

## Resistência adaptativa de linhagens de *Escherichia coli* em concentrações subinibitórias de antimicrobianos

Gianni, E.<sup>a\*</sup>; Parente, A. F. A.<sup>b</sup>; Campos, T. A.<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Laboratório de Análises Moleculares de Patógenos, Departamento de Biologia Celular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília - UnB

<sup>b</sup>Laboratório de Bioquímica e Química de Proteínas, Departamento de Biologia Celular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília - UnB

\*Endereço de e-mail para correspondência: eduardagianni@gmail.com

### Resumo

A resistência aos antimicrobianos (RAM) é um problema de saúde pública global que resulta em dificuldades no tratamento de doenças infecciosas. A RAM pode ser adquirida por meio de mutações, por transferência horizontal e também pode resultar de uma adaptação decorrente de alterações metabólicas. Essa última é associada à resistência adaptativa, que pode ser definida como um mecanismo de sobrevivência microbiana à ação dos antibióticos obtida por meio da alteração da expressão gênica e/ou proteica de forma temporária. Apesar de pouco relatada, a resistência adaptativa é de suma importância, já que o uso inadequado dos antibióticos pode servir como um estímulo e ocasionar uma mudança na expressão de genes e proteínas, resultando em linhagens resistentes à ação desses medicamentos. O objetivo deste trabalho é testar a capacidade da bactéria *Escherichia coli* na resposta às concentrações subinibitórias (CSI) de antibióticos e avaliar as diferenças na expressão de proteínas nessas condições. Para este fim, foram utilizadas três linhagens: um isolado clínico de urocultura (UPEC90) e as duas linhagens padrões na literatura (CFT073 e J96). Todas as estirpes foram cultivadas em concentrações crescentes, de 0,1 µg/mL, até atingir a Concentração Inibitória Mínima - CIM dos antibióticos: Gentamicina, Cloranfenicol e Polimixina B, a fim de se obter culturas adaptadas ao crescimento na presença de antimicrobianos em CSI. Após o estabelecimento das culturas CSI, o tempo de geração de cada uma delas foi comparado ao da linhagem original (cultivada sem antibióticos). A partir dos cultivos nas diferentes concentrações de antimicrobianos, foram obtidas 40 culturas CSI. Dentre essas, 14 CSI apresentaram viabilidade em concentrações de até 4,0 µg/mL de Gentamicina; 12 em concentrações de até 0,4 µg/mL de cloranfenicol; e 14 mantiveram-se viáveis em concentrações de até 2,0 µg/mL de polimixina B. Notavelmente, 8 CSI derivadas da UPEC 90 apresentaram menor tempo de geração do que a linhagem original, 7 quando cultivadas em gentamicina e 1 em cloranfenicol. Então, 2 CSI provenientes da UPEC 90 em Gentamicina (90 G 1,6 µg/mL e 90 G 4,0 µg/mL) foram selecionadas para avaliar a produção de biofilme e a sobrevivência na CIM da Gentamicina por 1 hora. Foram observadas diferenças significativas na produção de biofilme por essas culturas,

demonstrando uma queda nos valores de biomassa quando comparadas à linhagem original. Através da contagem de unidades formadoras de colônia (UFCs), foi possível observar um comprometimento da viabilidade da colônia original, enquanto as culturas CSI tiveram um crescimento 10x maior. Por fim, para a identificação das proteínas diferencialmente expressas entre a CSI 90 G 4,0 µg/mL e a linhagem original, foi realizada uma análise no espectrômetro de massas LTQ-Orbitrap Elite. Os dados obtidos revelam 63 proteínas diferenciais, 22 proteínas detectadas somente na linhagem original e 13 somente na cultura CSI. Dessas 63 diferenciais, 59 apresentaram uma regulação negativa na cultura CSI e 4 tiveram regulação positiva. Os resultados sugerem diferenças na expressão de proteínas que levaram a uma viabilidade das culturas CSI mesmo após exposição aos antimicrobianos.

**Palavras-chave:** Resistência aos antimicrobianos; Concentrações subinibitórias de antibióticos; Mecanismos de resistência.

### **Referências bibliográficas**

ABUSHAHEEN, M. A. et al. Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Disease-a-Month*, Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. v. 66, n. 6, p. 100971, 1 jun. 2020.

BRAUNER, A. et al. Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment. *Nature Reviews Microbiology*, v. 14, n. 5, p. 320–330, maio 2016.

FERNÁNDEZ, L.; HANCOCK, R. E. W. Adaptive and Mutational Resistance: Role of Porins and Efflux Pumps in Drug Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 25, n. 4, p. 661–681, out. 2012.

KESTER, J. C.; FORTUNE, S. M. Persisters and beyond: Mechanisms of phenotypic drug resistance and drug tolerance in bacteria. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, v. 49, n. 2, p. 91–101, mar. 2014.

MENÉNDEZ FRAGA, M. D. et al. Errores en el uso de antimicrobianos: la epidemia silenciosa para la seguridad de pacientes. *Rev. esp. quimioter*, p. 194–197, 2008.

PALMER, A. C.; CHAIT, R.; KISHONY, R. 2018. Nonoptimal gene expression creates latent potential for antibiotic resistance. *Mol Biol Evol* 35:2669–2684. doi: 10.1093/molbev/msy163.

ROCHA, V. DE F. D. et al. The impact of COVID-19 on microbiological profile and antibiotic consumption in ICU: a retrospective study in an infectious disease hospital in Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 28, n. 1, p. 103705, 5 dez. 2023.

STICKLER, D. J. Chlorhexidine resistance in *Proteus mirabilis*. *Journal of Clinical Pathology*, v. 27, n. 4, p. 284–287, abr. 1974.

SUAREZ, S. A.; MARTINY, A. C. Gene Amplification Uncovers Large Previously Unrecognized Cryptic Antibiotic Resistance Potential in *E. coli*. *Microbiol Spectr*. 2021 Nov-Dec; 9(3): e00289-21. Published online 2021 Nov 10. doi: 10.1128/Spectrum.00289-21

SUZUKI, S.; HORINOUCI, T.; FURUSAWA, C. Prediction of antibiotic resistance by gene expression profiles. *Nature Communications*, v. 5, p. 5792, 17 dez. 2014.