

ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA INSTITUTO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA, MICOLOGIA, VIROLOGIA LABORATORIAL, CLÍNICA E HOSPITALAR

Recombinação genética em bactérias multirresistentes

Trabalho de conclusão de curso do curso de pós-graduação em Microbiologia Clínica e Laboratorial da Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto - SP.

Recombinação genética em bactérias multirresistentes

Genetic recombination in multidrug-resistant bacterium

Caroline Taiane de Souza Rodrigues*

RESUMO: A resistência bacteriana pode ser definida como a capacidade de uma cepa bacteriana resistir à ação de certo antibiótico que é mediada pela presença de mecanismos de resistência molecular como a hidrólise enzimática, transtornos de permeabilidade ou modificações no sítio de ação. Uma vez introduzido o antibiótico, variantes patogênicas com algum mecanismo intrínseco ou adquirido são selecionadas. A resistência está relacionada não exclusivamente, mas essencialmente a dois fatores: a quantidade de antibiótico prescrito e à disseminação de microrganismos e genes codificadores da resistência. Concentração Mínima Inibitória (CMI) e Concentração Mínima Bactericida (CMB) são dados utilizados como parâmetros para se saber ao certo qual o melhor tratamento para as infecções bacterianas. Os mecanismos de ação dos antibióticos são diversos e às vezes múltiplos, mas todos agem nos seguintes pontos: inibindo a síntese de ácidos nucleicos, interferindo na síntese da parede celular, alterando a permeabilidade da membrana citoplasmática, promovendo alterações na síntese proteica e interferindo na replicação do cromossomo da bactéria. Hoje, já existem microrganismos multirresistentes contra os quais não há antibióticos disponíveis. O objetivo desta revisão de literatura é compreender a resistência bacteriana, esclarecer os processos de aquisição de resistência e os mecanismos pelos quais as bactérias expressam resistência e como atuar na sua prevenção. Sabendo que uso inapropriado e irrestrito da maioria dos antibióticos é a principal razão para a perda da eficácia dos mesmos. Há uma necessidade de rever as práticas de prescrição dos clínicos e geralmente, há pouco controle no uso dos antibióticos, principalmente com respeito a automedicação.

Palavras-chave: bactérias multirresistente; mecanismos moleculares; mutação bacteriana; resistência bacteriana.

ABSTRACT: Bacterial resistance can be defined as the ability of a bacterial strain to resist the action of a certain antibiotic which is mediated by the presence of molecular resistance such as enzymatic hydrolysis, permeability disorders or modifications in the site of action. Once the antibiotic is introduced, pathogenic variants with some intrinsic or acquired mechanism are selected. Resistance is related not exclusively, but essentially to two factors: amount of antibiotic prescribed and the spread of microorganism and genes encoding resistance. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MCB) are data used as parameters to know exactly which is the best treatment for bacterial infections. The mechanisms of action of antibiotics are diverse and sometimes multiple, but the main action the following points: inhibiting the synthesis of nucleic acids, interfering with cell wall synthesis, altering the permeability of the cytoplasmic membrane, promoting changes in protein synthesis and interfering with replication of the bacterial chromosome. Today, there are already multidrug-resistant microorganisms against which antibiotics are not available. The objective of this literature review is to understand bacterial resistance, clarify the processes of resistance acquisition and the mechanisms by which bacteria express resistance and how to act in their prevention. Knowing that inappropriate and unrestricted use of most antibiotics is the main reason for their loss of effectiveness. There is a need to view clinicians' prescribing practice and generally, there is little control in the use of antibiotics, especially with respect to self-medication.

Keywords: multidrug-resistant bacteria; molecular mechanisms; bacterial mutation; bacterial resistance.

Academia de Ciência e Tecnologia - AC&T São José do Rio Preto/SP- Artigo de conclusão do curso de pós-graduação em Microbiologia, Micologia e Virologia Clínica e Laboratorial (fevereiro de 2021 a março de 2022)

*Aluno do Curso de Pós-Graduação em Microbiologia, Micologia e Virologia Clínica e Laboratorial Lato-Sensu da Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto – SP.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	4
2. METODOLOGIA	6
3. REVISÃO DE LITERATURA	6
3.1. PROCESSOS DE AQUISIÇÃO DE RESISTÊNCIA.....	6
3.1.1. MUTAÇÃO.....	10
3.1.2 TRANSFERENCIA	10
3.1.3 TRANSFORMAÇÃO.....	11
3.1.4 TRANSDUÇÃO	11
3.1.5 CONJUGAÇÃO.....	11
3.1.6 TRANSPOSIÇÃO.....	12
3.2. MECANISMOS DE EXPRESSÃO DE RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS.....	12
3.2.1. PRODUÇÃO DE ENZIMAS INATIVADORAS	12
3.2.2. INTERFERÊNCIA COM A ENTRADA E ACUMULO DO ANTIBIÓTICO NA BACTÉRIA.....	16
3.2.3. ALTERAÇÃO DO RECEPTOR PARA AÇÃO DO ANTIBIÓTICO.....	17
3.2.4. VIA METABÓLICA ALTERNATIVA	18
4. DISCUSSÃO.....	19
5. CONCLUSÃO	21
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	22

1. INTRODUÇÃO

A resistência bacteriana pode ser definida como a capacidade de uma cepa bacteriana resistir à ação de certo antibiótico; esta capacidade é mediada pela presença de mecanismos de resistência molecular como a hidrólise enzimática, transtornos de permeabilidade ou modificações no sítio de ação. Uma vez introduzido o antibiótico, variantes patogênicas com algum mecanismo intrínseco ou adquirido são selecionadas ⁵⁰.

É inquestionável o progresso que a descoberta dos antibióticos trouxe para a medicina no século XX, levando em consideração que houve rigorosa redução dos óbitos causados por determinadas infecções bacterianas. Com seu uso clínico no tratamento das enfermidades infecciosas, há quase um século, dividiram a história da saúde em momentos pré e pós-antibióticos ⁵⁷. Inicialmente, o fenômeno da resistência bacteriana não parecia ser um problema tão grande e foram temporariamente resolvidos com a introdução de agentes antibacterianos como os aminoglicosídeos, macrolídeos, glicopeptídeos e ainda por alterações estruturais nos compostos já existentes, que resultavam em alteração de sua atividade e espectro antimicrobiano ²³. Um tempo depois, observou-se que a eficácia desses antibióticos estava sendo superada pela capacidade que as bactérias têm de adquirir resistência modificando o seu genoma por mutação ou incorporando genes provenientes de outros microrganismos por diferentes sistemas de transferência genética, ou até mesmo por mecanismos de resistência naturais ou intrínsecos ². Evidências indicam que o uso a longo prazo e repetitivo dos antibióticos promovem a resistência ao mesmo ⁶⁴. Além disso, uma concentração adequada deve ser mantida por um período de tempo longo o suficiente para o desenvolvimento de organismos resistentes ⁴. De fato, a Organização Mundial da Saúde nomeou a resistência aos antibióticos como uma das três ameaças à saúde pública mais importantes ¹

As infecções causadas por organismos multirresistentes estão associadas ao aumento da mortalidade em comparação com as causadas por bactérias suscetíveis ^{27; 49; 52}. Tais microrganismos resistentes resultam da combinação de múltiplos fatores, tais como: mutações dos genes de resistência que aumentam seu espectro de atividade; troca de informações genéticas nas quais os genes de resistência são transferidos para novos microrganismos; pressão seletiva exercida pelas condições do meio que favorece a emergência e disseminação de microrganismos resistentes; proliferação e disseminação de clones multirresistentes as quais podem ocorrer em nível global ⁶⁶.

Enquanto novos caminhos são explorados para o desenvolvimento de novos medicamentos, que é um processo complexo, a abordagem convencional para superação da resistência tem sido a modificação química dos antibióticos já existentes. O arsenal de antibióticos foi submetido a uma adaptação das estruturas centrais, para aumentar o espectro de atividade e superar os mecanismos de resistência. Por exemplo, antibióticos que contém o núcleo β -lactâmico, inaugurado pela penicilina, avançaram através de “gerações” como as cefalosporinas e depois com os carbapenêmicos. Porém, embora esses antibióticos tenham superado alguns mecanismos de resistência, muitas bactérias, por sua vez, também se adaptaram a fim de neutralizar essas drogas ¹⁷. Hoje, já existem microrganismos multirresistentes contra os quais não há antibióticos disponíveis, levando rapidamente à mortalidade de pacientes hospitalizados.

Infelizmente, o aumento acentuado na resistência antimicrobiana entre patógenos bacterianos comuns está agora ameaçando essa realização terapêutica, comprometendo os resultados bem-sucedidos de pacientes críticos ⁷⁰.

Para entender o problema da resistência antimicrobiana, é útil discutir alguns conceitos relevantes. Primeiro, a resistência antimicrobiana é antiga e é o resultado esperado de interações de muitos organismos com seu ambiente. A maioria dos compostos antimicrobianos são moléculas produzidas naturalmente e, como tal, as bactérias co-residentes desenvolveram mecanismos para superar sua ação a fim de sobreviver. Assim, esses organismos são frequentemente considerados resistentes “intrinsecamente” a um ou mais antimicrobianos. No entanto, ao discutir o enigma da resistência antimicrobiana, as bactérias que abrigam determinantes intrínsecos de resistência não são o foco principal do problema. Em vez disso, em ambientes clínicos, normalmente estamos nos referindo à expressão de “resistência adquirida” em uma população bacteriana que era originalmente suscetível ao composto antimicrobiano.

Em segundo lugar, é importante reconhecer que o conceito de resistência/suscetibilidade antimicrobiana na prática clínica é um fenômeno relativo com muitas camadas de complexidade. O estabelecimento de pontos de quebra de suscetibilidade clínica (suscetível, intermediário e resistente) depende principalmente da atividade *in vitro* de um antibiótico contra uma amostra bacteriana considerável, combinada com alguns parâmetros farmacológicos (por exemplo, concentrações do antimicrobiano no sangue e no local da infecção, entre outros). Assim, ao tratar bactérias resistentes a antibióticos, a interpretação dos padrões de suscetibilidade pode variar de acordo com o cenário clínico e a disponibilidade de opções de

tratamento ¹³. Além disso, a suscetibilidade *in vivo* de um organismo a um determinado antibiótico pode variar de acordo com o tamanho do inóculo bacteriano ⁴⁸. Assim, nas seções seguintes, nos concentraremos nos mecanismos moleculares e bioquímicos da resistência bacteriana, ilustrando situações específicas que são frequentemente encontradas na prática clínica.

2. METODOLOGIA

O objetivo desta revisão de literatura é compreender a resistência bacteriana, esclarecer os processos de aquisição de resistência e os mecanismos pelos quais as bactérias expressam resistência e como atuar na sua prevenção. Foi realizada uma pesquisa sobre os tipos de mecanismos de resistência a antibióticos e o que os leva a acontecerem, com dados obtidos em livros e artigos em bases de dados eletrônicas nacionais e internacionais como Scielo, Science Direct e Pubmed. Para formação desse estudo, foram utilizados os seguintes descritores em português e em inglês: antibioticresistance (resistência a antibióticos), antibiotics (antibióticos), resistance gene (genes de resistência), antimicrobialdrugresistancemechanisms (mecanismos de resistência a drogas antimicrobianas), mechanismsmoleculares de resistance (mecanismos moleculares de resistência) sendo os critérios de seleção aqueles que atenderam completamente aos objetivos e requisitos das ideias de pesquisa inicial.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. PROCESSOS DE AQUISIÇÃO DE RESISTÊNCIA

De acordo com a Concentração Mínima Inibitória (CMI) e Concentração Mínima Bactericida (CMB) obtidos em estudos *in vitro*, as bactérias têm sido classificadas como resistentes ou sensíveis, sendo consideradas resistentes quando não inibidas *in vitro* em concentrações consideradas àquelas atingidas *in vitro*. Tais dados são utilizados como parâmetros para se saber ao certo qual o melhor tratamento para as infecções bacterianas ²⁴. Entretanto, o sucesso terapêutico não depende única e exclusivamente dessa reação, mas

também de fatores farmacodinâmicos e farmacocinéticos envolvidos ²⁴ para que o fármaco consiga alcançar seu órgão-alvo em concentração suficiente para promover seu efeito ³⁷ máximo bactericida e mínima resistência bacteriana, sendo alcançado através da regulação de dosagem e duração do tratamento ²⁴.

Deve-se, ainda, fazer algumas considerações sobre os mecanismos de ação de tais antibióticos e suas propriedades necessárias para sua eficácia. Para melhor entender como a resistência bacteriana funciona realmente é necessário fazer algumas considerações sobre os mecanismos de ação de tais antibióticos e suas propriedades necessárias para a sua eficácia. Dessa maneira os antibióticos devem apresentar capacidade em alcançar os alvos moleculares intracelulares, e em quantidades suficientes, precisam muitas vezes ultrapassar a membrana celular bacteriana, evitar que sejam jogados os antimicrobianos para fora da célula bacteriana devido a ação das bombas de efluxo, interação com uma molécula-alvo sendo possível desencadear a morte da bactéria, e por fim, evitar a inativação por enzimas capazes de modificar o fármaco no ambiente extracelular ou no interior da célula bacteriana. Por sua vez as bactérias utilizam mais de uma estratégia para evitar a ação dos antimicrobianos; assim, a ação conjunta de múltiplos mecanismos pode produzir um acentuado aumento da resistência aos antimicrobianos. A resistência a determinado antimicrobiano pode constituir uma propriedade intrínseca de uma espécie bacteriana ou uma capacidade adquirida ⁶⁶. A resistência está relacionada não exclusivamente, mas essencialmente a dois fatores: a quantidade de antibiótico prescrito e à disseminação de microrganismos e genes codificadores da resistência ¹². Logo, um dado microrganismo é sensível ou resistente apenas quando se observa o sucesso ou insucesso terapêutico, respectivamente ⁶⁶.

O cientista dinamarquês Hans Christian Gram, em 1884, descobriu que bactérias adquiriam diferentes colorações quando tratadas com corante. Desenvolveu então um procedimento que diferenciava dois tipos de bactérias e que tinha por base diferenças estruturais nas paredes celulares ⁵⁷. A parede celular das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas apresenta constituição diferente, porém ambas apresentam o mesmo substrato, o peptidoglicano ³⁷. Bactérias que continham uma espessa camada de peptidoglicano retinham corante violeta cristal, as Gram positivas, enquanto nas bactérias Gram negativas, o corante era removido ao ser lavado com álcool ou acetona, devido à composição relativamente simples de lipopolissacarídeos e à presença de uma membrana dupla, sendo a externa seletivamente permeável, o que impede certos medicamentos de penetrarem nas células ⁵⁷. Isso permitiu classificá-las em dois grupos distintos: as que coravam em roxo foram chamadas de Gram

positivas, e as que coravam em vermelhas/rosas foram chamadas de Gram-negativas ⁶⁵. A parede celular é uma estrutura rígida comum às bactérias (exceto aos micoplasmas), leveduras e plantas. Essa estrutura envolve a membrana citoplasmática, tendo como função dar forma à bactéria e servir como barreira mecânica e osmótica ³⁷.

Os mecanismos de ação dos antibióticos são diversos e às vezes múltiplos, mas todos agem nos seguintes pontos: inibindo a síntese de ácidos nucleicos, interferindo na síntese da parede celular, alterando a permeabilidade da membrana citoplasmática, promovendo alterações na síntese proteica e interferindo na replicação do cromossomo da bactéria ³⁷ sobre a qual atuam. A resistência de algum microrganismo à determinada droga pode ser classificada inicialmente como intrínseca ou adquirida ¹⁷.

A resistência natural ou intrínseca é comum a uma determinada espécie bacteriana, sendo transmitida verticalmente como herança cromossômica bactéria ³⁷, são características fenotípicas e fazem parte da herança genética do microrganismo. O maior determinante de resistência intrínseca é a presença ou ausência do alvo para a ação da droga ⁶⁶. Por exemplo, a ausência de receptor para o antibiótico, como pode ser observado em espécies de *Mycoplasma sp.* e *Ureaplasma sp.* que são naturalmente resistentes a β -lactâmicos por não possuírem parede celular ³⁷. Outro clássico exemplo, são os antibióticos como a anfotericina B, atuam contra fungos devido à sua capacidade de ligação a esteróis componentes de sua membrana, alterando sua permeabilidade e levando-o à morte. Como bactérias não possuem esteróis em sua membrana são, portanto, insensíveis a essas drogas ⁶⁶. Ou até então a impermeabilidade a drogas, impedindo-as de alcançar o alvo da ação, como ocorre em bacilos gram-negativos em relação à penicilina G, devido à presença de uma membrana externa à parede celular.

Essa característica fenotípica é transmitida verticalmente de geração a geração sem perda da característica. A resistência intrínseca ou natural não apresenta qualquer risco à terapêutica, pois é previsível, bastando-se conhecer o agente etiológico da infecção e os mecanismos de ação dos fármacos disponíveis clinicamente. É um traço que independe da pressão seletiva antibiótica ¹⁷.

Do ponto de vista clínico a resistência adquirida tem muito mais importância, pois ocorre devido à modificação da carga genética da bactéria e de mutações cromossômicas ou extra cromossômicas (por meio de plasmídeos ou transposons), responsáveis por alterar estruturas-alvo ou impedir as drogas de alcançar seus alvos de ação ¹⁹. O resultado dessas mutações é a diminuição ou perda por completo da sensibilidade a determinado antibiótico, ou

seja, uma simples alteração genética pode levar ao aparecimento de um exemplar muito resistente, que normalmente não perde viabilidade e patogenicidade ²⁷.

Existem quatro grandes mecanismos de resistência aos antibióticos que são: a alteração da permeabilidade, a alteração do sítio de ação, a alteração da estrutura química do antibiótico por mecanismos enzimáticos e a bomba de efluxo celular ³⁷. Uma mesma bactéria pode desenvolver vários mecanismos de resistência frente a um dos muitos antibióticos e da mesma maneira um antibiótico pode ser inativado por diferentes mecanismos de diversas espécies bacterianas, o que complica o estudo da resistência das bactérias aos diferentes antimicrobianos ¹⁹.

A aquisição de resistência tem diminuído muito a atividade de importantes antibióticos, servindo como objetivo maior de pesquisadores para a busca de novas drogas, associações ou esquemas terapêuticos. É importante lembrar que antibióticos não são agentes mutagênicos, portanto não causam mutação em microrganismos, assim, não sendo capazes de fazer aparecer qualquer nova característica na bactéria. Os antibióticos exercem a chamada "pressão seletiva", em destaque os de amplo espectro, ou seja, em contato com microrganismos exercerão sua atividade, levando à morte as cepas sensíveis sobrevivendo então as resistentes. Além disso, há uma diversidade de veículos como plasmídeos, transposons e integrases que são elementos genéticos móveis disseminados que codificam variáveis determinantes de resistência ²². Com o uso frequente e indiscriminado, essa seleção leva ao predomínio das cepas que de alguma forma sobreviveram, multiplicaram-se e agora são maioria. Assim sendo, é mais frequente o aparecimento de cepas multirresistentes em ambientes hospitalares ou comunidades sem qualquer controle no uso de drogas.

E para uma melhor compreensão do fenômeno global de resistência bacteriana é preciso entender como os microrganismos adquirem resistência, como passam a expressar essa nova característica, de onde vem essa informação. A aquisição de resistência pode aparecer originária de uma mutação ou ainda de uma transferência ⁵⁰.

3.1.1. MUTAÇÃO

A mutação é um fenômeno espontâneo, resultado de um erro na replicação do DNA, ocorre um mutante a cada 10⁴ a 10¹⁰ divisões celulares. Em biofilmes, a taxa de mutação pode ser até 100 vezes maior ⁵⁰. A resistência cromossômica é mais comumente encontrada em mutações de genes que codificam o alvo de um fármaco. Dessa forma, pode ocorrer uma mutação ao acaso em uma bactéria responsável pela resistência a um determinado antibiótico, caso esta bactéria sobreviva e consiga se reproduzir possuirá uma vantagem seletiva em comparação com as cepas não mutantes. Em geral, a resistência cromossômica é um processo seguido por várias mutações em um mesmo gene ³⁷. Normalmente, envolve deleção, substituição ou adição de um ou mais pares de bases, levando a alterações na composição de aminoácidos de determinados peptídeos. Essa mutação ocorre na ausência ou presença de antibióticos, o único papel que pode caber à droga é selecionar os mutantes, favorecendo seu crescimento por sua atuação nas células normais sensíveis. Esse problema tem se mostrado mais alarmante com drogas destinadas a tratamentos prolongados, como as utilizadas contra a tuberculose e hanseníase ⁶⁵. A mutação leva muitas vezes à alteração de permeabilidade da célula ou ainda à alteração de seu receptor. As células mutantes não têm qualquer vantagem biológica sobre as normais, ao contrário, são defectivas, morrendo a qualquer alteração, seja de pH, temperatura, osmolaridade, etc ⁶⁶. A maioria dos genes que codificam resistência aos antibióticos são complexos e não resultam de uma única mutação espontânea ¹². No entanto, a exposição a concentrações sub inibitórias de antibióticos induz ao aumento nas taxas de mutações, bem como de recombinações e transferências desses genes. Em biofilmes, também, as taxas de mutações são muito maiores, aumentando o desenvolvimento de bactérias resistentes ⁵⁰.

3.1.2 TRANSFERÊNCIA

A resistência transferível ocorre quando um dado microrganismo recebe material genético de outro microrganismo, passando a expressar a característica contida no gene recentemente adquirido. A transferência geralmente acontece entre membros da mesma espécie, no entanto, o intercâmbio de genes também pode acontecer interespecies, aumentando a resistência aos antibióticos ⁵⁷. Esse material genético que contém a informação que expressa

a resistência pode ser transferido de algumas formas como: transformação, transdução, conjugação e ainda transposição.

3.1.3 TRANSFORMAÇÃO

A transformação é um processo no qual há lise de determinado microrganismo com liberação de seu material genético para o meio, dessa forma, outra bactéria da mesma espécie é capaz de captar esse DNA incorporando-o ao seu genoma⁵⁹. Esse DNA pode ser originário de cromossomos, plasmídeos ou ainda bacteriófagos e para que o processo ocorra a bactéria receptora tem que estar apta a receber esse material, no estado dito de competência, quando sintetiza proteínas de superfície capazes de ligação ao DNA. Parece de pouca importância clínica, pois só ocorre em condições extremamente favoráveis⁵⁹.

3.1.4 TRANSDUÇÃO

A transdução envolve a incorporação acidental de DNA bacteriano cromossômico ou plasmidial por um bacteriófago durante seu processo de infecção celular^{25; 31}. Esse processo ocorre durante o modo replicativo do bacteriófago, que se incorpora no DNA cromossômico ou plasmidial da célula hospedeira. Assim, pequenos fragmentos de DNA com genes de resistência da célula parasita podem ser carregados no material genético do bacteriófago, podendo ser incorporados no DNA de uma próxima célula bacteriana durante seu processo replicativo. Esse mecanismo é mais frequente e eficaz na resistência plasmidial³⁷.

3.1.5 CONJUGAÇÃO

A conjugação é um processo que requer contato físico, bactéria-bactéria, em que uma das células, a doadora, transfere o material genético a outra, chamada receptora. A habilidade de uma bactéria em conjugar normalmente é codificada nos chamados plasmídeos F, de fertilidade. Esses plasmídeos são segmentos de DNA de fita dupla auto replicantes³⁷ que levam à bactéria que os possuem a propriedade de estabelecer, através desse canal proteico, contato

com outras bactérias para a transferência de genes plasmidiais. Ao receber o material genético sob a forma de plasmídeos que pode conter genes determinantes de resistência (plasmídeos R), a bactéria receptora a partir desse momento pode expressar uma nova característica, tornando-se resistente. Pode ainda conjugar com outra bactéria, atuando agora como doadora, pois junto com genes de resistência, ela recebe genes conjugativos (plasmídeos F), permitindo então repetir o processo agora em progressão geométrica. Esses plasmídeos transferidos por conjugação podem conter genes determinantes de resistência a muitos antibióticos, ou seja, a pressão seletiva exercida por uma só droga pode selecionar microrganismos multirresistentes ¹; ⁶⁸. A resistência extra cromossômica pela transferência de fatores R constitui o mais frequente processo de resistência bacteriana aos antimicrobianos em hospitais, favorecido pela pressão seletiva do uso destas drogas neste ambiente ⁶⁵.

3.1.6 TRANSPOSIÇÃO

No fenômeno da transposição há a dependência da presença na bactéria de segmentos curtos de DNA denominados transposons, que têm a capacidade de se mover de um local para outro (genes saltadores) os quais podem conter genes de resistência para um ou mais antibióticos replicantes ³⁷. Por não terem capacidade de auto replicação, assim como os plasmídeos, unem-se a replicons, ou seja, "saltam" dentro da célula entre plasmídeos, cromossomos e bacteriófagos ⁶⁵. Por ser uma partícula contendo pequenos fragmentos de DNA, transportam poucos genes, logo codificam resistência simples ou no máximo a três drogas ³⁷.

3.2. MECANISMOS DE EXPRESSÃO DE RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS

3.2.1. PRODUÇÃO DE ENZIMAS INATIVADORAS

As bactérias podem conter genes que codificam a produção de enzimas com propriedades de modificar ou inativar irreversivelmente antibióticos ⁵⁶ um exemplo são as β -lactamases, enzimas que catalisam a hidrólise do anel β -lactâmico, impossibilitando a atividade antimicrobiana. A resistência a tal antimicrobiano irá depender da quantidade de enzima produzida, habilidade dessa enzima em hidrolisar o antimicrobiano em questão e velocidade com que o β -lactâmico penetra pela membrana externa ¹³.

Como exemplo de enzimas que quebram a estrutura da droga, temos as β -lactamases que atuam promovendo a hidrólise dos derivados β -lactâmicos deixando aberta a estrutura do anel, fazendo com que com essa configuração molecular a droga seja incapaz de se ligar ao seu sítio receptor, ficando impossibilitada para inibir a síntese da parede celular bacteriana. Dessa forma a bactéria continua seu ciclo reprodutivo normalmente, tornando-se então resistente aos antibióticos β -lactâmicos. Existem dezenas de tipos de β -lactamases, variando de substrato e microrganismo produtor. A classificação comumente utilizada é a de Ambler que divide as β -lactamases em quatro classes: A, B, C e D ⁵⁶.

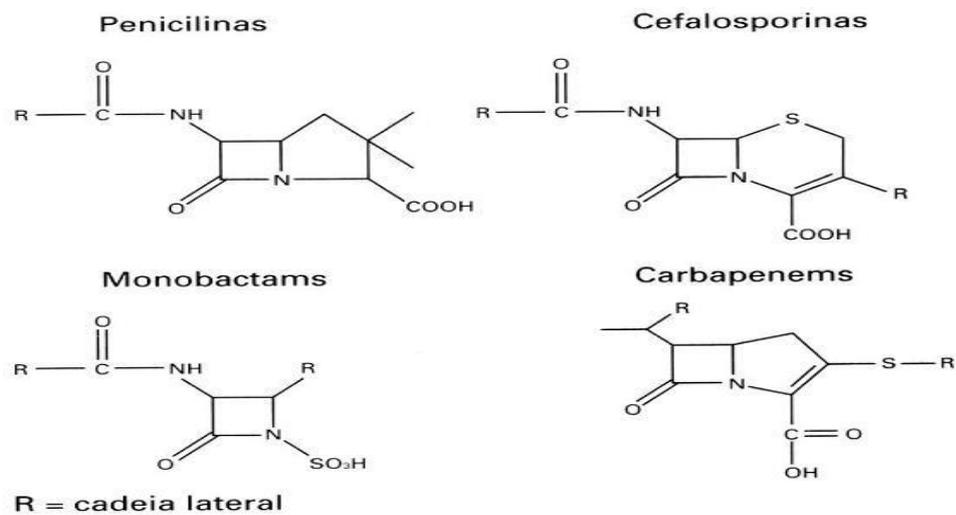


Figura 1. Estrutura dos antibióticos beta-lactâmicos (Williams, 1999).

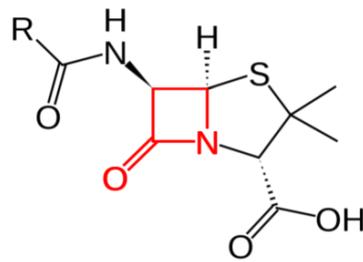


Figura 2: Estrutura química de um β -lactâmico, com destaque para o anel β -lactâmico (em vermelho) (Modificado de Rosário e Grumach, 2006)

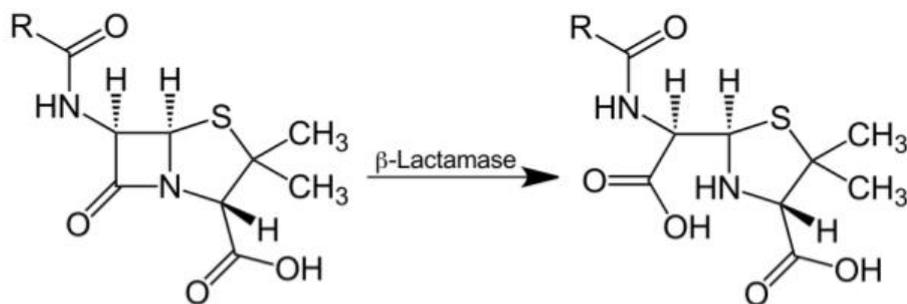


Figura 3: Esquema ilustrando a atividade de uma enzima β -lactamase, rompendo as ligações que formam o anel β -lactâmico e neutralizando o antibiótico. (Modificado de Rosário e Grumach, 2006).

As enzimas da classe A consistem nas cefalosporinas, penicilinas, β -lactamases de amplo espectro, β -lactamases de espectro estendido e carbapenemas. Elas podem inativar as penicilinas, entre outras, (exceto a temocilina). São inibidas pelos inibidores de β -lactamases, como o clavulanato, sulbactam ou tazobactam ⁵⁶. Por sua vez, os inibidores de β -lactamases são compostos similares aos antibióticos, que se ligam às β -lactamases de forma geralmente irreversível, protegendo os antibióticos contra sua destruição, garantindo sua atividade frente a microrganismos patogênicos ³⁵.

As enzimas da classe B são as metalo- β -lactamases (MBLs), requerem de moléculas de Zinco (Zn^{2+}) como cofator para exercer sua atividade hidrolítica sobre os anéis β -lactâmicos, que são inibidos pela presença de agentes quelantes de íons como o EDTA e, de forma semelhante às carbapenemas classe A, onde apresentam resistência a todos os β -lactâmico, exceto o aztreonam. Diferente das carbapenemas, as MBL não são afetadas pelos inibidores da β -lactamase disponíveis clinicamente, entretanto, os monobactâmicos,

como Aztreonam apresentam boa estabilidade hidrolítica e não são inativados pelas MBL. O gene das MBLs está presente em plasmídeos e, por isso, pode ser facilmente transmissível ⁵⁶.

As enzimas da classe C incluem as penicilinases e cefalosporinases, como as AmpC β -lactamase, e não apresentam resistência clínica relevante, são produzidas em baixo nível pelas espécies da família Enterobacteriaceae, mas podem induzir a terapia medicamentosa, e a transmissão via plasmídeos pode levar a superprodução em células que antes não codificavam a enzima, como a *Klebsiella pneumoniae*. Inativam o aztreonam, a penicilina e a maioria das cefalosporinas. Além disso, não são inibidas pela maioria dos inibidores de β -lactamases, exceto o avibactam ⁵⁶.

As enzimas da classe D são as enzimas hidrolisantes de oxacilina (OXA), tradicionalmente conhecidas como Oxacilinases (OXA), pois as primeiras descritas chamavam a atenção pela sua capacidade de hidrolisar a oxacilina. Elas não são inibidas pelos inibidores da β -lactamase tradicionais. São comumente encontradas nas *Pseudomonas aeruginosa* e dentre todas, apenas a OXA-18 não é resistente aos inibidores de β -lactamases. As enzimas OXA carbapenemases presentes em espécies *Acinetobacter spp.* podem gerar alta resistência aos carbapenêmicos ⁵⁶.

A informação para sua produção em microrganismos pode estar presente no cromossomo bacteriano, em plasmídeos ou em transposon e, como visto anteriormente, pode ser transferida a outras bactérias tanto vertical como horizontalmente. A grande causa de insucesso terapêutico de penicilinas e análogos diante de inúmeros microrganismos como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, são essas enzimas ⁴¹.

Existem ainda enzimas bacterianas que em vez de quebrar a estrutura molecular da droga, apenas alteram sua conformação, promovendo adenilação, acetilação e fosforilação de aminoglicosídeos, reduzindo sua afinidade pelo receptor ribossômico, impedindo assim a inibição da síntese proteica bacteriana, permitindo a bactéria sua reprodução normal. De modo estratégico, essas enzimas se fixam à membrana bacteriana, pois é onde há grande quantidade de ATP e acetil coenzima A fonte de radicais fosfato, adenil e acetil usados para modificar estruturalmente o antibiótico logo no processo de entrada da droga na célula ⁵¹.

3.2.2. INTERFERÊNCIA COM A ENTRADA E ACÚMULO DO ANTIBIÓTICO NA BACTÉRIA

Como mecanismo de defesa, as bactérias, através de gerações, passaram a sintetizar esse canal cada vez menor ou até a codificar a ausência completa desse canal, impedindo assim a entrada da droga na célula e dificultando o encontro droga-alvo (SOUZA, C. S 1998). Assim algumas bactérias não permitem, pela ausência ou modificação do canal, a entrada de alguns antibióticos, como penicilinas, cefalosporinas e quinolonas ⁶⁶.

Muitos antibióticos β -lactâmicos conseguem penetrar em bactérias Gram negativas através de canais proteicos, denominado porina, presentes em sua membrana externa. A função fisiológica desses canais parece ser a entrada de aminoácidos na bactéria ^{7:8}. Uma redução na quantidade de proteínas porina OprD nas células da *Pseudomonas aeruginosa* levam a diminuição no influxo da droga e consequente resistência ao imipenem. A perda de uma proteína de 29 kilodaltons da superfície da membrana externa de uma bactéria Gram negativa, como *Acinetobacter baumannii*, permite que a mesma se torne insensível ao imipenem e ao meropenem. Cepas multirresistentes de *Klebsiella pneumoniae* são resistentes ou menos suscetíveis aos β -lactâmicos, como as cefalosporinas, devido à ausência de proteínas como OmpK35 e OmpK36 na membrana externa associada a produção de enzimas, como AmpC β -lactamase ⁵⁶.

Os aminoglicosídeos utilizam a diferença no potencial elétrico da membrana bacteriana para penetração na bactéria, ou seja, por terem carga positiva são atraídos ao interior bacteriano negativamente carregado, por força desse potencial de membrana. Algumas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* alteram, via plasmídeo, o metabolismo energético da membrana da bactéria resultando em diminuição desse potencial de membrana, dificultando muito a penetração da droga na bactéria ⁵¹.

Outro determinado mecanismo chamou a atenção da comunidade científica em torno de 1980, através do qual bactérias diminuem a concentração citoplasmática de drogas e o bombeamento ativo de drogas para o meio extracelular, quando pesquisadores demonstraram, em cepas de *E. coli*, esse mecanismo codificado em plasmídeos ⁴⁷. A bactéria passa a produzir proteínas de membrana que funcionam como uma verdadeira bomba de efluxo para múltiplos antibióticos. Essas proteínas expõem o fármaco em grandes quantidades, de modo que esse nunca atinja concentração o suficiente para exercer sua função ⁵⁶. A droga não atinge

concentrações intracelulares suficientes para promover inibição de síntese proteica ribossômica, pois quase instantaneamente é bombeada para fora da bactéria ⁶¹.

O principal exemplo é a resistência às tetraciclina pela *Escherichia coli* e outras enterobactérias, geralmente as mutações nos genes ocorrem devido a concentrações subinibitórias da droga, podendo ser encontrados em genes cromossômicos ou extracromossômicos ³⁷. A superexpressão de bombas e a redução na quantidade e tamanho das porinas são mecanismos sinérgicos no processo de resistência a muitos agentes ⁵⁶.

3.2.3. ALTERAÇÃO DO RECEPTOR PARA AÇÃO DO ANTIBIÓTICO

Para que uma droga exerça sua atividade farmacológica ante a um microrganismo é imperativo que haja a ligação ou a interação fármaco-receptor. Muitas vezes, por mutação cromossômica, sendo mais incomum a resistência plasmidial ³⁷, há a alteração bioquímica desse receptor, impedindo uma perfeita ligação entre a droga e seu receptor na bactéria. Esse mecanismo de manifestação de resistência ocorre em inúmeras bactérias para grande quantidade de antibióticos como macrolídios, β -lactâmicos, cloranfenicol, quinolonas, rifampicina e glicopeptídeos ⁶⁶.

As proteínas de ligação à penicilina (PBPs) são enzimas envolvidas na síntese da parede celular bacteriana e servem como alvo para ação de drogas β -lactâmicas, é o principal mecanismo de resistência dos estafilococos à ação da oxacilina e da metcilina ³⁷. Sua inibição por essas drogas determina a formação de uma parede celular frágil que não suporta a diferença osmótica, levando à lise celular bacteriana ⁶ *Streptococcus pneumoniae* e *Staphylococcus aureus* resistentes à metcilina, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* são alguns exemplos de microrganismos que se tornam insensíveis à ação de β -lactâmicos através de alterações nas PBPs, diminuindo a afinidade da droga pelas enzimas ⁵⁶. A origem desses genes de resistência parece ser a captação de DNA bacteriano do meio. Os genes que codificam essa alteração no *Streptococcus pneumoniae* são chamados de genes mosaico, pois são constituídos de genes próprios misturados a segmentos de DNA de microrganismos mais resistentes à penicilina, tais como os *Streptococcus viridans* ⁶².

Alterações no ribossomo bacteriano também são responsáveis por resistência a grande número de drogas, ocorrendo com aminoglicosídeos, cloranfenicol e principalmente macrolídeos. Para essas drogas, no *Staphylococcus aureus* ocorre uma metilação em um resíduo

de adenina no RNA ribossômico 23 S, diminuindo a afinidade da droga pelo receptor e inibindo a síntese proteica bacteriana, dessa forma, impede a ligação de MLS¹⁸. Existe ainda uma outra maneira de impedir o contato droga-receptor promovido pela bactéria; é o caso da produção de uma proteína citoplasmática que protege fisicamente o ribossomo da inibição promovida pela tetraciclina⁶¹. Podem ocorrer ainda alterações na DNA-girase ou topoisomerase, levando a resistência das quinolonas e também alteração da RNA polimerase para as rifamicinas. Essa resistência tem particular importância clínica, pois pode aparecer durante o longo curso de tratamento da tuberculose⁶⁶.

3.2.4. VIA METABÓLICA ALTERNATIVA

Alguns agentes antimicrobianos atuam inibindo etapas do metabolismo celular das bactérias, como é o caso do dssulfonamidas atuam na inibição da enzima responsável pela ligação entre o ácido p-aminobenzóico e a pteridina na síntese de ácido fólico bacteriano, a diidropteroatosintetase. Alguns bacilos Gram negativos sintetizam via plasmídeo ou transposon, uma diidropteroatosintetase alterada, sem afinidade pelas sulfas, mas que mantém sua atividade bioquímica na produção do folato. Sem a inibição pelas sulfas, a bactéria cresce normalmente, tornando-se resistente à droga. Mecanismo similar acomete o trimetoprim, que atua inibindo a formação do ácido folínico a partir do ácido fólico para a formação de ácidos nucleicos. Algumas bactérias são capazes, não só de alterar as enzimas alvo destes fármacos, mas também alterar suas etapas metabólicas. Por exemplo, quando o trimetoprim inibe a síntese do ácido folínico, seus precursores são desviados para vias metabólicas alternativas para a obtenção de seu produto final⁵⁹.

Todos esses mecanismos de expressão de resistência são cada vez mais frequentes em inúmeros microrganismos, alguns deles expressando muitas formas de resistência. Existem fortes evidências de que esses genes sempre estiveram presentes na natureza, mas potencializados pela pressão seletiva com o uso crescente, disseminaram-se, adaptaram-se a novas espécies e alguns deles, por exemplo, os que codificam a produção de β -lactamases, encontram-se disseminados por quase todos os microrganismos de importância médica. Com o uso crescente e indiscriminado de antibióticos, através de pressão seletiva, permaneceram vivos apenas os microrganismos capazes de se defender da ação da droga e os genes tiveram suas funções resumidas à resistência aos antibióticos⁵⁰.

4. DISCUSSÃO

O uso inapropriado e irrestrito da maioria dos antibióticos é a principal razão para a perda da eficácia dos mesmos. Há uma necessidade de rever as práticas de prescrição dos clínicos. Geralmente, há pouco controle no uso dos antibióticos, principalmente com respeito a automedicação⁶⁷. Um relatório do Centro de Controle de Doenças (CDC), publicado em 2013 mostrou que 50% de todos os antibióticos prescritos para as pessoas nos Estados Unidos não são necessários ou não são eficazes na forma como são prescritos⁵⁷.

O tratamento tradicional de infecções graves é baseado na combinação de um aminoglicosídeo e um antibiótico ativo contra a parede celular (p.ex., ampicilina e vancomicina). Entretanto, alguns antibióticos não apresentam atividade sobre a parede de enterococos (p.ex., oxacilina e cefalosporinas); ampicilina e penicilina em geral são ineficazes contra *E. faecium*, e resistência à vancomicina é frequente (sobretudo em *E. faecium*). Além disso, mais de 25% dos enterococos são resistentes aos aminoglicosídeos, e a resistência aos aminoglicosídeos e à vancomicina é um problema por ser mediada por plasmídeos, podendo ser transferida a outras bactérias⁴⁵.

A concentração com que o antibiótico chega ao local de ação varia entre pacientes de acordo com determinantes, como resposta imunológica, e ainda é uma incógnita; mas, partindo da análise de curvas de interação entre antibióticos e bactérias em estudos *in vitro*, verifica-se que não há justificativa para o prolongamento do tempo de uso do antibiótico para além do pico de ação e que o tempo mínimo é eficaz. Estudos *in vivo* são necessários para validação dessas informações²⁴.

O conhecimento dos mecanismos bioquímicos e genéticos envolvidos na resistência bacteriana é de grande importância para se entender como a bactéria pode desenvolver a resistência. Apesar de estes mecanismos variarem de patógeno para patógeno, a resistência é causada por alguns fatores básicos: inativação do antibiótico diretamente na molécula bioativa por alterações químicas, geralmente promovidas por enzimas bacterianas;²² modificações do alvo que leva à perda de sensibilidade ao antibiótico;²³ mudanças na bomba de efluxo e permeabilidade externa da membrana que promovem a redução da concentração do antibiótico sem sua modificação química;¹⁶ transmissões do alvo - algumas bactérias se tornam insensíveis a alguns antibióticos porque são capazes de transmitir a inativação de uma determinada enzima,

ou seja, os antibióticos com mecanismos de ação que envolve inibição enzimática tornam-se inativos por não terem o alvo para atuar.²⁵

Algumas estratégias podem ser adotadas para evitar o desenvolvimento de resistência bacteriana: prevenção de infecções bacterianas com o uso de vacinas, uso racional de antibióticos, controle e prevenção da disseminação de micro-organismos resistentes, descoberta e desenvolvimento de novos antibióticos.²⁶ Além disso, a caracterização dos genes responsáveis pela resistência, assim como sua localização e diversidade são de grande importância para o entendimento dos fatores envolvidos na resistência.²⁶

Alguns dizem que um período mais curto de uso dos antibióticos em altas doses pode levar à resistência aos antibióticos. Estudos indicam que o uso prolongado e repetitivo de antibióticos é o que promove a resistência. Além disso, uma concentração adequada deve ser mantida por um período de tempo suficiente para promover a seletividade que acarreta o desenvolvimento de cepas resistentes⁶⁴. Além disso, diversas linhas de evidência suportam o conceito de que um curso de curta duração com altas doses do antibiótico pode ser eficaz e deve ser considerado para a suspensão após três dias de uso quando a drenagem adequada foi estabelecida e / ou sinais da infecção estão desaparecendo³⁸.

A resistência bacteriana aos antimicrobianos está cada vez mais intensa, ao ponto de já existirem cepas resistentes a todos os fármacos disponíveis no mercado. O número de novos antibióticos que chegam ao mercado tem diminuído drasticamente. Obviamente, estes micro-organismos continuarão a desenvolver novos mecanismos de resistência por mutações ou compartilhamento da informação genética. Cada um desses mecanismos apresenta padrões de comportamento específicos, alguns mais complexos que outros, variando de acordo com as características estruturais e fisiológicas da bactéria, e são gerados em resposta a estímulos que devem ser considerados em procedimentos clínicos, industriais e ambientais, a fim de controlá-los. O estudo molecular e estrutural da resistência aos antibióticos nos permitirá reconhecer pontos de risco em nossas políticas de controle de infecção e realizar uma prevenção mais eficaz na produção e disseminação de resistência

5. CONCLUSÃO

A evolução da resistência bacteriana aos antimicrobianos tem sido acompanhada desde a descoberta da penicilina, surpreendendo profissionais da saúde e exigindo novos planos terapêuticos. Como já mencionado, foi o uso inadequado de antibióticos que impulsionou esse processo, contribuindo para o aumento da morbidade e da mortalidade, o prolongamento do tempo de internação e a elevação dos custos de tratamentos. Ademais, esse assunto tem gerado crescente preocupação diante de sua imprevisibilidade, podendo surgir, a qualquer momento, novos organismos resistentes. Por isso, os órgãos de saúde, principalmente a Organização Mundial de Saúde (OMS), estão cada vez mais comprometidos em combater o problema. A OMS ao promover a 68ª Assembleia Mundial da Saúde, em maio de 2015, aprovou um plano de ação global para enfrentar a resistência antimicrobiana, estabelecendo cinco objetivos: melhorar a consciência e a compreensão da resistência antimicrobiana; fortalecer o conhecimento por meio da vigilância e da pesquisa; reduzir a incidência de infecção; aperfeiçoar o uso de agentes antimicrobianos e aumentar o investimento em novos medicamentos, ferramentas de diagnóstico, vacinas e outras intervenções. Logo, é perceptível que o uso racional de antimicrobianos associados a medidas de prevenção e controle de infecções podem retardar, e até impedir, o surgimento de novas mutações; enquanto isso, novos estudos científicos pretendem colocar no mercado drogas cada vez mais seguras.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACHTMAN, M.; KENNEDY, N.; SKURRAY, R. Cell-cell interactions in conjugating *Escherichia coli*: Role of *traT* protein in surface exclusion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1977; 74(11): 5104-5108.
2. ARIAS, C.A.; MURRAY, B.E. The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance. *Nature Reviews Microbiology*. 2012; 10(4):266-278.
3. ARPIN, C.; CANRON, M.H.; NOURY, P. Quentin C. Emergence of *mefA* and *mefE* genes in beta-haemolytic streptococci and pneumococci in France. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1999; 44(1): 133-4.
4. BILAVSKY, E.; ELIAHOU, R.; KELLER, N.; YARDEN-BILAVSKY, H.; HAREL, L.; AMIR, J. Effect of benzathine penicillin treatment on antibiotic susceptibility of viridans streptococci in oral flora of patients receiving secondary prophylaxis after rheumatic fever. *Journal of Infection*. 2008; 56(4): 244-8.
5. BRYSKIER, A. Viridans group streptococci: a reservoir of resistant bacteria in oral cavities. *Clinical Microbiology and Infection*. 2002; 8(2): 65-9.
6. CHAMBERS, H.F. Penicillin-binding protein-mediated resistance in pneumococci and staphylococci. *The Journal of Infectious Diseases*. 1999; 179(2): 353-9.
7. CHOPRA, I. Antibiotic resistance resulting from decreased drug accumulation. *British Medical Bulletin*. 1984; 40(1): 11-7.
8. CHOPRA, I.; ROBERTS, M. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2001; 2(65): 232-260.
9. CHUNG, D.R.; SONG, J.H.; KIM, S.H. et al. High prevalence of multidrug-resistant nonfermenters in hospital-acquired pneumonia in Asia. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2011; 184(12): 1409-17.
10. CLEGG, H.W.; RYAN, A.G.; DALLAS, S.D.; KAPLAN, E.I. et al. Treatment of Streptococcal Pharyngitis With Once-Daily Amoxicillin Compared With Twice-Daily Amoxicillin: A Noninferiority Trial. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2006; 761-767.
11. CLEWELL, D.B.; FLANNAGAN, S.E.; JAWORSKI, D.D. Unconstrained bacterial promiscuity: The Tn916-Tn1545 family of conjugative transposons. *Trends in Microbiology*. 1995; 3(6): 229
12. COLLIGNON, P. Antibiotic resistance: are we all doomed? *Journal of Internal Medicine*. 2015; 45(11): 1109-15.
13. WAYNE, P.A. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 24th informational supplement*. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2014. (CLSI document M100-S24).
14. COSTERTON, J.W.; LEWANDOWSKI, Z.; CALDWELL, D. E.; KORBER, D.R.; LAPPIN-SCOTT, H.M. Microbial Biofilms. *Annual Review of Microbiology*. 1995; 1(49): 711-745.
15. COSTERTON, J.W.; STEWART, PHILIP, S.; GREENBERG, E.P. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. *Science*. 1999; 284(5418): 1318-1322.

16. COSGROVE, S.E. A relação entre a resistência antimicrobiana e os resultados do paciente: mortalidade, tempo de internação e custos de saúde. *ClinInfectDis.* 15 de janeiro de 2006;42 (Suplemento 2): S82-9
17. CULYBA, M.J.; MO, C.Y.; KOHLI, R.M. Targets for Combating the Evolution of Acquired Antibiotic Resistance. *Biochemistry.* 2015; 54(23): 3573-82.
18. DARINI, A.L.C.; FREITAS, F.I. S; SIQUEIRA JR., J.P. Resistência a antibióticos Macrolídeos em amostras hospitalares de *Staphylococcus aureus*. *Medicina.* Ribeirão Preto. 1995; 28(4): 852-5.
19. DAZA PÉREZ, R.M. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Información Terapéutica Del Sistema Nacional de Salud.* 1998; 57-67.
20. De la FUENTE-NÚÑEZ, C.; REFFUVEILLE, F.; FERNÁNDEZ, L, HANCOCK, R.E. Bacterial biofilm development as a multicellular adaptation: antibiotic resistance and new therapeutic strategies. *Current Opinion in Microbiology.* 2013; 16(5): 580-589.
21. DIAZ GRANADOS, C.A, Zimmer SM, Klein M, Jernigan JA. Comparação da mortalidade associada a infecções da corrente sanguínea enterocócicas resistentes e sensíveis à vancomicina: uma meta-análise. *ClinInfectDis.* 1 de agosto de 2005; 41 (3):327–33
22. ENNE, V.I.; PERSONNE, Y.; GRGIC, L.; GANT, V.; ZUMLA, A. Aetiology of hospital acquired pneumonia and trends in antimicrobial resistance. *Current Opinion in Pulmonary Medicine.* 2014; 20(3): 252-8.
23. GOLD, H.S.; MOELLERING, R.C. Antimicrobial-Drug Resistance. *New England Journal of Medicine.* 1996; 335(19):1445-1453. HAWKEY, P.M. The origins and molecular basis of antibiotic resistance. *The BMJ.* 1998; 317(7159): 657-660.
24. HENGZHUANG, W.; WU, H.; CIOFU, O.; SONG, Z.; HØIBY, N. Pharmacokinetics/pharmacodynamics of colistin and imipenem on mucoid and nonmucoid *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2011; 55(9): 4469-74.
25. HYDER, S.L.; STREITFELD, M.M. Transfer of erythromycin resistance from clinically isolated lysogenic strains of *Streptococcus pyogenes* via their endogenous phage. *The Journal of Infectious Diseases.* 1978; 138(3): 281-6.
26. HUPP, J.R. Infective endocarditis--stop blaming the dentist. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology.* 2009; 108(2): 145-6.
27. JONES, R.N. Global aspects of antimicrobial resistance among key bacterial pathogens. Results from the 1997-1999 SENTRY Antimicrobial Program. *ClinInfectDis.* 2001;32: S8- 1-S156.
28. JONES, RN. Resistance patterns among nosocomial pathogens: trends over the past few years. *Chest.* 2001; 119(Suppl.2):397S-404S.
29. KARAM, G.; CHASTRE, J.; WILCOX, M.H.; VINCENT J.L. Antibiotic strategies in the era of multidrug resistance. *Critical Care.* 2016; 20(1):136.
30. KOUIDHI, B.; ZMANTAR, T.; HENTATI, H.; NAJJARI, F.; MAHDOUNI, K.; BAKHROUF, A. Molecular investigation of macrolide and Tetracycline resistances in oral bacteria isolated from Tunisian children. *Archives of Oral Biology.* 2011; 56(2):127-35.
31. LACEY, R.W. Antibiotic Resistance plasmids of *Staphylococcus aureus* and their clinical importance. *Bacteriological Reviews.* 1975; 39(1): 1–32.

32. LEWIS, M.A.; MEECHAN, C.; MACFARLANE, T.W.; LAMEY, P.J.; KAY, E. Presentation and antimicrobial treatment of acute orofacial infections in general dental practice. *British Dental Journal*. 1989; 166(2): 41-5.
33. LI, X.; KOLLTVEIT, K.M.; TRONSTAD, L.; OLSEN, I. Systemic Diseases Caused by Oral Infection. *Clinical Microbiology Reviews*. 2000; 13(4): 547-558.
34. LOCKHART, P.B.; DURACK, D.T. Oral microflora as a cause of endocarditis and other distant site infections. *Infectious Disease Clinics of North America*. 1999; 13(4): 833-50.
35. MACEDO, M.L.A.P.; CARTAXO, R.S.; ALMEIDA, T.C.C. et al. Mecanismos de resistência e detecção das betalactamases. *Cienc. Biol. Saúde*, v.7, p.59-63, 2005.
36. MAH, T. Biofilm-specific antibiotic resistance. *Future Microbiology*. 2012; 7(9); 1061-1072.
37. MACHADO, O, V, O et al. Antimicrobianos: revisão geral para graduandos e generalistas. Fortaleza: EdUnichristus, 2019.
38. MARTIN, M.V.; LONGMAN, L.P.; HILL, J.B.; HARDY, P. Acute dentoalveolar infections: an investigation of the duration of antibiotic therapy. *British Dental Journal*. 1997; 183(4): 135-7.
39. MARTÍNEZ, J.L.; ROJO, F. Metabolic regulation of antibiotic resistance. *FEMS Microbiology Reviews*. 2011; 35(5): 768-89.
40. MATIJEVIC, S.; LAZIC, Z.; KULJIC-KAPULICA, N.; NONKOVIC, Z. Empirical antimicrobial therapy of acute dentoalveolar abscess. *Vojnosanitetski Pregled*. 2009; 66(7): 544-50.
41. MEDEIROS, A.A. Beta-lactamases. *British Medical Bulletin*. 1984; 40(1): 18-27.
42. MILLER, C. Decisions and antibiotics use: more questions and some answers. *Oral Sur, Oral Med, oral pathol, oral radiol, and Endod*. 2010; 110(1): 1-3.
43. MOLIN, S.; T-N.T. Gene transfer occurs with enhanced efficiency in biofilms and induces enhanced stabilisation of the biofilm structure. *Current Opinion in Biotechnology*. 2003; 14(3): 255-61.
44. MANSON, J.M.; HANCOCK, L.E.; GILMORE, M.S. Mechanism of chromosomal transfer of *Enterococcus faecalis* pathogenicity island, capsule, antimicrobial resistance, and other traits. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Jul. 6; 107(27): 12269-74.
45. MURRAY, P.R. - 8. ed. - Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.
46. MURRAY, P.R.; BARON, E.J., PFALLER, M.A., TENOVER, F.C et al. *Manual of Clinical Microbiology*, 6th Ed., American Society for Microbiology, Washington, DC, 1999.
47. NIKAIIDO, H. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. *Science*. 1994; 264(5157): 382-8.
48. NANNINI, E.C; Singh K.V; ARIAS, CA, MURRAY, B.E. *In vivo* effect of cefazolin, daptomycin, and nafcillin in experimental endocarditis with a methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strain showing an inoculum effect against cefazolin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013; 57(9): 4276-81.
49. PAK-LEUNG, H. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, ceftazidime-resistant Gram-negative bacilli, and vancomycin-resistant enterococci before and after invasive care unit admission. *Crit Care Med*. 2003; 31: 1175-82

50. PENESYAN, A.; GILLINGS, M.; PAULSEN, I. Antibiotic Discovery: Combatting Bacterial Resistance in Cells and in Biofilm Communities. *Molecules*. 2015; 20(4):5286-5298.
51. PHILIPS, I.; SHANNON, K. Aminoglycosideresistance. *British Medical Bulletin*. 1984;40(1):28-35.
52. RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; *Farmacologia*, 4ª ed., Guanabara Koogan S.A.: Rio de Janeiro, 2001.
53. ROBERTS, M.C. Antibiototoxicity, interactions and resistance development. *Periodontology* 2000. 2002; 28:280-97
54. RUER, S.; PINOTSIS, N.; STEADMAN, D.; WAKSMAN, G.; REMAUT, H. Virulence targeted Antibacterials: Concept, Promise, and Susceptibility to Resistance Mechanisms. *Chemical Biology & Drug Design*. 2015;86(4):379-99.
55. RUSSELL, A.D.; CHOPRA, I. In Understanding antibacterial action and resistance. Ellis Horwood, London, 1990. SANTAJIT, S.; INDRAWATTANA, N. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Biomed Research International*. 2016; 2016:1-8.
56. SCHNAPPINGER, D.; HILLEN, W. Tetracyclines: antibiotic action, uptake, and resistance mechanisms. *Archives of Microbiology*. 1996;165(6):359-69.
57. SHERPA, R.T.; REESE, C.J.; ALIABADI, H.M. Application of iChiptoGrow "Uncultivable" Microorganisms and its Impact on Antibiotic Discovery. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2015;18(3):303-15.
58. Sydnor, E.R, Perl TM. Epidemiologia hospitalar e controle de infecção em ambientes de cuidados agudos. *Clin Microbiol Rev*. 2011 Jan; 24 (1):141–73.
59. SMITH, J.T.; AMYES, S.G.B. Bacterial resistance to Antifolate Chemotherapeutic Agents Mediated by Plasmids. *British Medical Bulletin*. 1984;40(1): 42-46.
60. SOUZA, C. S. Uma guerra quase perdida. *Revista Ciência Hoje*, v. 23, n. 138, p. 27-35, 1998.
61. SPEER, B.S.; SHOEMAKER, N.B.; SALYERS, A.A. Bacterial Resistance to Tetracycline: Mechanisms, Transfer, and Clinical Significance. *Clinical Microbiology Reviews*. 1992; 5(4):387-399.
62. SPRATT, B.G. Hybrid penicillin-binding proteins in penicillin-resistant strains of *Neisseria gonorrhoeae*. *Nature*. 1988; 332(6160):173-6.
63. SPRATT, B.G. Resistance to Antibiotics Mediated by Target Alterations. *Science*. 1994; 264(5157):388-93.
64. SPRUNT, K.; REDMAN, W.; LEIDY, G. Penicillin resistant alpha Streptococci in pharynx of patients given oral penicillin. *Pediatrics*. 1968; 42(6):957-68.
65. TAVARES, W. Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 1996.
66. TOWNER, K.J. The genetics of resistance. In David Greenwood. *Antimicrobial Chemotherapy*, 3rd ed. Oxford University Press. Oxford, 1997.
67. VASHISHTHA, V.M. Growing antibiotic resistance and the need for new antibiotics. *Indian Pediatrics* 2010; 47(17):505-6.

68. WILLETTS, N.; SKURRAY, R. The conjugation system of F-like plasmids. *Annual Review of Genetics*. 1980; 4:41-76.
69. WRIGHT, A.J.; UNGER, S.; COLEMAN, B.L.; LAM, P.P.; McGEER, A.J. Maternal antibiotic exposure and risk of antibiotic resistance in neonatal early-onset sepsis: a case cohort study. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2012; 31(11): 1206-1208. XIA, J.;
70. World Health Organization. *Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014*.
71. GAO, J.; KOKUDO, N.; HASEGAWA, K.; TANG, W. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* antibiotic resistance and virulence. *BioScience Trends*. 2013; 7(3):113-21. ZHANG, L.;
72. HUANG, Y.; ZHOU, Y.; BUCKLEY, T.; WANG, H.H. Antibiotic administration routes significantly influence the level of antibiotic resistance in gut microbiota. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2013; 57(8):3659-66.
73. ZHU, Y-G.; JOHN, T.A.; SU, J-Q.; QIAO, M.; GUO, G-X.; STEDTFELD, R.D.; HASHSHAM, S.A.; TIEDJE, J.M. Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013; 110(9): 3435-3440.