

Núcleo de Avaliação: Núcleo I

Área temática: Ciências Biológicas

Área do Conhecimento: Microbiologia

Padronização da identificação de espécie através da técnica de PCR em isolados de *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* de origem hospitalar

Arthur Mousinho de Andrade Veríssimo, Ana Larissa Pereira de Moura, Lucas Matos Victor, Caio Augusto Martins Aires

A identificação fenotípica baseada em testes bioquímicos para as espécies *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* é insuficiente para realizar uma identificação adequada e segura. Métodos moleculares se mostram mais eficazes para diferenciar tais espécies bacterianas. Métodos de PCR vêm sendo desenvolvidos, pois amplificam genes específicos, garantindo uma identificação bacteriana mais confiável. Nesse sentido, este estudo, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UERN (4.708.190), visa padronizar a identificação baseada em PCR em isolados de *Acinetobacter* sp. e *Pseudomonas* sp. de origem hospitalar. Iniciando com a utilização dos isolados bacterianos de amostras clínicas de um hospital regional em Mossoró-RN armazenados na bacterioteca Laboratório de Microbiologia Clínica da UFERSA. Identificou-se os isolados usando provas bioquímicas de carboidratos (Ágar TSI), utilização do citrato (Ágar Citrato de Simmons), produção de urease (Ágar Base Uréia), motilidade, formação de indol e produção de sulfeto (Ágar SIM), produção de oxidase e capacidade de descarboxilação da lisina (LIA). Posteriormente, foi extraído o DNA dos isolados por lise mecânica e centrifugação para serem utilizados na PCR de identificação. No qual foram utilizados oligonucleotídeos para amplificação dos genes *recA*, região ITS e *bla*_{OXA-51-like}, para identificação de *A. baumannii* e o gene 16S rDNA para identificação de *P. aeruginosa*. Usaram-se 12,5 µL de Mastermix (Promega®), 2 µL de DNA, 8,5 µL de água pura, 1 µL de oligonucleotídeo *forward* e 1 µL de oligonucleotídeo *reverse* para cada sequência a ser amplificada, totalizando 25 µL de solução. Os parâmetros de ciclagem da PCR foram ajustados de acordo com a temperatura de anelamento dos oligonucleotídeos, sendo os amplicons visualizados em gel de agarose a 1,5% corado com GelRed (Invitrogen®) (10µL) e a corrida de eletroforese realizada a 100 volts, 200 mA por 50 minutos. Recuperaram-se 40 isolados de *Acinetobacter* sp e 40 isolados de *Pseudomonas* sp, 80 ao total. Maioria multirresistente aos antimicrobianos, coletados nos anos de 2019 a 2024. Principalmente da UTI. A maioria dos isolados veio de secreção traqueal, seguido de urina e sangue. Todos os isolados caracterizados por provas bioquímicas como *Acinetobacter* sp. apresentaram a amplificação dos genes *recA*, seguido de 97,5% que apresentaram o gene da região ITS evidenciando-os como *A. baumannii*. Todos apresentaram o gene *bla*_{OXA-51-like}. Por outro lado, 90% dos isolados caracterizados por

provas bioquímicas como *Pseudomonas* sp. apresentaram a amplificação do gene 16S rDNA gênero-específico, seguido de 85% dos isolados com o 16s rDNA espécie-específico, identificados então como *P. aeruginosa*. Desse modo, a PCR foi eficaz para identificar *A. baumannii* e *P. aeruginosa* dentre os isolados de origem hospitalar, confirmando a identificação bioquímica e mostrando-se mais exata, sem discrepâncias.

Palavras-chave: amplificação de genes, identificação bacteriana, região ITS, gene *recA*, 16S rDNA.

Agência financiadora: PICI-UFERSA.

Campus: Mossoró.
