

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - UniCEUB
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

PIETRA ORLANDI RIGUEIRAS

**INIBIDORES DO *QUORUM SENSING*: ESTRATÉGIA DE COMBATE À VIRULÊNCIA E
RESISTÊNCIA BACTERIANAS**

Trabalho de conclusão de curso em formato de artigo elaborado como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina, sob orientação da professora Dra. Luciana Ramalho de Farias.

BRASÍLIA

2018

Inibidores Do *Quorum Sensing*: Estratégia De Combate À Virulência E Resistência Bacterianas.

Pietra Orlandi Rigueiras¹
Luciana Ramalho de Farias²

RESUMO

Quorum sensing é um mecanismo de comunicação celular presente nas bactérias. Através da secreção, acúmulo e detecção de moléculas autoindutoras as células bacterianas são capazes de regular a expressão de fatores de virulência, esporulação e formação de biofilmes. Frente ao cenário mundial de resistência antimicrobiana o bloqueio do *quorum sensing* passou a ser explorado como alternativa aos antibióticos, mostrando-se eficientes no combate à virulência bacteriana e demonstrando, até o momento, baixo potencial de desenvolvimento de resistência. O objetivo deste trabalho foi discutir os inibidores do *quorum sensing* de bactérias de relevância clínica através de uma revisão narrativa da literatura.

Palavras-chave: Resistência antimicrobiana. *Quorum quenching*. Biofilmes. Infecções oportunistas.

***Quorum Sensing* Inhibitors: A Strategy To Combat Virulence And Bacterial Resistance.**

ABSTRACT

Quorum sensing is a cell-to-cell communication system found in bacteria. Through secretion, accumulation and detection of autoinducer molecules, bacteria are capable of regulate the expression of virulence factors, sporulation and biofilm formation. Due to the global scenario in antimicrobial resistance, *quorum sensing* inhibition became a target of studies to develop alternative therapies to antibiotics. This work discusses the *quorum sensing* inhibitors of clinically relevant bacteria.

Keywords: Antimicrobial resistance. *Quorum quenching*. Biofilm. Opportunistic infections.

¹ Graduanda do curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília - UniCEUB.

² Bióloga, Doutora em Biologia Molecular – UNB; Professora de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

1. INTRODUÇÃO

As infecções bacterianas são doenças comuns que acometem mundialmente indivíduos de ambos os sexos, todas as faixas etárias e de diferentes situações sociais. Em 2014 foram registrados mais de 14 milhões de casos de infecções bacterianas nos Estados Unidos. Destes, 1,5 milhão de pacientes estavam infectados por bactérias resistentes, representando um custo de US\$2,2 bilhões no tratamento contra infecções resistentes apenas naquele ano. O Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (Center for Disease Control and Prevention - CDC) estima que 23 mil mortes a cada ano sejam causadas por bactérias resistentes no país (THORPE, 2018).

Diante da situação, que se repete em diversos países, a Organização Mundial da Saúde (OMS) elaborou em 2015 o Plano Global de Ação Contra a Resistência Antimicrobiana (OMS, 2015). Este cenário levou as Nações Unidas (ONU) a declarar a resistência antimicrobiana como um problema global a ser priorizado, dentro dos 17 Objetivos para o Desenvolvimento Sustentável Mundial (OMS, 2018; THORPE, 2018).

Desde o início da implementação dos antibióticos no tratamento de infecções é possível observar a resistência antimicrobiana (VENTOLA, 2015). No entanto, devido ao uso massivo e inadequado desses fármacos, bactérias resistentes aos antibióticos de uso clínico têm sido isoladas cada vez mais rápido e com maior frequência, limitando, dessa forma, as opções terapêuticas contra diversas infecções (RAFFATELLU, 2018).

A resistência bacteriana se desenvolve a partir da diversidade genética dentro de uma mesma população. O que inclui mutações cromossômicas, troca de plasmídeos, transposons e outras formas de variabilidade do material genético que se expressam de forma a tornar o microorganismo adaptado à pressão do meio. Nesse sentido, os antibióticos bactericidas acabam por selecionar as bactérias resistentes (LEVY; MARSHALL, 2004; RAFFATELLU, 2018).

Os biofilmes são ambientes propícios ao desenvolvimento de resistência antimicrobiana. Essas estruturas são formadas por bactérias aderidas umas às outras ou à superfícies, como cateteres, próteses, mucosas, encanamentos, entre outros (DONLAN; COSTERTON, 2002). Possuem matriz extracelular formada por polissacarídeos, o que permite a difusão de componentes secretados e confere resistência à agressões mecânicas e químicas (ROY et al., 2018).

Bactérias formadoras de biofilmes são capazes de causar infecções mais duradouras, resistentes, virulentas e que apresentam alto índice de morbimortalidade (LEE; ZHANG, 2014; LI; TIAN, 2012). Estudos feitos por Kim et al (2016) e Singh et al (2016; 2017) implicam que o microambiente estabelecido nos biofilmes favorece a indução de mutações e troca de material genético, fator que contribui para as características associadas

à infecção. Além disso, os biofilmes também protegem as células bacterianas contra a ação do sistema imune do hospedeiro e interferem na penetração de antimicrobianos (ROY et al., 2018).

Dentre as infecções associadas à unidades de atenção à saúde, destacam-se as causadas pelos patógenos do grupo ESKAPE: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* e enterobactérias (KAYE; POGUE, 2015; PENDLETON et al., 2013).

Os integrantes do grupo ESKAPE são os patógenos mais isolados nas infecções adquiridas em ambientes hospitalares e apresentam resistência à diversas classes de antibióticos. Isto se deve à capacidade destes microrganismos de formar biofilmes em aparelhos médico-hospitalares (LEVY; MARSHALL, 2004; PENDLETON et al., 2013). Dessa forma, as infecções causadas por bactérias formadoras de biofilme são de grande relevância clínica e exigem novas abordagens de controle e combate (OMS, 2017).

A formação de biofilmes é coordenada pelo *quorum sensing* (QS), um mecanismo de comunicação entre células que se baseia na produção, secreção e reconhecimento de moléculas autoindutoras (AIs) (O'LOUGHLIN et al., 2013). A partir de um limiar de concentração as moléculas autoindutoras são capazes de gerar resposta nos indivíduos presentes no meio, estimulando um sistema de retroalimentação para a produção de mais autoindutores e maior disponibilização de receptores para estes (FEDERLE; BASSLER, 2003).

Esse sistema está presente tanto em bactérias Gram-positivas quanto em Gram-negativas e também é responsável pela regulação de fatores de virulência, além de apresentar envolvimento em mecanismos de resistência antimicrobiana e alguns processos fisiológicos (KIM et al., 2016).

Em resposta ao número crescente de isolados clínicos multirresistentes aos antibióticos disponíveis, o *quorum sensing* passou a ser visto como alvo terapêutico (KOHANSKI et al., 2010). Os bloqueadores de *quorum sensing* agem a fim de atenuar a virulência bacteriana e diminuir a formação de biofilmes de modo a conter ou prevenir a infecção. Além disso, são vistos como uma boa opção no controle do desenvolvimento de novas cepas multirresistentes, uma vez que exercem baixa pressão seletiva sobre os microrganismos (LASARRE; FEDERLE, 2013).

O objetivo deste trabalho foi discutir a eficácia e os efeitos de diferentes inibidores do *quorum sensing* de bactérias Gram-negativas de relevância em infecções associadas aos ambientes de atenção à saúde.

2. METODOLOGIA

Este é um trabalho de revisão da literatura do tipo narrativo ou tradicional, que segundo Rother (2007), consiste em um documento que apresenta de forma descritiva um determinado tema, tendo papel importante na divulgação do conhecimento, além disso, esse tipo de revisão não possui um protocolo para sua produção. A busca literária foi embasada no ano de publicação e nos objetivos, sendo utilizadas publicações que ocorreram entre os anos de 2002 a 2018.

A pesquisa foi realizada a partir de documentos encontrados nas bases de dados eletrônicas internacionais, como Google Acadêmico e PubMed, utilizando as seguintes palavras-chave: *quorum sensing*, *virulence*, *biofilm*, *inhibition*, *inhibitors*, *quorum quenching*. Estes descritores foram combinados utilizando as ferramentas de busca (“AND”, “OR”) dos bancos de dados acadêmicos.

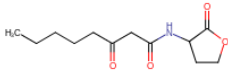
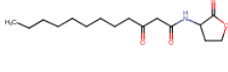
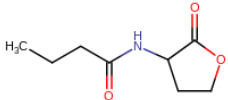
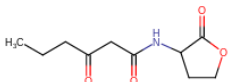
3. DESENVOLVIMENTO

3.1 Fundamentos do *quorum sensing*

Nas bactérias Gram-negativas o sistema de *quorum sensing* presente é do tipo LuxIR. Nesse sistema uma enzima sintase (tipo LuxI) é responsável pela síntese de acil-homoserina-lactonas (AHLs), que agem como moléculas autoindutoras. As proteínas do tipo LuxR são os receptores responsáveis pelo reconhecimento das moléculas autoindutoras (PAPENFORT; BASSLER, 2016). Esses receptores estão presentes no citosol bacteriano e apresentam domínio de ligação ao DNA. Quando ocorre o reconhecimento do autoindutor, o receptor é capaz de interagir com o material genético, regulando a expressão de genes específicos (WATERS; BASSLER, 2005).

A estrutura das proteínas Lux *like* é particular de cada espécie. As sintases possuem sítios únicos que promovem a lactonização do precursor S-adenosilmetionina (SAM), gerando a molécula específica de AHL (Quadro 1) (CHAN et al., 2015; PAPENFORT; BASSLER, 2016). Nesse sentido, os receptores apresentam regiões que reconhecem com exatidão as estruturas de AHL, permitindo a comunicação intra-espécie (LASARRE; FEDERLE, 2013). Adicionalmente, estudos identificaram ação imunomodulatória das moléculas AHL no hospedeiro, sugerindo que os próprios autoindutores possam ter, por si só, papel no estabelecimento de infecções (SUN et al., 2016; CHAN et al., 2015).

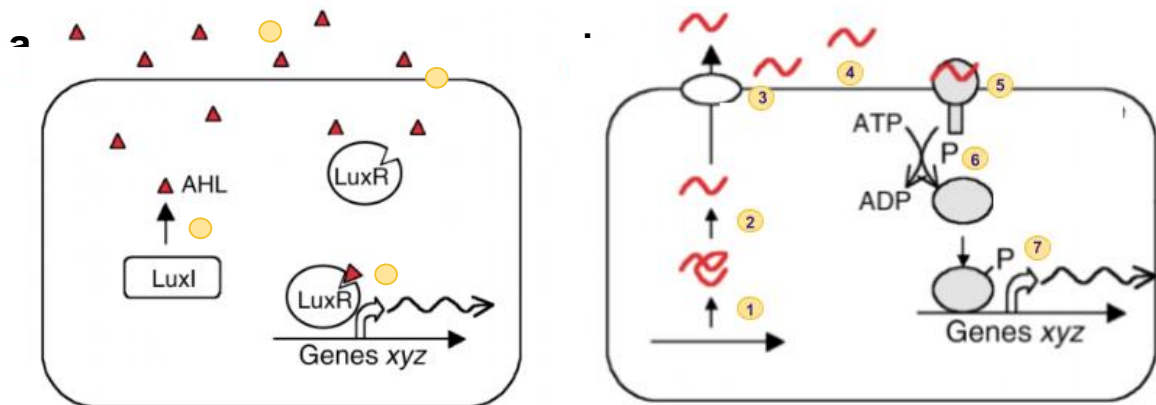
Quadro 1: Estruturas específicas de AHL e seus receptores.

ESPÉCIE	AUTOINDUTOR	SINTASE/ RECEPTOR	GENES REGULADOS	EFEITO	FONTE
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	 3-oxo-C8-HSL	TraI/TraR	<i>tra</i> , <i>trb</i>	Replicação de plasmídeo, virulência	Bodman et al, 2003
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	 3-oxo-C12-HSL	LasI/LasR	<i>lasA</i> , <i>lasB</i> , <i>lecA</i> , <i>lecB</i> , <i>rhII</i> , <i>rhIR</i> , <i>PQS</i>	Produção de proteases, lectina, piocianina e formação de biofilme	Lee e Zhang, 2014
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	 C4-HSL	RhII/RhIR	<i>rhIA</i> , <i>rhIB</i> , <i>rhIC</i> , <i>pqsR</i> , <i>pqnA</i> , <i>pqnB</i>	Produção de ramnolipídeos, inibição do sistema PQS	Lee e Zhang, 2014
<i>Vibrio fischeri</i>	 3-oxo-C6-HSL	LuxI/LuxR	<i>luxI</i> CDABE	Bioluminescência	Waters e Bassler, 2005

Bactérias Gram-positivas utilizam oligopeptídeos como autoindutores para comunicação intra-espécie. Os peptídeos, assim como as AHLs, são específicos e podem variar de acordo com a cepa da bactéria (CANOVAS et al., 2016). Nesse sistema os autoindutores são sintetizados pelos ribossomos e sofrem modificações pós-traducionais, como a adição de grupamentos nos radicais e a clivagem em pontos específicos da cadeia peptídica (LASARRE; FEDERLE, 2013).

As membranas das células bacterianas não são permeáveis aos peptídeos autoindutores (AIPs), portanto são necessárias proteínas que facilitem o transporte transmembrana para secreção dos AIPs (FEDERLE; BASSLER, 2003). Da mesma forma, algumas espécies apresentam proteínas que facilitam o transporte para o interior da célula, onde o receptor para o AIP está presente (LASARRE; FEDERLE, 2013). No entanto, o mais observado é a presença de histidina-quinases transmembrana que fazem o reconhecimento do AIP ainda no meio extracelular e, através de cascatas de fosforilação, regulam a expressão gênica (WATERS; BASSLER, 2005). A Figura 1 compara o *quorum sensing* em bactérias Gram-negativas e Gram-positivas.

Figura 1: Diferenças entre o sistema de comunicação utilizado em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas quanto a produção do AI, reconhecimento do sinal e regulação gênica.



Fonte: Adaptado de Federle e Bassler, 2003.

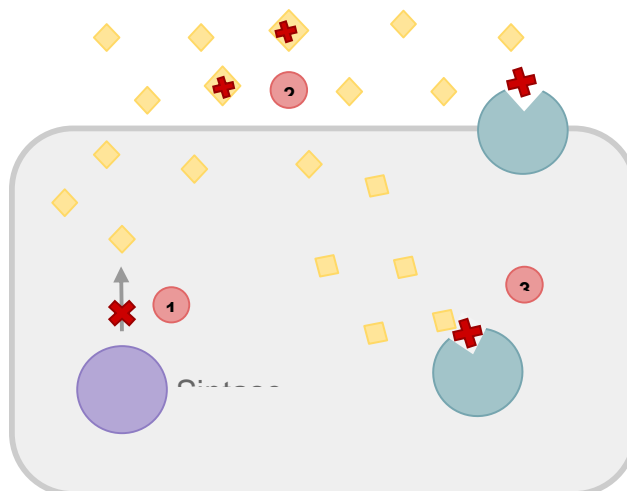
Legenda: **a)** Processo de comunicação em bactérias Gram-negativas: 1. Síntese da molécula autoindutora por enzimas do tipo LuxI; 2. Alcance do limiar de concentração para resposta; 3. Livre difusão das moléculas AHL para o meio intracelular; 4. Reconhecimento do autoindutor pelos receptores do tipo LuxR e regulação da expressão gênica; **b)** Sistema de *quorum sensing* de bactérias Gram-positivas: 1. Tradução dos peptídeos pelos ribossomos; 2. Modificações pós-traducionais; 3. Secreção dos peptídeos via proteína facilitadora; 4. Alcance do limiar de concentração para resposta; 5. Reconhecimento do AIP por proteínas histidina-quinase; 6. Fosforilação (ativação) do regulon; 7. Regulação gênica.

A comunicação entre diferentes espécies também é possível e ocorre através da secreção e reconhecimento de moléculas autoindutoras do tipo dois (AI-2), que contêm anéis furânicos em sua composição. Ao contrário das AHLs e dos AIPs, as moléculas de AI-2 não são específicas de cada espécie, assim como a enzima que catalisa a sua síntese (LuxS) (XAVIER; BASSLER, 2003). Este mecanismo, conhecido como “comunicação universal”, é utilizado pelas bactérias a fim de determinar a proporção entre indivíduos da sua espécie e de outras espécies presentes no mesmo ambiente. A partir dessa proporção as células se modificam a fim de se adaptar à competição do meio (FEDERLE; BASSLER, 2003; WATERS; BASSLER, 2005).

3.2 Comparação entre os QSI

Os inibidores do *quorum sensing* (QSI) agem de formas distintas a fim de interferir em alguma etapa do sistema de comunicação, como observado na Figura 2 (LASARRE; FEDERLE, 2013). É possível classificá-los quanto ao seu mecanismo de ação: i) bloqueadores da síntese das moléculas autoindutoras; ii) degradadores ou inativadores das moléculas autoindutoras; iii) bloqueadores do reconhecimento das moléculas autoindutoras (CHANG et al., 2014; LASARRE; FEDERLE, 2013).

Figura 2: Etapas de ação para o bloqueio do *quorum sensing*.



Fonte: Elaborado pela autora.

As moléculas que apresentaram ação inibidora do *quorum sensing* dentre os artigos selecionados foram divididas pelo seu mecanismo de ação, conforme o quadro abaixo (Quadro 2).

No estudo feito por Chang e colaboradores em 2014, foram testados extratos vegetais a fim de avaliar sua capacidade de inibir o *quorum sensing*. Através da técnica de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LCMS) a quantidade de AHL foi avaliada na presença e na ausência dos compostos testados. O ácido tânico e o trans-cinamaldeído foram capazes de inibir completamente a produção do autoindutor C4-HSL. O estudo sugere que o ácido tânico possa interferir na regulação gênica, possivelmente interagindo com os receptores, no entanto o mecanismo não foi elucidado.

Quadro 2: Classificação dos inibidores de *quorum sensing*.

	INIBIDOR	ALVO	ESPÉCIE	FONTE
INIBEM A PRODUÇÃO DE AHLs	Cinamaldeído	RhII	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Chang, 2014
DEGRADAM O AUTOINDUTOR	SsoPox	AHLs	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Guendouze, 2017
	PvdQ	AHLs	<i>Burkholderia cenocepacia</i>	Koch, 2014
INIBEM O RECEPTOR	Zeaxantina	LasR e RhIR	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gokalsin, 2017
	Meta-bromo-tiolactona	RhIR	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	O'Loughlin, 2013

Simulações de *docking* (acoplamento) molecular realizadas no estudo sugerem que o trans-cinamaldeído seja capaz de interagir com o sítio de ligação do SAM à sintase LasI, diminuindo a produção de 3-oxo-C12-HSL. Os alvos principais do composto, no entanto, são as sintases de AHLs de cadeias curtas como a RhII. Estas enzimas contêm regiões conservadas de ligação ao grupo acil que apresentam afinidade pelo trans-cinamaldeído, bloqueando o sítio de interação e impedindo a formação de C4-HSL.

A pesquisa feita em 2017 por Guendouze et al. avalia a atividade da enzima SsoPox, originalmente isolada da archaea *Sulfolobus solfataricus*, na degradação das moléculas sinalizadoras do *quorum sensing* da bactéria *P. aeruginosa*. A enzima SsoPox é uma lactonase, responsável pela degradação dos anéis de homoserina lactona presentes nas AHLs. Os resultados obtidos no estudo demonstram que na presença da enzima, a formação de biofilme, a produção de piocianina e a secreção de proteases pelo patógeno foi consideravelmente reduzida.

No estudo publicado por Koch (2014) a acilase PvdQ produzida pela família Pseudomonadaceae foi objeto de experimentos e simulações *in silico*. A sequência foi submetida a diversas mutações de ponto que resultaram na troca de aminoácidos, a fim de avaliar a afinidade da enzima pelo substrato em suas diferentes variações.

Através de experimentos *in vitro* o autor foi capaz de comparar a atividade da acilase sobre as AHLs C8-HSL e 3-oxo-C12-HSL responsáveis, respectivamente, pela comunicação das bactérias *Burkholderia cenocepacia* e *Pseudomonas aeruginosa*. Utilizando marcação com fluorescência nos substratos o autor foi capaz de determinar a concentração das AHLs em meios com as bactérias acima citadas, na ausência e na presença da acilase. Na

presença da enzima a concentração de C8-HSL foi mínima e as proteases controladas pelo QS não foram detectadas. Dessa forma, demonstrou a atividade efetiva da enzima PvdQ modificada sobre o QS da bactéria.

Gokalsin et al. (2017) utilizou um carotenóide encontrado em líquens como composto inibidor do QS. A zeaxantina mostrou-se capaz de diminuir a expressão de fatores de virulência regulados pelos sistemas LasIR e RhIR e de inibir parcialmente a formação de biofilme. Através do *docking* molecular o autor infere que a molécula de zeaxantina interage com o sítio de ação dos receptores LasR e RhIR, bloqueando a cavidade e impedindo que o autoindutor seja reconhecido.

A meta-bromo-tiolactona (mBTL) demonstrou, no estudo feito por O'Loughlin et al. (2013), a capacidade de diminuir a expressão de fatores de virulência e inibir a formação de biofilme mediada pelo QS. A mBTL é análoga às AHLs e, por isso, é capaz de interagir com os receptores LasR e RhIR. Dessa forma, a molécula de mBTL causa mudança conformacional das proteínas, impedindo que o sítio de ligação ao material genético tenha ação.

Os fatores de virulência produzidos pelas bactérias são mecanismos de ataque ao hospedeiro, servindo como iniciadores e meios de instalação da infecção. Fatores como as proteases permitem a invasão tecidual e proporcionam condições de instauração para os biofilmes (WATERS; BASSLER, 2005). O quadro abaixo (Quadro 3) compara o percentual de inibição e a concentração de cada QSI, segundo o autor da publicação e evidencia que as enzimas abordadas no estudo apresentaram os melhores resultados na inibição de tais fatores.

Quadro 3: Comparação da eficácia dos QSI selecionados para o estudo.

INIBIDOR DO <i>QUORUM</i> <i>SENSING</i>	CONCENTRAÇÃO	INIBIÇÃO		
		BIOFILME	FATORES DE VIRULÊNCIA	PRODUÇÃO DE AI
Cinamaldeído	2,27 mM	*	42,06% ¹	100%
SsoPox	14,5 µM	90%	90% ^{1,2}	*
PvdQ modificada	5 ng/µL	*	100% ²	100%
Zeaxantina	12 µM	44,20%	79% ^{2,3}	*
mBTL	8 µM	56%	50% ¹	*

Legenda: ¹ Piocianina; ² Proteases; ³ Ramnolipídeos. * Teste não descrito pelo autor do estudo.

A capacidade dos compostos em inibir o *quorum sensing* resulta em infecções mais brandas e com maiores taxas de sobrevivência do hospedeiro, como mostra Koch (2014) em seu estudo. O autor demonstrou a eficácia dos QSI através do experimento com larvas de *Galleria mellonella* infectadas por *B. cenocepacia*, inoculando bactérias sem tratamento em um grupo e bactérias previamente submetidas à enzima PvdQ modificada em outro (além dos grupos controle). Como resultado, após 48h o grupo infectado pelo patógeno não tratado apresentou 99% de letalidade, enquanto no grupo infectado por *B. cenocepacia* previamente tratada todos os indivíduos sobreviveram.

3.3 Inibidores do *quorum sensing* e antibióticos de uso clínico

Os antibióticos empregados atualmente no uso clínico tem por objetivo levar à morte celular ou interromper a multiplicação de células bacterianas. Para isto, têm como alvo proteínas e compostos envolvidos na síntese de DNA, RNA, proteínas e membrana celular (KOHANSKI et al., 2010). Frente a ação dos antibióticos, as células bacterianas são capazes de desenvolver mecanismos de resistência, como a degradação ou modificação dos compostos, expressão de bombas de efluxo que expulsam as moléculas do meio intracelular e a superexpressão dos alvos dos antibióticos (GARCÍA-CONTRERAS et al., 2013). Portanto, as células bacterianas adaptadas não sofrem com a ação do antibiótico e prosperam, enquanto as células sensíveis são susceptíveis aos efeitos do fármaco.

Por agirem sobre moléculas que interferem no metabolismo celular e sobre estruturas essenciais para a sobrevivência celular, estes antibióticos impõem alta pressão seletiva sobre as bactérias. Dessa forma, as células que se adaptam são selecionadas (DEFOIRD et al., 2010; KOHANSKI et al., 2010; LASARRE; FEDERLE, 2013).

Os QSIs não visam a atividade bactericida ou mesmo bacteriostática, mas têm como alvo os mecanismos de comunicação das bactérias. Isso faz que a pressão seletiva desses compostos seja baixa, uma vez que não têm como característica a indução de adaptação ou seleção de indivíduos que porventura se apresentem resistentes. Nesse sentido, os QSI se mostram como uma boa alternativa ao combate da resistência antimicrobiana (LASARRE; FEDERLE, 2013).

Outra propriedade dos antibióticos empregados é o amplo espectro de atuação, dessa forma não agem só sobre o patógeno, mas também prejudicam a microbiota normal. O desequilíbrio da microbiota é principalmente associado ao desenvolvimento de infecções secundárias, no entanto a alteração da microbiota intestinal é também associada ao desenvolvimento de alergias e doenças inflamatórias, além de outras patologias (RAFFATELLU, 2018).

Embora existam antibióticos com espectro limitado a fim de combater exclusivamente bactérias Gram-negativas ou Gram-positivas, estes fármacos não agem unicamente contra o patógeno, de forma a ainda serem capazes de prejudicar a microbiota normal (KOHANSKI et al., 2010; RAFFATELLU, 2018). O *quorum sensing* permite sistemas de comunicação específicos e interespecies. Dessa maneira, componentes do QS particulares de cada espécie bacteriana, como a composição do autoindutor ou a estrutura do receptor são explorados visando o desenvolvimento de terapias espécie-específicas (KALIA, 2012).

Nos estudos selecionados para este trabalho essa característica mostrou-se presente na enzima PvdQ modificada, que apresenta maior afinidade pelas AHLs de cadeia curta (menor que dez carbonos).

3.4 Resistência aos inibidores do *quorum sensing*

Apesar dos QSI serem pensados como estratégia alternativa aos antibióticos e sob a premissa de não exercerem pressão seletiva, a possibilidade do desenvolvimento de mecanismos de resistência contra os compostos não é descartada.

No estudo realizado por Minawaga et al. (2012), o gene que codifica a bomba de efluxo MexAB-OprM, relacionada à resistência antimicrobiana, é silenciado na bactéria *Pseudomonas aeruginosa*. Estimulando o patógeno com AHLs de comprimento variável entre oito e quatorze carbonos e aferindo a expressão da elastase LasB, fator de virulência regulado pelo gene *lasB* do *quorum sensing* da bactéria *P. aeruginosa*, o grupo sugere que a bomba de efluxo MexAB-OprM tenha atividade envolvida com a seleção de AHLs. Sendo, portanto, um possível mecanismo de desenvolvimento de resistência aos QSI miméticos à AHLs *in vivo*.

Em contraste com os estudos acerca da atividade e potencial de inibição dos QSI, pesquisas que tenham como objeto de estudo o desenvolvimento de mecanismos de resistência aos QSI são escassos. As hipóteses levantadas sugerem que os QSI tenham menor capacidade de induzir a resistência antimicrobiana quando comparados aos antibióticos (GARCÍA-CONTRERAS et al., 2016). No entanto, ressalta-se que as condições *in vivo* devem ser avaliadas a fim de determinar se a capacidade de seleção é uma característica dos QSI.

3.5 Viabilidade da aplicação clínica dos inibidores do *quorum sensing*

Embora o uso clínico dos QSI seja promissor, existem ainda dúvidas sobre a aplicação. A concentração das moléculas para a inibição da virulência *in vivo*, a estabilidade dos compostos e enzimas sob diferentes condições de pH e temperatura e a incerteza sobre

o desenvolvimento de resistência são os principais impasses a serem enfrentados (GARCÍA-CONTRERAS et al., 2016; LASARRE; FEDERLE, 2013).

Sob essa perspectiva, estudos sugerem o uso dos QSI em conjunto com os antibióticos atuais. Dessa forma, o objetivo é utilizar os QSI a fim de atenuar a virulência bacteriana e inibir a formação do biofilme, de modo a aumentar a sensibilidade dos patógenos ao antibiótico e, por fim, eliminar as células bacterianas (LASARRE; FEDERLE, 2013).

Outra linha de pesquisa se baseia na possibilidade de adicionar estes QSI aos equipamentos médico-hospitalares, uma vez que as infecções por bactérias formadoras de biofilmes são altamente associadas ao uso destes em ambientes de atenção à saúde (DONLAN; COSTERTON, 2002).

Diante disso, a enzima SsoPox modificada se destaca. Guendouze et al. (2017) demonstra em seu estudo que a lactonase foi capaz de diminuir a expressão de proteases e a formação de biofilmes mesmo quando imobilizada em poliuretano. Além disso, as propriedades bioquímicas da enzima conferem resistência às condições adversas.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Frente ao cenário global de resistência antimicrobiana, o desenvolvimento de novos métodos de controle e combate de infecções devem ser prioridade.

Os inibidores do *quorum sensing* mostram-se como boa alternativa aos antibióticos por serem eficientes no combate à virulência bacteriana e demonstrarem, até o momento, baixo potencial de desenvolvimento de resistência.

A aplicação de ferramentas biotecnológicas é de suma importância para o desenho e aprimoramento de QSI, além de seu papel no estudo das melhores aplicações para cada tipo de QSI. Estudos acerca do desenvolvimento de resistência aos QSI devem também ser realizados a fim de definir terapias efetivas.

Além disso, destaca-se a importância de estudos que proponham a análise *in vivo* dos QSI, com o objetivo de observar a eficiência e o desenvolvimento de resistência no hospedeiro em situações de infecção.

5. REFERÊNCIAS

BODMAN, S. B. V.; BAUER, W. D.; COPLIN, D. L. Quorum sensing in plant-pathogenic bacteria. **Annual Reviews Phytopathology**, Palo Alto, v. 41, n. 1, p. 455-482, Abr. 2003.

CANOVAS, J.; BALDRY, M.; BOJER, M.S.; ANDERSEN, P. S.; GRZESKOWIAK, P.K.; STEGGER, M.; DAMBORG, P.; OLSEN, C.A.; INGMER, H. Cross-Talk between

Staphylococcus aureus and Other Staphylococcal Species via the agr quorum sensing System. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 7, n. 1, p. 1-13, Nov. 2016.

CHAN, K.; LIU, Y.; CHANG, C. Inhibiting N-acyl-homoserine lactone synthesis and quenching *Pseudomonas* quinolone quorum sensing to attenuate virulence. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 6, n. 1, p. 1-7, Out. 2015.

DONLAN, R. M.; COSTERTON, J. W. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 15, n. 2, p. 167-193, Abr. 2002.

FEDERLE, M. J.; BASSLER, B.L. Interspecies communication in bacteria. **Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v. 112, n. 9, p. 1291-1299, Nov. 2003.

GARCÍA-CONTRERAS, R.; MAEDA, T.; WOOD, T. K. Resistance to quorum quenching compounds. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 79, n. 22, p. 6840-46. Set. 2013.

GARCÍA-CONTRERAS, R.; MAEDA, T.; WOOD, T. K. Can resistance against quorum-sensing interference be selected? **International Society for Microbial Ecology**, London, v. 10, n. 1, p. 4-10, Maio 2016.

GOKALSIN, B.; AKSOYDAN, B.; ERMAN, B.; SESAL, N. C. Reducing Virulence and Biofilm of *Pseudomonas aeruginosa* by Potential Quorum Sensing Inhibitor Carotenoid: Zeaxanthin. **Microbial Ecology**, New York, v. 74, n. 1, p. 466–473, Mar. 2017.

GUENDOUZE, A.; PLENER, L.; BZDRENGA, J.; JACQUET, P.; RÉMY, B.; ELIAS, M.; LAVIGNE, J-P.; DAUDÉ, D.; CHABRIÈRE, E. Effect of quorum quenching lactonase in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and comparison with quorum sensing inhibitors. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 8, n. 227, p.1-10, Fev. 2017.

KALIA, V. C. Quorum sensing inhibitors: An overview. **Biotechnology Advances**, New York, v. 31, n. 1, p. 224-245, Nov. 2012.

KIM, M.K.; INGREMEAU, F.; ZHAO, A.; BASSLER, B. L.; STONE, H. A. Local and global consequences of flow on bacterial quorum sensing. **Nature Microbiology**, London, v. 1, n. 5, p. 1-5, Jan. 2016.

KOCH, G.; NADAL-JIMENEZ, P.; REIS, C.R.; MUNTENDAM, R.; BOKHOVE, M.; MELILO, E.; DIJKSTRA, B.W.; COOL, R.H.; QUAX, W.J. Reducing virulence of the human pathogen *Burkholderia* by altering the substrate specificity of the *quorum-quenching* acylase PvdQ. **Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)**, Washington, v. 111, n. 4, p. 1568-1573, Jan. 2014.

KOHANSKI, M. A.; DWYER, D. J.; COLLINS, J. J. How antibiotics kill bacteria: From targets to networks. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 8, n. 1, p. 423-435, Dez. 2010.

LASARRE, B.; FEDERLE, M. J. Exploiting quorum sensing To Confuse Bacterial Pathogens. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 77, n. 1, p. 73–111, Mar. 2013.

LEE, J.; ZHANG, L. The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*. **Protein and Cell**, Heidelberg, v. 6, n. 1, p. 26-41, Set. 2014.

LEVY, B. S.; MARSHALL, B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. **Nature Medicine**, London, v. 10, n. 12, p. 122-129, Dez. 2004.

LI, Y. H.; TIAN, X. Quorum sensing and bacterial social interactions in biofilms. **Sensors**, Basel, v. 12, p. 2519-2538, Fev. 2012.

MINAWA, S.; INAMI, H.; KATO, T.; SAWADA, S.; YASUKI, T.; MIYAIRI, S.; HORIKAWA, M.; OKUDA, J.; GOTOH, N. RND type efflux pump system MexAB-OprM of *Pseudomonas aeruginosa* selects bacterial languages, 3-oxo-acyl-homoserine lactones, for cell-to-cell communication. **BioMed Central Microbiology**, London, v. 12, n. 1, p. 70-79, Maio 2012.

O'LOUGHLIN, C.; MILLER, L.; SIRYAPORN, A.; DRESCHER, K.; SEMMELHACK, M.; BASSLER, B. A quorum-sensing inhibitor blocks *Pseudomonas aeruginosa* virulence and biofilm formation. **Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)**, Washington, v. 110, n. 44, p.17981-17986, Out. 2013.

OMS. Global action plan on antimicrobial resistance. **World Health Organization**, Geneva, 2015.

OMS. Guidelines for the prevention and control of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in health care facilities. **World Health Organization**, Geneva, 2017.

OMS. Global antimicrobial resistance surveillance system report. **World Health Organization**, Geneva, 2018.

PAPENFORT, K.; BASSLER, B. L. Quorum sensing signal-response systems in Gram-negative bacteria. **Nature Microbiology**, London, v. 14, n. 1, p. 576-588, Ago. 2016.

PENDLENTON, J. N.; GORMAN, S. P.; GILMORE, B. F. Clinical relevance of the ESKAPE pathogen. **Expert Reviews**, London, v. 11, n. 3, p. 297-308, Mar. 2013.

RAFFATELLU, M. Learning from bacterial competition in the host to develop antimicrobials. **Nature Medicine**, London, v. 24, n. 8, p. 1097–1103, Ago. 2018.

ROTHER, E. T.. Revisão sistemática X revisão narrativa. **Acta paul. enferm.**, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 5-6, Jun. 2007.

ROY, R.; TIWARI, M.; DONELLI, G.; TIWARI, V. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. **Virulence**, Philadelphia, v. 9, n. 1, p. 522-554, Jan. 2018.

SINGH, V., MISHRA, A., HAQUE, I., & JHA, B. A novel transcription factor-like gene SbSDR1 acts as a molecular switch and confers salt and osmotic endurance to transgenic tobacco. **Scientific Reports**, London, v. 6, n.1, Ago. 2016.

SINGH, V., MISHRA, A., & JHA, B. Anti-quorum sensing and Anti-biofilm Activity of *Delftia tsuruhatensis* Extract by Attenuating the quorum sensing-Controlled Virulence Factor Production in *Pseudomonas aeruginosa*. **Frontiers In Cellular And Infection Microbiology**, Lausanne, v. 7, Jul. 2017.

SUN, S.; ZHANG, H.; LU, S.; LAI, C.; LIU, H.; ZHU, H. The metabolic flux regulation of *Klebsiella pneumoniae* based on quorum sensing system. **Scientific Reports**, London, v. 6, n. 1, p. 1-9, Dez. 2016.

THORPE, K. E., JOSKI, P., & JOHNSTON, K. J. Antibiotic-Resistant Infection Treatment Costs Have Doubled Since 2002, Now Exceeding \$2 Billion Annually. **Health Affairs**, Millwood, v. 37, n. 4, p. 662–669, Mar. 2018.

VENTOLA, C. L. The antibiotic resistance crisis: causes and threats. **Pharmacy and therapeutics**, Lawrenceville, v. 40, n. 4, p. 277-283, Abr. 2015.

WATERS, C. M.; BASSLER, B. L. Quorum sensing: Cell-to-Cell Communication in Bacteria. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, Palo Alto, v, 21, n. 1, p. 319–346, Jun. 2005.

XAVIER, K. B; BASSLER, B. L. LuxS quorum sensing: more than just a numbers game. **Current Opinion in Microbiology**, London, v. 6, n, 2, p. 191–197, Abr. 2003.