

MOBILIDADE GENÉTICA DE GENES DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS EM ARQUEIAS E BACTÉRIAS: UMA ABORDAGEM GENÔMICA

GENETIC MOBILITY OF ANTIBIOTIC RESISTANCE GENES IN ARCHAEA AND BACTERIA: A GENOMIC APPROACH

Filipe Ferreira Prudencio⁽¹⁾
João Victor dos Anjos Almeida⁽²⁾
Alessandro de Mello Varani⁽³⁾

Resumo

A resistência antimicrobiana representa uma ameaça crescente à saúde pública, associada à seleção de linhagens resistentes pelo uso extensivo de antibióticos na clínica e na agropecuária. Este estudo investigou a ocorrência de genes de resistência e sua relação com elementos genéticos móveis em genomas de bactérias e arqueias obtidos do NCBI RefSeq, utilizando uma abordagem de genômica comparativa. Os genes de resistência foram identificados com o ABRicate e seus bancos integrados, enquanto transposons e sequências de inserção foram avaliados utilizando os bancos TnCentral, INTEGRALL e ISfinder. Genomas contendo elementos como Tn125, ISL3 e IS701 apresentaram maior número médio de genes de resistência. Também foram observadas co-localizações recorrentes, como catB4 próximo à família IS30, sugerindo contextos genômicos associados à mobilização e organização de determinantes de resistência antimicrobiana. Esses resultados reforçam o papel dos elementos genéticos móveis na disseminação da resistência antimicrobiana.

Palavras-chaves: bioinformática. genética microbiana. mobiloma. resistoma. transferência horizontal de genes.

Abstract

Antimicrobial resistance represents a growing threat to public health and is associated with the selection of resistant strains driven by the extensive use of antibiotics in clinical and agricultural settings. This study investigated the occurrence of resistance genes and their relationship with mobile genetic elements in bacterial and archaeal genomes obtained from NCBI RefSeq using a comparative genomics approach. Resistance genes were identified using ABRicate and its integrated databases, while transposons and insertion sequences were assessed using the TnCentral, INTEGRALL, and ISfinder databases. Genomes containing elements such as Tn125, ISL3, and IS701 showed a higher average number of resistance genes. Recurrent co-localizations, such as catB4 near the IS30 family, suggested genomic contexts associated with the mobilization and organization of antimicrobial resistance determinants. These results reinforce the role of mobile genetic elements in the dissemination of antimicrobial resistance.

Keywords: Bioinformatics. Horizontal gene transfer. Microbial genetics. Mobilome. Resistome.

⁽¹⁾Graduando em Ciências Biológicas pela Unesp/FCAV; ⁽²⁾Doutorando em Microbiologia Agropecuária pela Unesp/FCAV; ⁽³⁾Professor Doutor em Biotecnologia. Departamento de Biotecnologia Agropecuária e Ambiental, Unesp/FCAV

1. Introdução

O uso extensivo de antibióticos na prática clínica e agropecuária tem impulsionado a seleção e o desenvolvimento de linhagens bacterianas resistentes, tornando a resistência antimicrobiana uma das maiores ameaças à saúde pública no século XXI (REYGAERT, 2018). Infecções causadas por microrganismos multirresistentes evidenciam a necessidade urgente de compreender os processos genéticos envolvidos na aquisição e disseminação de genes de resistência a antibióticos (ARGs, do inglês *Antibiotic Resistance Genes*), a fim de desenvolver estratégias mais eficazes de combate a esses patógenos (MUNITA e ARIAS, 2016).

Segundo Reygaert (2018), os ARGs podem ser classificados como resistência natural ou adquirida. A resistência natural é intrínseca, quando os genes estão sempre presentes e ativos, ou induzida, quando são ativados após exposição ao antimicrobiano. Já a resistência adquirida ocorre por transferência horizontal de genes (HGT, do inglês *Horizontal Gene Transfer*). Os genes de resistência adquiridos por meio de HGT são comumente associados a elementos genéticos móveis (MGEs, do inglês *Mobile Genetic Elements*), que introduzem novas funções ao genoma (PARTRIDGE *et al.*, 2018). Entre eles destacam-se as sequências de inserção (IS, do inglês *Insertion Sequences*), pequenos segmentos de DNA que codificam exclusivamente a enzima transposase, e os transposons, segmentos de DNA capazes de se movimentar dentro do genoma e frequentemente associados à mobilização de genes de resistência (VARANI *et al.*, 2021; BABAKHANI e OLOOMI, 2018).

Diante disso, este estudo analisou genomas de bactérias e arqueias com o objetivo de identificar genes de resistência, sua distribuição genômica, homologias e possíveis relações funcionais.

2. Metodologia

Obtenção de dados genômicas de arqueias e bactérias

Foram utilizados genomas completos e anotados disponibilizados no repositório RefSeq do NCBI, acessados pela plataforma “*Genomes - NCBI Datasets*” (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genomes/>). Os genomas RefSeq são selecionados por sua curadoria de qualidade e vêm anotados de forma padronizada com o PGAP (do inglês *Prokaryotic Genome Annotation Pipeline*).

Identificação de ARGs

Para avaliar a presença de ARGs e classificá-los adequadamente, as sequências genômicas de cada isolado foram comparadas, por meio da ferramenta ABRicate v1.0.1¹, contra bancos de dados de referência para resistência antimicrobiana disponíveis na ferramenta, incluindo ARG-ANNOT, CARD, MEGARES, NCBI AMRFinderPlus e ResFinder.

Identificação de ARGs e MGEs

Já para a identificação de MGEs, também foi baseada no uso do ABRICATE, porém compilando os bancos TnCentral (ROSS *et al.*, 2021), Integrall (MOURA *et al.*, 2009) e ISfinder (SIGUIER *et al.*, 2006), em um repositório comum.

Além disso, com ambos os resultados, foi avaliada a posição genômica dos ARGs e MGEs detectados para identificar eventos de co-localização (e.g. ARGs próximos a transposases).

3. Resultados e Discussão

A análise da associação entre elementos genéticos móveis e a carga de genes de resistência antimicrobiana revelou padrões consistentes tanto para transposons quanto para sequências de inserção (Figura 1A). De modo geral, genomas contendo transposons como TnSMR478, TnSba14, TnPMLUA4 e Tn125, bem como famílias de sequências de inserção como ISL3, IS701 e ISKra4, apresentaram maior número médio de genes de resistência quando comparados aos genomas nos quais esses elementos estavam ausentes.

Entre os transposons, observou-se que alguns elementos apresentaram associação positiva mais pronunciada com a carga de genes AMR, indicando que sua presença ocorre com maior frequência em genomas enriquecidos em genes de resistência. Embora essa associação não permita inferir uma relação causal direta, os resultados são compatíveis com o papel dos transposons na mobilização e disseminação de genes entre microrganismos, contribuindo para a dinâmica evolutiva da resistência antimicrobiana (PARTRIDGE *et al.*, 2018; BABAKHANI e OLOOMI, 2018).

Padrão semelhante foi observado para as famílias de IS (Figura 1B). Diversas famílias

¹ - <https://github.com/tseemann/abricate>.

apresentaram associação positiva com a carga de genes AMR, sugerindo que esses elementos podem estar relacionados a contextos genômicos favoráveis à aquisição, manutenção ou reorganização de genes de resistência. Embora as IS não transportem genes de resistência diretamente na maioria dos casos, sua capacidade de promover rearranjos genômicos e mobilidade genética pode favorecer a dispersão desses genes ao longo do tempo (SIGUIER *et al.*, 2006; VARANI *et al.*, 2021).

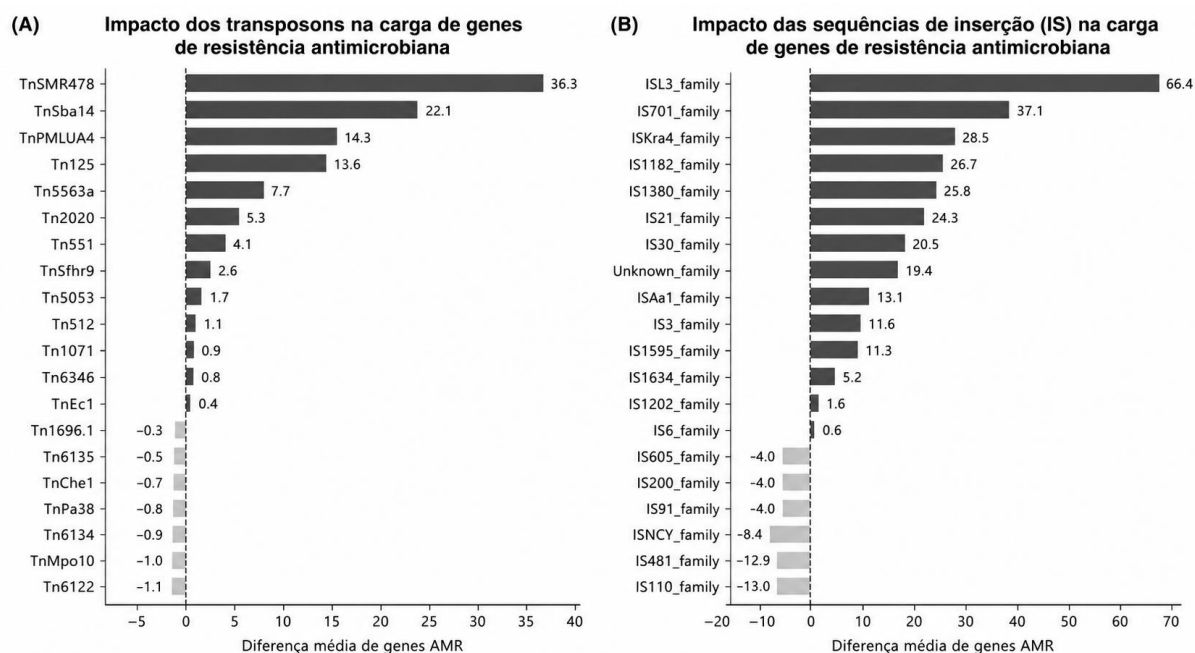


FIGURA 1 - Impacto de elementos genéticos móveis na carga de genes AMR. Diferença média no número de genes AMR (A) entre genomas com e sem transposons. (B) Diferença média no número de genes AMR entre genomas com e sem famílias de sequências de inserção (IS). Valores positivos indicam maior carga de genes AMR associada à presença do elemento, enquanto valores negativos indicam associação inversa.

De modo geral, os resultados sugerem que a distribuição dos genes de resistência não ocorre de forma aleatória nos genomas analisados. A associação observada entre determinados transposons, famílias de IS e a carga de genes AMR reforça a importância desses elementos na organização do resistoma microbiano. A análise de proximidade (distância ≤ 500 pb) revelou associações recorrentes entre genes de resistência e sequências de inserção. Destacaram-se as associações de *catB4* com IS30 (22 ocorrências), IS22 (15 ocorrências), IS29 (13 ocorrências), IS17 (13 ocorrências) e IS18 (11 ocorrências), além de *lnu(C)* com IS8 (7 ocorrências) e *sul2* com IS1 e IS24 (5 e 3 ocorrências, respectivamente). Esses padrões sugerem a existência de contextos genômicos conservados potencialmente envolvidos na mobilização de genes de resistência.

4. Conclusão

Os resultados obtidos indicam que transposons como TnSMR478, TnSba14, TnPMLUA4 e Tn125, bem como famílias de sequências de inserção como ISL3, IS701 e ISKra4 estão associados a uma maior carga de genes de resistência antimicrobiana. Essa associação reforça a importância dos elementos genéticos móveis na organização e disseminação da resistência em genomas microbianos. Além disso, os dados obtidos fornecem uma base para futuras análises de contexto genômico e mobilidade genética envolvendo genes de resistência.

5. Apoio Financeiro

Este projeto contou com apoio financeiro PIBIC Reitoria Unesp/FCAV, Número de projeto 20151.

6. Referências

- BABAKHANI, S.; OLOOMI, M. Transposons: the agents of antibiotic resistance in bacteria. *Journal of Basic Microbiology*, v. 58, n. 11, p. 905-917, 2018. DOI: 10.1002/jobm.201800204.
- BLÁZQUEZ, J.; COUCE, A.; RODRÍGUEZ-BELTRÁN, J.; RODRÍGUEZ-ROJAS, A. Antimicrobials as promoters of genetic variation. *Current Opinion in Microbiology*, v. 15, n. 5, p. 561-569, 2012. DOI: 10.1016/j.mib.2012.07.007.
- GHALY, T. M.; GEORGE, S.; TAYLOR, M. C.; RENAUD, J. B.; LEMAY, D. G.; ISLAM, M. R.; SHAPIRO, B. J.; BEIKO, R. G. Discovery of integrons in Archaea: platforms for cross-domain gene transfer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 119, n. 46, 2022. DOI: 10.1073/pnas.221028611.
- KUEHNAST, T.; SOUFFRANT, K.; PEREIRA, I. A. C.; MIRA, A.; BANG, C. Exploring the human archaeome: its relevance for health and disease and its complex interplay with the human immune system. *The FEBS Journal*, 2024. DOI: 10.1111/febs.17120.
- MOURA, A.; SOARES, M.; PEREIRA, C.; LEITÃO, N.; HENRIQUES, I.; CORREIA, A. INTEGRALL: a database and search engine for integrons, integrases and gene cassettes. *Bioinformatics*, v. 25, n. 8, p. 1096-1098, 2009. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp105.
- MUNITA, J. M.; ARIAS, C. A. Mechanisms of antibiotic resistance. In: MAYERS, D. L. (ed.). *Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens*. Washington: ASM Press, 2016. DOI: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.
- PARTRIDGE, S. R.; KWONG, S. M.; FIRTH, N.; JENSEN, S. O. Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 31, n. 4, 2018. DOI: 10.1128/CMR.00088-17.
- REYGAERT, W. C. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology*, v. 4, n. 3, p. 482-501, 2018. DOI: 10.3934/microbiol.2018.3.482.
- ROSS, K.; VARANI, A. M.; SNESRUD, E.; HUANG, H.; ALVARENGA, D. O.; ZHANG, J.; WU, C.; MCGANN, P.; CHANDLER, M. TnCentral: a prokaryotic transposable element database and web portal for transposon analysis. *mBio*, v. 12, n. 5, e02060-21, 2021. DOI: 10.1128/mBio.02060-21
- SIGUIER, P.; PEROCHON, J.; LESTRADE, L.; MAHILLON, J.; CHANDLER, M. ISfinder: the reference centre for bacterial insertion sequences. *Nucleic Acids Research*, v. 34, suppl. 1, p. D32-D36, 2006. DOI: 10.1093/nar/gkj014.
- VARANI, A.; HE, S.; SEDLACEK, M.; MIR-SANCHIS, I.; KELLER, E. R.; SMILLIE, C. S.; HALL, R. M.; FROST, L. S.; CHANDLER, M. The IS6 family, a clinically important group of insertion sequences including IS26. *Mobile DNA*, v. 12, n. 1, 2021. DOI: 10.1186/s13100-021-00234-y.