

Núcleo de Avaliação: Núcleo I

Área temática: Microbiologia

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas

Adaptação de protocolos de reação em cadeia da polimerase (PCR) uniplex e multiplex para diagnóstico da resistência antimicrobiana em bactérias de interesse na saúde pública

Gabriela Vieira Bernardo, Beatriz da Silva Carneiro, Ana Larissa Pereira de Moura, Yago Queiroz dos Santos, Caio Augusto Martins Aires.

A resistência antimicrobiana representa um dos maiores desafios da microbiologia clínica, comprometendo a eficácia terapêutica e contribuindo para o aumento da morbimortalidade hospitalar. A detecção rápida e precisa de genes de resistência e virulência, é essencial para o diagnóstico e controle epidemiológico de bactérias multirresistentes. Nesse contexto, a otimização de protocolos de PCR pode reduzir custos laboratoriais sem perda de desempenho, tornando o diagnóstico molecular mais acessível e sustentável. Foram utilizados isolados bacterianos multirresistentes de amostras hospitalares e clínicas de Mossoró-RN que estavam presentes no Laboratório de Microbiologia Clínica (LABMIC) da UFERSA. O estudo teve como objetivo adaptar protocolos de PCR uniplex e multiplex para detecção de genes de resistência antimicrobiana, com ênfase na redução do volume total da reação, visando economia de reagentes sem perda de sensibilidade e especificidade. Para atingir esse objetivo, foram conduzidos testes experimentais que envolveram a extração de DNA realizada exclusivamente por banho ultrassônico, com três ciclos de 30 segundos seguidos de centrifugação. A detecção dos genes foi realizada por PCR uniplex e multiplex. O volume total da reação foi reduzido de 25 µL para 15 µL (7,5 µL de Master Mix, 5,5 µL de água, 0,5 µL de cada oligonucleotídeo 1 µL de DNA). Controles positivos para *bla_{VIM}* e *bla_{IMP}* foram padronizados e utilizados para identificação dos genes nas bactérias do laboratório, e os produtos de amplificação foram visualizados em gel de agarose a 1,5% corado com GelRed na quantidade de 5 µL. O método de extração por banho ultrassônico demonstrou ser eficaz na obtenção de DNA adequado para amplificação. A redução do volume da reação para 15 µL proporcionou economia de reagentes sem comprometer a eficiência da PCR. Os protocolos uniplex e multiplex detectaram com sucesso os genes em isolados clínicos, com bandas nítidas e específicas. Os controles positivos confirmaram a confiabilidade dos oligonucleotídeos e a robustez dos protocolos. A multiplexação permitiu a detecção simultânea de múltiplos genes como o *bla_{KPC}* e *bla_{NDM1}* mantendo a qualidade das amplificações mesmo em volumes reduzidos. A adaptação dos protocolos de PCR com redução de volume e uso do banho ultrassônico como método de extração mostrou-se uma alternativa viável, econômica e eficiente para detecção de genes de resistência antimicrobiana em bactérias multirresistentes. Essa abordagem otimiza o uso de recursos laboratoriais e pode ser aplicada rotineiramente em laboratórios clínicos, contribuindo para o diagnóstico precoce e o controle da disseminação desses patógenos.

Palavras-chave: Resistência antimicrobiana, PCR multiplex, redução de custos.

Agência financiadora: PIVIC.

Campus: Mossoró.