

Avaliação fenotípica da alteração ou perda de expressão de proteína de membrana externa (OMP) em isolados de *Escherichia coli* resistentes a antimicrobianos.

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

A resistência a antimicrobianos pode ser expressa de maneira intrínseca através da superexpressão de bombas de efluxo e perda de expressão de proteínas de membrana externa (OMP).

Em *E. coli*, OmpC e OmpF controlam a permeabilidade da membrana externa e a resistência a antimicrobianos como ampicilina, tetraciclina e quinolonas pode estar associada a alteração ou perda de expressão dessas OMPs. Estudos demonstram que o controle da expressão de OMPs e bombas de efluxo podem ocorrer por uma via em comum. O objetivo desse estudo foi avaliar a alteração ou perda de OMP em isolados de *E. coli* resistentes a antimicrobianos provenientes de amostras de água da Lagoa dos Patos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 49 isolados de *E. coli* com redução da concentração inibitória mínima (CIM) para tetraciclina na presença de um inibidor de bomba de efluxo (CCCP), para obtenção dos mutantes sensíveis (revertentes 1) e mutantes resistentes (revertente 2)

RESULTADOS

Após 25 cultivos sucessivos na ausência do antimicrobiano observou-se que nenhum isolado apresentou redução da CIM, entretanto, foi realizada extração das OMPs mesmo que o mutante rev. 1 não tenha reduzido CIM.

Dos 49 isolados analisados pelo SDS-PAGE, foi observado que em 36 não houve alteração no perfil das OMPs nos isolados resistentes, mutante rev.1 e mutante rev.2. Em 13 isolados foi observada uma variação de uma OMP de ~40kDa. Em 5 isolados foi observado o surgimento dessa OMP somente no rev.1; em 4 isolados foi observada a presença dessa proteína nos isolados resistentes, entretanto, permaneceu presente no rev.1 somente em 2 isolados, não sendo observada no mutante rev.2. Em 2 isolados foi observada a presença da OMP ~40kDa somente nos revertentes 1 e 2. Em nenhum dos isolados foi observada a alteração fenotípica da expressão das Omp C e Omp F.

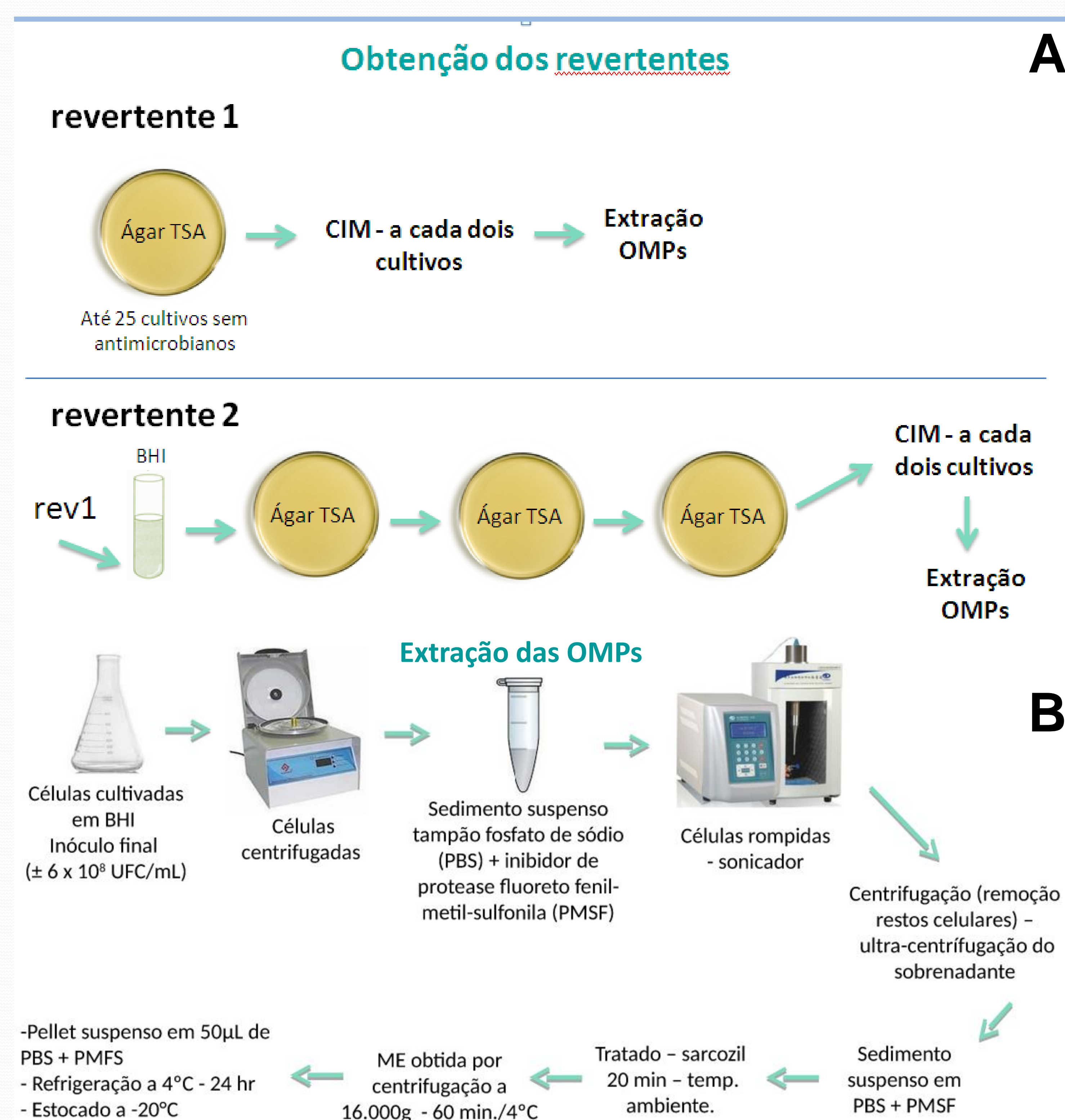


FIGURA 1: (A) Obtenção dos mutantes revertentes 1 (sensíveis) e 2 (resistentes) para extração de OMPs. (B) Metodologia adotada para extração das OMPs. Após a extração, as OMPs foram analisadas por SDS-PAGE corado com Coomassie Blue. (Esquema gentilmente cedido por Karine Lenna Meneghetti)

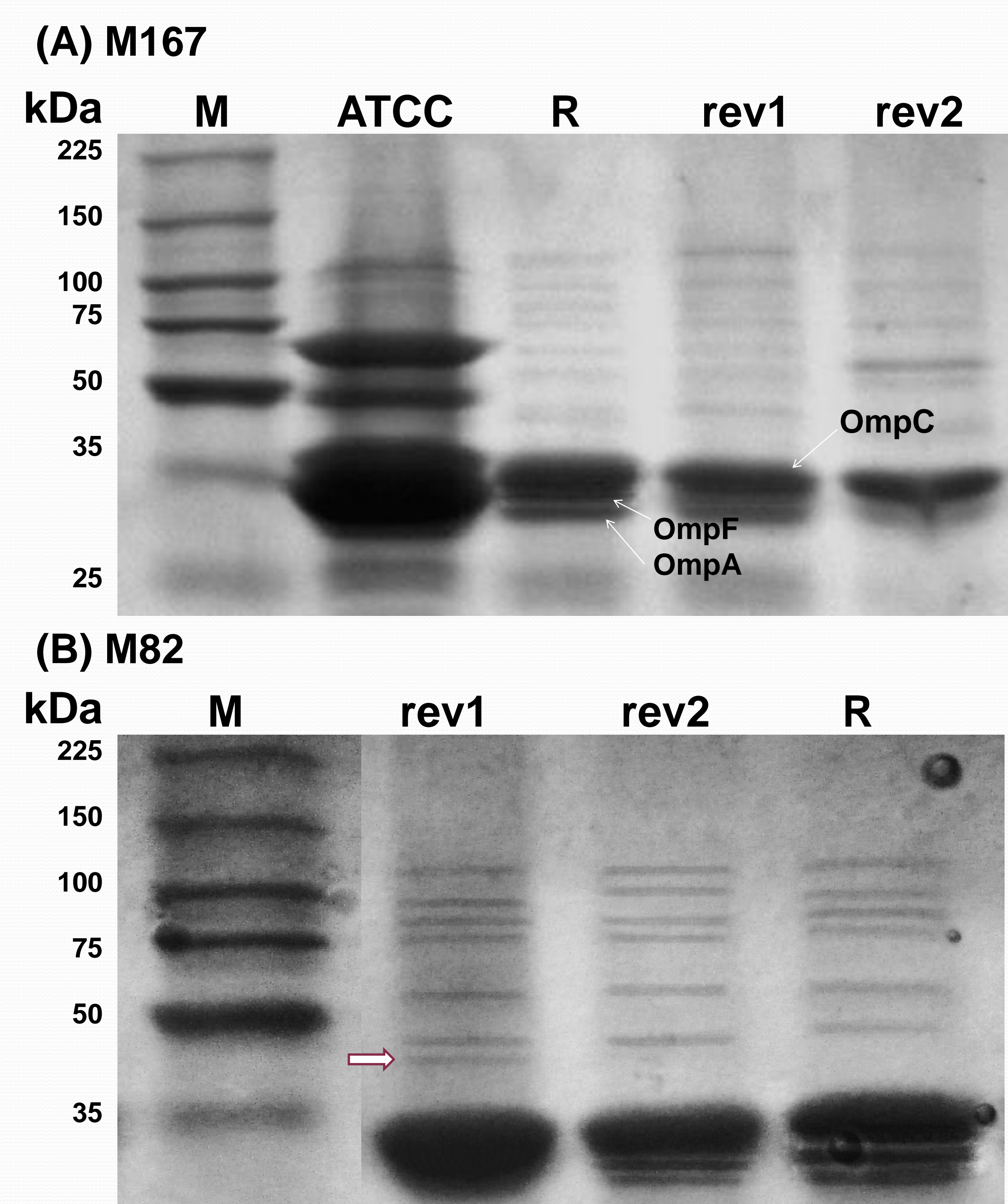


Figura 2: Perfil de OMPs dos isolados analisados por SDS-PAGE (12% policrilamida). M: marcador de peso molecular kDa; ATCC: *E. coli* ATCC 25922; R: resistente; rev 1: mutante revertente 1 cultivado na ausência do antimicrobiano; rev2: mutante revertente 2 cultivado na presença do antimicrobiano. (A) Perfil de OMP do isolado M167: sem alteração fenotípica das OMPs. (B) Perfil de OMPs do isolado: com alteração no perfil de OMPs. A seta indica a presença da OMP ~40kDa.

CONCLUSÃO

Pode-se observar que não houve mudança no comportamento das OmpC e OmpF, mas verificou-se a presença da OmpA no isolado resistente e a ausência desta na indução dos revertentes (mutante 1 e 2).

Apesar de não haver mudança da CIM, acredita-se que as modificações nos perfis da OMP ~40kDa possa ser um possível interferente na resistência a antimicrobianos.