

AVALIAÇÃO IN VITRO DA RESISTÊNCIA À RIFAMPICINA E ANÁLISES ESTRUTURAIS DO GENE *RPOB* EM *CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE*

PRATES F.D.^{1,2*}; ARAUJO M.R.B.^{1,2}; SILVA J.S.²; ANDRADE B.S.^{3,4}; SANTOS L.S.⁵; AZEVEDO V.A.C.²

¹ Núcleo Técnico Operacional, Microbiologia, Instituto Hermes Pardini, Vespasiano, Minas Gerais, Brasil

² Laboratório de Genética Celular e Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

³ Laboratório de Bioinformática e Química Computacional, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Jequié, Bahia, Brasil

⁴ IRAE – Instituto Nacional de Pesquisa para Agricultura, Alimentação e Meio Ambiente, STLO, Rennes, France

⁵ Laboratório de Difteria e Corinebactérias de Importância Clínica, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil

*e-mail: fernandaprates3@hotmail.com

Corynebacterium diphtheriae é o principal agente etiológico da difteria, uma doença potencialmente fatal, cujos sintomas graves decorrem da ação da toxina diftérica. Independentemente do potencial toxigênico das cepas, o tratamento antimicrobiano precoce é crucial para eliminar a bactéria e limitar sua transmissão. Este trabalho teve como objetivo caracterizar fenotipicamente uma linhagem de *C. diphtheriae* isolada a partir de uma lesão de joelho, avaliando possíveis implicações estruturais de uma mutação no gene *rpoB*. O isolado foi identificado por MALDI-TOF MS e o antibiograma realizado por disco-difusão. Após a verificação da resistência in vitro à rifampicina, foram realizadas a extração do DNA bacteriano e sequenciamento do genoma completo. A sequência do gene *rpoB* da nossa linhagem foi comparada com uma sequência referência de *C. diphtheriae* sem mutação usando o BLAST, que apontou uma substituição de Serina por Fenilalanina na posição 454 que faz parte do sítio de interação da rifampicina. Para determinar o efeito dessa mutação, foram realizadas simulações de dinâmica molecular (100 nanossegundos) do complexo de referência correspondente à RNA-polimerase de *Mycobacterium tuberculosis* suscetível à rifampicina, assim como da enzima mutada da linhagem de *C. diphtheriae* em estudo. Os resultados mostraram perda da interação da rifampicina com a enzima mutada ainda nos primeiros 10 nanossegundos de simulação, enquanto no complexo de referência o antibiótico permaneceu interagindo durante todo o período simulado. Esses resultados indicam que a substituição de um aminoácido polar localizado no sítio de interação da rifampicina por um aminoácido hidrofóbico resultou na perda de afinidade entre a rifampicina e a RNA-polimerase na nossa linhagem, devido à redução das interações de hidrogênio. Considerando o aumento da resistência aos antimicrobianos e os recentes surtos de difteria em várias partes do mundo, este trabalho ressalta a importância de uma abordagem multidisciplinar para monitoramento e controle da disseminação de cepas de *C. diphtheriae*.

Palavras-chave: *Corynebacterium diphtheriae*; Rifampicina; Mutação; Resistência