

Virtual

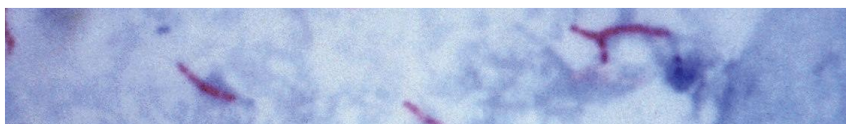


Universidade Federal do Rio Grande
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Núcleo de Pesquisa em Microbiologia Médica
Bióloga Mariana Quaresma de Souza



AVALIAÇÃO DE UM SAL DE TETRAZÓLIO COMO INDICADOR COLORIMÉTRICO NA DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE SUSCETIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS EM CEPAS DO COMPLEXO *Mycobacterium abscessus*

Mariana Quaresma de Souza, Ana Júlia Reis, Luciana de Souza Nunes,
Pedro Eduardo Almeida da Silva, Ivy Bastos Ramis

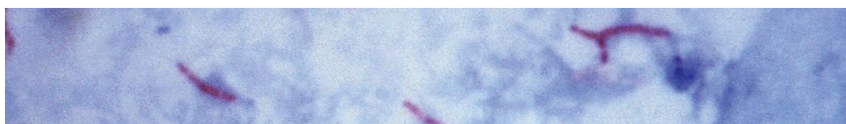
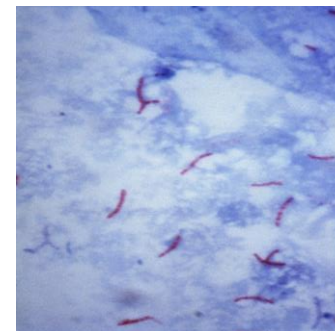
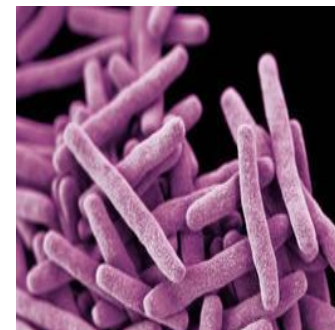


Micobactérias não tuberculosas

- Micobactérias ambientais, majoritariamente saprófitas
- Infecções em humanos (oportunistas)
- Manifestação pulmonar e extrapulmonar

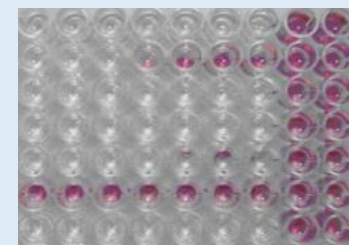
Complexo *Mycobacterium abscessus* (CMAB)

- Entre as MNT mais relatadas
- Altas taxas de resistência aos antimicrobianos
- Desafio no tratamento



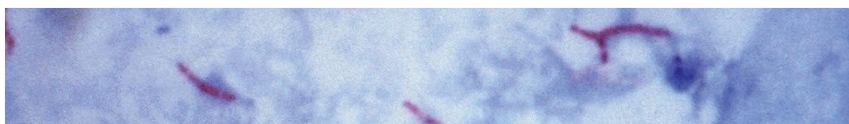
Determinação do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos

- Possibilita o manejo correto do paciente com micobacteriose
- Padrão-ouro: TSA fenotípicos (baseados em cultura)
- **Indicadores colorimétricos:** facilitam a visualização de crescimento bacteriano e melhoram a leitura e a interpretação dos resultados

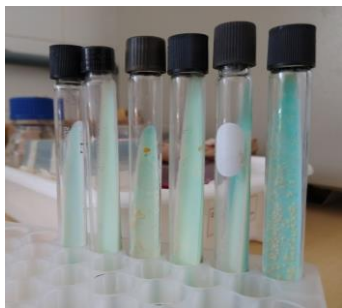


Objetivo do estudo

Avaliar o uso do **cloreto de 2,3,5-trifenil tetrazólio (TTC)** como indicador colorimétrico de viabilidade celular para a determinação do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em cepas do CMAB



Metodologia



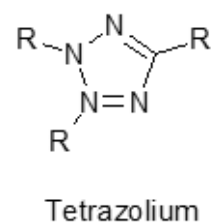
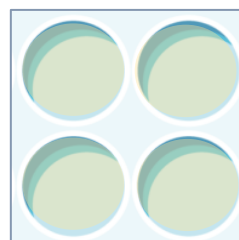
- Foram utilizadas **18 cepas** previamente identificadas como pertencentes ao CMAB
- Armazenadas no banco de amostras do Laboratório de Micobactérias, da FURG (Rio Grande, RS)
- Ensaio de microdiluição seriada em caldo Mueller-Hinton cátion ajustado

Meio de cultivo
+ Antimicrobianos
+ Inóculo

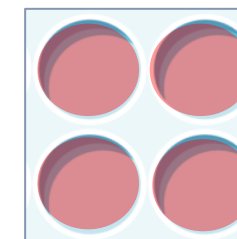
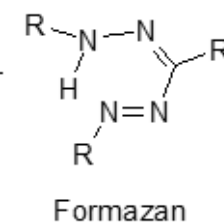


Método avaliado – Com TTC:

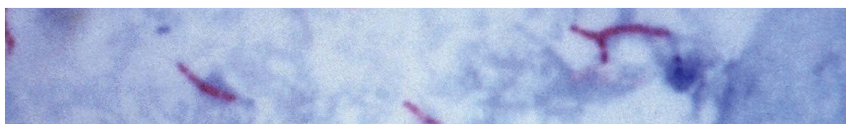
Indicador adicionado no 2º dia de incubação, leitura no 3º dia



Reduction



Coloração vermelha = crescimento bacteriano

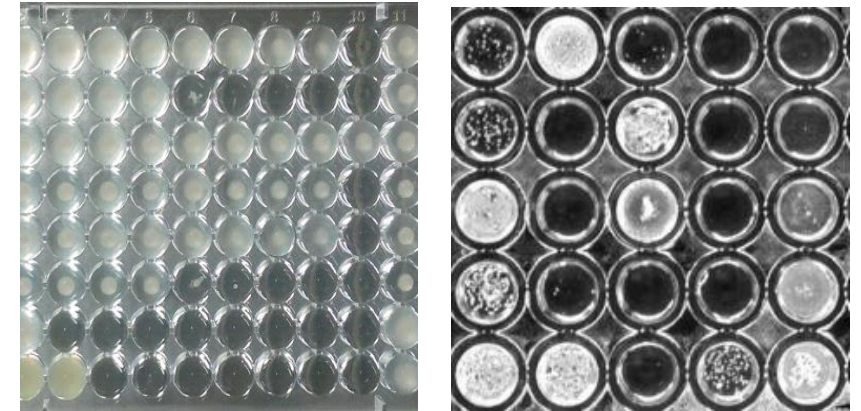


Método padrão-ouro – Sem TTC:

Leitura no 3° dia de incubação através da visualização de turbidez
(CLSI, 2018)

Table 7. Broth Microdilution Interpretive Criteria for Rapidly Growing Mycobacteria

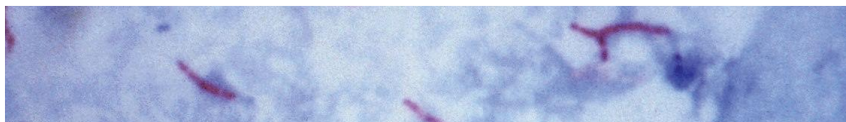
Agent	MIC (µg/mL) for category:		
	Susceptible	Intermediate	Resistant
Amikacin ^a	≤16	32	≥64
Cefoxitin	≤16	32–64	≥128
Ciprofloxacin ^b	≤1	2	≥4
Clarithromycin ^c	≤2	4	≥8
Doxycycline ^d	≤1	2–4	≥8
Imipenem ^e	≤4	8–16	≥32
Linezolid	≤8	16	≥32
Meropenem	≤4	8–16	≥32
Moxifloxacin	≤1	2	≥4
Trimethoprim-sulfamethoxazole ^f	≤2/38	–	≥4/76
Tobramycin ^g	≤2	4	≥8



Determinação do perfil de suscetibilidade de acordo com os pontos de corte do CLSI (2018)



Comparação dos resultados obtidos pelo método avaliado e pelo método padrão-ouro



Resultados

Amicacina

- 100% (18/18) sensível

Ciprofloxacina

- 100% (18/18) resistente

Moxifloxacina

- 100% (18/18) resistente

Sulfametoxazol-trimetoprima

- 100% (18/18) resistente

Cefoxitina

- 77,8% (14/18) intermediário e 22,2% (4/18) resistente

Doxiciclina

- 5,6% (1/18) sensível e 94,4% (17/18) resistente

Claritromicina

- 94,4% (17/18) sensível e 5,6% (1/18) resistente

Cepas incluídas no estudo:

- 66,7% (12/18) *M. abscessus* subsp. *abscessus*
- 16,7% (3/18) *M. abscessus* subsp. *bolletii*
- 16,7% (3/18) *M. abscessus* subsp. *massiliense*

O ensaio utilizando TTC apresentou **100% de concordância** com o método padrão-ouro para a **maioria** dos antimicrobianos testados

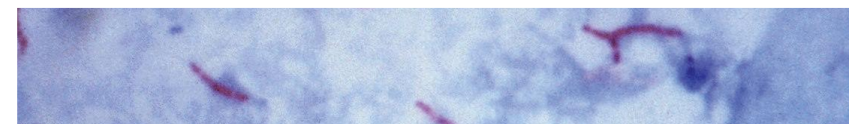


Exceções:

Ciprofloxacina (94,4%)

Cefoxitina (83,3%)

Moxifloxacina (83,3%)

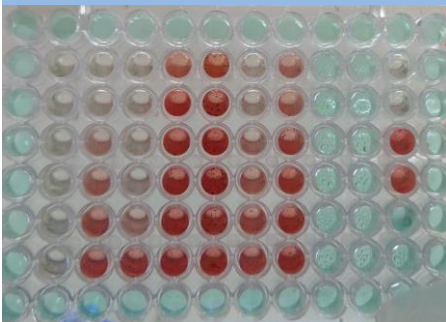


Considerações finais

Leitura visual da turbidez

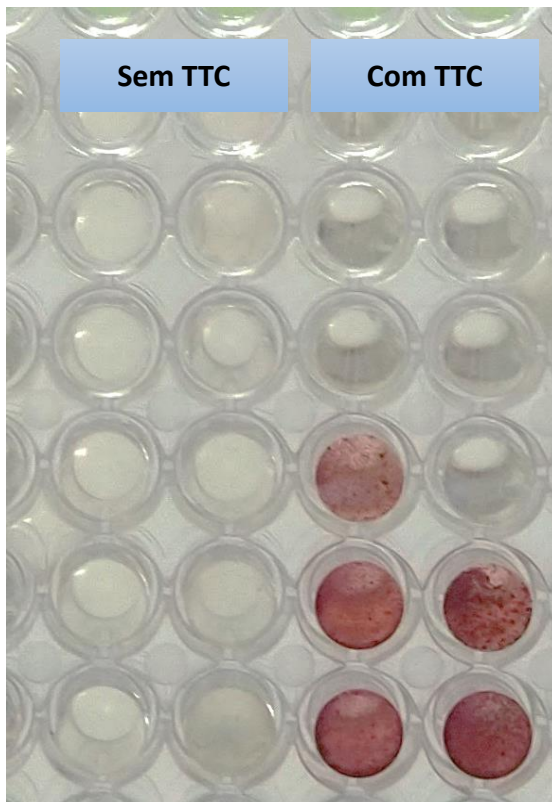


Leitura visual com indicador colorimétrico



Sem TTC

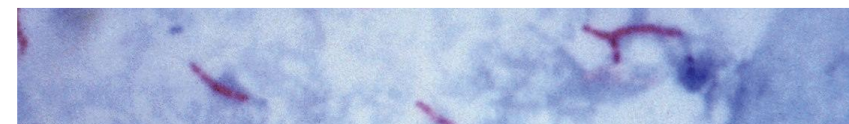
Com TTC



✓ O TTC proporcionou uma leitura mais fácil e ágil dos resultados

Quando comparado a outros indicadores colorimétricos...

- Apresenta coloração somente ao ser reduzido (vs. Resazurina)
- Menor custo (vs. Resazurina e MTT)

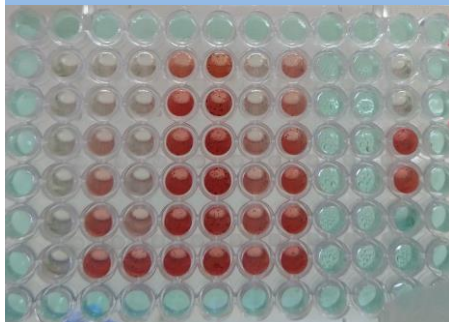


Considerações finais

Leitura visual da turbidez

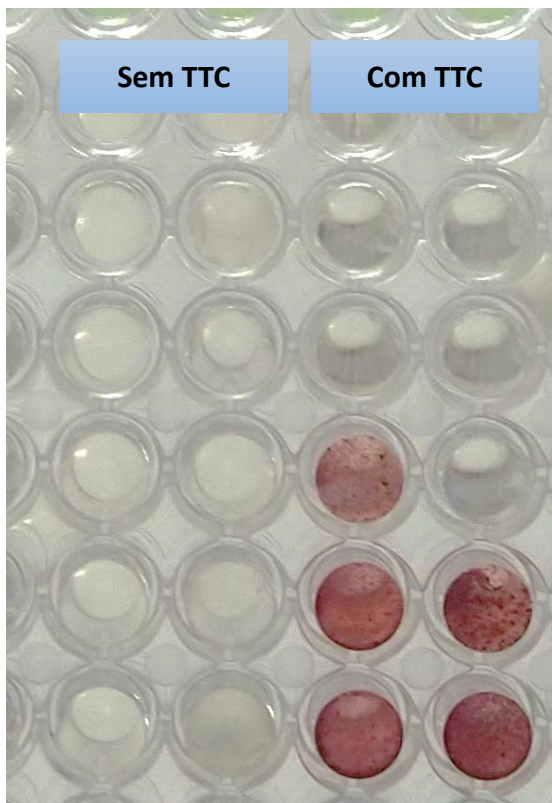


Leitura visual com indicador colorimétrico



Sem TTC

Com TTC

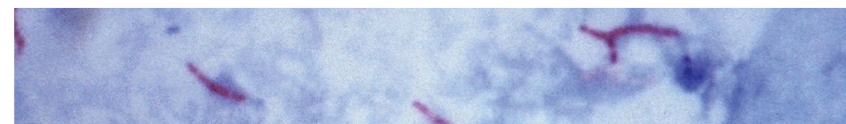


Demonstra ser um promissor ensaio para a identificação do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em cepas do CMAB



Ensaio adicionais serão realizados

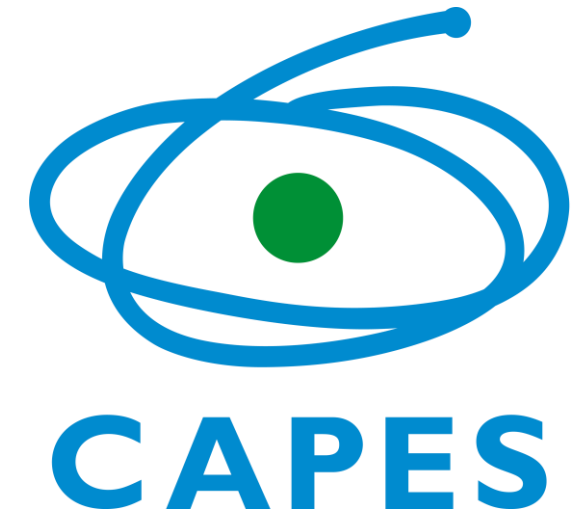
- ✓ Maior número de cepas
- ✓ Avaliação do seu uso na detecção de resistência induzida a macrolídeos



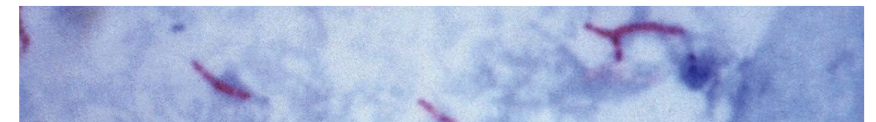
Agradecimentos



FURG
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO GRANDE



E-mail para contato: mari.quaresma@hotmail.com





FINANCIAMENTO



Organização
Pan-Americana
da Saúde



Organização
Mundial da Saúde
ESCRITÓRIO REGIONAL PARA AS Américas