



Evento	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2013
Local	Porto Alegre - RS
Título	IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE ESPÉCIES DE Acinetobacter ATRAVÉS DO SEQUENCIAMENTO DO GENE 16S rRNA e rpoB
Autor	JULIANO DELLAZEN DA SILVA
Orientador	GERTRUDES CORÇÃO

O gênero *Acinetobacter* compreende cocobacilos Gram-negativos, que estão amplamente distribuídos no solo e na água, e têm emergido como importantes patógenos nosocomiais. Até o momento, foram descritas 27 espécies de *Acinetobacter* reconhecidas e validadas, 6 espécies propostas e 28 classificadas como genoespécies por compreenderem diversas cepas em cada grupo. Dessas, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter* genoespécie 3 e *Acinetobacter* genoespécie 13TU são consideradas as espécies de maior relevância clínica. Porém faltam métodos precisos que identifiquem isolados de *Acinetobacter* a nível de espécie, o que compromete o conhecimento sobre a ecologia e epidemiologia desses microrganismos. A identificação fenotípica é insuficiente para diferenciação das espécies de *Acinetobacter*, contudo vários métodos moleculares têm demonstrado ser adequados para este propósito. Entretanto o sequenciamento do gene codificador da porção 16S do rRNA, atualmente utilizado para a identificação de diversas espécies bacterianas, mostra falhas na distinção entre espécies estreitamente relacionadas de *Acinetobacter*. Isso porque o gene 16S rRNA nessas cepas apresenta baixa natureza polimórfica. Estudos demonstram que a análise do gene *rpoB*, que codifica a porção β da RNA polimerase, é um método confiável e rápido para a identificação de espécies de *Acinetobacter*. Desta forma o presente trabalho tem como objetivo identificar a espécie de 16 isolados de origem clínica e 3 de efluente hospitalar de *Acinetobacter* sp. através da amplificação do gene 16S rRNA e do gene *rpoB* pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) e verificar qual é a mais discriminativa. Para tanto foi realizada a extração de DNA dos isolados conforme descrito por Misbah et al. (2005), com modificações. Os isolados foram cultivados em placas contendo ágar triptona de soja (TSA) a 37°C por 24 horas. Após a incubação, foram selecionadas de 2 a 3 colônias que foram suspensas em 100 μ L de água MiliQ e fervidas durante 10 minutos. Após a fervura os isolados foram centrifugados a 12000 g por 10 minutos, resultando num sobrenadante contendo DNA bacteriano que foi então separado e utilizado para identificação dos isolados. Para a identificação das espécies de *Acinetobacter* foi empregada PCR dos genes 16S rRNA e *rpoB*. Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose e corados por solução de brometo de etídio para posterior visualização em um transiluminador de luz ultravioleta (UV). Os amplicons foram purificados utilizando o kit de purificação (Innsorb Fragment Clean Up 250) e submetidos ao sequenciamento automatizado (ABI-PRISM 3100 Genetic Analyzer). A pesquisa da homologia da sequência nucleotídica foi realizada utilizando a ferramenta BLAST, na qual as sequências foram alinhadas e comparadas com sequências já publicadas de diferentes espécies de *Acinetobacter*. Quanto aos resultados obtidos através da amplificação do gene 16S rRNA, 15 isolados apresentaram 100% de similaridade com a espécie *A. baumannii*; 1 isolado apresentou similaridade de 100% com as espécies *A. baumannii*, *A. soli*, *A. junii*, *A. venetianus* e *A. ursingii*; 1 isolado teve similaridade máxima de 96% com as espécies *A. baumannii*, *A. soli*, *A. beijerinckii*, *A. radioresistens*, *A. lwoffii* e *A. junii*; 2 isolados não foram identificados. No momento está sendo realizada a amplificação do gene *rpoB* dos isolados para posterior análise das sequências. Os resultados prévios demonstram que o gene 16S rRNA não foi capaz de distinguir a espécie de 2 isolados. Com o estudo utilizando o gene *rpoB* espera-se fazer a confirmação das espécies de *Acinetobacter* já identificadas pelo gene 16S rRNA e a identificação dos demais isolados (CAPES).