

Resistência em isolados ambientais de *Escherichia coli* através de sistemas de bomba de efluxo.

Marina Bastos¹; Gertrudes Corção²

¹ Aluna de Graduação do Curso de Farmácia (UFRGS); ² Orientadora, Professora associada do Departamento de Microbiologia, Parasitologia e Imunologia/ICBS (UFRGS)



INTRODUÇÃO

Diversos estudos apontam o aumento da resistência a antimicrobianos em bactérias devido ao uso inadequado, incorreto e indiscriminado. A resistência de antimicrobianos pode ser expressa de maneira intrínseca através da superexpressão de bombas de efluxo. O sistema de efluxo AcrAB-TolC é o mais estudado em *E. coli* e confere resistência a antimicrobianos como: penicilinas, cefalosporinas, fluoroquinolonas, macrolídeos, cloranfenicol, tetraciclinas entre outras moléculas. Através do sistema AcrAB-TolC, a proteína AcrB, capta o antimicrobiano no citoplasma e depois o exporta para o meio extracelular através da proteína TolC que constitui um canal na membrana externa. A associação entre AcrB e TolC é mediada pela proteína AcrA.

O objetivo desse trabalho foi analisar a presença dos genes *acrA*, *acrB* e *tolC* em isolados de *E. coli* resistentes a antimicrobianos provenientes de amostras de água da Lagoa dos Patos. Em um estudo prévio do grupo, foi observado a redução da concentração inibitória mínima para tetraciclina na presença de um inibidor de bomba de efluxo (carbonil-cianeto-*m*-clorofenilidrazona, CCCP), sugerindo que provavelmente o mecanismo de resistência a esse antimicrobiano seja pela superexpressão de bomba de efluxo.

MATERIAIS E MÉTODOS

- Foram utilizados 60 isolados de *E. coli* provenientes de amostras de água da Lagoa dos Patos.
- Extração de DNA através do método de fervura através do método de Misbah et al.
- Amplificação dos genes *acrA*, *acrB* e *tolC*.
- Eletroforese em gel de agarose.

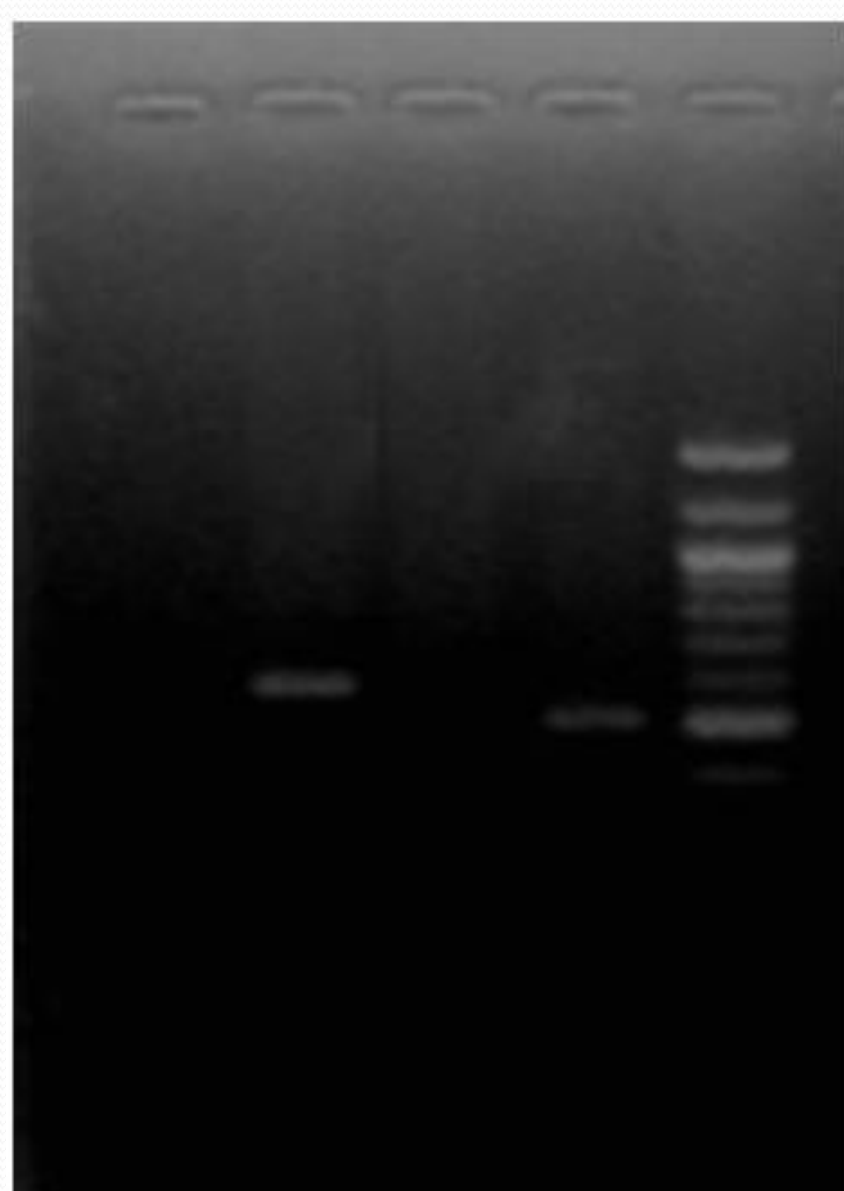


Figura 1: Imagem da eletroforese em gel de agarose. Sequencia do gel: 1- Branco (Controle da reação), 2- Isolado T30 (gene *acrA*), 3- Controle negativo, 4- isolado T30 (gene *acrB*), 5- Marcador ladder 100pb.

RESULTADOS

A concentração inibitória mínima (CIM) obtidas para tetraciclina no estudo prévio está descrita na Tabela 1. Foi observado que todos os isolados que apresentaram redução CIM apresentaram os genes *acrA*, *acrB* e *tolC*.

Tabela 1: Concentração inibitória mínima à tetraciclina na ausência e presença de CCCP.

| Isolado | Sem CCCP | Com CCCP | Isolado | Sem CCCP | Com CCCP |
|---------|----------|----------|---------|----------|----------|
| T30 | 512 | 64 | M140 | >512 | 64 |
| T131 | 128 | 64 | M141 | >512 | 64 |
| T170 | 512 | 128 | M142 | >512 | 64 |
| T210 | 128 | 64 | M145 | >512 | 64 |
| T223 | 512 | 64 | M146 | >512 | 64 |
| T232 | 256 | 64 | M149 | >512 | 64 |
| T300 | 128 | 64 | M150 | >512 | 64 |
| T333.1 | 128 | 64 | M153 | >512 | 64 |
| T334 | >512 | 64 | M155 | >512 | 64 |
| T340 | 128 | 32 | M161 | >512 | 64 |
| T355 | 128 | 32 | M163 | >512 | 64 |
| SM100 | >512 | 256 | M166 | >512 | 64 |
| SM102 | 256 | 128 | M167 | >512 | 64 |
| SM106 | 128 | 64 | M170 | >512 | 64 |
| SM143 | 128 | 32 | M171 | >512 | 64 |
| SM144 | 128 | 64 | M173 | >512 | 64 |
| SL122 | 128 | 32 | M174 | >512 | 64 |
| SL157 | 256 | <1 | M175 | >512 | 64 |
| SL192 | 32 | <1 | M176 | >512 | 64 |
| SL214 | 128 | <1 | M177 | >512 | 64 |
| SL220 | 64 | <1 | M179 | >512 | 64 |
| B31 | 32 | <1 | M182 | >512 | 64 |
| B35 | 256 | <1 | M186 | >512 | 64 |
| B165 | 256 | <1 | M187 | >512 | 64 |
| B182 | 256 | <1 | M190 | >512 | 64 |
| M81 | 32 | <1 | M193 | >512 | 64 |
| M82 | 16 | <1 | M195 | >512 | 64 |
| M84 | 32 | <1 | M196 | >512 | 64 |
| M138 | 256 | <1 | M198 | >512 | 64 |
| M139 | 512 | 128 | M200 | >512 | 64 |

CONCLUSÃO

- Pode-se concluir que os isolados de *E. coli* com redução da CIM na presença do inibidor de bomba de efluxo e presença dos genes do sistema *acrAB-TolC* podem apresentar este mecanismo de resistência à tetraciclina.
- Como os níveis de resistência e inibição foram bastante variáveis, estudos adicionais avaliando o nível de expressão do sistema *acrAB-TolC* serão realizados através da metodologia de PCR em Tempo-Real.