Resistência à ceftriaxona mediada por transformação genética em Neisseria gonorrhoeae: um modelo experimental

JHONATAN AUGUSTO RIBEIRO[1], MARCOS ANDRÉ SCHÖRNER[1], JÉSSICA MOTTA MARTINS[1], FERNANDO HARTMANN BARAZZETTI[1], MARIA LUIZA BAZZO[1]

[1.] UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA, LABORATÓRIO DE BIOLOGIA MOLECULAR, MICROBIOLOGIA E SOROLOGIA, FLORIANÓPOLIS-SC, BRASIL

Introdução: A gonorreia é causada pela bactéria *Neisseria gonorrhoeae* (NG), um diplococo gram-negativo capaz de colonizar o trato geniturinário, orofaringe e reto. As infecções extragenitais geralmente são assintomáticas, fato que contribui para a persistência das cadeias de transmissibilidade do gonococo. Além da elevada incidência e efeitos deletérios para a saúde sexual e reprodutiva, a resistência crescente de NG aos antimicrobianos é considerada um problema prioritário de saúde pública. Desde a introdução dos antimicrobianos na década de 1940, NG já demonstrou mecanismos de resistência a todas as classes terapêuticas utilizadas na clínica. Uma das hipóteses para explicar essa facilidade na aquisição de resistência é a competência natural para transformação genética em espécies do gênero *Neisseria*. A transformação possibilita que NG seja capaz de reconhecer fragmentos de DNA exógenos e, posteriormente, recombinar esses fragmentos em seu genoma. O sequenciamento de isolados de NG resistentes à azitromicina e à ceftriaxona (CRO) demonstrou a presença de alelos de genes de resistência originados de espécies comensais de *Neisseria*, resultando em mosaicos genéticos com vantagens adaptativas. No caso da CRO, formas do gene *penA* tipo mosaico são descritas como determinantes de resistência às cefalosporinas, resultando na expressão de uma proteína de ligação à penicilina (PBP2) alterada, com menor afinidade ao fármaco. Nesse sentido, este estudo teve como objetivo avaliar, por meio de ensaio *in vitro*, a capacidade de transformação de NG para a aquisição de um fenótipo resistente à CRO. **Objetivos:** Avaliar se a aquisição do gene *penA* tipo mosaico é suficiente para conferir resistência à CRO em cepas sensíveis de NG por meio de transformação in vitro. **Materiais e métodos:** Foram utilizadas duas cepas de referência denominadas de WHO X, com concentração inibitória mínima (CIM) de CRO = 2 mg/L e WHO O (CIM de CRO = 0,032 mg/L). A cepa WHO O foi cultivada em ágar GC com amplicons purificados do gene *penA* da cepa WHO X. A semeadura foi realizada em triplicata com um controle negativo. Após 20 h de incubação, colônias foram selecionadas e cultivadas em ágar GC contendo 0,5 mg/L de CRO. Isolados transformantes foram submetidos à determinação de CIM por ágar diluição, tipagem NG-MAST e sequenciamento dos genes *penA, porB e tbpB*. **Resultados e discussão:** As cepas transformantes (CTRANS) mantiveram o perfil NG-MAST da WHO O (ST 495), confirmando sua origem genética. A identificação alélica do gene *penA* das CTRANS apresentou compatibilidade >99% com o alelo 37.001 tipo mosaico, característico da cepa WHO X. Fenotipicamente, as CTRANS mantiveram sensibilidade ao ciprofloxacino (CIM = 0,08 mg/L) e resistência de alto nível à espectinomicina (CIM > 1024 mg/L), perfil da cepa parental; entretanto, passaram a expressar resistência à CRO (CIM = 2 mg/L), perfil fenotípico da WHO X. Esses achados indicam que a aquisição do *penA* mosaico por transformação foi suficiente para conferir resistência à CRO na cepa WHO O transformada, sem alteração em outros

determinantes fenotípicos avaliados. **Conclusão**: A transformação em NG é capaz de mediar diretamente a aquisição de resistência à CRO por meio da incorporação de alelos do gene *penA* tipo mosaico. Esses resultados evidenciam a relevância desse marcador no monitoramento genômico da resistência e destacam o papel da recombinação interespecífica na evolução adaptativa do gonococo.

Agradecimentos: Esse trabalho foi fomentado pela Fundação de Amparo à Pesquisa (FAPEU-UFSC) e Ministério da Saúde.