

DETERMINAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE À ANTIMICROBIANOS DE ISOLADOS DE PORTADORES DE *Neisseria meningitidis*. ANÁLISE MOLECULAR DOS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA.

Bolsista: Rayana Sales Azevedo. Co-orientador: Talita Coelho de Souza. Orientador: Ivano de Filippis.

Laboratório de Microrganismos de Referência - DM

Introdução

Neisseria meningitidis (Nm), é uma bactéria diplococo Gram-negativo, microaerófilo, imóvel que habita normalmente a nasofaringe dos seres humanos. Nm, por ser uma bactéria oportunista, pode permanecer na mucosa faríngea, o que torna o indivíduo um portador assintomático, ou pode invadir a mucosa e alcançar a corrente sanguínea causando a doença meningocócica (DM), que pode se manifestar como septicemia (meningococemia) ou meningite (meningite meningocócica), ou a associação de ambas condições. É classificada em 12 sorogrupos de acordo com a cápsula polissacarídica sendo os tipos A, B, C, X, Y e W135 responsáveis por mais de 90% dos casos em todo o mundo.

A DM apresenta uma série de sintomas, variando de febre alta, rigidez de nuca, vômito em jato e petéquias. O tratamento e profilaxia são realizados através de antibioticoterapia, utilizando antimicrobianos como penicilinas, ampicilina e ceftriaxona (Beta-lactâmicos), ácido nalidixico e ciprofloxacina (Quinolonas), cloranfenicol e rifampicina. A prevenção da doença é realizada através da administração de vacinas sorogrupo específicas (A, C, X, W135, Y) além da vacina exclusivamente proteica contra o sorogrupo B.

Resistência aos antimicrobianos em *N. meningitidis*

Embora *N. meningitidis* permaneça suscetível aos antimicrobianos comumente utilizados no tratamento e quimioprofilaxia da DM (VAZQUEZ, 2001), a emergência de amostras resistentes ou com susceptibilidade diminuída à penicilina, ampicilina, cloranfenicol, ciprofloxacina, azitromicina e rifampicina tem sido descrita nos últimos anos.

Portadores Assintomáticos

Acredita-se que o portador assintomático é imunizado pelo desenvolvimento de anticorpos bactericidas, evento desencadeado pela colonização. Entretanto, os portadores são considerados a principal fonte de transmissão de cepas patogênicas de *N. meningitidis* e os responsáveis pela manutenção da espécie na natureza. Não-portadores são considerados como grupo de risco para aquisição da DM, pois a capacidade de manter uma relação comensal com *N. meningitidis* é desconhecida.

Objetivo

Pesquisar a ocorrência de cepas de meningococos com susceptibilidade reduzida aos beta-lactâmicos, às quinolonas, cloranfenicol, azitromicina e rifampicina, isoladas de portadores assintomáticos de *N. meningitidis*.

Metodologia

• Caracterização dos isolados:

- 40 cepas isoladas de portadores assintomáticos na faixa etária de 15 a 35 anos.
- Período de 2016 a 2018.
- Identificação por meio de provas bioquímicas e PCR com alvo nos genes *nspA* e *rplF*.
- Sorogrupos determinados por sorologia e *siaD*-PCR.

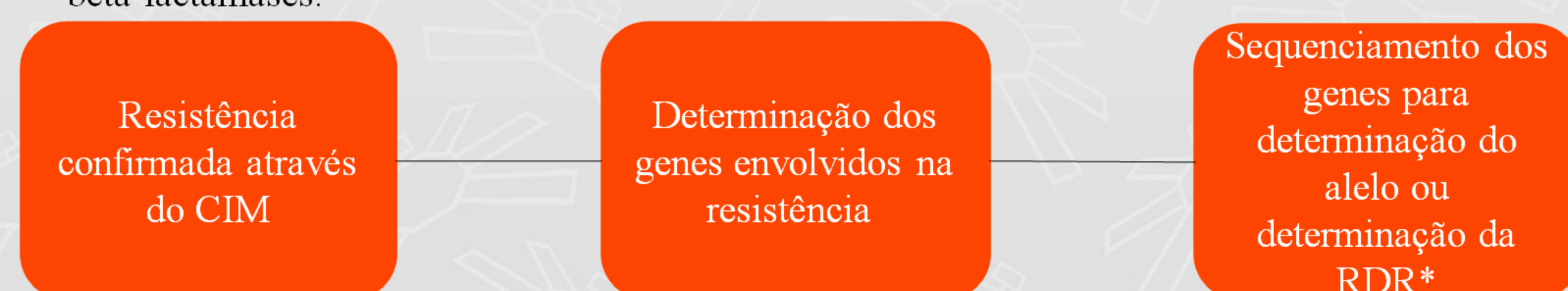
• Métodos fenotípicos:

- Triagem das cepas por disco difusão



• Métodos genotípicos:

- Cepas resistentes aos beta-lactâmicos serão previamente testadas para produção de beta-lactamases.



*RDR = Região Determinante da Resistência

Conclusão

Os resultados obtidos serão de grande importância para conhecermos os níveis de susceptibilidade e os mecanismos de resistência de cepas de portadores com susceptibilidade reduzida aos principais antibióticos usados no tratamento e na profilaxia das doenças causadas por meningococos e o possível potencial de disseminação de cepas virulentas na população estudada.

Cronograma

Meta	Atividades	Tempo (trimestral)			
		1	2	3	4
1	Preparo de meios de cultivo para reativação das cepas preservadas	X			
1	Abertura de ampolas de cepas preservadas e avaliação da pureza e viabilidade	X	X		
2	Testes de TSA por disco-difusão com os antibióticos escolhidos		X		
3	Determinação das cepas resistentes e confirmação por CIM (fita E-test)		X		
4	Determinação das cepas que apresentaram diminuição da susceptibilidade e dos antibióticos		X		
4	Escolha dos genes-alvo associados à resistência e desenho dos primers para PCR		X	X	
5	Reações de PCR para amplificação dos genes-alvo		X	X	
6	Sequenciamento dos genes amplificados			X	
7	Determinação dos mecanismos de resistência das cepas classificadas como resistentes aos antibióticos escolhidos			X	X
8	Preparo de relatório técnico e artigo científico.				X