



VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA EM TEMPO REAL DE BACTÉRIAS CAUSADORAS DE IST A PARTIR DO MATERIAL CLÍNICO POR qPCR-HRM.

Bolsista: Letícia Gouveia da Silva; Orientador: Ivano de Filippis

Laboratório de Microrganismos de Referência - DM

INTRODUÇÃO

As Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST) são doenças transmitidas por via sexual, ou seja, por relações sexuais sem o uso de preservativos. Diferentes agentes etiológicos podem causar IST, apresentando diferentes sintomas, como feridas, verrugas, disúria, corrimento, abortos, etc. Entre as IST causadas por bactérias, a gonorréia causada pela bactéria *Neisseria gonorrhoeae*, é uma das mais frequentes no mundo, com 78 milhões de pessoas infectadas por ano. No Brasil não é diferente, no entanto como apenas os casos de HIV e de sífilis são notificados obrigatoriamente ao Ministério da Saúde, é difícil ter estatísticas fidedignas sobre as outras IST.

As IST constituem os cinco tipos de doenças para as quais os adultos mais procuram ajuda médica. Além do diagnóstico clínico e laboratorial, o Teste de Suscetibilidade aos Antimicrobianos (TSA) também é primordial para o sucesso do tratamento. O TSA pode ser apenas qualitativo ou quantitativo pela determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). Em ambos os casos é preciso cultivar a bactéria que precisa estar viável e pura para realização do teste. A *N. gonorrhoeae* é uma bactéria em forma de cocos, Gram negativa e considerada fastidiosa, isto é, de difícil cultivo. Os novos métodos de diagnóstico molecular baseados na PCR nos permitem a detecção do DNA genômico deste agente diretamente do material clínico (geralmente secreção uretral) e também de genes associados à resistência microbiana também por PCR convencional ou PCR em tempo real (qPCR) com uso de sondas (Taqman).

OBJETIVO

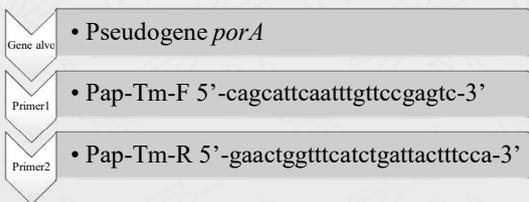
Desenvolver um sistema de diagnóstico de baixo custo para as IST, a partir do material clínico, utilizando qPCR e como pós análise o High Resolution Melting (HRM).

METODOLOGIA

• TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE



• qPCR-HRM



RESULTADOS PRELIMINARES

- Para a determinação da susceptibilidade aos antimicrobianos, foram testados os seguintes antibióticos: penicilina (PEN), cefotaxima (CTX), ceftriaxona (CRO), ciprofloxacina (CIP), azitromicina (AZI) e tetraciclina (TET) (Figura 1). Das cepas analisadas quanto à susceptibilidade (n=9), 6 (66%) foram classificadas como MDR sendo 4 resistentes a 4 classes de antibióticos.

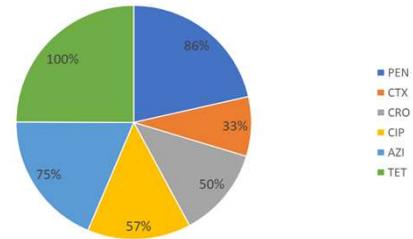


Figura 1. Suscetibilidade aos antimicrobianos das cepas analisadas. O gráfico mostra a porcentagem de cepas resistentes por disco-difusão e confirmadas pelo CIM.

- Foram analisadas 30 amostras clínicas suspeitas de *N. gonorrhoeae* e seis cepas de referência (Figura 2), para a determinação da Tm específica da espécie.

Cepas de referência	Origem	Tm*
INCQS 00267	ATCC 19424	81,97°C
INCQS 00137	CDC 76-061782	81,91°C
INCQS 00601	IAL 1991	81,46°C
INCQS 00602	IAL 1890	81,92°C
INCQS 00603	IAL 1891	81,87°C
INCQS 00605	IAL 652	81,88°C

Figura 2. Média da Tm após várias repetições em dias diferentes.

- Das 30 amostras suspeitas de *N. gonorrhoeae*, nove (30%) foram confirmadas apresentando Tm dentro da faixa definida para as cepas de referência. (Figura 2)

Cepa INCQS	Espécie	Tm
Paciente 1	<i>N.gonorrhoeae</i>	81,10°C
Paciente 2	<i>N.gonorrhoeae</i>	81,06°C
Paciente 3	<i>N.gonorrhoeae</i>	81,18°C
Paciente 4	<i>N.gonorrhoeae</i>	81,95°C
Paciente 5	<i>N.gonorrhoeae</i>	81,28°C
Paciente 6	<i>N.gonorrhoeae</i>	81,06°C
Paciente 7	<i>N.gonorrhoeae</i>	81,07°C
Paciente 8	<i>N.gonorrhoeae</i>	81,42°C
Paciente 9	<i>N.gonorrhoeae</i>	81,02°C

Figura 3. Resultado das Tm registradas

CONCLUSÕES

- A Tm para identificação da *N. gonorrhoeae* foi determinada em 81,9°C e a faixa de detecção é de 80,9°C a 81,9°C.
- Os resultados obtidos mostram a necessidade de um contínuo monitoramento da susceptibilidade aos antimicrobianos.