



LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA CELULAR

ESTABELECIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA COLEÇÃO BRASILEIRA DE CEPAS DE *E. COLI* CAUSADORAS DE MENINGITE NEONATAL



Tobias Weber Martins¹

Orientadora: Dr^a. Fabiana Horn²

1. Aluno de Iniciação Científica, graduando em Ciências Biológicas, UFRGS

2. Docente do Instituto de Biociências, PPGBCM e PPGMAA, UFRGS

INTRODUÇÃO

Meningites neonatais causadas por *Escherichia coli* (NMEC) apresentam uma taxa de mortalidade de 38%; dos sobreviventes, 51% sofrem de sequelas neurológicas para o resto da vida.

Atualmente a cepa padrão para estudos de meningite causada por essa bactéria é a *E. coli* RS218 (filogrupo B2, ST95 e sorotipo O18:H7:K1), isolada em 1974 do fluido cerebrospinal de um neonato com meningite. Porém, estudos comparativos recentes mostraram que muitas cepas de NMEC tem um perfil genético divergente da RS218, indicando a necessidade de isolamento e caracterização de novas cepas com características mais representativas desse patógeno.

OBJETIVO

Caracterizar cepas brasileiras de NMEC isoladas de líquido de recém-nascidos com meningite e verificar sua relação com outras *E. coli* extraintestinais (ExPEC).

MATERIAL E MÉTODOS

Em abril de 2018, recebemos 12 amostras de NMEC provenientes do Instituto Adolfo Lutz (São Paulo) e verificamos sua clonalidade por eletroforese em campo pulsado (PFGE) de acordo com o protocolo PulseNet. Dos 12 genomas, duas se revelaram clones (IAL40 e IAL42).

Os 11 isolados restantes foram enviados para a empresa MicrobesNG para sequenciamento pelo método Illumina e subsequente montagem. Após a montagem, os genomas foram analisados quanto ao seu filogrupo, sorotipo e MLST pelos *web-based softwares* do Center of Genomic Epidemiology (CGE) (Tab. 1). Depois, foi verificada a presença de 63 genes associados à virulência (VAGs) de ExPEC em seus genomas e nos das cepas MT78 e APECO1 (aviárias); RS218, O75 e S88 (NMEC); CFT073 e UTI89 (uropatogênicas) e K12 (comensal), através da realização de PCR *in silico* utilizando o software IPCRESS². Com os resultados obtidos foi montada uma tabela mostrando a presença dos genes correspondentes aos *primers* testados nos genomas de cada cepa (Fig. 1).

REFERÊNCIAS

- Stoll, B. J. et al. Changes in pathogens causing early-onset sepsis in very-low-birth-weight infants. *New Engl J Medicine* 347, 240-247, doi:10.1056/NEJMoa012657 (2002).
- Slater GS, Birney E. Automated generation of heuristics for biological sequence comparison. *BMC Bioinformatics*. 2005;6:31. Published 2005 Feb 15. doi:10.1186/1471-2105-6-31.
- Beghain J, Bridier-Nahmias A, Le Nagard H, Denamur E, Clermont O. ClermonTyping: an easy-to-use and accurate in silico method for *Escherichia* genus strain phylotyping. *Microb Genom*. 2018;4(7):e000192. doi:10.1099/mgen.0.000192

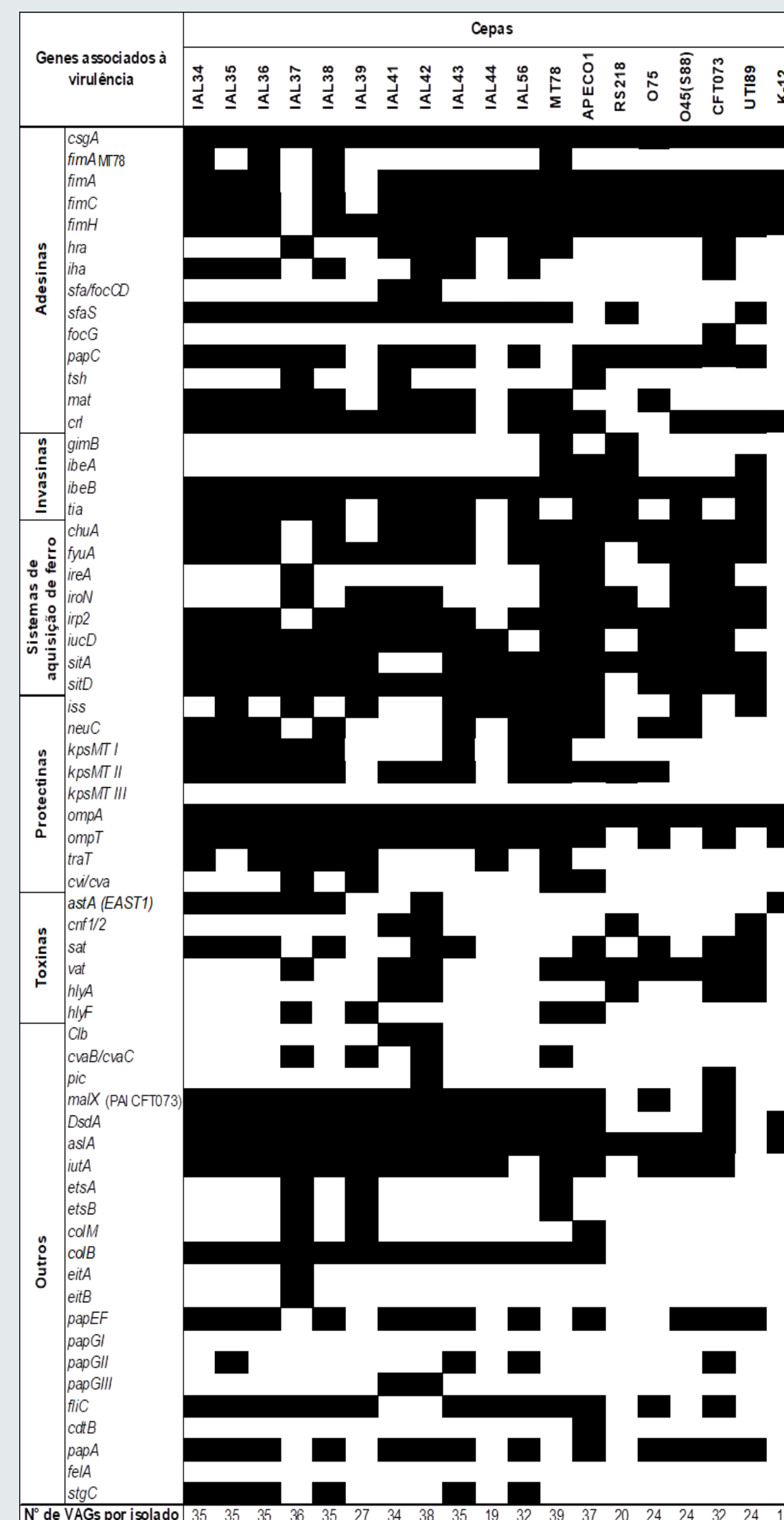
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 63 genes testados, as cepas do IAL apresentaram entre 27 (IAL39) e 36 genes (IAL37), enquanto que a cepa referência RS218 apresentou apenas 20.

As cepas altamente virulentas MT78, APECO1 e CFT073, apresentaram 39, 37 e 32 genes respectivamente, números semelhantes aos encontrados nas IAL.

Os resultados obtidos dos programas do CGE e ClermonTyping³ são mostrados na tabela 1. O perfil das cepas divergiu bastante do perfil da cepa padrão RS218.

Figura 1. Presença dos VAGs associados à ExPEC encontrados em cada cepa IAL e outras ExPEC. Células marcadas em preto indicam presença do gene associado à virulência, e em branco, a ausência do gene. A linha inferior informa o número de genes de virulência encontrados por cepa.



CEPAS IAL	ECOR	Sorotipo	MLST	Ano
IAL34	F	O1:H7	ST59	2018
IAL36	F	O1:H7	ST59	1985
IAL38	F	O1:H7	ST59	1989
IAL35	F	O7:	ST62	1989
IAL43	F	O7:	ST62	1989
IAL56	F	O7:H45	ST62	1988
IAL44	A	SI	SI	1986
IAL37	A	O5:H10	ST93	1989
IAL39	A	:H33	ST48	1989
IAL41	B2	O6:H31	ST127	1989
IAL42	B2	O6:H31	ST127	1990
RS218	B2	O18:H7	ST95	1980

Tabela 1. Grupo ECOR, sorotipo, MLST e ano de isolamento das cepas do IAL. A cepa RS218 está incluída para comparação. Cepas com características semelhantes estão indicadas pela mesma cor de linha. SI= sem informação