

## Identificação molecular das espécies de agentes da cromoblastomicose da micoteca do laboratório de fungos patogênicos do ICBS/UFRGS

Letícia Lazzarotto <sup>1</sup>, Maria Lúcia Scroferneker <sup>2</sup>

e-mails:  
leti.lazzarotto@gmail.com  
scrofern@ufrgs.br

<sup>1</sup> Aluna de Iniciação Científica BIC-UFRGS

<sup>2</sup> Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, ICBS, UFRGS

### INTRODUÇÃO

Cromoblastomicose é uma micose crônica que afeta a pele e os tecidos subcutâneos causados por vários gêneros de fungos dematiáceos. sendo que várias espécies têm sido descritas desde o surgimento da identificação por sequenciamento do ácido desoxirribonucléico (DNA) desses patógenos<sup>1</sup>.

### OBJETIVO

Identificar molecularmente os agentes da cromoblastomicose da micoteca do laboratório de Micologia Médica do ICBS (UFRGS).

### MÉTODOS

→ 76 isolados clínicos previamente identificados fenotipicamente até o nível taxonômico de gênero.



**Extração do DNA:**  
pelo Power Soil DNA  
Isolation Kit  
(Mo Bio)

#### PCR:

Desnaturação inicial: 94°C – 5 min.  
Desnaturação: 94°C – 1 min.  
Anelamento: 55°C – 1 min.  
Extensão: 72°C – 2 min.  
Extensão final: 72°C – 10 min

30 ciclos

**Sequenciamento:** região ITS1-5,8S-ITS2 utilizando os primers universais ITS1/ITS4.

**Purificação:** ExoSAP-IT®  
(Affymetrix)

As sequências foram editadas e comparadas às sequências das cepas tipo depositadas no GenBank utilizando o algoritmo BLAST.

Quando necessário, **árvores filogenéticas** usando o método *Maximum Likelihood* e *bootstrap* de 500 repetições foram realizadas para a classificação das amostras.

### RESULTADOS

Foram identificadas 12 espécies distribuídas nos 5 gêneros causadores da doença:

- 58 do gênero *Fonsecaea* (44 *F. pedrosoi*, 12 *F. monophora*, 1 *F. nubica* e 1 *F. pugnacius*);
- 4 do gênero *Cladophialophora* (3 *C. carrionii* e 1 *C. bantiana*);
- 7 do gênero *Phialophora* (5 *P. americana* e 2 *P. verrucosa*);
- 5 do gênero *Exophiala* (3 *E. spinifera* e 2 *E. xenobiotica*);
- 2 do gênero *Rhinochadiella* (1 *R. aquaspersa* e 1 *Rhinochadiella* sp.).

A **figura 1** mostra uma das árvores filogenéticas realizadas para identificação das amostras.

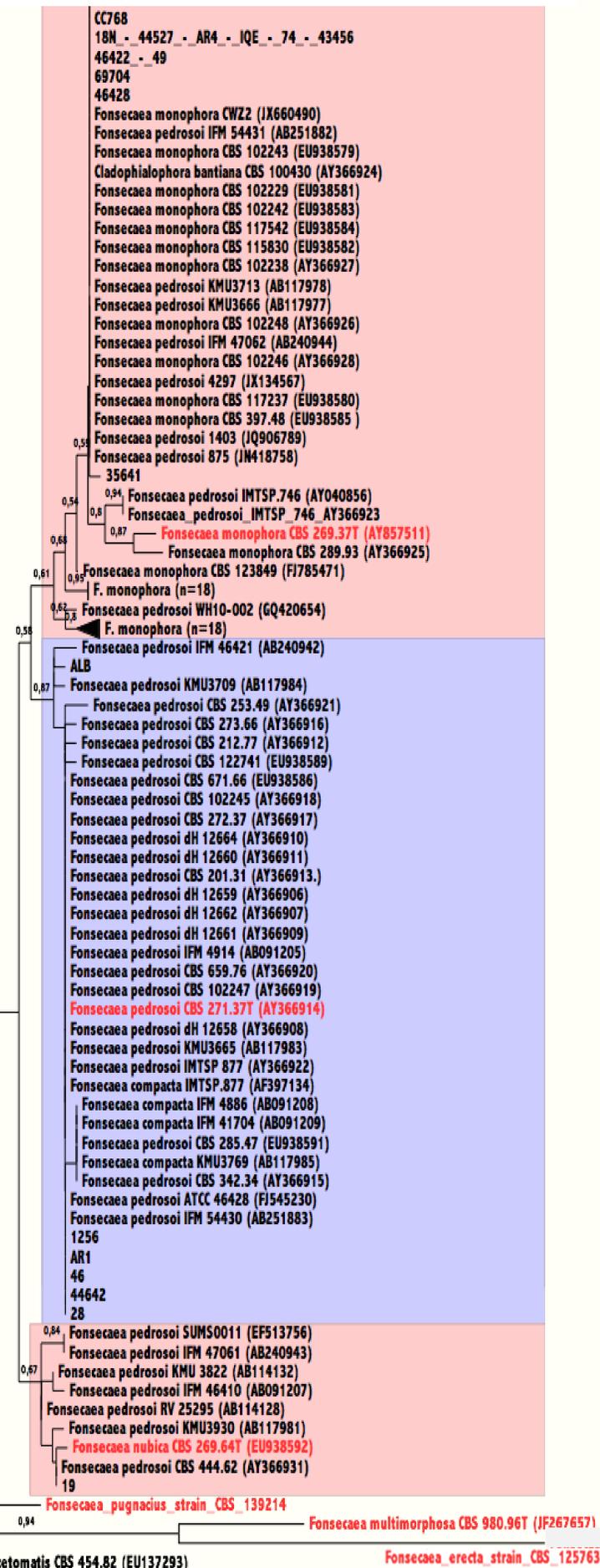
### CONCLUSÕES

- Classificação filogenética sugeriu que *Rhinochadiella* sp. 776 é uma nova espécie;
- A distribuição das espécies encontradas no trabalho contribui para a confirmação da hipótese que *F. pedrosoi* é a espécie mais frequente no Brasil.

#### Referências:

<sup>1</sup> Torres-Guerrero E, Isa-Isa R, Isa M, Arenas R.

Clinics in Dermatology.2012; 30: 403–408.



**Fig 1.** Árvore filogenética do gênero *Fonsecaea* usando o método de *Maximum Likelihood* baseado no modelo de substituição nucleotídica *Kimura 2 + G* com *bootstrap* de 500 repetições (n=122). O software *Mega 7* foi usado para as análises e *Figtree* v1.4.2 para visualização.