II Congresso Nacional de Microbiologia Clínica On-line

DESENHO E PADRONIZAÇÃO DE PRIMERS PARA DETECÇÃO DE GENES DE RESISTÊNCIA À CARBAPENÊMICOS ENGLOBANDO MAIS DE 200 VARIANTES.

GIOVANA DALPIAZ; NATASHA MALGAREZI; MARIANA ROST MEIRELES; PRISCILA LORA

Introdução: A resistência bacteriana aos antibióticos carbapenêmicos corresponde atualmente a uma grande preocupação para a saúde pública, por estar associada a uma maior taxa de mortalidade e morbidade. A detecção precoce da resistência bacteriana a estes antibióticos diminui o tempo de hospitalização bem como complicações decorrentes de infecções. A associação de técnicas de biologia molecular e microbiologia tem potencial para agilizar e qualificar o diagnóstico clínico de resistência. **Objetivo:** O objetivo do presente estudo foi estabelecer primers para *Polymerase chain reaction* (PCR) que detectem as variantes mais prevalentes dos genes blaKPC, blaNDM, blaOXA e blaVIM. **Material e métodos:** Para tal, fizemos uma busca pelos genes no NCBI procurando sequências de nucleotídeos que pudessem ser usadas como primers, considerando os seguintes aspectos: tamanho entre 18-25 pares de base (pb), conteúdo G-C entre 40 e 60%, temperatura de Melting entre 58ºC e 60ºC, produto amplificado com cerca de 500-1000pb. Além disso, buscamos evitar complementaridade entre os primers. Utilizamos o software Primer 3 Plus seguindo as condições estipuladas acima, e verificamos os oligonucleotídeos escolhidos na ferramenta NetPrimer. **Resultados:** A partir dos resultados obtidos, utilizamos a ferramenta BLAST do NCBI para verificar as variantes de cada gene de resistência que poderiam ser amplificadas a partir dos primers desenhados. **Conclusão:** Concluímos que é possível identificar 88 variantes blaKPC (Primer Forward: 5'CAGCTCATTCAAGGGCTTTC'3 / Primer Reverse: 5'TATGGCACGGCAAATGACTA'3, temperatura anelamento: 50ºC), 36 blaNDM (Primer Forward: 5'CCAGCAAATGGAAACTGGC3'/ Primer Reverse: 5'ATCACGATCATGCGTGCCT3'3 temperatura anelamento: 66ºC), 41 blaOXA (Primer Forward: 5'ATTCCCAATAGCTTGATCGC'3/ Primer Reverse: 5'TGGTGGGTCGGTTGGGTT'3 temperatura anelamento: 51ºC) e 74 blaVIM (Primer Forward: 5'TGTCCGTGATGGTGATGAGT'3 / Primer Reverse: 5'GTGCTTCCGGGTAGTGTTGT'3 temperatura anelamento: 55ºC). Os primers foram testados a partir de culturas bacterianas de isolados clínicos que possuíam os genes de resistência. Para verificar sua especificidade utilizamos uma *Klebsiella spp.* como controle negativo. A aplicação da biologia molecular junto à microbiologia permitiu diferenciar bactérias resistentes e não-resistentes à carbapenêmicos com precisão. Além disso, os primers desenhados se mostraram específicos para cada um dos genes e suas variantes correspondentes, permitindo discriminar entre os tipos de resistência. Essas metodologias podem potencialmente facilitar a prescrição e aumentar a assertividade de medicamentos.

Palavras-chave: Carbapenêmicos, Primers, Resistência.