

IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Candida* UTILIZANDO O ESPAÇADOR INTERGENICO 2 DO LOCUS DO DNA RIBOSSOMAL

Anna Paula Silva Olak (PIBITI/CNPQ/UEL), Eliandro Reis Tavares, Sueli Fumie Yamada-Ogatta, Lucy Megumi Yamauchi, lionimy@uel.br

Universidade Estadual de Londrina/ Centro de Ciências Biológicas/ Departamento de Microbiologia.

Ciências biológicas; microbiologia aplicada

Palavras Chave: *Candida spp.*; IGS2, Identificação

Introdução

Candida albicans é uma levedura oportunista que integra a microbiota humana, porém, em indivíduos que apresentam quadros de imunossupressão, este fungo pode tornar-se patogênico, causando desde infecções superficiais até infecções invasivas. A identificação molecular da espécie deve ser rápida e confiável para que a levedura seja diferenciada de outras espécies de *Candida spp.* e, conseqüentemente, que o melhor tratamento seja oferecido. Algumas regiões do DNA ribossomal são utilizadas para o diagnóstico molecular. As regiões dos espaçadores intergênicos (IGS) apresentam uma maior variabilidade e as regiões dos espaçadores interno transcritos (ITS) apresentam-se mais conservada entre as espécies de levedura. O objetivo deste projeto foi avaliar se a região IGS2 apresenta especificidade para identificar diferentes espécies de *Candida* de interesse médico.

Problema

Devido às diferenças na patogenicidade e perfil de sensibilidade aos antifúngicos das várias espécies de *Candida*, a identificação precoce das leveduras é crucial para que seja feito o tratamento adequado das candidemias.

Soluções e Benefícios

A análise das sequências de IGS2 de várias espécies de *Candida* resultou em quatro pares de iniciadores específicos para identificação de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. glabrata*. PCR convencional utilizando DNA genômico de *C. albicans* ATCC26790, *C. tropicalis* ATCC28707, *C. parapsilosis* ATCC1975 e *C. glabrata* ATCC518 gerou amplicons de 303, 303, 219 e 295 bp, respectivamente. Após a padronização, os oligonucleotídeos iniciadores delineados apresentaram especificidade para as suas espécies respectivas, permitindo a diferenciação entre elas, sem ampliações inespecíficas quando testados em reações contendo DNA genômico de outros gêneros de fungos como *Cryptococcus neoformans*, *C. gattii*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Sporothrix sp.*, *Histoplasma capsulatum*, *Trichophyton rubrum*, *Aspergillus niger*, *A. fumigatus* (tabela 1).

Potencial de Mercado e Diferencial Competitivo

Os oligonucleotídeos iniciadores foram capazes de amplificar a região IGS2 de diferentes espécies de *Candida*. Sendo uma região promissora para ser utilizada

na identificação desses fungos sem ter reatividade cruzada com outros fungos.

Tabela 1. Especificidade das reações de amplificação dos iniciadores de espécies de *Candida*

Fungos	CaNTS2	CtNTS2	CpNTS2	CgNTS2
<i>C. albicans</i> ATCC 26790	+	-	-	-
<i>C. tropicalis</i> ATCC 28707	-	+	-	-
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 1975	-	-	+	-
<i>C. glabrata</i> PT 518	-	-	-	+
<i>C. krusei</i> ATCC 520	-	-	-	-
<i>C. dubliniensis</i> ATCC 974	-	-	-	-
<i>C. guilliermondii</i> PT822	-	-	-	-
<i>C. lusitanaeae</i> PT1007	-	-	-	-
<i>C. metapsilosis</i> PT2263	-	-	-	-
<i>C. orthopsilosis</i> PT2259	-	-	-	-
<i>C. bracarensis</i> PT1217	-	-	-	-
<i>C. neoformans</i> ATCC 66031	-	-	-	-
<i>C. gattii</i> ATCC 56990	-	-	-	-
<i>P. brasiliensis</i>	-	-	-	-
<i>Sporothrix sp.</i>	-	-	-	-
<i>H. capsulatum</i> IMT/HC128	-	-	-	-
<i>T. rubrum</i>	-	-	-	-
<i>A. niger</i>	-	-	-	-
<i>A. fumigatus</i>	-	-	-	-

Considerações Finais

Os iniciadores testados mostraram-se específicos, podendo ser utilizados para o desenvolvimento de um kit de identificação de infecções causadas por espécies de *Candida*.

Estágio de Desenvolvimento da Tecnologia

(X) Laboratório () Mercado
() Scale-up (mudança de escala) () Protótipo

Agradecimentos

Agradeço ao CNPQ pela bolsa e aos orientadores Lucy Megumi Yamauchi, Sueli Fumie Yamada-Ogatta e Eliandro Reis Tavares.

Contato Institucional

Universidade Estadual de Londrina
AINTEC – Agência de Inovação Tecnológica da UEL
Telefone: (43) 3371-5812
Home page: <http://www.aintec.com.br/>