

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
CURSO DE BIOMEDICINA

CAROLINE NOBRE OLIVEIRA

GENES DE RESISTÊNCIA BACTERIANA: O ESTADO DA ARTE

Natal
Junho/2019

GENES DE RESISTÊNCIA BACTERIANA: O ESTADO DA ARTE

por

Caroline Nobre Oliveira

Monografia Apresentada à
Coordenação do Curso de
Biomedicina da Universidade Federal
do Rio Grande do Norte, como
Requisito Parcial à Obtenção do
Título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Professor Dr° Renato Motta Neto

Natal
Junho/2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
CURSO DE BIOMEDICINA

A Monografia **GENES DE RESISTÊNCIA BACTERIANA: O ESTADO DA ARTE** elaborada por **Caroline Nobre Oliveira** e aprovada por todos os membros da Banca examinadora foi aceita pelo Curso de Biomedicina e homologada pelos membros da banca, como requisito parcial à obtenção do título de

BACHAREL EM BIOMEDICINA

Natal, 6 de junho de 2019

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Renato Motta Neto

(Departamento de Microbiologia e Parasitologia)

Prof^a. Dr^a Rosely de Vasconcellos Meissner

(Departamento de Microbiologia e Parasitologia)

Isabela Maria Fortaleza Neves Bonfim

(Biomédica e mestranda em Ciências Biológicas)

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN
Sistema de Bibliotecas - SISBI
Catalogação de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Central Zila Mamede

Oliveira, Caroline Nobre.

Genes de resistência bacteriana: o estado da arte / Caroline Nobre Oliveira. - 2019.

56 f.: il.

Monografia (graduação) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Biociências, Curso de Biomedicina, Natal, RN, 2019.

Orientador: Prof. Dr. Renato Motta Neto.

1. Resistência microbiana a medicamentos - Monografia. 2. Bactéria - Monografia. 3. Genes - Monografia. I. Motta Neto, Renato. II. Título.

RN/UF/BCZM

CDU 579.253.4

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, a Nossa Senhora e todo o céu por serem meu porto seguro e por tornarem isso possível. Por me ensinarem principalmente a confiar Neles.

Agradeço imensamente meus pais, Allan e Solange, e minha irmã Vivi, por todo o apoio e contribuição nessa jornada, por serem meu maior tesouro aqui na terra. Agradeço também a toda a minha família, por estarem comigo!

A todos os meus amigos e em especial, minhas biomédicas Rebeka, Deborah, Ingrid e Ianca e meus biomédicos Talles e Matheus, por tornarem toda essa caminhada mais doce e divertida. Obrigada por tudo.

À minha segunda família, Lumen Natal, por todas as orações e momentos incríveis que passamos juntos. Não há palavras para agradecer tamanho cuidado de Deus por sermos o que somos.

A Levi por tantas vezes ter me acalmado e mostrado outras formas de olhar para os problemas.

Ao meu orientador, Renato, pela ajuda e direcionamentos para este trabalho e por me mostrar a beleza da microbiologia.

Agradecimento especial dou a Bela, por toda a paciência, correções e ensinamentos transmitidos nesse quase 1 ano. Ensinamentos tanto práticos no laboratório como teóricos para a construção desse trabalho. Meu muito obrigada! Tenha certeza que levarei tudo comigo. Agradeço também a todos os integrantes do “The K Lab”, pela acolhida e contribuição.

À Dra. Gabriela e Dra. Hylarina por todos os ensinamentos, incentivo e apoio para esse trabalho.

A todos que contribuíram de alguma forma para o que sou e onde estou hoje, muito obrigada!

SUMÁRIO

1	Introdução	9
1.1	Resistência bacteriana	13
1.2	Tipos de resistência bacteriana	14
1.2.1	Divisão básica: resistência intrínseca e adquirida	14
1.2.2	Bases genéticas de resistência bacteriana	14
1.2.3	Mecanismos de resistência bacteriana	16
1.3	Genes de resistência bacteriana	22
1.4	Transmissão dos genes de resistência	22
1.5	Classificação de bactérias por risco de resistência	24
1.5.1	Bactérias de risco crítico	25
1.5.2	Bactérias de alta prioridade	25
1.5.3	Bactérias de média prioridade	26
2	Objetivos	27
2.1	Objetivos Gerais	27
2.2	Objetivos específicos	27
3	Metodologia	27
4	Resultados e Discussão	29
4.1	Principais genes de bactérias de risco crítico	29
4.1.1	<i>Acinetobacter baumannii</i> – resistente à carbapenêmicos	29
4.1.2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> – resistente à carbapenêmicos	31
4.1.3	<i>Enterobacteriales</i> – resistente à carbapenêmicos e produtora de ESBL	32
4.2	Principais genes de bactérias de alta prioridade	34
4.2.1	<i>Staphylococcus aureus</i> – MRSA	34
4.2.2	<i>Salmonella spp.</i> – resistente à fluoroquinolona	35
4.2.3	<i>Helicobacter pylori</i> – resistente à claritromicina	36
4.2.4	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> – resistente à fluoroquinolona e às cefalosporinas	37
4.2.5	<i>Enterococcus faecium</i> – resistente à vancomicina	38
4.2.6	<i>Campylobacter spp.</i> – resistente à fluoroquinolona	39
4.3	Principais genes de bactérias de média prioridade	40
4.3.1	<i>Streptococcus pneumoniae</i> – não susceptível à penicilina	40
4.3.2	<i>Haemophilus influenzae</i> – resistente à ampicilina	41
4.3.3	<i>Shigella spp.</i> – resistente à fluoroquinolona	42
5	Genes de resistência bacterianos: perspectivas	44

6 Conclusões finais	46
REFERÊNCIAS	47

RESUMO

A resistência bacteriana aos antibióticos é uma ameaça à saúde em todo o mundo. Esse fenômeno foi primeiro identificado logo após o uso dos primeiros antimicrobianos e até os dias atuais tem aumentado em proporção e consequências negativas, sendo alvo de preocupação e alerta. Envolvidos nesse processo, encontram-se os genes de resistência, os quais possuem um papel determinante em bactérias resistentes aos antibióticos. Este trabalho objetiva realizar uma revisão bibliográfica sobre os genes de resistência bacteriana a partir de bases de dados científicos especializados. Para esse fim foi utilizada como base a lista de patógenos prioritários elaborada pela Organização Mundial da Saúde, na qual estão listadas, em três grupos por ordem de prioridade, as bactérias de importância clínica mais preocupantes no mundo. Desse modo, foram compilados os principais genes de resistência a antibióticos específicos das bactérias consideradas de risco crítico, alta prioridade e média prioridade. Cada bactéria resistente possui em seus genes a origem da resistência aos antimicrobianos. Na maioria delas, mais de um gene e mecanismos genéticos e bioquímicos estão envolvidos no desenvolvimento da resistência. Assim, é possível notar a importância do estudo dos genes de resistência para o completo entendimento da resistência bacteriana como forma de auxílio no diagnóstico e no desenvolvimento de novas medidas terapêuticas.

PALAVRAS-CHAVE: *Resistência Microbiana a Medicamentos, Bactéria, Genes.*

ABSTRACT

Bacterial resistance to antibiotics is a worldwide health threat. This phenomenon was first identified shortly after the use of the first antimicrobials and to this day has increased in proportion and negative consequences, being the object of concern and alertness. Involved in this process are the resistance genes, which play a key role in antibiotic resistant bacteria. This work aims to carry out a bibliographic review on bacterial resistance genes from specialized scientific databases. For this purpose, the list of priority pathogens prepared by the World Health Organization was used as the basis for listing the world's most worrisome bacteria of clinical importance in three priority groups. Thus, the main antibiotic resistance genes specific to the bacteria considered critical risk, high priority and medium priority were compiled. Each resistant bacterium has on its genes the origin of antimicrobial resistance. In most of them, more than one gene and genetic and biochemical mechanisms are involved in the development of resistance. Thus, it is possible to note the importance of the study of resistance genes for the complete understanding of bacterial resistance as a way of aiding in the diagnosis and development of new therapeutic measures.

KEYWORDS: *Drug Resistance, Microbial, Bacteria, Genes.*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Formas de aquisição e transmissão de resistência bacteriana: evolução vertical (mutação) e evolução horizontal (conjugação, transformação, transdução).

Figura 2. Mecanismos de ação dos fármacos antimicrobianos.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Carbapenemases clinicamente relevantes que ocorrem em *A. baumannii*.

Quadro 2. Genes das β -lactamases presentes em *Enterobacteriales*.

1 Introdução

Histórico

A descoberta dos fármacos antimicrobianos foi um importante marco na história da saúde permitindo a cura de muitas doenças e a conservação da vida. Entretanto, logo após a descoberta dos antibióticos foi identificada a resistência bacteriana, um problema complexo e multifatorial (MOREHEAD; SCARBROUGH, 2018). Dessa forma, nota-se na história de todas as classes de antibióticos um caminho que se inicia com a descoberta e disseminação desses compostos e é seguido pela resistência bacteriana a eles (WAGLECHNER; WRIGHT, 2017).

Com a identificação dos microrganismos causadores de enfermidades como cólera, tuberculose e febre tifoide após a segunda metade do século XIX, pesquisas começaram a ser direcionadas para a descoberta de compostos químicos com atividade contra esses agentes. O cientista Paul Ehrlich, pioneiro na utilização de substâncias contra infecções, desenvolveu as primeiras ideias de que um composto químico poderia inibir a propagação das bactérias. Em 1910, foi desenvolvido, por esse mesmo pesquisador, o primeiro antibiótico sintético, conhecido por Salvarsan e utilizado contra a sífilis. (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

Entretanto, a descoberta da penicilina por Alexander Fleming em 1928 foi o grande marco no tratamento das doenças causadas por bactérias, mesmo que só tenha sido introduzida como composto terapêutico por volta de 1940 em diante (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010). Outro achado marcante ocorreu em 1935 com a descoberta do corante vermelho prontossil o qual possuía ação contra infecções causadas por espécies de *Streptococcus*. O prontossil acabou por originar uma nova classe de antimicrobianos sintéticos chamados de sulfas ou sulfonamidas. As sulfas começaram a ser comercializadas no início dos anos 1940, mas por apresentarem espectro de ação limitado não são tão utilizadas atualmente (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010). E mesmo que as sulfas tenham sido usadas para tratar infecções, o antibiótico mais eficiente para casos infecciosos graves, como os provocados pelo *Staphylococcus aureus*, foi a penicilina (MEDELLÍN, 2011).

A década de 1940 marcou o início da Era do Antibiótico, desencadeada pelo uso massivo desses compostos capazes de atenuar eficientemente as

infecções bacterianas (MEDELLÍN, 2011). Nessa época era possível observar um rápido crescimento na descoberta e desenvolvimento de novos antibióticos, principalmente após a industrialização da penicilina, inserida no contexto da Segunda Guerra Mundial (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010). Entretanto, com apenas três anos depois da inserção da penicilina no mercado, foi possível detectar cepas resistentes de *S. Aureus* a esse fármaco. Esse fenômeno foi tão intenso que em 1950, 40% dessas cepas apresentavam resistência e com o passar de 10 anos essa porcentagem duplicou (MEDELLÍN, 2011).

Estudos feitos sobre a genética envolvida na resistência bacteriana revelaram que esse processo está sob a influência de uma diversidade de genes e mecanismos genéticos e que estes não apareceram só a partir da penicilina, sugerindo que as bactérias possuem intrinsecamente em seu genoma uma propensão para a resistência. Dessa forma, a resistência bacteriana é considerada como um processo natural o qual existiria mesmo sem intervenção humana. Entretanto, esse fenômeno tem sido acelerado pelo uso inadequado dos antibióticos em contextos variados como em humanos, animais e na agricultura. Esse uso provoca uma pressão seletiva que permite a seleção de bactérias naturalmente resistentes (MOREHEAD; SCARBROUGH, 2018).

A resistência antimicrobiana (AMR do inglês *antimicrobial resistance*) cresce mundialmente e ameaça a prevenção e a cura de infecções. Em 2016, a AMR foi responsável por 70.000 mortes e estima-se que em 2050 esta causará até 10 milhões de mortes anuais. Essa estimativa baseia-se na realidade encontrada hoje de uso excessivo de antibióticos, tratamentos incompletos, descuido no controle de infecção, saneamento precário em países em desenvolvimento e a globalização que permite a distribuição dos microrganismos facilmente pelo mundo. Esses fatores contribuem para a AMR, que unida aos poucos antibióticos em desenvolvimento, resultam em infecções desprovidas de tratamento (BELLO; DINGLE, 2018).

Seguindo esse raciocínio, a perda do efeito dos antibióticos se deve principalmente a duas circunstâncias conjuntas: à capacidade bacteriana de produzir alterações genéticas e ao uso excessivo e inadequado dos antimicrobianos a nível mundial (MEDELLÍN, 2011).

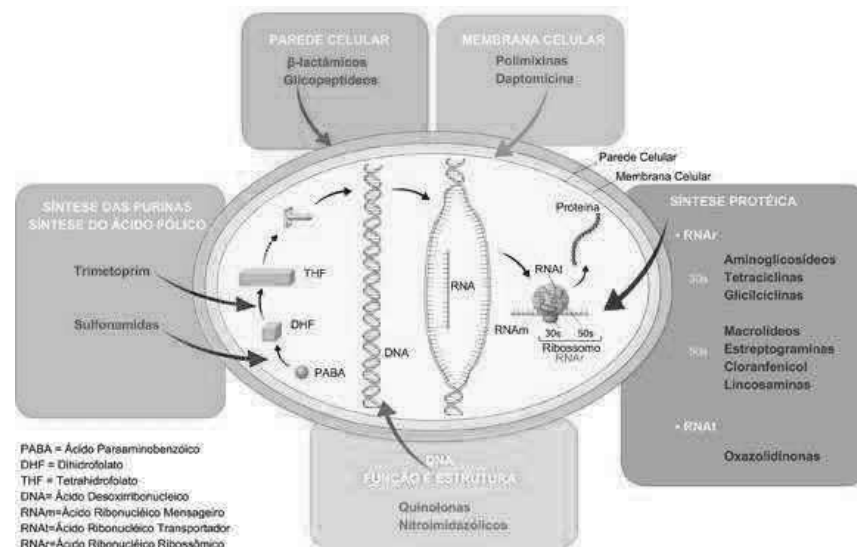
Cada mecanismo de resistência possui uma origem genética que pode estar relacionada a mutações em genes cromossômicos ou a aquisição de genes

de resistência de outros microrganismos no meio ambiente. Para determinar a facilidade com que esses genes podem ser distribuídos, desenvolver tecnologias diagnósticas mais rápidas e novos antimicrobianos é essencial ter o conhecimento da origem genética da resistência assim como entender quais e como os genes influenciam e até comandam esse fenômeno nas bactérias (BELLO; DINGLE, 2018).

Fármacos Antimicrobianos

A classificação dos antimicrobianos pode ser feita a partir dos seus mecanismos de ação, os quais de forma geral, resultam na interrupção da síntese de componentes da célula bacteriana ou na alteração de processos metabólicos exclusivos das bactérias (Figura 1) (BECKER, 2013).

Figura 1. Mecanismos de ação dos fármacos antimicrobianos. **Fonte:** (Anvisa, 2007).



Os antibióticos que atuam na parede bacteriana como os β-lactâmicos e os glicopeptídeos, agem inibindo a síntese da parede celular (BECKER, 2013). Os β-lactâmicos inibem esse processo por meio da sua ligação às PBP's (do inglês *Penicillin-Binding Proteins*). Esses antibióticos são representados pelas penicilinas, cefalosporinas, cefamicinas, monobactâmico e carbapenêmicos (ANDRADE; DARINI, 2017). Destes antimicrobianos, as cefalosporinas são os mais usados clinicamente e estão subdivididas em cefalosporinas de primeira,

segunda, terceira e quarta gerações de acordo com os seus espectros de ação frente às bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010). Já os glicopeptídeos, diferentemente dos β -lactâmicos, ligam-se à porção D-alanil-D-alanina dos peptídeos precursores do peptídeoglicano. Esta união impossibilita a ligação da subunidade D-alanina com a PBP, inibindo a síntese da parede celular (KAPOOR; SAIGAL; ELONGAVAN, 2017). Exemplos de glicopeptídeos são a vancomicina e a teicoplanina (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

Os antibióticos que inibem a biossíntese das proteínas podem atuar na subunidade 30S ou na subunidade 50S dos ribossomos bacterianos. No caso das tetraciclina, a ligação em 30S impede a ligação do RNA transportador, impossibilitando a adição de novos aminoácidos no processo de síntese das proteínas e fazendo com que essas não sejam liberadas. Já no caso dos aminoglicosídeos, a ligação em 30S impede o movimento do ribossomo ao longo do mRNA interrompendo a síntese das proteínas. Os macrolídeos agem na subunidade 50S dos ribossomos bacterianos impedindo também a produção das proteínas bacterianas (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

As fluoroquinolonas (FQ) são antibióticos que inibem a replicação do DNA por impedirem a ação da girase e da topoisomerase, enzimas essenciais nesse processo (KAPOOR; SAIGAL; ELONGAVAN, 2017). As fluoroquinolonas possuem um amplo espectro de atividade sendo muito utilizadas em casos de infecções do trato urinário e contra bactérias resistentes aos antimicrobianos usuais pela associação com outros antimicrobianos (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

As sulfonamidas atuam bloqueando diferentes etapas do metabolismo do ácido fólico, composto utilizado pelas bactérias na síntese de DNA e RNA. Um exemplo de sulfa é o sulfametoxazol em associação com o trimetoprim, sendo utilizado para o tratamento de infecções do trato urinário assim como contra bacilos Gram-negativos não fermentadores (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

1.1 Resistência bacteriana

Segundo o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC do inglês *Centers for Disease Control and Prevention*), a resistência bacteriana acontece quando as bactérias desenvolvem a habilidade de se defenderem dos medicamentos destinados a eliminá-las, ou seja, dos antibióticos. Quando a bactéria se torna ou já possui resistência, os antibióticos não conseguem desempenhar suas funções e a bactéria se multiplica.

A resistência antimicrobiana foi reconhecida pela primeira vez em 1945 por Alexander Fleming. A sua advertência de que o uso incorreto dos antimicrobianos poderia ocasionar na seleção de bactérias resistentes, é utilizada até hoje. Atualmente, a AMR é reconhecida como um desafio e uma grande ameaça com repercussões na sociedade, na economia e na saúde pública global (HENGEL; MARIN, 2019). Uma noção sobre a magnitude desse problema é que bactérias resistentes a múltiplos fármacos estavam somente associadas ao ambiente hospitalar, mas agora podem ser encontradas em ambientes comunitários. Isso indica que há reservatórios de bactérias resistentes também fora dos hospitais (MUNITA; ARIAS, 2016).

As bactérias possuem uma imensa plasticidade genética a qual é uma característica evolutiva que resulta na sobrevivência do mais apto. Essa plasticidade pode ser vista a partir de eventos mutacionais, aquisição de material genético ou alteração da expressão gênica; mecanismos estes associados com a resistência a praticamente todos os antibióticos atualmente disponíveis na prática clínica (MUNITA; ARIAS, 2016).

Para combater esse problema, abordagens múltiplas são adotadas por várias organizações nacionais e internacionais que reconhecem a resistência antimicrobiana como prioridade máxima, incluindo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o Centro Europeu de Prevenção de Doenças (ECDC), os Institutos Nacionais de Saúde (NIH), e os Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC). Presentes nos estudos desenvolvidos por elas estão os genes de resistência, de forma que a compreensão de quais são e como estes agem nesse contexto possa ser utilizada no desenvolvimento de ensaios diagnósticos rápidos e de novos fármacos antimicrobianos (BELLO; DINGLE, 2018).

1.2 Tipos de resistência bacteriana

1.2.1 Divisão básica: resistência intrínseca e adquirida

A resistência intrínseca acontece quando a bactéria é naturalmente resistente a um ou mais antimicrobianos. Um exemplo ocorre devido à grande parte dos antimicrobianos serem derivados de moléculas presentes no meio ambiente, fazendo com que as bactérias que entraram em contato com essas substâncias desenvolvessem mecanismos de combate a elas com a finalidade de sobreviverem. Dessa forma, essas bactérias são caracterizadas por possuírem uma resistência intrínseca a um ou mais antimicrobianos decorrente dessa interação com o ambiente (MUNITA; ARIAS, 2016).

No entanto, as bactérias intrinsecamente resistentes não são o destaque quando se fala de resistência antimicrobiana em contextos clínicos. Foco maior é dado às bactérias com resistência adquirida, em que uma população bacteriana que era sensível ao antimicrobiano passa a apresentar resistência a ele. A resistência adquirida é resultado de mutações em genes cromossômicos ou da aquisição de elementos genéticos externos obtidos de variadas maneiras, entre elas, das bactérias intrinsecamente resistentes presentes no meio ambiente (MUNITA; ARIAS, 2016).

1.2.2 Bases genéticas de resistência bacteriana

As bactérias são resistentes aos antibióticos por duas grandes estratégias genéticas. A primeira delas são as mutações em genes relacionados com o mecanismo de ação dos fármacos. A segunda envolve a transferência horizontal de genes (THG) que resulta na aquisição de DNA externo (MUNITA; ARIAS, 2016).

- **Mutação**

Nessa estratégia, uma parte das bactérias de uma população suscetível desenvolve mutações em genes que interferem na ação do antimicrobiano, fazendo com que essas bactérias continuem vivas mesmo na presença do antibiótico. As outras bactérias dessa população que não desenvolveram mutações, são eliminadas pelo antibiótico e os microrganismos resistentes persistem (MUNITA; ARIAS, 2016).

Diversos fatores podem levar às mutações espontâneas, sendo o principal causado pelas enzimas que incorporam nucleotídeos errados durante a replicação do DNA. Não existindo algum mecanismo de reparo a esses erros, a mutação persiste e a resistência acontece (MEDELLÍN, 2011). De forma geral, as mutações que levam à resistência alteram a ação dos antibióticos por meio de um ou de mais de um desses mecanismos: diminuição da afinidade pelo fármaco por modificações do alvo antimicrobiano, ativação de bombas de efluxo para extrusão do fármaco, diminuição da captação do antibiótico, ou alterações em vias metabólicas. É possível notar, assim, que a resistência por mutação envolve diversas possibilidades as quais variam em complexidade (MUNITA; ARIAS, 2016).

- **Transferência horizontal de genes**

A transferência horizontal de genes (THG) é a estratégia genética mais frequentemente utilizada pelas bactérias para o desenvolvimento da resistência antimicrobiana, sendo um importante impulsionador da evolução bacteriana. A partir dos microrganismos intrinsicamente resistentes pelas interações com o meio ambiente, acontece a aquisição de genes de resistência em bactérias relevantes clinicamente. Dessa maneira, a troca genética em questão dissemina a resistência, contemplando a maioria dos antibióticos frequentemente utilizados (MUNITA; ARIAS, 2016).

Os plasmídeos são um exemplo de elemento genético móvel (EGM) e podem conter uma variedade de genes de resistência. Podem ainda formar co-integrados com transposons que incorporam um ou mais genes de resistência. Os

elementos cromossômicos também podem se transferir por conta própria ou serem mobilizados por plasmídeos transferíveis (RICE, 2012).

Um exemplo prático da transferência horizontal de genes e seu impacto é o caso dos β -lactâmicos. Seu uso indiscriminado para tratar infecções por bactérias Gram-negativas causa a seleção de bactérias resistentes produtoras de β -lactamases. Embora essas enzimas possam ser originadas cromossomicamente, boa parte vem de EGM's, como plasmídeos e transposons, permitindo a distribuição desses genes e a disseminação das β -lactamases entre diferentes espécies bacterianas (BELLO; DINGLE, 2018).

A THG e suas formas de transmissão em bactérias será aprofundada em tópico posterior.

1.2.3 Mecanismos de resistência bacteriana

Para compreender como a bactéria pode desenvolver a resistência aos antibióticos é importante entender os mecanismos bioquímicos e genéticos envolvidos nesse processo (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010). Além disso, esse conhecimento é essencial na elaboração de estratégias para reduzir o surgimento e disseminação da resistência e na pesquisa de novas táticas terapêuticas contra as bactérias resistentes (MUNITA; ARIAS, 2016).

Para se tornar resistente a um antibiótico, a célula bacteriana pode usar diversos mecanismos e vias. Entretanto, é possível observar uma preferência por alguns meios em detrimento de outros a depender do tipo de bactéria e antimicrobiano. É o caso dos β -lactâmicos, em que nas bactérias Gram-negativas o mecanismo predominante é pela produção de β -lactamases, enquanto nas Gram-positivas as modificações do alvo do fármaco (as proteínas de ligação à penicilina) mostram-se o meio prevalente (MUNITA; ARIAS, 2016).

Os quatro mecanismos bacterianos mais comuns que resultam em resistência antimicrobiana são: produção de inativadores enzimáticos, modificação do alvo do antibiótico, produção de bombas de efluxo, e diminuição da permeabilidade da membrana da célula. Cada um desses possui sua origem genética seja pela mutação de genes cromossômicos ou pela aquisição de genes de outros microrganismos no ambiente (BELLO; DINGLE, 2018).

1.2.3.1 Mecanismo enzimático

As grandes representantes do mecanismo enzimático são as β -lactamases. Essas enzimas degradam os antibióticos β -lactâmicos pela catálise hidrolítica do anel β -lactâmico, fazendo com que o fármaco perca sua ação. Dessa forma, como a bactéria continua a produzir normalmente a parede celular, há a falha terapêutica (ANDRADE; DARINI, 2017).

Existem diversos tipos de β -lactamases e por isso elas têm sido agrupadas de acordo as classificações de Ambler e de Bush, Jacoby e Medeiros. Na classificação de Ambler, as β -lactamases foram divididas em classes moleculares denominadas de A, B, C e D, levando em conta a estrutura molecular das enzimas. Essa é a proposta mais utilizada e conhecida, sendo assim, a que será abordada nessa revisão. As enzimas das classes A, C e D são serina β -lactamases por possuírem uma serina no centro ativo delas; já as de classe B são metalo- β -lactamases (M β L) por precisarem de um metal (geralmente zinco) como cofator enzimático (ANDRADE; DARINI, 2017). Na classificação de Bush, Jacoby e Medeiros as β -lactamases são divididas em 4 grupos com subdivisões de acordo com os seus substratos e com o perfil de inibição dos inibidores dessas enzimas (ANDRADE; DARINI, 2017).

Geneticamente, os genes que codificam as β -lactamases são representados em minúsculo e em itálico por “*bla*” com a denominação fenotípica da enzima em seguida. Exemplificando, os genes das enzimas OXA, SHV e TEM são denominados como *bla*_{OXA}, *bla*_{SHV} e *bla*_{TEM}. Algumas enzimas não seguem sempre essa nomenclatura. É o caso de algumas AmpCs que possuem seus genes chamados de genes *AmpCs* como *cmv*, *lat*, *fox*, *mox*, *aac*, entre outros (ANDRADE; DARINI, 2017). As principais características de cada grupo de Ambler serão abordadas abaixo.

a) β -lactamases de classe A

Na classe A estão as β -lactamases penicilinases, ESBLs (β -lactamases de espectro estendido) e carbapenemases. Se comparadas, essas enzimas

possuem atividades catalíticas e características diferentes (MUNITA; ARIAS, 2016).

As ESBLs possuem um histórico interessante, o qual começou na década de 80 quando as cefalosporinas de 3° geração foram adotadas como tratamento para as infecções por bactérias produtoras de cefalosporinases (β -lactamases de espectro restrito: TEM-1, TEM-2 e SHV-1) que apresentavam resistência às cefalosporinas de 1° e 2° gerações. Entretanto, com o uso abusivo desses fármacos, mutações nos genes *bla*_{TEM-1}, *bla*_{TEM-2} e *bla*_{SHV-1} dessas cefalosporinases ocorreram, gerando variações nesses genes e conseqüentemente modificações enzimáticas que conferiram espectro de hidrólise estendido às cefalosporinas de 3° e 4° gerações (ANDRADE; DARINI, 2017). Dessa forma, as ESBLs são derivadas dessas enzimas e com os eventos mutacionais, mais de 600 variantes já foram descritas. Um exemplo dessas variações são as ESBLs CTX-M que constituem um grupo complexo e heterogêneo com ampla distribuição mundial (BELLO; DINGLE, 2018).

Em geral, as bactérias com ESBLs são capazes de hidrolisar todas as penicilinas, todas as cefalosporinas e o monobactâmico aztreonam. Sendo assim, sensíveis às cefamicinas e carbapenêmicos (ANDRADE; DARINI, 2017). A maioria das ESBLs podem ser neutralizadas por inibidores de β -lactamase, como clavulanato, sulbactam e tazobactam, mas já existem variantes TEM e SHV resistentes a eles (BELLO; DINGLE, 2018).

O uso errôneo dos carbapenêmicos, assim como descrito para as cefalosporinas, levou à produção das β -lactamases contra eles, sendo denominadas de carbapenemases (ANDRADE; DARINI, 2017). As principais carbapenemases da Classe A incluem a KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*), SME (*Serratia marcescens enzyme*), NMC (*not metalloenzyme carbapenemase*), IMI (*imipenem-hydrolyzing β -lactamase*), GES (*Guiana extended-spectrum β -lactamase*) (BELLO; DINGLE, 2018). A KPC é a serina carbapenemase com maior distribuição mundial sendo associada com infecções graves e alta mortalidade. Apesar do nome, as carbapenemases podem hidrolisar praticamente todos os β -lactâmicos e não só os carbapenêmicos (ANDRADE; DARINI, 2017).

b) β -lactamases de classe B

Fazem parte da classe B as carbapenemases chamadas de metalo- β -lactamases (KAPOOR; SAIGAL; ELONGAVAN, 2017). O representante desse grupo é conhecido por NDM-1 (New Delhi metalo- β -lactamase-1) devido ao seu primeiro achado ter sido na Índia em 2009 em paciente hospitalizado com isolados de *E.coli* e *K. pneumoniae* produtores dessa enzima (BELLO; DINGLE, 2018). A partir deste caso, houve rápida disseminação em todo o mundo (ANDRADE; DARINI, 2017).

Outras importantes metalo- β -lactamases são VIM (*Verona integron-encoded metallo- β -lactamase*), IMP (*imipenemase*), GIM (*Germany imipenemase*) e SIM (*Seoul imipenemase*) (BELLO; DINGLE, 2018). As metalo- β -lactamases degradam todos os β -lactâmicos, exceto o aztreonam, mas são inibidos pelos inibidores da β -lactamase, como ácido clavulânico, tazobactam, avibactam e vaborbactam (BELLO; DINGLE, 2018).

c) β -lactamases de classe C

Pertencem a este grupo as cefalosporinases AmpC incluindo CMY (*cephamycin*), MIR (*Miriam hospital*), MOX (*moxalactam*), LAT (*latamoxef*), FOX (*cefoxitin*), DHA (*Dhahran hospital*), ACT (*AmpC type*), ACC (*Ambler class C*), e CFE (*Citrobacter freundii*) (BELLO; DINGLE, 2018). Essa classe degrada as cefamicinas, as cefalosporinas de 1° e 2° gerações (ANDRADE; DARINI, 2017) e não são inibidas pelos inibidores de β -lactamases (KAPOOR; SAIGAL; ELONGAVAN, 2017).

As AmpCs são produzidas por boa parte das bactérias Gram-negativas, principalmente por uma origem cromossômica. As bactérias do grupo “CESP” (*Serratia marcescens*, *Providencia sp.*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter spp.*, *Hafnia alvei*, e *Morganella morganii*) possuem esse tipo de AmpC cromossomal e intrínseca. A expressão de AmpC por plasmídeo é encontrada em bactérias como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis* e está associada com presença de outras enzimas e mecanismos de resistência.

d) β -lactamases de classe D

As β -lactamases de classe D são também conhecidas como oxacilinas por hidrolisarem a oxacilina (OXA). Essas enzimas são eficazes contra a penicilina, cloxacilina, oxacilina e meticilina (KAPOOR; SAIGAL; ELONGAVAN, 2017); enquanto os inibidores de β -lactamases geralmente têm menor atividade contra as enzimas OXA. Variantes recentes de oxacilinas mostraram ser resistentes também às cefalosporinas e carbapenêmicos (BELLO; DINGLE, 2018).

Encontradas principalmente em *Enterobacteriales*, *P. aeruginosa* e *Acinetobacter spp.*, as enzimas da classe D apresentam um fenótipo ESBL (incluem membros do grupo OXA-10: OXA-11, OXA-13, OXA-14, OXA-16, OXA-17, OXA-19 e OXA-28) ou de carbapenemase (OXA-23, OXA-40, OXA-48, OXA-51, OXA-58, e OXA-143) a depender do gene *bla_{OXA}* expresso. Os genes *bla_{OXA}* podem ter origem plasmidial ou cromossômica e geralmente são acompanhados de outros genes de resistência (BELLO; DINGLE, 2018).

Das mais de 140 variantes de oxacilinas, a OXA-48 presente em *Enterobacteriales* destaca-se por ser transportado por elementos genéticos móveis contribuindo para a sua distribuição generalizada em todo o mundo (BELLO; DINGLE, 2018).

1.2.3.2 Modificação do alvo do antibiótico

As modificações no alvo do antibiótico afetam muitas classes de antimicrobianos e podem acontecer de algumas maneiras como por mutações pontuais nos genes que codificam o alvo, alterações enzimáticas do local de ligação e substituição ou desvio do alvo. Em todas essas formas o resultado é a diminuição da afinidade do antibiótico pelo seu sítio de ação (MUNITA; ARIAS, 2016).

As modificações nas PBPs são uma forma de causar resistência ao β -lactâmicos, tendo em vista que essas proteínas são o alvo desses fármacos. Os genes relacionados às PBPs alteradas são principalmente de origem cromossômica mas já foram encontrados em plasmídeos em membros das *Enterobacteriales* (BELLO; DINGLE, 2018).

Outro exemplo de modificação de alvo acontece na resistência às fluoroquinolonas em que o gene responsável por essa resistência codifica uma proteína capaz de se ligar à DNA girase e topoisomerase, protegendo o sítio de ação das fluoroquinolonas. Esse mecanismo foi descrito pela primeira vez em 1998, mas já se encontra disseminado principalmente entre as bactérias Gram-negativas. Além disso, a modificação de alvo também está presente na resistência a esse fármaco por mutações cromossômicas diretas da DNA girase e topoisomerase IV (BELLO; DINGLE, 2018).

1.2.3.3 Produção de bombas de efluxo

As bombas de efluxo são sistemas bacterianos capazes de retirar o antimicrobiano da célula, resultando em resistência. Esses sistemas podem ter especificidade por um determinado substrato (como os genes de bombas de efluxo contra a tetraciclina) ou podem funcionar para mais de um substrato (como nas bactérias multirresistentes). Os genes que codificam as bombas de efluxo podem ser tanto cromossomais como podem ser encontrados em elementos genéticos móveis e são responsáveis pela resistência a vários antimicrobianos como as fluoroquinolonas, polimixinas e β -lactâmicos (MUNITA; ARIAS, 2016).

Existem diferentes famílias de bombas de efluxo, uma delas é a RND (do inglês *Resistance Nodulation Division*), a qual está relacionada com a transferência por plasmídeos do complexo AcrAB-TolC. Esse sistema muito estudado em bactérias Gram-negativas é formado por 2 proteínas (AcrA e AcrB) e um canal externo (TolC) que juntos podem bombear diversos fármacos. Outro exemplo de bomba de efluxo dessa mesma família é a MtrCDE a qual está envolvida na resistência aos β -lactâmicos (BELLO; DINGLE, 2018).

1.2.3.4 Diminuição da permeabilidade da membrana da célula

Neste mecanismo, as bactérias impedem que o antibiótico atinja seu alvo intracelular, limitando o influxo dos fármacos (MUNITA; ARIAS, 2016). Os grandes responsáveis por isso são as porinas bacterianas, complexos proteicos anfipáticos presentes na membrana externa das bactérias Gram-negativas. Naturalmente as

porinas têm a função de permitir o acesso de moléculas hidrofílicas para o interior da célula. Entretanto, para impedir esse acesso, as bactérias adquiriram mutações nas porinas fazendo com que estas percam sua função (BELLO; DINGLE, 2018). O resultado é que moléculas hidrofílicas como β -lactâmicos, tetraciclinas e algumas fluoroquinolonas não conseguem adentrar na célula bacteriana, perdendo seu efeito antimicrobiano (MUNITA; ARIAS, 2016).

1.3 Genes de resistência bacteriana

Os estudos dos genes de resistência bacteriana têm sido bastante realizados tendo em vista a preocupante disseminação mundial destes determinantes. (BELLO; DINGLE, 2018). É da expressão dos genes de resistência, seja constitutivamente ou a partir de um sinal externo, que os seus produtos conferem o fenótipo de resistência aos antimicrobianos (MUNITA; ARIAS, 2016).

A identificação desses genes em bactérias apresenta-se como o padrão ouro para a vigilância da resistência antimicrobiana fornecendo descobertas importantes para a compreensão completa das bactérias resistentes. O sequenciamento do genoma das bactérias já é uma realidade na investigação de surtos em hospitais de referência em países desenvolvidos. Sendo assim um importante subsídio em todas as etapas de controle da resistência, desde a identificação da bactéria, e seus mecanismos de resistência até o desenvolvimento de estratégias de controle e prevenção, englobando o contexto total da resistência bacteriana (KAHN, 2017).

1.4 Transmissão dos genes de resistência

Para definir com que facilidade os genes podem ser transmitidos é importante conhecer a origem desses genes, seja cromossomal (mutação) ou por

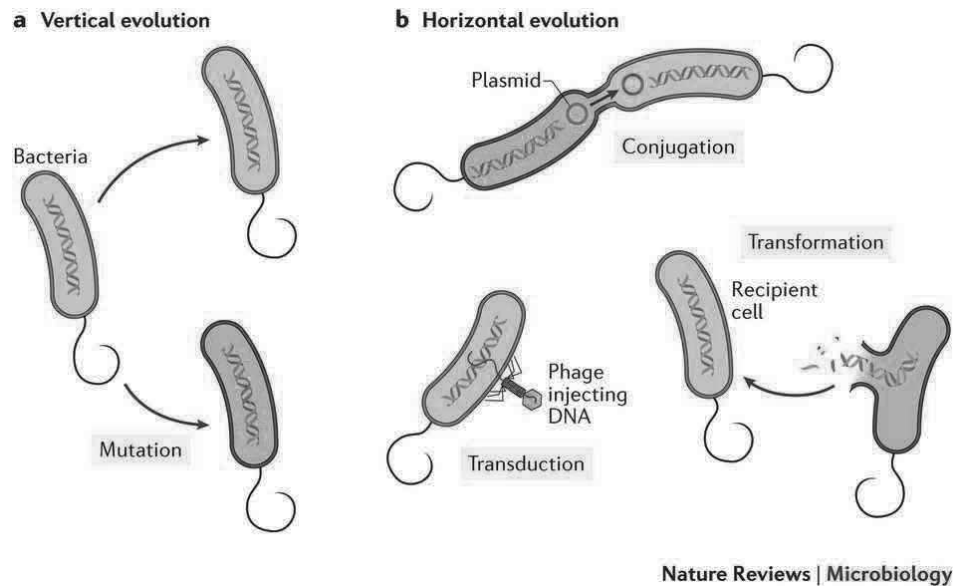
plasmídeos e transposons (elementos genéticos móveis) (Figura 2) (BELLO; DINGLE, 2018).

As bactérias transmitem e adquirem o material genético externo por meio de três mecanismos principais: a transformação, a transdução e a conjugação. Na transformação uma bactéria adquire o DNA presente no ambiente, liberado por bactérias mortas. Essa estratégia é a mais simples forma de transferência genética horizontal, mas não é o destaque nas bactérias clinicamente relevantes (MUNITA; ARIAS, 2016). A transdução baseia-se na transmissão de DNA de uma bactéria para a outra por meio de bacteriófagos (MEDELLÍN, 2011).

Entre esses mecanismos, a conjugação é o mais importante na determinação da resistência aos antibióticos e está frequentemente envolvida no ambiente hospitalar. Na conjugação há a presença dos elementos genéticos móveis como veículos de transmissão de determinantes genéticos (MUNITA; ARIAS, 2016), permitindo a transferência de DNA entre duas bactérias vivas sem que a bactéria doadora perca o que foi doado (por ser durante a replicação do DNA, o material doado é uma cópia). Assim, quando esse processo envolve plasmídeos, no final haverá duas bactérias com o mesmo plasmídeo e as mesmas características de resistência aos antimicrobianos (MEDELLÍN, 2011). Os elementos genéticos móveis mais conhecidos e relevantes são os plasmídeos e transposons, os quais desempenham um papel significativo no desenvolvimento e disseminação da resistência entre as bactérias de importância médica (MUNITA; ARIAS, 2016).

Outro elemento genético móvel eficiente na disseminação dos genes de resistência são os integrons. Estes são sistemas que podem conter um ou mais genes de resistência inseridos por meio de eventos de recombinação, sendo uma estratégia de interação genética importante para a evolução bacteriana (MUNITA; ARIAS, 2016).

Figura 2. Formas de aquisição e transmissão de resistência bacteriana: evolução vertical (mutação) e evolução horizontal (conjugação, transformação, transdução). **Fonte:** (SOMMER et al., 2017).



1.5 Classificação de bactérias por risco de resistência

A classificação das bactérias utilizada nesta revisão tem por base a lista de bactérias de prioridade global resistentes a antibióticos desenvolvida pela Organização Mundial da Saúde.

A Organização Mundial da Saúde desenvolveu uma lista de bactérias de prioridade global resistentes a antibióticos direcionadas a ajudar na pesquisa e desenvolvimento (P&D) de novos e eficazes tratamentos com antibióticos. Até então, a seleção de patógenos para as atividades de P&D tinha sido orientada por empresas farmacêuticas de acordo com parâmetros como necessidade médica percebida/não atendida, pressão dos investidores, tamanho do mercado, potencial de descoberta científica e disponibilidade de tecnologias específicas. Aliado a isso, listas anteriores, emitidas pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) não incluíam critérios específicos para a P&D (TACCONELLI; MAGRINI, 2017).

Para a classificação da OMS foram identificadas as bactérias resistentes mais importantes mundialmente em que há uma necessidade urgente de novos tratamentos. Um grupo de 70 especialistas de diferentes contextos (doenças

infecciosas, microbiologia clínica, P&D, saúde pública, medicina pediátrica e intensiva) e origem geográfica participaram do processo de avaliação de critérios e evidências disponíveis sobre cada bactéria resistente a antibióticos. A lista foi analisada pelo grupo coordenador e pelo conselho consultivo em colaboração com a OMS durante uma reunião realizada em Genebra de 25 a 27 de janeiro de 2017. O conselho consultivo foi composto por especialistas no campo da resistência antimicrobiana. Os especialistas agruparam os patógenos de acordo com a espécie e o tipo de resistência e depois estratificaram os resultados em três níveis de prioridade: crítico, alto e médio (TACCONELLI; MAGRINI, 2017).

1.5.1 Bactérias de risco crítico

De acordo com a lista de patógenos prioritários da Organização Mundial da Saúde, as bactérias que estão em risco crítico são: *Acinetobacter baumannii* resistente aos carbapenêmicos; *Pseudomonas aeruginosa* resistente aos carbapenêmicos; *Enterobacteriales* (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Proteus spp.*, e *Providencia spp.*, *Morganella spp.*) resistentes aos carbapenêmicos e resistentes às cefalosporinas de 3^o geração (TACCONELLI; MAGRINI, 2017).

1.5.2 Bactérias de alta prioridade

De acordo com a lista de patógenos prioritários da Organização Mundial da Saúde, as bactérias que estão em risco alto são: *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina; *Staphylococcus* resistente a meticilina e resistente/resistência intermediária à vancomicina; *Helicobacter pylori* resistente a claritromicina, *Campylobacter* resistente à fluoroquinolona, *Salmonella spp.* resistente à fluoroquinolona e *Neisseria gonorrhoeae* resistente às cefalosporinas de 3^o geração e resistente a fluoroquinolona (TACCONELLI ; MAGRINI , 2017).

1.5.3 Bactérias de média prioridade

De acordo com a lista de patógenos prioritários da Organização Mundial da Saúde, as bactérias que estão em risco médio são: *Streptococcus pneumoniae* não susceptível à penicilina; *Haemophilus influenzae* resistente à ampicilina e *Shigella spp.* resistente à fluoroquinolona (TACCONELLI; MAGRINI, 2017).

2 Objetivos

2.1 Objetivos Gerais

Realizar revisão bibliográfica por meio de bases de dados científicos sobre os principais genes de resistência bacterianos de importância médica.

2.2 Objetivos específicos

- Revisar sobre os principais genes de resistência em bactérias de risco crítico, bactérias de alta prioridade e bactérias de média prioridade.

3 Metodologia

Para a construção desta revisão de literatura sobre o tema “Genes de resistência bacteriana: o estado da arte”, foram pesquisadas publicações por meio das bases de dados científicas *PubMed*, *Science Direct* e *Scientific Electronic Library Online* (SciELO) entre os meses de janeiro e junho de 2019. Foram considerados artigos científicos em português, inglês e espanhol, sendo utilizados os que foram publicados entre os anos de 2009 a 2019, com a finalidade de desenvolver uma revisão de dados mais atualizados. A pesquisa foi baseada na lista de bactérias resistentes mais importantes mundialmente que necessitam de novos tratamentos, elaborada pela Organização Mundial da Saúde.

As palavras chaves e operadores lógicos utilizados na busca em português foram: genes de resistência bacteriana, resistência bacteriana, *Acinetobacter baumannii* e resistência e carbapenêmicos, *Pseudomonas aeruginosa* e resistência e carbapenêmicos, *Enterobacteriaceae* resistente a carbapenêmicos, *Enterobacteriales* e resistência, MRSA e resistência, *Salmonella spp.* e resistência e fluoroquinolona, *Helicobacter pylori* e resistência e claritromicina, *Neisseria gonorrhoeae* e resistência e cefalosporinas e fluoroquinolona, *Enterococcus faecium* e resistência e vancomicina, *Campylobacter spp.* e resistência e fluoroquinolona, *Streptococcus pneumoniae* e resistência e penicilina, *Haemophilus influenzae* e resistência e ampicilina, *Shigella spp.* e resistência e fluoroquinolona.

Para a pesquisa em inglês foram usadas as seguintes palavras chaves e operadores lógicos: *“bacterial resistance genes”, “bacterial resistance”, “Acinetobacter baumannii and resistance and carbapenem”, “Pseudomonas aeruginosa and resistance and carbapenem”, “carbapenem resistant Enterobacteriaceae”, “Enterobacteriales and resistance”, “MRSA and resistance”, “Salmonella spp. and resistance and fluoroquinolone”, “Helicobacter pylori and resistance and clarithromycin”, “Neisseria gonorrhoeae and resistance and cephalosporin and fluoroquinolone”, “Enterococcus faecium and resistance and vancomycin”, “Campylobacter spp. and resistance and fluoroquinolone”, “Streptococcus pneumoniae and resistance and penicilina”, “Haemophilus influenzae and resistance and ampicillin”, “Shigella spp. and resistance and fluoroquinolone”.*

A escolha dos artigos foi feita por meio de análise sequencial destes, sendo observados primeiramente os títulos e anos de publicação. Havendo concordância com o que se propõe nesta revisão, a leitura dos resumos foi realizada. Estando de acordo com a proposta deste trabalho a partir de abordagem molecular da resistência de determinada bactéria, o artigo foi acessado na íntegra e as informações de interesse foram extraídas. Com a leitura dos trabalhos selecionados, as informações foram organizadas e reunidas dando origem a esta revisão. Os estudos que envolviam genes de resistência bacteriana, mas não estavam relacionados com as bactérias de importância médica e este contexto, foram excluídos.

4 Resultados e Discussão

4.1 Principais genes de bactérias de risco crítico

4.1.1 *Acinetobacter baumannii* – resistente à carbapenêmicos

Acinetobacter baumannii é um coco bacilo Gram-negativo, não fermentador de glicose e oxidase negativo bastante comum no ambiente hospitalar especialmente em unidades de terapia intensiva (UTI) pela sua capacidade de resistir a condições adversas e por apresentar elevada resistência antimicrobiana natural e adquirida (NOWAK; PALUCHOWSKA, 2016). Essa bactéria pode causar casos graves de septicemia, meningite e pneumonia (GHOLAMI et al., 2018).

O risco crítico associado a esta bactéria envolve uma preocupação pelo aumento acentuado dos casos de *A. baumannii* resistente aos carbapenêmicos e da propagação dessas cepas mundialmente. Atitudes de vigilância, controle e prevenção precisam ser tomadas pela consideração dessa realidade como uma ameaça à saúde e à segurança do paciente pela redução das opções de tratamento das infecções (NOWAK; PALUCHOWSKA, 2016).

A resistência aos carbapenêmicos por *Acinetobacter baumannii* ocorre por um ou mais de um desses mecanismos: hidrólise do fármaco por metalo- β -lactamases e oxacilinasas, bombas de efluxo, modificações do sítio alvo e diminuição da permeabilidade da membrana externa (GHOLAMI et al., 2018). Destes, o mecanismo mais comum é o enzimático pelas β -lactamases de classe D e B de Ambler. Os genes de resistência em *A. baumannii* podem ser encontrados no cromossomo e nos plasmídeos, sendo esses últimos, aliados com transposons e integrons, responsáveis pela disseminação da resistência a antimicrobianos em cepas multirresistentes altamente capazes de obtê-los (GHOLAMI et al., 2018).

O mecanismo de diminuição da permeabilidade da membrana baseia-se no fato dos carbapenêmicos precisarem das porinas para serem internalizados na célula bacteriana. Com a expressão reduzida de porinas as bactérias tornam-se resistentes a esse fármaco. O gene envolvido nisso codifica o tipo principal de porina associada aos carbapenêmicos em *A. baumannii* e é denominado de *CarO*.

No mecanismo de bombas de efluxo está envolvida a bomba *AdeABC*, muito associada com resistência a carbapenêmicos. A superexpressão dela é codificada pelos genes *AdeS* e *AdeR*, ocasionando na extrusão do antimicrobiano. Outro artifício de resistência não enzimático possivelmente presente em *A. baumannii* são as alterações nas proteínas de ligação à penicilina. Entretanto, maiores estudos precisam ser desenvolvidos relacionando *A. baumannii* a este mecanismo (NOWAK; PALUCHOWSKA, 2016).

Entre as β -lactamases envolvidas no mecanismo enzimático de resistência aos carbapenêmicos em *A. baumannii* (quadro 1), as oxacilinases de classe D são as maiores causadoras da resistência (NOWAK; PALUCHOWSKA, 2016).

β-lactamases	Classe A	KPC (<i>bla</i> _{KPC})
		GES (<i>bla</i> _{GES})
	Classe B	IMP (<i>bla</i> _{IMP})
		VIM (<i>bla</i> _{VIM})
		SIM (<i>bla</i> _{SIM})
		NDM (<i>bla</i> _{NDM})
	Classe D	OXA-51
		OXA-23
		OXA-40/24
		OXA-58
		OXA-143
		OXA-48

Quadro 1. β -lactamases clinicamente relevantes que ocorrem em *A. baumannii*. **Quadro adaptado de Pawel Nowak, 2016.**

As oxacilinases encontradas em *Acinetobacter baumannii* incluem OXA-23, OXA-24, OXA-58 e enzimas relacionadas a OXA-51, com os seus respectivos genes, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, e *bla*_{OXA-58} (GHOLAMI et al., 2018). A OXA-51 por ser considerada intrínseca em *A. baumannii* é encontrada, por seu gene *bla*_{OXA-51}, em quase todos os isolados (BELLO; DINGLE, 2018).

O segundo tipo de β -lactamase comum em *A. baumannii* são as metalo- β -lactamases (M β LS) pertencentes à classe B de Ambler. Os genes que codificam essas enzimas e que já foram identificados na bactéria em questão incluem *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{SIM} e *bla*_{NDM} (NOWAK; PALUCHOWSKA, 2016). Algumas enzimas da classe A de Ambler também já foram identificadas em *A. baumannii* em menores quantidades, sendo *bla*_{GES} e *bla*_{KPC} os genes destas (GHOLAMI et al., 2018).

4.1.2 *Pseudomonas aeruginosa* – resistente à carbapenêmicos

Pseudomonas aeruginosa é outra bactéria causadora de infecções associadas ao ambiente hospitalar, possuindo além determinantes intrínsecos, elevada capacidade de adquirir determinantes de resistências transferíveis o que culmina no desenvolvimento de resistência a múltiplos antimicrobianos (LISTER; WOLTER; HANSON, 2009). Essa bactéria é responsável por doenças como pneumonia, infecções por bacteremia, infecções de trato urinário, pele e tecidos moles (G et al., 2012); sendo motivo de preocupação maior em pacientes que sofrem de doenças respiratórias crônicas e imunossupressão em unidades de terapia intensiva (ESTEPA et al., 2016).

Mecanismos enzimáticos e não enzimáticos medeiam a resistência a carbapenêmicos em *Pseudomonas aeruginosa* (G et al., 2012), sendo eles: alterações ou perda da porina OprD, superexpressão de bombas de efluxo, hiperprodução da β -lactamase cromossômica AmpC e produção de β -lactamases das classes A, B e D. Em *P. aeruginosa* os mecanismos intrínsecos como a porina OprD, a β -lactamase AmpC e bombas de efluxo desempenham papel importante e muitas vezes são mais frequentes que a presença das β -lactamases não intrínsecas (ESTEPA et al., 2016; G et al., 2012).

Entre as bombas de efluxo, o sistema MexAB-OprM está presente em *P. aeruginosa* em níveis elevados, sendo controlado por genes reguladores identificados como *mexR*, *nalD*, *nalC*. As mutações envolvidas com esses genes levam à superexpressão da bomba de efluxo (PAN et al., 2016). Outro mecanismo responsável pela resistência aos carbapenêmicos em *P. aeruginosa* é a presença da porina OprD, a qual é considerada substrato-específica para a difusão dos carbapenêmicos (ESTEPA et al., 2016). Os genes *oprD* estão envolvidos na

diminuição dessa porina na membrana externa, diminuindo a suscetibilidade de *P. aeruginosa* aos carbapenêmicos (LISTER; WOLTER; HANSON, 2009).

As metalo- β -lactamases de classe B (M β Ls), classe A (KPC) e classe D (OXA-198, OXA-40) são também encontradas em *P. aeruginosa* resistente aos carbapenêmicos (PAN et al., 2016). Das M β Ls as famílias IMP, VIM, SPM e GIM foram as principais identificadas (LISTER; WOLTER; HANSON, 2009). A maioria dos genes codificadores de M β Ls são transferíveis, fazendo com que essas β -lactamases tenham importância clínica (G et al., 2012). Esses genes de M β Ls relacionados a *P. aeruginosa* foram: *bla*_{IMP1}, *bla*_{IMP2}, *bla*_{VIM1}, *bla*_{SPM} e *bla*_{NDM}. (GHOLAMI et al., 2018). As carbapenemases de classe A do tipo KPC foi encontrada pela primeira vez em *P. aeruginosa* em 2007 (LISTER; WOLTER; HANSON, 2009), estando associada a genes presentes em elementos genéticos móveis (BELLO; DINGLE, 2018). Já a primeira identificação da β -lactamase tipo OXA em *P. aeruginosa* resistente aos carbapenêmicos foi relatada em 2008 com a sugestão de ser a mesma OXA-40 presente em *A. baumannii* (LISTER; WOLTER; HANSON, 2009).

4.1.3 Enterobacteriales – resistente à carbapenêmicos e produtora de ESBL

As enterobactérias são bactérias Gram-negativas geralmente residentes normais do intestino, mas que podem causar diversas infecções comunitárias e hospitalares (ROOD; LI, 2017). Essa família é composta por bactérias bastante heterogêneas que podem causar desde infecções no trato urinário, feridas e infecções gastrointestinais a septicemia (ALIZADEH et al., 2018). A transferência horizontal frequente de genes codificadores de β -lactamases em plasmídeos entre membros das enterobactérias resulta nos crescentes casos de resistência aos carbapenêmicos. Os mecanismos de resistência relacionados a esse fenômeno envolvem as β -lactamases carbapenemases e ESBL, alterações em bombas de efluxo ou porinas (POTTER; D'SOUZA; DANTAS, 2016).

As β -lactamases das classes A (KPC, SME, NMC, IMI, GES), B (NDM, VIM, IMP, GIM, SIM) e D (OXA) de Ambler são as mais comuns nas enterobactérias resistentes a carbapenêmicos. Já os tipos ESBL mais comuns são TEM, SHV e

CTX-M (BELLO; DINGLE, 2018). No quadro 2 estão listados os genes representativos dessas β -lactamases.

Genes das β -lactamases	Classe A	<i>bla</i> _{KPC}
		<i>bla</i> _{SME}
		<i>bla</i> _{NMC}
		<i>bla</i> _{IMI}
		<i>bla</i> _{GES}
		<i>bla</i> _{KPC}
	Classe A tipo ESBL	<i>bla</i> _{TEM}
		<i>bla</i> _{SHV}
		<i>bla</i> _{CTX-M}
	Classe B	<i>bla</i> _{NDM}
		<i>bla</i> _{VIM}
		<i>bla</i> _{IMP}
		<i>bla</i> _{GIM}
		<i>bla</i> _{SIM}
Classe D	<i>bla</i> _{OXA}	

Quadro 2. Genes das β -lactamases presentes em *Enterobacteriales*. **Quadro adaptado de (BELLO; DINGLE, 2018).**

Dentre as β -lactamases não ESBL se destacam a *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC), NDM e OXA-48. Entretanto, existe uma diversidade de outros tipos de β -lactamases devido a mutações pontuais que resultam em subtipos dos genes (ROOD; LI, 2017). Os genes *bla*_{KPC} transmitidos por elementos genéticos móveis podem ser identificados em enterobactérias como: *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *K. pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enterica*, e *S. marcescens* (BELLO; DINGLE, 2018).

A produção de β -lactamases de espectro estendido (ESBLs) é um mecanismo significativo na resistência aos antimicrobianos em enterobactérias. Por serem capazes de hidrolisar muitos dos antibióticos, as opções terapêuticas

em bactérias com ESBL são limitadas. As principais enterobactérias com ESBL são *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus sp.*, *Providencia sp.* e *Enterobacter sp.* (LAGO; FUENTEFRIA; FUENTEFRIA, 2010).

A modificação do alvo dos β -lactâmicos, ou seja, as PBP's é um dos mecanismos de resistência não enzimáticos em *Enterobacteriales*. Nele, as PBP's são alteradas para os tipos PBP2 e PBP3 a partir dos genes *ftsI* e *penA*, reduzindo a afinidade delas aos carbapenêmicos (BELLO; DINGLE, 2018). Esses genes têm origem cromossômica sendo intrinsecamente expressos na maioria das vezes, mas, já foi identificada a transmissão destes via plasmidial de *E.coli* a outros membros das enterobactérias (BELLO; DINGLE, 2018).

Outro mecanismo não enzimático, mas que está presente em sinergia com as enzimas são as bombas de efluxo as quais geralmente são codificadas em plasmídeos. A bomba de efluxo envolvida é da família RND (do inglês *Resistance Nodulation Division*) com os genes de resistência *acrAB*, *tolC*, *marA*, *yhiV* e *mdfA* relacionados (BELLO; DINGLE, 2018). O mecanismo de diminuição da permeabilidade de barreira também é identificado a partir de mutações nos genes de porinas *omp36*, *ompF*, *ompC*, *carO* (BELLO; DINGLE, 2018).

4.2 Principais genes de bactérias de alta prioridade

4.2.1 *Staphylococcus aureus* – MRSA

Staphylococcus aureus é uma bactéria Gram-positiva oportunista normalmente encontrada no organismo principalmente na pele e no trato respiratório superior (ALFATEMI et al., 2014). Entretanto, ao ter oportunidade de penetrar outros sítios, estas bactérias causam doenças que podem evoluir para casos de bacteremia, pneumonia, endocardite, choque tóxico e septicemia fatal (PEACOCK; PATERSON, 2015). *S. aureus* são comuns e importantes no ambiente hospitalar e comunitário (ALFATEMI et al., 2014).

Na era pré-antibiótica, pessoas acometidas por *S. aureus* facilmente chegavam ao óbito. Em 1942, apenas dois anos após a comercialização da penicilina, cepas de *S. aureus* resistentes a ela já podiam ser identificadas. O meio de resistência utilizado era a partir de uma penicilinase codificada pelo gene *blaZ* presente em plasmídeo. Como a taxa de resistência a esse fármaco aumentou

drasticamente, seu uso nesse contexto infeccioso não é realizado (PEACOCK; PATERSON, 2015).

Para suprir isso, na década de 1960 um fármaco resistente às penicilinas chamado de metilina foi criado. Infelizmente, pouco tempo depois de sua comercialização, cepas de *S. aureus* resistentes à metilina foram detectadas, sendo conhecidas por MRSA (do inglês Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*). Nesse caso, o mecanismo de resistência utilizado está associado com alterações nas PBP's, por aspectos quantitativos ou qualitativos de ligação ao fármaco (PEACOCK; PATERSON, 2015).

O gene envolvido na resistência a metilina em *S. aureus* é o *mecA*, o qual está inserido no cassete cromossômico estafilocócico SCCmec presente em um elemento genético móvel. O gene *mecA* codifica PBP's alteradas como a PBP2a e PBP2' as quais possuem menor afinidade à metilina. Dessa forma, o fármaco não atinge seu alvo e a bactéria pode produzir a parede celular normalmente, garantindo sua sobrevivência (PATERSON; HARRISON; HOLMES, 2014).

4.2.2 *Salmonella* spp. – resistente à fluoroquinolona

As salmonelas são bactérias Gram-negativas da família das *Enterobacteriales*, sendo uma das principais causas de doenças transmitidas por alimentos. Estão se tornando cada vez mais comuns cepas resistentes de *Salmonella* spp., identificadas tanto em alimentos como em pacientes com salmonelose (MIRANDA et al., 2017).

O gene envolvido na resistência à fluoroquinolona em *Salmonella* spp. é o *qnr* o qual possui 5 subtipos (A, B, C, D e S) e é transmitido por meio de elementos genéticos móveis, principalmente por plasmídeos. O gene *qnr* codifica proteínas capazes de se ligar à DNA girase, protegendo-a das fluoroquinolonas, como o ciprofloxacino (BELLO; DINGLE, 2018).

Outro mecanismo de resistência por modificação no alvo das fluoroquinolonas acontece por mutações cromossômicas diretas nos genes *gyrA* e *gyrB* que codificam as duas subunidades A e as duas subunidades B da DNA girase. E da mesma forma acontece para o outro alvo das fluoroquinolonas, a topoisomerase IV, com as mutações ocorrendo nos genes *parC* e *parE* que

codificam suas subunidades. Quando essas mutações acontecem, as fluoroquinolonas deixam de ter acesso à DNA girase e topoisomerase IV por estas estarem alteradas, fazendo com que haja resistência (BELLO; DINGLE, 2018).

4.2.3 *Helicobacter pylori* – resistente à claritromicina

Helicobacter pylori é uma bactéria Gram-negativa microaerofílica associada com doenças gastrointestinais em humanos, podendo causar gastrite crônica e complicações como dispepsia, úlcera péptica e câncer gástrico (FLORES-TREVIÑO et al., 2018). O mais utilizado para essa bactéria é a combinação de três fármacos: um inibidor da bomba de prótons, amoxicilina e claritromicina. Entretanto, a resistência da *H. pylori* aos macrolídeos, como a claritromicina, impede muitas vezes o sucesso terapêutico (AGUILERA-CORREA et al., 2016).

A origem da resistência em *H. pylori* está associada às mutações cromossômicas, não envolvendo elementos genéticos móveis (SANCHES et al., 2016). Os mecanismos de resistência principais são por efluxo da claritromicina ou a presença de mutações pontuais relacionadas ao alvo do fármaco. Os genes *hefC*, *hefE* e *hefI* codificam três bombas de efluxo da família RND (do inglês *Resistance Nodulation Division*) identificadas como responsáveis pelo efluxo da claritromicina. Entretanto, a aquisição de mutações pontuais na região 23S do RNA ribossômico é o principal mecanismo pelo qual a *H.pylori* passa a ser resistente à claritromicina (VIANNA et al., 2016).

A claritromicina interage com o RNA ribossômico 23S da subunidade 50S, inibindo a síntese proteica. Com as mutações pontuais nas posições 2146 e 2147 do gene de 23S rRNA, por exemplo, a conformação do ribossomo é alterada fazendo com que não ocorra a interação com a claritromicina e a síntese proteica permanece (SANCHES et al., 2016). As mutações em questão são geralmente por substituições de bases nitrogenadas, sendo as mais frequentes A2142G (mutação pontual na posição 2142 por substituição de adenina por guanina), A2142C (mutação pontual na posição 2142 por substituição de adenina por citosina) e A2143G (mutação pontual na posição 2143 por substituição de adenina por guanina); e as menos frequentes A2144T (mutação pontual na posição 2144

por substituição de adenina por timina), T2717C (mutação pontual na posição 2717 por substituição de timina por citosina) e C2694A (mutação pontual na posição 2694 por substituição de citosina por adenina) (ALBA; BLANCO; ALARCÓN, 2017). Outras mutações pontuais já identificadas por conferir resistência à claritromicina incluem T2182C, A2144T, G1939A e T1942C (HU et al., 2016).

Mutações em outros genes como *infB* e *rpl22* relacionados com o processo de tradução e com o RNA ribossômico, também estão envolvidos com a resistência à claritromicina em *H. pylori*. Estudos mostram inclusive, que mutações pontuais em um desses genes levam a baixas concentrações inibitórias mínimas, mas quando acontece alguma mutação em genes de 23S rRNA associada com mutação em *infB* ou *rpl22* há um aumento das concentrações inibitórias mínimas, indicando aumento de resistência (HU et al., 2016).

4.2.4 *Neisseria gonorrhoeae* – resistente à fluoroquinolona e às cefalosporinas

A gonorreia é uma infecção sexualmente transmissível (IST) causada pela bactéria Gram-negativa *Neisseria gonorrhoeae*. O aumento da resistência antimicrobiana dessa bactéria principalmente às cefalosporinas cefixima e ceftriaxona torna a gonorreia uma doença preocupante e um problema de saúde pública (ZHAO et al., 2018).

Os mecanismos de resistência às cefalosporinas em *N. gonorrhoeae* são diversos, envolvendo alterações no alvo desses antibióticos, o aumento do efluxo destes, porinas e inibição da entrada do fármaco. No primeiro caso, o gene alterado é o *penA* que dessa forma, codifica a proteína de ligação à penicilina do tipo 2 (PBP2). Boa parte dos isolados de *N. gonorrhoeae* resistentes às cefalosporinas possuem o mosaico do gene *penA* em que a incorporação de mais de uma mutação leva a altos níveis de resistência (ZHAO et al., 2018). A aquisição de sequências em mosaico do gene *penA* ocorre por recombinação com genes *penA* de outras espécies de *Neisseria* e substituições de aminoácidos (DEMCZUK et al., 2017).

No mecanismo de bomba de efluxo, há a superexpressão da bomba MtrCDE (pertencente à família RND) codificada no gene *mtrR* mutado. As

mutações podem ocorrer no promotor e/ou na região codificadora deste gene resultando na superexpressão da bomba de efluxo MtrCDE. Com relação as porinas, variações no gene *porB1b* que codifica uma porina da membrana externa diminuem a permeabilidade da membrana pela substituição de aminoácidos da proteína que forma a porina, gerando resistência (DEMCZUK et al., 2017). A inibição da entrada do fármaco é garantida por alterações no gene *byB* (ZHAO et al., 2018).

A resistência às fluoroquinolonas em *N. gonorrhoeae* acontece por mutações nos genes *gyrA*, *parC* e *parE* associados à DNA girase e topoisomerase IV. Essas mutações influenciam na resistência cumulativamente, de modo que uma única alteração de aminoácidos em GyrA leva a uma resistência intermediária, mas se outras alterações acontecerem junto com mutações em ParC e ParE a resistência aumenta (COSTA-LOURENÇO et al., 2017). Para *gyrA* as alterações ocorrem nas posições de aminoácidos S91 e/ou D95 e para *parC* ocorrem nas posições D86, S87 e/ou S88 (DEMCZUK et al., 2017).

4.2.5 *Enterococcus faecium* – resistente à vancomicina

Os enterococos são bactérias Gram-positivas anaeróbias facultativas e comensais no trato gastrointestinal. Sendo um ambiente bastante competitivo, essas bactérias adquiriram muitos determinantes de resistência a fim de sobreviverem a ele, principalmente devido a sua plasticidade genética elevada. A partir disso, os enterococos multirresistentes conseguem facilmente se disseminar em ambientes como os hospitais (MILLER; MUNITA; ARIAS, 2014).

A rápida aquisição de resistência em *Enterococcus faecium* é causada pelo complexo clonal 17 (CC17), associado à necessidade de adaptação dessa bactéria ao ambiente hospitalar. O CC17 é responsável por infecções graves e elevada mortalidade (LEE et al., 2018). Esses clusters de genes são adquiridos principalmente do ambiente e codificam uma maquinaria para a resistência que contribuem para a perda de susceptibilidade à vancomicina (MILLER; MUNITA; ARIAS, 2014). Os genes envolvidos na resistência à vancomicina são chamados de *van* e permitem modificações no dipeptídeo D-Ala-D-Ala (do peptidoglicano) que é o alvo do antimicrobiano, levando à redução de afinidade de ligação à

vancomicina e fazendo com que o efeito do antibiótico seja perdido (LEE et al., 2018).

Existem 10 genes *van* conhecidos, sendo três deles – *vanA*, *vanB* e *vanM* – considerados de maior risco à saúde por atribuírem alto nível de resistência e serem encontrados em elementos genéticos móveis. Os demais genes - *vanC*, *vanD*, *vanE*, *vanF*, *vanG*, *vanL* e *vanN* – não são considerados de risco elevado por expressarem menores níveis de resistência e por não serem transferíveis (LEE et al., 2018) O cluster *vanA* é o mais comum na resistência à vancomicina em *Enterococcus* (MILLER; MUNITA; ARIAS, 2014).

4.2.6 *Campylobacter spp.* – resistente à fluoroquinolona

Campylobacter é uma bactéria Gram-negativa associada a doenças gastrointestinais diarreicas em todo o mundo, sendo as espécies *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* as mais envolvidas com estas infecções. Para *C. jejuni* também existem casos de manifestações extra gastrointestinais e doenças autoimunes. As fluoroquinolonas são utilizadas para o tratamento das doenças por *Campylobacter*, entretanto, com o aumento da resistência a esses e outros antimicrobianos, a terapêutica tem ficado mais restrita (WHITEHOUSE; ZHAO; TATE, 2018).

Os dois mecanismos de resistência à fluoroquinolona em *Campylobacter* envolvem a inativação do alvo do antimicrobiano e as bombas de efluxo, em muitos casos, atuando juntos (IOVINE, 2013). Com relação ao mecanismo de inativação do alvo das fluoroquinolonas, as mutações predominantemente ocorrem no gene da DNA girase, *gyrA*. A mais comum dessas mutações consiste em uma única substituição de nucleotídeo (C257T) que leva a uma alteração de aminoácido na proteína GyrA a qual compõe a DNA girase, alvo das fluoroquinolonas. Essa mutação é conhecida por Thr86Ile (WHITEHOUSE; ZHAO; TATE, 2018). Outras mutações conhecidas por ASP-90-ASN e ALA-70-THR são menos comuns e conferem menores níveis de resistência (IOVINE, 2013), mas já foram relatadas por acontecerem em mutações duplas com Thr86Ile (WHITEHOUSE; ZHAO; TATE, 2018).

Modificações na topoisomerase IV que é o alvo secundário das fluoroquinolonas, não são encontradas em *Campylobacter* (WHITEHOUSE; ZHAO; TATE, 2018). Muitos estudos mostram, inclusive, que espécies de *Campylobacter* não possuem os genes *parC* e *parE* da topoisomerase IV, corroborando com a informação anterior. Mutações na outra subunidade da DNA girase, a GyrB, são encontradas, mas não possuem referência com a resistência às fluoroquinolonas (IOVINE, 2013).

Com relação às bombas de efluxo, existem principalmente duas encontradas em *Campylobacter* e envolvidas com a resistência: CmeABC e CmeDEF. A bomba CmeABC é codificada por três genes, *cmeA*, *cmeB* e *cmeC*, sendo a principal responsável no processo de efluxo das fluoroquinolonas. A outra bomba, CmeDEF, foi encontrada em *C. jejuni* mas a mutação no gene relacionado, *cmeF*, foi relacionada à resistência a outros antimicrobianos que não as fluoroquinolonas. Essas duas bombas já foram descritas por atuarem juntas, garantindo a resistência (WHITEHOUSE; ZHAO; TATE, 2018). Além disso, há a atuação conjunta da bomba CmeABC com as mutações na DNA girase, a qual resulta em níveis elevados de resistência às fluoroquinolonas (IOVINE, 2013).

4.3 Principais genes de bactérias de média prioridade

4.3.1 *Streptococcus pneumoniae* – não susceptível à penicilina

A bactéria *Streptococcus pneumoniae* é Gram-positiva e causadora de doenças graves como pneumonia, otite média aguda, meningite e sepse (FANI et al., 2014). Por muito tempo esse patógeno foi considerado sensível à penicilina. Até que a partir de um surto grave de resistência em um hospital de Joanesburgo na África do Sul, as identificações de *S. pneumoniae* resistente à penicilina foram desenvolvidas e os casos aumentaram mundialmente (HAKENBECK et al., 2012). A resistência em *S. pneumoniae* é decorrente de muitos fatores, o que leva a diferentes concentrações inibitórias mínimas nas cepas. Por isso, o termo “resistência” em *S. pneumoniae* está associado ao aumento da concentração inibitória mínima em relação às cepas sensíveis (HAKENBECK et al., 2012).

Os mecanismos de resistência à penicilina mais utilizados por *S. pneumoniae* são as alterações nas PBP's por meio de recombinação genética

com genes presentes no ambiente ou por mutações pontuais nos genes das PBP's; podendo estes dois atuarem juntos (MUNITA; BAYER; ARIAS, 2015). As recombinações, que envolvem transferências de genes entre espécies estreptocócicas, são responsáveis pela formação do mosaico de genes que codificam PBP's alteradas, garantindo baixa afinidade desta ao antimicrobiano (FANI et al., 2014; MOUJABER et al., 2017). Os pneumococos apresentam grande facilidade para a aquisição de DNA exógeno o que contribui para esse processo (FANI et al., 2014).

As principais PBP's alteradas em *S. pneumoniae* são a PBP1a, a PBP2x e a PBP2b (genes *pbp1a*, *pbp2x*, *pbp2b*), as quais, em conjunto, levam a altos níveis de resistência, enquanto alterações apenas em PBP2x e PBP2b estão associadas a *S. pneumoniae* não suscetível à penicilina caracterizada por menor nível de resistência (MOUJABER et al., 2017). Outros mecanismos já foram identificados em *S. pneumoniae* resistente à penicilina como as modificações nos muropeptídeos presentes na parede celular dessa bactéria. Essas alterações estão relacionadas ao operon *murMN* que codifica as proteínas MurM e MurN (MOUJABER et al., 2017).

4.3.2 *Haemophilus influenzae* – resistente à ampicilina

Haemophilus influenzae é um cocobacilo Gram-negativo comensal no trato respiratório superior e inferior (DUELL; SU; RIESBECK, 2016), sendo responsável por doenças como meningite, otite média, sinusite, epiglotite, infecções no trato respiratório inferior, infecções oculares e bacteremia (KOSTYANEV; SECHANOVA, 2012). De acordo com a presença ou ausência de cápsula, essa bactéria pode ser dividida em dois grupos: tipo polissacarídeo capsular ou tipo não capsular (*H. influenzae* não tipável - NTHi), sendo o segundo grupo mais diverso em genótipos e fenótipos (DUELL; SU; RIESBECK, 2016). A partir da década de 1970, *H. influenzae* resistente à ampicilina passou a ser identificada e estudada, de modo que hoje é um processo bem conhecido (TSANG et al., 2017).

A resistência à ampicilina em *H. influenzae* ocorre por dois mecanismos principais que dividem os isolados em dois grupos: os que produzem β -lactamases são conhecidos por β -lactamase positiva ampicilina resistente

(BLPAR) e os que não as produzem mas possuem alterações PBP3 são chamados por β -lactamase negativa ampicilina resistente (BLNAR). As β -lactamases dos isolados BLPAR são geralmente do tipo TEM-1 e ROB-1 e este mecanismo é bastante encontrado em *H. influenzae*. Além desses dois grupos, existe o BLPACR (β -lactamase positiva, amoxicilina/ácido clavulânico resistente), que se refere aos isolados que possuem tanto as β -lactamases bem como as mutações PBP3 (TSANG et al., 2017).

Em BLPAR, os genes das β -lactamases dos tipos TEM-1 e ROB-1 são respectivamente *bla*_{TEM-1} e *bla*_{ROB-1}, os quais são encontrados em plasmídeos. No caso dos isolados BLNAR, o gene *ftsI* mutado codifica a PBP3 que possui substituição de aminoácidos, levando a uma menor afinidade à ampicilina (KOSTYANEV; SECHANOVA, 2012). Essa menor afinidade pela PBP3 foi detectada tanto em cepas de *H. influenzae* tipáveis como nas não-tipáveis (BELLO; DINGLE, 2018).

4.3.3 *Shigella spp.* – resistente à fluoroquinolona

Shigella spp. são bacilos Gram-negativos pertencentes à família das enterobactérias e causadores da shigelose ou também chamada disenteria bacilar, uma doença preocupante por causar um elevado número de mortes em todo o mundo (BASTOS; LOUREIRO, 2011). A shigelose acontece principalmente em crianças, estimando-se que anualmente hajam no mínimo 80 milhões de casos. A Organização Mundial da Saúde adverte que mesmo sendo predominantemente autolimitada, a shigelose deve ser tratada para evitar complicações. O ciprofloxacino, uma fluoroquinolona, é o antimicrobiano preconizado para o tratamento dessas infecções. Entretanto, estão se tornando cada vez mais comuns casos de *Shigella spp.* resistentes ao ciprofloxacino (NÜESCH-INDERBINEN et al., 2016).

Os mecanismos principais de resistência de *Shigella spp.* ao ciprofloxacino são devido a mutações em genes cromossômicos que resultam em substituição de aminoácidos que compõem a DNA girase e Topoisomerase IV e à superexpressão das bombas de efluxo. Além desses, há o mecanismo de

proteção da DNA girase pela proteína produzida pelo gene *qnr* o qual é originado de plasmídeos (AZMI et al., 2014). As mutações na DNA girase ocorrem principalmente nos genes *gyrA* e *gyrB* em região chamada de região determinante de resistência a quinolona (QRDR). E as da topoisomerase IV ocorrem na região determinante de resistência a quinolona dos genes *parC* e *parE* (QIN et al., 2017). A bomba de efluxo referente a resistência em *Shigella spp.* é a AcrAB-TolC (GHOSH et al., 2014), a qual é superexpressa tendo os genes *acrAB* e *tolC* relacionados a esse processo (BELLO; DINGLE, 2018).

5 Genes de resistência bacterianos: perspectivas

Tendo em vista o crescente número de bactérias multirresistentes atuando como uma ameaça à terapia antimicrobiana eficaz e conseqüentemente à saúde pública (PONTES et al., 2018), mostra-se essencial o conhecimento dos mecanismos genéticos com o objetivo de entender como as bactérias desenvolvem a resistência de modo mais completo, desde a origem até o mecanismo final (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010). Além disso, é importante para, a partir desse conhecimento, planejar estratégias para reduzir o surgimento e disseminação desse mal e ampliar as opções terapêuticas (MUNITA; ARIAS, 2016). A resistência bacteriana por estar envolvida com configurações genéticas, estas precisam ser compreendidas visando o combate às bactérias resistentes (PONTES et al., 2018).

Os genes de resistência dão subsídios às futuras estratégias de pesquisa e desenvolvimento as quais devem se concentrar na descoberta e desenvolvimento de novos antibióticos eficazes contra bactérias multirresistentes (WHO, 2017). Além disso, estes genes já estão sendo utilizados, ainda que limitadamente, para fornecer informações mais rápidas sobre o padrão de resistência da bactéria a partir de testes de detecção molecular. Esses testes atuam suplementando as informações obtidas pelos testes fenotípicos, mas ainda existem muitas limitações que impedem seu maior uso, como: custo elevado, complexidade, presença de diversidade genética entre os mecanismos de resistência, identificação específica de um gene de resistência e não seus diversos produtos de expressão e o fato de que uma mesma resistência pode ser causada por muitos genes diferentes. Tudo isso atua como limitante para o uso disseminado dos testes moleculares (BELLO; DINGLE, 2018).

O lado bom da investigação genética por meio dos testes moleculares comerciais pode ser visto na condução da terapia e no controle mais rápido das infecções, fatores que estão relacionados. Por garantir um perfil de suscetibilidade mais rápido, poderão ser utilizadas terapias específicas para o paciente de acordo com o seu caso, fazendo com que haja um maior controle da infecção (BELLO; DINGLE, 2018).

No futuro, as tecnologias trabalharão ainda mais em favor do acesso à detecção de genes de resistência em bactérias. Um exemplo é o sequenciamento do genoma completo (WGS) que poderá fornecer informações de todos os genes e de como eles atuam. Os testes fenotípicos não deixarão de ser utilizados, mas novas plataformas de sequenciamento mais rápidas e acessíveis devem ser desenvolvidas para que atenda a necessidade crescente de conhecer os genes de resistência em bactérias como peça essencial no entendimento do fenômeno da resistência antimicrobiana (BELLO; DINGLE, 2018).

6 Conclusões finais

O uso exacerbado e errôneo dos fármacos antimicrobianos ocasiona a seleção e propagação de bactérias resistentes a eles. Essa situação é preocupante visto que diminui ou até elimina as possibilidades de tratamento dos pacientes infectados. Por trás de cada mecanismo de resistência existem peças fundamentais na determinação desta: os genes de resistência. É a partir desses genes que a bactéria desenvolve toda a maquinaria que leva ao resultado final de ausência de sensibilidade aos antimicrobianos.

Um cuidado especial deve ser tomado com as bactérias de risco crítico, alta e média prioridade por comporem a lista de patógenos prioritários elaborada pela Organização Mundial de Saúde, e por serem, assim, bactérias com resistências importantes aos antimicrobianos e que têm causado muitos danos mundialmente.

Compreender os mecanismos moleculares e os genes determinantes de resistência bacteriana fornece informações essenciais para o desenvolvimento de diagnósticos mais assertivos e tratamentos mais eficazes para combater a resistência bacteriana aos antibióticos.

REFERÊNCIAS

AGUILERA-CORREA, John Jairo *et al.* Detection of *Helicobacter pylori* and the genotypes of resistance to clarithromycin and the heterogeneous genotype to this antibiotic in biopsies obtained from symptomatic children. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, [S. l.], 2016.

AHMED, Mohamed O. Ahmed; BAPTISTE, Keith E. Vancomycin-Resistant Enterococci: A Review of Antimicrobial Resistance Mechanisms and Perspectives of Human and Animal Health. **MICROBIAL DRUG RESISTANCE**, [S. l.], 2017.

ALBA, Claudio; BLANCO, Ana; ALARCÓN, Teresa. Antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. **Current opinion in infectious diseases**, [S. l.], 2017.

ALFATEMI, Seyedeh Mahsan Hoseini *et al.* Analysis of Virulence Genes Among Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Strains. **Jundishapur J Microbiol**, [S.l.], 2014.

ALIZADEH, Naser Alizadeh *et al.* Detection of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae by chromogenic. **Journal of Microbiological Methods screening media**, [S.l.], 2018.

ANDRADE, Leonardo Neves; DARINI, Ana Lucia Costa. Beta-lactamase-producing gram-negative bacilli: which bla bla bla is this?. **Journal of INFECTION CONTROL**, Ribeirão Preto, SP, Brazil, 2017.

ANVISA. Mecanismos de ação. Antimicrobianos – bases teóricas e uso clínico, [S.l.], 2007. Disponível em:
http://www.anvisa.gov.br/servicosaudef/controlere/rede_rm/cursos/rm_controlere/pas_web/modulo1/pop_mecanismo.htm. Acesso em: 10 jun.2019.

AZMI, Ishrat J. *et al.* Fluoroquinolone Resistance Mechanisms of *Shigella flexneri* Isolated in Bangladesh. **PLOS ONE**, [S. l.], 2014.

BALASUBRAMANIAN, Deepak *et al.* A dynamic and intricate regulatory network determines *Pseudomonas aeruginosa* virulence. **Nucleic Acids Research**, [S. /], 2013.

BASTOS, Flávia Corrêa; LOUREIRO, Edvaldo Carlos Brito. Antimicrobial Resistance of *Shigella* spp. isolated in the State of Pará, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Pará, Brazil, set-out 2011.

BEARSON, Bradley L.; BRUNELLE, Brian W. Fluoroquinolone induction of phage-mediated gene transfer in multidrug-resistant *Salmonella*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [S. /], 2015.

BECKER, Daniel E. Antimicrobial Drugs. **ANESTHESIA PROGRESS**, [S. /], 2013.

BELLO, Alexander; DINGLE, Tanis C. What's That Resistance Mechanism? Understanding Genetic Determinants of Gram-Negative Bacterial. **Clinical Microbiology Newsletter**, Canada, 15 out. 2018.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Questions about Bacteria, Viruses, and Antibiotics**. [S. /], 2017.

COSTA-LOURENÇO, Ana Paula Ramalho da *et al.* Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: history, molecular mechanisms and epidemiological aspects of an emerging global threat. **Brazilian Journal of Microbiology**, Rio de Janeiro, 5 jun. 2017.

DEMCZUK, W. *et al.* *Neisseria gonorrhoeae* Sequence Typing for Antimicrobial Resistance, a Novel Antimicrobial Resistance Multilocus Typing Scheme for Tracking Global Dissemination of *N. gonorrhoeae* Strains. **Journal of Clinical Microbiology**, [S./], 2017.

DUELL, Benjamin Luke; SU, Yu-Ching; RIESBECK, Kristian. Host–pathogen interactions of nontypeable *Haemophilus influenzae*: from commensal to pathogen. **Febs Letters**, [S. /], 2016.

ESTEPA, Vanesa *et al.* Caracterización de mecanismos de resistencia a carbapenémicos en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* en un hospital español. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, Espanha, 2016.

FANI, Fereshteh *et al.* Genomic Analyses of DNA Transformation and Penicillin Resistance in *Streptococcus pneumoniae* Clinical Isolates. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Canada, 2014.

FLORES-TREVIÑO, Samantha *et al.* *Helicobacter pylori* drug resistance: therapy changes and challenges. **Expert Review of Gastroenterology & Hepatology**, [S./], 2018.

GHOLAMI, Mehrdad *et al.* The diversity of class B and class D carbapenemases in clinical *Acinetobacter baumannii* isolates. **Le Infezioni in Medicina**, [S. /], 2018.

GHOSH, Santanu *et al.* Genetic characterization of *Shigella* spp. isolated from diarrhoeal and asymptomatic children. **Journal of Medical Microbiology**, [S. /], 2014.

G, Meletis *et al.* Mechanisms responsible for the emergence of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **HIPPOKRATIA**, [S. /], 2012.

GUIMARÃES, Denise Oliveira; MOMESSO, Luciano da Silva; PUPO, Mônica Tallarico. ANTIBIOTICS: THERAPEUTIC IMPORTANCE AND PERSPECTIVES FOR THE DISCOVERY AND DEVELOPMENT. **Química Nova**, Ribeirão Preto – SP, Brasil, 2010.

HAKENBECK, Regine *et al.* Molecular mechanisms of b-lactam resistance in *Streptococcus pneumoniae*. **Future Medicine**, Germany, 2012.

HENGEL, Arjon J. van; MARIN, Laura. Research, Innovation, and Policy: An Alliance Combating Antimicrobial Resistance. **Trends in Microbiology**, [S. l.], 2019.

HU, Yue *et al.* *Helicobacter pylori* and Antibiotic Resistance, A Continuing and Intractable Problem., [S. l.], 2016.

IOVINE, Nicole M. Resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni*. **Virulence**, [S. l.], 2013.

KAHN, Laura H. Antimicrobial resistance: a One Health perspective. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, USA, 2017.

KAPOOR, Garima; SAIGAL, Saurabh; ELONGAVAN, Ashok. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. **Journal of Anaesthesiology, Clinical Pharmacology**, [S. l.], jul-set 2017.

KATEETE, David P. *et al.* Carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* at Mulago Hospital in Kampala, Uganda (2007–2009), [S. l.], 2016.

KOSTYANEV, Tomislav S.; SECHANOVA, Lena P. VIRULENCE FACTORS AND MECHANISMS OF ANTIBIOTIC RESISTANCE OF HAEMOPHILUS INFLUENZAE. **Folia Medica**, [S. l.], 2012.

LAGO, Aldalise; FUENTEFRIA, Sergio Roberto; FUENTEFRIA, Daiane Bopp. ESBL-producing enterobacteria in Passo Fundo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S. l.], jul-ago 2010.

LEE, Terence *et al.* Antimicrobial-resistant CC17 *Enterococcus faecium*: The past, the present and the future. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, [S. /], 2018.

LISTER, Philip D.; WOLTER, Daniel J.; HANSON, Nancy D. Antibacterial-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Clinical Impact and Complex Regulation of Chromosomally Encoded Resistance Mechanisms. **CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS**, [S./], Oct 2009.

MEDELLÍN, Aurelio Mendoza. El formidable reto de la resistencia bacteriana a los antibióticos. **Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM**, México, enero-febrero 2011.

MILLER, William R; MUNITA, Jose M; ARIAS, Cesar A. Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. **Expert Rev Anti Infect Ther**, [S. /], 2014.

MIRANDA, ANDREA L. *et al.* Phenotypic and genotypic characterization of *Salmonella* spp. isolated from foods and clinical samples in Brazil. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, Salvador, BA, Brazil, 2017.

MOUJABER, Grace El *et al.* Molecular mechanisms and epidemiology of resistance in *Streptococcus pneumoniae* in the Middle East region. **Journal of Medical Microbiology** , [S./], 2017.

MOREHEAD, Martha Shawn; SCARBROUGH, Catherine. Emergence of Global Antibiotic Resistance. [S. /], 2018.

MUNITA, Jose M.; ARIAS, Cesar A. Mechanisms of Antibiotic Resistance. **Microbiol Spectr.**, [S./], 2016.

MUNITA, Jose M.; BAYER, Arnold S.; ARIAS, Cesar A. Evolving Resistance Among Gram-positive Pathogens. [S./], 2015.

NOWAK, Pawel; PALUCHOWSKA, Paulina. *Acinetobacter baumannii*: biology and drug resistance — role of carbapenemases. **FOLIA HISTOCHEMICA ET CYTOBIOLOGICA**, [S./I.], 2016.

NÜESCH-INDERBINEN, Magdalena *et al.* *Shigella* Antimicrobial Drug Resistance Mechanisms, 2004–2014. **Emerging Infectious Diseases**, [S. /I.], 2016.

PAN, Ya-ping *et al.* Overexpression of MexAB-OprM efflux pump in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **Arch Microbiol**, [S. /I.], 2016.

PATERSON, Gavin K.; HARRISON, Ewan M.; HOLMES, Mark A. The emergence of *mecC* methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Trends in Microbiology**, Cambridge, UK, January 2014.

PEACOCK, Sharon J.; PATERSON, Gavin K. Mechanisms of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. **Annual Review of Biochemistry**, [S. /I.], 2015.

PONTES, Daniela Santos *et al.* Genetic Mechanisms of Antibiotic Resistance and the Role of Antibiotic Adjuvants. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, [S./I.], 2018.

POTTER, Robert F.; D'SOUZA, Alaric W.; DANTAS, Gautam. The rapid spread of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. **Drug Resistance Updates**, [S. /I.], 2016.

QIN, Tingting *et al.* Newest data on fluoroquinolone resistance mechanism of *Shigella flexneri* isolates in Jiangsu Province of China. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**, [S. /I.], 2017.

RICE, Louis B. Mechanisms of resistance and clinical relevance of resistance to β -lactams, glycopeptides, and fluoroquinolones. **Mayo Clinic Proceedings**, [S./], 2012.

ROOD, Ineke G.H.; LI, Qingge. Molecular detection of extended spectrum- β -lactamase- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in a clinical setting. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, [S. /], 2017.

SANCHES, Bruno Squarcio *et al.* Detection of Helicobacter pylori resistance to clarithromycin and fluoroquinolones in Brazil: A national survey. **World Journal of Gastroenterology**, [S. /], 2016.

SOMMER, Morten O. A. *et al.* Prediction of antibiotic resistance: time for a new preclinical paradigm?. **Nature Reviews Microbiology**, [S. /], 2017.

STRYJEWSKI, Martin E.; COREY, G. Ralph. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus: An Evolving Pathogen. **Clinical Infectious Diseases**, [S./], 2014.

TACCONELLI, E.; MAGRINI, N. GLOBAL PRIORITY LIST OF ANTIBIOTIC-RESISTANT BACTERIA TO GUIDE RESEARCH, DISCOVERY, AND DEVELOPMENT OF NEW ANTIBIOTICS. **World Health Organization**, [S. /], 2017.

TSANG, Raymond S. W. *et al.* Antibiotic susceptibility and molecular analysis of invasive Haemophilus influenzae in Canada. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, [S./], 2017.

VIANNA, Júlia Silveira *et al.* DRUG RESISTANCE IN HELICOBACTER PYLORI., [S. /], 2016.

WANG, Hualiang *et al.* Identification of antibiotic resistance genes in the multidrug-resistant Acinetobacter baumannii strain, MDR-SHH02, using whole-

genome sequencing. **International Journal of Molecular Medicine**, [S. l.], 30 dez. 2016.

WAGLECHNER, Nicholas; WRIGHT, Gerard D. Antibiotic resistance: it's bad, but why isn't it worse?. **BMC Biology**, [S. l.], 2017.

WHITEHOUSE, Chris A.; ZHAO, Shaohua; TATE, Heather. Antimicrobial Resistance in *Campylobacter* Species: Mechanisms and Genomic Epidemiology. **Advances in Applied Microbiology**, United States, 2018.

ZEHRA, Asima *et al.* Prevalence, multidrug resistance and molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in retail meat from Punjab, India. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, India, 2018.

ZHAO, Yun-hu *et al.* Identification and expression analysis of ceftriaxone resistance-related genes in *Neisseria gonorrhoeae* integrating RNA-Seq data and qRT-PCR validation. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, [S. l.], 2018.