

ANÁLISE GENÔMICA DAS BACTÉRIAS RESISTENTES MAIS RECORRENTES RELACIONADAS A PNEUMONIA ADQUIRIDA EM HOSPITAIS

Letícia Nascimento Silva¹
Mariana Moreira Andrade²

RESUMO: As doenças infecciosas configuram uma das principais causas de mortalidade ainda nos dias atuais, diante dessa problemática, observa-se o crescimento da quantidade de bactérias resistentes, principalmente associadas a infecções hospitalares, onde uma das principais patologias desenvolvidas é a manifestação de pneumonia, sejam elas adquiridas após a internação, ou por necessidade da utilização de ventilação mecânica. As principais bactérias resistentes observadas em ambientes hospitalares são, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, sendo essas, detentoras de um complexo genômico, originados de mutações e transferências horizontais, que possibilitam a resistência a diversos antibióticos. Além de se observar uma multirresistência em ambas as bactérias, resultantes da incorporação de um ou mais genes, que conferem resistência a uma quantidade maior de antibióticos, dificultando assim, a terapêutica dos pacientes acometidos por tais bactérias. Nesse contexto, faz-se necessário a análise da estrutura genômica, através de métodos moleculares, que contribui para a compreensão dos mecanismos de resistência de tais bactérias e, conseqüentemente, permite a elucidação de questionamentos nos âmbitos fisiológicos, epidemiológicos e profiláticos, bem como contribui para o desenvolvimento de pesquisas futuras de medidas terapêuticas.

2587

Palavras-chave: Resistência bacteriana. Pneumonia. *Staphylococcus aureus*. *Klebsiella pneumoniae*. Genes.

ABSTRACT: Infectious diseases are one of the main causes of mortality even today, given this problem, there is an increase in the number of resistant bacteria, mainly associated with hospital infections, where one of the main pathologies developed is the manifestation of pneumonia, whether acquired after hospitalization, or due to the need to use mechanical ventilation. The main resistant bacteria observed in hospital environments are *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae*, which contain a genomic complex, originating from mutations and horizontal transfers, which enable resistance to various antibiotics. In addition to observing multi-resistance in both bacteria, resulting from the incorporation of one or more genes, which confer resistance to a greater quantity of antibiotics, thus complicating the treatment of patients affected by such bacteria. In this context, it is necessary to analyze the genomic structure, through molecular methods, which contributes to the understanding of the resistance mechanisms of such bacteria and, consequently, allows the elucidation of questions in the physiological, epidemiological and prophylactic areas, as well as contributing for the development of future research into therapeutic measures.

Keywords: Bacterial resistance. Pneumonia. *Staphylococcus aureus*. *Klebsiella pneumoniae*. Genes.

¹Discente do curso de Biomedicina da Faculdade de Ilhéus, Centro de Ensino Superior, Ilhéus, Bahia.

²Mestre em Biologia e Biotecnologia de Micro- organismos pela Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia.

I. INTRODUÇÃO

As infecções hospitalares adquiridas, também conhecidas como Infecções Associadas à Assistência à Saúde (IRAS), são classificadas como aquelas adquiridas posteriormente a internação, sem incubação prévia, e geralmente manifestam-se após o período de 48 horas (Miranda *et al.*, 2020). Essas infecções incluem infecções do trato urinário associados a cateter, infecções da corrente sanguínea associadas a cateteres centrais, infecções de sítio cirúrgico, pneumonia associadas a ventiladores e pneumonias adquiridas em hospitais (Monegro *et al.*, 2023).

Alguns estudos ainda apontam, que hábitos de vida do paciente, como consumo de álcool e uso de nicotina, influenciam na maior probabilidade dessas infecções. Porém um dos fatores que mais é levado em consideração é o estado imunossuprimido, como histórico de doenças previamente diagnosticadas (Borges *et al.*, 2023).

As infecções bacterianas hospitalares, resultantes em pneumonias, são desafios clínicos recorrentes e configuram uma das principais causas de mortes no mundo, com estimativa de 30% a 50%, principalmente as associadas a ventilação mecânica. Devido a isso, intervenções terapêuticas passaram a ser rotineiramente utilizadas como ferramentas de controle. Com a introdução dos antibióticos na prática clínica, observou-se uma melhora significativa nas estimativas de tais infecções e controle da disseminação de agentes etiológicos envolvidos (Dutta, 2022).

2588

Entretanto, como consequência, apesar da promessa e até mesmo da eficácia da terapia antibiótica, uma certa ameaça passou a ser crescente e persistente, especialmente nos ambientes hospitalares: a resistência bacteriana, observada de forma frequente e gradual frente à utilização dessas drogas (Nascimento, *et al.*, 2022). Tal resistência representa uma barreira cada vez mais comum, que pode comprometer a eficácia dos antibióticos e tornar o tratamento das infecções hospitalares mais desafiador (Silva *et al.*, 2020).

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) e *Kleissielae pneumonie* são duas espécies bacterianas similares em dois aspectos principais; primeiro, são relatadas como as mais recorrentes e responsáveis pelas maiores taxas de relatos de infecções por pneumonia adquirida em hospitais (Rathbun *et al.*, 2022); segundo, além de serem recorrentes em tais infecções, são consideradas espécies com um perfil de resistência bastante característico (Thuy *et al.*, 2021).

S. aureus, por exemplo, apresenta não apenas resistência a penicilina, mas a novos beta-lactâmicos que passaram a ser sintetizados, e que, inclusive, foram responsáveis pelo surgimento das cepas MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina) (Turner *et al.*, 2019). Enquanto a *K.pneumoniae* é considerada uma bactéria que possui multirresistência, visto sua ampla capacidade de resistir a uma enorme quantidade de antibióticos, como exemplo, a *Klebsiella Penumoniae carbapenemase*, que se distingue pela produção de uma β lactamase conhecida como carbapenemase (Sousa *et al.*, 2020).

A resistência bacteriana pode ser atribuída a várias causas. Pode derivar de mutações genéticas espontâneas, que resultam em alterações estruturais e funcionais na bactéria, ou se originar através da transferência horizontal de genes, um processo no qual elementos como plasmídeos desempenham um papel fundamental para facilitar o compartilhamento de material genético entre diferentes bactérias (Ferreira, 2021). Isso significa que, seja por mudanças genéticas intrínsecas, seja por meio da troca de genes com outras bactérias, a resistência pode emergir e se espalhar, tornando-se um desafio significativo no tratamento de infecções (Daniel *et al.*, 2020).

Em ambientes hospitalares, é constatado que a resistência bacteriana ocorre a quase todos os antibióticos ministrados, refletindo obstáculos em várias esferas, especialmente na terapêutica. Entre as causas para desenvolvimento de tal problemática, destacam-se o uso exacerbado de antibióticos, a falta de regulamentação quanto a prescrição, automedicação, tratamento de curta duração e o uso em diversas outras áreas, como agricultura, indústria de alimentos, criação de animais para consumo, etc (Barrantes *et al.*, 2022).

Nesse contexto, o ambiente hospitalar configura-se como o local mais propenso para o desenvolvimento de infecções e conseqüentemente a propagação de bactérias resistentes, seja por mutações induzidas ou por transferência horizontal de genes (Borges *et al.*, 2023). No caso do *Staphylococcus aureus* um dos principais genes associado a essa bactéria é o *MecA*, onde o mesmo confere resistência a meticilina, enquanto na *Klebsiella pneumoniae* temos a presença do gene *Bla_{KPC}*, estreitamente associado a produção de carbapenemase, originando assim, espécies resistentes carbapenêmicos (Dutra *et al.*, 2023).

Nesse estudo foram avaliados os perfis gênicos que conferem mecanismos de resistência às bactérias, que, segundo a literatura, são associadas com mais frequência como agentes etiológicos de pneumonias adquiridas em hospitais, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*.

1.1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.2 INFECÇÃO HOSPITALAR

A necessidade de internações para tratar possíveis patologias é comum na manutenção da saúde dos indivíduos. Entretanto, a necessidade dessa intervenção deixa o paciente suscetível ao desenvolvimento de infecções por micro-organismos oportunistas e patogênicos obrigatórios no ambiente hospitalar (Despotovic *et al.*, 2020). É neste contexto que tais pacientes podem ser acometidos com infecções secundárias, características das infecções hospitalares (Monegro *et al.*, 2023).

Infecções hospitalares são uma questão de longo prazo, entretanto, é evidente que essa preocupação permanece altamente significativa, considerando o aumento constante da mortalidade relacionada ao agravamento dessas infecções, especialmente em pacientes com sistemas imunológicos comprometidos (Sena *et al.*, 2022).

A Infecção Hospitalar (IH) é definida como uma síndrome que se desenvolve após a hospitalização, ou seja, o paciente não tinha sido previamente exposto ao patógeno. Essa infecção pode surgir após procedimentos ambulatoriais e manifestar-se durante o período internado ou após alta (Despotovic *et al.*, 2020).

2590

Estudos comprovam que cerca de 3% a 15% dos pacientes hospitalizados desenvolvem quadros de infecções adquiridas, principalmente aqueles que se encontram em Unidades de Terapia Intensiva (UTI), associadas aos métodos invasivos realizados, como utilização de cateteres, uso de imussopressores, sondas urinárias, ventilação mecânica, correlacionados com um período prolongado de internação (Teles *et al.*, 2020).

Segundo relatos publicados, dentre as infecções adquiridas em hospitais, a pneumonia está dentre as principais e mais notificadas. Observa-se que, em hospitais, o principal público alvo dessas infecções é a população idosa, principalmente com desenvolvimento de pneumonias, seguido de infecções do trato urinário e pneumonias associadas à ventilação mecânica (Osman *et al.*, 2021).

A pneumonia é definida como uma infecção do pulmão, que envolve especificamente os alvéolos e com isso a presença de micro-organismos no espaço alveolar e com resposta inflamatória intensa. A inflamação aguda do local, gerada pelo sistema imune, resulta na migração das células de defesa, constituindo características singulares quanto ao predomínio do

tipo celular. Em infecções bacterianas, é observado o predomínio de neutrófilos; já em infecções virais, de linfócitos. A resposta inflamatória resulta nos sintomas, como febre, mialgia, dores agudas no peito, tosse seca, secreção de muco purulento e dificuldade na respiração (Lim, 2022; Alves, 2023).

Diante disso, existe uma subclassificação para pneumonias, como a Pneumonia Adquirida em Hospital (PAH), classificada como aquela que desenvolve após 48 horas da internação do indivíduo; e a Pneumonia Associada a Ventilação Mecânica (PAV), que desenvolve após 48-72 horas de ventilação artificial (Leal, *et al.*, 2019).

As classificações e as características dos tipos de pneumonia, as personalizam para que, dentre outros aspectos, não possam ser confundidas com infecções similares, como a tuberculose, por exemplo. Vale ressaltar que, a pneumonia é uma infecção aguda, geralmente não transmissível e que pode se manifestar por diferentes micro-organismos; enquanto a tuberculose trata-se de uma doença crônica, com alto grau de contágio e restrita a bactéria *Mycobacterium tuberculosis* (Natarajan *et al.*, 2020).

Em pneumonias adquiridas no hospital, observa-se a prevalência, principalmente de bactérias resistentes a antibióticos, como exemplo de *Staphylococcus aureus* Resistentes a Meticilina (MRSA) (Rathbun *et al.*, 2022). Outra bactéria comumente associada ao desenvolvimento de pneumonias, é a *Klebsiella pneumoniae*, principalmente a *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC), prevalente em pacientes hospitalizados, imunocomprometidos, ou com dispositivos que quebrem a barreira imunológicas (Russo *et al.*, 2019).

Essas bactérias, juntamente com outros patógenos, como *Enterococcus faecium*; *Acinetobacter baumannii*; *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter*, formam a ESKAPE, um acrônimo, que compreende os patógenos virulentos e resistentes a antibióticos (Russo *et al.*, 2019). Porém, mesmo havendo esse complexo, é evidente nos relatos hospitalares, uma frequência bem maior na prevalência de infecções ocasionadas por duas espécies, sendo elas *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, tornando-as as mais preocupantes nesse contexto (Thuy *et al.*, 2021).

1.3 ACTÉRIAS RECORRENTES ASSOCIADAS A INFECÇÃO

Os hospitais tornam-se um meio extremamente propenso ao desenvolvimento desenfreado de cepas de bactérias resistentes, ocasionando infecções secundárias em pacientes internados (Sena *et al.*, 2022). Estudos comprovam que, no ambiente hospitalar, as IRAS são ocasionadas

em uma porcentagem de 20% por bactérias multirresistentes, onde as bactérias mais preocupantes do grupo das gram -positivas são as *Enterococcus* resistentes à vancomicina (VRE) e *Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina (MRSA), enquanto do grupo das gram-negativas temos as *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterobacter spp* (Szabó *et al.*, 2022).

Em um estudo realizado em um hospital de ensino, localizado em Minas Gerais, observou-se 44 casos de infecções hospitalares, onde 18 pessoas desenvolveram infecções relacionadas ao trato urinário e 9 pessoas desenvolveram pneumonia, sendo destes 5 passaram por ventilação mecânica. Observa-se ainda que 13 (27,7%) pessoas desenvolveram infecções pela bactéria *Klebsiella pneumoniae*, seguindo de 7 (14,9%) pessoas associadas a *Staphylococcus aureus* (Garcia *et al.*, 2013).

Outro estudo realizado no hospital do sudoeste do Paraná, teve como parâmetro 241 casos de infecções hospitalares, em um período de março a junho de 2016. Onde os principais achados, foram, 51 (21,6%) casos de *Escherichia coli*, seguido por 31(12,86%) casos de *Klebsiella spp* , e 18 (7,88%) casos de *Staphylococcus aureus* (Lima, 2017).

Um estudo realizado em 2020, no Hospital Universitário Dr. Washington Antônio de Barros em Petrolina – PE, utilizou como inclusão 92 pacientes com infecções adquiridas no hospital, onde dividiu-se as culturas em focos infecciosos. No foco respiratório, a *Staphylococcus aureus* ocupou a segunda posição, com 22% dos casos, enquanto a *Acinetobacter baumannii* foi o mais presente com 31% dos casos (Coelho *et al.*, 2021).

No hospital público de Palmas-Tocantins, foi realizado um rastreamento epidemiológico das cepas bacterianas mais recorrentes durante um período de três anos, de 2017 a 2019. Observou-se que em 841 casos de infecções hospitalares houve positividade para *A. baumannii*, seguido por 540 casos clínicos de *K. pneumoniae* em UTI (Puzi *et al.*, 2022).

Dessa forma, é possível destacar que mesmo em amostras variáveis, hospitais diferentes, independentemente do local e com lapsos temporais distintos, as bactérias mais recorrentes observadas em infecções hospitalares, se tornando as principais, são *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*.

1.4 STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Staphylococcus aureus são bactérias do gênero *Staphylococcus*, pertencente à família *Micrococcae*, cocos gram-positivos e catalase e coagulase positivos, com aproximadamente 0,5 a

1,5 um, que cresce de forma ideal a 37° e pH 7,4. Descrita a primeira vez em 1800, em secreções purulentas, pelo cirurgião Alexandre Ogston (Taylor *et al.*, 2023).

Normalmente fazem parte da microbiota humana, estima-se que 40% da população é colonizada por esta espécie, especialmente na pele e em mucosas. Todavia, são consideradas bactérias oportunistas, visto que podem causar desde infecções mais brandas, até infecções mais graves, como meningites, endocardite e bacteremia (Aquino *et al.*, 2022). Além disso, observa-se que *S. aureus* também são responsáveis por infecções secundárias, inclusive, são considerados os principais causadores de infecções do trato respiratório, como pneumonias graves, IRAS e pneumonias adquiridas em comunidades (Cheung *et al.*, 2021).

Tal versatilidade de colonização e infecção é uma das principais características de *S.aureus*, uma vez que a espécie apresenta uma impressionante capacidade de se adaptar ao meio que se encontra, e por isso representa um patógeno oportunista (Aquino *et al.*, 2022). São descritos cerca de no mínimo 15 fatores de virulência, 25 toxinas e 20 moléculas de evasão do sistema imunológico (Jenul *et al.*, 2019). Compostos como fibrinogênio, fibronectina e colágeno do hospedeiro, são importantes para adesão dessa bactéria, que são mediadas por um complexo proteico denominado MSCRAMMs (*Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules*). Paralelo a isso, essas bactérias secretam um grupo de enzimas e citotoxinas que incluem as toxinas hemolíticas, nucleases, proteases, lipases, hialuronidase e colagenase. Todas essas enzimas, exercem uma importante função para a promoção e manutenção da infecção, visto que atuam na conversão do tecido do hospedeiro em nutrientes (Acosta, *et al*, 2017).

2593

Além dos mecanismos de patogenicidade que influenciam diretamente adesão, proliferação e infecção no hospedeiro, *S. aureus* apresentam outros fatores que potencializam sua virulência, como um perfil gênico envolvido na resistência a antibióticos normalmente usados na terapia das infecções. Com a introdução da terapêutica, potencializada com antibióticos, principalmente nos anos 50, surgiram as primeiras cepas de *S. aureus* resistentes a penicilina. Posteriormente, houve a introdução de outro antibiótico na clínica, a meticilina, porém após apenas 2 anos, houve o aparecimento de cepas resistentes a meticilina (Guo *et al.*, 2020).

A resistência dos *Staphylococcus aureus* é resultado de mutações gênicas ou aquisições de genes, de outras bactérias ou da mesma espécie. A resistência por mutação está correlacionada a alterações nos sítios de ação dos antibióticos, enquanto a resistência por aquisição de genes, se relaciona a produção de enzimas capazes de inativar ou degradar os antibióticos. Nesse último

caso, ocorre o envolvimento de transferência de plasmídeos, transposons e cassetes, como as classes do *SCCmec*, responsáveis por carrear o principal gene de resistência do MRSA, o gene *mec* (Silva *et al.*, 2020; Cussolim, 2021).

O mecanismo de ação dessa bactéria, principalmente contra a penicilina, se dá pela capacidade da mesma em produzir penicilase, uma enzima capaz de hidrolisar o anel β -lactâmico da penicilina, inativando a mesma e tornando-a resistente. Com a introdução de uma penicilina semissintética, a meticilina, que tinha a capacidade de resistir a penicilase, ou seja, a hidrólise da β -lactamase, surgiram as primeiras cepas resistentes a esse antibiótico, a *Staphylococcus Aureus* Resistente a Meticilina (MRSA), devido à presença do *mec*, gene que codifica a proteína de ligação da penicilina 2a ou 2' (PBP2a ou PBP2'), conferindo além da β -lactamase, uma proteína de ligação adicional β -lactâmica, e conseqüentemente resulta na resistência a esse antibiótico (Guo *et al.*, 2020; Cussolim, 2021).

2. *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Klebsiella pneumoniae é um micro-organismo procariótico, classificado como uma bactéria gram-negativa, pertencente à família Enterobacteriaceae. Apresenta uma morfologia característica em forma de bastonete e é caracterizada por sua imobilidade. Esta espécie bacteriana demonstra habilidade em metabolizar glicose, metaboliza a lactose, utiliza o citrato como fonte de carbono e também hidrolisa a uréia (Azevedo *et al.*, 2020). Um fato interessante, é que o seu isolamento inaugural foi realizado por Carl Friedlander, no ano de 1882, em amostras obtidas dos tecidos pulmonares de indivíduos que sucumbiram devido a quadros de pneumonia (Gonzalez-ferrer *et al.*, 2021).

Estas bactérias apresentam uma ampla distribuição ecológica, com capacidade de colonização em diversos ambientes, incluindo superfícies, ambientes aquáticos, solos e, notadamente, o microbioma humano. Em seres humanos, a *Klebsiella pneumoniae* é predominantemente alojada no trato gastrointestinal, mas também pode ser detectada na nasofaringe, o que estabelece uma via potencial para sua entrada na corrente sanguínea (Martens *et al.*, 2022). Além do sítio de colonização, fatores como expressão gênica irá estabelecer seu potencial patogênico, podendo ser observada uma transição de forma simbiótica para infectante. *Klebsiella pneumoniae* é capaz de induzir uma gama variada de manifestações clínicas, desde infecções do trato urinário até casos graves de pneumonia, sobretudo em unidades de terapia

intensiva, frequentemente associadas a pacientes em ventilação mecânica (VAP) (Remya *et al.*, 2019).

Por conseguinte, a *K.pneumoniae*, é dotada de alguns mecanismos que lhe garantem maior proteção contra o sistema imunológico e potencializando sua patogenicidade, destacando –se estruturas como a cápsula, a qual lhe garante proteção contra a fagocitose (Silva *et al.*, 2023). Outro fator são os lipopolissacarídeos, que contém na sua estrutura o lipídeo A e antígeno O. O lipídeo A auxilia na ativação do sistema complemento, libera citocinas que são responsáveis pela cascata de inflamação e conseqüentemente reflete no hospedeiro sintomatologias como, febre, inflamação e leucocitose, enquanto o antígeno O é responsável pela antigenicidade da bactéria. Além disso, destaca-se a síntese de sideróforos, que detém a capacidade de transportar o ferro, essencial na manutenção metabólica da bactéria (Riwu *et al.*, 2022).

Além de sua estrutura morfológica e expressão gênica atuantes no seu mecanismo de patogenicidade, outro importante fator contribui para a evolução da *K.pneumoniae*, a resistência aos antibióticos, favorecendo na cronicidade das infecções que acometem os pacientes e, concomitante e conseqüentemente, nos obstáculos terapêuticos (Gato *et al.*, 2022). Desse modo, são observados dois tipos de resistência nessas bactérias, um envolvendo a expressão de β -lactamases de espectro estendido (ESBLs), incluindo nesse caso, os betalactâmicos cefalosporinas e monobactâmicos; e outro, envolvendo a expressão de carbapenemases, dando origem a *Klebsiella Pneumoniae carbanemase* (KPC), cepa resistente a quase todos β -lactâmicos, além dos carbapenêmicos (Aionoda *et al.*, 2019).

2595

A primeira cepa de *K. pneumoniae* resistente a penicilina foi diretamente associada a descoberta das classes de genes de β -lactamases, *bla* SHV-1 e *bla* TEM-1, posteriormente, foi identificado ainda nessa bactéria, o gene de amplo espectro contra β -lactâmicos, o *bla* SHV-2, e esse foi definido como o primeiro ESBLs, logo após, outra variante, mediada por plasmídeos, foi encontrada em *K. pneumoniae*, com o gene *bla* TEM-3. Com isso, desde o surgimento dos ESBLs, essa bactéria tem se tornado a principal transmissora de plasmídeos ou transposons codificadores dessa enzima (Wang *et al.*, 2020).

A resistência aos carbapenêmicos pela *K.pneumoniae* está relacionada a uma gama de mecanismos, tais como a relação existente entre a redução da permeabilidade da membrana e a produção de β -lactamases. Nesse contexto, é importante ressaltar, que existem diferentes genes de carbapenemase constituintes da *K. pneumoniae*, porém uma das associações que conferem

maior disseminação da resistência entre essas bactérias, está relacionada ao transposon Tn 4401 e o gene *bla_{KPC}*, codificando a enzima *carbapenemase*, capaz de hidrolisar os carbapenêmicos, quando associados a deficiência de permeabilidade da membrana (Wozniak *et al.*, 2021).

2.1 FATORES DE AQUISIÇÃO DE RESISTÊNCIA

2.2 Mutação

As bactérias são agentes suscetíveis a diversas alterações em seu material genético, que podem vir a ocasionar a resistência, como a observada nos casos de terapia com antibióticos (Abrantes *et al.*, 2021).

Nesse contexto, existem diferentes classificações para tais mutações que conferem resistência, sendo elas, a resistência natural onde a mesma é caracterizada por fatores intrínsecos da própria bactéria, como aquelas expressas naturalmente ou induzidas, quando os genes se encontram normalmente nas bactérias, porém são expressos apenas quando exposto a algum estresse (Watford *et al.*, 2023). Outra forma de aquisição, é através da resistência adquirida, nesse caso, fatores como mutações em seu próprio DNA cromossômico ou transferências horizontais estão envolvidos (Arnold *et al.*, 2022).

2596

Geralmente, as mutações envolvem uma sequência de mudanças de um mesmo gene, muitas vezes sendo esses genes, responsáveis por codificar o sítio alvo do antibiótico. Essas mutações são divididas em espontâneas e aquelas induzidas. São ocasionadas, normalmente, por substituição, que ocorre devido a troca de uma ou mais pares de bases; inserção, que é caracterizada como a adição de pares de bases na estrutura do DNA, mudando a ordem de leitura durante a replicação e transcrição e por fim; a deleção, que se trata da retirada de pares de bases do DNA, modificando toda sua estrutura (Ferreira, 2021).

2.3 Transferência horizontal

A transferência horizontal de material genético é um dos principais mecanismos subjacentes à ampliação e à diversificação da variabilidade genética bacteriana (Hall *et al.*, 2020). Essa manifestação pode ocorrer de diversas maneiras, notadamente através da transformação, conjugação e transdução, sendo este último menos prevalente quando se trata da aquisição de resistência antimicrobiana (Teixeira *et al.*, 2019).

O processo de transformação é caracterizado pela incorporação de fragmentos dispersos de DNA presentes no ambiente por uma bactéria receptora. Esse processo frequentemente envolve a lise da bactéria doadora, de modo que uma bactéria receptora adquira e integre as sequências de DNA exógeno em seu próprio genoma (Hall *et al.*, 2020).

Por outro lado, a conjugação é um mecanismo que envolve a participação ativa de plasmídeos, moléculas de DNA extracromossômicas que frequentemente abrigam genes que conferem vantagens adaptativas às bactérias hospedeiras, como genes de resistência a antimicrobianos (Neil *et al.*, 2021). A conjugação ocorre por meio de uma estrutura conhecida como pílí, na qual uma bactéria doadora, denominada F⁺ (portadora de um plasmídeo de fertilidade), transfere o material genético para uma bactéria receptora, denominada F⁻ (Virolle *et al.*, 2020).

Finalmente, a transferência por transposição envolve segmentos móveis de DNA, chamados transposons, que utilizam a conjugação como veículo para sua incorporação nos genomas, podendo ser incorporados tanto em plasmídeos quanto em cromossomos bacterianos (Bertocchi *et al.*, 2022). Posteriormente, esses elementos podem ser transmitidos entre diferentes bactérias, contribuindo para a propagação de informações genéticas, incluindo genes de resistência a antibióticos, entre ambientes bacterianos (Haudiquet *et al.*, 2022).

2.4 METÓDOS DA ANÁLISE GENÔMICA

Dentre as técnicas que são empregadas como ferramentas fundamentais na identificação do material genético, são destacadas a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e o sequenciamento (Forero *et al.*, 2023).

A Reação em Cadeia da Polimerase, frequentemente referida como PCR, é uma técnica inovadora desenvolvida em 1983. Seu princípio específico é a capacidade de amplificar segmentos específicos de genes por meio da ação da DNA polimerase termoestável. Esta enzima tem a capacidade de realizar a replicação exponencial de fragmentos de DNA de interesse após ser empregado o uso de oligodesoxinucleotídeos denominados primers ou iniciadores (Gannam *et al.*, 2023).

Em termos mais precisos, quando o fragmento alvo de DNA está presente na amostra sob investigação, a PCR é capaz de realizar uma amplificação seletiva desse alvo, conferindo à técnica sua notável seletividade. A realização da PCR envolve uma combinação de uma mistura

contendo DNA polimerase *Taq*, o DNA alvo, *primers* e os quatro desoxirribonucleosídeos trifosfato (dNTPs) em uma solução integrada. O processo de amplificação do DNA segue uma sequência de etapas, incluindo a desnaturação, hibridização e alongamentos do DNA alvo. Finalmente, os produtos de amplificação são analisados por meio de eletroforese, permitindo a identificação dos fragmentos amplificados com base em sua mobilidade eletroforética, que resulta na formação de bandas distintas com base em seu tamanho molecular (Kadri, 2020; Putra *et al.*, 2020)

Já o sequenciamento de DNA é um processo que capacita a determinação da sequência precisa dos nucleotídeos em uma molécula de ácido desoxirribonucleico. Essencialmente, essa técnica tem a capacidade de elucidar a organização exata das quatro bases de nucleotídeos - adenina, guanina, timina e citosina - dentro da molécula de DNA. O método de sequenciamento amplamente empregado é conhecido como método de Sanger (Silva *et al.*, 2022).

O método de Sanger é fundamentado na utilização de didesoxirribonucleotídeos (ddNTPs), que são variantes de nucleotídeos modificados, descritos pela ausência do grupo OH livre no carbono 3' da pentose. Cada base nitrogenada é correspondente a um ddNTP específico. Este método revolucionou a determinação da sequência de DNA, permitindo que houvesse a desvendarem a ordem precisa de nucleotídeos em uma molécula de DNA de maneira sistemática e precisa (Levy *et al.*, 2019; Crossley *et al.*, 2020).

2598

Desse modo, foi possível que os genes mais comumente associados a ambas as bactérias, como o *MecA* e *Bla_{KPC}*, fossem descobertos e elucidados, auxiliando assim no rastreamento da origem dos mecanismos que conferem a tais bactérias, *S.aureus* e *K.pneumoniae*, resistências a uma gama diversificada de antibióticos (Forero *et al.*, 2023).

3. METODOLOGIA

Neste estudo, foi conduzido uma revisão de literatura do tipo integrativa, a qual, por meio da análise crítica de artigos científicos, tem como objetivo sintetizar sistematicamente os resultados oriundos de pesquisas, proporcionando uma visão abrangente sobre o tema em questão.

Na primeira etapa deste estudo, foram estabelecidas as palavras chaves para direcionamento, sendo elas, “Resistência bacteriana”; “Pneumonia”; “*Staphylococcus aureus*”; “*Klebsiella pneumoniae*” e “genes”, os resultados forneceram uma minuciosa caracterização do

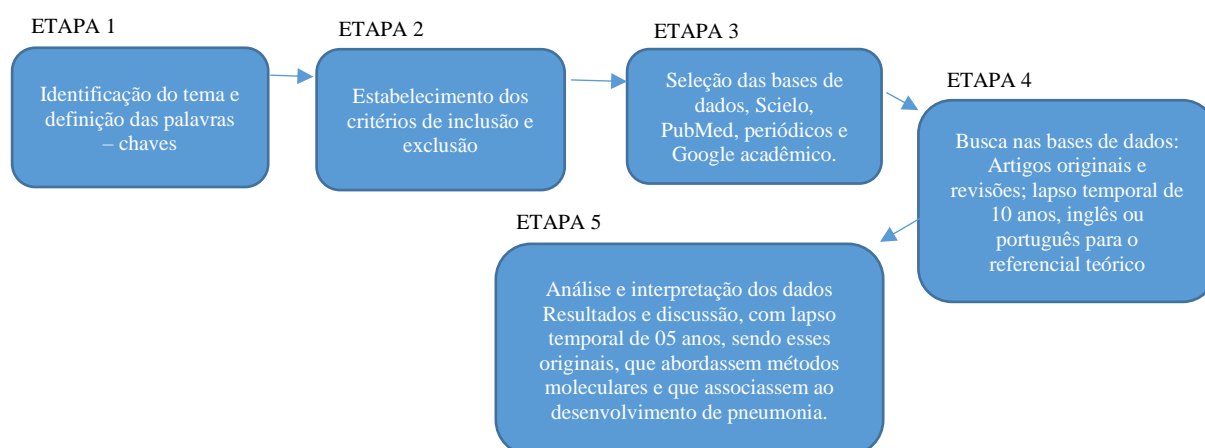
perfil genômico das bactérias resistentes a antibióticos que frequentemente são responsáveis por infecções hospitalares, notadamente pneumonias. A avaliação do perfil genômico considerou o levantamento dos genes responsáveis pelas resistências das espécies de interesse e a descrição das metodologias empregadas na sua determinação, destacando-se as técnicas de biologia molecular Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e sequenciamento. A análise genômica concentrou-se em bactérias de importância clínica, com ênfase especial nas espécies *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*.

A pesquisa foi realizada por meio da exploração de diversos repositórios de informações, incluindo Google Acadêmico, Scielo, PubMed, revistas científicas e portais de periódicos, com o intuito de identificar artigos científicos que contribuíssem para a construção do referencial teórico, respeitando o lapso temporal de 2013 a 2023. Além do período, os critérios para seleção incluem serem originais ou revisões, inglês ou português, que abordem as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* e mencionem a relação existente da organização genômica e o desenvolvimento da pneumonia.

Posteriormente, foram selecionados os artigos utilizados nesse referencial teórico para resultados e discussões, obedecendo aos critérios de serem originais, para que demonstrem seus resultados obtidos nas análises das espécies resistentes, publicados nos últimos 5 anos e que tenham abordado técnicas de biologia molecular para a análise genômica. Todas as etapas abordadas nesse estudo foram demonstradas no esquema abaixo.

2599

Figura 01. Esquema das etapas da metodologia abordada nesse estudo.



3.1 RESULTADO E DISCUSSÃO

As bactérias *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* estão intimamente ligadas à ocorrência de infecções hospitalares, especialmente quando relacionadas a dispositivos médicos, como aqueles usados em ventilação mecânica. Essa associação está diretamente relacionada ao perfil de resistência desenvolvido por essas bactérias, que tem sua origem na diversidade genômica, resultando em implicações significativas, como o aumento no período de internação e, como consequência, um aumento preocupante nas despesas de tratamento, juntamente com um aumento alarmante nas taxas de mortalidade associadas a pneumonias e outras manifestações clínicas, como cita Murray *et al.*, (2022).

Os presentes resultados foram obtidos respeitando os critérios pré-estabelecidos, sendo esses originais e que abordassem as duas principais bactérias de interesse para análise, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*. Ambas as espécies apresentam relação direta nos casos de desenvolvimento de pneumonia, sendo trabalhados 3 artigos para cada espécie. Como representado no Quadro 01, ao total foram analisados seis artigos, com período de aquisição diferentes e origem de infecção diversificadas, porém, em sua totalidade, incluem amostras que se relacionam com o sistema respiratório, principal tema abordado nesse estudo. Além disso, os artigos abordam os principais genes relacionados a resistência bactéria associada a pneumonia adquirida em hospitais. Embora correlacionem entre si, cada estudo apresenta suas peculiaridades referentes aos resultados.

2600

Quadro 01. Origem e período de aquisição das amostras

	Autores	Infecção/ Origem	Período de aquisição
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bonesso <i>et al.</i> , 2023.	Pneumonia, após ventilação mecânica	Entre novembro de 2011 a agosto de 2013.
	Kot, <i>et al.</i> , 2019.	Infecções variadas*	Entre 2015 a 2017.
	Cabrera <i>et al.</i> , 2020.	Pneumonia, após ventilação mecânica.	Entre setembro de 2013 a dezembro de 2016.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Kazemian <i>et al.</i> , 2019.	Infecções variadas	Entre abril de 2016 a março de 2017.
	Alhazmi <i>et al.</i> , 2022	Infecções variadas **	Entre abril e julho de 2018.
	Ferreira <i>et al.</i> , 2019	Infecções variadas***	Entre janeiro e maio de 2015.

* Feridas abertas; ânus; amostras sanguíneas; lavados broncoalveolares; trato respiratório; urina; pus; escarros; esfregaços de nariz, garganta, tubo de traqueotomia, tubo endotraqueal e cateter.

** Sangue, expectoração, urina, esfregaços de feridas, pontas de cateteres intravasculares, tecidos e fluidos corporais.

*** Aspirado traqueal, swab retal, dreno cirúrgico, ferida, ponta do cateter, líquido cefalorraquidiano, abscesso, urina e escarro.

Há relatos de variados antibióticos que são amplamente utilizados no tratamento de pneumonia, unicamente ou em associações, como ciprofloxacina, eritromicina, gentamicina, entre outros. De acordo com um estudo realizado por Kot *et al.*, (2019), onde um total de 112 amostras foram positivas para MRSA e todos foram submetidos a um teste de sensibilidade antimicrobiana, foi possível identificar resistência a uma diversidade de antibióticos (quadro 2). Neste estudo, onde todas as amostras foram testadas contra 9 grupos de antibióticos, a maioria apresentava resistência a pelo menos 3 grupos de uma vez, sendo denominado MDR (estirpes multirresistente), totalizando 92,9% das amostras, tal resultado é preocupante, devido à dificuldade que apresenta frente a situação sanitária (Carvalho *et al.*, 2021).

Em concordância com o anterior, outros dois estudos, Bonesso *et al.*, (2023) e Cabrera *et al.*, (2020), apresentaram em suas amostras um total de 100% para resistência a meticilina e eritromicina, além de acrescentar outros antibióticos como, gentamicina, cefoxitina e tetraciclina.

Diante disso, Cabrera *et al.*, (2020), apresenta também resultados em mais de 40% de suas amostras para MDR, ou seja, evidencia o crescimento de mais espécimes de bactérias que se tornaram multirresistente, resultando em impacto direto na terapêutica dos pacientes internados e enfermos, devido à escassez de alternativas, tal problemática pode ser diretamente associada ao consumo indiscriminado de antibióticos, conseqüentemente ligada a diversificação genômica que tal ato proporciona, afetando negativamente diversos níveis no país, visto as milhões de mortes que ocorrem anualmente por essas bactérias, como aponta a OMS (Parmanik *et al.*, 2022). 2601

Ainda de acordo com o Quadro 02, nos estudos que abordavam a bactéria *Klebsiella pneumoniae*, todos os achados coincidiram com a resistência observada nessas bactérias para carbapenêmicos, além daqueles observados para EBLs. Os carbapenêmicos são antibióticos de escolha para tratamentos de infecções ocasionadas por bactérias gram-negativas produtoras de EBLs que possuem capacidade de hidrolisar uma grande diversidade de β -lactâmicos, com isso os carbapenêmicos por possuírem instabilidade, conseguem resistir à hidroxilação causada pela hidrólise da beta-lactamase. Entretanto, com o uso exacerbado desses antibióticos levaram ao surgimento bactérias resistentes ao mesmo, como aponta Lau *et al.*, (2021).

Quadro 02. Caracterização da resistência a antibióticos

	Autores	Resistência	Não suscetível
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bonesso <i>et al.</i> , 2023.	Positivas: 51 Negativas: 0	Penicilina; eritromicina; oxacilina; clindamicina; ceftazidima; cefoxitina; metilicina.
	Kot, <i>et al.</i> , 2019.	Positivas: 112 Negativas: 0	Penicilina; metilicina; ceftazidima; fluoroquinolonas; tetraciclina; ampicilina; gentamicina; trimetoprima com sulfametoxazol.
	Cabrera <i>et al.</i> , 2020.	Positivas: 17 Negativas: 03	Metilicina; ciprofloxacina; eritromicina; gentamicina; tetraciclina; clindamicina; ácido fusídico.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Kazemian <i>et al.</i> , 2019.	Positivas: 90 Negativas: 0	Houveram resistência a antibióticos de espectro estendido, betalactâmicos e carbapenêmicos.
	Alhazmi <i>et al.</i> , 2022	Positivas: 191 Negativas: 0	Ceftazidima, cefepima; piperacilina-tazobactam; tigeciclina e colistina; meropenem e ertapenem (carbapenêmicos).
	Ferreira <i>et al.</i> , 2019	Positivas: 25 Negativas: 0	Ampicilina; cefuroxima; ceftazidima; ceftazidima; cefepima; imipenem; meropenem; piperacilina; ertapenem; gentamicina; ciprofloxacina; colistin; tigecycline.

Como representado pelo Quadro 03, os estudos foram realizados em sua totalidade por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando primers específicos para cada gene que foi pesquisado. Para Kot *et al.*, (2019), os genes identificados foram os *MecA*, que confere resistência a tal bactéria através da codificação de uma proteína de ligação à penicilina PBP2a que bloqueia a ação inibitória na reticulação do peptidoglicano (Tasneem *et al.*, 2020), foi identificado o gene *blaZ*, onde o mesmo está relacionado a síntese da β -lactamase, uma enzima que tem capacidade de quebrar o anel betalactâmico de derivados da penicilase (Cussolim, 2021).

Por conseguinte, se torna válido ressaltar a associação citada entre ambas pesquisas, o *MecA* e o cassete da classe, *SCCmec*, que é um elemento móvel, responsável por carregar tal gene, esses elementos de tamanhos variáveis, são subdivididos em 14 tipos, entretanto, estudos apontam que os tipos I a III, são os mais associados as cepas de *S.aureus*, localizadas em hospitais (Jonh *et al.*, 2020).

Diante disso, Bonesso *et al.*, (2023), identificou em suas amostras, duas cepas que divergem dos principais tipos de cassetes encontrados, pois, nesse caso, as associações identificadas foram com o *SCCmec* tipo 1 e 4. Além que nesse estudo, a capacidade dos *S.aureus* em formar biofilmes foi citada, como um bom fator de virulência, principalmente na região do tubo endotraqueal, antes mesmo dos pacientes desenvolverem pneumonia, sugerindo assim, que,

os pacientes que desenvolveram pneumonia por essa bactéria, já haviam sido colonizados anteriormente pela mesma.

Paralelamente, Cabrera *et al.*, (2020), apresenta em seu estudo uma ampla variedade de genes e identificação de mutações nos mesmos, como identificado no complexo *gyrA*, *gyrB* (DNA girasse), *grlA* e *grlB* (topoisomerase IV) responsáveis por codificarem essas proteínas, que são alvos do ciprofloxacina (Carneiro *et al.*, 2020), enquanto os genes *ermC*; *ermA* são responsáveis pela resistência da mesma a eritromicina; *TetK* conferindo resistência a tetraciclina, através de alterações na bomba de efluxo; *aac(6')/aph(2'')* conferindo resistência a gentamicina e por continuidade, temos o gene *fusB*, onde o próprio confere resistência ao ácido fusídico, e se localiza no DNA cromossômico, não de forma extracromossomal.

Tal diversidade genômica, apresentada nesses estudos, evidenciam tamanha problemática, que, segundo Smith *et al.*, (2020), contribuem diretamente para uma ameaça à saúde, principalmente, por apresentar uma grande dificuldade aos pesquisadores no rastreamento desses genes, dificultando a extração do DNA, visto muitas vezes suas associações com elementos moveis, além de configurarem um auto custo para levantamento dos mesmos em uma escala elevada.

Quadro 03. Genes de resistências, suas origens e métodos de análise.

	Autores	Método de análise	Genes de resistência	Origem
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bonesso <i>et al.</i> , 2023.	PCR	<i>mecA</i>	Cassete cromossômico estafilocócico <i>mec</i> (SCC <i>mec</i>)
	Kot, <i>et al.</i> , 2019.	PCR	<i>blaZ</i> ; <i>mecA</i> .	SCC <i>mec</i> ; plasmídeo
	Cabrera <i>et al.</i> , 2020.	PCR	<i>ermC</i> ; <i>ermA</i> ; <i>aac(6')/aph(2'')</i> ; <i>tetK</i> ; <i>gyrA</i> , <i>gyrB</i> , <i>grlA</i> e <i>grlB</i> ; <i>fusB</i> .	<i>ermA</i> (cromossomo); <i>ermC</i> (plasmídeo); <i>aac(6')/aph(2'')</i> (<i>transposon Tn4001</i>); <i>TetK</i> (plasmídeo); <i>fusB</i> (cromossomo); <i>grlA</i> (plasmídeo); <i>gyrA</i> , <i>gyrB</i> , <i>grlA</i> e <i>grlB</i> (cromossomo).
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Kazemian <i>et al.</i> , 2019.	PCR	<i>bla TEM</i> ; <i>bla SHV</i> ; <i>bla CTX-M</i> ; <i>bla DHA</i> , <i>bla CIT</i> ; <i>bla EBC</i> ; <i>bla VIM</i> ; <i>bla OXA-48</i> ; <i>bla IMP</i> .	Plasmídeos
	Alhazmi <i>et al.</i> , 2022	PCR multiplex	<i>bla OXA48</i> ; <i>bla NDM</i> ; <i>bla VIM</i> e <i>bla KP C</i> .	<i>bla KPC</i> (<i>transposon Tn 4401</i>); <i>bla OXA-48</i> (plasmídeo // cromossomo); <i>bla NDM</i> (plasmídeo).
	Ferreira <i>et al.</i> , 2019	PCR e sequenciamento	<i>bla TEM</i> ; <i>bla KPC</i> ; <i>bla OXA-11</i> ; <i>bla SHV</i> ; <i>bla CTX-M</i> .	<i>bla KPC</i> (<i>transposon Tn 4401</i>); <i>bla SHV</i> (plasmídeos); <i>bla CTX-M</i> (plasmídeos); <i>bla OXA-1</i> (plasmídeos).

O mecanismo de resistência aos carbapenêmicos está intimamente relacionada a produção de enzimas por parte da *Klebsiella pneumoniae*, sendo essas enzimas denominadas carbapenemases e classificadas em classe A (KPC), classe B (VIM, IMP e NDM) e classe D (OXA-48). Essas classes são amplamente relatadas em associações com graves infecções, impossibilitando o tratamento, como mencionam estudos (Eichenberger *et al.*, 2019). Diante disso, como observado no quadro 03, Kazemian *et al.*, (2019), realizou um estudo com 90 amostras, onde os resultados apresentados, detinham 36 cepas com genes de EBLs, como *bla*_{TEM}; *bla*_{SHV}; *bla*_{CTX-M}; genes associados a AmpC foram detectados em 22 isolados, sendo esses *bla*_{DHA}, *bla*_{CIT}; *bla*_{EBC} e genes produtores de carbapenemases foram relacionados ao achados de *bla*_{VIM}; *bla*_{OXA-48}; *bla*_{IMP};, sendo encontrados em 34 cepas. Ainda nesse estudo, um achado foi muito importante, um único isolado de *K.pneumoniae*, detinha 3 genes de EBLs, 1 AmpC e 3 genes de carnapenemases simultaneamente, demonstrando a complexidade dessa bactéria, porém nenhuma cepa foi positiva para KPC.

Em concordância com os resultados anteriores, Alhazmi *et al.*, (2022), utilizou 191 amostras, onde 157 encontravam o gene *bla*_{oxa-48}, 27 *bla*_{NDM}, e apenas 1 isolado com *bla*_{VIM} e *bla*_{KPC}, e 15 isolados eram MDR, visto que continham tanto o gene *bla*_{oxa-48} quanto o *bla*_{NDM}. Diante disso, 2604 foi observado no estudo que, 80% dos isolados vieram de pacientes idosos, com mais de 60 anos, enquanto menos de 1% foram obtidos em menores de 20 anos, tal relação pode ser evidenciado em outros estudos, que demonstram que a faixa etária onde há prevalência de mortalidade por infecções ocasionadas por bactérias resistentes são os idosos, com manifestações como pneumonia, entre outras, podendo ser associada principalmente a fragilidade da resposta imunológica destes como apontam Nguyen *et al.*, (2019); Biguenet *et al.*, (2023).

Em contrapartida, o estudo realizado por Ferreira *et al.*, 2019, demonstrou que todos os seus isolados continham o gene *bla*_{KPC}, fato esse que não foi observado nos outros estudos, entretanto, é evidenciado em diversos resultados que a associação mais observada em *K.pneumoniae* e que auxilia na disseminação da resistência da mesma está correlacionada ao complexo do transposon Tn 4401 e o gene *bla*_{KPC}, como aponta Wozniak *et al.*, (2021), por conseguinte, os outros isolados detinham ao total 25 *bla*_{TEM}; 24 *bla*_{SHV}, 21 *bla*_{OXA-1}; 18 *bla*_{CTX-M1}, sendo esses relacionados a produção de β-lactamases de espectro estendido (EBLs), que resulta

em resistência aos antibióticos, ampicilina, ticarcilina, piperacilina e cefalosporinas (Landolsi *et al.*, 2022).

Por fim, observa-se em quase sua totalidade, tanto relacionado a *Staphylococcus aureus*, quanto *Klebsiella pneumoniae*, a ocorrência de multirresistência (MDR), visto a constante associação de mais de um gene que confere resistência a diferentes antibióticos simultaneamente, principalmente em hospitais, associados a pneumonias ou correlacionados ao trato respiratório, onde foram coletadas as amostras. Logo abaixo, na figura 02, temos a representação geral dos principais genes encontrados em todas as pesquisas e as respectivas resistências que os mesmos conferem, além de demonstrar suas origens nos elementos genéticos.

Figura 02. Relação dos genes das bactérias *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus* e suas respectivas resistências.

Relação dos genes nas bactérias *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus* e suas respectivas resistências

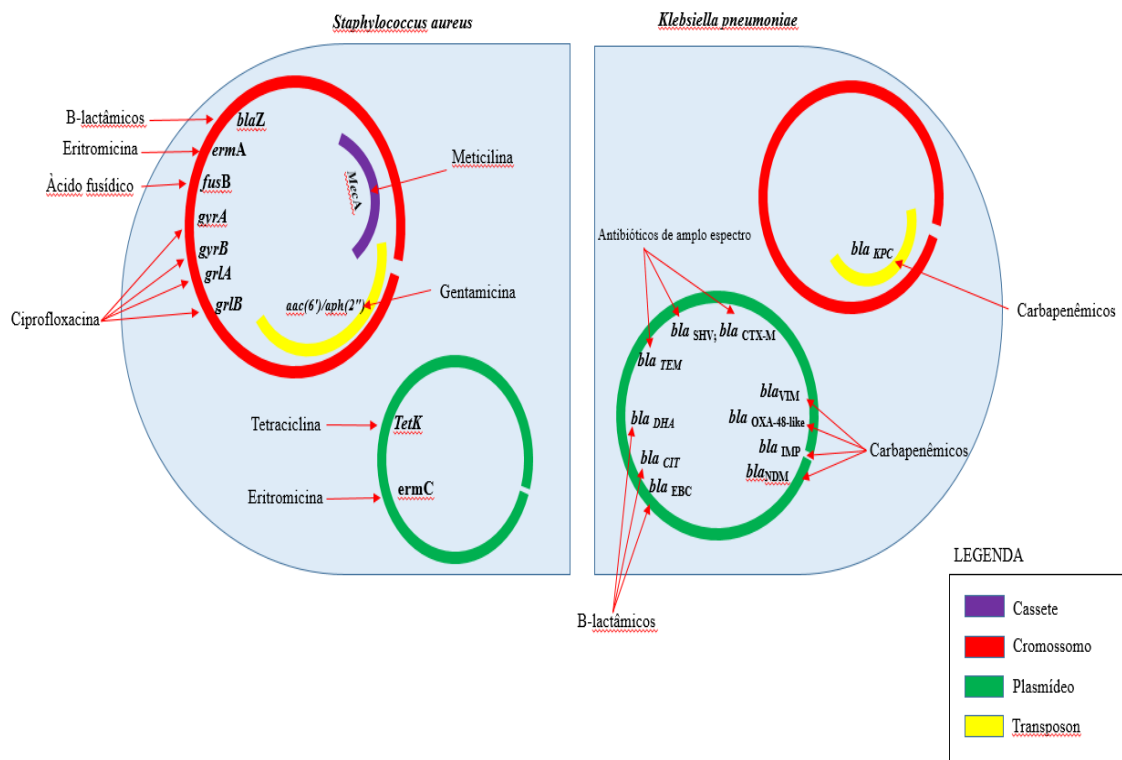


Fig. 02. No lado esquerdo, temos a representação da bactéria *Staphylococcus aureus*, com seus respectivos genes, e suas origens, enquanto, no lado direito representa-se a *Klebsiella pneumoniae*, com seus genes de resistência. Sendo assim, representado em vermelho o cromossomo, em roxo o cassete cromossômico, amarelo o transposon e por fim, em verde o plasmídeo, de ambas as bactérias.

CONCLUSÃO

Nesse estudo foi possível observar a diversidade genômica das principais bactérias causadoras de pneumonias no âmbito hospitalar, sendo elas, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, tal diversidade, possibilita a resistência a uma enorme gama de antibióticos, além de demonstrar o crescente surgimento de bactérias multirresistentes, refletindo assim, uma enorme problemática na saúde pública, resultando cada vez mais em dificuldades para rastreamentos dessas cepas e controle das mesmas, principalmente em países subdesenvolvidos.

Não há dúvidas que a compreensão do comportamento genético, epidemiológico e os mecanismos de resistências dessas bactérias são de grande importância para controlar a propagação de tais cepas, além do desenvolvimento de alternativas terapêuticas e de novos métodos de diagnósticos, nesse contexto, a tecnologia molecular se mostra de grande auxílio nesse rastreamento, para elucidação de futuros questionamentos que possibilitem pesquisas mais específicas nessa área.

REFERÊNCIAS

ACOSTA, A. et al. Fatores de virulência de *Staphylococcus aureus*. *Medicina Veterinária (UFRPE)*, Recife, 2017.

2606

ALHAZMI, W.; AL-JABRI, A.; AL-ZAHRANI, I. The Molecular Characterization of Nosocomial Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Co-Harboring bla_{NDM} and bla_{OXA-48} in Jeddah. *Microbiology Research*, v. 13, n. 4, p. 753-764, dez. 2022.

AINODA, Y. et al. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing *Klebsiella pneumoniae* ST258 isolated from a Japanese patient without a history of foreign travel - a new public health concern in Japan: a case report. *BMC Infectious Diseases*, v. 19, n. 1, p. 20, 7 jan. 2019.

ALMEIDA, M. et al. STAPHYLOCOCCUS AUREUS. *Mostra Científica em Biomedicina*, v. 1, n. 1, 21 mar. 2017.

ALVES, B. / O. / O.-M. *Pneumonia | Biblioteca Virtual em Saúde MS.*, [s.d.]. Disponível em: <<https://bvsms.saude.gov.br/pneumonia-5/>>. Acesso em: 26 maio. 2023

AQUINO, M. de S. ; SILVA, C. M. da. *Staphylococcus Aureus* and its importance in the context of nosocomial infections: literature review. *Research, Society and Development*, [S. l.], v. 11, n. 14, p. e519111436568, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i14.36568.

ARNOLD, B. J.; HUANG, I.-T.; HANAGE, W. P. Horizontal gene transfer and adaptive evolution in bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, v. 20, n. 4, p. 206-218, abr. 2022.

AZAM, S. et al.. Molecular Characterization and Mutational Analysis of Fluoroquinolones and Tetracycline Resistant Genes of *Escherichia coli* Isolated from UTI Patients. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 65, p. e22210199, 2022.

BARRANTES JIMÉNEZ, K. et al. El impacto de la resistencia a los antibióticos en el desarrollo sostenible. **Población y Salud en Mesoamérica**, v. 19, n. 2, p. 305–329, jun. 2022.

BERTOCCHI, N. Á. et al. Interpopulation variation of transposable elements of the *hAT* superfamily in *Drosophila willistoni* (Diptera: Drosophilidae): *in-situ* approach. **Genetics and Molecular Biology**, v. 45, p. e20210287, 16 mar. 2022.

BONESSO, M. F. et al. A Study on the Epidemiological-Molecular Role of *Staphylococcus aureus* Strains in the Development of Ventilator-Associated Pneumonia in a Tertiary Hospital in Brazil. **Antibiotics**, v. 12, n. 8, p. 1336, 18 ago. 2023.

BORGES, F. V. et al. Infecção por superbactérias no centro cirúrgico e na Unidade de Terapia Intensiva: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 1, p. e4212139453–e4212139453, 1 jan. 2023.

BIGUENET, A. et al. Antibiotic resistance in elderly patients: Comparison of Enterobacterales causing urinary tract infections between community, nursing homes and hospital settings. **Infectious Diseases Now**, v. 53, n. 1, p. 104640, 1 fev. 2023.

CABRERA, R. et al. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains from the endotracheal tubes of patients with nosocomial pneumonia. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 9, n. 1, p. 43, 28 fev. 2020.

CARNEIRO, A. L. O. C. et al.. Quinolones resistance in *Salmonella* spp. isolated from broilers and chickens' carcasses under federal inspection. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 40, n. 7, p. 519–524, jul. 2020.

CARVALHO, J. J. V. de; BOAVENTURA, F. G.; SILVA, A. de C. R. da; XIMENES, R. L.; RODRIGUES, L. K. C.; NUNES, D. A. de A.; SOUZA, V. K. G. de . Multiresistant bacteria and their impacts on public health: A social responsibility. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 6, p. e58810616303, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i6.16303.

CHEUNG, G. Y. C.; BAE, J. S.; OTTO, M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. **Virulence**, v. 12, n. 1, p. 547–569, 2021.

COELHO, T. L. F. et al. Perfil bacteriano das infecções hospitalares de pacientes cirúrgicos em um hospital terciário. **HU Revista**, v. 47, p. 1–7, 11 ago. 2021.

CROSSLEY, B. M. et al. Guidelines for Sanger sequencing and molecular assay monitoring. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc**, v. 32, n. 6, p. 767–775, nov. 2020.

CUSSOLIM, P. A et al. **Mecanismos de resistência do Staphylococcus aureus a antibióticos.** Revista Faculdades do Saber. Espírito Santo. 2021.

DANIEL, S. et al. Vertical and Horizontal Transmission of ESBL Plasmid from Escherichia coli O104:H4. **Genes**, v. 11, n. 10, p. 1207, 16 out. 2020.

DESPOTOVIC, A. et al. Hospital-acquired infections in the adult intensive care unit—Epidemiology, antimicrobial resistance patterns, and risk factors for acquisition and mortality. **American Journal of Infection Control**, v. 48, n. 10, p. 1211–1215, 1 out. 2020.

DUTTA, S.S. **The History of Antibiotics.** 2022. Disponível em: <<https://www.news-medical.net/health/The-History-of-Antibiotics.aspx>>. Acesso em: 15 maio. 2023.

DUTRA, L. L. B. et al. CONTROLE DE INFECÇÃO NOSOCOMIAL UMA VISÃO PROFISSIONAL AVALIANDO AS BACTÉRIAS MAIS FREQUENTES. **REVISTA TRANSDISCIPLINAR UNIVERSO DA SAÚDE**, v. 2, n. 2, 30 ago. 2023.

EICHENBERGER, E. M.; THADEN, J. T. Epidemiology and Mechanisms of Resistance of Extensively Drug Resistant Gram-Negative Bacteria. **Antibiotics**, v. 8, n. 2, p. 37, jun. 2019.

FERREIRA, R. CARACTERIZAÇÃO DE ABERRAÇÕES CROMOSSÔMICAS EM ESTUDOS DE GENOTOXICIDADE E MUTAGENICIDADE. **REVISTA CIENTÍFICA INTELLETO**, v. 6, n. 1, 2021.

FERREIRA, R. L. et al. High Prevalence of Multidrug-Resistant Klebsiella pneumoniae Harboring Several Virulence and β -Lactamase Encoding Genes in a Brazilian Intensive Care Unit. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2019. 2608

FORERO, D. A.; CHAND, V. Methods in molecular biology and genetics: looking to the future. **BMC Research Notes**, v. 16, p. 26, 2 mar. 2023.

GARCIA, L. M. et al. Perfil epidemiológico das infecções hospitalares por bactérias multidrogarresistentes em um hospital do norte de Minas Gerais. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 3, n. 2, p. 45, 17 set. 2013.

GATO, P. C. et al. Perfil de resistência bacteriana da klebsiella pneumoniae na unidade de terapia intensiva em um hospital de ensino no oeste do Pará no período de 2018 a 2019 / Klebsiella pneumoniae bacterial resistance profile in the intensive care unit in a teaching hospital in west Pará during 2018 to 2019. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 1, p. 1208–1225, 7 jan. 2022.

Ghannam MG, Varacallo M. Bioquímica, Reação em Cadeia da Polimerase. [Atualizado em 30 de julho de 2023]. In: StatPearls [Internet]. Ilha do Tesouro (FL): Publicação StatPearls; 2023 janeiro-. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535453>.

GONZALEZ-FERRER, S. et al. Finding Order in the Chaos: Outstanding Questions in Klebsiella pneumoniae Pathogenesis. **Infection and Immunity**, v. 89, n. 4, p. e00693-20, 17 mar. 2021.

GUO, Y. et al. Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, p. 107, 17 mar. 2020.

HALL, R. J. et al. Horizontal Gene Transfer as a Source of Conflict and Cooperation in Prokaryotes. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2020.

HAUDIQUET, M. et al. Selfish, promiscuous and sometimes useful: how mobile genetic elements drive horizontal gene transfer in microbial populations. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 377, n. 1861, p. 20210234, 22 ago. 2022.

Kadri K. Reação em Cadeia da Polimerase (PCR): Princípio e Aplicações [Internet]. *Biologia Sintética - Nova Ciência Interdisciplinar*. IntechOpen; 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.86491>.

KAZEMIAN, H. et al. Phenotypic and Genotypic Characterization of ESBL-, AmpC-, and Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* Isolates. **Medical Principles and Practice**, v. 28, n. 6, p. 547–551, 16 abr. 2019.

KOT, B. et al. Antimicrobial Resistance Patterns in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Patients Hospitalized during 2015–2017 in Hospitals in Poland. **Medical Principles and Practice**, v. 29, n. 1, p. 61–68, 1 jul. 2019.

JENUL, C.; HORSWILL, A. R. Regulation of *Staphylococcus aureus* Virulence. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 2, 5 abr. 2019.

LANDOLSI, S. et al. First Report of Extended-Spectrum β -Lactamase (blaCTX-M1) and Colistin Resistance Gene *mcr-1* in *E. coli* of Lineage ST648 from Cockroaches in Tunisia. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 2, p. e00036-21, mar. 2022.

2609

LAU, M. Y. et al. Molecular Characterization of Carbapenem Resistant *Klebsiella pneumoniae* in Malaysia Hospital. **Pathogens**, v. 10, n. 3, p. 279, mar. 2021.

LEAL, R.; NUNES, C. P. PNEUMONIA ASSOCIADA À VENTILAÇÃO MECÂNICA EM PACIENTES INTERNADOS NAS UNIDADES DE TERAPIA INTENSIVA. **Revista de Medicina de Família e Saúde Mental**, v. 1, n. 1, 29 abr. 2019.

LEVY, S. E.; BOONE, B. E. Next-Generation Sequencing Strategies. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 9, n. 7, p. a025791, jul. 2019.

LIM, W. S. Pneumonia—Overview. **Encyclopedia of Respiratory Medicine**, p. 185–197, 2022.

LIMA, L. R; BORDIGNON, J. C. **Etiologia de infecções hospitalares e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos em um hospital do sudoeste do Paraná, Brasil**. Paraná, 14 de setembro de 2017.

MARTENS, L. et al. Nasopharyngeal colonisation dynamics of bacterial pathogens in patients with fever in rural Burkina Faso: an observational study. **BMC Infectious Diseases**, v. 22, n. 1, p. 15, 4 jan. 2022.

MIRANDA, V.B. et al. INFECÇÕES RELACIONADAS À ASSISTÊNCIA À SAÚDE NOS HOSPITAIS DE BELÉM, PARÁ, BRASIL. **Revista saúde & ciência online**, v. 9, n. 2, 2020. p. 53-63.

MONEGRO AF, Muppidi V, Regunath H. Infecções adquiridas em hospitais. [Atualizado em 12 de fevereiro de 2023]. In: StatPearls [Internet]. Ilha do Tesouro (FL): Publicação StatPearls; 2023janeiro-. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441857/>.

MURRAY, C. J. L. et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, v. 399, n. 10325, p. 629-655, 12 fev. 2022.

NASCIMENTO, R. D. M. . et al . INFECÇÃO HOSPITALAR E MULTIRRESISTÊNCIA BACTERIANA. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, [S. l.], v. 8, n. 3, p. 1289-1299, 2022. DOI: 10.51891/rease.v8i3.4700. Disponível em: <https://periodicorease.pro.br/rease/article/view/4700>. Acesso em: 22 out. 2023.

NATARAJAN, A. et al. A systemic review on tuberculosis. **Indian Journal of Tuberculosis**, v. 67, n. 3, p. 295-311, 1 jul. 2020.

NEIL, K.; ALLARD, N.; RODRIGUE, S. Molecular Mechanisms Influencing Bacterial Conjugation in the Intestinal Microbiota. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 2021.

NGUYEN, H. Q. et al. Trends and impact of antimicrobial resistance on older inpatients with urinary tract infections (UTIs): A national retrospective observational study. **PLOS ONE**, v. 14, n. 10, p. e0223409, 3 out. 2019.

2610

OSMAN, M. et al. Etiology, Clinical Course, and Outcomes of Pneumonia in the Elderly: A Retrospective and Prospective Cohort Study in Thailand. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 104, n. 6, p. 2009-2016, jun. 2021.

PUTRA, L. A. G. et al. A review of the development of Polymerase Chain Reaction technique and its uses in Scientific field. **Stannum : Jurnal Sains dan Terapan Kimia**, v. 2, n. 1, p. 14-30, 30 abr. 2020.

PUZI, C. P. et al. Prevalence of multi-resistant bacteria, environmental contamination, and routine practices in a public hospital. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 13, p. e142111335020-e142111335020, 1 out. 2022.

RATHBUN, K. P.; BOURGAULT, A. M.; SOLE, M. L. Oral Microbes in Hospital-Acquired Pneumonia: Practice and Research Implications. **Critical care nurse**, v. 42, n. 3, p. 47-54, 1 jun. 2022.

REMYA, P. A.; SHANTHI, M.; SEKAR, U. Characterisation of Virulence Genes Associated with Pathogenicity in *Klebsiella pneumoniae*. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 37, n. 2, p. 210-218, 1 abr. 2019.

RIWU, K. H. P. et al. A review: Virulence factors of *Klebsiella pneumoniae* as emerging infection on the food chain. **Veterinary World**, v. 15, n. 9, p. 2172-2179, set. 2022.

RUSSO, T. A.; MARR, C. M. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 32, n. 3, p. 10.1128/cmr.00001-19, 15 maio 2019.

SILVA, R. A. DA et al. Resistência a Antimicrobianos: a formulação da resposta no âmbito da saúde global. **Saúde em Debate**, v. 44, p. 607–623, 16 nov. 2020.

SILVA, R. C. .; LIMA, A.; SOUZA , L. C. da S. Principais métodos de sequenciamento de DNA. **Scientific Electronic Archives**, [S. l.], v. 15, n. 10, 2022. DOI: 10.36560/15820221603.

SOUSA, A. B. A. DE; RAMALHO, F. L.; CAMARGO, B. Prevalência de Infecções nosocomiais ocasionadas por *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase (KPC) em indivíduos hospitalizados/ Prevalence of nosocomial infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) in hospitalized. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 2, p. 1915–1932, 16 mar. 2020.

SZABÓ, S. et al. An Overview of Healthcare Associated Infections and Their Detection Methods Caused by Pathogen Bacteria in Romania and Europe. **Journal of Clinical Medicine**, v. 11, n. 11, p. 3204, jan. 2022.

Taylor TA, Unakal CG. Infecção por *Staphylococcus aureus*. [Atualizado em 17 de julho de 2023]. In: StatPearls [Internet]. Ilha do Tesouro (FL): Publicação StatPearls; 2023 janeiro. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868>.

TEIXEIRA, A. R. et al. RESISTÊNCIA BACTERIANA RELACIONADA AO USO INDISCRIMINADO DE ANTIBIÓTICOS. *Revista Saúde em Foco. Minas Gerais*, 2019.

2611

TELES, J. et al. Medidas de prevenção à infecção hospitalar em unidades de terapia intensiva. **Enfermagem Brasil**, v. 19, p. 67, 22 mar. 2020.

THUY, D. B. et al. Colonization with *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* causes infections in a Vietnamese intensive care unit. **Microbial Genomics**, v. 7, n. 2, p. 000514, 27 jan. 2021.

TURNER, N. A. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. **Nature reviews. Microbiology**, v. 17, n. 4, p. 203–218, abr. 2019.

VIROLLE, C. et al. Plasmid Transfer by Conjugation in Gram-Negative Bacteria: From the Cellular to the Community Level. **Genes**, v. 11, n. 11, p. 1239, 22 out. 2020.

WANG, G. et al. The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae*. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 17, p. 6278, 28 ago. 2020.

WATFORD S, Warrington SJ. Mutações no DNA bacteriano. [Atualizado em 10 de abril de 2023]. In: StatPearls [Internet]. Ilha do Tesouro (FL): Publicação StatPearls; 2023 janeiro. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459274>.

WOZNIAK, A. et al. A multispecies outbreak of carbapenem-resistant bacteria harboring the blaKPC gene in a non-classical transposon element. **BMC Microbiology**, v. 21, p. 107, 9 abr. 2021.