AVALIAÇÃO DO PERFIL GENOTÍPICO DE ISOLADOS CLÍNICOS DE *Candida parapsilosis*

Julia Gargioni (PIBIC/FA),Vitória Monteiro de Araujo Vilela (PBF) ,Patrícia de Souza Bonfim de Mendonça (Co-orientadora), Érika Seki Kioshima Cotica (Orientadora). E-mail: eskcotica@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas/ Microbiologia/ Micologia.

Palavras-chave: *C. parapsilosis*, epidemiologia, disseminação clonal

RESUMO

As infecções fúngicas invasivas em pacientes hospitalizados apresentam alta mortalidade global. Espécies de *Candida*, destacando-se *Candida parapsilosis*, são importantes patógenos oportunistas nosocomiais. A crescente resistência aos azólicos e a disseminação clonal dessas leveduras desafiam a saúde pública, com impacto global subestimado pela falta de dados epidemiológicos. Diante disso, este estudo tem como objetivo realizar a genotipagem de isolados clínicos de C. parapsilosis provenientes de um hospital regional do noroeste do Paraná, a fim de traçar os perfis genotípicos circulantes. A metodologia consistiu na extração do DNA genômico, quantificação por espectrofotometria no NanoDrop™ Lite e levantamento bibliográfico. Como resultados, a literatura evidenciou a importância da aplicação de ferramentas de tipagem rápida para a espécie. Na etapa experimental, a quantificação espectrofotométrica indicou variações nas concentrações e desvios nas razões de absorbância do DNA decorrentes de uma falha durante a extração. Para assegurar a qualidade exigida nos ensaios moleculares, novas extrações estão sendo realizadas para a posterior execução da genotipagem.

INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas têm emergido como um desafio crítico para a saúde pública global, destacando-se as leveduras do gênero *Candida* como importantes causadoras de infecções sistêmicas e candidemias de alta letalidade em ambientes hospitalares (Organização Mundial da Saúde, 2022). Nesse contexto, a espécie *Candida parapsilosis* sobressai-se como um dos patógenos nosocomiais mais recorrentes, sendo responsável por 10% a 43% dos casos globais e acometendo predominantemente pacientes de extrema vulnerabilidade clínica e imunocomprometidos (TÓTH et al., 2019; ASOGAN et al., 2024). A principal complicação associada a esse microrganismo é a sua capacidade de persistir em superfícies por longos períodos e formar biofilmes em dispositivos médicos implantáveis, o que reduz drasticamente a suscetibilidade aos agentes antifúngicos

e favorece a colonização sistêmica nos pacientes (BRANCO; MIRANDA; ASOGAN et al., 2024). Esse cenário é agravado pela ocorrência de surtos caracterizados pela disseminação clonal de cepas com resistência aos antifúngicos, impulsionada por mutações genéticas específicas que propiciam a propagação de complexos clonais entre instituições de saúde (ASOGAN et al., 2024; PALLADINI et al., 2025). Nesse contexto, o emprego de metodologias moleculares avançadas, tais como a genotipagem, destacam-se como uma estratégia essencial para investigar o parentesco genético dos clones endêmicos, elucidar as rotas de transmissão nosocomial, orientar o manejo clínico empírico e subsidiar ações efetivas de vigilância epidemiológica regional (CORNELY et al., 2025; PALLADINI et al., 2025). Por fim, o objetivo deste trabalho foi realizar a genotipagem de isolados clínicos de *Candida parapsilosis* provenientes de um hospital regional do noroeste do Paraná, a fim de traçar os perfis genotípicos circulantes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Revisão bibliográfica

A busca bibliográfica foi realizada na base de dados PubMed utilizando combinações dos operadores booleanos AND e OR com os descritores (“Fourier transform infrared spectroscopy” OR “FT-IR” OR “FTIR”) e (“IR Biotyper” OR “IR-Biotyper”), cruzados com os termos “microbiology”, “*Candida*” e “*Candida parapsilosis*”.

Isolados e cultivo

Sete isolados clínicos de *Candida parapsilosis* provenientes do Hospital Universitário de Maringá (maio/2018 a fevereiro/2026) e uma cepa de referência *C. parapsilosis* (ATCC 22019) armazenada na Micoteca do laboratório de Micologia Médica da Universidade Estadual de Maringá foram analisadas. Os isolados foram reativados e semeados em CHROMagar Candida para confirmação da pureza e mantidos em Sabouraud Dextrose ágar (SDA).

Extração de DNA

Resumidamente, as culturas obtidas em SDB (30 °C por 24 h a 50 rpm) e submetidas à lise celular com tampão de lise e *beads* de vidro, seguida de tratamento enzimático com Proteinase K e RNAse, purificação com fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1) e precipitação com etanol absoluto em nitrogênio líquido por 30 segundos. O *pellet* lavado em etanol 70% e ressuspenso em tampão Tris-EDTA (pH=8,0) teve sua concentração e pureza avaliadas por espectrofotometria em NanoDrop™ Lite (razão 260/280 nm), e a integridade genômica foi confirmada por eletroforese em gel de agarose a 1% corado com SYBR Safe sob iluminação UV.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o aumento na incidência global de resistência ao fluconazol em *C. parapsilosis* e dos indícios que esta resistência se espalha por meio de clones endêmicos, é clara a necessidade de implantar uma técnica para investigar a epidemiologia molecular da *C. parapsilosis* em nosso hospital. Desta forma, inicialmente foi realizada uma busca na literatura para entender o atual cenário da aplicação da técnica de tipagem baseado na espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR). Os resultados na Tabela 1 demonstram que, enquanto a espectroscopia FT-IR genérica possui ampla consolidação na microbiologia (>3.500 artigos), sua aplicação no gênero *Candida* (~200) e especificamente em *C. parapsilosis* (~20) permanece restrita. Ao analisar a plataforma comercial IR Biotyper (Bruker), constatou-se forte concentração em bactérias nosocomiais (~120 artigos), reduzida literatura para leveduras (~20) e um nicho extremamente escasso para *C. parapsilosis* (3 a 6 artigos). Apesar das poucas publicações dedicadas à espécie, o IR Biotyper tem apontado como um método promissor, demonstrando elevada concordância na diferenciação de clones epidêmicos e cepas resistentes a azóis.

Tabela 1- Quantitativo de artigos indexados por nível de abrangência

NÍVEL DE ABRANGÊNCIA	FT-IR (Técnica analítica)	IR-Biotyper (Plataforma Brunker)	PRINCIPAIS FOCOS CLÍNICOS
MICROBIOLOGIA GERAL	~3.500 A 4.000 PUBLICAÇÕES	~100 A 150 PUBLICAÇÕES	Bactérias Gram-negativas nosocomiais (*K. pneumoniae, P. aeruginosa, A. baumannii).*
GÊNERO *Candida*	~180 a 250 PUBLICAÇÕES	~15 A 30 PUBLICAÇÕES	Diferenciação de clados de *Candida auris* e tipagem de *C. albicans.*
Candida parapsilosis	~15 a 30 PUBLICAÇÕES	~3 a 6 PUBLICAÇÕES	Surtos hospitalares, clonabilidade e resistência a fluconazol (gene ERG11).

Acesse o QR code para ver as publicações sobre IR-Biotyper e *Candida parapsilosis*

Desta forma, iniciamos com a obtenção do DNA genômico dos sete isolados clínicos e uma cepa padrão (ATCC 22019), para obter a tipagem dos isolados pelos métodos convencionais (*Random Amplified Polymorphic DNA*) para posteriormente padronizar e comparar a aplicação da FT-IR para tipagem. As amostras apresentaram concentração de DNA entre 1,6 ng/µL a 41,9 ng/µL, enquanto a razão das absorbâncias 260/280 nm oscilou entre o valor mínimo de -0,23 nm e o máximo de 4,83 nm, indicando que o protocolo de de extração necessita de ajustes para obtenção adequada do material genético. Para assegurar a qualidade e a reprodutibilidade necessárias aos ensaios moleculares, novas extrações estão sendo realizadas para a posterior execução da genotipagem por PCR.

CONCLUSÕES

A literatura reforça a necessidade de avanços na epidemiologia molecular de *C. parapsilosis*, evidenciando a genotipagem como padrão essencial para a validação de novas ferramentas analíticas. Neste estudo, a espectroscopia FT-IR se mostrou com uma opção promissora tipagem de isolados de *C. parapsilosis.* Do ponto de vista experimental, iniciamos a obtenção do DNA para a viabilizar a genotipagem por RAPD-PCR como padrão para posterior aplicação da FT-IR, mas a lise celular demonstrou ser a etapa crítica do protocolo de extração, cuja otimização é indispensável para a obtenção de DNA em quantidade e qualidade adequadas. Portanto, o reajuste metodológico e a execução de novas extrações são passos fundamentais para viabilizar a genotipagem por RAPD-PCR, permitindo a caracterização dos perfis clonais por técnicas convencionais e posterior comparação com a nova metodologia descrita pela literatura.

AGRADECIMENTOS

Universidade Estadual de Maringá, CNPq e ao Grupo de Pesquisa Micotec.

REFERÊNCIAS

ASOGAN, M. et al. *Candida parapsilosis*: A systematic review to inform the World Health Organization fungal priority pathogens list. **Medical Mycology**, v. 62, n. 6, jun. 2024.

BRANCO, J.; MIRANDA, I. M.; RODRIGUES, A. G. *Candida parapsilosis* Virulence and Antifungal Resistance Mechanisms: A Comprehensive Review of Key Determinants. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 1, p. 80, 1 jan. 2023.

CORNELY, O. A. et al. Global guideline for the diagnosis and management of candidiasis: an initiative of the ECMM in cooperation with ISHAM and ASM. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 25, n. 5, fev. 2025.

PALLADINI, G. et al. Inter□Hospital Spread of Fluconazole□Resistant *C. parapsilosis* in Northern Italy: Insights Into Clonal Distribution, Resistance Mechanisms and Biofilm Production. **Mycoses**, v. 68, n. 9, p. e70111–e70111, 1 set. 2025.

TÓTH, R. et al. *Candida parapsilosis*: from Genes to the Bedside. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 32, n. 2, 20 mar. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action.** Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>.Acesso em: 10 mai. 2026.