

7 MÉTODOS MOLECULARES PARA DETECÇÃO DE RESISTÊNCIA DE *HELICOBACTER PYLORI* AOS ANTIBIÓTICOS

Fernandes A. (1), Casela A. (1), Almeida N. (1,2), Branquinho D. (1), Alves. A.R. (1), Donato M.M. (2), Cardoso O. (3), Luxo C. (3), Benejat L. (4), Martinho A. (5), Cipriano M.A. (6), Marinho C. (6), Romãozinho J.M. (1,2), Sofia C. (1,2)

Introdução: Com a crescente resistência de *Helicobacter pylori* (Hp) aos antibióticos a realização de terapêuticas dirigidas torna-se apelativa. Contudo, a cultura e obtenção de antibiogramas é morosa pelo que, as técnicas moleculares podem ser alternativas vantajosas.

Objetivos: Avaliar a eficácia dos métodos moleculares para determinar a resistência de Hp à claritromicina, levofloxacina e metronidazol.

Material e métodos: Utilizando o antibiograma através de E-test como gold-standard foram pesquisadas, por técnica de PCR em tempo real (PCR-RT), as mutações A2143G, A2142G e A2142C do gene 23S rRNA em 90 isolados com resistência à claritromicina e as mutações das posições 87 e 91 da "quinolone-resistance determining region" (QRDR) do gene *gyrA* em 61 isolados com resistência à levofloxacina. Realizada ainda sequenciação completa da QRDR em 10 isolados com resultados discrepantes neste segundo grupo. Também foi efetuada sequenciação do gene *rdxA* em 24 isolados com resistência ao metronidazol e 36 sem resistência a este nitroimidazol.

Resultados: A técnica de PCR-RT identificou mutações no gene 23S rRNA em 86 isolados (95,6%) e da QRDR do gene *gyrA* em 50 (82%). A sequenciação evidenciou mutações da QRDR em mais 4 isolados em que a técnica de PCR-RT tinha sido inconclusiva ou identificado o genótipo Wild-Type. A sequenciação do gene *rdxA* revelou mutações nos nucleótidos das posições 392, 459 e 548 que estavam associadas a resistência ao metronidazol. Contudo, só a mutação na posição 459, determinando o aparecimento de um codão "stop", foi exclusiva dos isolados com resistência, estando presente em 16,7% dos mesmos.

Conclusões: As técnicas de PCR-RT permitem identificar a grande maioria dos isolados de Hp com resistência à claritromicina e à levofloxacina, obviando a realização do antibiograma e, eventualmente, da própria cultura. Para o gene *gyrA* a sequenciação pode ter algumas vantagens. Já relativamente à resistência ao metronidazol estes métodos demonstram limitações que inviabilizam a sua utilização.

(1) Serviço de Gastrenterologia CHUC; (2) Faculdade de Medicina da UC; (3) Faculdade de Farmácia da UC; (4) Centro Nacional de Referência dos Campylobacters e Helicobacters, Bordéus; (5) Centro de Histocompatibilidade do Centro; (6) Serviço de Anatomia Patológica CHUC