

Principais Grupos e Aplicações Biotecnológicas dos Fungos



Benedito Rodrigues da Silva Neto
(Organizador)

Atena
Editora
Ano 2019

Benedito Rodrigues da Silva Neto
(Organizador)

Principais Grupos e Aplicações Biotecnológicas dos Fungos

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Chefe: Prof^a Dr^a Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Rafael Sandrini Filho
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof^a Dr^a Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Dr^a Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Faria – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof^a Dr^a Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie di Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof^a Dr^a Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Prof^a Dr^a Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof^a Dr^a Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Prof^a Dr^a Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Dr^a Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Dr^a Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Prof^a Dr^a Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof^a Dr^a Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof^a Dr^a Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof^a Dr^a Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof^a Dr^a Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof^a Dr^a Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
P957	Principais grupos e aplicações biotecnológicas dos fungos [recurso eletrônico] / Organizador Benedito Rodrigues da Silva. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-730-7 DOI 10.22533/at.ed.307191810 1. Biotecnologia. 2. Fungos – Pesquisa – Brasil. I. Silva, Benedito Rodrigues da. CDD 571.295
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Dentre os diversos microrganismos existentes, uma classe peculiar é a dos fungos, pois possuem uma diversidade de características únicas que refletem em seu modo de vida, nas suas interações e na sua aplicabilidade. Para se ter uma ideia já foram identificados cerca de 120.000 espécies de fungos das quais a grande maioria ainda é um vasto campo de estudo para os micologistas e biotecnólogos.

Consideramos como micologia o estudo de microrganismos que possuem aspectos leveduriformes e/ou filamentos assim denominados fungos. Trata-se portanto de uma área de estudo ampla que atrai diversos pesquisadores em diferentes campos científicos, tecnológicos e industriais. O Brasil é uma referência em se tratando de estudos em micologia, principalmente o que onhecemos como micologia médica, tanto pelos pesquisadores precursores quanto pela nova geração armada com as evoluções biotecnológicas e moleculares. Entre os pais da micologia médica brasileira destacamos Adolf Lutz em 1908 seguido por Alfonso Splendore e Floriano Paulo de Almeida na identificação do *Paracoccidioides brasiliensis*, além de Alberto Thomaz Londero, Olga Fischman Gompertz e principalmente o professor Carlos da Silva Lacaz com seu “Tratado de micologia médica” de 2002.

O uso de estratégias biotecnológicas tem sido primordial na pesquisa com fungos. A vasta diversidade fúngica apresenta grande potencial, principalmente associada à estudos de aplicações biotecnológicas, como no campo ambiental, farmacêutico, industrial, agrícola, alimentício, genômico dentre outros.

Sinto-me muito feliz por ver a obra “Principais Grupos e Aplicações Biotecnológicas dos Fungos” publicada pela editora Atena, em primeiro lugar por saber do potencial da micologia e em segundo por evidenciar essa área tão importante para o cenário brasileiro e para um país que tem inúmeras possibilidades de evoluir nos estudos biotecnológicos aplicados aos fungos. Como pesquisador da área desejo que esse primeiro volume seja uma fagulha que desperte o interesse dos acadêmicos e que atraia pesquisadores da micologia médica e áreas correlatas para publicação de novos volumes com esse foco.

Desejo à todos uma excelente leitura!

Benedito Rodrigues da Silva Neto

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
FUNGOS: BIODIVERSIDADE E BIOTECNOLOGIA, UM BREVE PANORAMA	
Benedito R. da Silva Neto	
DOI 10.22533/at.ed.3071918101	
CAPÍTULO 2	11
AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE AMILASE EM FUNGOS ENDÓFITOS ISOLADOS DE AVELÓS (<i>Euphorbia tirucalli</i> L.)	
Lívio Carvalho de Figueirêdo	
Daniela Rayane da Silva Moraes	
Luana Kelly Carvalho da Silva	
Pablo Igor Lima Vieira	
Francisca das Chagas da Silva Paula Neta	
Ana Letícia Holanda Moraes	
DOI 10.22533/at.ed.3071918102	
CAPÍTULO 3	17
AVALIAÇÃO DA TOLERÂNCIA DE FUNGOS BASIDIOMICETOS AO HERBICIDA GLIFOSATO	
Wagner Mansano Cavalini	
Jaqueline da Silva Coelho Moreira	
DOI 10.22533/at.ed.3071918103	
CAPÍTULO 4	30
IDENTIFICAÇÃO POLIFÁSICA DE ISOLADOS CLÍNICOS DO COMPLEXO <i>Candida Parapsilosis</i>	
Carolina Maria da Silva	
Ana Maria Rabelo de Carvalho	
Danielle Patrícia Cerqueira Macêdo	
Cícero Pinheiro Inácio	
Reginaldo Gonçalves de Lima Neto	
Rejane Pereira Neves	
DOI 10.22533/at.ed.3071918104	
CAPÍTULO 5	41
SUSTENTABILIDADE AGRÍCOLA COM FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS	
Richard Henrique Siebra Bergamo	
Bruno Vinicius Daquila	
Helio Conte	
DOI 10.22533/at.ed.3071918105	
CAPÍTULO 6	53
TESTE DE ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE PROTEASE DE FUNGOS ENDOFÍTICOS DE <i>Euphorbia tirucalli</i> L.	
Lívio Carvalho de Figueirêdo	
Francisca das Chagas da Silva Paula Neta	
Luana Kelly Carvalho da Silva	
Pablo Igor Lima Vieira	
Daniela Rayane da Silva Moraes	
Ana Letícia Holanda Moraes	
DOI 10.22533/at.ed.3071918106	

CAPÍTULO 7 59

ANÁLISE DA PRODUÇÃO DE PROTEASES, AMILASES, UREASES, LIPASES E TANASES POR FUNGOS E BACTÉRIAS ISOLADAS DE ÁREA COSTEIRA DO NORDESTE DO BRASIL

Igor Luiz Vieira de Lima Santos

Mykaella Joyce Silva de Araújo

Amanda Geovana Pereira de Araújo

Maria das Graças Morais de Medeiros

Carliane Rebeca Coelho da Silva

DOI 10.22533/at.ed.3071918107

SOBRE O ORGANIZADOR..... 71

ÍNDICE REMISSIVO 72

IDENTIFICAÇÃO POLIFÁSICA DE ISOLADOS CLÍNICOS DO COMPLEXO *Candida Parapsilosis*

Carolina Maria da Silva

Universidade de Pernambuco - UPE
Serra Talhada – PE

Ana Maria Rabelo de Carvalho

Centro Universitário do Vale Ipojuca
UNIFAVIPIWYDEN
Caruaru – PE

Danielle Patrícia Cerqueira Macêdo

Universidade Federal de Pernambuco – UFPE
Recife – PE

Cícero Pinheiro Inácio

Universidade Federal de Pernambuco – UFPE
Recife – PE

Reginaldo Gonçalves de Lima Neto

Universidade Federal de Pernambuco – UFPE
Recife – PE

Rejane Pereira Neves

Universidade Federal de Pernambuco – UFPE
Recife – PE

RESUMO: A ocorrência de infecções fúngicas, sobretudo as invasivas, por espécies do Gênero *Candida* tem se tornado alarmante em todo mundo. Apesar de *C. albicans* permanecer como a levedura mais frequentemente isolada nos mais diversos casos de candidíases, espécies de *Candida* não - *C. albicans* têm emergido, a exemplo *C. parapsilosis* citada como importante causa de infecção no ambiente hospitalar, exibindo impacto clínico relevante

com graus elevados de resistência às drogas comercialmente disponíveis. Atualmente, sabe-se que na verdade *C. parapsilosis* constitui um complexo formado por três espécies fenotipicamente distintas, *C. parapsilosis* (*stricto sensu*), *C. orthopsilosis* e *C. metapsilosis*. Estas leveduras, apesar das semelhanças fenotípicas, possuem diferenças genotípicas e em relação à virulência, sendo correlacionadas com características epidemiológicas. Diante deste contexto, um dos grandes desafios tem sido obter uma correta distinção entre as espécies que compõem o complexo, visto que a caracterização fenotípica e bioquímica apenas garante um direcionamento taxonômico, sem, entretanto, diferenciar com precisão os representantes do Complexo. Neste panorama, a proposta de uma identificação polifásica, baseada na taxonomia clássica (fenotípica e bioquímica), proteômica e métodos moleculares tem sido de grande relevância para correta identificação das espécies, conseqüentemente permitindo uma melhor definição de perfis epidemiológicos, bem como definição de prognóstico e tratamento dos pacientes.

PALAVRAS-CHAVE: *Candida parapsilosis*; Infecção fúngica; Taxonomia.

POLYPHASIC IDENTIFICATION OF *Candida Parapsilosis* COMPLEX CLINICAL ISOLATES

ABSTRACT: The occurrence of fungal

infections, especially invasive ones, by species of the genus *Candida* has become alarming worldwide. Although *C. albicans* remains the most frequently isolated yeast in the most diverse cases of candidiasis, non - *C. albicans* *Candida* species have emerged, such as *C. parapsilosis*, which is cited as a major cause of infection in the hospital environment, showing relevant clinical impact with high degrees of resistance to commercially available antifungal drugs. Actually, it is known that in fact *C. parapsilosis* constitutes a complex formed by three phenotypically distinct species, *C. parapsilosis* (sensu stricto), *C. orthopsilosis* and *C. metapsilosis*. Despite their phenotypic similarities, these yeasts have genotypic and virulence differences and are correlated with epidemiological characteristics. Given this context, one of the great challenges has been to obtain a correct distinction between the species from the complex, since the phenotypic and biochemical characterization only guarantees a taxonomic direction, without, however, accurately differentiating the species from the Complex. In this scenario, the proposal of a polyphasic identification, based on classical taxonomy (phenotypic and biochemical), proteomics and molecular methods has a great relevance for the correct identification of species, thus allowing a better definition of epidemiological profiles, as well as definition of prognosis and treatment of patients.

KEYWORDS: *Candida parapsilosis*; Fungal infection; Taxonomy.

1 | INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas invasivas sempre foram foco de preocupação nos centros médicos, pelo seu caráter oportunista, pela estreita associação com pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva, pelo potencial lesivo e letal destas infecções e crescentes índices de resistência aos fármacos antifúngicos utilizados. Neste grupo de infecções, destacam-se os casos de candidíase, especialmente as de caráter invasivo (candidemia), frequentemente relacionada ao uso de cateteres intravasculares de demora. A capacidade desses microrganismos em colonizar as mãos dos profissionais de saúde e formar biofilmes em dispositivos tem sido associada à ocorrência de surtos hospitalares e altas taxas de mortalidade (ARASTEHFAR et al., 2019).

O perfil das espécies de *Candida* diagnosticadas destes casos clínicos tem sofrido intensa mudança epidemiológica em diferentes partes do mundo, fruto de pressões seletivas, mutações intraespecíficas e adaptações que o próprio ambiente e o amplo uso de antifúngicos conferiram a estes microrganismos, com o passar dos anos (ARASTEHFAR et al., 2019).

Embora a incidência de candidemia por *C. albicans* esteja diminuindo, esta espécie ainda permanece sendo a mais frequente, seguida por *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* (DA MATTA et al., 2017; LAMOTH et al., 2018). Recentemente, casos mundialmente emergentes de infecção por *C. auris*, espécie multirresistente

extremamente virulenta, tem sido descrita (ANVISA, 2017).

Neste contexto, as leveduras do complexo *Candida parapsilosis* têm sido amplamente citadas como importante causa de infecção, exibindo impacto clínico relevante com graus elevados de resistência às drogas comercialmente disponíveis. Dentro deste complexo, as três espécies crípticas apresentam real potencial patogênico, como *C. parapsilosis (stricto sensu)*, *C. orthopsilosis* e *C. metapsilosis* (TAVANTI et al., 2005; ARASTEHFAR et al., 2019). Estas leveduras demonstram semelhanças fenotípicas; no entanto, possuem diferenças em relação à virulência, sendo correlacionada com características epidemiológicas. Dessa maneira, o complexo *Candida parapsilosis* tem sido uma das principais espécies em estudos epidemiológicos e análises baseadas em DNA, os quais mostram que 1-10 % das infecções e colonizações são causadas por *C. metapsilosis* e *C. orthopsilosis*. Dentre os estudos que avaliam a virulência do complexo, observa-se que *C. metapsilosis* tem sido a espécie que possui menor invasão e a menor prevalência em infecções humanas, enquanto que *C. orthopsilosis* e *C. parapsilosis (stricto sensu)* são capazes de invadir, colonizar e de infectar de forma mais grave o hospedeiro. Das três espécies, *Candida parapsilosis* é o patógeno mais frequente em infecções invasivas. É importante ressaltar que o complexo *C. parapsilosis* é considerado o segundo agente de candidemia mais importante na América Latina (GONÇALVES et al., 2010; BERTINI et al., 2013; CORDEIRO et al., 2014).

Neste sentido, diversos trabalhos relatam a dificuldade para identificar cepas de leveduras, em nível de espécie, por métodos convencionais, uma vez que são dependentes de variáveis como crescimento em meios de cultivo e temperatura de incubação e em alguns casos, a interpretação pode ser considerada subjetiva (PUTIGNANI et al., 2011). Segundo Lima-Neto et al. (2014), a identificação das leveduras do gênero *Candida* representa um grande desafio, especialmente quando as cepas-referência ainda não estão inclusas na base de dados dos sistemas de identificação semi automatizados ou automatizados. Assim, estas dificuldades fazem tanto da biologia molecular como das abordagens espectrais, cruciais para um diagnóstico preciso.

2 | IMPORTÂNCIA CLÍNICA DO COMPLEXO *Candida Parapsilosis*

Dentre os agentes etiológicos de infecções por leveduras, destaca-se a espécie *C. albicans* (ELIAKIM-RAZ et al., 2016). Embora a *C. albicans* seja a causa mais comum, infecções causadas por espécies de *Candida* não *C. albicans* estão aumentando. Dentro deste contexto, como visto anteriormente, o complexo *C. parapsilosis* emergiu como um importante patógeno fúngico e se tornou uma das principais causas de fungemia (BARCHIESI et al., 2016).

O complexo *C. parapsilosis* possui taxa de mortalidade menor quando

comparado a infecções por outras espécies de *Candida*. Porém, possui características favoráveis ao processo infeccioso como a sua capacidade de desenvolver biofilmes em dispositivos intravasculares, alta afinidade pela nutrição parenteral e uma baixa suscetibilidade intrínseca às equinocandinas (BORGHI et al., 2011).

Essas leveduras são relatadas como as mais envolvidas em infecções da corrente sanguínea em neonatos, envolvidas em aproximadamente 83% dos casos. Esse dado reflete está associado aos fatores descritos anteriormente e ainda a serem comensais da pele, favorecendo a transmissão horizontal através das mãos (LOVERO et al., 2016).

Embora o potencial patogênico das três espécies seja caracterizado, pouco se sabe sobre as possíveis diferenças de sua virulência. Estudos anteriores relataram que *C. metapsilosis* apresenta menor virulência (GAGO et al., 2014). No entanto, as três espécies do grupo *C. parapsilosis* possuem um potencial patogênico similar como agentes de candidíase disseminada (TREVINO-RANGEL et al., 2014).

C. parapsilosis sensu stricto apresenta uma maior incidência em todo o mundo, sendo uma da espécie mais isolada de infecções hematogênicas, no entanto a distribuição de *C. orthopsilosis* e *C. methapsilosis* é bastante heterogêneo, o que varia de acordo com o regiões, locais clínicos e sítios anatômicos (GE et al., 2012). *C. parapsilosis sensu stricto* é a segunda espécie mais frequentemente isolada do sangue na Ásia, América Latina e alguns países europeus, superando a frequência de *C. albicans* em alguns países (RUIZ et al., 2013).

A alta frequência dessa espécie em amostras de sangue em pacientes gravemente enfermos pode ser explicada por vários fatores, incluindo a alta afinidade dessas espécies para dispositivos vasculares e instrumentação médica e sua capacidade de colonização nas mãos de profissionais de saúde (GONZÁLEZ et al., 2013; DELFINO et al., 2014).

Vários estudos encontraram variações nas frequências de *C. orthopsilosis* e *C. metapsilosis* em casos de candidemia. Na Espanha, entre as 171 cepas identificadas como parte do complexo *C. parapsilosis*, 2,4% mostraram-se *C. orthopsilosis* e 1,2% mostraram-se *C. metapsilosis* (MARCOS-ZAMBRANO et al., 2014). No Brasil, um estudo de Ruiz et al. (2013) apresentaram frequências de 10,2% para *C. orthopsilosis* e 6,1% para *C. metapsilosis* em cepas isoladas de sangue. Uma possível explicação para a baixa frequência ou ausência de *C. metapsilosis* como causa de candidemia é a sua baixa capacidade de expressar fatores de virulência (ORSI et al., 2010).

Esse complexo também vem sendo frequentemente isolado em infecções da cavidade oral, sendo a *C. parapsilosis sensu stricto* e *C. metapsilosis* as mais representativas em pacientes imunossuprimidos e a colonização da cavidade oral por espécies de *Candida* é reconhecida como um fator predisponente a ocorrência de candidemia (RODRÍGUEZ; JEWUCHOWICZ, 2016). Dessa forma, *C. parapsilosis sensu stricto* também adquiriu importância no campo da estomatologia. Alguns estudos relataram esta espécie como a segunda levedura mais frequentemente isolada da

cavidade oral, após *C. albicans* (RODRÍGUEZ et al., 2018).

3 | IDENTIFICAÇÃO POLIFÁSICA DO COMPLEXO CANDIDA PARAPSILOSIS

Uma identificação precisa, rápida e econômica de espécies de fungos tem sido um dos principais objetivos na micologia, especialmente quando complexos de espécies estão envolvidos, pois a identificação baseada em características fenotípicas e bioquímicas é frequentemente inconclusiva, servindo como uma forma de direcionamento para a conclusão da taxonomia por meio de outras técnicas, tais como a espectrometria de massa e métodos moleculares (BARBEDO et al., 2016).

3.1 Taxonomia Clássica

A identificação do gênero *Candida* através da taxonomia clássica, apesar de possuir boa sensibilidade, permanece como um método trabalhoso e demorado e não permite a distinção de espécies próximas como é o caso das leveduras do complexo *C. parapsilosis* (YAMAN, AKIAR, CAN, 2012).

Entretanto, outras abordagens de diagnóstico e taxonomia estão disponíveis tais como novos métodos moleculares os quais requerem uma considerável experiência do manipulador e não são muito aplicados para diagnóstico de rotina; e a espectrometria de massa por ionização de dessorção a laser assistida por de tempo-de-voe (MALDI-TOF MS), que emergiu como uma ferramenta poderosa para melhorar a qualidade de identificação microbiológica (PUTIGNANI et al., 2011). Por este motivo, para a identificação de *C. orthopsilosis*, *C. metapsilosis* e *C. parapsilosis* é necessária uma abordagem polifásica (ASADZADEH et al., 2015).

3.2 Identificação Molecular

Diversos métodos genotípicos, como análise de polimorfismo de DNA (RAPD), análise de padrão de polimorfismo do comprimento de fragmento de restrição (RFLP), PCR em tempo real, PCR uniplex e multiplex, sequenciamento de regiões específicas, têm sido utilizados para a identificação molecular e diferenciação de espécies do complexo *C. parapsilosis* (BARBEDO et al., 2017).

Tecendo um breve histórico, os primeiros métodos utilizados na diferenciação de levedura consistiram na determinação do percentual do conteúdo de guanina e citosina presente no DNA. Nesse aspecto, foi verificado que as leveduras apresentam uma ampla variação no conteúdo Citosina/Guanina (CG), entre 26 a 64%. Essa caracterização possibilitou entender que o filo Ascomycota possui de 28 a 50% de CG no DNA nuclear. Por outro lado, o perfil do DNA (CG \approx 50-70%) de leveduras Basidiomycotas é visivelmente diferente (NAKASE e KOMAGATA, 1968; PRICE et al., 1978). O conhecimento do percentual de CG foi muito útil no passado. Entretanto, a necessidade de identificações mais refinadas e precisas suscitaram o desenvolvimento

de métodos genômicos mais acurados na taxonomia de leveduras, como a análise dos pares de bases que formam o DNA através do sequenciamento.

Posteriormente, o desenvolvimento de técnicas de sequenciamento do material genético possibilitou a criação de um banco de dados para identificação de diferentes espécies de leveduras (FELL et al., 2000). Diante disso, o sequenciamento parcial do rDNA tem sido considerado como padrão ouro na identificação de espécies de leveduras, incluindo as pertencentes ao Complexo *C. parapsilosis*. Trabalhos prévios relacionados a cruzamentos genéticos e de reassociação do DNA, demonstraram que o domínio D1/D2 da subunidade LSU, do RNA ribossomal foi muito útil na diferenciação de espécies próximas (PETERSON e KURTZMAN 1991). Outra região de interesse na identificação de leveduras consiste de regiões não codificantes presentes entre o domínio D1/D2, as regiões ITS1-2 do rDNA, e separadas pelo gene 5.8S rRNA. A região ITS, mostra-se muito conservada e, por isso, tem sido muito empregada para diferenciar espécies, sobretudo em conjunto com informações do domínio D1/D2 (SCORZETTI et al. 2002). (Figura 1).

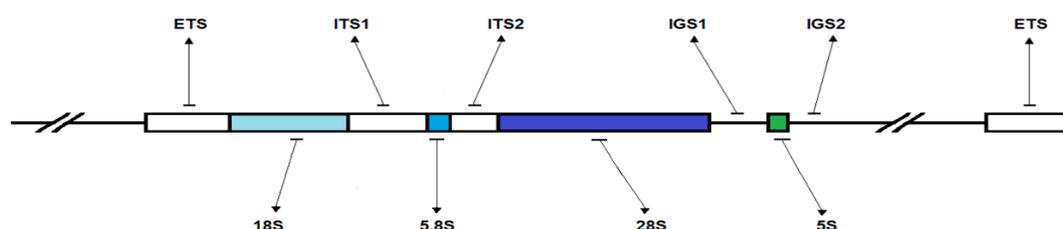


Figura 1: Visão esquemática do rDNA, exibindo o espaçador externo (*External transcribed spacer-ETS*), domínio D1/D2 (*Small subunit-SSU/18s*, *5.8s* e *large subunit-LSU/28s*), região ITS 1 e 2, região IGS 1 e 2 e rDNA 5S.

Uma outra possibilidade que tem despertado interesse consiste na utilização de *primers* espécie-específicos para identificações baseadas na realização de PCR e interpretação do padrão de bandas no gel. O método em questão é versátil e de fácil interpretação, havendo a possibilidade de realização de PCRs convencionais ou de PCR multiplex. Essa última possui uma vantagem maior, tendo em vista que garante a identificação de várias espécies, simultaneamente, baseados apenas na interpretação do padrão de bandas obtidas no gel de agarose (FERNANDES et al., 2016).

Tecnologias de detecção rápidas, tendo como alvo o DNA, utilizando sondas de DNA marcadas através de hibridação fluorescente in situ (FISH) também são uma realidade. Possuem uma finalidade específica de detecção de microrganismos a partir de amostras de alimentos e espécimes clínicos (PATEL et al., 2019). Porém, possuem a desvantagem de serem utilizadas isoladamente na pesquisa de uma espécie em questão, uma vez que quando o marcador reage com a célula alvo haverá a emissão

de fluorescência (STENDER et al. 2001; RIGBY et al. 2002). Uma alternativa ao método consiste no uso de sondas de captura que após a ligação ao alvo são diferenciadas através da excitação por um feixe de laser de 635 nm e análise por citometria de fluxo (PAGE e KURTZMAN, 2005).

3.3 Identificação Proteômica

O espectrômetro de massa é um instrumento analítico capaz de converter moléculas neutras em íons na forma gasosa e separá-las de acordo com a sua razão massa/carga (m/z), utilizando para isso campos eletromagnéticos. Esse equipamento atua como uma balança de íons de altíssima precisão e, em sua grande maioria, é composto por uma fonte ionizante, analisador(es) e detector(es). Como resultado é emitido um gráfico onde o eixo y representa a intensidade do sinal dos íons e o eixo x, a razão m/z destes (CROTTI, 2006).

Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation – Time Of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) é uma técnica espectrométrica físico-química, rápida e reproduzível, utilizada para análise de massas em moléculas orgânicas. Esta técnica vem sendo crescentemente utilizada na última década como uma abordagem fenotípica para a identificação de fungos. Neste caso, o interesse da técnica em questão é a análise das células intactas ou extrato proteico a partir da lise celular com ácido fórmico, onde o espectro gerado é interpretado como um *fingerprint* da amostra que está sendo analisada (SANTOS et al., 2011; LIMA-NETO et al., 2014).

Dentro deste contexto da identificação polifásica, o MALDI-TOF MS tem sido introduzido em procedimentos laboratoriais de rotina para identificação de leveduras clínicas (VEEN et al., 2010; PUTIGNANI et al., 2011). Nos laboratórios de análises clínicas, a identificação rápida e confiável das espécies de *Candida* é essencial para o tratamento antifúngico, no qual os métodos bioquímicos convencionais de diagnóstico são morosos (QIAN et al., 2008). A identificação microbiana com base nos espectros espécie-específicos de peptídeos e proteínas por espectrometria de massas é notavelmente reproduzível, e explicada através da mensuração de proteínas altamente abundantes e expressas constantemente. Entre tais moléculas, encontram-se as de origem ribossomal que apresentam massa molecular entre 2000 e 20000 Da, além de poucos metabólitos secundários, possibilitando facilmente sua utilização como biomarcadores (VEEN et al., 2010).

Diante do exposto, a técnica de MALDI-TOF MS é bastante confiável para identificação de fungos até ao nível de espécie, e, portanto, auxilia os laboratórios de microbiologia médica a reduzir custos, bem como auxiliará em um futuro próximo a minimizar a emergência de isolados resistentes aos antifúngicos comercialmente disponíveis. Em alguns casos, é possível a diferenciação desses microrganismos até ao nível de variedade ou de espécies dentro de um complexo. Esta técnica tem se mostrado de grande relevância para a investigação nas diferentes vertentes da micologia. Adicionalmente, trata-se de uma técnica simples, económica, rápida (cerca

de 2 min/amostra) e de elevada eficácia. Mas é de fundamental importância ter em consideração que a técnica de MALDI-TOF MS é uma abordagem entre muitas e deve, por isso, ser usada como uma ferramenta de apoio dentro de uma abordagem polifásica no processo de diagnóstico e identificação fúngica (SANTOS et al., 2011; LIMA-NETO et al., 2014).

Como foi visto, o diagnóstico laboratorial da candidemia é feito rotineiramente através do isolamento e identificação bioquímica e/ou molecular das leveduras em hemoculturas, que embora auxiliem no diagnóstico e tratamento, apresentam sensibilidade apenas de 50% (CLANCY e NGUYEN, 2013). Atualmente, esse procedimento vem sendo complementados nos laboratórios de microbiologia clínica por métodos proteômicos, como estratégia de diagnóstico rápido e confiável. Nos últimos anos, vários pesquisadores tem destacado a contribuição que a espectrometria de massas, através da técnica de MALDI-TOF MS trouxe a cerca da correta distinção entre espécies crípticas e complexo de espécies como o complexo *C. parapsilosis lato sensu* em *C. parapsilosis stricto sensu*, *C. orthopsilosis* e *C. metapsilosis* (RUIZ et al., 2013), o complexo *C. rugosa lato sensu* em *C. rugosa stricto sensu*, *C. pseudorugosa*, *C. neorugosa* e *C. mesorugosa* (PADOVAN et al., 2013) e o complexo *Candida haemulonii lato sensu* em *Candida haemulonii stricto sensu*, *C. duobushaemulonii*, *C. pseudohaemulonii* e *C. haemulonii var. vulnera* (SILVA et al., 2015), anteriormente identificados apenas por técnicas genômicas. Devido a essa aplicação meritariamente discriminativa, o MALDI-TOF MS foi elencado para diagnosticar isolados clínicos emergentes de *C. auris*, uma levedura multirresistente que ganhou destaque mundial em 2016 quando a Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde (PAHO/WHO, 2016) publicou um alerta epidemiológico em outubro de 2016, reiterado pelo Ministério da Saúde no Brasil (ANVISA, 2017), em função dos relatos de surtos em serviços de saúde da América Latina, recomendando aos Estados-membros a adoção de medidas de prevenção e controle de surtos decorrentes deste patógeno.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). COMUNICADO DE RISCO No 01/2017 - GVIMS/GGTES/ANVISA. **Relatos de surtos de *Candida auris* em serviços de saúde da América Latina**. Março de 2017.

ARASTEHFAR, Amir et al. Molecular identification, genotypic diversity, antifungal susceptibility, and clinical outcomes of infections caused by clinically underrated yeasts, *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis*: An Iranian multicenter study (2014-2019). **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 9, p. 264, 2019.

ASADZADEH, Mohammad et al. Simple, low-cost detection of *Candida parapsilosis* complex isolates and molecular fingerprinting of *Candida orthopsilosis* strains in Kuwait by ITS region sequencing and amplified fragment length polymorphism analysis. **PLoS One**, v. 10, n. 11, p. e0142880, 2015.

BARBEDO, Leonardo Silva et al. The identification and differentiation of the *Candida parapsilosis* complex species by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism of the internal transcribed spacer region of the rDNA. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 111, n. 4, p. 267-

270, 2016.

BARBEDO, Leonardo Silva et al. Comparison of four molecular approaches to identify *Candida parapsilosis* complex species. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 3, p. 214-219, 2017.

BARCHIESI, Francesco et al. Factors related to outcome of bloodstream infections due to *Candida parapsilosis* complex. **BMC infectious diseases**, v. 16, n. 1, p. 387, 2016.

BARNETT, J.A.; PAINE, R.W.; YARROW, D. **Yeasts: Characteristics and Identification**. Cambridge, Cambridge University Press, 2000.

BERTINI, Alessia et al. Comparison of *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* adhesive properties and pathogenicity. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 303, n. 2, p. 98-103, 2013.

BORGHI, E. et al. Characterization of *Candida parapsilosis* complex strains isolated from invasive fungal infections. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases**, v. 30, n. 11, p. 1437, 2011.

CLANCY, C. J.; NGUYEN, M. H. Finding the “missing 50%” of invasive candidiasis: how nonculture diagnostics will improve understanding of disease spectrum and transform patient care. **Clinical infectious diseases**, v. 56, n. 9, p. 1284-1292, 2013.

CORDEIRO, Rossana et al. The calcineurin inhibitor cyclosporin A exhibits synergism with antifungals against *Candida parapsilosis* species complex. **Journal of medical microbiology**, v. 63, n. 7, p. 936-944, 2014.

CROTTI, A. E. M., et al. Espectrometria de massas com ionização por “electrospray”: Processos químicos envolvidos na formação de íons de substâncias orgânicas de baixo peso molecular. **Química nova**, v. 29, n. 2, p. 287-292, 2006.

DA MATTA, Daniel; SOUZA, Ana; COLOMBO, Arnaldo. Revisiting species distribution and antifungal susceptibility of *Candida* bloodstream isolates from Latin American medical centers. **Journal of Fungi**, v. 3, n. 2, p. 24, 2017.

DELFINO, Demetrio et al. Potential association of specific *Candida parapsilosis* genotypes, bloodstream infections and colonization of health workers’ hands. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 11, p. O946-O951, 2014.

ELIAKIM-RAZ, Noa et al. Epidemiology, microbiology, clinical characteristics, and outcomes of candidemia in internal medicine wards—a retrospective study. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 52, p. 49-54, 2016.

FELL, J.W., et al. Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by large-subunit rDNA D1/D2 domain sequence analysis. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.**, v.50, p. 1351-1372, 2000.

FERNANDES, J.A., et al. Evolution and Application of Inteins in *Candida* species: A Review. **Front Microbiol**, v.10, n.7, p:1585, 2016.

GAGO, Sara et al. *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* virulence in the non-conventional host *Galleria mellonella*. **Virulence**, v. 5, n. 2, p. 278-285, 2014.

GONÇALVES, S. S. et al. Prevalence rates and antifungal susceptibility profiles of the *Candida parapsilosis* species complex: results from a nationwide surveillance of candidaemia in Brazil. **Clinical microbiology and infection**, v. 16, n. 7, p. 885-887, 2010.

- GONZÁLEZ, Gloria M. et al. Species distribution and antifungal susceptibility of bloodstream fungal isolates in paediatric patients in Mexico: a nationwide surveillance study. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, n. 12, p. 2847-2851, 2013.
- KURTZMAN, C.P., ROBNETT, C.J. Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.73, p. 331-371, 1998.
- LAMOTH, Frederic et al. Changes in the epidemiological landscape of invasive candidiasis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, n. suppl_1, p. i4-i13, 2018.
- LIMA-NETO, R., et al. Application of MALDI-TOF MS for requalification of a *Candida* clinical isolates culture collection. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 2, p. 515-522, 2014.
- LOVERO, G. et al. Epidemiology of candidemia in neonatal intensive care units: a persistent public health problem. **Ann Ig**, v. 28, p. 282-287, 2016.
- MARCOS-ZAMBRANO, Laura Judith et al. Antifungal resistance to fluconazole and echinocandins is not emerging in yeast isolates causing fungemia in a Spanish tertiary care center. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 58, n. 8, p. 4565-4572, 2014.
- MARINACH-PATRICE, C., et al. Rapid species diagnosis for invasive candidiasis using mass spectrometry. **PLoS One**, v. 5, n. 1, p. e8862, 2010.
- NAKASE, T., KOMAGATA, K. Taxonomic significance of base composition of yeast DNA. **J. Gen. Appl. Microbiol.**, v.14, p. 345-357, 1968.
- ORSI, Carlotta Francesca; COLOMBARI, Bruna; BLASI, Elisabetta. *Candida metapsilosis* as the least virulent member of the 'C. parapsilosis' complex. **Medical mycology**, v. 48, n. 8, p. 1024-1033, 2010.
- PAGE, B.T.; KURTZMAN, C.P. Rapid identification of *Candida* and other clinically important yeast species by flow cytometry. **J. Clin. Microbiol.**, v.43, p. 4507-4514, 2005.
- PADOVAN, A. C. B.; DE AZEVEDO MELO, A. S.; COLOMBO, A. L. Systematic review and new insights into the molecular characterization of the *Candida rugosa* species complex. **Fungal Genetics and Biology**, v. 61, p. 33-41, 2013.
- PAHO, Pan American Health Organization; WHO, World Health Organization. **Epidemiological Alert. *Candida auris* outbreaks in health care services**. published on 3 October 2016. Disponível em: <http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=36354&lang=en>
- PATEL, N.A., et al. Novel Use of Fluorescence In Situ Hybridization for the Rapid Identification of Microorganisms in Endophthalmitis and Keratitis. **Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina**, v.50, n. 5, p. S9-S12, 2019.
- PETERSON, S.W.; KURTZMAN, C.P. Ribosomal RNA sequence divergence among sibling species of yeasts. **Syst. Appl. Microbiol.**, v.14, p. 124-129, 1991.
- Price, C.W., Fuson, G.B., Phaff, H.J. Genome comparison in yeast systematics: delimitation of species within the genera *Schwanniomyces*, *Saccharomyces*, *Debaryomyces* and *Pichia*. **Microbiol. Rev.**, v.42, p. 161-193, 1978.
- PUTIGNANI, L., et al. MALDI-TOF mass spectrometry proteomic phenotyping of clinically relevant fungi. **Molecular BioSystems**, v. 7, n. 3, p. 620-629, 2011.
- QIAN, J., et al. MALDI-TOF mass signatures for differentiation of yeast species, strain grouping and monitoring of morphogenesis markers. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 392, n. 3, p. 439-

449, 2008.

RIGBY, et al. Fluorescence in situ hybridization with peptide nucleic acid probes for rapid identification of *Candida albicans* directly from blood culture bottles. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, p. 2182-6, 2002.

RODRÍGUEZ, M. L. et al. Oral mucosa as a potential source of candidemia by *Candida parapsilosis* sensu stricto, under pathological conditions SOJ Microbiol Infect Dis 6 (1): 1-10. **Oral mucosa as a potential source of candidemia by *Candida parapsilosis* sensu stricto, under pathological conditions**, 2018.

RUIZ, Luciana et al. Candidemia by species of the *Candida parapsilosis* complex in children's hospital: prevalence, biofilm production and antifungal susceptibility. **Mycopathologia**, v. 175, n. 3-4, p. 231-239, 2013.

SANTOS, C., et al., Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight intact cell mass spectrometry to detect emerging pathogenic *Candida* species. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 71, n. 3, p. 304-308, 2011.

SCORZETTI, G., et al. *Cryptococcus adeliensis* sp. nov., a xylanase producing basidiomycetous yeast from Antarctica. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.77, p. 153-157, 2000.

SILVA, C. M., et al. Neonatal candidemia caused by *Candida haemulonii*: case report and review of literature. **Mycopathologia**, v. 180, n. 1-2, p. 69-73, 2015.

STENDER, H., et al. Identification of *Dekkera bruxellensis* (Brettanomyces) from wine by fluorescence in situ hybridization using peptide nucleic acid probes. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.67, p. 938–941, 2001.

TAVANTI, Arianna et al. *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* spp. nov. to replace *Candida parapsilosis* groups II and III. **Journal of clinical microbiology**, v. 43, n. 1, p. 284-292, 2005.

TREVIÑO-RANGEL, Rogelio de J. et al. Evaluation of in vivo pathogenicity of *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* with different enzymatic profiles in a murine model of disseminated candidiasis. **Medical mycology**, v. 52, n. 3, p. 240-245, 2014.

VAN VEEN, S. Q.; CLAAS, E. C. J.; KUIJPER, E. J. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. **Journal of clinical microbiology**, v. 48, n. 3, p. 900-907, 2010.

YAMAN, G., AKYAR, I., CAN, S. Evaluation of the MALDI TOF-MS method for identification of *Candida* strains isolated from blood cultures. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 73, n. 1, p. 65–67, 2012.

SOBRE O ORGANIZADOR

BENEDITO RODRIGUES DA SILVA NETO Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado de Mato Grosso (2005), com especialização na modalidade médica em Análises Clínicas e Microbiologia (Universidade Candido Mendes - RJ). Em 2006 se especializou em Educação no Instituto Araguaia de Pós graduação Pesquisa e Extensão. Obteve seu Mestrado em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto de Ciências Biológicas (2009) e o Doutorado em Medicina Tropical e Saúde Pública pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (2013) da Universidade Federal de Goiás. Pós-Doutorado em Genética Molecular com concentração em Proteômica e Bioinformática (2014). O segundo Pós doutoramento foi realizado pelo Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde da Universidade Estadual de Goiás (2015), trabalhando com o projeto Análise Global da Genômica Funcional do Fungo *Trichoderma Harzianum* e período de aperfeiçoamento no Institute of Transfusion Medicine at the Hospital Universitätsklinikum Essen, Germany. Seu terceiro Pós-Doutorado foi concluído em 2018 na linha de bioinformática aplicada à descoberta de novos agentes antifúngicos para fungos patogênicos de interesse médico.

Palestrante internacional com experiência nas áreas de Genética e Biologia Molecular aplicada à Microbiologia, atuando principalmente com os seguintes temas: Micologia Médica, Biotecnologia, Bioinformática Estrutural e Funcional, Proteômica, Bioquímica, interação Patógeno-Hospedeiro.

Sócio fundador da Sociedade Brasileira de Ciências aplicadas à Saúde (SBCSaúde) onde exerce o cargo de Diretor Executivo, e idealizador do projeto “Congresso Nacional Multidisciplinar da Saúde” (CoNMSaúde) realizado anualmente, desde 2016, no centro-oeste do país.

Atua como Pesquisador consultor da Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Goiás - FAPEG. Atuou como Professor Doutor de Tutoria e Habilidades Profissionais da Faculdade de Medicina Alfredo Nasser (FAMED-UNIFAN); Microbiologia, Biotecnologia, Fisiologia Humana, Biologia Celular, Biologia Molecular, Micologia e Bacteriologia nos cursos de Biomedicina, Fisioterapia e Enfermagem na Sociedade Goiana de Educação e Cultura (Faculdade Padrão). Professor substituto de Microbiologia/Micologia junto ao Departamento de Microbiologia, Parasitologia, Imunologia e Patologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) da Universidade Federal de Goiás. Coordenador do curso de Especialização em Medicina Genômica e Coordenador do curso de Biotecnologia e Inovações em Saúde no Instituto Nacional de Cursos. Atualmente o autor tem se dedicado à medicina tropical desenvolvendo estudos na área da micologia médica com publicações relevantes em periódicos nacionais e internacionais. Contato: dr.neto@ufg.br ou neto@doctor.com

ÍNDICE REMISSIVO

A

Áreas degradadas 17

Avelós 11, 12, 14, 15, 53, 54, 56

B

Bactérias 2, 6, 8, 19, 26, 59, 60, 61, 62, 65, 66, 67

C

Candida parapsilosis 30, 31, 32, 34, 37, 38, 40

Controle-biológico 41

Culturas 4, 5, 7, 21, 41, 43, 44, 47, 49, 62, 63

D

Descontaminante 17

E

Enzimas 1, 2, 3, 6, 7, 11, 12, 13, 14, 19, 26, 41, 46, 48, 53, 54, 55, 56, 59, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69

Enzymes 12, 16, 42, 50, 54, 57, 60, 68, 69, 70

F

Fungal metabolites 12, 54

Fungo 4, 5, 6, 7, 8, 9, 17, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 41, 46, 47, 48, 50, 53, 54, 59, 62, 64, 71

I

Infecções fúngicas 30, 31

M

Meio-ambiente 41

Metabólitos fúngicos 12, 54

Microrganismos 1, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 13, 17, 20, 31, 35, 36, 41, 45, 53, 54, 57, 59, 60, 61, 62, 64, 65, 67

P

Poluentes 7, 17, 19, 20, 26

Produção enzimática 60, 67

S

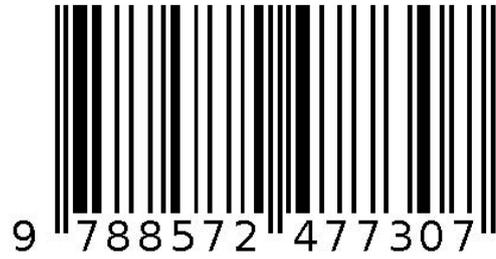
Solo 4, 15, 17, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 43, 49, 56, 61, 69, 70

T

Taxonomia 30, 34, 35

Tecnologia 2, 3, 41, 51, 61, 69

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-730-7



9 788572 477307