MALDI-TOF MS COMO ESTRATÉGIA PARA A IDENTIFICAÇÃO DE DIFERENTES ESPÉCIES DENTRO DO COMPLEXO DE *Trichophyton rubrum* E *Trichophyton mentagrophytes*

Gabriely Kaori Pinheiro Saito (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Débora Cássia Montaholi (LEPAC/UEM), Erika Seki Kioshima Cotica (Orientador). E-mail: eskcotica@uem.br.

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas, Microbiologia/Biologia e Fisiologia dos Microrganismos/Micologia.

Palavras-chave: espectrometria; dermatófitos; identificação.

RESUMO

A identificação de organismos pela MALDI-TOF é baseada em padrões de proteínas característicos de um microrganismo em comparação a biblioteca de bancos de dados de espectros. O presente projeto teve como objetivo avaliar a performance MALDI-TOF MS da Bruker (Biotyper) na identificação e diferenciação das espécies dentro dos complexos de *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes.* Inicialmente, uma padronização do tempo de cultivo dos isolados antes do processo de extração de proteínas. Os resultados obtidos apontam que o tempo de 4 dias foi o mais eficiente para obtenção de escores adequados para a identificação. No entanto, ao longo das análises, observamos que a espécie *T. tonsurans* apresentou o maior índice de erros na identificação, sendo confundido com *T. rubrum* ou *T. mentagrophytes.* Desta forma, coletamos o espectro de diferentes isolados de modo a identificar o padrão gerado pelas diferentes espécies de *Trichophyton spp*. Os resultados observados apontam que o perfil espectral do *T. tonsurans* apresenta vários picos semelhantes ao do *T. mentagrophytes,* representando um desafio para o diagnóstico adequado. Portanto, o preparo da amostra correto e análise correta dos espectro gerados pode impactar significativamente na performance MALDI-TOF MS da Bruker (Biotyper) na identificação e diferenciação das espécies de *Trichophyton sp*.

INTRODUÇÃO

O diagnóstico clássico em Micologia é em sua maioria manual, e as micoses mais graves necessitam de um diagnóstico mais rápido, permitindo a interferência médica o mais precocemente possível. Assim, o desenvolvimento de técnicas moleculares tem proporcionado métodos mais específicos e rápidos para identificar diferentes tipos de microrganismos com uma maior sensibilidade (Wilkendorf et al, 2020). Recentemente, o uso da espectrometria de massas por ionização e dessorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF MS) tem sido empregada para identificação rápida e precisa de fungos. O MALDI TOF-MS tem se apresentado como um

substituto para métodos convencionais e dependentes de DNA para a identificação de fungos e bactérias. As vantagens do método sobre os métodos genéticos e morfológicos são a simplicidade e o curto tempo para o preparo e análise de amostras (Wilkendorf et al, 2020).
A identificação de organismos pela MALDI-TOF é baseada em padrões de proteínas característicos de um microrganismo em comparação a biblioteca de bancos de dados de espectros que aliás é o ponto crítico para o sucesso do sistema MALDI-TOF MS para identificar os organismos até o nível da espécie (Patel, 2019). Portanto, a padronização e a inserção de novas ferramentas na rotina laboratorial poderão contribuir de maneira significativa com o diagnóstico e o tratamento dos pacientes acometidos pelas micoses. Desta forma, o presente projeto teve como objetivo avaliar a performance MALDI-TOF MS da Bruker (Biotyper) na identificação e diferenciação das espécies dentro dos complexos de *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes*, buscando impactando diretamente na rotina laboratorial com um diagnóstico mais preciso, rápido e eficaz para os pacientes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Sendo assim, para a realização dos experimentos, foi utilizada a técnica de espectrometria de massa MALDI-TOF MS. Durante os experimentos, foi empregado o método de preparo de uma placa alvo de acordo com os padrões fornecidos pela Bruker (Biotyper), que consiste em: em uma placa alvo (target plate) descartável com adaptador, adicionar 1µL de ácido fórmico 70% e, com o auxílio da ponta de um palito de madeira, absorver esse volume; raspar os filamentos fúngicos com o palito, evitando a retirada do meio de cultura; pintar o poço exercendo pressão; e por fim, depositar 1µL de matriz previamente ressuspendida e deixar secar. Para a leitura no aparelho, foi realizado mapeamento da placa alvo, para que não ocorressem confusões de leitura. Os espectros de massa obtidos geraram dados que foram organizados e utilizados para elaborar gráficos espectrais, cuja ferramenta de análise foi o Microsoft Excel (2024). A relação adotada foi de massa/carga no eixo X e suas respectivas intensidades no eixo Y, possibilitando a avaliação dos perfis proteicos das espécies.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A identificação das diferentes espécies de *Trichophyton,* em especial *T. rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes* representa um desafio quanto à necessidade e dependência de métodos clássicos para o diagnóstico correto, que é demorada e requer qualificação do analista (Marbaniang et. al., 2025). Portanto, a segurança quanto a identificação e diferenciação das espécies de *T. rubrum e T. mentagrophytes* requer atenção. Desta forma, o tempo de cultivo foi padronizado para garantir o sucesso da identificação com valores de scores próximos a 2,0, preconizado pela Bruker. Como é possível observar, o tempo de 4 ou 5 dias foi adequado para as duas espécies.

Material	Dias entre repique e ID	Meio	ID	Score
Raspado pele	4 dias	SDA	*T. mentagrophytes*	2.35
U. pés	4 dias	SDA	*T. rubrum*	1.92
Raspado pele	4 dias	SDA	*T. rubrum*	1.92
U. pés	4 dias	SDA	*T. rubrum*	2.01
U. pés	4 dias	SDA	*T. rubrum*	1.94
U. pés	4 dias	SDA	*T. rubrum*	1.95
Raspado pele	4 dias	SDA	*T. rubrum*	2.01
U. pés	5 dias	SDA	*T. rubrum*	2.06
Raspado pele	5 dias	SDA	*T. mentagrophytes*	1.89

Durante a rotina, nós observamos que a identificação da espécie de *Trichophyton tonsurans*, é bastante limitada, sendo muitas vezes erroneamente identificada como *T. rubrum* ou *T. mentagrophytes.* Desta forma, recuperamos diferentes espectros dessas duas espécies do sistema da Bruker para avaliar o perfil de proteínas gerados. Como é possível observar os picos gerados, o perfil espectral do *T. tonsurans* apresenta picos semelhantes ao *T. mentagrophytes*, podendo ser esta a causa dos equívocos na identificação desta espécie.

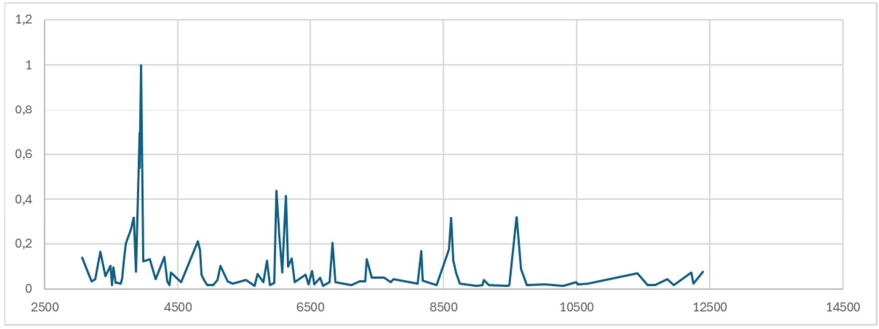


Gráfico espectral do perfil de proteínas de *T. tonsurans.*

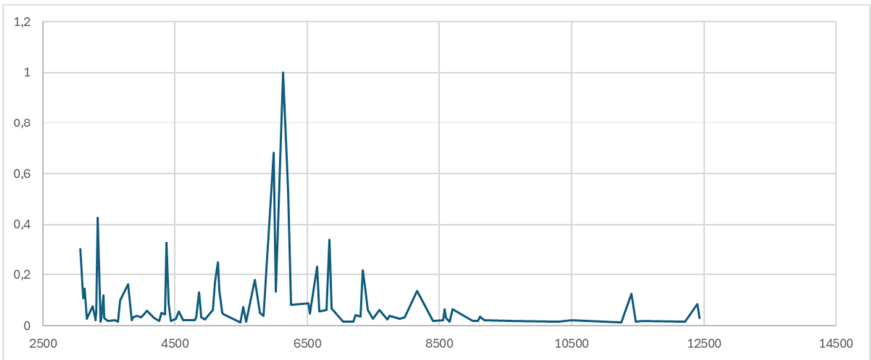


Gráfico espectral do perfil de proteínas de *T. rubrum.*

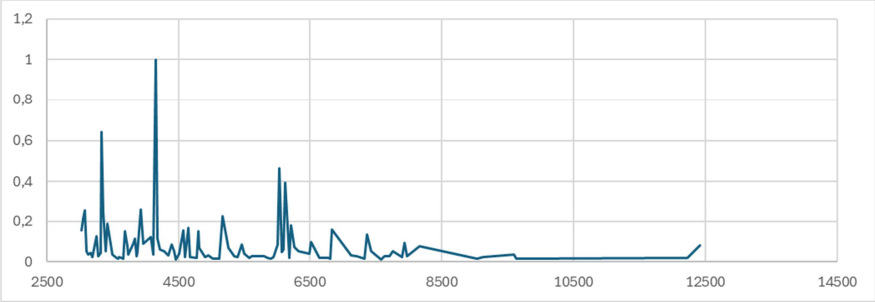


Gráfico espectral do perfil de proteínas de *T. mentagrophytes.*

CONCLUSÕES

Diante dos resultados adquiridos, foi possível concluir que a performance MALDI-TOF MS da Bruker (Biotyper) na identificação e diferenciação das espécies dentro dos complexos de *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes* impacta diretamente na rotina laboratorial. Assim, a otimização da metodologia é importante para garantir a qualidade nos resultados obtidos e a confiabilidade do diagnóstico utilizando métodos moleculares.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Universidade Estadual de Maringá (UEM) e ao Laboratório de Ensino e Pesquisa da UEM (LEPAC/UEM) pelo suporte e pela infraestrutura disponibilizada para a realização do presente trabalho.

REFERÊNCIAS

MARBANIANG, Y. V. et al., Treatment and diagnostic challenges associated with the novel and rapidly emerging antifungal-resistant dermatophyte, *Trichophyton indotineae*. **Journal of Clinical Microbiology**. Canadá. v. 63, n. 6, jun. 2025. Disponível em: https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.01407-24. Acesso em: 26 agosto de 2026.

PATEL, R. A Moldy Application of MALDI: MALDI-ToF Mass Spectrometry for Fungal Identification. **Journal of Fungi**. Estados Unidos. v. 1, n. 5, jan. 2019. Disponível em: https://www.mdpi.com/2309-608X/5/1/4. Acesso em: 31 agosto de 2026.

WILKENDORF, L . S. et al., Update on Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry Identification of Filamentous Fungi. **Journal of Clinical Microbiology.** Países Baixos. v. 12, n. 58, nov. 2020. Disponível em: https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.01263-20. Acesso em: 31 agosto de 2026.