



XXIX CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (CIC)
2019
UACSA, UAST, UFAPE, CODAI e UEADTEC
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Coordenação de Programas Especiais



ANALISE DA INFLUÊNCIA DO NÚMERO DE CÓPIAS NA EXPRESSÃO DO GENE *blaKPC* EM ISOLADOS CLÍNICOS DE *Morganella Morganii* E *Providencia Stuartii*

Michelly Maria Pereira e Oiveira¹; Ana Paula Domingues de Lima²; Paula Mariana Salgueiro de Souza²; Anna Carolina Soares Almeida¹
E-mail: Michelly.poliveira@hotmail.com

1 Universidade Federal Rural De Pernambuco, UFRPE

2 Universidade De Pernambuco, UPE

As *enterobactérias* tem se destacado na prática clínica pela detecção de mecanismos enzimáticos que conferem resistência a antimicrobianos, destacando-se a *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) devido a sua rápida disseminação mundial ocasionada pela localização do gene *blaKPC* em grandes plasmídios transferíveis e transposons. Recentemente, um fenótipo não usual foi observado em isolados clínicos de *P. stuartii* e *M. morganii* e seus respectivos transformantes, onde as células de *E. coli* receptoras de plasmídeos que carregavam o gene *blaKPC*, apresentaram valores de CIMs, para alguns beta-lactâmicos, maiores do que nos isolados clínicos. Além disso, outros estudos sugerem que o gene *blaKPC* pode apresentar diferentes níveis de expressão a depender do número de cópias, influenciando diretamente nos níveis de resistência aos carbapenêmicos. O objetivo deste trabalho é analisar a influência do número de cópias do gene *blaKPC* nos diferentes níveis de expressão. O DNA genômico dos isolados bacterianos foi extraído a partir do kit Promega™ Wizard™ Genomic DNA Purification conforme orientações do fabricante, e em seguida, foi quantificado através do equipamento Qubit® 2.0 Fluorometer, seguindo as orientações do fabricante. Os genes de controle endógenos foram retirados da literatura depois de uma busca robusta. Esses genes foram analisados *in silico* e incluídos no estudo. Utilizando bancos de dados, softwares e outras ferramentas, foram desenhados os primers. Para a realização da quantificação absoluta, foi realizada uma quantificação relativa, baseada em uma proporção da relação quantitativa entre alvo e o controle endógeno ($2^{-\Delta\Delta Cq}$), utilizando equipamento Stepone™ Real-time PCR System (Applied Biosystems) e o corante SYBR® Green. Os primers desenhados foram validados devido ao corante escolhido ser um intercalante de dsDNA, visando avaliar sua eficiência (tufMm - 93.019, tufPs - 90.228 e tufKp - 103.474, ambos com R2 de 0.99). Os dados gerados pelos experimentos de qPCR foram associados com os distintos perfis fenotípicos observados e a partir dos ensaios foi determinado que o número de cópias do gene *blaKPC* para os isolados transformantes e para os isolados clínicos não variam significativamente, portanto outro mecanismo deveria ser interferindo na expressão do gene *blaKPC*, influenciando diretamente os níveis de resistência.

Palavras-chave: *blaKPC*, Genes de resistência, Número de cópias, Enterobacterias.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas

Realização:



Apoio:



FUNDAÇÃO APOLÔNIO SALLES
F A D U R P E