



APLICAÇÃO DA TÉCNICA DE AMPLIFICAÇÃO ISOTÉRMICA DE DNA MEDIADA POR LOOP (LAMP) EM ISOLADOS DE *Candida* spp.

HERTER, Amanda^{1, 2, 3, *}; SCHIRMER, Helena²; SEVERO, Cecília B.²; MATTEVI, Vanessa S.^{1, 3}

¹ Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS

² Laboratório de Micologia, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS

³ Laboratório de Biologia Molecular, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS

* Autor correspondente: amandahe@ufcspa.edu.br

Introdução: A prevalência das doenças invasivas com elevadas taxas de mortalidade causadas por fungos oportunistas tem aumentado, sendo o gênero *Candida* o principal agente etiológico. O diagnóstico laboratorial destas infecções permanece difícil e demorado, o que impede o tratamento adequado, principalmente em pacientes de alto risco. A técnica de amplificação isotérmica de DNA mediada por *loop* (LAMP) se apresenta como uma alternativa promissora ao diagnóstico convencional por ser rápida, precisa e de baixo custo. **Objetivo:** Avaliar a eficácia da metodologia de LAMP na detecção de isolados de *Candida* spp. **Método:** A técnica de LAMP foi aplicada em 94 isolados de *Candida* spp. provenientes da micoteca do Laboratório de Micologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre: *C. albicans* (n=20), *C. glabrata* (n=20), *C. tropicalis* (n=20), *C. parapsilosis* (n=16), *C. orthopsilosis* (n=16) e *C. metapsilosis* (n=2). Inicialmente, uma suspensão fúngica (concentração de 0.5 McFarland) de cada isolado foi fervida com a resina *Chelex 100*. Em seguida, procedeu-se a reação de LAMP, utilizando o kit *WarmStart Colorimetric LAMP 2x Master Mix (DNA&RNA)* da *New England Biolabs*, com protocolo adaptado para volume final de reação de 10 µL. Um conjunto de cinco a seis *primers* específicos para cada espécie analisada foi produzido conforme referências da bibliografia. Para controle de especificidade, além das espécies estudadas, utilizou-se isolados de *C. krusei*, *C. auris*, *Cryptococcus* spp. e

Rodothorula spp. **Resultados:** A especificidade da técnica de LAMP para todas as espécies de *Candida* spp. foi de 100%. A sensibilidade diagnóstica para 40 minutos de reação variou entre 75% (para *C. tropicalis*) e 100% (para *C. metapsilosis*), dependendo da espécie. Já a sensibilidade analítica (limite de detecção) foi de 100 pg / μ L de DNA. **Conclusão:** Este estudo contribui para as áreas de diagnóstico, pesquisa e inovação. A técnica de LAMP demonstrou ser eficaz na identificação das diferentes espécies de *Candida*, apresentando ótimos resultados de sensibilidade e especificidade. Estes resultados indicam que a metodologia pode ser estudada para outros microrganismos, podendo ser utilizada para fins de inovação nos setores de diagnóstico e de biotecnologia, bem como aplicada na área de pesquisa em diversas frentes. Além disso, considerando a facilidade da técnica, bem como seu baixo custo, os resultados obtidos até aqui sugerem a viabilidade de sua implantação em laboratórios pequenos e que dispõem de poucos recursos (apenas um banho-maria é suficiente para sua execução). Por fim, pretende-se, ainda, analisar o desempenho do LAMP diretamente em amostras clínicas.

Palavras-chave: *Candida*; Técnica de LAMP; Diagnóstico.