Mecanismos de Desenvolvimento Limpo (MDL)/ Crédito de Carbono: Um estudo da aplicabilidade de Projetos em Joinville (SC)

Defesa:
Joinville, 16 de março de 2010

Membros da Banca Examinadora:
Profa. Dra. Nelma Baldin - Orientadora
Prof. Dr. Vladimir Passos de Freitas (PUC/PR)
Prof. Dr. Ozair Souza (UNIVILLE)

Resumo:

Sepse é uma infecção generalizada associada à elevada mortalidade em ambientes hospitalares. São conhecidos alguns dos fatores responsáveis, como o diagnóstico tardio e a terapia imprecisa à base de antibióticos. Testes moleculares baseados na técnica PCR (*Polymerase Chain Reaction*) apresentam resultados mais rápidos e precisos possibilitando uma terapêutica com maiores chances de sucesso. OBJETIVO DO ESTUDO: Desenvolver e padronizar um painel de iniciadores visando à amplificação em parâmetros únicos de reação de segmentos específicos de DNA de microrganismos associados com a sepse, permitindo um diagnóstico rápido. MÉTODOS: Cinco pares de iniciadores para a amplificação de sequências codificantes dos microrganismos *Enterobacter spp., Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* e *Candida spp*., foram desenvolvidos e testados quanto ao limite de detecção e à especificidade por amplificação do fragmento gênico correspondente as cepas padrão dos microrganismos em estudo. RESULTADOS: Foram obtidas amplificações empregando as mesmas condições de reação e termociclagem para os microrganismos: *Enterobacter* spp. *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Candida sp*p. Os iniciadores desenvolvidos para *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* e *Candida spp* apresentaram especificidade, entretanto não foi possível diferenciar entre os microrganismos *Enterobacter* spp. e *Escherichia coli*, então adicionalmente foram planejados iniciadores específicos para *Escherichia coli* para o diagnóstico discriminatório entre os microrganismos, quando necessário. Quanto ao limite de detecção o sistema desenvolvido foi capaz de amplificar quantidades de 5ng a 500fg de DNA por reação a partir de amostras de sangue contaminadas propositadamente com as espécies microbianas, confirmando a possibilidade de aplicação em amostras clínicas. O painel molecular proposto oferece como vantagem adicional ser um sistema "aberto" quando comparado com outros métodos como Multiplex PCR e, permitir um diagnóstico rápido.