



REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

KARINA DONATO FOOK

**DESENVOLVIMENTO DE UM GENOSENSOR E VALIDAÇÃO DE TESTES
MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO E DIFERENCIAÇÃO DE
ESPÉCIES PATOGÊNICAS DE *Candida spp.***

São Luís - MA
2025

KARINA DONATO FOOK

**DESENVOLVIMENTO DE UM GENOSENSOR E VALIDAÇÃO DE TESTES
MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO E DIFERENCIAÇÃO DE
ESPÉCIES PATOGÊNICAS DE *Candida spp.***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia, Ponto Focal Universidade Federal do Maranhão, como requisito para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

Orientador(a): Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento.

Coorientadores: Prof. Dr. Marcos Antônio Custódio Neto da Silva e Profa. Dra. Mayara Ingrid Sousa Lima.

São Luis -MA

2025

FICHA CATALOGRÁFICA

F686d

Fook, Karina Donato.

Desenvolvimento de um genossensor e validação de testes moleculares para identificação e diferenciação de espécies patogênicas de *Candida* spp. / Karina Donato Fook. – São Luís, 2025.

145 f. : il. color. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia – RENORBIO, 2025.

Orientadora: Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento.

Coorientadores: Prof. Dr. Marcos Antônio Custódio Neto da Silva; Profa. Dra. Mayara Ingrid Sousa Lima.

1. Biossensores. 2. Eletroquímica. 3. *Candida* spp.
4. Diagnóstico molecular. 5. Genossensores. I. Título.



Universidade Federal do Maranhão
Av dos Portugueses, 1966 – Vila Bacanga, São Luís – MA, 65080-805
Telefone: 3272-8000. E-mail: renorbio@ufma.br
Homepage: <http://www.renorbio.org.br>

FOLHA DE APROVAÇÃO DE TESE

ALUNA: Karina Donato Fook

TÍTULO DO PROJETO: “Desenvolvimento de um genossensor e validação de testes moleculares para identificação e diferenciação de espécies patogênicas de *Candida spp.*”

PROFESSORA ORIENTADORA: Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento

BANCA EXAMINADORA	CONCEITO	ASSINATURA
Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento UFMA - Presidente	_____	_____
Prof. Dr. Marcos Antônio Custódio Neto da Silva UFMA – Coorientador	_____	_____
Profa. Dra. Mayara Ingrid Sousa Lima UFMA – Coorientadora	_____	_____
Profa. Dra. Ana Lúcia Abreu UFMA – Titular	_____	_____
Profa. Dr. Ulisses Magalhães Nascimento UFMA – Titular	_____	_____
Prof. Dra. Raquel Maria Trindade Fernandes UEMA – Titular	_____	_____
Profa. Dra. Adriana Leandro Câmara UFMA – Titular	_____	_____
Profa. Dra. Amanda Mara Teles UEMA - Suplente	_____	_____
Prof. Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes UFMA (Externa) - Suplente	_____	_____
Prof. Dr. Rui Miguel Gil da Costa Oliveira UFMA - Suplente	_____	_____
Prof. Dra. Geusa Felipa de Barros Bezerra UFMA (Externa) - Suplente	_____	_____

DATA DA APROVAÇÃO: 30/09/2025

HORÁRIO: 14:00 H

LOCAL: GOOGLE MEET

KARINA DONATO FOOK

**DESENVOLVIMENTO DE UM GENOSENSOR E VALIDAÇÃO DE TESTES
MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO E DIFERENCIAÇÃO DE
ESPECIES PATOGENICAS DE *Candida* spp.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia, Ponto Focal Universidade Federal do Maranhão, como requisito para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia – Área de Concentração em Biotecnologia em Saúde.

Aprovada em:

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento
UFMA – Orientadora

Prof. Dr. Marcos Antônio Custódio Neto da Silva
UFMA – Coorientador

Profa. Dra. Mayara Ingrid Sousa Lima
UFMA – Coorientadora

Profa. Dra. Ana Lúcia Abreu Silva
UEMA - 1º Examinador

Prof. Dr. Ulisses Magalhães Nascimento
UFMA – 2º Examinador

Profa. Dra. Raquel Maria Trindade Fernandes
UEMA – 3º Examinador

Profa. Dra. Adriana Leandro Camara
UFMA – 4º Examinador

Profa. Dr. Amanda Mara Teles
UFMA – Suplente

Profa. Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes
UFMA – Suplente

Profa. Dr. Rui Miguel Gil da Costa Oliveira
UFMA – Suplente

Profa. Dra. Geusa Felipa de Barros Bezerra
UFMA – Suplente

Aos meus pais Carlos Léo Fook (*in memorium*) e Benedita Raudecy Donato Fook (*in memorium*) pela vida, amor, valores e ensinamentos. E aos meus filhos Felipe, Larissa e Gustavo pelo amor, apoio e paciência.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e todas as bênçãos a mim concedidas.

Em especial à minha mãe, Benedita Raudeci Donato Fook (*in memoriam*) e ao meu pai, Carlos Léo Fook (*in memoriam*) por todo amor, cuidado, dedicação, abnegação, ensinamentos e compreensão. Aos meus irmãos Karla, Klauber e Karolyne sempre prontos a me apoiar e ajudar. Aos meus filhos Felipe, Larissa e Gustavo por todo amor, carinho, compreensão e apoio.

À Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), em especial ao ponto focal do Maranhão (UFMA) sob a coordenação do Prof. Dr. Antonio Marcus Paes e sua equipe pelas orientações e apoio.

À minha orientadora Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento, ser humano admirável, brilhante e inspiradora, por todo o cuidado, orientação e paciência da concepção ao final desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Marcos Antônio Custódio Neto da Silva, meu coorientador, pelo seu apoio, cuidado e orientação.

À Profa. Dra. Mayara Ingrid Sousa Lima, minha coorientadora, pelo seu apoio, amizade, cuidado e orientação.

Ao Instituto Militar de Engenharia (IME-RJ) na pessoa do Prof. Dr. Fernando Manuel Araújo Moreira e sua equipe pelo apoio, ensinamentos e ajuda.

Ao Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada da UFMA (NIBA) por me permitir desenvolver parte desse estudo em seu laboratório. E aos amigos do NIBA que me ajudaram, a Rita de Nazaré, Marrieth Gonçalves, Carol Borges, Kênia, Kátia Regina e Amanda Teles.

Ao Laboratório de Genética e Biologia Molecular da UFMA (Labgen), especialmente a Profa. Mayara Ingrid Lima Sousa e os amigos: Pedro Henrique Albuquerque, Santana, Gisele Holanda de Sá, que foram essenciais na execução desta pesquisa.

Ao Núcleo de Análise de Resíduos Pesticidas da UFMA (NARP), em especial o Prof. Ulisses Nascimento e as doutorandas Carmen e Djanira pelo apoio e auxílio fundamental na execução da pesquisa.

Ao Laboratório de Genética da UFMA, a Profa. Flávia Vidal e o Prof. Marcelo Andrade.

Ao Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão, a Profa. Dra. Joyce Lages, Profa. Dra. Rita Carvalhal. E ainda ao DADT, ULAC, CEPEC e LEGH pelo apoio, ajuda e amizade, em especial Ana Luiza Rodrigues Bezelga Assef, Rosália Martins, Patricia Saldanha, Sullayne Guimarães, Marcelo Magalhães e todos os colegas que direta ou indiretamente contribuíram para este trabalho acontecer.

“Aprender é a única coisa de que a mente
nunca se cansa, nunca tem medo e
nunca se arrepende.”

(Leonardo da Vinci)

RESUMO

O diagnóstico das infecções fúngicas invasivas ocasionadas por espécies do gênero *Candida* continua sendo um desafio significativo na prática clínica, especialmente em ambientes hospitalares. Estima-se que existam cerca de 6,5 milhões de pessoas com infecções invasivas, onde 3,8 milhões de pessoas morrem por doenças fúngicas invasivas (IFDs) por ano. As candidemias representam uma das causas mais comuns de infecções em humanos, sendo a *Candida albicans* a espécie mais prevalente, responsável por 40% da taxa mundial de infecções sistêmicas. Embora, métodos modernos, como espectrometria de massas MALDI-TOF, VITEK e a Reação de Cadeia Polimerase (PCR) tenham ampliado a acurácia e sensibilidade diagnóstica, ainda existem uma lacuna importante quanto a eficiência, o custo e a disponibilidade de abordagens rápidas, acessíveis e aplicáveis em tempo real na rotina clínica. A detecção precoce é essencial para implantação de terapias antifúngicas eficazes, contribuindo para a redução da morbimortalidade e do tempo de internação hospitalar. O objetivo desse trabalho é desenvolver um genossensor e validar testes moleculares para identificar e diferenciar espécies patogênicas *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*, com grande sensibilidade e especificidade, resultado rápido e baixo custo. Este trabalho propôs um biossensor eletroquímico utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono, nanopartículas de óxido ferro e as sondas de DNAs (ECV/NTCPM/Fe₂O₃) para detecção e diferenciação das espécies de *Candidas* aqui estudadas. O eletrodo FeNP-CNT-DNA apresentou resultados significativos de corrente na presença de *C. albicans*, confirmando a viabilidade do genossensor na detecção eletroquímica do patógeno e possibilitando a continuidade do desenvolvimento do biossensor proposto. E ainda, foi evidenciado que a técnica de PCR convencional se destacou em comparação aos métodos MALDI-TOF e VITEK mediante seu custo intermediário e sua ótima sensibilidade e especificidade para detecção da *Candida spp.*, em especial por ter sido a técnica que conseguiu identificar o maior número de coinfeções nas amostras examinadas, fator essencial para um manejo terapêutico mais assertivo em busca da cura dos pacientes.

Palavras-chave: Biossensor, eletroquímica, candidemias, *Candida spp.*, DNA.

ABSTRACT

The diagnosis of invasive fungal infections caused by species of the *Candida* genus remains a significant challenge in clinical practice, especially in hospital settings. It is estimated that there are approximately 6.5 million invasive infections, with 3.8 million people dying from invasive fungal diseases (IFDs) each year. Candidemias represent one of the most common causes of fungal infections in humans, with *Candida albicans* being the most prevalent species, responsible for 40% of the global rate of systemic infections. Although modern methods such as MALDI-TOF mass spectrometry, VITEK, and Polymerase Chain Reaction (PCR) have increased diagnostic accuracy and sensitivity, an important gap remains regarding the efficiency, cost and availability of faster, more accessible, and real-time approaches applicable in clinical practice. Early detection is essential for the implementation of effective antifungal therapies, contributing to a reduction in morbidity and length of hospital stay. The objective of this work is to develop a genosensor and validate molecular tests to identify and differentiate *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, and *Candida parapsilosis*, with high sensitivity and specificity, rapid results, and low cost. This work proposed an electrochemical biosensor using a glassy carbon modified with iron oxide nanoparticles, carbon nanotubes, and DNA probes (ECV/NTCPM/Fe₂O₃/DNA) for detection and differentiation of the *Candida* species studied here. The FeNP-CNT-DNA electrode showed significant current results in the presence of *C. albicans*, confirming the viability of the biosensor for electrochemical detection of the pathogen and the continued development of the genosensor. Furthermore, it was found that the conventional PCR technique stood out in comparison to the MALDI-TOF and VITEK methods due to its intermediate cost and excellent sensitivity and specificity for detecting *Candida spp.*, especially because it was the only technique that managed to identify the largest number of co-infections in the samples examined, an essential factor for more assertive therapeutic management in the search for a cure for patients.

Keywords: Biosensor, electrochemistry, candidemia, *Candida spp.*, DNA.