

**TÍTULO:** Identificação das principais espécies de *Candida sp.* por PCR em tempo real.

**AUTORES:** GRAS, O. K; Vieira, G.C.; Martins, A.V.; BALZAN, R. L; CANTARELLI, V.V.

**INSTITUIÇÃO:** Grupo Exame (Av. Dr. Maurício Cardoso, 833 - Hamburgo Velho, Novo Hamburgo - RS, 93510-250)

A candidíase é uma micose oportunista, causada por leveduras do gênero *Candida*. *C. albicans* é a espécie mais frequentemente isolada, e pode ser identificada presuntivamente por cultivo em ágar cromogênico. O ágar cromogênico diferencia as espécies entre *C. albicans*, *C. krusei* e *C. tropicalis*, pela coloração das colônias. Outras espécies aparecem na rotina laboratorial e para a identificação se faz necessário uma técnica alternativa como a q-PCR. O objetivo do trabalho foi a padronização de PCR em tempo real para identificação e caracterização das principais espécies de *Candida sp.* A PCR foi aplicada em 170 amostras isoladas de leveduras, após lise celular por aquecimento e centrifugação. A reação da q-PCR para identificação de *Candida sp.* tem como alvo a região ITS. Utilizou-se 2 reações com iniciadores específicos para reconhecerem 9 espécies de *Candida sp.* (Reação 1: *C. albicans*, *C. parapsilosis strito senso*, *C. orthopsilosis*, *C. metapsilosis*, *C. dubliniensis*, *C. tropicalis* e reação 2: *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*). As reações positivas, indicando a presença de alguma das espécies pesquisada são determinadas pela fluorescência do SYBR-Green. A separação das espécies se dá pela temperatura de melting (TM) característica de cada espécie, comparando-se as curvas de melting dos padrões e das amostras. Os TM obtidos foram: *Calb* (85,8±0,3), *Cdub* (84,7±0,2), *Cpar* (83,9±0,3), *Corto* (81,8±0,3), *Cmeta* (81,4±0,3), *Ctrop* (82,2±0,4), *Cgla* (82,3±0,3), *Cgui* (81,2±0,3), *Ckru* (90±0,2). Após a padronização se observou que nem sempre as cores padronizadas pelo ágar cromogênico são suficientes para identificação de várias espécies, como também, uma mesma cor pode corresponder a mais de uma espécie, não sendo possível realizar essa diferenciação visualmente. Estes resultados demonstram a dificuldade do isolamento e diferenciação de espécies de *Candida sp.* apenas por exame cultural e a importância de se utilizar a PCR em tempo real como técnica de identificação nas Candidíases.

**Palavras-Chave:** Identificação; Candidíase; q-PCR.