

DESENHO DE NOVOS MARCADORES MOLECULARES BASEADOS NO
GENE DA eIF-2 QUINASE PARA O DIAGNÓSTICO DAS DOENÇAS
CAUSADAS PELOS FUNGOS NEGROS

ASSUNÇÃO, Cláudia Barbosa¹; CALIGIORNE, Rachel Basques¹

RESUMO

Introdução: Os fungos negros são os principais agentes da feohifomicose, cromoblastomicose e eumicetoma. Dentre os gêneros mais comuns estão *Cladophialophora*, *Exophiala* e *Fonsecaea*, que são consideradas as espécies clinicamente mais importantes. A feohifomicose se caracteriza por infecções sistêmicas, podendo acometer o tecido cerebral. Na cromoblastomicose as lesões cutâneas e os nódulos subcutâneos são as formas mais comuns. O eumicetoma é caracterizado pelo desarranjo do tecido subcutâneo, ocorrendo na região dos pés. Até o momento não há marcadores moleculares específicos para estes gêneros que ajudem na identificação do fungo e diagnóstico da doença. O gene da proteína quinase do fator eIF-2 é conservado dentre as espécies de fungos e possui variabilidade que permite o seu uso como marcador molecular. **Objetivo:** Desenvolver novos marcadores específicos para auxiliar na identificação do agente etiológico e no diagnóstico das doenças causadas pelos fungos negros. **Material e métodos:** Foi utilizada a ferramenta PrimerBLAST para direcionar o desenho dos marcadores, a escolha foi realizada manualmente pelo alinhamento das regiões no Clustal pelo MEGA. Os marcadores desenhados foram analisados pelo BLASTn e Oligo analyzer IDT. Conduziu-se testes de Reação em Cadeia da Polimerase-PCR para avaliar temperatura, concentração e especificidade dos iniciadores. **Resultados:** As análises *in silico* levaram à escolha de 3 pares de iniciadores, e nas reações de PCR para o gênero *Exophiala* observou-se uma banda de 740pb e para *Fonsecaea* 416pb. Não houve hibridização do iniciador do gênero *Fonsecaea* com o do gênero *Exophiala*, ambos foram específicos podendo realizar assim, uma PCR multiplex. No entanto, o par de iniciadores para o gênero *Cladophialophora* não geraram produtos na PCR, apenas quando foi utilizado o primer *forward* que observamos uma banda de 550pb. **Conclusão:** Conclui-se que o gene da proteína quinase é um bom marcador molecular para o diagnóstico das doenças causadas pelos fungos negros e para a identificação das espécies. No entanto para o gênero *Cladophialophora* será necessário a escolha de uma outra região para desenhar um novo iniciador reverso. O próximo passo será padronizar as reações para detecção dos fungos diretamente em amostras biológicas obtidas dos pacientes.

Palavras-chave: Fungos negros; Marcador molecular; Quinase; eIF-2.

¹ Pós-graduação em Biomedicina-Medicina do Ensino e Pesquisa do Hospital Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte, assuncao@clb@gmail.com