



Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Biociências

BRUNA MARIA BENTO

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM AMINOÁCIDOS NA  
RESISTÊNCIA BACTERIANA A ANTIBIÓTICOS QUE INIBEM  
A SÍNTESE DE PROTEÍNAS**

Recife  
2024

BRUNA MARIA BENTO

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM AMINOÁCIDOS NA  
RESISTÊNCIA BACTERIANA A ANTIBIÓTICOS QUE INIBEM  
A SÍNTESE DE PROTEÍNAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Marcos Antônio de Moraes Junior

Coorientador: Allyson Andrade Mendonça

Recife  
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Bento, Bruna Maria .

Efeito da suplementação com aminoácidos na resistência bacteriana a antibióticos que inibem a síntese de proteínas / Bruna Maria Bento. - Recife, 2024.

43 : il., tab.

Orientador(a): Marcos Antônio de Moraes Junior

Coorientador(a): Allyson Andrade Mendonça

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2024.

Inclui referências.

1. Resistência. 2. Antibióticos. 3. Aminoácidos. 4. Inovação Terapêutica. 5. Concentração Mínima Inibitória. I. Moraes Junior , Marcos Antônio de. (Orientação). II. Mendonça, Allyson Andrade . (Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

BRUNA MARIA BENTO

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM AMINOÁCIDOS NA  
RESISTÊNCIA BACTERIANA A ANTIBIÓTICOS QUE INIBEM  
A SÍNTESE DE PROTEÍNAS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação  
em Biomedicina da Universidade  
Federal de Pernambuco, como pré-  
requisito à obtenção do título de  
Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Marcos Antônio de Moraes Junior  
UFPE/ Departamento de Genética

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Maria Betânia Melo de Oliveira  
UFPE/ Departamento de Bioquímica

---

MSc. Tiago Luiz Santana Calazans  
UFPE/ Departamento de Genética

Dedico este trabalho à minha mãe, cuja presença constante, amor e apoio incondicional foram fundamentais para minha jornada.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela sabedoria e perseverança que me sustentaram ao longo dessa jornada. Sua presença iluminou meu caminho e renovou minhas esperanças nos momentos mais difíceis.

Agradeço imensamente ao meu orientador, Dr. Marcos Morais, e ao meu coorientador, Dr. Allyson Mendonça, por toda a orientação e apoio valiosos ao longo desta jornada. Suas orientações foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho e para meu crescimento acadêmico. Agradeço ao CNPq pelo suporte financeiro proporcionado através do PIBIC/UFPE/CNPq 2022-2023. Agradeço também a todos os pesquisadores do Laboratório de Genética de Microrganismos, cuja colaboração e compartilhamento de conhecimentos foram fundamentais para o enriquecimento do meu projeto.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão à minha mãe, Letícia, e às minhas tias, Ednalva e Laudeci. Desde a minha infância, elas têm sido pilares fundamentais na minha vida, guiando-me com sabedoria, carinho e amor incondicional. Agradeço por sempre me mostrarem o caminho certo e por me incentivarem a acreditar em mim mesma. O apoio constante e a confiança que me deram foram essenciais para que eu pudesse alcançar meus objetivos. Sem o apoio e o amor de vocês, nada disso seria possível.

Agradeço ao meu namorado, André, pelo amor, cuidado e incentivo ao longo desta jornada. Seu apoio constante foi uma fonte de força e motivação. Obrigada por ser meu maior companheiro.

Agradeço a todos os professores da Biomedicina que contribuíram de forma essencial para minha formação acadêmica. Também sou grata aos meus amigos Álvaro, Bruna, Jonathan, Vivian, Cecília, Douglas, Tayzes, Francielle, Neto, João, Roberto e Cesar por dividirem essa jornada comigo. Estivemos juntos desde o início, compartilhando noites sem dormir estudando, longas viagens de ônibus, dias dedicados a experimentos no laboratório e momentos especiais na vida um do outro.

Agradeço a todos os meus demais familiares e amigos que, de alguma forma, contribuíram para o meu desenvolvimento pessoal e acadêmico. Cada palavra de incentivo, cada gesto de apoio e cada momento compartilhado foram fundamentais para o meu crescimento.

BENTO, Bruna Maria .**Efeito da suplementação com aminoácidos na resistência bacteriana a antibióticos que inibem a síntese de proteínas**. 2024. 43 folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

## RESUMO

A resistência bacteriana é um desafio global crítico, ameaçando a eficácia dos tratamentos antimicrobianos e aumentando o risco de infecções graves e letais. Os principais tipos de resistência bacteriana são: Resistência adquirida, resistência induzida e resistência adaptativa. Pesquisas recentes realizadas pelo Laboratório de Genética de Microrganismos demonstraram que a suplementação do meio com cisteína aumenta a resistência da bactéria *Lactobacillus vini* à eritromicina. Dessa forma, o trabalho teve como objetivo determinar o efeito da suplementação com aminoácidos sobre a ação de antibióticos inibidores de síntese proteica mais utilizados no tratamento clínico de infecções causados bactérias Gram positivas e Gram negativas de infecções hospitalares. Os experimentos envolveram 8 isolados clínicos sendo *Acinetobacter baumannii*, *Salmonella enterica*, *Shigella dysenteriae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, Gram negativas e *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*, Gram positivas. A linhagem *Escherichia coli* ATCC 252922 foi utilizada como controle, sendo todas provenientes do setor de Bacteriologia do ICB-UPE. As bactérias foram estocadas e reativadas em meio LB, sendo incubadas a 37°C. Os antibióticos utilizados foram eritromicina na faixa de concentração entre 1µg/mL e 256µg/mL e canamicina e cloranfenicol na faixa entre 1µg/mL e 1024µg/mL. A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada pela técnica de microdiluição em caldo com meio LB suplementado ou não com um dos 20 aminoácidos e cada um dos 3 antibióticos em diferentes concentrações. Em geral, os valores de CIM para Cloranfenicol foram aumentados entre 2 a 4 vezes para as linhagens *Escherichia coli* ATCC 252922, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*, enquanto o isolado *Shigella dysenteriae* exibiu uma redução de 2 vezes na CIM com a suplementação de boa parte dos aminoácidos. A suplementação com aminoácidos teve um impacto variável na CIM com o antibiótico Canamicina em diferentes isolados bacterianos, sendo a *Pseudomonas aeruginosa* mais afetada, no qual a suplementação com todos os aminoácidos resultaram em um aumento de 2 vezes na CIM. No entanto, o *Staphylococcus aureus* e *Acinetobacter baumannii* não apresentaram alterações significativas. Para a Eritromicina, a adição de aminoácidos aumentou a CIM na maioria dos isolados, com destaque para *Escherichia coli* e *Acinetobacter baumannii*, onde ocorreu um aumento de 2 a 4 vezes na CIM. *Shigella dysenteriae* teve efeitos semelhantes ao cloranfenicol, com a maioria dos aminoácidos diminuindo a CIM em 2 vezes. O ácido aspártico ocasionou em um maior impacto na *Pseudomonas aeruginosa* ocasionando em um aumento de 4 vezes. Esses resultados ressaltam a importância dos aminoácidos na modulação da resistência bacteriana a antibióticos, sugerindo que a presença desses compostos pode alterar a eficácia dos tratamentos. A pesquisa evidencia a necessidade de mais estudos para entender completamente como os aminoácidos influenciam a resistência, especialmente em contextos clínicos e hospitalares.

**Palavras-chave:** : Resistência. Antibióticos. Aminoácidos. Inovação Terapêutica. Concentração Mínima Inibitória.

BENTO, Bruna Maria. **Effect of amino acid supplementation on bacterial resistance to antibiotics that inhibit protein synthesis**". 2024. 43 folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

## ABSTRACT

Bacterial resistance is a critical global challenge, threatening the effectiveness of antimicrobial treatments and increasing the risk of severe and lethal infections. The main types of bacterial resistance are acquired resistance, induced resistance, and adaptive resistance. Recent research conducted by the Microorganism Genetics Laboratory demonstrated that cysteine supplementation enhances the resistance of *Lactobacillus vini* to erythromycin. Thus, this study aimed to determine the effect of amino acid supplementation on the action of protein synthesis-inhibiting antibiotics most commonly used in clinical treatment of infections caused by Gram-positive and Gram-negative bacteria in hospital settings. The experiments involved eight clinical isolates: *Acinetobacter baumannii*, *Salmonella enterica*, *Shigella dysenteriae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negative bacteria), and *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* (Gram-positive bacteria). The *Escherichia coli* ATCC 252922 strain was used as a control, and all isolates were obtained from the Bacteriology Department at ICB-UPE. The bacteria were stored and reactivated in LB medium and incubated at 37°C. The antibiotics used were erythromycin at concentrations ranging from 1 µg/mL to 256 µg/mL, and kanamycin and chloramphenicol at concentrations ranging from 1 µg/mL to 1024 µg/mL. The determination of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was performed using the broth microdilution technique in LB medium, supplemented or not with one of the 20 amino acids, and each of the three antibiotics at different concentrations. In general, MIC values for chloramphenicol increased 2- to 4-fold for *Escherichia coli* ATCC 252922, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, and *Enterococcus faecalis*, while the *Shigella dysenteriae* isolate exhibited a 2-fold reduction in MIC with supplementation of most amino acids. Amino acid supplementation had a variable impact on MIC with the antibiotic kanamycin in different bacterial isolates, with *Pseudomonas aeruginosa* being the most affected, where supplementation with all amino acids resulted in a 2-fold increase in MIC. However, *Staphylococcus aureus* and *Acinetobacter baumannii* showed no significant changes. For erythromycin, the addition of amino acids increased MIC in most isolates, particularly for *Escherichia coli* and *Acinetobacter baumannii*, where a 2- to 4-fold increase in MIC was observed. *Shigella dysenteriae* exhibited effects similar to those observed with chloramphenicol, with most amino acids reducing MIC by 2-fold. Aspartic acid had the most significant impact on *Pseudomonas aeruginosa*, causing a 4-fold increase in MIC. These results highlight the importance of amino acids in modulating bacterial resistance to antibiotics, suggesting that the presence of these compounds can alter treatment efficacy. The research underscores the need for further studies to fully understand how amino acids influence resistance, especially in clinical and hospital contexts.

**Key words:** Resistance. Antibiotics. Amino acids. Therapeutic innovation. Minimum inhibitory concentration.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – Mecanismos de ação de vários inibidores de síntese proteica	14
<b>Figura 2</b> – Visão geral dos principais mecanismos de resistência	15
<b>Figura 3</b> – Representação da inativação enzimática de antibióticos por meio de (1) hidrólise, (2) transferência de grupo e (3) processo redox	17
<b>Figura 4</b> – Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CIM)	25

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Resultados da Concentração Mínima Inibitória do antibiótico Cloranfenicol com e sem a adição de aminoácidos nas diferentes bactérias Gram negativas e Gram positivas 30
- Tabela 2** – Resultados da Concentração Mínima Inibitória do antibiótico Canamicina com e sem a adição de aminoácidos nas diferentes bactérias Gram negativas e Gram positivas 31
- Tabela 3** – Resultados da Concentração Mínima Inibitória do antibiótico Eritromicina com e sem a adição de aminoácidos nas diferentes bactérias Gram negativas e Gram positivas 32

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>13</b>
2.1	ANTIBIÓTICOS QUE INIBEM A SÍNTESE DE PROTEÍNAS	13
2.2	RESISTÊNCIA ADQUIRIDA	14
2.2.1	Inativação de Antibióticos por Enzimas Bacterianas	16
2.2.2	Modificação do Alvo do Antibiótico	18
2.2.3	Diminuição da Permeabilidade da Membrana Bacteriana	18
2.2.4	Uso de Bombas de Efluxo	19
2.3	RESISTÊNCIA INDUZIDA	20
2.4	RESISTÊNCIA ADAPTATIVA	20
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>22</b>
3.1	OBJETIVO GERAL	22
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>23</b>
4.1	MICROORGANISMOS E CONDIÇÕES DE CULTIVO	23
4.2	ANTIBIÓTICOS E AMINOÁCIDOS UTILIZADOS	23
4.3	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA	24
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>26</b>
5.1	ANTIBIÓTICO CLORANFENICOL	26
5.2	ANTIBIÓTICO CANAMICINA	27
5.3	ANTIBIÓTICO ERITROMICINA	28
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>33</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>36</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>37</b>

## 1 Introdução

A resistência antimicrobiana (RAM) é um desafio ao mundo atual que coloca em risco diversos pacientes portadores de infecções e que necessitam da administração de antibiótico para tratamento, sendo assim, um dos desafios mais complexos enfrentados pela comunidade médica e científica atualmente (SPELLBERG *et al.*, 2013). Nesse cenário crítico, estudos recentes realizados pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Microrganismos têm investigado a influência de fatores, como a suplementação de aminoácidos, sobre a resistência bacteriana aos antibióticos. Pesquisas indicam que a adição de alguns aminoácidos ao meio de cultivo bacteriano pode modular a sensibilidade das bactérias aumentando ou diminuindo sua resistência (MENDONÇA *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2021). Esses achados sugerem que os aminoácidos podem desempenhar um papel bastante significativo na resistência adaptativa, uma vez que impacta diretamente a eficácia dos tratamentos com antibióticos. A partir dos fatos apresentados acima, foi necessário aprofundar a investigação do possível efeito que a presença de aminoácidos possa ter sobre o fenômeno de resistência bacteriana a antibióticos, seja no contexto industrial, como no contexto da saúde pública como interferência sobre a terapêutica associada ao combate as infecções hospitalares.

Entre os antibióticos utilizados no combate a infecções bacterianas estão os que inibem a síntese proteica. Eles são uma classe de antibióticos que atuam inibindo a síntese de proteínas nas células bacterianas, interferindo no processo de tradução do RNA mensageiro em proteínas, que é fundamental para o crescimento e a sobrevivência das bactérias. Esses antibióticos, como os aminoglicosídeos, macrolídeos e cloranfenicol, desempenham um papel crucial na interrupção da produção de proteínas bacterianas, levando à inibição do crescimento ou morte das células patogênicas (WILSON, 2014). Porém, vale ressaltar, que o uso indiscriminado e prolongado desses antibióticos tem contribuído para o surgimento de cepas bacterianas resistentes.

Os mecanismos de resistência, como a inativação enzimática dos antibióticos, a modificação dos alvos moleculares e o uso de bombas de efluxo, têm sido bastante estudados (BARAN *et al.*, 2023). Além disso, a resistência adaptativa que é muitas

vezes causada por fatores ambientais, ocasiona em um nível ainda maior de complexidade no cenário da resistência bacteriana (BAHAROGLU & MAZEL, 2014).

A partir dos dados já obtidos nos projetos anteriores, é possível inferir que a suplementação do meio com aminoácidos interfira na ligação desses antibióticos com o sítio alvo no ribossomo, seja diretamente, seja na forma de excesso de aminoacil-tRNA que produzem. Assim, é necessário entender e propor mecanismos gerais sobre a ação de mecanismos metabólicos que interferem na resistência a esse tipo de antibiótico que trabalham em paralelo aos mecanismos clássicos de resistência.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 ANTIBIÓTICOS QUE INIBEM A SÍNTESE DE PROTEÍNAS

Os antibióticos que inibem a síntese de proteínas bacterianas têm um papel crucial para a terapêutica antimicrobiana para tratamento de várias infecções. Esses antibióticos atuam nos ribossomos bacterianos e interrompem tradução das moléculas de RNA mensageiro, levando à inibição do crescimento das bactérias (Figura 1). Os aminoglicosídeos, macrolídeos, tetraciclina, lincosamidas e oxazolidinonas são exemplos dessa classe de antibióticos (WILSON, 2014).

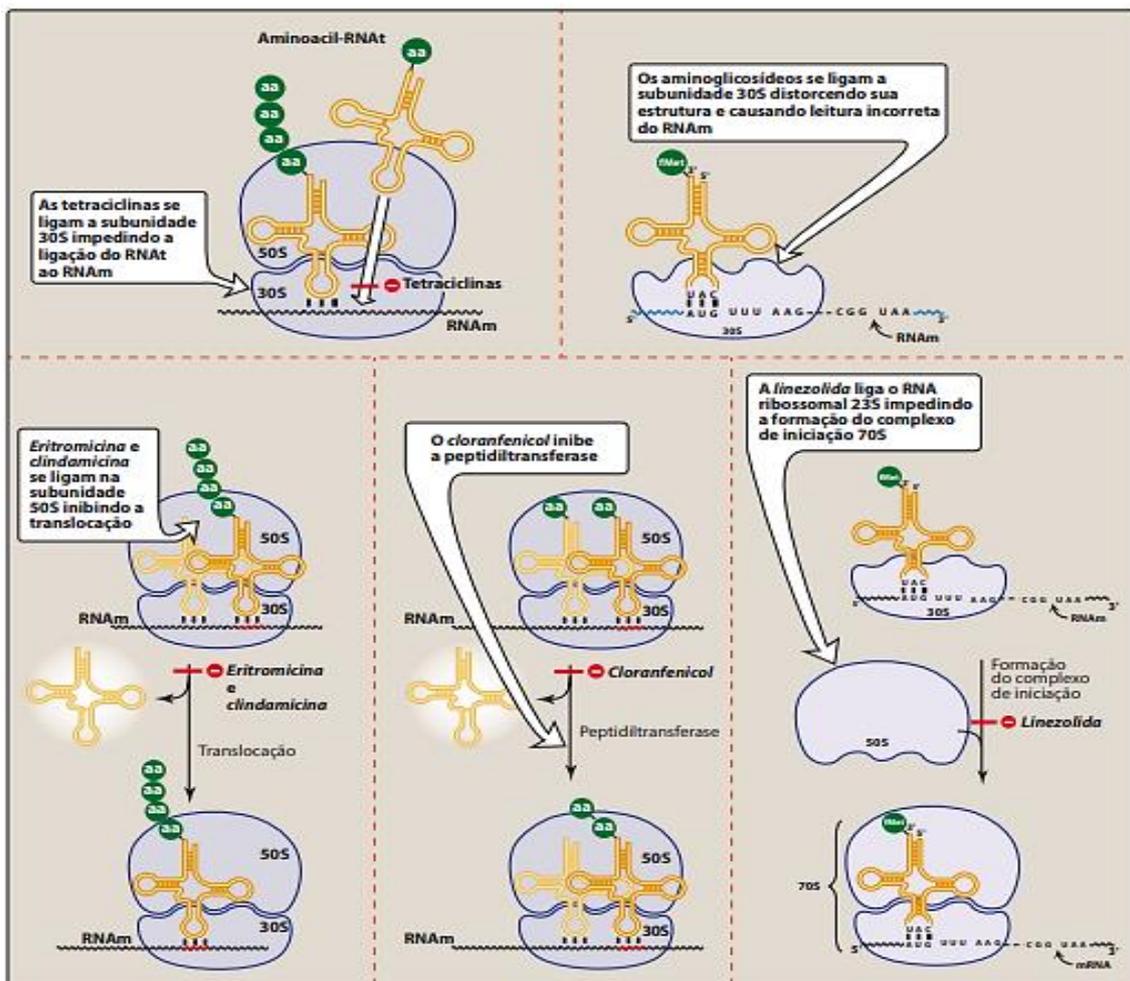
Os macrolídeos são uma classe importante de antibióticos amplamente utilizados no tratamento de infecções respiratórias e de pele, sendo conhecidos por sua eficácia contra bactérias Gram positivas e algumas Gram negativas, além de patógenos intracelulares (GOLKAR *et al.*, 2018). Eles se ligam irreversivelmente a um local na subunidade 50S do ribossoma bacteriano, inibindo, assim, etapas de translocação na síntese de proteínas e transpeptização. A resistência aos macrolídeos vem cada vez mais se tornando uma forte preocupação, em especial, entre os patógenos respiratórios e ao *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA). Os seus mecanismos de resistência são divididos na modificação do alvo ribossomal, bombas de efluxo e inativação enzimática (LECLERCQ, 2002).

Os aminoglicosídeos são outra classe de antibióticos também usados no tratamento de infecções. Eles são geralmente usados em infecções causadas por bactérias gram negativas, tais como *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. A canamicina, gentamicina, estreptomicina e amicacina são exemplos desta classe de antibióticos. Esses antibióticos possuem um efeito bactericida rápido e por isso são bastante utilizados no combate às infecções severas em ambiente hospitalar e nos casos de sepse (MAGILL *et al.*, 2021). Essas moléculas se difundem através de canais porina na membrana externa de microrganismos vulneráveis e se ligam à subunidade ribossomal 30S, inibindo a formação do aparelho ribossomal funcional (WHALEN *et al.*, 2016).

Os mecanismos de resistência a esses antibióticos incluem a expulsão por bomba de efluxo, a diminuição da captação e a modificação e inativação por síntese de enzimas associadas a plasmídeos (RAMIREZ & TOLMASKY, 2017).

Por fim, temos cloranfenicol, que é um antibiótico de amplo espectro, mas que é utilizado apenas para infecções de alto risco, para as quais não existe tratamento alternativo. Como mecanismo de ação, essa molécula se liga à subunidade ribossomal 50S bacteriana de forma reversível para inibir a síntese de proteínas na reação de peptidiltransferase. O mais comum dos vários mecanismos de resistência é a produção de enzimas bacterianas que vão inativa-lo ao acetilar sua molécula, impedindo assim que se ligue ao ribossomo (DRAGO, 2019).

Figura 1: Mecanismos de ação de vários inibidores de síntese proteica.



Fonte: WHALEN et al., 2016

## 2.2 RESISTÊNCIA ADQUIRIDA

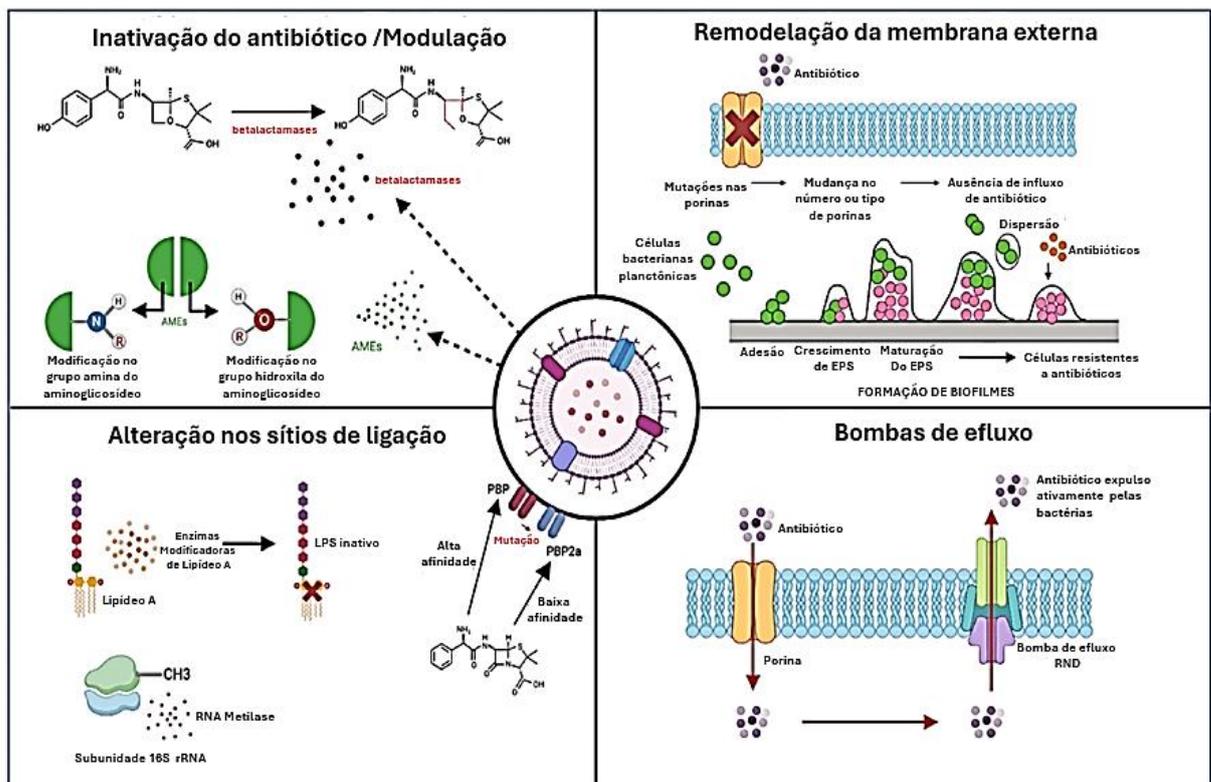
O termo resistência adquirida se refere ao fenômeno das bactérias de sobreviver e proliferar na presença dos antibióticos pela fixação de mutações ou aquisição de genes cujos produtos atuam na inibição da ação dos antibióticos. Esse

tipo de resistência pode ser ocasionado por mudanças no genoma bacteriano que vão consistir em mutações em genes direcionados a antibióticos ou na aquisição de DNA exógeno que vai conferir resistência transferida horizontalmente por plasmídeos, bacteriófagos, transposons ou outros elementos genéticos móveis (BARAN *et al.*, 2023).

A resistência bacteriana adquirida vem causando cada vez mais implicações para a saúde pública, uma vez que ela limita as opções de tratamento e aumenta a mortalidade associada a infecções bacterianas. A rápida disseminação de genes de resistência entre diferentes espécies que são facilitadas pelo uso inadequado de antibióticos acaba contribuindo para a emergência de cepas multirresistentes. Isso torna bastante urgente o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas e a ampliação de conhecimento para que as pessoas possam ter um uso mais consciente de antibióticos (DAVIES & DAVIES, 2010).

Entre os principais mecanismos de resistência adquirida estão a inativação de antibióticos por enzimas bacterianas, a modificação do alvo do antibiótico, a diminuição da permeabilidade da membrana bacteriana e o uso de bombas de efluxo (BARAN *et al.*, 2023).

Figura 2: Visão geral dos principais mecanismos de resistência



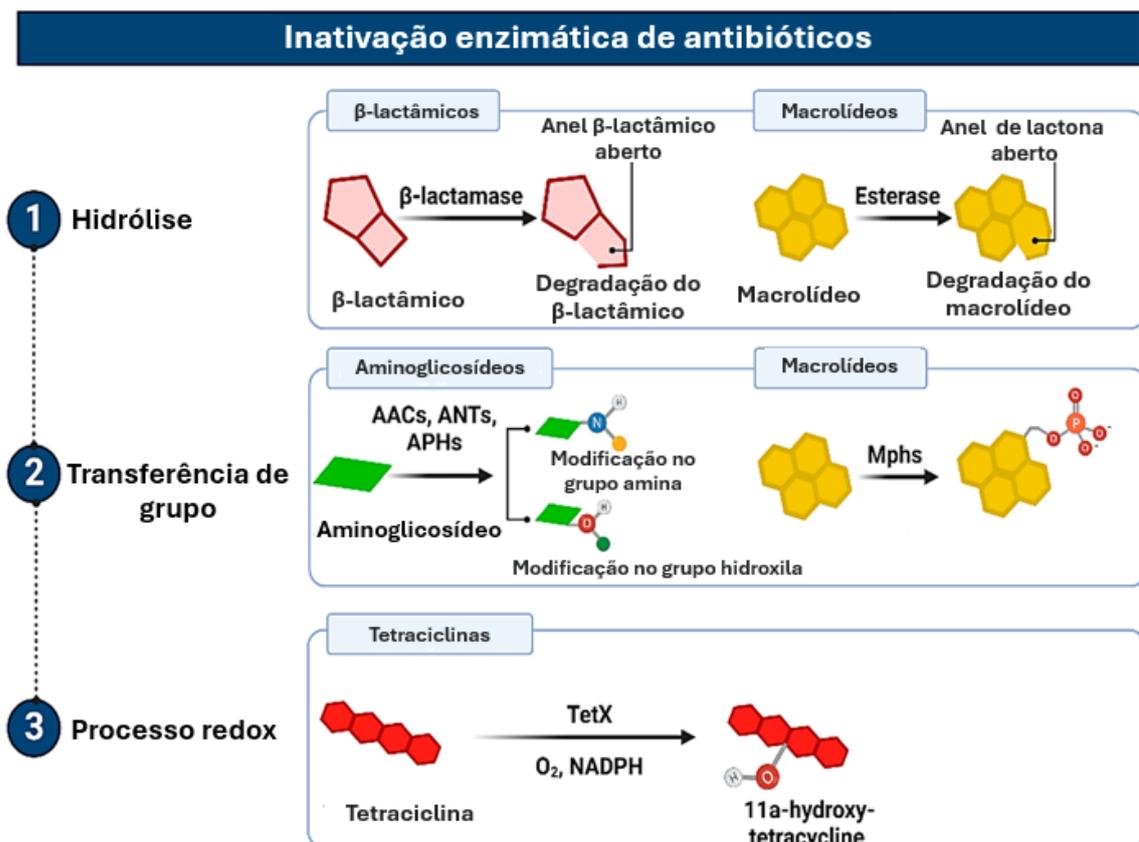
### 2.2.1 Inativação de Antibióticos por Enzimas Bacterianas

A inativação enzimática de antibióticos ocorre por hidrólise, transferência de grupo funcionais ou processos de oxirredução (BLAIR *et al.*, 2015). Um exemplo comum são as enzimas chamadas de  $\beta$ -lactamases que hidrolisam o anel  $\beta$ -lactâmico de antibióticos como penicilinas e cefalosporinas, neutralizando sua eficácia (Figura 3). A evolução das  $\beta$ -lactamases de espectro estendido (ESBLs) ampliou ainda mais o problema, tendo em vista que tornou bactérias como *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* resistentes a uma variedade de antibióticos  $\beta$ -lactâmicos (PATERSON *et al.*, 2005). Além das  $\beta$ -lactamases, outras enzimas, incluindo as aminoglicosídeo-modificadoras, são responsáveis pela inativação dos antibióticos aminoglicosídeos por meio de processos como fosforilação, adenilação ou acetilação, impedindo que esses medicamentos se liguem aos ribossomos bacterianos (WRIGH., 2005). As aminoglicosídeos fosfotransferases (APHs) são muito relevantes para resistência clínica aos aminoglicosídeos pelos organismos gram positivos como *Staphylococcus* e *Enterococcus*. Atuam catalisando a transferência de um grupo fosforil do ATP para uma das hidroxilas presente no aminoglicosídeo (JANA *et al.*, 2006). O processo de adenilção envolve a adição de um grupo adenil (AMP) para a hidroxila da molécula do aminoglicosídeo, inativando-o. As enzimas responsáveis por essa modificação são conhecidas como aminoglicosídeo adeniltransferases (ANTs) e são codificadas por genes frequentemente localizados em elementos genéticos móveis, como plasmídeos e transposons, o que facilita a disseminação da resistência entre diferentes espécies bacterianas, incluindo *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae* (JAIMEE *et al.*, 2016). A acetilação é um mecanismo no qual as enzimas bacterianas conhecidas como N-acetiltransferases (AACs) transferem um grupo acetil do acetil-COA para os grupos amino (-NH<sub>2</sub>) do aminoglicosídeo e como consequência há modificação da sua estrutura química, impedindo a sua capacidade de se ligar ao ribossomo e inibir a síntese de proteínas (KAPOOR *et al.*, 2017). Os genes que codificam essas enzimas estão localizados principalmente em plasmídeos, integrons, transposons ou em genes, que juntos irão promover sua disseminação pelas populações bacterianas (LABBY *et al.*, 2013).

Da mesma forma, a resistência microbiana aos macrolídeos pode resultar da inativação enzimática da molécula antibiótica, que é impulsionada por esterases,

como EreA, EreA2, EreB, EreC e EreD (LABBY *et al.*, 2013). Essas enzimas hidrolisam o anel de lactona do macrolídeo. A ocorrência de EreA e EreA2 é descrita em muitas cepas clínicas patogênicas, incluindo *Salmonella enterica* não tifoide, *Pseudomonas spp.*, *Vibrio cholera* e *Klebsiella spp.* (GOLKAR *et al.*, 2018). Além disso, a inibição da atividade antibacteriana dos macrolídeos pelos anéis de lactona podem ser consequência de sua modificação estrutural, envolvendo a fosforilação do grupo hidroxila localizado no átomo C5 da fração antibiótica desosamina. Até o momento, 15 macrolídeos fosfotransferases foram descritos, nos quais são codificados por genes localizados no cromossomo e sua ocorrência é confirmada em muitas espécies bacterianas como *Staphylococcus* e *Escherichia coli* (GOLKAR *et al.*, 2018).

Figura 3: Representação da inativação enzimática de antibióticos por meio de (1) hidrólise, (2) transferência de grupo e (3) processo redox.



Fonte: Adaptado BARAN *et al.*, 2023

### 2.2.2 Modificação do Alvo do Antibiótico

O processo de modificação do alvo do antibiótico ocorre quando mutações modificam a estrutura das proteínas alvo e impede seu reconhecimento pelo antibiótico (WILSON, 2014). Um exemplo disso é a resistência à meticilina (MRSA) em *Staphylococcus aureus* pela aquisição do gene *mecA*, que codifica uma forma alterada da proteína de ligação à penicilina (PBP2a), com baixa afinidade por antibióticos  $\beta$ -lactâmicos (LAKHUNDI *et al.*, 2018). Outro exemplo importante são as mutações que ocorrem na resistência às quinolonas, sendo as principais ocorrendo nos genes *gyrA* e *parC*. Essas mutações promovem a remodelação da estrutura química das enzimas DNA girase e topoisomerase IV, respectivamente, com a alteração dos sítios de ligação e redução da afinidade das quinolonas, permitindo assim a replicação do DNA mesmo na presença do antibiótico (HOOPER *et al.*, 2015).

Além disso, em bactérias como *Streptococcus pneumoniae*, a resistência aos macrolídeos ocorre por meio de mutações no RNA ribossômico ou em proteínas ribossomais, que alteram o local de ligação dos antibióticos, impedindo sua ação inibitória na síntese proteica (LI *et al.*, 2023). Este mecanismo de modificação do alvo é muito eficiente e permite que as bactérias continuem suas funções vitais enquanto evitam a ação dos antibióticos.

### 2.2.3 Diminuição da Permeabilidade da Membrana Bacteriana

A alteração da permeabilidade da membrana é um mecanismo que envolve mudanças na composição ou na estrutura da membrana celular, isso irá reduzir a entrada de antibióticos na células e dessa forma, diminuindo sua eficácia (SPELLBERG *et al.*, 2013). Esse mecanismo é comum em bactérias Gram negativas porque a estrutura de sua parede celular permite maior regulação da penetração da substância na célula quando comparado às bactérias Gram-positivas (GARNEAU-TSODIKOVA *et al.*, 2016). Isso pode ocorrer através da modificação de porinas, que são proteínas presentes na membrana externa de bactérias gram-negativas. Elas formam canais por onde os antibióticos entram. Assim, as bactérias limitam a quantidade de antibiótico que vai penetrar na célula e como consequência disso, o tratamento acaba se tornando menos eficaz (DELCOUR., 2009). Temos como exemplo a resistência aos carbapenêmicos em bactérias gram-negativas, como

*Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*. Essas bactérias podem diminuir a expressão de porinas específicas, como OprD em *Pseudomonas aeruginosa*, essencial para a entrada de imipenem, um carbapenêmico, assim, a redução ou perda dessa porina leva a uma resistência significativa ao antibiótico (POOLE, 2011). Além das porinas, as bactérias podem alterar a permeabilidade através de modificações na composição lipídica da membrana. Bactérias gram-positivas, como *Staphylococcus aureus*, podem aumentar a produção de ácidos teicoicos e lipoteicoicos e isso acaba fortalecendo a barreira celular e reduzindo a entrada de antibióticos como vancomicina e pode ser muitas vezes complementada por outros mecanismos, como a ativação de bombas de efluxo (LI *et al.*, 2015).

#### 2.2.4 Uso de Bombas de Efluxo

As bombas de efluxo expõem o antibiótico, ou seja, jogam-no de volta para fora da célula em direção ao meio extracelular e isso diminui a concentração intracelular do fármaco, não permitindo atingir níveis letais, o que faz com que as bactérias sobrevivam aos antibióticos presentes (BLAIR *et al.*, 2015). Desde sua descoberta, várias bombas de efluxo foram identificadas, sendo a RND ( Resistência-Nódulo-Divisão) considerada a principal família, que irá contribuir para a resistência principalmente por bactérias gram-negativas, como por exemplo a *Pseudomonas aeruginosa*, no qual bomba MexAB-OprM que pertence à família RND, é um dos principais mecanismos de resistência, principalmente por infecções hospitalares. Ela tem a capacidade de expelir antibióticos como carbapenêmicos e aminoglicosídeos, contribuindo dessa forma para uma maior dificuldade para tratar infecções causadas por essa bactéria (LI *et al.*, 2015).

O emprego de bombas de efluxo é especialmente alarmante pois muitas de suas proteínas possuem alta especificidade de substrato, o que quer dizer que uma mesma bomba pode expelir muitos tipos de antibióticos. Isso vai acabar resultando na chamada resistência cruzada no qual a exposição a um tipo de antibiótico confere resistência à aplicação de agentes que, sequer, foram administrados diretamente (SUN *et al.*, 2014). Ademais, genes que codificam essas bombas podem se transferir horizontalmente entre bactérias de diferentes espécies, o que acelera a disseminação da resistência (SCHWARZ *et al.*, 2000).

### 2.3 RESISTÊNCIA BACTERIANA INDUZIDA

Na resistência induzida, as bactérias vão desenvolver a capacidade de se tornarem resistentes devido alguma exposição prolongada a antibióticos como um tipo de processo de adaptação bacteriana. Esse processo de adaptação tem sido muito relevante nos casos de tratamentos prolongados com antibióticos, nos quais as bactérias originalmente sensíveis acabam desenvolvendo resistência devido às expressões induzida de genes direta ou indiretamente relacionados com a resistência, além da indução de mecanismos celulares não genéticos (DAVIES & DAVIES., 2010). O conceito se torna crucial para a compreensão de como as bactérias conseguem sobreviver em ambientes onde os antibióticos são amplamente utilizados, como hospitais (RAMIREZ *et al.*, 2017). Um exemplo da resistência induzida é a superexpressão de bombas de efluxo RND (Resistance-Nodulation-Division) em *P. aeruginosa* exposta a concentrações subinibitórias de fluoroquinolonas, especialmente os sistema MexAB-OprM (BUSH *et al.*, 2020). Essas bombas exportam o antibiótico para fora da célula, reduzindo sua concentração intracelular e a eficácia do tratamento (POOLE, 2011). Dessa forma, o mecanismo permite que a bactéria sobreviva em ambientes onde o antibiótico está presente, mas não em níveis suficientes para erradicá-la completamente. A exposição prolongada de *E. coli* ao antibiótico colistina pode induzir a expressão do gene *mcr-1*, que codifica uma enzima responsável pela modificação do lipopolissacarídeo da membrana externa, reduzindo a afinidade da colistina pelo alvo e, conseqüentemente à resistência. Isto é particularmente preocupante devido à importância da colistina como antibiótico de último recurso na terapêutica antibacteriana (LIU *et al.*, 2016). Portanto, esse processo de resistência induzida tem implicações significativas na prática clínica, pois pode levar ao fracasso terapêutico e à necessidade de alternativas terapêuticas mais agressivas ou de combinação de antibióticos (Tran *et al.*, 2015).

### 2.4 RESISTÊNCIA BACTERIANA ADAPTATIVA

A resistência adaptativa aos antibióticos é um fenômeno bastante complexo que ocorre quando as bactérias respondem a mudanças em seu ambiente, resultando em alterações transitórias que permitem sua sobrevivência na presença dos antibióticos (FERNÁNDEZ *et al.*, 2011). Este fenômeno é geralmente reversível e

induzida por gatilhos ambientais, incluindo a exposição a concentrações subinibitórias de antibióticos, alterações na disponibilidade de nutrientes, mudanças no pH, ou mesmo estresse oxidativo. Essas condições ambientais levam à modulação da expressão gênica e ativação de vias de sinalização que permitem que as bactérias temporariamente resistam à ação dos antibióticos (BAHAROGLU & MAZEL, 2014).

Mais recentemente, trabalhos relacionados com o uso de ferramentas moleculares de modificação genética de *L. vini* começaram a ser utilizados pelo grupo de pesquisa em Biologia Molecular e Engenharia Metabólica da UFPE, em colaboração com o Instituto de Agroquímica e Tecnologia de Alimentos de Valência, Espanha, para gerar linhagens mutantes úteis para estudos biológicos. Durante esses experimentos, observou-se que as células de *L. vini* cultivadas em meio MRS suplementado com o aminoácido cisteína tornaram-se mais resistentes à eritromicina. Esse achado motivou um estudo mais amplo conduzido por Mendonça e colaboradores (MENDONÇA *et al.*, 2019), que demonstrou que a cisteína não apenas aumentava a resistência de *L. vini* a outros inibidores da síntese proteica, mas também elevava a resistência de outras bactérias lácticas amplamente utilizadas na produção de laticínios e como probióticos. Dando continuidade a esses estudos, o grupo também demonstrou um fenômeno de modulação da tolerância ao antibiótico penicilina e monoensina A, com diferentes aminoácidos induzindo tanto a redução quanto o aumento da resistência em cepas de bactérias lácticas. Isso evidenciou que não apenas a cisteína, mas outros aminoácidos podem influenciar significativamente o padrão de resistência dessas cepas (SILVA *et al.*, 2021).

A resistência adaptativa ainda é pouco compreendida e estudos sugerem que ela desempenha um papel crucial na resposta das bactérias a antibióticos e outros estresses, mas os detalhes moleculares e regulatórios ainda necessitam de mais estudos (LEVIN-REISMAN *et al.*, 2017).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Determinar o efeito da suplementação com aminoácidos sobre a ação de antibióticos inibidores de síntese proteica mais utilizados no tratamento clínico de infecções causados bactérias Gram positivas e Gram negativas de infecções hospitalares

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar possíveis variações causadas por cada um dos 20 aminoácidos nos valores de CIM para os antibióticos mais utilizados para tratamento clínico em bactérias Gram positivas de infecções hospitalares.
- Determinar possíveis variações causadas por cada um dos 20 aminoácidos nos valores de CIM para os antibióticos mais utilizados para tratamento clínico de infecções hospitalares por bactérias Gram negativas.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 MICRORGANISMOS E CONDIÇÕES DE CULTIVO

Os isolados clínicos de *Acinetobacter baumannii*, *Salmonella enterica*, *Shigella dysenteriae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* foram provenientes do setor de Bacteriologia do ICB- UPE e a linhagem de *Escherichia coli* ATCC 252922 foi utilizada como espécie controle. As bactérias foram estocadas a -80°C no Laboratório Central do Centro de Biociências da UFPE em meio de cultura Luria Bertani (LB) com adição de 15% glicerol. Todas as espécies foram reativadas em duplicata biológica em meio LB sólido e incubadas por 18-24 horas a 37°C. Posteriormente, foi realizado o inóculo das cepas em 5ml de meio LB líquido e foram incubados na estufa bacteriológica por 18-24 horas a 37°C.

### 4.2 ANTIBIÓTICOS E AMINOÁCIDOS UTILIZADOS

Os antibióticos utilizados neste trabalho foram a eritromicina, canamicina e o cloranfenicol, todos inibidores da síntese proteica. As faixas de concentração empregadas nos experimentos de Concentração Inibitória Mínima (CIM) para o Cloranfenicol e a Canamicina foram de 1µg/mL a 1024µg/mL, e para a Eritromicina, de 1µg/mL a 256µg/mL.

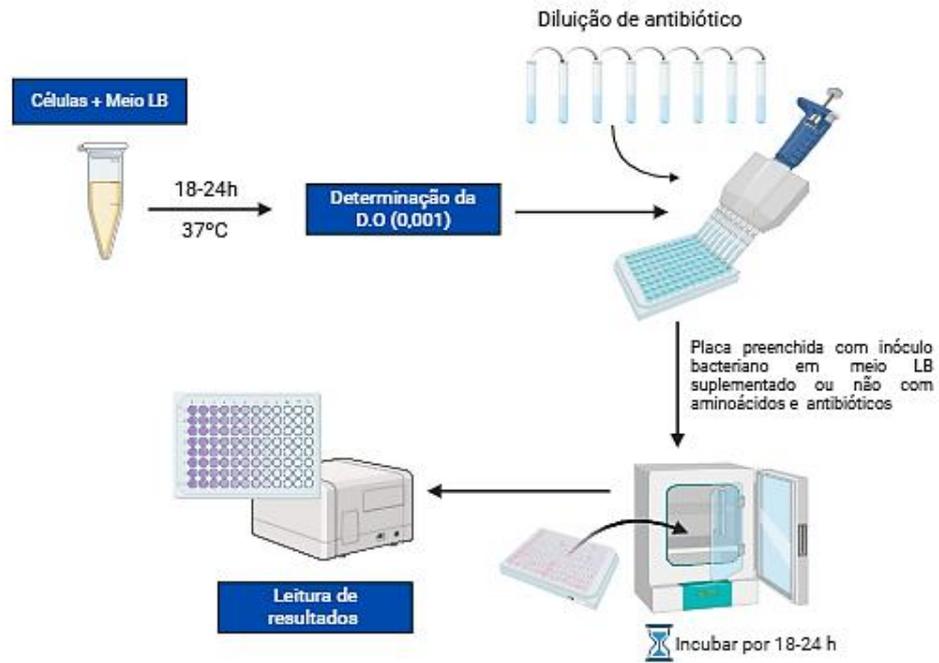
Para os ensaios com suplementação, foram selecionados os seguintes aminoácidos (Sigma Aldrich): Valina (VAL), Leucina (LEU), Isoleucina (ILE), Alanina (ALA), Arginina (ARG), Glutamina (GLN), Lisina (LYS), Ácido Aspártico (ASP), Prolina (PRO), Histidina (HIS), Fenilalanina (PHE), Tirosina (TYR), Triptofano (TRP), Treonina (THR), Asparagina (ASN), Serina (SER), Glutamato (GLU), Glicina (GLY), Metionina (MET) e Cisteína (CYS). É importante enfatizar que todos esses aminoácidos foram adicionados ao meio LB para a concentração final de 40 mmol/L. Os meios foram preparados com o pH ajustado para 7,0, utilizando NaOH 10N e HCl 30%, conforme necessário. Após o ajuste, os meios passaram pelo processo de esterilização por autoclavação.

### 4.3 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (CIM)

Os experimentos foram realizados pela técnica de microdiluição em caldo (CLSI, 2018). Para o preenchimento das placas controle (sem aminoácidos) foram adicionados em todos os poços da placa de microtitulação 100µL da solução contendo meio LB com o antibiótico, no qual essas soluções foram preparadas em intervalos de concentrações entre 1µg/mL e 256µg/mL para eritromicina e entre 1µg/mL a 1024µg/mL para cloranfenicol e canamicina. Posteriormente, foram adicionados em cada poço da placa mais 100µL da solução contendo meio LB com o inóculo bacteriano mensurado na densidade óptica (DO) de 600 nm e ajustado para 0,001. Para os testes com suplementação dos aminoácidos foi utilizado o mesmo método, porém com o meio LB já suplementado com cada um dos aminoácidos na concentração final de 40 mmol/L. Ao final dos experimentos, as placas foram incubadas a 37°C por 18-24 horas e em seguida foi realizada a leitura dos resultados em um leitor de microplacas (Synergy HT) com a absorvância de 600nm. Todos os experimentos foram realizados em duplicatas biológicas e em triplicata técnica.

Os experimentos foram considerados válidos apenas quando a CIM da espécie controle se manteve na faixa de 1 µg/mL a 8 µg/mL para cloranfenicol e 1 µg/mL a 4 µg/mL para canamicina, conforme os valores preconizados pelo Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018). No entanto, é importante destacar que ainda não existem dados preconizados pelo CLSI para os valores de CIM da eritromicina nesse contexto. O valor da CIM no meio LB sem suplementação com os aminoácidos foram utilizados para relativizar os valores das CIMs obtidas em cada meio suplementado para cada espécie.

Figura 4: Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CIM)



## 5 RESULTADOS

### 5.1 ANTIBIÓTICO CLORANFENICOL

Os resultados da CIM do antibiótico cloranfenicol com ou sem a suplementação com aminoácidos estão apresentados na tabela 1.

A linhagem *E. coli* ATCC 252922 e os isolados hospitalares *Acinetobacter baumannii*, *S. aureus* e *faecalis* foram os que apresentaram uma maior sensibilidade com o meio suplementado com os aminoácidos, predominando o aumento da tolerância, com aumento de 2 a 4 vezes no valor da CIM. Para *E. coli* ATCC 252922, os aminoácidos valina, leucina, isoleucina, alanina, asparagina, glutamato, glicina, metionina e cisteína aumentaram em 2 vezes no valor da CIM; já os aminoácidos arginina, glutamina, lisina, ácido aspártico, prolina, histidina, fenilalanina, tirosina, triptofano e serina aumentaram em 4 vezes o valor da CIM. Para o isolado de *Acinetobacter baumannii*, os aminoácidos isoleucina, histidina e fenilalanina induziram aumento de 2 vezes no valor da CIM enquanto que os aminoácidos valina, leucina, alanina, glutamina, lisina, ácido aspártico, prolina, tirosina, asparagina, serina, glutamato, glicina, metionina e cisteína aumentaram ainda mais a resistência bacteriana (4 vezes na CIM). Por outro lado, o aminoácido triptofano foi responsável pela diminuição de 2 vezes no valor da CIM, potencializando o efeito do cloranfenicol para esta bactéria.

No isolado hospitalar de *Shigella dysenteriae*, a suplementação com leucina, isoleucina, tirosina, triptofano, asparagina, serina, glutamato e glicina produziu redução de 2 vezes no valor da CIM, potencializando a ação do cloranfenicol para esta bactéria. Por fim, não foi observado alteração na CIM para cloranfenicol pela suplementação do meio com aminoácidos para os isolados de *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae* e *P. aeruginosa*.

Para as bactérias Gram positivas *S. aureus* e *faecalis*, a maioria dos aminoácidos produziu aumento de 2 vezes no valor da CIM. No entanto, a suplementação do meio de cultura com isoleucina, histidina, e metionina não afetou o CIM para cloranfenicol para ambos os isolados. Adicionalmente, alanina, ácido aspártico, asparagina e cisteína não alteraram o CIM para *S. aureus*, enquanto que serina e treonina não produziram efeito em *E. faecalis*.

## 5.2 ANTIBIÓTICO CANAMICINA

Os resultados da CIM para o antibiótico canamicina com ou sem a suplementação com aminoácidos para os diferentes isolados estão apresentados na tabela 2. Assim como no antibiótico cloranfenicol, foi notório a influência dos aminoácidos na CIM na maior parte dos isolados aumentando ou diminuindo o valor da CIM.

No linhagem *E. coli* ATCC 252922 houve alteração da CIM com a suplementação com todos os aminoácidos, com exceção da leucina. Os aminoácidos valina, isoleucina, alanina, arginina, glutamina, ácido aspártico, prolina, histidina, fenilalanina, triptofano, treonina, asparagina, serina, glicina, metionina e cisteína foram responsáveis pelo aumento de 2 vezes no valor da CIM, enquanto os aminoácidos lisina, tirosina e glutamato foram responsáveis pelo aumento de 4 vezes no valor da CIM.

O isolado *Acinetobacter baumannii* não sofreu uma grande interferência com a suplementação dos aminoácidos nos valores da CIM, pois apenas os aminoácidos valina, alanina, lisina, glutamato e metionina ocasionaram em um aumento de 2 vezes no valor da CIM.

Em relação ao isolado *Shigella dysenteriae*, alguns aminoácidos contribuíram para uma diminuição ou aumento na CIM, no qual a suplementação com os aminoácidos valina, fenilalanina e triptofano ocasionaram em uma diminuição de 2 vezes no valor da CIM, enquanto os aminoácidos leucina, asparagina, ácido aspártico, serina, glicina e cisteína foram responsáveis pelo aumento de 2 vezes no valor da CIM.

No isolado *Salmonella enterica*, o aminoácido isoleucina foi o único que ocasionou em uma redução de 2 vezes no valor da CIM. Os aminoácidos lisina, prolina, tirosina, serina, glutamato, arginina e metionina resultaram em um aumento de 2 vezes no valor da CIM, enquanto a glutamina e ácido aspártico levaram a um aumento de 4 vezes.

O isolado *Klebsiella pneumoniae* sofreu interferência na sua CIM com todos os aminoácidos, exceto a isoleucina e treonina. Os aminoácidos asparagina, serina, cisteína, leucina, arginina, alanina, valina e histidina ocasionaram em um aumento de 2 vezes no valor da CIM e os demais aminoácidos ácido aspártico, glutamina, glutamato, fenilalanina, triptofano, metionina, tirosina, glicina, prolina e lisina

ocasionaram em uma CIM para acima de 1024 µg/mL. Por fim, o isolado *P. aeruginosa* foi o que sofreu interferência com todos os aminoácidos, no qual ambos ocasionaram uma da CIM para acima de 1024 µg/mL.

No isolado *Staphylococcus aureus* a suplementação com os aminoácidos não ocasionou em nenhuma interferência nos valores da CIM, enquanto o isolado gram positivo *E. faecalis*, a suplementação com a maioria dos aminoácidos influenciaram causando um aumento de 2 a 4 vezes nos valores CIM, exceto os aminoácidos leucina, isoleucina, alanina, tirosina e triptofano. Além disso, a suplementação com os aminoácidos valina e metionina ocasionaram em uma diminuição de 2 vezes na CIM.

### 5.3 ANTIBIÓTICO ERITROMICINA

Os resultados da CIM do antibiótico Eritromicina com ou sem a suplementação com aminoácidos estão apresentados na tabela 3. A adição dos aminoácidos aumentou ou diminuiu o valor da CIM na maior parte dos isolados.

A linhagem *E. coli* ATCC 252922 e *Acinetobacter baumannii* foram os que tiveram mais interferência pela suplementação com os aminoácidos, uma vez que a maioria sofreu influência, no qual em ambos houve aumento de 2 a 4 vezes no valor da CIM. Para esta bactéria, apenas os aminoácidos isoleucina e arginina não ocasionaram em nenhum efeito, enquanto que para os aminoácidos isoleucina, glutamina e lisina não produziram efeito para o isolado *Acinetobacter spp.*

As interferências da suplementação com os aminoácidos sob o isolado *Shigella dysenteriae*, assemelhou-se aos resultados do antibiótico cloranfenicol (Tabela 1), no qual a maioria dos aminoácidos influenciaram diminuindo os valores da CIM em 2x, com exceção dos aminoácidos leucina, arginina, glutamina, ácido aspártico, prolina e glicina.

O isolado *Klebsiella pneumoniae* foi o que sofreu menor interferência da suplementação com aminoácidos, uma vez que apenas os aminoácidos ácido aspártico e asparagina ocasionaram em um aumento de 2 vezes na CIM.

O isolado *P. aeruginosa* sofreu interferência de aumento na CIM de 2 a 4 vezes, no qual o aminoácido ácido aspártico teve a maior influência nesse isolado, uma vez que ocasionou em um aumento de 4 vezes, enquanto os aminoácidos leucina, isoleucina, arginina, valina, prolina, histidina, tirosina, triptofano, glutamato, cisteína e treonina aumentaram a CIM em 2 vezes.

Por fim, ambos os isolados gram positivos sofreram interferência de aumento nos seus valores de CIM. No isolado *S. aureus*, os aminoácidos glutamina, histidina e glutamato mostraram um maior aumento no valor de 8 vezes, enquanto os aminoácidos valina e triptofano ocasionaram em um aumento de 4 vezes e os aminoácidos fenilalanina, serina, metionina, cisteína e treonina aumentaram a CIM em 2 vezes. Já no isolado *E. faecalis*, os aminoácidos valina, prolina, glutamato, glicina e treonina ocasionaram em um aumento de 2 vezes nos valores da CIM, enquanto os aminoácidos glutamina, ácido aspártico, histidina, fenilalanina, serina e cisteína em um aumento de 4 vezes.

Tabela 1: Resultados da Concentração Mínima Inibitória do antibiótico Cloranfenicol com e sem a adição de aminoácidos nas diferentes bactérias Gram negativas e Gram positivas

Meios	Bactérias							
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 252922	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<b>Sem aminoácidos</b>	4 µg/mL	8 µg/mL	128 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	2 µg/mL	16 µg/mL
<b>VAL</b>	8 µg/mL	32 µg/mL	128 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	4 µg/mL	32 µg/mL
<b>LEU</b>	8 µg/mL	32 µg/mL	64 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	4 µg/mL	32 µg/mL
<b>ILE</b>	8 µg/mL	16 µg/mL	64 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	2 µg/mL	16 µg/mL
<b>ALA</b>	8 µg/mL	32 µg/mL	128 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	2 µg/mL	32 µg/mL
<b>ARG</b>	16 µg/mL	32 µg/mL	128 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	4 µg/mL	32 µg/mL
<b>GLN</b>	16 µg/mL	32 µg/mL	128 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	4 µg/mL	32 µg/mL
<b>LYS</b>	16 µg/mL	32 µg/mL	128 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	4 µg/mL	32 µg/mL
<b>ASP</b>	16 µg/mL	32 µg/mL	128 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	2 µg/mL	16 µg/mL
<b>PRO</b>	16 µg/mL	32 µg/mL	128 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	4 µg/mL	32 µg/mL
<b>HIS</b>	16 µg/mL	16 µg/mL	128 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	2 µg/mL	16 µg/mL
<b>PHE</b>	16 µg/mL	16 µg/mL	128 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	4 µg/mL	32 µg/mL
<b>TYR</b>	16 µg/mL	32 µg/mL	64 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	4 µg/mL	32 µg/mL
<b>TRP</b>	16 µg/mL	4 µg/mL	64 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	4 µg/mL	32 µg/mL
<b>ASN</b>	8 µg/mL	32 µg/mL	64 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	2 µg/mL	32 µg/mL
<b>SER</b>	16 µg/mL	32 µg/mL	64 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	4 µg/mL	16 µg/mL
<b>GLU</b>	8 µg/mL	32 µg/mL	64 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	4 µg/mL	32 µg/mL
<b>GLY</b>	8 µg/mL	32 µg/mL	64 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	4 µg/mL	32 µg/mL
<b>MET</b>	8 µg/mL	32 µg/mL	128 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	2 µg/mL	16 µg/mL
<b>CYS</b>	8 µg/mL	32 µg/mL	128 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	2 µg/mL	32 µg/mL
<b>THR</b>	8 µg/mL	32 µg/mL	64 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	4 µg/mL	16 µg/mL

Fonte: Elaborado pelo autor

Tabela 2: Resultados da Concentração Mínima Inibitória do antibiótico Canamicina com e sem a adição de aminoácidos nas diferentes bactérias Gram negativas e Gram positivas

Meios	Bactérias							
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 252922	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<b>Sem aminoácidos</b>	4 µg/mL	8 µg/mL	8 µg/mL	8 µg/mL	512 µg/mL	512 µg/mL	> 1024 µg/mL	64 µg/mL
<b>VAL</b>	8 µg/mL	16 µg/mL	4 µg/mL	8 µg/mL	1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	32 µg/mL
<b>LEU</b>	4 µg/mL	8 µg/mL	16 µg/mL	8 µg/mL	1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	64 µg/mL
<b>ILE</b>	8 µg/mL	8 µg/mL	8 µg/mL	4 µg/mL	512 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	64 µg/mL
<b>ALA</b>	8 µg/mL	16 µg/mL	8 µg/mL	8 µg/mL	1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	64 µg/mL
<b>ARG</b>	8 µg/mL	8 µg/mL	8 µg/mL	16 µg/mL	1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	128 µg/mL
<b>GLN</b>	8 µg/mL	8 µg/mL	8 µg/mL	32 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	128 µg/mL
<b>LYS</b>	16 µg/mL	16 µg/mL	8 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	128 µg/mL
<b>ASP</b>	8 µg/mL	8 µg/mL	16 µg/mL	32 µg/mL	1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	128 µg/mL
<b>PRO</b>	8 µg/mL	8 µg/mL	8 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	256 µg/mL
<b>HIS</b>	8 µg/mL	8 µg/mL	8 µg/mL	8 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	256 µg/mL
<b>PHE</b>	8 µg/mL	8 µg/mL	4 µg/mL	8 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	256 µg/mL
<b>TYR</b>	16 µg/mL	8 µg/mL	8 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	256 µg/mL
<b>TRP</b>	8 µg/mL	8 µg/mL	4 µg/mL	8 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	64 µg/mL
<b>ASN</b>	8 µg/mL	8 µg/mL	16 µg/mL	8 µg/mL	1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	64 µg/mL
<b>SER</b>	8 µg/mL	8 µg/mL	16 µg/mL	16 µg/mL	1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	256 µg/mL
<b>GLU</b>	16 µg/mL	16 µg/mL	8 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	256 µg/mL
<b>GLY</b>	8 µg/mL	8 µg/mL	16 µg/mL	8 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	256 µg/mL
<b>MET</b>	8 µg/mL	16 µg/mL	8 µg/mL	16 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	32 µg/mL
<b>CYS</b>	8 µg/mL	8 µg/mL	16 µg/mL	8 µg/mL	1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	256 µg/mL
<b>THR</b>	8 µg/mL	8 µg/mL	16 µg/mL	16 µg/mL	512 µg/mL	> 1024 µg/mL	> 1024 µg/mL	128 µg/mL

Fonte: Elaborado pelo autor

Tabela 3: Resultados da Concentração Mínima Inibitória do antibiótico Eritromicina com e sem a adição de aminoácidos nas diferentes bactérias Gram negativas e Gram positivas

Meios	Bactérias							
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 29212	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<b>Sem aminoácidos</b>	16 µg/mL	16 µg/mL	64 µg/mL	32 µg/mL	128 µg/mL	128 µg/mL	4 µg/mL	2 µg/mL
<b>VAL</b>	32 µg/mL	32 µg/mL	32 µg/mL	64 µg/mL	128 µg/mL	128 µg/mL	16 µg/mL	4 µg/mL
<b>LEU</b>	32 µg/mL	64 µg/mL	64 µg/mL	32 µg/mL	128 µg/mL	256 µg/mL	4 µg/mL	2 µg/mL
<b>ILE</b>	16 µg/mL	16 µg/mL	32 µg/mL	64 µg/mL	128 µg/mL	256 µg/mL	4 µg/mL	2 µg/mL
<b>ALA</b>	32 µg/mL	32 µg/mL	32 µg/mL	32 µg/mL	128 µg/mL	128 µg/mL	4 µg/mL	2 µg/mL
<b>ARG</b>	16 µg/mL	32 µg/mL	64 µg/mL	32 µg/mL	128 µg/mL	256 µg/mL	4 µg/mL	2 µg/mL
<b>GLN</b>	64 µg/mL	16 µg/mL	64 µg/mL	32 µg/mL	128 µg/mL	128 µg/mL	32 µg/mL	8 µg/mL
<b>LYS</b>	32 µg/mL	16 µg/mL	32 µg/mL	32 µg/mL	128 µg/mL	128 µg/mL	4 µg/mL	2 µg/mL
<b>ASP</b>	32 µg/mL	64 µg/mL	64 µg/mL	64 µg/mL	256 µg/mL	512 µg/mL	4 µg/mL	8 µg/mL
<b>PRO</b>	32 µg/mL	32 µg/mL	64 µg/mL	64 µg/mL	128 µg/mL	256 µg/mL	4 µg/mL	4 µg/mL
<b>HIS</b>	32 µg/mL	64 µg/mL	32 µg/mL	64 µg/mL	128 µg/mL	256 µg/mL	32 µg/mL	8 µg/mL
<b>PHE</b>	32 µg/mL	32 µg/mL	32 µg/mL	32 µg/mL	128 µg/mL	128 µg/mL	8 µg/mL	8 µg/mL
<b>TYR</b>	64 µg/mL	32 µg/mL	32 µg/mL	64 µg/mL	128 µg/mL	256 µg/mL	4 µg/mL	2 µg/mL
<b>TRP</b>	32 µg/mL	32 µg/mL	32 µg/mL	64 µg/mL	128 µg/mL	256 µg/mL	16 µg/mL	2 µg/mL
<b>ASN</b>	64 µg/mL	32 µg/mL	32 µg/mL	32 µg/mL	256 µg/mL	128 µg/mL	4 µg/mL	2 µg/mL
<b>SER</b>	32 µg/mL	32 µg/mL	32 µg/mL	32 µg/mL	128 µg/mL	128 µg/mL	8 µg/mL	8 µg/mL
<b>GLU</b>	32 µg/mL	64 µg/mL	32 µg/mL	32 µg/mL	256 µg/mL	256 µg/mL	32 µg/mL	4 µg/mL
<b>GLY</b>	32 µg/mL	32 µg/mL	64 µg/mL	32 µg/mL	128 µg/mL	128 µg/mL	4 µg/mL	4 µg/mL
<b>MET</b>	32 µg/mL	32 µg/mL	32 µg/mL	64 µg/mL	128 µg/mL	128 µg/mL	8 µg/mL	2 µg/mL
<b>CYS</b>	32 µg/mL	32 µg/mL	32 µg/mL	64 µg/mL	128 µg/mL	256 µg/mL	8 µg/mL	8 µg/mL
<b>THR</b>	32 µg/mL	32 µg/mL	32 µg/mL	64 µg/mL	128 µg/mL	256 µg/mL	8 µg/mL	4 µg/mL

Fonte: Elaborado pelo autor

## 6 DISCUSSÃO

A RAM é um fenômeno crescente e preocupante que representa um dos maiores desafios para a saúde pública global. À medida que os patógenos se tornam resistentes aos antibióticos, a eficácia dos tratamentos acabam diminuindo e levando a infecções persistentes e complicações graves. A resistência pode ocorrer por diversos mecanismos, incluindo modificações enzimáticas que inativam o antibiótico, alterações nos alvos do antibiótico, expulsão por bomba de efluxo e modificação da permeabilidade da membrana celular, o que dificulta a entrada ou promove a expulsão do antibiótico (LEPE *et al.*, 2022). Este fenômeno não apenas limita as opções de tratamento disponíveis, mas também aumenta a morbidade e mortalidade associadas a infecções bacterianas.

Os impactos da resistência bacteriana são amplos, abrangendo desde o aumento dos custos com cuidados de saúde até a necessidade de desenvolvimento de novas terapias e estratégias de controle. A resistência também está associada ao aumento da duração das hospitalizações e ao uso prolongado de antibióticos, o que pode, por sua vez, exacerbar o problema da resistência (BLAIR *et al.*, 2015). Em resposta a esses desafios, é crucial entender os fatores que contribuem para a resistência e explorar novas abordagens para mitigar o problema.

Os resultados obtidos nos testes de CIM para os antibióticos cloranfenicol, canamicina e eritromicina mostraram que pode haver uma influência significativa da suplementação com aminoácidos na resistência bacteriana, dependendo do tipo de antibiótico, do isolado bacteriano e dos aminoácidos específicos.

Para o antibiótico cloranfenicol, a suplementação com aminoácidos resultou em variações na CIM para a maioria dos isolados, com um aumento de 2 a 4 vezes na resistência em vários casos. *Escherichia coli* ATCC 252922, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*, por exemplo, mostraram um aumento na CIM com a adição de aminoácidos, sugerindo que esses compostos podem modificar a estrutura ou a função dos alvos do antibiótico, como o ribossomo, influenciando os mecanismos de resistência. Também não se pode descartar o fato de que as alterações na CIM podem estar relacionada à adaptação das bactérias às condições ambientais, onde os aminoácidos podem atuar como moduladores da resistência.

Em contrapartida, a variação na resposta observada na *Shigella dysenteriae*, que mostrou uma redução na CIM com a suplementação de certos aminoácidos, e a ausência de efeito significativo em *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* indicam que a resistência ao cloranfenicol pode ser mais complexa e dependente do contexto específico de cada isolado.

Para canamicina, a influência dos aminoácidos variou, resultando em um aumento na CIM para *Escherichia coli* ATCC 252922 e outros isolados. Isso sugere que a presença de aminoácidos pode também modificar a eficácia da canamicina de maneira específica para cada tipo de bactéria. Na *Escherichia coli*, por exemplo, alguns aminoácidos aumentaram a CIM em até 4 vezes, indicando uma possível alteração na forma como o antibiótico se liga ao ribossomo ou modifica a estrutura do alvo. No caso de *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*, a suplementação com aminoácidos também levou a um aumento significativo na CIM, que pode ser uma possível adaptação dos alvos do antibiótico ou mudanças na permeabilidade da membrana celular. Em contraste, a *Acinetobacter baumannii* apresentou uma influência menos pronunciada, enquanto *Shigella spp* mostrou respostas variadas, com alguns aminoácidos levando a um aumento e outros a uma redução na CIM. Esses resultados reforçam mais uma vez a ideia de que a resistência bacteriana adaptativa é bastante complexa e pode ser modulada por uma combinação de fatores ambientais e genéticos, além de ser influenciada pela presença de aminoácidos que alteram a resposta aos antibióticos.

Os resultados com eritromicina mostram um padrão semelhante, com a maioria dos isolados apresentando um aumento na CIM devido à suplementação com aminoácidos. *Escherichia coli* ATCC 252922 e *Acinetobacter baumannii* apresentaram aumentos significativos na CIM, o que sugere que a presença de aminoácidos pode influenciar a resistência à eritromicina de forma análoga ao cloranfenicol e canamicina. Em contrapartida, os resultados com a *Shigella dysenteriae* assemelhou-se aos resultados com o cloranfenicol, os aminoácidos causaram diminuição na CIM. E, por fim, a variação na resposta de *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*, com aumento significativo na CIM para vários aminoácidos, indica que esses aminoácidos podem afetar a modulação da resistência de forma significativa.

Os resultados observados nos isolados clínicos são consistentes com estudos anteriores realizados pelo grupo de pesquisa. Assim como no presente estudo,

investigações anteriores envolvendo *Lactobacillus* analisaram o efeito dos aminoácidos na tolerância à penicilina e à tetraciclina, revelando uma variação significativa na CIM (SILVA *et al.*, 2021). Com base nesses achados, o presente estudo sugere que a suplementação com diferentes aminoácidos tende a principalmente aumentar a resistência de bactérias gram-negativas e gram-positivas aos antibióticos que inibem a síntese proteica.

É importante notar que o impacto específico da suplementação de aminoácidos na resistência bacteriana a antibióticos inibidores da síntese proteica pode variar de acordo com a espécie bacteriana, os antibióticos utilizados e os aminoácidos utilizados. Esses resultados ressaltam a complexidade da resistência bacteriana e o papel adaptativo dos aminoácidos. É possível que a suplementação com aminoácidos pode levar a mudanças na expressão de proteínas envolvidas na resistência, alterar a estrutura dos alvos do antibiótico, ou modificar a permeabilidade da membrana celular, contribuindo para a resistência adaptativa.

Estudos adicionais são necessários para elucidar os mecanismos específicos através dos quais os aminoácidos afetam a resistência bacteriana e para explorar como esses compostos podem ser utilizados para modular a eficácia dos antibióticos. Dessa forma, é importante realizar pesquisas ainda mais amplas para entender melhor esses mecanismos de resistência, tendo em vista que a área é complexa e está em constante evolução com a descoberta e a compreensão de novos mecanismos.

## 7 CONCLUSÃO

A pesquisa apresentou um estudo amplo sobre o impacto da suplementação de aminoácidos na resistência bacteriana, uma vez que envolveu uma variedade de aminoácidos e antibióticos inibidores da síntese proteica em diferentes bactérias gram positivas e gram negativas. Os resultados mostraram que a adição de aminoácidos pode ter efeitos variados na concentração mínima inibitória (CIM), aumentando ou diminuindo a eficácia dos tratamentos. Entender como os aminoácidos afetam a ação dos antibióticos pode ter implicações significativas na terapêutica, especialmente em ambientes hospitalares. Portanto, são necessárias pesquisas mais aprofundadas para entender quais os mecanismos que os aminoácidos utilizam para que assim o estudo possa afetar significativamente a terapêutica e ajudar a enfrentar o desafio mundial da resistência bacteriana de forma mais eficaz.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. C. S. et al. First description of KPC-2-producing *Pseudomonas putida* in Brazil. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 56, n. 4, p. 2205–2206, 2012a.
- ALMEIDA, A. C. S. et al. *Escherichia coli* ST502 and *Klebsiella pneumoniae* ST11 sharing an IncW plasmid harbouring the blaKPC-2 gene in an Intensive Care Unit patient. **International journal of antimicrobial agents**, v. 40, n. 4, p. 374–376, 2012b.
- BAHAROGLU, Z.; MAZEL, D. SOS, the formidable strategy of bacteria against aggressions. **FEMS microbiology reviews**, v. 38, n. 6, p. 1126–1145, 2014.
- BAPTISTA, M. G. F. M. Mecanismos de Resistência aos Antibióticos. 2013. **Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde**, [S. l.], 2013.
- BARAN, A.; KWIATKOWSKA, A.; POTOCKI, L. Antibiotics and bacterial resistance—A short story of an endless arms race. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 6, p. 5777, Mar. 2023.
- BECKER, B.; COOPER, M. A. Aminoglycoside antibiotics in the 21st century. **ACS chemical biology**, v. 8, n. 1, p. 105–115, 2013.
- BLAIR, J. M. A. et al. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nature reviews. Microbiology**, v. 13, n. 1, p. 42–51, Jan. 2015.
- BUSH, K.; JACOBY, G. A. Updated functional classification of  $\beta$ -lactamases. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 54, n. 3, p. 969–976, 2010.
- BUSH, N. G. et al. Quinolones: Mechanism, lethality and their contributions to antibiotic resistance. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 25, n. 23, p. 5662, 2020.
- C REYGAERT, W.; DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES, OAKLAND UNIVERSITY WILLIAM BEAUMONT SCHOOL OF MEDICINE, ROCHESTER, MI,

USA. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. **AIMS microbiology**, v. 4, n. 3, p. 482–501, 2018.

CAVALCANTI, F. L. DE S. et al. Changing the epidemiology of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a Brazilian teaching hospital: the replacement of São Paulo metallo- $\beta$ -lactamase-producing isolates. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 3, p. 420–423, 2012.

CHARRON, R. et al. Polyhexamethylene biguanide promotes adaptive cross-resistance to gentamicin in *Escherichia coli* biofilms. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 13, 2023.

CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard - Tenth Edition. **CLSI document M07-A10**. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. **CLSI supplement M100**. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020.

DARBY, E. M. et al. Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. **Nature reviews. Microbiology**, v. 21, n. 5, p. 280–295, 2023.

DAVIES, J.; DAVIES, D. Origins and evolution of antibiotic resistance. **Microbiology and molecular biology reviews: MMBR**, v. 74, n. 3, p. 417–433, 2010.

DELCOUR, A. H. Outer membrane permeability and antibiotic resistance. **Biochimica et biophysica acta. Proteins and proteomics**, v. 1794, n. 5, p. 808–816, 2009.

DRAGO, L. Chloramphenicol resurrected: A journey from antibiotic resistance in eye infections to biofilm and ocular Microbiota. **Microorganisms**, v. 7, n. 9, p. 278, 2019.

DRAWZ, S. M.; BONOMO, R. A. Three decades of  $\beta$ -lactamase inhibitors. **Clinical microbiology reviews**, v. 23, n. 1, p. 160–201, 2010.

ERNST, C. M. et al. Adaptive evolution of virulence and persistence in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. **Nature medicine**, v. 26, n. 5, p. 705–711, 2020.

FERNÁNDEZ, L.; BREIDENSTEIN, E. B. M.; HANCOCK, R. E. W. Creeping baselines and adaptive resistance to antibiotics. **Drug resistance updates: reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy**, v. 14, n. 1, p. 1–21, 2011.

GARNEAU-TSODIKOVA, S.; LABBY, K. J. Mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics: overview and perspectives. **MedChemComm**, v. 7, n. 1, p. 11–27, 2016.

GAUBA, A.; RAHMAN, K. M. Evaluation of antibiotic resistance mechanisms in Gram-negative bacteria. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, v. 12, n. 11, p. 1590, Nov. 2023.

GOLKAR, T.; ZIELIŃSKI, M.; BERGHUIS, A. M. Look and outlook on enzyme-mediated macrolide resistance. **Frontiers in microbiology**, v. 9, 2018.

HOOPER, D. C.; JACOBY, G. A. Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1354, n. 1, p. 12–31, 2015.

HOTTA, K.; KONDO, S. Kanamycin and its derivative, arbekacin: significance and impact. **The Journal of antibiotics**, v. 71, n. 4, p. 417–424, 2018.

JAIMEE, G.; HALAMI, P. M. Emerging resistance to aminoglycosides in lactic acid bacteria of food origin—an impending menace. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 100, n. 3, p. 1137–1151, 2016.

JANA, S.; DEB, J. K. Molecular understanding of aminoglycoside action and resistance. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 70, n. 2, p. 140–150, 2006.

KAPOOR G.; SAIGAL S.; ELONGAVAN A. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. **Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology**. v. 33 n. 3 p.300-305, jul 2017.

KATZUNG , BERTRAM G.; TREVOR, ANTHONY J. (Orgs.). **Farmacologia básica e clínica**. 13 Porto Alegre: McGraw-Hill, 2017.

KHALID, A. et al. Characterizing the role of porin mutations in susceptibility of beta lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* isolates to ceftaroline and ceftaroline-avibactam. **International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases**, v. 93, p. 252–257, 2020.

KORTRIGHT, K. E. et al. Evolution of bacterial cross-resistance to lytic phages and albicidin antibiotic. **Frontiers in microbiology**, v. 12, 2021.

LABBY, K. J.; GARNEAU-TSODIKOVA, S. Strategies to overcome the action of aminoglycoside-modifying enzymes for treating resistant bacterial infections. **Future medicinal chemistry**, v. 5, n. 11, p. 1285–1309, 2013.

LAKHUNDI, S.; ZHANG, K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. **Clinical microbiology reviews**, v. 31, n. 4, 2018.

LECLERCQ, R. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: Nature of the resistance elements and their clinical implications. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 34, n. 4, p. 482–492, 2002.

LEPE, J. A.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L. Resistance mechanisms in Gram-negative bacteria. **Medicina Intensiva (English Edition)**, v. 46, n. 7, p. 392–402, 2022.

LEVIN-REISMAN, I. et al. Antibiotic tolerance facilitates the evolution of resistance. **Science (New York, N.Y.)**, v. 355, n. 6327, p. 826–830, 2017.

LI, L. et al. Epidemiological characteristics and antibiotic resistance mechanisms of *Streptococcus pneumoniae*: An updated review. **Microbiological research**, v. 266, n. 127221, p. 127221, Jan. 2023.

LI, X.-Z.; PLÉSIAT, P.; NIKAIDO, H. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. **Clinical microbiology reviews**, v. 28, n. 2, p. 337–418, 2015.

LIU, Y.-Y. et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. **The Lancet infectious diseases**, v. 16, n. 2, p. 161–168, 2016.

LORUSSO, A. B. et al. Role of Efflux Pumps on Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 24, p. 15779, 2022.

LUCENA, B. T. L. et al. Diversity of lactic acid bacteria of the bioethanol process. **BMC microbiology**, v. 10, n. 1, 2010.

MAGILL, S. S. et al. Antimicrobial use in US hospitals: Comparison of results from Emerging Infections Program prevalence surveys, 2015 and 2011. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 72, n. 10, p. 1784–1792, 2021.

MARTINEZ, J. L. General principles of antibiotic resistance in bacteria. **Drug discovery today. Technologies**, v. 11, p. 33–39, 2014.

MARTÍNEZ, J. L.; BAQUERO, F. Emergence and spread of antibiotic resistance: setting a parameter space. **Upsala journal of medical sciences**, v. 119, n. 2, p. 68–77, May 2014.

MENDONÇA, A. A. et al. *Lactobacillus vini*: mechanistic response to stress by medium acidification. **Microbiology (Reading, England)**, v. 165, n. 1, p. 26–36, 2019.

MENDONÇA, A. A.; DE MORAIS, M. A., Jr; CABRERA, M. Z. Cysteine induces resistance of lactobacilli to erythromycin and azithromycin. **International journal of antimicrobial agents**, v. 53, n. 3, p. 352–353, 2019.

MUNITA, J. M.; ARIAS, C. A. Mechanisms of antibiotic resistance. **Microbiology spectrum**, v. 4, n. 2, 2016.

NGUYEN, M.; JOSHI, S. G. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* , and their importance in hospital-acquired infections: a scientific review. **Journal of applied microbiology**, v. 131, n. 6, p. 2715–2738, 2021.

PATERSON, D. L.; BONOMO, R. A. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: A clinical update. **Clinical microbiology reviews**, v. 18, n. 4, p. 657–686, 2005.

POOLE, K. *Pseudomonas aeruginosa*: Resistance to the max. **Frontiers in microbiology**, v. 2, 2011.

RAMIREZ, M. S.; TOLMASKY, M. E. Aminoglycoside modifying enzymes. **Drug resistance updates: reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy**, v. 13, n. 6, p. 151–171, 2010.

RAMIREZ, M.; TOLMASKY, M. Amikacin: Uses, resistance, and prospects for inhibition. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 22, n. 12, p. 2267, 2017.

REDGRAVE, L. S. et al. Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. **Trends in microbiology**, v. 22, n. 8, p. 438–445, 2014.

SCHWARZ, S.; WERCKENTHIN, C.; KEHRENBURG, C. Identification of a Plasmid-Borne Chloramphenicol-Florfenicol Resistance Gene in *Staphylococcus sciuri*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 44, n. 9, p. 2530–2533, 2000.

SKIADA, A. et al. Adaptive resistance to cationic compounds in *Pseudomonas aeruginosa*. **International journal of antimicrobial agents**, v. 37, n. 3, p. 187–193, 2011.

SILVA, K. M.; MORAIS JR., M. A. Análise do efeito de aminoácidos no perfil de resistência/susceptibilidade bacteriana a antibióticos com repercussões para os processos 11 industriais. In: Congresso de iniciação científica da UFPE, 28., 2021, Recife. **Anais eletrônicos...** Recife: UFPE, 2021.

SPELLBERG, B.; BARTLETT, J. G.; GILBERT, D.N. The future of antibiotics and resistance. **New England Journal of Medicine**, v. 368, n.4, p. 299-302., 24 jan 2013.

SUN, J.; DENG, Z.; YAN, A. Bacterial multidrug efflux pumps: Mechanisms, physiology and pharmacological exploitations. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 453, n. 2, p. 254–267, 2014.

TENOVER, F. C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. **American journal of infection control**, v. 34, n. 5, p. S3–S10, Jun. 2006.

TRAN, T. T.; MUNITA, J. M.; ARIAS, C. A. Mechanisms of drug resistance: daptomycin resistance. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1354, n. 1, p. 32–53, 2015.

WILSON, D. N. Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance. **Nature reviews. Microbiology**, v. 12, n. 1, p. 35–48, 2014.

WHALEN, KAREN. FINKEL, RICHARD. PANAVELI, THOMAS A. **Farmacologia ilustrada**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016

WRIGHT, G. Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and modification. **Advanced drug delivery reviews**, v. 57, n. 10, p. 1451–1470, 2005.