



**Universidade:  
presente!**

**UFRGS**  
PROPEAQ



**XXXI SIC**

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2019
<b>Local</b>	Campus do Vale - UFRGS
<b>Título</b>	Estabelecimento e Caracterização de uma Coleção Brasileira de Cepas de Escherichia coli Causadoras de Meningite Neonatal
<b>Autor</b>	TOBIAS WEBER MARTINS
<b>Orientador</b>	FABIANA HORN

**Estabelecimento e Caracterização de uma Coleção Brasileira de Cepas de *Escherichia coli* Causadora de Meningite Neonatal**

**Aluno:** Tobias Weber Martins

**Orientadora:** Fabiana Horn

As cepas de *Escherichia coli* causadoras de meningite neonatal (NMEC) constituem o principal agente etiológico de meningite em recém-nascidos prematuros de muito baixo peso corporal (<1,5 kg). Meningites causadas por NMEC apresentam uma taxa de mortalidade de 38%; dos sobreviventes, 51% sofrem 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 estirpes de NMEC têm um perfil genético divergente da RS218, indicando a necessidade de isolamento e caracterização de novas cepas com características mais representativas desse patógeno. Este projeto tem como objetivos montar e caracterizar uma coleção de cepas de NMEC brasileiras, que incluem isolados oriundos do Instituto Adolfo Lutz (IAL) e do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Até o momento obtivemos 12 isolados NMEC do IAL. A análise por eletroforese em campo pulsado (PFGE) revelou a existência de 11 isolados com perfil PFGE distintos (2 isolados são clonais); os genomas desses 11 isolados foram sequenciados por Illumina, (MicrobesNG, Inglaterra). Os genomas foram então analisados *in silico* quanto ao grupo filogenético, *multilocus sequence type* (MLST), sorotipo e presença de genes de virulência associados a *E. coli* patogênicas extraintestinais (ExPEC, que incluem as NMEC) e de genes de resistência a antimicrobianos. Nossas análises têm revelado que a maioria das cepas mostrou ter um perfil discrepante se comparadas ao da cepa RS218. Analisamos o grupo filogenético ECOR utilizando o novo método Clermont *in silico* (<http://clermontyping.iame-research.center/>); ao passo que estudos epidemiológicos mostram que as ExPEC pertencem sobretudo aos filogrupos B2 (como a RS218) e D, encontramos 6 cepas pertencentes ao grupo F, 3 ao grupo A, e apenas 2 ao grupo B2. O MLST realizado *in silico* (<https://pubmlst.org/escherichia/>) revelou 3 isolados ST59, 3 isolados ST62, 3 ST127, 1 ST48, 1 ST93, e 1 isolado não-classificado. Dos 11 isolados, 3 apresentaram o sorotipo O1:K1:H7, 3, o O6:K1:H31, 2, o O7:K1:H-, 1 apresentou o sorotipo O7:K1:H45, 1, o O-:H33 e 1, antígenos O:H inespecíficos. Além disso, utilizei o programa IPCRESS de PCR *in silico* para verificar a presença de genes de virulência associados à ExPEC. Dos 73 genes avaliados, todas as cepas apresentaram no mínimo 30 genes, sendo que a cepa IAL37 apresentou 50 genes.

A avaliação da proximidade filogenética entre as cepas necessita previamente da identificação de genes homólogos e da concatenação dos conjuntos de proteínas de cada genoma. Como essas análises dependem da qualidade do acabamento do sequenciamento, passarei os genomas no programa GFinisher para correção de erros de montagem e reorganização dos contigs, utilizando como base um genoma de referência. Para a escolha do genoma de referência de cada cepa, estou criando um programa em Python que passa para o BLASTn trechos do genoma de cada uma, e registra e contabiliza em um outro arquivo os resultados que obtiveram o maior *Score* para cada trecho. Uma vez que os genomas tiverem sido refinados, as análises filogenéticas serão realizadas por 3 programas principais: (i) OrthoMCL, para identificação de genes homólogos a partir de uma biblioteca criada com os genomas no banco de dados MySQL; (ii) Clustal Omega, para o alinhamento das sequências de aminoácidos produzidas por cada gene; e (iii) RAxML, para a geração da árvore filogenética.

Coleções de isolados clínicos e a caracterização de seus genomas e proximidades genéticas auxiliam na compreensão do patógeno e da doença, e contribuem para o avanço científico e saúde pública.