp, navel, back, arm	M	29	N/A	2014	T, S	No	H	Neg
19	II	Scalp, arm	F	46	<10	1998	S	No	No	<i>Malassezia</i> spp.
20	II	Scalp, arm inframammary,	F	37	<10	2010	S	No	No	<i>Malassezia</i> spp.
21	II	Scalp, back, inframammary	M	37	>10	2007	T	Yes	No	<i>Malassezia</i> spp.
22	II	Scalp, elbow, gluteus, fingernail	M	46	>10	2016	T, S	No	No	<i>Malassezia</i> spp.
23	II	Arm, hand, foot	M	57	<10	2017	T	No	No	<i>C. parapsilosis</i> <i>Malassezia</i> spp.
24	II	Scalp, back, inframammary, arm	F	31	>10	1990	T	Yes	Db	<i>C. parapsilosis</i> <i>Malassezia</i> spp. <i>Candida</i> spp.
26	I	Scalp, elbow, leg	M	52	<10	2016	N/A	Yes	H	<i>C. parapsilosis</i>
27	II	Scalp, arm, leg	F	57	<10	1990	T, S	Yes	No	Neg
28	II	Scalp, back, inframammary, gluteus	F	36	>10	2016	T	Yes	No	Neg
29	II	Scalp, back, inframammary, leg	M	23	>10	2013	T	No	Db	Neg
30	II	Scalp, elbow, back, inframammary	M	60	>10	2010	T, S	No	No	<i>Malassezia</i> spp. <i>Candida</i> spp.
31	II	Scalp, knee	F	67	<10	2014	T, S	No	No	<i>Candida</i> spp.
32	II	Scalp, knee, arm	M	65	<10	2017	T	No	D	<i>Malassezia</i> spp.

33	I	Scalp, back, gluteus, leg	F	35	<10	2010	N/A	Yes	No	<i>Malassezia</i> spp.
34	II	Scalp, back, inframammary	M	54	>10	2016	T	No	No	Neg
35	I	Scalp, back, inframammary, gluteus	M	41	>10	2017	N/A	No	H	<i>Candida</i> spp. <i>Trichosporon</i> spp.
36	II	Scalp, armpit, inframammary, fingernail	F	72	<10	2018	T	No	No	<i>C. parapsilosis</i> <i>Malassezia</i> spp. <i>Trichosporon</i> spp.
37	II	Scalp, back, inframammary, gluteus	F	23	N/A	2010	T	Yes	No	<i>Malassezia</i> spp. <i>Candida</i> spp. <i>Trichosporon</i> spp.

N/A: not applicable

Neg: negative (no fungal growth)

<sup>a</sup> Identification number

<sup>b</sup> I. Patients with active psoriasis, but who have not started the treatment or underwent a wash out period of at least four weeks for topical medications or 12 weeks for systemic medications; II Patients with active psoriasis despite current topical or systemic treatment

<sup>c</sup> M, male; F, female.

<sup>d</sup> The PASI index values in psoriatic patients. Mild psoriasis: limited disease with PASI ≤10; moderate to severe psoriasis: PASI >10 (Naldi & Gambini, 2007)

<sup>e</sup> T, topical treatment for patients with psoriasis (keratolytic agents and /or topical corticosteroids); P, phototherapy; S, systemic therapy (corticosteroids and /or immunobiologics)

<sup>f</sup> Based on patient interviewing: D, depression; Db, diabetes; H, hypertension

<sup>g</sup> Species and gender identification results, based upon integration of conventional and molecular data

Table S2. Detailed information regarding healthy individuals enrolled in the present study

Controls <sup>a</sup>	Investigated body sites	Sex <sup>b</sup>	Age	Identification <sup>c</sup>
101	Scalp, back, arm inframammary	M	25	<i>C. parapsilosis</i> <i>Malassezia</i> spp.
102	Scalp, back, armpit, inframammary	F	39	<i>C. parapsilosis</i> <i>Malassezia</i> spp. <i>Rhodotorula</i> spp.
103	Scalp, back, inframammary	F	70	<i>Malassezia</i> spp. <i>Candida</i> spp. <i>Rhodotorula</i> spp.
104	Scalp, back, inframammary	F	74	<i>Malassezia</i> spp. <i>Candida</i> spp. <i>Trichosporon</i> spp. <i>Rhodotorula</i> spp.
105	Scalp, back, armpit, inframammary	F	37	<i>Malassezia</i> spp. <i>Candida</i> spp. <i>Trichosporon</i> spp.
106	Scalp, back, arm, inframammary	F	59	<i>Candida</i> spp.
107	Scalp, back, arm, inframammary	M	36	N/A
108	Scalp, back, armpit, inframammary	M	50	<i>Malassezia</i> spp. <i>Candida</i> spp. <i>Trichosporon</i> spp.
109	Scalp, back, arm, inframammary	M	56	<i>Malassezia</i> spp. <i>Candida</i> spp.
1010	Scalp, back, arm, inframammary	F	56	<i>Malassezia</i> spp. <i>Candida</i> spp. <i>Trichosporon</i> spp. <i>Rhodotorula</i> spp.
1011	Scalp, back, nail, inframammary	M	71	<i>Candida</i> spp.
1012	Scalp, back, arm, inframammary	F	68	<i>C. parapsilosis</i> <i>Malassezia</i> spp.
1013	Scalp, back, arm, inframammary	M	23	<i>Malassezia</i> spp. <i>Candida</i> spp. <i>Trichosporon</i> spp.
1014	Scalp, armpit, fingernail, foot	M	69	<i>Candida</i> spp. <i>Trichosporon</i> spp.
1015	Scalp, inframammary, fingernail, leg	F	50	N/A
1016	Scalp, inframammary, arm, fingernail	M	61	<i>Candida</i> spp.
1017	Scalp, armpit, back, inframammary	F	41	<i>Candida</i> spp.
1018	Scalp, back, navel, leg	F	68	<i>Trichosporon</i> spp.
1019	Scalp, navel, fingernail, knee	M	45	<i>Malassezia</i> spp. <i>Candida</i> spp.
1020	Scalp, navel, knee, inframammary	M	66	<i>C. parapsilosis</i> <i>Malassezia</i> spp. <i>Trichosporon</i> spp.
1021	Scalp, navel, gluteus	M	65	<i>Malassezia furfur</i> <i>Candida</i> spp.
1022	Scalp, armpit, leg, foot	F	57	<i>T. coremiforme</i> <i>Malassezia</i> spp.

				<i>Candida</i> spp.
1023	Scalp, elbow, navel, arm	M	60	<i>Malassezia furfur</i> <i>Candida haemuloni</i> <i>Trichosporon</i> spp.
1024	Scalp, ear, navel, fingernail	M	65	<i>C. parapsilosis</i> <i>Malassezia furfur</i> <i>Trichosporon</i> spp. <i>Rhodotorula</i> spp.
1025	Scalp, ear, navel, gluteus	F	48	N/A
1026	Scalp, back, arm, inframammary	M	60	<i>Candida</i> spp.