

Determinação da variabilidade genética dos genes reguladores de bomba de efluxo *marA* e *marR* em *Escherichia coli* uropatogênicas não suscetíveis às polimixinas

Firmino, C.A.P.; Teixeira, G. M.; Moreira da Silva, R. C. R; Campos, T. A.

Laboratório de Análises Moleculares de Patógenos, Departamento de Biologia Celular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília - UnB

Resumo:

O surgimento crescente de bactérias Gram-negativas resistentes à múltiplos antimicrobianos (MDRs), como as *Escherichia coli* uropatogênicas (UPECs), representam um grave risco à saúde pública, devido à falta de tratamentos eficazes. Neste cenário, a utilização de drogas descontinuadas constitui uma alternativa terapêutica eficaz. As polimixinas enquadram-se nesta categoria, pois foram reintroduzidas para o tratamento de infecções causadas por bactérias MDRs. Estes antimicrobianos atuam desestabilizando a membrana externa de Gram-negativos, levando à morte celular. Apesar de eficazes, a não suscetibilidade bacteriana a estes antimicrobianos é cada vez mais prevalente entre as UPECs. Isolados UPECs que apresentam concentrações inibitórias mínimas (CIM) $\leq 2\mu\text{g/mL}$ à polimixinas, são considerados portadores de resistência intermediária, pois apresentam CIM entre a sensibilidade e resistência. Apesar de ainda não serem resistentes, estes isolados já não são suscetíveis às polimixinas. As bombas de efluxo podem contribuir para esse fenótipo heterorresistente. Os genes *marA* e *marR* estão associados à regulação da bomba de efluxo AcrAB-TolC em UPECs. Assim, nosso objetivo é identificar a variabilidade genética desses genes para identificar mecanismos de efluxo de antimicrobianos associados à não suscetibilidade à polimixinas por linhagens UPECs isoladas no Distrito Federal. Para esta finalidade, realizamos sequenciamento dos genes *marA* e *marR* de 58 isolados de urocultura para a busca de mutações associadas a CIM correspondentes à não suscetibilidade (intermediária ou resistente) às polimixinas. Observamos mutações pontuais na proteína MarA em 26 isolados, e da proteína MarR em 54 isolados. Entretanto, considerando que bactérias com diferentes valores de CIM e suscetibilidade pertenciam aos mesmos grupos durante a análise filogenética, essas mutações aparentam conferir apenas variabilidade genética, não influenciando no fenótipo de suscetibilidade. Apesar de não ser possível associar nossos resultados à resistência às polimixinas observadas nos isolados de nossa coleção, fica evidente a necessidade de conhecer os mecanismos responsáveis por conferir baixa suscetibilidade à isolados clínicos. Uma vez que a necessidade de antimicrobianos eficazes no combate a bactérias multirresistentes se faz mais urgente a cada dia.

Palavras-chave: Multirresistência (MDR); Operon *marRAB*; Antibióticos polipeptídicos.

Referências bibliográficas:

- BRAUNER, A. et al. Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment. *Nat Rev Microbiol*, vol. 14, p. 320-330, 2016.
- CAMP, J. et al. Limited Multidrug Resistance Efflux Pump Overexpression among Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Strains of ST131. *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 65 (4), p. e01735-20, 2021.
- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30 ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020.
- DING, Y. et al. Role of efflux pumps, their inhibitors, and regulators in colistin resistance. *Frontiers in Microbiology*, vol. 14, p. 1207441, 2023.
- JONES, D. et al. The rapid generation of mutation data matrices from protein sequences. *Computer Applications in the Biosciences*, vol. 8: 275-282, 1992.
- KUMAR S. et al. Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 12 for adaptive and green computing. *Molecular Biology and Evolution*, vol. 41:1-9, 2024.
- LINDGREN, P. et al. Mutation Rate and Evolution of Fluoroquinolone Resistance in *Escherichia coli* Isolates from Patients with Urinary Tract Infections. *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 47 (10), p. 3222–3232, 2003.
- NUCLEOTIDE, Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; Accession No. NC_000913.3, *Escherichia coli* str. K-12 substrain MG1655, complete genome. Disponível em: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_000913.3?report=gbwithparts&log\\$=seqview](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_000913.3?report=gbwithparts&log$=seqview)
- OETHINGER, M. et al. Overexpression of the marA or soxSR Regulatory Gene in Clinical Topoisomerase Mutants of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 42 (8), 1998.
- OLSSON, A. et al. Interactions of Polymyxin B in Combination with Aztreonam, Minocycline, Meropenem, and Rifampin against *Escherichia coli* Producing NDM and OXA-48-Group Carbapenemases. *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 65 (12), p. e01065-21, 2021.
- SAITOU, N. et al. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, vol. 4:406-425, 1987.
- SANTOLALLA, L. et al. Mutations That Enhance the Ciprofloxacin Resistance of *Escherichia coli* with qnrA1. *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 60 (3), AAC.02167-15, 2016.
- SULAVIK, M. et al. The MarR repressor of the multiple antibiotic resistance (mar) operon in *Escherichia coli*: prototypic member of a family of bacterial regulatory proteins involved in sensing phenolic compounds. *Mol Med*, vol. 1, p. 436–446, 1995.
- TENG, J. et al. Combatting resistance: Understanding multi-drug resistant pathogens in intensive care units. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 167, 2023.
- TRIMBLE, J. et al. Polymyxin: Alternative Mechanisms of Action and Resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med*, vol. 6-10, 2016.
- ZHOU, Y. et al. Urinary Tract Infections Caused by Uropathogenic *Escherichia coli*: Mechanisms of Infection and Treatment Options. *PMC*, 2023.