

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

O RESISTOMA DO MICROBIOMA HUMANO: INOVAÇÕES TECNOLÓGICAS E SEU IMPACTO NA SAÚDE

Trabalho submetido por
Ludovic Nunes Correia
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Outubro de 2025

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

O RESISTOMA DO MICROBIOMA HUMANO: INOVAÇÕES TECNOLÓGICAS E SEU IMPACTO NA SAÚDE

Trabalho submetido por
Ludovic Nunes Correia
para a obtenção do grau de **Mestre** em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Lucinda Janete da Silva Bessa

Outubro de 2025

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, expresso o meu profundo agradecimento à Professora Doutora Lucinda Bessa, por ter aceitado ser minha orientadora e por me ter sugerido este tema, tão fascinante. Agradeço a sua constante disponibilidade, a sua paciência e os seus conselhos valiosos, que foram fundamentais para o sucesso deste projeto.

À Egas Moniz School of Health and Science, que me permitiu estudar e concretizar o curso que ambicionava, e a todos os professores que marcaram positivamente o meu percurso académico, tanto pela qualidade do ensino como pela proximidade que sempre demonstraram. Um agradecimento especial à Professora Doutora Patrícia Cavaco Silva, pelo seu exemplo inspirador, que me despertou um gosto maior pela profissão e me motivou profundamente.

Aos meus pais, que me encorajaram a concretizar o meu projeto de estudar em Portugal, o meu país de origem. Sempre acreditaram em mim e nunca me deixaram sentir sozinho. Sem eles, não estaria onde estou hoje. Nunca esquecerei também o esforço que fizeram, ao percorrer tantos quilómetros para me acolherem quando regressava a casa, durante estes anos. Estarei eternamente grato e dedico-lhes esta conquista, a eles e à minha irmã.

À minha amiga Sara, que sempre demonstrou o seu apoio ao longo do meu percurso académico. Ajudou-me incondicionalmente, tanto nos bons momentos como nos momentos mais desafiantes, contribuindo assim para o meu crescimento nesta jornada. Por isso, uma parte significativa do meu sucesso é também dela. Um agradecimento igualmente sentido à minha “mãe portuguesa”, que fez sempre tudo para que eu não me sentisse sozinho, pelos bons pratos confeccionados e pelos inúmeros conselhos.

Aos meus amigos Etienne e Tom, pelo ambiente positivo que criaram, tornando as aulas mais leves e os trabalhos de grupo mais fáceis. Nunca esquecerei todos os momentos de gargalhadas que partilhámos, dentro e fora da faculdade.

Por último, à equipa da Pharmacie Lafayette Morlaàs e ao IPO Lisboa, por me terem acolhido durante o estágio e pela paciência demonstrada na transmissão de conhecimentos. Mesmo após o seu término, mantiveram-se presentes e disponíveis para me encorajar.

RESUMO

Introdução: O microbioma humano, composto por uma comunidade complexa de microrganismos e seus produtos metabólicos, desempenha um papel crucial na manutenção da saúde e pode contribuir para o desenvolvimento de doenças quando em desequilíbrio (disbiose). A utilização cada vez mais frequente de antibióticos tem favorecido a emergência de bactérias resistentes, representando um grande desafio para a saúde pública. Neste contexto, o estudo do resistoma antibiótico, definido como o conjunto de genes de resistência a antibióticos (ARGs) presentes no microbioma, é fundamental para compreender a resistência antimicrobiana, as suas implicações clínicas e para orientar o desenvolvimento de estratégias inovadoras de prevenção e tratamento.

Objetivo: O objetivo desta revisão foi integrar o conhecimento atual sobre a composição e heterogeneidade do resistoma humano, os fatores que influenciam a sua evolução e disseminação, bem como a sua estreita relação com o microbioma.

Métodos: Esta revisão narrativa foi realizada com base numa pesquisa bibliográfica nas bases de dados PubMed, Scopus e Web of Science, utilizando diversas palavras-chave, entre as quais: microbioma humano, resistoma humano, ARG, e *next-generation sequencing*. Foram considerados predominantemente artigos científicos publicados a partir de 2015.

Conclusão: Os avanços recentes em sequenciação, metagenómica e bioinformática têm vindo a proporcionar uma caracterização mais precisa e abrangente do resistoma humano. A diversidade microbiana funciona como um fator protetor contra a colonização por patógenos resistentes, responsáveis por infeções nosocomiais. Estratégias de medicina personalizada, baseadas no perfil do resistoma e do microbioma de cada paciente, poderão otimizar o uso de antibióticos e limitar o surgimento de resistências.

Palavras-chave: microbioma humano; resistoma humano; ARG; *next-generation sequencing*.

ABSTRACT

Introduction: The human microbiome, composed of a complex community of microorganisms and their metabolic products, plays a crucial role in maintaining health and can contribute to the development of diseases when in imbalance (dysbiosis). The increasingly frequent use of antibiotics has favoured the emergence of resistant bacteria, posing a major challenge to public health. In this context, the study of the antibiotic resistome, defined as the set of antibiotic resistance genes (ARGs) present in the microbiome, is essential for understanding antimicrobial resistance, its clinical implications and to guide the development of innovative prevention and treatment strategies.

Objectives: The aim of this review was to integrate current knowledge on the composition and heterogeneity of the human resistome, the factors influencing its evolution and dissemination, as well as its close relationship with the microbiome.

Methods: This narrative review was conducted based on a bibliographic search in the PubMed, Scopus, and Web of Science databases, using several keywords, including: human microbiome, human resistome, ARG, and next-generation sequencing. Predominantly scientific articles published since 2015 were considered.

Conclusion: Recent advances in sequencing, metagenomics, and bioinformatics have enabled a more precise and comprehensive characterization of the human resistome. Microbial diversity acts as a protective factor against colonisation by resistant pathogens, which are responsible for nosocomial infections. Personalised medicine strategies, based on the resistome and microbiome profile of each patient, could optimise the use of antibiotics and limit the emergence of resistance.

Keywords: human microbiome; human resistome; ARG; next-generation sequencing

ÍNDICE GERAL

1	Introdução.....	11
2	O microbioma humano	13
2.1	Contexto histórico e definição do conceito microbioma.....	13
2.2	Microbioma <i>core</i> e microbioma variável	14
2.3	Fatores que influenciam a composição do microbioma variável	15
2.3.1	Fatores intrínsecos ao indivíduo	16
2.3.2	Fatores extrínsecos: ambiente e estilo de vida.....	17
2.4	O papel do microbioma intestinal nas doenças sistêmicas.....	19
2.4.1	Microbioma intestinal e doenças alérgicas.....	20
2.4.2	Microbioma intestinal e asma.....	20
2.4.3	Microbioma intestinal e doenças digestivas	21
2.4.4	Microbioma intestinal e doenças metabólicas	22
2.4.5	Microbioma intestinal e doenças neurológicas.....	23
3	O resistoma humano	25
3.1	O que é o resistoma?.....	25
3.2	Tipos de resistência	26
3.2.1	Genes de proto-resistência e silenciosos	27
3.2.2	Genes de resistência intrínsecos	27
3.2.3	Genes de resistência adquiridos.....	28
3.3	O papel dos principais MGEs.....	28
3.3.1	Transposões	28
3.3.2	Integrões	30
3.3.3	Bacteriófagos	32
3.3.4	Plasmídeos	33
3.4	Mecanismos de transferência horizontal dos ARGs.....	34
3.4.1	Transformação	35
3.4.2	Conjugação	35
3.4.3	Transdução.....	36
3.5	Mecanismos moleculares de resistência.....	38
3.5.1	Inativação enzimática do antibiótico	39
3.5.2	Alteração do alvo molecular.....	42
3.5.3	Efluxo ativo	43
3.5.4	Redução da permeabilidade da membrana	45
3.6	Fatores que influenciam a composição do resistoma	46
3.6.1	A idade e o resistoma.....	47

3.6.2	As doenças e o resistoma.....	48
3.6.3	A administração de antibióticos e o resistoma	48
3.6.4	A alimentação e o resistoma.....	49
3.6.5	A hospitalização e o resistoma	49
3.7	Diferenças na composição do resistoma conforme a localização corporal	50
3.7.1	O Intestino	51
3.7.2	A pele.....	52
3.7.3	A cavidade nasal.....	53
3.7.4	A cavidade oral.....	54
3.7.5	A vagina.....	55
4	Técnicas e inovações tecnológicas na identificação de ARGs.....	57
4.1	Técnicas baseadas na <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	57
4.2	Microarrays.....	58
4.3	Tecnologias de sequenciação genómica.....	59
4.3.1	Sequenciação de primeira geração	59
4.3.2	Next-generation sequencing (NGS).....	59
4.3.2.1	Sequenciação do genoma completo (WGS).....	60
4.3.2.2	Sequenciação de amplicão.....	60
4.3.2.3	Sequenciação metagenómica shotgun	60
4.3.2.4	Plataforma de sequenciação Illumina.....	61
4.3.3	Sequenciação de terceira geração	61
4.4	Base de dados e análise bioinformática.....	62
4.5	Metagenómica funcional	63
5	Conclusão	65
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema mostrando a composição do microbioma, que inclui a microbiota e o “teatro de atividades” (adaptado de Berg et al., 2020).	14
Figura 2. O resistoma antibiótico inclui os ARGs intrínsecos, adquiridos e os seus precursores (adaptado de Kim & Cha, 2021).	26
Figura 3. Aquisição de cassetes genéticas por recombinação entre attC e attI mediada por IntI (adaptado de Gillings, 2014).	31
Figura 4. Os três principais mecanismos de HGT, incluindo transformação, conjugação e transdução (generalizada e especializada) (adaptado de Wachino, 2025).	34
Figura 5. Os principais mecanismos moleculares de resistência (adaptado de Belay et al., 2024).	39
Figura 6. Distribuição das β -lactamases segundo a classificação de Ambler (adaptado de Noster et al., 2021).	41
Figura 7. Fatores intrínsecos do hospedeiro, ambientais e comportamentais que afetam o resistoma intestinal (adaptado de Crits-Christoph et al., 2022).	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ARGs - Genes de Resistência aos Antibióticos

CTR - *Colorado Twin Registry*

ddNTPs - Didesoxinucleótidos

ddPCR - *digital droplet PCR*

ESBL – β -Lactamases de Espectro Estendido

ESKAPE – *Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa e Enterobacter spp.*

HGT – Transferência Horizontal de Genes

HMP – Human Microbiome Project

IS – Sequências de Inserção

LPS – Lipopolissacarídeos

MGEs – Elementos Genéticos Móveis

MLS-B – Macrólidos, Lincosamidas e Estreptograminas do tipo B

MRSA – *S. aureus* Resistente à Meticilina

NGS – Sequenciação de Nova Geração

OMVs – Vesículas de Membrana Externa

ONT – Oxford Nanopore Technologies

PBP – *Penicillin-Binding Proteins*

PCR – *Polymerase Chain Reaction*

qPCR – PCR quantitativa

SCCmec – Cassete Cromossômica Estafilocócica mec

SCFA – Ácidos Gordos de Cadeia Curta

SII – Síndrome do Intestino Irritável

SMRT – *Single Molecule Real-Time*

TEA – Transtorno do Espectro Autista

TIRs – Repetições Invertidas Terminais

VREs - Enterococos Resistentes à Vancomicina

WGS – *Whole Genome Sequencing*

1 Introdução

O microbioma humano, constituído pela microbiota — a comunidade de microrganismos que inclui bactérias, fungos, protozoários e arqueas — e pelas moléculas por estes produzidas, coloniza diversas regiões do corpo, como a pele e o trato gastrointestinal (Berg et al., 2020). O microbioma humano é altamente flexível; de facto, a sua composição, influenciada por fatores intrínsecos ao indivíduo e por fatores ambientais, varia ao longo da vida (Qin et al., 2022). Além disso, desempenha um papel determinante tanto na saúde como no surgimento de várias doenças crónicas, quando ocorre um estado de disbiose, isto é, um desequilíbrio na composição da microbiota (Ogunrinola et al., 2020).

O uso excessivo e, por vezes, inadequado de antibióticos favoreceu a emergência de bactérias resistentes, representando um dos maiores desafios atuais para a saúde pública. O aumento da resistência antimicrobiana compromete a eficácia terapêutica de muitos antibióticos, estando associado não apenas a um aumento da morbidade e mortalidade, mas também a um acréscimo considerável dos custos para os sistemas de saúde (Harris et al., 2023).

Nesse contexto, surgiu o conceito de resistoma antibiótico, que designa o conjunto de genes de resistência aos antibióticos (ARGs) presentes nas bactérias comensais e patogénicas do microbioma humano (Singh et al., 2019). A resistência pode ser intrínseca, quando os ARGs estão naturalmente presentes no genoma das bactérias, ou adquirida, quando as bactérias adquirem genes de resistência de outras bactérias, inclusive de espécies diferentes, através de mecanismos de transferência horizontal de genes (HGT), mediada por elementos genéticos móveis (MGEs) (Kim & Cha, 2021).

A abordagem *One Health*, que integra a saúde humana, animal e ambiental, é fundamental para o estudo do resistoma, pois permite compreender o surgimento e a disseminação dos ARGs entre diferentes setores, bem como desenvolver estratégias eficazes de prevenção e controlo (Kim & Cha, 2021).

Os avanços recentes nas técnicas de sequenciação, metagenómica e bioinformática têm permitido identificar e quantificar ARGs, sejam eles já conhecidos ou ainda não descritos, e analisar o seu contexto genético. Estas inovações tecnológicas proporcionam uma compreensão mais abrangente e dinâmica do resistoma humano (Hilt & Ferrieri, 2022).

Apesar de uma caracterização cada vez mais precisa do resistoma humano, ainda existe uma lacuna de conhecimento sobre este conceito. Uma compreensão mais aprofundada do mesmo permitirá perceber a sua disseminação entre bactérias, nomeadamente patogénicas, contribuir para o combate à resistência aos antibióticos e possibilitar o estabelecimento de tratamentos antibióticos mais adequados.

Assim, a presente revisão narrativa tem como objetivo fornecer uma visão geral, e relativamente aprofundada, do conhecimento atual sobre o resistoma humano. Mais concretamente, procura abordar a sua relação com o microbioma, os fatores que influenciam a sua composição, os mecanismos de transferência dos ARGs, as diferenças na sua composição consoante a localização corporal, bem como as inovações tecnológicas que possibilitam o seu estudo. Adicionalmente, pretendeu-se abordar os mecanismos moleculares de resistência, de forma a evidenciar o seu impacto direto na saúde, nomeadamente na ineficácia dos tratamentos antibióticos.

2 O microbioma humano

2.1 Contexto histórico e definição do conceito microbioma

O termo ‘microbioma’ passou por uma evolução significativa ao longo do tempo. Embora ainda não exista um consenso definitivo sobre a sua definição, o crescente interesse na área e os avanços tecnológicos têm contribuído para uma caracterização cada vez mais precisa desse conceito (Berg et al., 2020). Esse termo é relativamente novo, uma vez que foi apenas em 1988 que surgiu pela primeira vez, quando Whipps e sua equipa de trabalho analisaram os solos, mais precisamente, a zona à volta das raízes das plantas. Definiram o microbioma como um grupo específico de microrganismos dentro de um ambiente claramente definido, com o “teatro de atividades” desses microrganismos (Whipps et al., 1988).

Já no início deste século, o termo microbioma adquiriu um novo significado. De facto, em 2001, Lederberg popularizou o termo microbioma humano definindo-o como um grupo de microrganismos que partilham e colonizam de forma neutra, benéfica ou até prejudicial o nosso corpo (Lederberg & McCray, 2001). Essa definição permitiu perceber o papel do microbioma como determinante na saúde humana e mudou definitivamente o ponto de vista sobre o seu papel.

Até hoje, a definição proposta por Whipps *et al.* (1988) é considerada a mais completa e serve de base para definir da melhor forma o microbioma. Embora possam ser frequentemente confundidos, o microbioma e a microbiota não têm o mesmo significado. Efetivamente, o microbioma humano é constituído pela microbiota (comunidade de microrganismos, como bactérias, arqueas, fungos, protozoários) mas também pelas moléculas produzidas por esses microrganismos, ou seja, os metabolitos (moléculas de sinalização, toxinas, moléculas orgânicas e inorgânicas) e pelos seus elementos estruturais (ácidos nucleicos, proteínas, lípidos, polissacáridos). São todas essas moléculas produzidas pela microbiota que Whipps *et al.* (1988) chamava de “teatro de atividades”. Os elementos genéticos móveis como os vírus não fazem parte da microbiota, mas estão incluídos no microbioma como indicado na Figura 1 (Berg et al., 2020).

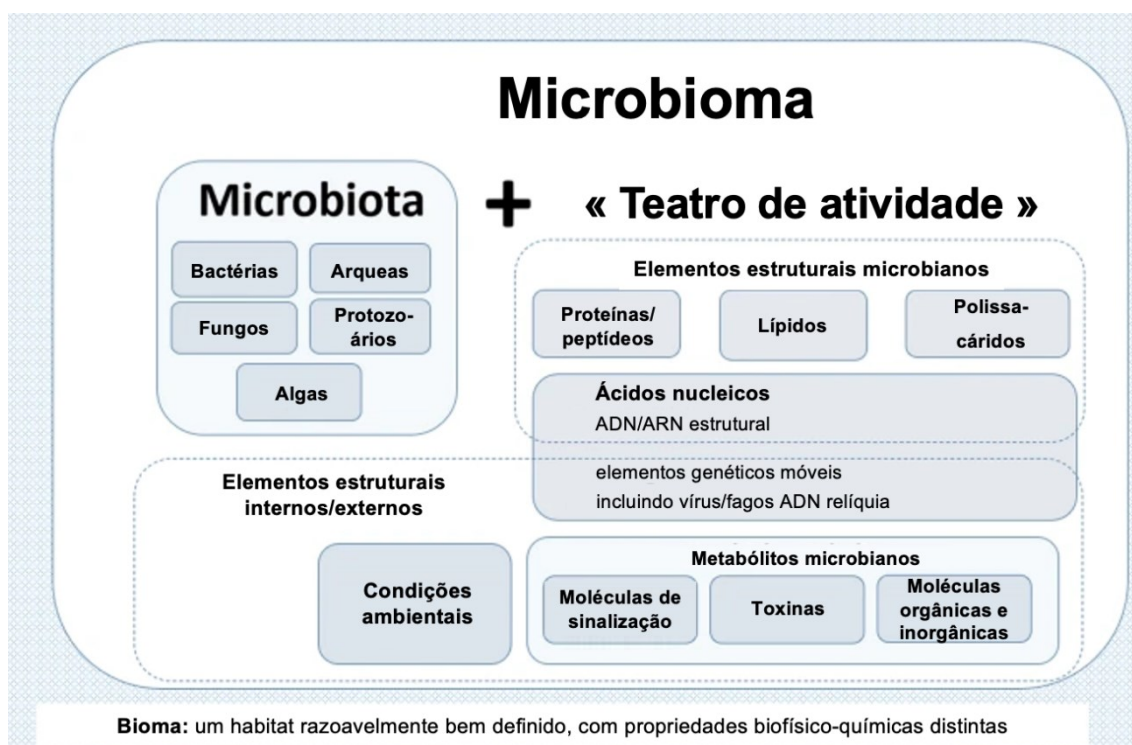


Figura 1. Esquema mostrando a composição do microbioma, que inclui a microbiota e o “teatro de atividades” (adaptado de Berg et al., 2020).

O microbioma humano não se restringe ao trato gastrointestinal, estando presente também em outras regiões do corpo, como a pele, a vagina e o trato respiratório, entre outras. A sua composição varia consideravelmente entre os diferentes sítios anatómicos e entre os indivíduos (Kennedy & Chang, 2020).

Em 2008, o *National Institutes of Health* (NIH) nos Estados Unidos, lançou oficialmente o “*Human Microbiome Project*” (HMP) com o objetivo de caracterizar de forma mais abrangente o microbioma humano, investigando sua composição em diferentes partes do corpo e sua relação com o desenvolvimento de doenças (Peterson et al., 2009). De facto, o microbioma tem sido referido como o “último órgão humano”, dada a sua importância na fisiologia do hospedeiro. Alterações na sua composição ou função podem contribuir para o surgimento de diversas patologias (Baquero & Nombela, 2012).

2.2 Microbioma *core* e microbioma variável

O microbioma humano é composto pelo microbioma *core*, central, e pelo microbioma variável. De forma geral, o microbioma central refere-se ao conjunto de

microrganismos — ou às características genéticas e funcionais associadas a eles — que são típicos ou representativos de determinado hospedeiro ou ambiente de interesse (Neu et al., 2021). O que se sabe é que é constituído por espécies microbianas que desempenham um papel importante nas funções biológicas do hospedeiro, comuns aos indivíduos, e que são estáveis ao longo do tempo (Sharon et al., 2022).

A estabilidade a longo prazo do microbioma *core*, com predominância de microrganismos benéficos e das suas funções associadas, é primordial para assegurar a saúde e bem-estar do hospedeiro. Assim, a estabilidade ao longo do tempo não depende da diversidade do conjunto de microrganismos de um hospedeiro, mas sim da abundância daqueles que compõem esse microbioma *core* (Björk et al., 2017). No entanto, a estabilidade nem sempre é mantida, e podem ocorrer alterações tanto qualitativas quanto quantitativas na composição do microbioma *core*, levando a um estado de disbiose. Essas mudanças na comunidade microbiana estão na origem de diversas doenças, evidenciando que o microbioma humano é um sistema complexo, com papel fundamental tanto na preservação da saúde quanto no surgimento de doenças (Ogunrinola et al., 2020). E é por isso, que atualmente, é fundamental aprofundar a compreensão do microbioma central para identificar os fatores que levam à disbiose (Sharon et al., 2022).

No que se refere ao microbioma variável, trata-se da porção do microbioma que é única e específica de cada indivíduo. O microbioma variável evolui ao longo da vida em função de determinantes ambientais como o estilo de vida, que englobam, por exemplo, a alimentação, a atividade física ou a toma de antibióticos. Os determinantes genotípicos e as características físicas dos indivíduos também têm um papel importante na evolução do microbioma variável (Neu et al., 2021).

2.3 Fatores que influenciam a composição do microbioma variável

O microbioma humano é altamente flexível, evoluindo em função de múltiplos fatores, quer intrínsecos ao indivíduo, quer ambientais. Estes fatores não atuam de forma independente; são as suas interações que moldam de maneira significativa a estrutura e dinâmica dos microrganismos que compõem o microbioma (Qin et al., 2022). Entre os determinantes da composição do microbioma humano, os fatores ambientais — nomeadamente a alimentação — parecem exercer uma influência mais decisiva do que os fatores genéticos do hospedeiro (Dabrowska & Witkiewicz, 2016).

2.3.1 Fatores intrínsecos ao indivíduo

Determinantes genéticos têm mostrado ser importantes na composição do microbioma, tal como demonstrado num estudo de Demmitt et al. (2017) sobre gémeos do *Colorado Twin Registry* (CTR). Para contextualizar, o CTR é uma base de dados localizada no *Institute for Behavioral Genetics* da Universidade de Colorado Boulder, nos Estados Unidos. Inclui uma grande quantidade de informações de gémeos nascidos no Colorado a partir de 1968, e de gémeos que viveram neste estado durante este período (Corley et al., 2019). O estudo de Demmitt et al. (2017) comparou os microbiomas orais de gémeos com os de indivíduos não aparentados, servindo estes últimos como grupo controlo para avaliar a influência da genética na composição microbiana. A análise revelou que a diversidade de microrganismos era menor nos gémeos monozigóticos do que nos gémeos dizigóticos ou nos indivíduos que não faziam parte da família. Ou seja, os gémeos monozigóticos mostraram microrganismos nitidamente mais semelhantes do que os gémeos dizigóticos e, por sua vez, os gémeos dizigóticos mostraram maior semelhança de microrganismos do que os indivíduos não aparentados. Mais, Demmitt et al. (2017) chegaram à conclusão de que várias características do microbioma têm uma hereditariedade superior a 50%. Esta hereditariedade persiste nos gémeos mesmo depois de terem sido separados geograficamente, demonstrando assim a importância dos genes na composição do microbioma.

Estudos recentes baseados na abordagem mGWAS (*Metabolite Genome-Wide Association Study*), que combina dados genéticos com dados metabolómicos para identificar associações entre variações genéticas e características metabólicas, mostram que a genética do hospedeiro influencia a composição do microbioma humano (Ouyang et al., 2021; Yang et al., 2021). Uma vez que os genes estão na origem da criação de um ambiente que vai favorecer o estabelecimento de determinados microrganismos. Variações nos genes ligados por exemplo à imunidade podem contribuir a uma modificação da composição do microbioma (Dabrowska & Witkiewicz, 2016). O sistema imunitário regula a proliferação de microrganismos e, quando excessivamente reativo, pode comprometer o equilíbrio microbiano, alterando a composição do microbioma (Cohen et al., 2019).

A idade também é um fator decisivo na modulação do microbioma humano, que sofre variações ao longo da vida. Estas flutuações estão intimamente ligadas às alterações fisiológicas decorrentes do envelhecimento, bem como a fatores ligados ao estilo de vida

como a alimentação, medicação, entre outros (Leite et al., 2021). A microbiota sofre as suas variações mais acentuadas durante a infância e a velhice, períodos em que o sistema imunitário é particularmente vulnerável. Esta correlação sublinha o papel central do sistema imunitário no estabelecimento, manutenção e evolução da microbiota ao longo da vida (Nagpal et al., 2018). Além disso, nos idosos, a diversidade microbiana intestinal tende a diminuir, o que, para além da fragilidade do sistema imunitário, favorece a proliferação de certas bactérias, nomeadamente *Escherichia* spp. e *Klebsiella* spp. (Leite et al., 2021).

O sexo biológico também exerce influência sobre a composição do microbioma humano. De facto, a evidência parece indicar que a composição do microbioma difere significativamente entre homens e mulheres, isto deve-se principalmente às diferenças hormonais entre os sexos (Koliada et al., 2021). As interações entre o microbioma, as hormonas sexuais e o sistema imunitário — que variam consoante o sexo biológico — deram origem ao conceito de *microsexome*. Este conceito refere-se ao estudo das interações recíprocas, em particular entre as hormonas sexuais e o microbioma, e tem um papel essencial na compreensão das diferenças entre os sexos na prevalência de doenças influenciadas por fatores hormonais e imunitários, como a diabetes tipo 1 (Ma, 2024).

Finalmente, a etnicidade também é um fator que influencia a composição do microbioma. Um estudo de Li et al. (2019) demonstrou que a composição microbiana das axilas variava entre diferentes etnias, influenciando diretamente o microbioma presente nessa região do corpo. Uma evidência dessa variação foi a diferença perceptível no odor corporal entre as diferentes etnias.

2.3.2 Fatores extrínsecos: ambiente e estilo de vida

O parto influencia de forma determinante a formação do microbioma nos recém-nascidos. Embora evidências recentes sugiram que a colonização microbiana possa ter início durante a vida intrauterina, é no momento do nascimento que ocorre a principal exposição microbiana, marcando o início da colonização substancial do microbioma neonatal. Esta colonização está estreitamente relacionada com o modo de parto, seja vaginal ou por cesariana. Mais especificamente, os microrganismos transmitidos variam consoante a via de nascimento, o que se traduz em perfis microbianos distintos no recém-nascido. Efetivamente, durante o parto vaginal, os recém-nascidos entram em contato direto com os microrganismos maternos localizados na zona vaginal. Por outro lado,

durante uma cesariana, eles entram diretamente em contacto com o ambiente médico. A utilização de antibióticos em cesarianas também influencia a composição do microbioma dos recém-nascidos (Dunn et al., 2017).

As interações sociais desempenham um papel importante na composição e evolução do microbioma humano. Especificamente, os indivíduos atuam como vetores de microrganismos, influenciando o microbioma daqueles com quem interagem ao emitir mais de um milhão de partículas biológicas por hora. A transmissão microbiana pode ocorrer através do contacto direto com superfícies interiores ou através do ar e inclui microrganismos que podem ser patogênicos ou benéficos para o indivíduo, desempenhando assim um papel significativo no estado de saúde (Meadow et al., 2015). Os casais apresentam uma microbiota intestinal mais semelhante entre si do que irmãos, mesmo tendo em conta a dieta (Dill-McFarland et al., 2019). Este facto demonstra a importância da proximidade física na evolução do microbioma. Para além disso, as pessoas casadas têm uma maior diversidade de microrganismos do que os indivíduos que vivem sozinhos (Dill-McFarland et al., 2019).

A composição do microbioma também é afetada pela atividade física, variando conforme o tipo de exercício realizado. De facto, um exercício extremamente intenso e prolongado pode aumentar a permeabilidade intestinal, prejudicando o equilíbrio da microbiota e favorecendo o desenvolvimento de disbiose (Varghese et al., 2024). Como consequência desse desequilíbrio microbiano, pode ocorrer uma inflamação sistémica. Por outro lado, o exercício de intensidade moderada, incluindo a combinação de atividades cardiovasculares e de fortalecimento muscular, promove uma maior diversidade do microbioma intestinal e, conseqüentemente, reforça a barreira intestinal. A atividade física regular favorece o aumento dos microrganismos benéficos e das funções metabólicas que lhes estão associadas, contribuindo assim para a manutenção de um bom estado de saúde (Varghese et al., 2024).

A alimentação desempenha também um papel fundamental na composição do microbioma humano, ao fornecer os substratos que sustentam o crescimento e a diversidade dos microrganismos, influenciando diretamente a saúde do indivíduo. Mudanças na alimentação podem provocar alterações significativas na composição dos microrganismos em um curto período, mostrando assim a alta plasticidade do microbioma (Zhang, 2022). Diferentes tipos de alimentos influenciam a composição do microbioma intestinal de maneiras distintas. No caso de uma alimentação considerada não saudável, como a dieta ocidental, rica em gordura, pode ocorrer uma diminuição da diversidade

microbiana e o surgimento do estado de disbiose (Soldán et al., 2024). Esta condição pode estar associada ao desenvolvimento de doenças inflamatórias intestinais. Por outro lado, no caso de uma alimentação saudável, como a dieta mediterrânea, observa-se uma maior diversidade de microrganismos, o que é essencial para preservar a saúde do microbioma intestinal (Soldán et al., 2024). Uma alimentação saudável inclui o consumo de vegetais, que são ricos em fibras alimentares e essenciais para a manutenção da diversidade da microbiota intestinal. Além disso, as fibras alimentares assumem um papel importante na produção de metabólitos bacterianos que são benéficos à saúde, como os ácidos gordos de cadeia curta (SCFA) (Soldán et al., 2024; Zhang, 2022). Os SCFA são produzidos pela fermentação de fibras alimentares por bactérias intestinais e desempenham um papel importante no combate à inflamação (Shin et al., 2023).

Por fim, o uso de antibióticos também exerce um impacto considerável na evolução do microbioma. Pois, embora sejam essenciais no tratamento de infecções bacterianas, provocam alterações no equilíbrio da microbiota. Os antibióticos, e particularmente os de largo espectro, atuam de forma indiscriminada, eliminando tanto as bactérias patogênicas quanto aquelas benéficas à saúde. Essa redução na diversidade microbiana pode comprometer a saúde do indivíduo, uma vez que altera as funções do microbioma e o seu papel na conservação da saúde do hospedeiro. O uso contínuo de antibióticos pode levar a disbiose, que, por sua vez, pode ser a origem de doenças e favorecer infecções por bactérias como *Clostridioides difficile* (Patangia et al., 2022). Uma consequência também desse uso prolongado é o desenvolvimento de resistência aos antibióticos (Patangia et al., 2022).

2.4 O papel do microbioma intestinal nas doenças sistêmicas

O microbioma intestinal, considerado um “órgão” funcional essencial pelas importantes funções biológicas que desempenha, comunica com o restante do organismo, incluindo outros órgãos, por meio de diversas vias, como as vias neurais, endócrinas e imunológicas, entre outras (Afzaal et al., 2022). Assim, o microbioma intestinal não influencia apenas a regulação do sistema imunitário a nível local, mas também exerce uma ação abrangente sobre todo o organismo, tendo, por isso, um impacto significativo na saúde do hospedeiro. Quando ocorre um estado de disbiose intestinal, ou seja, um desequilíbrio na composição da microbiota intestinal, diversas doenças crônicas podem

surgir, como doenças metabólicas, digestivas, neurológicas, cardiovasculares e até mesmo alguns tipos de cânceros (Afzaal et al., 2022).

2.4.1 Microbioma intestinal e doenças alérgicas

As doenças alérgicas podem ser desencadeadas por um estado de disbiose do microbioma intestinal. Um exemplo é a alergia alimentar, que pode emergir quando o equilíbrio da microbiota intestinal é perturbado por diversos fatores, incluindo influências ambientais (Canani et al., 2019). Assim, o equilíbrio da microbiota intestinal é fundamental na prevenção da alergia alimentar, ao ajudar a regular o sistema imunitário e evitar respostas excessivas. De facto, no caso de uma alergia alimentar, o organismo reage de forma inapropriada às proteínas alimentares, o que provoca vários sintomas, como por exemplo erupções cutâneas e problemas gastrointestinais (Canani et al., 2019). A diversidade da microbiota intestinal é essencial para o desenvolvimento adequado da regulação imunológica, contribuindo para a prevenção de respostas imunitárias mediadas por IgE. Além disso, as bactérias benéficas como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* estimulam a atividade das células T reguladoras (Tregs) e da imunoglobulina A (IgA), que também são importantes nessa regulação (Taico Oliva et al., 2024). Os metabólitos microbianos como SCFA tem um papel anti-inflamatório crucial, promovendo a maturação das Tregs e fortalecendo a barreira intestinal (Taico Oliva et al., 2024).

2.4.2 Microbioma intestinal e asma

Alterações na composição do microbioma intestinal podem contribuir para a etiologia da asma. Especificamente, o microbioma intestinal modula a atividade do sistema imunológico pulmonar por meio do eixo intestino-pulmão, influenciando respostas inflamatórias e imunorregulatórias (Zhao et al., 2023). Espécies bacterianas benéficas da microbiota intestinal desempenham um papel protetor contra a asma, e a sua desregulação, resultante de um estado de disbiose, pode contribuir para o desenvolvimento da asma (Galeana-Cadena et al., 2023). Além disso, um desequilíbrio no microbioma respiratório, caracterizado pela predominância de bactérias como *Haemophilus* spp., *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. e *Moraxella* spp., está associado à inflamação e ao surgimento da asma (Galeana-Cadena et al., 2023). Em crianças, a asma é frequentemente consequência de uma exposição microbiana

insuficiente nos primeiros tempos da vida. A baixa diversidade microbiana compromete a regulação adequada do sistema imunitário, que passa a reagir de forma exagerada (Lynch & Boushey, 2016).

2.4.3 Microbioma intestinal e doenças digestivas

As doenças digestivas, como a doença de Crohn — caracterizada por uma inflamação crônica que pode afetar qualquer parte do trato gastrointestinal e causar lesões — podem também estar associadas a uma disbiose do microbioma intestinal. Esse desequilíbrio microbiano pode comprometer a integridade da barreira intestinal, aumentando a sua permeabilidade (Linares et al., 2021). Como consequência, o sistema imunitário pode tornar-se hiperativo, desencadeando uma resposta inflamatória no intestino. Essa inflamação é mediada, em grande parte, por citocinas pró-inflamatórias, como a IL-17 e a IL-23, que desempenham um papel central na patogênese da doença de Crohn (Schmitt et al., 2021). Além disso, a disbiose intestinal pode favorecer a proliferação de bactérias do género *Enterococcus*, associadas ao aumento da inflamação intestinal. Paralelamente, observa-se uma redução de bactérias benéficas produtoras de SCFA, como *Roseburia faecis*, *Faecalibacterium prausnitzii* e *Gemmiger formicilis*, essenciais para a modulação da resposta inflamatória (Kowalska-Duplaga et al., 2019).

Adicionalmente, um desequilíbrio na diversidade da microbiota intestinal pode estar na origem da síndrome do intestino irritável (SII). A SII é uma doença gastrointestinal crônica bastante prevalente, afetando entre 3% e 5% da população mundial, e até 25% da população nos Estados Unidos (Almonajjed et al., 2025; Shaikh et al., 2023). Os sintomas ultrapassam as dores abdominais e as alterações no funcionamento intestinal, pois muitos pacientes também apresentam distúrbios psicológicos associados, como ansiedade. Dessa forma, a SII está diretamente relacionada a uma diminuição do bem-estar geral do indivíduo (Almonajjed et al., 2025). A disbiose da microbiota intestinal altera o eixo cérebro-intestino, um sistema de comunicação bidirecional, e essa alteração contribui para o surgimento dos sintomas característicos da SII (Shaikh et al., 2023).

2.4.4 Microbioma intestinal e doenças metabólicas

Alterações na composição do microbioma intestinal podem estar na origem de doenças metabólicas, como a obesidade. Especificamente na obesidade, observa-se um aumento na proporção de Bacillota e uma diminuição de Bacteroidota, refletindo um estado de disbiose (Pinart et al., 2022). Certas bactérias associadas a esse desequilíbrio tornam-se mais eficientes na fermentação dos glúcidos não digeríveis presentes na dieta. Como resultado, há um aumento na produção de SCFA, que podem ser utilizados pelo organismo como fonte adicional de energia, contribuindo para a síntese de lipídios ou glucose (Muscogiuri et al., 2019). O aumento da permeabilidade da barreira intestinal facilita a translocação de lipopolissacarídeos bacterianos (LPS), componentes da membrana externa de bactérias Gram-negativas, para a corrente sanguínea, resultando numa elevação significativa da sua concentração circulante. Essa condição contribui para a indução de um estado inflamatório leve, porém crónico. Além disso, os níveis elevados de LPS no sangue têm sido implicados no desenvolvimento da resistência à insulina (Muscogiuri et al., 2019).

A alteração da composição da microbiota intestinal — influenciada por fatores relevantes, como o estilo de vida — constitui um elemento-chave no desenvolvimento da diabetes tipo 2, uma doença metabólica grave e de progressão acelerada, considerada uma das principais crises de saúde pública atuais. Essa doença caracteriza-se por uma hiperglicemia crónica. Estima-se que, atualmente, a diabetes tipo 2 afete cerca de 1 em cada 10 adultos em todo o mundo (Barlow & Mathur, 2023).

Em indivíduos saudáveis, os metabolitos produzidos pelo microbioma intestinal desempenham funções cruciais, como a manutenção da integridade da barreira intestinal, a modulação da resposta imune, a produção hormonal e a regulação do apetite, entre outros processos fisiológicos. A disbiose intestinal pode, portanto, comprometer essas funções, contribuindo significativamente para a fisiopatologia da diabetes tipo 2 (Barlow & Mathur, 2023). Em indivíduos com diabetes tipo 2, foi observada uma redução da diversidade microbiana intestinal, acompanhada de um desequilíbrio na composição da microbiota (Letchumanan et al., 2022). Assim, esse desequilíbrio está associado à diminuição da sensibilidade à insulina e ao aumento do risco de desenvolvimento do diabetes tipo 2, com uma predominância de certos géneros bacterianos, como *Lactobacillus*, *Streptococcus* e *Veillonella*, pertencentes ao filo *Bacillota* (Letchumanan et al., 2022).

2.4.5 Microbioma intestinal e doenças neurológicas

Uma alteração na composição da microbiota intestinal está associada a diversas doenças neurológicas e distúrbios psiquiátricos, como a doença de Parkinson, a esclerose múltipla, a depressão e a esquizofrenia (Charitos et al., 2024). Entre essas condições, destaca-se também o transtorno do espectro autista (TEA), uma condição do neurodesenvolvimento relacionada à disbiose intestinal e que afeta aproximadamente 1 em cada 59 crianças nos Estados Unidos (Eshraghi et al., 2018). O TEA está associado a dificuldades nas interações sociais e na comunicação, além de comportamentos anormais, como a repetição de ações. A disbiose do microbioma intestinal também tem sido correlacionada à presença de sintomas gastrointestinais em indivíduos com TEA (Eshraghi et al., 2018). O desequilíbrio na composição da microbiota intestinal pode ser provocado pelo uso de antibióticos nos primeiros anos de vida. Essa alteração epigenética pode ativar genes específicos, incluindo aqueles associados ao autismo, e estar na origem do TEA (Eshraghi et al., 2018). Indivíduos com TEA apresentam um aumento das bactérias dos gêneros *Lactobacillus*, *Desulfovibrio* e *Clostridium*, além de uma redução de *Bifidobacterium* e *Prevotella* (Liu et al., 2019).

Os microrganismos da microbiota intestinal interagem com o sistema nervoso por meio dos metabolitos microbianos que produzem, da regulação de neurotransmissores e da modulação do sistema imunitário (Młynarska et al., 2025). Essa comunicação ocorre através do eixo intestino-cérebro. Em indivíduos com TEA, uma disbiose da microbiota intestinal pode estar na origem de uma comunicação alterada com o cérebro, contribuindo assim para o agravamento ou modulação dos sintomas característicos do TEA (Młynarska et al., 2025).

A disbiose intestinal está associada ao aumento da permeabilidade da barreira epitelial intestinal, condição conhecida como síndrome do intestino permeável. Nesse contexto, componentes microbianos como os LPS podem translocar-se para a corrente sanguínea e atingir o sistema nervoso central, promovendo neuroinflamação, comprometimento da barreira hematoencefálica e disfunção das células gliais, com impactos negativos sobre a função cerebral (Wasiak & Gawlik-Kotelnicka, 2023). Esses efeitos estão intimamente ligados ao eixo microbiota-intestino-cérebro, uma rede de comunicação bidirecional em que microrganismos intestinais influenciam o cérebro por meio de vias metabólicas (como a produção de SCFA e neurotransmissores), imunes,

endócrinas e neurais. Em contrapartida, o sistema nervoso central também modula a composição e a atividade da microbiota intestinal (Liu et al., 2020).

Dentre essas vias, destaca-se a via neural mediada pelo nervo vago, que deteta metabólitos bacterianos e transmite sinais aferentes ao sistema nervoso central. Além de atuar como via de comunicação, o nervo vago desempenha papel anti-inflamatório e contribui para a manutenção da integridade da barreira intestinal (Bonaz et al., 2018).

Quando essa homeostase é perturbada, como ocorre na disbiose, há redução da diversidade microbiana, aumento da permeabilidade intestinal e entrada de metabólitos tóxicos na circulação sistêmica. Isso pode desencadear a ativação de mecanismos patológicos relacionados a doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer — caracterizada pela perda progressiva e irreversível das funções cognitivas, sobretudo da memória (Pourahmad et al., 2024).

3 O resistoma humano

3.1 O que é o resistoma?

O microbioma humano é composto por uma ampla diversidade de microrganismos que desempenham papéis fundamentais não apenas nas funções biológicas do hospedeiro e na manifestação de doenças, mas também na resistência antimicrobiana, mediada por bactérias capazes de desenvolver e disseminar mecanismos de resistência (Patangia et al., 2022).

Os antibióticos têm uma função essencial no tratamento de infecções bacterianas. No entanto, o seu uso cada vez mais difundido tem favorecido o aumento de bactérias resistentes, o que constitui uma ameaça significativa para a saúde pública. Essa resistência torna-se especialmente preocupante quando afeta bactérias patogênicas, tornando as infecções mais difíceis de tratar (Crits-Christoph et al., 2022).

A contribuição do microbioma para a resistência aos antibióticos levou ao surgimento do conceito de resistoma antibiótico. Este termo foi utilizado pela primeira vez em 2006, por uma equipa liderada por Gerry Wright, que definiu o resistoma do solo como o conjunto de "determinantes de resistência presentes no solo" (D'Costa et al., 2006). Mais tarde, este conceito foi ampliado, passando a abranger não apenas o ambiente, mas também o indivíduo. Atualmente, o resistoma humano é definido como o conjunto de genes de resistência aos antibióticos (ARGs) presentes nas bactérias comensais e patogênicas do microbioma humano (Fredriksen et al., 2023; Singh et al., 2019). A maioria desses genes de resistência encontra-se nas bactérias comensais, predominantes em indivíduos saudáveis (van Schaik, 2015).

Os dados provenientes do "Human Microbiome Project" (HMP) mostram que o tipo e a abundância dos ARGs variam em diferentes partes do corpo, assim como entre indivíduos (Maestre-Carballa et al., 2022). A diversidade do resistoma é influenciada pelo estilo de vida, como o consumo de antibióticos, e também pelas doenças, que contribuem para as diferenças observadas entre os resistomas individuais. Além disso, em doenças tratadas com antibióticos, os indivíduos apresentam uma maior abundância de ARGs do que aqueles não tratados, resultando em um resistoma intestinal mais amplo (Fredriksen et al., 2023; Singh et al., 2019).

3.2 Tipos de resistência

Com o crescente número de estudos sobre o resistoma, a sua caracterização tem vindo a ser aprimorada. Compreender a composição do resistoma é essencial para entender a origem, a funcionalidade e o potencial de disseminação dos ARGs (Kim & Cha, 2021).

O resistoma abrange todos os tipos de ARGs, incluindo os genes de resistência intrínsecos, adquiridos e também os seus precursores, como ilustrado na Figura 2 (Kim & Cha, 2021). Esses precursores englobam os genes de proto-resistência e os genes silenciosos ou crípticos, encontrados tanto no ambiente quanto em contextos clínicos. Embora esses genes não estejam, em princípio, diretamente envolvidos na resistência fenotípica, eles podem evoluir ou ser ativados, tornando-se genes de resistência funcionais. Além disso, esses elementos podem circular entre o ambiente e o meio clínico, dada a comunicação e troca genética entre esses ecossistemas (Perry et al., 2014).

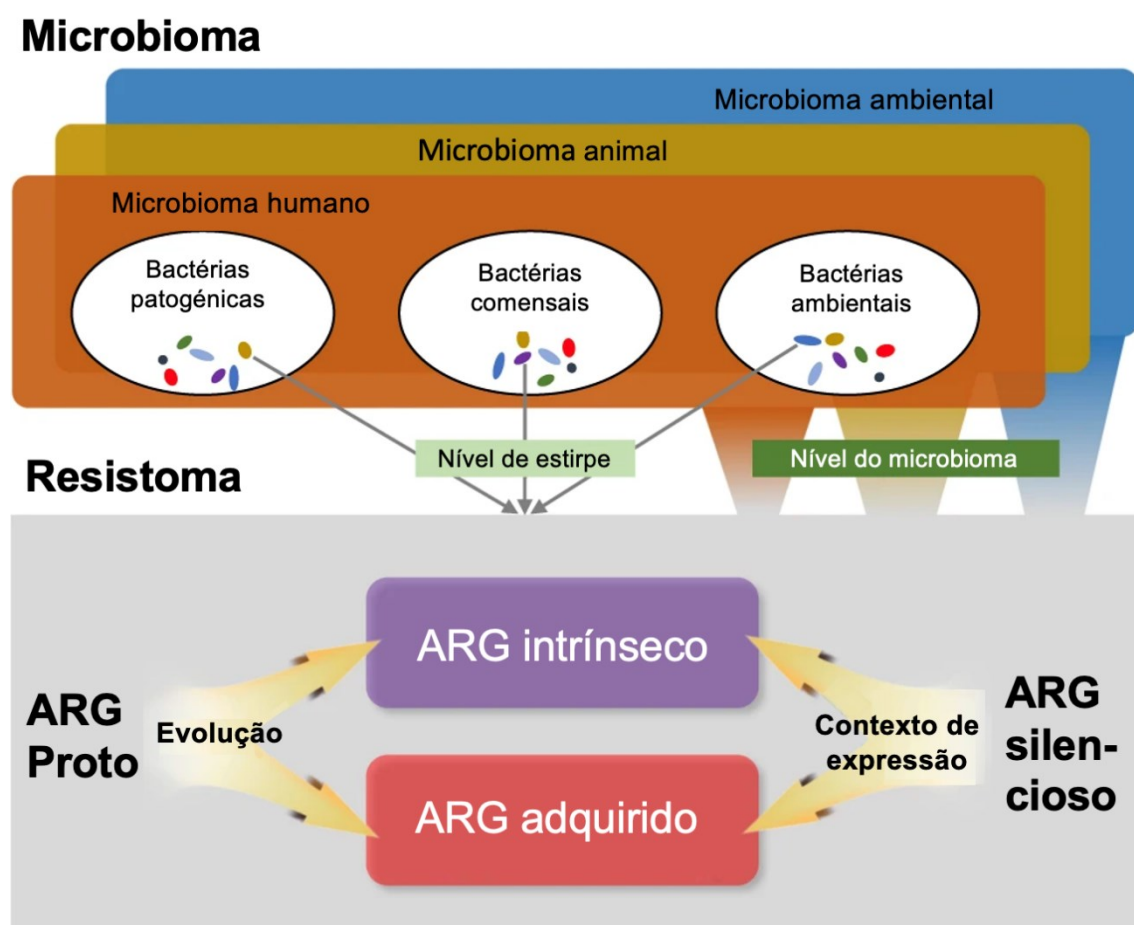


Figura 2. O resistoma antibiótico inclui os ARGs intrínsecos, adquiridos e os seus precursores (adaptado de Kim & Cha, 2021).

3.2.1 Genes de proto-resistência e silenciosos

A principal diferença entre os genes de proto-resistência e os genes silenciosos está no seu estado funcional e potencial adaptativo. Os genes de proto-resistência são genes que desempenham outras funções celulares (ou têm apenas um papel marginal na resistência), mas que podem adquirir uma função de resistência por meio de mutações estruturais ou alterações na sua expressão. Com essas modificações, esses genes passam a conferir resistência antimicrobiana efetiva (Perry et al., 2014). Os genes silenciosos ou crípticos são genes já presentes no genoma — incluindo genes com potencial de resistência — que podem ser identificados por análise genômica, mas que normalmente não são expressos em condições habituais. No entanto, podem ser ativados em resposta a mutações em regiões reguladoras ou à inserção em um novo contexto genético que favoreça a sua expressão, tornando-se assim genes de resistência funcional (Perry et al., 2014).

Portanto, os genes silenciosos e de proto-resistência constituem um importante reservatório evolutivo. Por meio de ativação, mutações ou mobilização genética, esses genes podem passar a ser expressos e adquirir funcionalidade, transformando-se em genes de resistência ativos (Perry et al., 2014), desempenhando, assim, um papel relevante tanto na resistência intrínseca quanto na adquirida (Figura 2) (Kim & Cha, 2021).

3.2.2 Genes de resistência intrínsecos

A resistência intrínseca corresponde ao conjunto de ARGs herdados verticalmente e que estão naturalmente presentes no genoma das bactérias. Esses genes contribuem para a resistência antimicrobiana de forma constitutiva. Cada espécie bacteriana possui uma composição e um padrão de expressão únicos do resistoma intrínseco (Cox & Wright, 2013).

Essa forma de resistência já existia antes mesmo do uso clínico de antibióticos, uma vez que as bactérias, no seu ambiente natural, como os solos, precisam lidar com compostos antimicrobianos produzidos por outros microrganismos (Perry et al., 2016). Portanto, o resistoma intrínseco representa uma adaptação natural e estável, independente de fatores externos, como a exposição recente a antibióticos ou a transferência horizontal de genes (Cox & Wright, 2013).

3.2.3 Genes de resistência adquiridos

Por outro lado, a resistência adquirida é um processo dinâmico, caracterizado pela aquisição de genes de resistência por bactérias, frequentemente provenientes de outras bactérias, inclusive de espécies diferentes, através de mecanismos de HGT. A rápida disseminação desses genes pode elevar significativamente o risco de resistência antimicrobiana, sobretudo quando ocorre de bactérias comensais para espécies patogênicas (Von Wintersdorff et al., 2016).

A HGT pode ser mediada por MGEs, como plasmídeos, transposões e integrões (Harris et al., 2023). Esse é o principal mecanismo de aquisição de genes de resistência (Von Wintersdorff et al., 2016). Além disso, os ARGs podem surgir em resposta à pressão seletiva exercida pelo uso de antibióticos, evidenciando a alta plasticidade e constante adaptação das bactérias frente aos antibióticos (Galgano et al., 2025).

Uma vez integrados no genoma bacteriano, esses genes podem ser transmitidos verticalmente para as gerações seguintes (Perry et al., 2014). Além disso, posteriormente, mutações genéticas no DNA cromossômico bacteriano também podem contribuir para o desenvolvimento de resistência adquirida (Von Wintersdorff et al., 2016).

3.3 O papel dos principais MGEs

3.3.1 Transposões

Os transposões, também chamados de elementos transponíveis, foram os primeiros elementos genéticos móveis a serem descobertos. A cientista Barbara McClintock identificou-os no final da década de 1940, enquanto estudava o milho (Ravindran, 2012).

McClintock observou que certos segmentos de DNA podiam mudar de posição no genoma, alterando a expressão de alguns genes e, conseqüentemente, provocando mudanças na coloração dos grãos de milho. McClintock documentou as suas descobertas no artigo intitulado *“The Origin and Behavior of Mutable Loci in Maize”* (McClintock, 1950). No entanto, o reconhecimento das suas descobertas chegou apenas décadas mais tarde, pois, na época, acreditava-se que os genes eram estruturas estáveis e imutáveis (Ravindran, 2012). Com os avanços da biologia molecular, os cientistas confirmaram a presença de transposões em outros organismos, incluindo as bactérias, o que validou os

estudos pioneiros de Barbara McClintock e lhe rendeu o Prémio Nobel de Fisiologia ou Medicina em 1983 (Ravindran, 2012).

Os transposões são divididos em dois grupos principais de acordo com o seu mecanismo de mobilidade: os retrotransposões, que pertencem à classe 1, e os transposões de DNA, pertencentes à classe 2 (Babakhani & Oloomi, 2018).

Os retrotransposões são encontrados em praticamente todos os genomas eucarióticos e representam cerca de 42% do genoma humano, desempenhando um papel importante na evolução genómica (Babakhani & Oloomi, 2018). Seu mecanismo de transposição baseia-se em um processo de “copiar e colar”: inicialmente, são transcritos em RNA, depois retrotranscritos em DNA por uma enzima chamada transcriptase reversa, e por fim integrados em uma nova posição do genoma (Savage et al., 2019; Wang et al., 2020).

Os transposões de DNA estão presentes tanto em organismos eucarióticos quanto nos procarióticos, sendo particularmente abundantes em bactérias (Babakhani & Oloomi, 2018). Eles são capazes de se mover de uma região para outra do genoma por meio de um mecanismo de "cortar e colar", graças à ação de uma enzima, a transposase, que é codificada pelos próprios genes presentes no transposão (Wang et al., 2020).

Assim, na Microbiologia, os transposões são sequências de DNA capazes de se deslocar de um local para outro no genoma de uma célula bacteriana. Devido a essa capacidade de mobilidade, também são conhecidos como "genes saltadores". Além de se moverem dentro do próprio genoma, os transposões podem transpor-se de um cromossoma para um plasmídeo, ou de um plasmídeo para outro (Babakhani & Oloomi, 2018).

Entre os transposões de DNA, destacam-se as sequências de inserção (IS), que representam as formas mais simples. As IS são pequenos segmentos de DNA — com menos de 2,5 kb — que contêm apenas um gene responsável por codificar a enzima transposase. Essas sequências são flanqueadas por repetições invertidas terminais (TIRs) (Siguier et al., 2014). A transposase reconhece as TIRs, corta a sequência de inserção e insere-a num outro local do genoma. Esse processo é conhecido como transposição (Muñoz-López & García-Pérez, 2010).

Outro grupo importante de transposões de DNA são os transposões compostos, formados por duas IS que codificam a transposase e que enquadram um ou mais genes, muitas vezes ARGs (Galgano et al., 2025; Tansirichaiya et al., 2016). A transposase permite a transposição e facilita a propagação dos ARGs por meio de plasmídeos, o que

contribui significativamente para a disseminação da resistência antimicrobiana entre diferentes espécies bacterianas (Babakhani & Oloomi, 2018).

3.3.2 Integrões

Os integrões são elementos genéticos presentes no genoma de bactérias, especialmente em bactérias patogênicas Gram-negativas, e possuem a capacidade de capturar, armazenar e expressar genes na forma de cassetes genéticas (Gillings, 2014; Sabbagh et al., 2021). Essas cassetes genéticas são elementos móveis que, antes de serem integradas no integrão, existem na forma de DNA circular de cadeia dupla. Cada cassete é composta por um pequeno fragmento de DNA com menos de 1 kb, que geralmente contém um gene — embora, por vezes, possa conter dois — frequentemente associados à resistência a antibióticos, além de um sítio de recombinação denominado *attC* (Harris et al., 2023; Partridge et al., 2009). Dessa forma, sendo portadores de genes de resistência, os integrões desempenham um papel central na disseminação dos ARGs entre diferentes espécies bacterianas. Além disso, contribuem de forma mais ampla para a capacidade adaptativa das bactérias frente a mudanças ambientais e para a evolução do seu material genético (Gillings, 2014).

Os integrões não possuem genes codificadores de proteínas que permitam a sua mobilidade autonomamente. Por isso, não são capazes de se mover de forma autônoma e dependem da associação com plasmídeos e transposões, que possibilitam a sua mobilidade entre bactérias da mesma espécie ou de espécies diferentes (Galgano et al., 2025; Sandoval-Quintana et al., 2023).

Os integrões apresentam três elementos essenciais e comuns a todos eles: *intI*, um gene que codifica a enzima integrase; *attI*, um sítio de recombinação; e *Pc*, um promotor responsável pela expressão dos genes inseridos (Sabbagh et al., 2021). É no sítio de recombinação *attI* que ocorre a integração das cassetes de genes, processo realizado pela integrase IntI, como demonstrado na Figura 3 (Gillings, 2014).

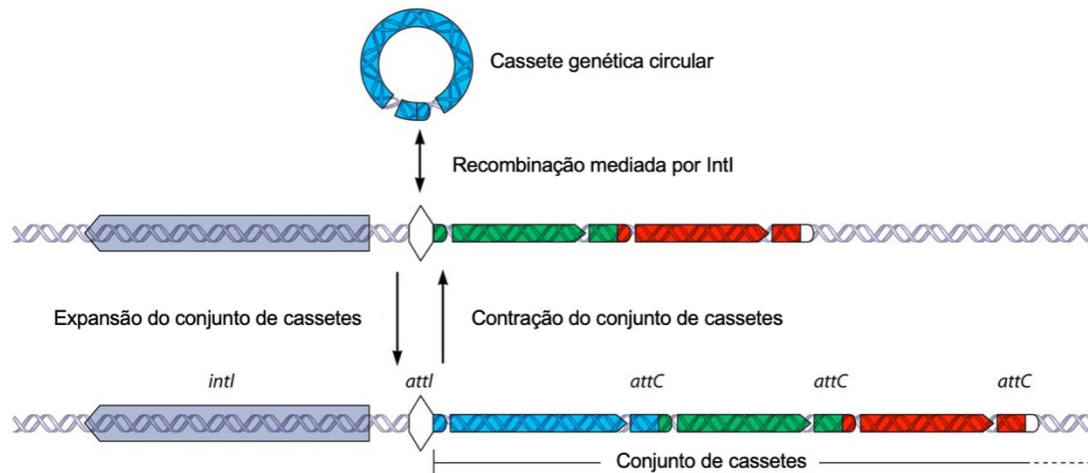


Figura 3. Aquisição de cassetes genéticas por recombinação entre *attC* e *attI* mediada por *IntI* (adaptado de Gillings, 2014).

Existem dois tipos principais de integrões: os móveis e os cromossômicos. Os integrões móveis, que pertencem às classes 1, 2 e 3, contêm ARGs e desempenham um papel fundamental na disseminação dessa resistência entre bactérias (Akrami et al., 2019). Esses integrões estão frequentemente associados a elementos genéticos móveis, como transposões e plasmídeos, o que facilita sua transferência entre diferentes espécies bacterianas (Galvano et al., 2025).

As três primeiras classes de integrões foram definidas com base na sequência do gene *intI*, que codifica a integrase (Sabbagh et al., 2021). Entre elas, os integrões de classe 1 são os principais responsáveis pela propagação da resistência a agentes antimicrobianos tanto em bactérias comensais quanto patogênicas (Sabbagh et al., 2021). Esses integrões de classe 1 são frequentemente envolvidos na multirresistência e associados a genes como o *dfrA*, que confere resistência ao trimetoprim, e o *aadA*, que confere resistência à estreptomicina e à espectinomicina (Singh et al., 2021).

Já os integrões cromossômicos, também chamados de superintegrões e classificados como classe 4, podem conter mais de 200 cassetes de genes. Embora normalmente não estejam associados à resistência antimicrobiana, acredita-se que tenham sido os precursores evolutivos dos integrões móveis, tendo sido identificados originalmente em bactérias do gênero *Vibrio* (Escudero et al., 2015; Galvano et al., 2025).

3.3.3 Bacteriófagos

Os bacteriófagos, também chamados de fagos, são vírus que infetam bactérias e estão presentes em todos os ambientes onde há bactérias. Desempenham um papel fundamental nos processos evolutivos das populações bacterianas (Strange et al., 2021). Os bacteriófagos são as entidades biológicas mais abundantes da Terra, com uma população estimada em 10^{31} partículas virais, ultrapassando em número as bactérias (Strange et al., 2021).

A maioria dos fagos possui uma estrutura composta por uma cabeça icosaédrica, que contém o material genético — geralmente DNA de dupla cadeia — envolto por um conjunto de proteínas conhecido como cápside, além de uma cauda, que permite o reconhecimento de bactérias específicas. Cada fago possui, em geral, uma bactéria-alvo e é capaz de injetar o seu DNA diretamente na célula hospedeira (Auzat et al., 2024; Liu et al., 2021).

Uma das funções importantes dos bacteriófagos é a capacidade de transferir ARGs entre bactérias, facilitando a propagação da resistência antimicrobiana (Strange et al., 2021). De facto, um estudo de Marti et al. (2014) realizado sobre o DNA fágico de amostras de águas ambientais demonstrou a presença de ARGs em bacteriófagos. Mais especificamente, foram identificados os genes *bla_{CTX-M}*, *bla_{SHV}* e *bla_{TEM}*, que conferem resistência aos β -lactâmicos, além dos genes *qnrA*, *qnrB* e *qnrS*, associados à resistência às fluoroquinolonas. Observou-se também que a prevalência de ARGs nas águas hospitalares foi significativamente maior do que nos efluentes das estações de tratamento de águas residuais, indicando uma contribuição mais intensa do ambiente hospitalar para a disseminação desses genes de resistência.

Os fagos podem ser classificados em dois tipos, consoante o seu ciclo de vida: líticos e lisogénicos (ou temperados). Ambos funcionam como vetores de material genético, sendo capazes de transferir ARGs, embora com frequências distintas. Os fagos líticos infetam a bactéria e desencadeiam de imediato a sua lise, levando à destruição celular. Por outro lado, os fagos lisogénicos, mais frequentemente implicados na disseminação da resistência antimicrobiana, integram o seu genoma no DNA bacteriano, onde permanecem em estado latente sob a forma de profago, podendo ser reativados em determinadas condições (Elois et al., 2023).

3.3.4 Plasmídeos

Os plasmídeos são pequenos fragmentos de DNA, geralmente circulares e de cadeia dupla, presentes nas células bacterianas. Localizam-se no citoplasma das bactérias, ou seja, estão fora dos cromossomos principais. Embora não sejam essenciais para a sobrevivência das bactérias em condições normais, os plasmídeos podem conferir vantagens adaptativas (Barreto et al., 2014). Possuem a capacidade de replicação autónoma graças às suas próprias origens de replicação, chamadas *ori*, que são sequências específicas de DNA responsáveis por iniciar esse processo (Kim et al., 2020). Além disso, os plasmídeos podem interagir com o genoma bacteriano e contribuir para a disseminação da resistência antimicrobiana (Barreto et al., 2014).

De facto, funcionam como plataformas genéticas móveis, contendo genes funcionais que podem incluir ARGs. Esses genes de resistência organizam-se frequentemente em cassetes genéticas, que são inseridas nos plasmídeos por meio de integrões e transposões, facilitando sua propagação entre diferentes bactérias (Shintani et al., 2023).

Quando os ARGs estão presentes em plasmídeos de bactérias como *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp., que são agentes causadores comuns de infeções urinárias, isso pode comprometer o tratamento antibiótico (Harris et al., 2023). Mais especificamente, esses plasmídeos podem conter genes que codificam β -lactamases de espectro estendido (ESBL), como *CTX-M* e carbapenemases, como *NDM-1*, *OXA-48*, *KPC*. As carbapenemases conferem resistência aos antibióticos β -lactâmicos, incluindo cefalosporinas de 3^o geração e carbapenemos, que são frequentemente utilizados no tratamento de infeções urinárias. Assim, as bactérias portadoras desses ARGs produzem enzimas capazes de inativar esses antibióticos, representando uma séria ameaça à saúde pública. Por isso, a presença desses plasmídeos pode limitar as opções terapêuticas, aumentando o risco de complicações graves e dificultando o controle dessas infeções (Harris et al., 2023).

Essa resistência torna-se ainda mais preocupante quando os plasmídeos carregam o gene *mcr*, responsável pela resistência à colistina, um antibiótico de última linha utilizado no tratamento de infeções causadas por bactérias Gram-negativas multirresistentes (Mousavi et al., 2025). Como a transmissão por plasmídeos ocorre de forma rápida e eficiente, esses genes podem disseminar-se com grande velocidade, representando uma ameaça significativa (Harris et al., 2023).

3.4 Mecanismos de transferência horizontal dos ARGs

A transferência horizontal de genes (HGT), constitui um mecanismo fundamental na diversificação e disseminação do resistoma adquirido. Trata-se de um processo amplamente difundido, através do qual uma bactéria incorpora diretamente material genético (frequentemente contendo ARGs) proveniente de outras bactérias, sejam elas da mesma espécie ou de espécies distintas (Tao et al., 2022). Ao contrário da herança vertical, a HGT ocorre independentemente da reprodução, permitindo a aquisição rápida e adaptativa de novas características genéticas (Tao et al., 2022). A HGT dá-se principalmente por três mecanismos moleculares: transformação, conjugação e transdução (Figura 4) (Wachino, 2025). Em todos estes processos, diversos MGEs assumem um papel preponderante enquanto intermediários, facilitando a disseminação eficiente e acelerada da resistência antimicrobiana entre diferentes comunidades bacterianas (Von Wintersdorff et al., 2016).

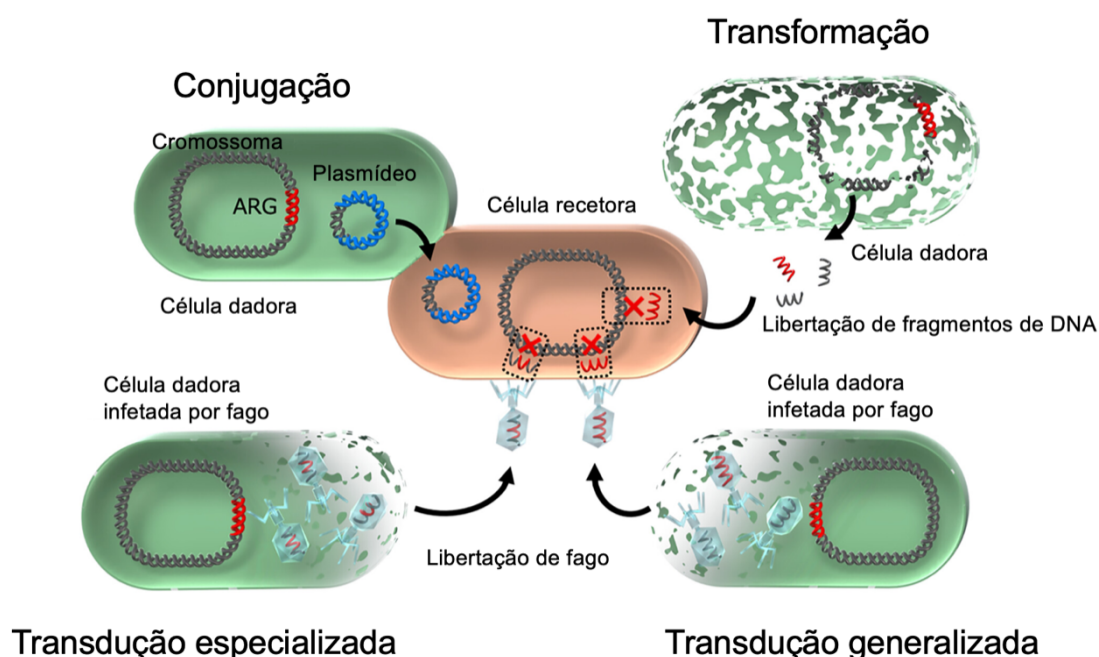


Figura 4. Os três principais mecanismos de HGT, incluindo transformação, conjugação e transdução (generalizada e especializada) (adaptado de Wachino, 2025).

Recentemente, foi identificado um novo mecanismo de HGT, com um papel significativo na disseminação de ARGs entre bactérias, designado por “vesidação”. Este

processo envolve vesículas de membrana externa (OMVs), pequenas estruturas esféricas de dimensão nanométrica, libertadas a partir da membrana externa de bactérias Gram-negativas dadoras durante o seu crescimento. Estas vesículas transportam plasmídeos de reduzida dimensão, bem como fragmentos de DNA cromossómico da bactéria hospedeira contendo ARGs. Posteriormente, as OMVs fundem-se com a membrana das células recetoras, libertando os ARGs no seu citoplasma, onde estes podem ser incorporados no cromossoma da célula recetora, contribuindo assim para a aquisição e propagação da resistência antimicrobiana (Wachino, 2025).

3.4.1 Transformação

A transformação natural, enquanto mecanismo de HGT, consiste na integração no genoma da bactéria recetora de fragmentos extracelulares e livres de DNA, libertados por outras bactérias, geralmente após lise celular, e muitas vezes contendo ARGs. Apesar de frequentemente subestimada, a transformação desempenha um papel crucial na disseminação da resistência antimicrobiana (Wachino, 2025).

Para que a transformação ocorra, as bactérias devem encontrar-se num estado de competência, uma condição celular específica que lhes permite integrar o DNA extracelular no seu genoma (Blokesch, 2016). Este estado de competência envolve sistemas moleculares complexos, incluindo as pili do tipo IV, proteínas de competência como ComEA e ComEC, bem como proteínas de recombinação como a RecA, essencial para a recombinação homóloga (Wachino, 2025). Algumas bactérias apresentam competência natural, permitindo-lhes adquirir ARGs; exemplos notáveis incluem espécies potencialmente patogénicas como *Neisseria gonorrhoeae*, *Vibrio cholerae*, *Haemophilus influenzae* e *Streptococcus pneumoniae* (Blokesch, 2016).

3.4.2 Conjugação

A conjugação bacteriana confere às bactérias a capacidade de adquirir rapidamente novas funções genéticas, incluído ARGs, promovendo a sua adaptação evolutiva e garantindo a sobrevivência em ambientes sujeitos a condições ambientais dinâmicas e adversas (Virolle et al., 2020). De facto, a conjugação é o principal mecanismo responsável pela transmissão de ARGs entre bactérias (Von Wintersdorff et al., 2016). Este processo, comum à maioria das espécies bacterianas, consiste na

transferência de material genético por intermédio de plasmídeos conjugativos, que frequentemente transportam a maior parte dos ARGs, através do contacto direto entre uma célula bacteriana dadora e uma célula recetora (Tao et al., 2022; Virolle et al., 2020).

Existem dois mecanismos distintos de conjugação bacteriana, consoante ocorre em bactérias Gram-negativas ou Gram-positivas. Nas bactérias Gram-negativas, exemplificadas pela família Enterobacteriaceae, a conjugação ocorre graças à presença dos plasmídeos F. Estes plasmídeos contêm genes *tra*, responsáveis pela formação de pili de conjugação, também conhecidos como pili F, que são estruturas filamentosas longas que emergem da superfície celular. Através destes pili, uma célula bacteriana portadora do plasmídeo F pode aderir a uma célula recetora desprovida do plasmídeo, aproximando ambas as células e possibilitando a transferência do material genético (Goldlust et al., 2023). Por outro lado, nas bactérias Gram-positivas, como é o caso de *Enterococcus faecalis*, os pili F estão ausentes (Goldlust et al., 2023; Hirt et al., 2018). Neste grupo, a conjugação é induzida pela produção de feromonas peptídicas, como a cCF10, pela célula recetora (Hirt et al., 2018). Estes feromonas promovem a expressão de proteínas de adesão na superfície da célula dadora, como a PrgB, codificada por genes localizados nos plasmídeos conjugativos pCF10. Essa interação facilita a ligação específica entre as células dadora e recetora, permitindo a transferência do material genético (Järvå et al., 2020).

O trato intestinal constitui um ambiente propício para a disseminação de genes de resistência por conjugação, devido à elevada diversidade e concentração de microrganismos presentes, o que facilita o contato entre diferentes bactérias e a troca genética (Neil et al., 2021).

3.4.3 Transdução

A transdução é um mecanismo de HGT frequentemente subestimado, mas que na realidade, desempenha um papel fundamental na evolução genética das bactérias, especialmente na aquisição de novas características. Trata-se de um processo pelo qual um bacteriófago transporta fragmentos de DNA, que podem conter ARGs, de uma bactéria dadora para uma bactéria recetora, promovendo a integração desses fragmentos no genoma bacteriano (Chiang et al., 2019).

Este mecanismo de transferência pode ser classificado em dois tipos principais: a transdução generalizada e a transdução especializada como indicado na Figura 4

(Wachino, 2025). Recentemente, foi identificado um terceiro tipo de transdução, designado transdução lateral, que introduz um novo grau de complexidade e abrangência ao processo, reforçando o seu papel crucial na HGT (Chiang et al., 2019).

Na transdução generalizada, após a infecção de uma bactéria por um fago lítico, ocorre a replicação do genoma viral no interior da célula hospedeira, acompanhada pela degradação do DNA bacteriano (Kortright et al., 2019; Torres-Barceló, 2018). Durante a montagem das novas partículas virais, pode ocorrer um erro de empacotamento, no qual fragmentos aleatórios do DNA bacteriano degradado são encapsulados na cápside do fago, em vez do genoma viral. Estas partículas defeituosas, embora não contenham DNA viral funcional, são capazes de infectar novas bactérias, introduzindo nelas os fragmentos de DNA bacteriano, que podem então ser integrados no genoma da célula recetora por recombinação homóloga (Torres-Barceló, 2018; Wachino, 2025).

Por sua vez, na transdução especializada, apenas genes bacterianos localizados próximos do local de integração do profago podem ser transferidos (Wachino, 2025). Este processo ocorre quando um profago é induzido a entrar no ciclo lítico (Kortright et al., 2019). Durante a excisão do profago, podem ocorrer erros que levam à remoção imprecisa do DNA viral, incluindo segmentos adjacentes do DNA bacteriano. O fago resultante transporta, assim, uma porção específica do DNA da célula hospedeira original, que pode ser transmitida a outra bactéria durante uma nova infecção, contribuindo para a HGT (Torres-Barceló, 2018).

A transdução é o mecanismo de HGT mais prevalente em algumas espécies bacterianas, como o agente patogénico *Staphylococcus aureus* (McCarthy et al., 2012). Essa predominância pode ser atribuída tanto à baixa eficiência de outros mecanismos de HGT nessa espécie bacteriana, como a transformação e a conjugação, quanto à elevada frequência de fagos temperados presentes em *S. aureus* (McCarthy et al., 2012). Estes fagos desempenham um papel importante na disseminação de ARGs, atuando como vetores de elementos genéticos móveis, como a cassete cromossômica estafilocócica mec (SCCmec), que inclui o gene *mecA*. Este gene confere resistência aos β -lactâmicos e está na base da emergência de estirpes resistentes, conhecidas como *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) (Scharn et al., 2013).

3.5 Mecanismos moleculares de resistência

A resistência aos antibióticos baseia-se em diversos mecanismos moleculares que permitem às bactérias sobreviver mesmo na presença de agentes antimicrobianos. Esses mecanismos, mediados por proteínas codificadas por ARGs, apresentam uma notável diversidade e disseminam-se rapidamente entre diferentes espécies bacterianas, configurando um desafio crescente para a saúde pública (Von Wintersdorff et al., 2016). A chamada era pós-antibióticos, caracterizada pela perda progressiva da eficácia terapêutica dos antibióticos, ameaça transformar infecções outrora tratáveis em quadros clínicos graves e potencialmente letais (Hansson & Brenthel, 2022).

Esses mecanismos de resistência podem ser intrínsecos ou adquiridos, e frequentemente coexistem em bactérias multirresistentes, favorecendo o surgimento de estirpes com elevado potencial patogênico (van Duijkeren et al., 2018). Por exemplo, a rápida disseminação dos ARGs é especialmente preocupante no grupo de bactérias Gram-negativas, sobretudo as do grupo conhecido como ESKAPE — *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* spp. —, que reúne a maioria dos mecanismos de resistência descritos até hoje e está envolvido em numerosas infecções nosocomiais multirresistentes (Sakalauskiene et al., 2025).

Os mecanismos de resistência dividem-se, de forma geral, em quatro categorias principais: inativação enzimática do antibiótico, modificação do alvo molecular, efluxo ativo e redução da permeabilidade da membrana, como ilustrado na Figura 5 (Belay et al., 2024). Compreender aprofundadamente os mecanismos moleculares envolvidos na resistência é essencial para desvendar a dinâmica do resistoma e antecipar o surgimento de resistências clínicas com implicações críticas para a terapêutica (Belay et al., 2024).

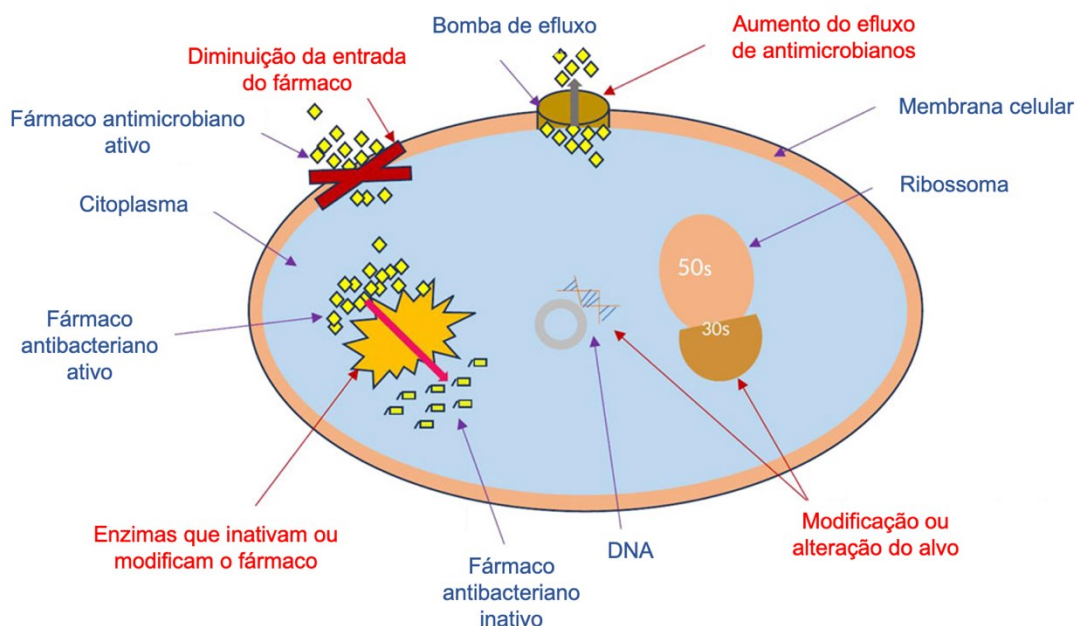


Figura 5. Os principais mecanismos moleculares de resistência (adaptado de Belay et al., 2024).

3.5.1 Inativação enzimática do antibiótico

A inativação enzimática dos antibióticos é um mecanismo crucial de resistência bacteriana, no qual as bactérias produzem enzimas capazes de degradar o antibiótico ou modificar a sua estrutura química antes que este atinja o seu alvo, resultando assim na perda da sua eficácia (Kumar & Varela, 2013). Estas enzimas, responsáveis pela inativação dos antibióticos, dividem-se em duas categorias: as que promovem a hidrólise do antibiótico e as que provocam modificações químicas na sua estrutura. A inativação enzimática ocorre através de três mecanismos principais, consoante o modo de ação das enzimas envolvidas. O primeiro mecanismo consiste na modificação da estrutura do antibiótico por clivagem enzimática, realizada por hidrolases. O segundo envolve a alteração da estrutura química através da transferência de grupos funcionais, catalisada por transferases. O terceiro mecanismo baseia-se em reações de oxidorredução, mediadas por oxidorredutases (Egorov et al., 2018; Kumar & Varela, 2013).

Nas bactérias Gram-negativas, o principal mecanismo de resistência aos antibióticos β -lactâmicos é a produção de β -lactamases. Esta estratégia de resistência, que se traduz na perda de eficácia destes antibióticos, constitui um grave problema, uma vez que os β -lactâmicos são atualmente a classe de antibióticos mais usada no tratamento de

infecções bacterianas. As β -lactamases produzidas pelas bactérias atuam através da hidrólise da ligação amida do anel β -lactâmico (Tooke et al., 2019).

Um estudo de Zdarska et al. (2024) demonstrou que existem atualmente 230 géneros bacterianos conhecidos que produzem β -lactamases. Além disso, os autores descobriram que poderão existir mais de 2300 tipos diferentes de β -lactamases em muitos outros géneros bacterianos. Na realidade, este número pode estar subestimado; de facto, poderão existir muitos mais tipos de β -lactamases, o que indica que estas enzimas são mais numerosas e difundidas do que se pensava. Por isso, é necessário realizar estudos genéticos que permitam identificar rapidamente os ARGs e vigiar a sua disseminação.

As β -lactamases são classificadas segundo duas abordagens principais: a classificação de Ambler e a de Bush, Jacoby e Medeiros. De acordo com a classificação de Ambler, as β -lactamases dividem-se em quatro classes moleculares — A, B, C e D — com base na sequência de aminoácidos (Ambler, 1980), como indicado na Figura 6 (Noster et al., 2021). As classes A, C e D utilizam uma serina para a hidrólise do anel β -lactâmico, enquanto a classe B agrupa as metalobetalactamases (MBL), que requerem iões metálicos, geralmente zinco, para exercerem a sua atividade catalítica (Tooke et al., 2019).

Cada classe inclui enzimas codificadas por diferentes ARGs, denominados *bla* seguidos pela respetiva família, que podem estar localizados quer no cromossoma quer em plasmídeos. A classe A constitui o grupo mais frequente de β -lactamases e inclui as ESBL (β -lactamases de espectro estendido), ativas contra penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos. Entre as famílias desta classe destacam-se as TEM, SHV e CTX-M, bem como as carbapenemases, como as KPC. A classe B engloba carbapenemases como as VIM, IMP e NDM (New Delhi metalobetalactamase). A classe C compreende cefalosporinases, como a AmpC. Por fim, a classe D inclui as oxacillinases (OXA), nomeadamente carbapenemases como a OXA-23 e a OXA-48 (Tooke et al., 2019).

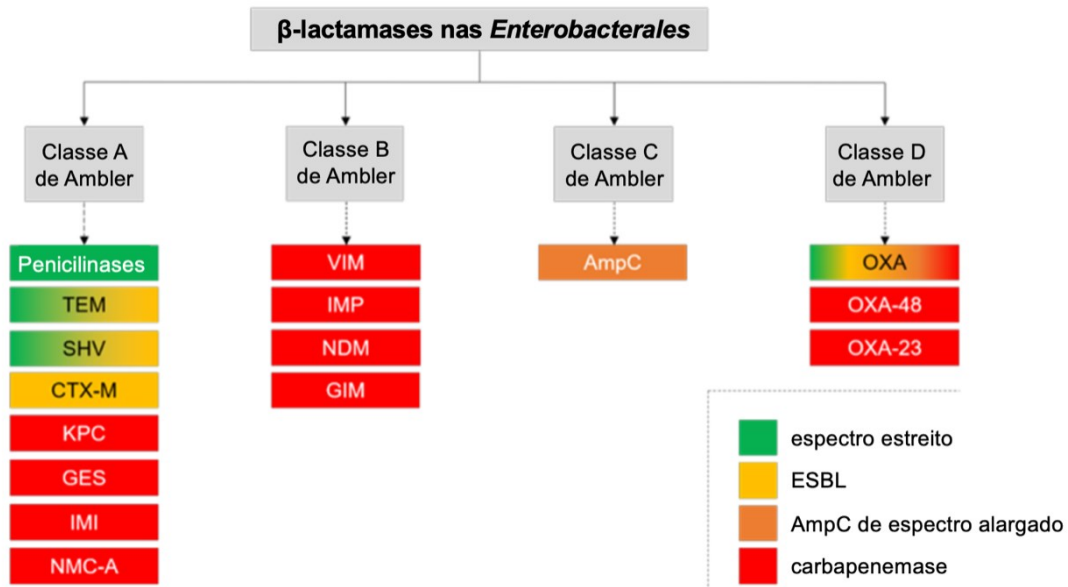


Figura 6. Distribuição das β-lactamases segundo a classificação de Ambler (adaptado de Noster et al., 2021).

A classificação de Bush, Jacoby e Medeiros é uma classificação funcional baseada na atividade da enzima, nomeadamente no tipo de antibiótico que a enzima consegue inativar e nos inibidores que podem bloquear a sua ação (Bush & Jacoby, 2010). De acordo com esta classificação, as β-lactamases dividem-se em três grupos. O primeiro corresponde às cefalosporinas (classe C de Ambler), o segundo corresponde às β-lactamases de serina (classes A e D de Ambler) e o terceiro às MBL (classe B de Ambler) (Bush & Jacoby, 2010).

A inativação por hidrólise não se restringe apenas aos antibióticos β-lactâmicos. Esterases como Ere (codificada por genes como *ereA* e *ereB*) e Est (codificada por genes como *estX*), são capazes de inativar os antibióticos macrólidos por meio da hidrólise da ligação éster presente no anel lactona (Lin et al., 2024; van Duijkeren et al., 2018).

A modificação estrutural dos antibióticos por adição de grupos químicos, catalisada por enzimas modificadoras de aminoglicosídeos (*aminoglycoside-modifying enzymes*, AMEs) — como as acetiltransferases (AAC), adeniltransferases (ANT) e fosfotransferases (APH) — constitui um mecanismo comum de inativação dessa classe de fármacos. Essas enzimas são codificadas, respetivamente, pelos genes *aac*, *ant* e *aph* (Thacharodi & Lamont, 2022; van Duijkeren et al., 2018). Além disso, a resistência a outro antibiótico, o cloranfenicol, também pode ocorrer por modificação estrutural

mediada pela enzima cloranfenicol acetiltransferase (CAT) codificada pelo gene *cat*, que impede a sua interação com o ribossoma bacteriano (Biswas et al., 2012; van Duijkeren et al., 2018).

Por fim, há também reações de oxirredução que podem modificar a estrutura química dos antibióticos, resultando na sua inativação. Um exemplo desse processo é a atuação das enzimas TetX, produzidas pelo gene *tetX*, que são monooxigenases capazes de inativar a tetraciclina por meio de reações oxidativas (Egorov et al., 2018).

3.5.2 Alteração do alvo molecular

Cada classe de antibióticos exerce sua função sobre estruturas celulares bacterianas específicas e essenciais para a sobrevivência da bactéria. Esses alvos podem incluir a parede celular, os ribossomas ou os mecanismos de síntese do DNA, entre outros (Egorov et al., 2018). Contudo, algumas bactérias desenvolveram mecanismos de resistência que lhes permitem escapar da ação dos antibióticos, alterando a estrutura molecular desses alvos. Como consequência, os antibióticos deixam de reconhecer esses locais de ação e perdem a capacidade de inibir o crescimento bacteriano (Schaenzer & Wright, 2020). A alteração do alvo molecular constitui um importante mecanismo de resistência a múltiplas classes de antibióticos, podendo ocorrer por diversas vias, nomeadamente através de mutações genéticas, modificações enzimáticas do alvo ou pela aquisição de ARGs que codificam alvos alternativos (Lambert, 2005).

As fluoroquinolonas, como ciprofloxacina, levofloxacina e moxifloxacina, atuam ao se ligarem e inibirem enzimas essenciais para a replicação do DNA, como a DNA girase e a topoisomerase IV. Mutações podem ocorrer nos genes que codificam a DNA girase (*gyrA*) ou a topoisomerase IV (*parC*), alterando a estrutura dessas enzimas e impedindo a ligação das fluoroquinolonas. Essas mutações são comuns em bactérias como *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, resultando em resistência às fluoroquinolonas (Arabameri et al., 2021; Yakout & Ali, 2022).

Os antibióticos β -lactâmicos atuam ligando-se às proteínas ligadoras de penicilina (*penicillin-binding proteins*, PBPs), enzimas essenciais para a síntese do peptidoglicano, um componente estrutural fundamental da parede bacteriana. No entanto, algumas bactérias, como MRSA, produzem uma forma modificada destas enzimas, designada PBP2a. A expressão da PBP2a resulta da aquisição do gene *mecA*, localizado na cassete cromossômica estafilocócica *mec* (SCC*mec*). Esta modificação reduz significativamente

a afinidade dos antibióticos β -lactâmicos à PBP2a, conferindo assim resistência (Rosado et al., 2025).

Os glicopéptidos, como a vancomicina, são frequentemente considerados terapias de última linha para infecções causadas por bactérias Gram-positivas resistentes. A sua ação baseia-se na ligação aos terminais D-Ala-D-Ala dos precursores do peptidoglicano, impedindo a transpeptidação e, assim, bloqueando a síntese da parede celular (Von Döhren, 2004; Wright, 2011). Nos enterococos resistentes à vancomicina (VREs), a resistência geralmente resulta da aquisição de operões contendo o gene *vanA* e outros que codificam enzimas (incluindo VanH, VanA e VanX) capazes de remodelar o dímero D-Ala-D-Ala para D-Ala-D-Lac (ou, raramente, D-Ala-D-Ser), reduzindo drasticamente a afinidade da vancomicina ao seu alvo (Courvalin, 2006).

Os macrólidos, lincosamidas e estreptograminas do tipo B (MLS-B) atuam ligando-se à subunidade 50S do ribossoma, onde inibem a síntese proteica. A aquisição do gene *erm*, que codifica uma metiltransferase, leva à metilação do RNA ribossômico 23S presente na subunidade 50S. Essa modificação conformacional impede a ligação dos MLS-B ao seu alvo, conferindo resistência a estas classes de antibióticos (Seppälä et al., 1998).

3.5.3 Efluxo ativo

As bombas de efluxo são transportadores membranares presentes tanto em bactérias Gram-negativas como Gram-positivas, que permitem a expulsão ativa de diversas substâncias, incluindo antibióticos, para o exterior da célula bacteriana. Este mecanismo impede que tais substâncias atinjam os seus alvos intracelulares, reduzindo assim a sua concentração dentro da célula e, conseqüentemente, a sua eficácia (Kumawat et al., 2023).

Estas bombas de efluxo estão implicadas em dois tipos de resistência antimicrobiana: a resistência intrínseca, que ocorre na maioria dos casos, e a resistência adquirida (Blanco et al., 2016). Na resistência intrínseca, as bombas de efluxo são codificadas por genes cromossômicos naturalmente presentes na espécie bacteriana, independentemente da exposição prévia ou da pressão seletiva exercida por antibióticos. Estas bombas são geneticamente e estruturalmente conservadas ao longo da evolução, uma vez que conferem vantagens adaptativas importantes face a diversos tipos de stress ambiental. Desta forma, as bactérias exibem, desde o início, uma menor sensibilidade a

vários antibióticos. Relativamente à resistência adquirida, esta pode ocorrer por aquisição de ARGs que codificam novas bombas de efluxo, ou através de mutações em genes reguladores que levam a uma sobre-expressão das bombas já existentes (Blanco et al., 2016).

Esses sistemas de transporte podem ser específicos para um determinado substrato ou atuar sobre múltiplas classes de antibióticos, o que pode levar à resistência cruzada (Blanco et al., 2016). As bombas de efluxo são agrupadas em seis grandes famílias: MFS (*Major Facilitator Superfamily*), RND (*Resistance-Nodulation-Division*), ABC (*ATP-Binding Cassette*), SMR (*Small Multidrug Resistance*), MATE (*Multidrug And Toxic compound Extrusion*) e PACE (*Proteobacterial Antimicrobial Compound Efflux*) (Elshobary et al., 2025; X. Z. Li et al., 2015). Esta classificação baseia-se na semelhança das sequências de aminoácidos, na estrutura global e na fonte de energia utilizada (Kumawat et al., 2023). A família ABC recorre ao ATP como fonte de energia, enquanto as famílias MFS, RND, SMR e PACE utilizam o gradiente de prótons. A família MATE, por sua vez, pode usar tanto prótons como íons de sódio para expulsar os substratos (Li et al., 2015).

As bombas de efluxo da família RND são os principais mediadores da resistência a antibióticos em bactérias Gram-negativas. Exemplos notáveis incluem o sistema AcrAB-TolC, codificado pelos genes *acrA*, *acrB* e *tolC* em *Escherichia coli*, e o sistema MexAB-OprM, codificado por *mexA*, *mexB* e *oprM* em *Pseudomonas aeruginosa* (Chiang & Dekker, 2024; van Duijkeren et al., 2018). O sistema AcrAB-TolC é constituído por AcrB, um transportador localizado na membrana interna; AcrA, uma proteína de ligação periplásmica; e TolC, um canal de saída presente na membrana externa. Este sistema confere resistência a várias classes de antibióticos (Fanelli et al., 2023; Kumawat et al., 2023). Já, o sistema MexAB-OprM é constituído por MexB, um transportador localizado na membrana interna; MexA, um adaptador periplasmático; e OprM, um canal presente na membrana externa, e confere resistência a quinolonas, tetraciclina e cloranfenicol, entre outros (Kumawat et al., 2023; López et al., 2017).

Por fim, podem ser adquiridos genes como *tetA*, que codifica uma bomba de efluxo da família MFS, capaz de expulsar ativamente a tetraciclina para o exterior da célula bacteriana (Coyne et al., 2011).

3.5.4 Redução da permeabilidade da membrana

A redução da permeabilidade da membrana é um mecanismo de resistência particularmente frequente em bactérias Gram-negativas. Estas bactérias possuem uma membrana externa que limita a penetração dos antibióticos na célula bacteriana, impedindo que estes atinjam o seu alvo intracelular em concentrações suficientemente elevadas. Esta barreira física contribui de forma significativa para a resistência intrínseca, podendo comprometer o sucesso do tratamento antimicrobiano (Ghai & Ghai, 2018).

Mais especificamente, a membrana externa das bactérias Gram-negativas apresenta uma estrutura assimétrica, composta por fosfolípidos na face interna e por LPS na face externa (Nikaido, 2003). A presença de LPS confere uma natureza hidrofóbica à superfície celular, dificultando a difusão de antibióticos hidrofílicos (Bertani & Ruiz, 2018). A membrana externa é também composta por canais proteicos designados por porinas, que permitem o transporte passivo de pequenas moléculas hidrofílicas, incluindo antibióticos como os β -lactâmicos, as fluoroquinolonas e a tetraciclina (Ghai, 2023).

Esta redução da permeabilidade pode ocorrer devido à diminuição da expressão das porinas, resultante de mutações nos reguladores transcricionais, ou por mutações nos próprios genes que codificam as porinas, as quais podem levar à sua inativação (Belay et al., 2024). Para além disso, modificações na composição lipídica da membrana externa podem igualmente afetar a sua permeabilidade (Ghai & Ghai, 2018). Este mecanismo de resistência atua frequentemente em sinergia com outros mecanismos moleculares, como a inativação enzimática ou a ação de bombas de efluxo, contribuindo para a multirresistência, fenómeno comum em bactérias do grupo ESKAPE (Sakalauskiene et al., 2025).

No contexto da resistência adquirida em *P. aeruginosa*, um estudo recente demonstrou que mutações no gene *oprD* levam à redução da expressão da porina OprD, resultando em resistência aos carbapenemos, mesmo na ausência de carbapenemases e da ativação de bombas de efluxo (Wang et al., 2025). A reintrodução da porina funcional OprD restaurou a sensibilidade aos carbapenemos, evidenciando que a perda dessa porina é, por si só, suficiente para induzir resistência específica a esses antibióticos nesta espécie bacteriana (Wang et al., 2025). De forma semelhante, mutações nos genes que codificam as porinas OmpF, localizadas na membrana externa de *Escherichia coli*, podem diminuir a permeabilidade da membrana devido à expressão reduzida dessas proteínas,

contribuindo para a resistência a diversos antibióticos, incluindo os β -lactâmicos (Choi & Lee, 2019).

3.6 Fatores que influenciam a composição do resistoma

A composição do resistoma humano não é estática; pelo contrário, consiste num conjunto altamente dinâmico de ARGs que evolui ao longo do tempo (Perry et al., 2014), sob a influência de fatores intrínsecos do hospedeiro. Em particular, o resistoma intestinal é influenciado pelo estado de saúde/doença, e por determinantes ambientais e comportamentais, incluindo localização geográfica, dieta e uso de antibióticos, entre outros (Figura 7) (Crits-Christoph et al., 2022). Estas variáveis não só modulam a diversidade do resistoma, como desempenham também um papel importante no seu potencial de disseminação. É o caso, por exemplo, dos antibióticos, que, para além da função antibacteriana, também levam a efeitos indesejáveis nas populações bacterianas, através da promoção da HGT (Liu et al., 2022).

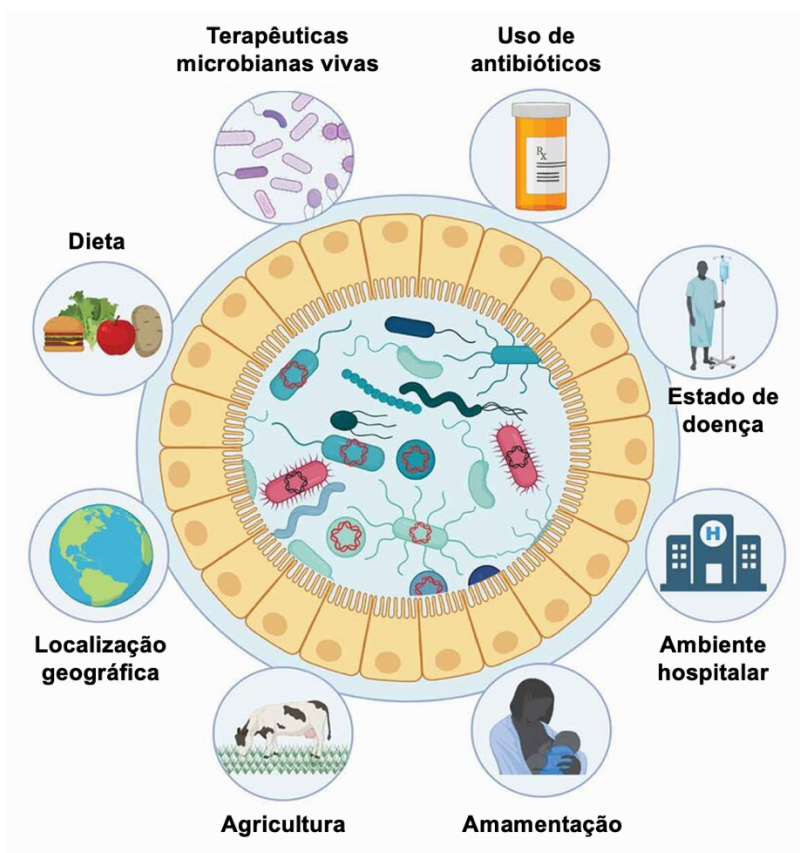


Figura 7. Fatores intrínsecos do hospedeiro, ambientais e comportamentais que afetam o resistoma intestinal (adaptado de Crits-Christoph et al., 2022).

3.6.1 A idade e o resistoma

A idade constitui um fator relevante que pode influenciar o resistoma humano. De facto, ao longo da vida, a comunidade de microrganismos que compõe o microbioma humano sofre diversas alterações na sua composição, o que, por sua vez, afeta a expressão do resistoma (Fri et al., 2024; Qin et al., 2022). Por exemplo, uma revisão sistemática feita por Fri e colaboradores (Fri et al., 2024), que consideraram estudos que caracterizavam a microbiota intestinal e o resistoma utilizando análise metagenómica, concluíram que a menor diversidade da microbiota bacteriana está provavelmente associada a um aumento da abundância geral do resistoma intestinal. Além disso, foram observadas diferenças relacionadas à idade, com lactentes mais jovens apresentando menor diversidade da microbiota e maior abundância de ARGs em comparação com lactentes mais velhos e adultos. Nos lactentes mais novos, a microbiota é imatura, caracterizando-se por uma menor diversidade bacteriana em comparação com lactentes mais velhos e adultos, o que resulta, conseqüentemente, numa carga mais elevada de ARGs (Fri et al., 2024). A maior proporção de ARGs observada em lactentes foi atribuída à abundância de bactérias como *Escherichia coli*, que apresentam um elevado número de ARGs frequentemente localizados em plasmídeos, os quais funcionam como importantes reservatórios desses genes. Ao longo do tempo, a diminuição progressiva da abundância relativa de *E. coli* conduz, conseqüentemente, a uma redução da carga total de ARGs (Bargheet et al., 2025). Os recém-nascidos possuem uma abundância significativamente maior de genes de resistência em comparação com as mães. Os ARGs mais frequentemente identificados no seu intestino conferem resistência, por exemplo, a β -lactâmicos, aminoglicosídeos e macrólidos (Leo et al., 2022).

As idades avançadas estão mais associadas a um estado de disbiose, caracterizado sobretudo pela predominância de proteobactérias (filo *Pseudomonadota*), que apresentam numerosos ARGs, incluindo aqueles que codificam bombas de efluxo. Esta redução da diversidade microbiana decorrente da disbiose, está assim, associada a um aumento tanto da quantidade como da diversidade de ARGs (Araos et al., 2019; Tavella et al., 2021). Contudo, cada indivíduo, independentemente da idade, apresenta ARGs comuns que fazem parte do resistoma *core* (Tavella et al., 2021).

3.6.2 As doenças e o resistoma

Determinadas doenças podem modificar o ambiente intestinal, influenciando a dinâmica do resistoma. Este efeito é particularmente evidente nas doenças inflamatórias intestinais, que se associam a um aumento global do resistoma devido à acumulação contínua de ARGs por estirpes que se tornam predominantes em consequência do estado disbiótico (Fredriksen et al., 2023). Além disso, a inflamação intestinal pode estimular a HGT entre as bactérias intestinais. De facto, este processo inflamatório pode favorecer a proliferação de bactérias da família Enterobacteriaceae, que possuem maior capacidade de transferir genes de resistência, nomeadamente através de plasmídeos conjugativos, desempenhando assim um papel relevante na disseminação do resistoma (Stecher et al., 2012).

As infeções por bactérias, como *Campylobacter* spp., provenientes de alimentos contaminados, estão igualmente associadas a alterações do resistoma. Efetivamente, a presença destas bactérias na microbiota intestinal, enquanto portadoras de ARGs, correlaciona-se com uma maior diversidade de ARGs (Hansen et al., 2021).

3.6.3 A administração de antibióticos e o resistoma

A utilização de antibióticos exerce uma pressão seletiva, constituindo um fator central na modulação do resistoma humano. Os tratamentos antibióticos provocam uma redução da diversidade da microbiota intestinal, eliminando estirpes sensíveis e favorecendo a persistência das resistentes. O seu impacto no desequilíbrio da microbiota intestinal pode ser prolongado. De facto, mesmo após a suspensão de um tratamento de curta duração, a microbiota intestinal pode permanecer alterada durante até dois anos (Jernberg et al., 2007).

Ao contrário da perceção comum de que apenas concentrações terapêuticas de antibióticos permitem a seleção de bactérias resistentes, existe evidência de que essa seleção pode ocorrer mesmo na presença de concentrações sub-inibitórias de antibióticos (várias centenas de vezes inferiores à concentração mínima inibitória de bactérias sensíveis), independentemente da quantidade inicial de bactérias resistentes (Gullberg et al., 2011).

Tanto em adultos como em lactentes que tomam antibióticos, ocorre um desequilíbrio na composição da microbiota intestinal, associado a um aumento da

abundância e da diversidade de ARGs (Li et al., 2023). Após o tratamento antibiótico, o microbioma intestinal dos adultos demora mais tempo a recuperar o seu estado de equilíbrio, ao passo que o dos lactentes, devido à sua maior plasticidade, restabelece-se mais rapidamente (Li et al., 2023).

No entanto, o impacto da antibioterapia sobre o resistoma intestinal varia entre indivíduos, uma vez que resulta de uma interação complexa de múltiplos fatores, incluindo o tipo de antibiótico e características individuais, como a função renal ou hepática, bem como a toma de outros fármacos concomitantes (Li et al., 2023; Willmann et al., 2019).

3.6.4 A alimentação e o resistoma

A alimentação exerce uma influência significativa na dinâmica do resistoma, ao modular a composição e a funcionalidade do microbioma intestinal. Em particular, uma dieta rica em açúcares, gorduras e proteínas e pobre em fibras tem sido associada a um aumento da abundância relativa do resistoma e do mobiloma — o conjunto de MGEs — enquanto uma alimentação rica em fibras parece exercer um efeito protetor, diminuindo a abundância de ARGs (Shen et al., 2025). Oliver e colaboradores, aplicaram métodos de machine learning para analisar 387 características dietéticas, fisiológicas e de estilo de vida, com o intuito de encontrar associações com a resistência aos antimicrobianos e verificaram que uma maior diversidade filogenética da dieta estava associada a indivíduos com baixo número de ARGs (Oliver et al., 2022).

Um estudo recente demonstrou que alguns edulcorantes artificiais, como o aspartame e a sucralose, frequentemente presentes na alimentação, podem exercer efeitos semelhantes aos de certos antibióticos na propagação de ARGs entre bactérias (Yu et al., 2022). De facto, estes compostos parecem estimular a transferência horizontal de ARGs, sobretudo através do mecanismo de transformação (Yu et al., 2022).

3.6.5 A hospitalização e o resistoma

A hospitalização constitui um determinante de alto risco que aumenta a exposição dos pacientes a ARGs. De facto, um dos fatores que modula o resistoma humano é a toma frequente de antibióticos, o que é bastante comum em pacientes hospitalizados. No estudo realizado por Park et al. (2022), cujo objetivo foi avaliar a prevalência da prescrição de

antibióticos durante a hospitalização ou em contexto ambulatorio em 20 hospitais da Coreia do Sul, verificou-se que 14,1% de todos os pacientes incluídos receberam antibióticos, percentagem que aumentou para 50,8% entre os internados. As cefalosporinas foram o grupo mais prescrito (52,0%), sobretudo as de terceira geração. Seguiram-se os antibióticos β -lactâmicos associados a inibidores de β -lactamase (13,7%), com destaque para a piperacilina-tazobactam. O estudo revelou ainda que mais de um quarto das prescrições de antibióticos eram inadequadas.

O aumento da utilização de antibióticos no meio hospitalar, sobretudo de largo espectro, exerce uma forte pressão seletiva sobre as bactérias, favorecendo a emergência de estirpes multirresistentes e a disseminação de ARGs para outras bactérias através da transferência horizontal. Estas estirpes multirresistentes podem, subsequentemente, causar infeções nosocomiais de difícil tratamento (Evans et al., 2020).

Além disso, o ambiente hospitalar pode ser uma fonte de ARGs associadas a bactérias potencialmente patogénicas, uma vez que algumas destas bactérias podem ser libertadas no ambiente na forma de partículas finas em suspensão (PM_{2,5}), representando assim uma via de exposição para os pacientes, para os profissionais de saúde e visitantes (Wu et al., 2022).

Várias estirpes multirresistentes podem estar presentes em diferentes superfícies do hospital, onde podem persistir durante anos. Os pacientes podem entrar em contacto com estas estirpes através do toque nessas diversas superfícies. Em indivíduos vulneráveis, este contacto aumenta o risco de infeções (Chng et al., 2020). Por fim, as mãos dos profissionais de saúde constituem a principal via de transmissão de bactérias patogénicas entre pacientes hospitalizados, contribuindo para a disseminação do microbioma e consequentemente do resistoma (Pittet et al., 2006).

3.7 Diferenças na composição do resistoma conforme a localização corporal

O resistoma humano não é homogéneo: a sua composição varia de forma significativa, tanto entre indivíduos como entre diferentes regiões do corpo, sendo moldada por fatores locais, como a composição microbiana específica de cada região, e as pressões seletivas a que está sujeita.

Para identificar os perfis de resistoma em diferentes locais anatómicos, Maestre-Carballe et al. (2022) analisaram dados provenientes de 771 amostras de cinco sítios

anatômicos de indivíduos saudáveis, recolhidas no âmbito do HMP. Um total de 28.714 ARGs foi encontrado no conjunto de dados de proteomas do HMP ($n = 9,1 \times 10^7$ proteínas analisadas), evidenciando a elevada diversidade de genes de resistência no microbioma humano.

Todos os sítios anatômicos analisados apresentaram ARGs, embora a sua abundância e diversidade variassem. A cavidade nasal revelou maior carga de ARGs, com cerca de 5,4 genes/genoma, seguidas pela pele, cavidade oral, vagina e, por último, o intestino (aproximadamente 1,3 genes/genoma). Quanto à diversidade dos ARGs, o intestino apresentou a maior riqueza (*richness* - refere-se apenas ao número de diferentes ARGs), com 155 tipos diferentes, seguido da cavidade oral, das narinas, da pele e, por último, da vagina, com 37 tipos diferentes (Maestre-Carballa et al., 2022).

3.7.1 O Intestino

O microbioma intestinal apresenta uma elevada diversidade de ARGs, decorrente da grande variedade de bactérias que o compõem, em especial das bactérias comensais. Entre estas, destacam-se os anaeróbios estritos, que constituem a maioria das espécies dos filos *Bacillota* e *Bacteroidota* (Hollister et al., 2014). Estas bactérias encontram-se em abundância no intestino de indivíduos saudáveis e funcionam como reservatórios da maioria dos ARGs (van Schaik, 2015). Essa elevada diversidade bacteriana intestinal associa-se a uma menor abundância relativa de patógenos oportunistas, e consequentemente, a um menor risco de disseminação de ARGs clinicamente relevantes (van Schaik, 2015).

Os ARGs identificados no intestino conferem resistência para a maioria das classes de antibióticos, como demonstrado por Forslund et al. (2013), que analisaram dados metagenômicos de 252 amostras fecais de indivíduos de diferentes países. Nesse estudo, foram detetados ARGs associados a 50 classes de antibióticos, com uma média de 21 ARGs por amostra. Verificou-se, ainda, que os ARGs mais frequentemente encontrados estavam associados não apenas a antibióticos utilizados na medicina humana, mas também na medicina veterinária, incluindo aqueles em uso há várias décadas.

Outro estudo caracterizou o resistoma intestinal através da análise metagenômica de amostras fecais de indivíduos saudáveis em diversas regiões do mundo, revelando que os genes de resistência às tetraciclina, particularmente *tet(Q)*, são os mais predominantes

no microbioma intestinal de todos os indivíduos estudados (Wu et al., 2021). O gênero *Bacteroides*, muito comum no intestino, é o que aparentemente transporta com maior frequência estes ARGs (Wu et al., 2021).

Apesar de menos abundantes do que os genes que conferem resistência às tetraciclínas, foram também identificados, em número considerável, genes associados à resistência aos aminoglicosídeos, aos β -lactâmicos, aos Macrólido–Lincosamida–Streptogramina B (MLS-B) e à vancomicina no microbioma intestinal (Qiu et al., 2020). Os genes que codificam cefalosporinases e carbapenemases, conferindo resistência aos β -lactâmicos, encontram-se principalmente em espécies do filo Pseudomonadota, como *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* (Diebold et al., 2023).

Em condições normais, a transferência de ARGs de bactérias comensais para patogênicos oportunistas é pouco frequente, devido à elevada abundância de comensais (van Schaik, 2015). Contudo, quando ocorre a transferência de genes — como aqueles que conferem resistência à vancomicina — de comensais para patogênicos, como *Enterococcus faecium*, tal pode contribuir para o surgimento de estirpes multirresistentes e, conseqüentemente, aumentar o risco de infecções nosocomiais (van Schaik, 2015).

No caso de algumas doenças, como a fibrose quística, cujo tratamento principal envolve o uso de antibióticos, observa-se uma maior abundância de ARGs no intestino em comparação com indivíduos saudáveis. Esta maior abundância de ARGs verifica-se também em doenças que não são tratadas com antibióticos, como é o caso do cancro colorretal (Fredriksen et al., 2023).

3.7.2 A pele

A pele é um órgão predominantemente colonizado por bactérias Gram-positivas, em particular dos gêneros *Staphylococcus* (filo *Bacillota*), *Corynebacterium* e *Cutibacterium* (ambos do filo *Actinomycetota*), que resistem bem às condições cutâneas, como um pH levemente ácido, a secreção de sebo ou a presença de péptidos antimicrobianos (Scharschmidt & Fischbach, 2013). Esta comunidade bacteriana desempenha um papel importante na saúde, sobretudo na manutenção da homeostasia cutânea, mas constitui também um reservatório de ARGs (Scharschmidt & Fischbach, 2013). Devido ao contacto permanente com o ambiente, o resistoma cutâneo é muito dinâmico. Por exemplo, a exposição diária a ambientes de criação de suínos pode modificar a estrutura do microbioma cutâneo e a composição dos ARGs nos trabalhadores

dessas explorações (Chen et al., 2024). Uma exposição de apenas cinco horas é suficiente para desencadear tais alterações (Chen et al., 2024).

Um estudo recente de Li et al. (2021) que caracterizou o resistoma cutâneo através de sequenciação metagenômica *shotgun*, demonstrou que comensais como *Staphylococcus* spp., nomeadamente *Staphylococcus epidermidis*, constituem um reservatório importante de ARGs, incluindo os que conferem resistência às fluoroquinolonas, tetraciclínas, cefalosporinas, β -lactâmicos, entre outros. Outras análises realizadas pelos mesmos investigadores mostraram que as amostras de pele de indivíduos se agruparam em dois clusters distintos, os quais foram designados de “cutótipos”. Esses dois cutótipos foram definidos pela predominância de uma entre duas espécies: *Cutibacterium acnes* (denominado 'C-cutótipo') e *Moraxella osloensis* (denominado 'M-cutótipo') (Li et al., 2021).

Para identificar esta variabilidade de ARGs segundo o cutótipo, Li et al. (2021) recolheram 822 amostras de pele de indivíduos chineses, às quais adicionaram 538 amostras de norte-americanos já disponíveis. Estes dados foram integrados num catálogo genético denominado iHSMGC (*Integrated Human Skin Microbial Gene Catalog*). O C-cutótipo, específico da pele norte-americana, é dominado por *C. acnes*, associado a uma pele mais oleosa. Os ARGs presentes neste cutótipo são mais restritos e conferem resistência principalmente às oxazolidinonas, pleuromutilinas e lincosamidas. Já o M-cutótipo, característico da pele chinesa e dominado por *M. osloensis* (muito pouco abundante no C-cutótipo), está associado a uma pele mais seca e apresenta uma maior diversidade e abundância de ARGs, conferindo resistência a múltiplos antibióticos.

Além disso, esse estudo demonstrou que o resistoma cutâneo é heterogêneo de acordo com o tipo de pele: os pés apresentam a maior abundância de genes de resistência, enquanto as zonas sebáceas exibem uma menor abundância (Li et al., 2021).

3.7.3 A cavidade nasal

As narinas, por estarem em contacto permanente com o ambiente, constituem uma importante porta de entrada para bactérias transportadas pelo ar, potencialmente portadoras de diversos ARGs capazes de influenciar o resistoma nasal (Li et al., 2018). A elevada abundância de ARGs nas narinas está provavelmente associada a uma diversidade de géneros bacterianos reduzida. Nas narinas predominam os comensais *Staphylococcus* spp. e *Corynebacterium* spp. com uma proporção que varia de acordo

com o estado de saúde; estes géneros competem entre si, sendo que uma maior abundância de *Corynebacterium* exerce um efeito protetor ao limitar a proliferação de *S. aureus* (Frank et al., 2010).

De facto, num estudo realizado com pacientes saudáveis e hospitalizados, demonstrou-se que adultos saudáveis apresentavam uma maior abundância de *Corynebacterium* spp., enquanto os pacientes hospitalizados apresentavam uma maior abundância de *S. aureus* (Frank et al., 2010). Além disso, a colonização e dominância de *S. aureus* mostrou reduzir a presença de outras bactérias, limitando a diversidade global do microbioma nasal (Frank et al., 2010).

Zhou et al. (2020) demonstraram, após analisarem amostras nasais de estudantes saudáveis, que o *S. aureus* é frequentemente encontrado, e constitui um importante reservatório de ARGs, apresentando resistência à penicilina, à eritromicina e à clindamicina. Além disso, 4% dos estudantes eram portadores nasais de MRSA, que apresenta resistência aos β -lactâmicos e pode causar infeções de difícil tratamento.

3.7.4 A cavidade oral

A cavidade oral apresenta um dos microbiomas mais diversificados do corpo humano, sendo frequente a presença de géneros como *Streptococcus*, *Actinomyces* e *Neisseria*, entre outros (Sharma et al., 2018). Esta comunidade bacteriana, que se encontra sobretudo sob a forma de biofilmes organizados, desempenha um papel fundamental na manutenção da saúde oral, mas constitui também um importante reservatório de ARGs (Sharma et al., 2018).

Cada região da cavidade oral alberga comunidades bacterianas específicas, com perfis de ARGs que variam consoante o local. Uma revisão sistemática, baseada em estudos previamente publicados, analisou a distribuição dos ARGs em seis nichos orais distintos e demonstrou que o biofilme supragengival apresentava a maior diversidade bacteriana, enquanto o sistema do canal radicular revelava a menor (Sukumar et al., 2024). Entre os genes de resistência identificados, *tet(M)* e *tet(O)*, e *ermB*, responsáveis pela resistência às tetraciclinas e aos macrólidos, respetivamente, destacaram-se como os mais prevalentes, sugerindo a existência de um resistoma oral central (Sukumar et al., 2024).

Além disso, Bessa et al. (2025) demonstraram que o resistoma oral pode ser considerado um reservatório relativamente estável face à inflamação local, evidenciando

que as diferenças observadas se encontram mais associadas à diversidade bacteriana de cada nicho. Os autores compararam o resistoma de indivíduos com saúde oral e de indivíduos com peri-implantite, recorrendo à análise de dados metagenômicos provenientes de 100 amostras (biofilme sub-gengival e saliva) de 40 participantes, disponíveis na base de dados *Sequence Read Archive* (SRA). No geral, em todas as amostras verificaram uma maior predominância de ARGs associados à resistência aos MLS-B, tetraciclinas, β -lactâmicos e fluoroquinolonas. Entre estes genes, *msr(D)*, que confere resistência aos MLS-B, e *mef(A)*, que confere resistência aos macrólidos, destacaram-se como os mais frequentes na maioria dos grupos analisados. Constatou-se ainda que as amostras de saliva apresentavam uma maior diversidade de ARGs em comparação com os biofilmes sub-gengivais em torno dos implantes. Contudo, não foram observadas diferenças significativas entre os perfis de resistência dos biofilmes presentes em implantes saudáveis e aqueles afetados por peri-implantite.

3.7.5 A vagina

A vagina apresenta uma microbiota pouco diversificada, dominada por *Lactobacillus* spp., que exercem um efeito protetor ao produzirem ácido láctico e ao manterem um pH ácido, limitando a proliferação de bactérias potencialmente patogênicas e resistentes. O resistoma vaginal, normalmente pouco diversificado em condições de saúde, pode tornar-se enriquecido durante estados de disbiose vaginal, os quais podem ser desencadeados por infecções como a vaginose bacteriana. Neste caso, a disbiose associa-se a uma redução dos *Lactobacillus* spp. e à colonização por bactérias anaeróbias, como a *Gardnerella vaginalis*, frequentemente implicada na resistência a antibióticos. De facto, bactérias desta espécie são portadoras de ARGs que conferem principalmente resistência às tetraciclinas, mas também a antibióticos das classes MLS-B e aos β -lactâmicos, resultando na expansão do resistoma vaginal no caso dessa infecção vaginal particular (Brennan et al., 2024; Maestre-Carballa et al., 2022).

4 Técnicas e inovações tecnológicas na identificação de ARGs

O estudo do resistoma humano tem evoluído de forma significativa nos últimos anos, graças aos avanços nas técnicas de sequenciação. Desde os primeiros métodos direcionados, baseados em cultura e sequenciação de Sanger, até às abordagens metagenômicas e às tecnologias de sequenciação de alto rendimento, tornou-se possível detetar e quantificar ARGs, tanto conhecidos como ainda não descritos, bem como analisar o seu contexto genético e a sua distribuição nas comunidades microbianas. O aumento da capacidade de sequenciação do resistoma, aliado aos progressos na bioinformática, permite passar de uma visão incompleta para uma compreensão global e dinâmica do resistoma (Eren et al., 2022; Hilt & Ferrieri, 2022).

4.1 Técnicas baseadas na *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

A técnica de PCR clássica, ou *end-point* PCR, é uma técnica molecular que permite amplificar de forma específica uma sequência de DNA conhecida, incluindo ARGs. Esta técnica baseia-se na utilização de *primers* específicos correspondentes aos genes alvo e, através de ciclos repetidos de desnaturação (*denaturation*), hibridação (*annealing*) e extensão (*extension*), a sequência de interesse é amplificada de forma exponencial (Gabriyan & Avashia, 2013). Após os ciclos, a presença e o tamanho dos genes de resistência são avaliados por eletroforese em gel de agarose, onde os fragmentos migram sob corrente elétrica, permitindo a confirmação dos resultados da PCR. Apesar de ser rápida e sensível, esta técnica apenas permite a deteção de genes previamente conhecidos e selecionados a partir da escolha prévia de *primers* específicos. Além disso, devido à sua elevada sensibilidade, está sujeita a contaminações (Gabriyan & Avashia, 2013).

A técnica qPCR (PCR quantitativa ou PCR em tempo real) é uma técnica que permite detetar mas também quantificar genes de resistência de interesse numa amostra. Ao contrário da PCR clássica, o qPCR mede em tempo real a quantidade de DNA alvo através da fluorescência, permitindo estimar o número de cópias de um gene presente. Esta fluorescência pode ser gerada pelo corante SYBR Green, que se liga a qualquer DNA de cadeia dupla, ou por sondas TaqMan, que fluorescem apenas quando a sequência alvo específica é amplificada (VanGuilder et al., 2008).

Um estudo comparou o desempenho de dois métodos, a qPCR e a sequenciação metagenômica, na detecção e quantificação de ARGs em diferentes tipos de amostras (Ferreira et al., 2023). Demonstrou que a qPCR apresentou uma maior sensibilidade na detecção de alguns genes específicos e forneceu quantificações mais precisas dos ARGs. A metagenômica, por sua vez, detetou uma maior diversidade de genes de resistência, oferecendo assim uma visão mais completa do resistoma (Ferreira et al., 2023).

A PCR multiplex constitui uma variante da PCR clássico, permitindo amplificar simultaneamente várias sequências de DNA num único ensaio, graças à utilização de múltiplos pares de *primers* específicos. Este método possibilita a identificação rápida e fiável de vários ARGs potencialmente preocupantes ao mesmo tempo, podendo ser aplicado tanto no diagnóstico clínico como em estudos sobre disseminação da resistência aos antibióticos (Harris et al., 2023).

A *digital droplet* PCR (ddPCR) é um método de PCR relativamente mais recente, altamente preciso, utilizado para detetar e quantificar genes de interesse que estejam presentes em muito baixa quantidade na amostra. Este método consiste na partição da amostra em aproximadamente 20.000 gotículas, nas quais a reação de PCR ocorre simultaneamente. Após a amplificação, identificam-se as gotículas positivas (com presença de DNA alvo) e as negativas (Pinheiro et al., 2012).

No estudo de Maestre-Carballa et al. (2024), foi feita uma monitorização, à escala urbana, de ARGs recorrendo a duas das tecnologias: a ddPCR e a metagenômica. Os autores demonstraram que a ddPCR se mostrou mais sensível e precisa do que a metagenômica na detecção de ARGs específicos. Por sua vez, a metagenômica revelou-se eficaz para avaliar a diversidade global, confirmando os resultados de Ferreira et al. (2023) que mostraram que PCR e metagenômica podem ser métodos complementares para a identificação de ARGs.

4.2 Microarrays

Um *chip* de DNA (ou *microarray*) consiste numa superfície sólida, frequentemente de vidro, na qual estão fixadas milhares de pequenas sondas de DNA, de sequências curtas e conhecidas. Estas sondas são capazes de hibridizar especificamente com sequências de DNA presentes numa amostra, nomeadamente ARGs. O *microarray* permite, assim, detetar simultaneamente uma grande quantidade de ARGs conhecidos numa única amostra (Frye et al., 2010).

Um estudo que utilizou um *microarray* abrangendo 369 tipos diferentes de ARGs, analisou amostras fecais de indivíduos de várias idades (Lu et al., 2014). Para tal, o DNA bacteriano foi primeiro extraído das amostras e, de seguida, aplicou-se o chip de DNA, que detetou 80 ARGs distintos na microbiota intestinal de todos os voluntários. Além disso, foi observado que os perfis de diversidade de genes de resistência variavam com a idade, sendo que a diversidade desses genes no intestino tende a aumentar à medida que os indivíduos envelhecem (Lu et al., 2014).

4.3 Tecnologias de sequenciação genómica

4.3.1 Sequenciação de primeira geração

A sequenciação de primeira geração corresponde aos primeiros métodos que permitiram determinar a sequência exata de nucleótidos de um fragmento de DNA. Inclui o método de Maxam-Gilbert e o método de Sanger, que constituem a base histórica das tecnologias modernas de sequenciação. Contudo, o método de Sanger continua a ser o mais utilizado atualmente, uma vez que apresenta diversas vantagens, sendo uma delas a segurança, já que não recorre a produtos químicos tóxicos, ao contrário do método de Maxam-Gilbert (Eren et al., 2022).

O método Sanger, também conhecido como sequenciação por terminação de cadeia, foi desenvolvido em 1977 por uma equipa liderada por Frederick Sanger. Este método baseia-se na incorporação aleatória de inibidores da terminação da cadeia — os didesoxinucleótidos (ddNTPs) — pela DNA polimerase durante a replicação *in vitro* do DNA. A incorporação de um ddNTP interrompe a síntese do DNA nesse ponto específico, gerando fragmentos de diferentes comprimentos, que podem posteriormente ser separados por eletroforese, permitindo determinar a sequência completa do DNA (Sanger et al., 1977). Atualmente, o método de Sanger é automatizado, utilizando ddNTPs fluorescentes de cores diferentes para cada base, juntamente com um detetor que permite reconstruir a sequência de DNA (Eren et al., 2022).

4.3.2 Next-generation sequencing (NGS)

A sequenciação de nova geração (NGS) corresponde a um conjunto de tecnologias que permitem a análise de forma rápida de milhões de sequências de DNA

simultaneamente (Hilt & Ferrieri, 2022). Quando aplicada ao estudo do resistoma, a NGS permite caracterizar ARGs conhecidos ou novos, representando uma evolução significativa na investigação do resistoma. As diferentes tecnologias de NGS permitem, assim, obter uma visão holística do material genético presente. Na microbiologia clínica, a NGS inclui três abordagens principais: a sequenciação do genoma completo (WGS - *whole genome sequencing*), a sequenciação de amplicão (*amplicon sequencing*) e a sequenciação metagenômica shotgun (*shotgun metagenomic sequencing*) (Hilt & Ferrieri, 2022).

4.3.2.1 Sequenciação do genoma completo (WGS)

A WGS é uma técnica que permite realizar a análise integral do genoma de um microrganismo isolado (Hilt & Ferrieri, 2022). Portanto, a WGS também possibilita a identificação de todos os ARGs presentes em estirpes resistentes, incluindo aqueles ainda não descritos, e estudar os mecanismos de resistência. Além disso, permite analisar o contexto genético em que os ARGs se encontram, ajudando a avaliar o risco de propagação da resistência entre bactérias (Hilt & Ferrieri, 2022; Peykov & Strateva, 2023).

4.3.2.2 Sequenciação de amplicão

A sequenciação de amplicão no estudo do resistoma consiste na amplificação por PCR de regiões específicas do DNA, nomeadamente do gene 16s rRNA bacteriano. Após a amplificação, os fragmentos amplificados são sequenciados utilizando tecnologias de NGS, permitindo a identificação dos ARGs. Esta técnica apresenta diversas vantagens em comparação com a sequenciação metagenômica de shotgun, como maior sensibilidade, devido à amplificação inicial dos genes-alvo, e um custo reduzido (Hilt & Ferrieri, 2022; Y. Li et al., 2022).

4.3.2.3 Sequenciação metagenômica shotgun

A sequenciação metagenômica shotgun fornece informação sobre o DNA genômico total de todos os microrganismos numa amostra, evitando a necessidade de cultura e isolamento ou de amplificação de regiões-alvo. Esta abordagem proporciona

uma visão global do resistoma de uma comunidade complexa, como o microbioma intestinal, oral, etc. (Hilt & Ferrieri, 2022).

4.3.2.4 Plataforma de sequenciação Illumina

As plataformas Illumina, como HiSeq ou MiSeq, são instrumentos de sequenciação de alto rendimento que utilizam a tecnologia Illumina de sequenciação por síntese. O DNA é fragmentado e fixado numa lâmina; cada fragmento é amplificado, e nucleótidos marcados com fluorescência são incorporados um a um e detetados (<https://www.illumina.com/science/technology/next-generation-sequencing/beginners/ngs-workflow.html>). Estas plataformas permitem gerar milhões de leituras (*reads*) de DNA, proporcionando uma visão abrangente do genoma e, no caso do estudo de ARGs, do resistoma. A principal vantagem deste método reside na sua elevada precisão. Contudo, apresenta algumas limitações: as leituras são curtas (*short reads*), geralmente entre 100 e 300 pb, o que pode dificultar a reconstrução do contexto genético (Eren et al., 2022; Hu et al., 2021; Satam et al., 2023).

As plataformas Illumina podem ser usadas para WGS, sequenciação de ampliação, e sequenciação metagenómica shotgun. Em todos os casos, a tecnologia utilizada é a sequenciação por síntese; o que varia é apenas a preparação das amostras (Hilt & Ferrieri, 2022).

4.3.3 Sequenciação de terceira geração

A sequenciação de terceira geração (*third-generation Sequencing*) corresponde a um conjunto de tecnologias de sequenciação de DNA que permite a obtenção de leituras longas (*long reads*), possibilitando assim uma melhor resolução do contexto genético, incluindo regiões repetitivas e estruturas complexas. Engloba duas plataformas principais: a PacBio e a Oxford Nanopore Technologies (ONT) (Hu et al., 2021).

A PacBio utiliza a tecnologia SMRT (*Single Molecule Real-Time*) em instrumentos como, por exemplo, o Sequel II (<https://www.pacb.com/sequencing-systems/>). SMRT lê cada molécula de DNA individualmente, em tempo real. O DNA é colocado num poço nanoscópico, e uma DNA polimerase adiciona nucleótidos fluorescentes à nova cadeia de DNA, que emitem sinais luminosos específicos quando incorporados. Esta tecnologia permite leituras geralmente entre 10 e 100 kbp. Uma das

principais vantagens deste sistema é que não necessita de amplificação do DNA, embora uma das suas desvantagens seja o elevado custo (Hu et al., 2021; van Dijk et al., 2018).

Recentemente, foi introduzida a tecnologia HiFi (*High-Fidelity*) da PacBio (<https://www.pacb.com/technology/hifi-sequencing/>), que permite sequenciar o DNA com leituras longas e extremamente precisas, oferecendo diversas vantagens para o estudo do genoma (Han et al., 2024).

A ONT é uma plataforma constituída por instrumentos como o MinION ou o GridION (<https://nanoporetech.com/platform/technology>). A sequenciação é realizada ao passar um fragmento de DNA através de um nanoporo inserido numa membrana. À medida que cada nucleótido atravessa o poro, provoca alterações características na corrente elétrica que o atravessa. Estas variações de corrente são registadas e convertidas, em tempo real, em sequências de DNA. A ONT permite, assim, detetar todos os ARGs presentes numa amostra. Esta plataforma possibilita a produção de leituras muito longas, superiores a 1 Mb (Hu et al., 2021). Uma das grandes vantagens desta plataforma reside nos seus dispositivos, pequenos e portáteis, como o MinION, que permitem sequenciar amostras de forma rápida em diversos locais, constituindo assim um benefício para a vigilância de ARGs. A principal desvantagem, porém, é a taxa de erro mais elevada em comparação com a plataforma PacBio (Hu et al., 2021; Laver et al., 2015).

4.4 Base de dados e análise bioinformática

As bases de dados desempenham um papel crucial no estudo do resistoma, pois constituem referências de ARGs já identificados, com os quais são comparadas as sequências obtidas por sequenciação, independentemente da tecnologia (Papp & Solymosi, 2022).

Entre as bases de dados mais utilizadas encontra-se a CARD (*Comprehensive Antibiotic Resistance Database*) (<https://card.mcmaster.ca/>), que inclui ferramentas para análise de sequências moleculares, incluindo o BLAST e o software Resistance Gene Identifier (RGI) para a previsão do resistoma com base em modelos de homologia e de single nucleotide polymorphisms (SNPs) (McArthur et al., 2013). Mas existe também o ResFinder (<https://genepi.food.dtu.dk/resfinder>), utilizado para identificar rapidamente ARGs adquiridos em sequências genómicas bacterianas (Zankari et al., 2012). Outro exemplo é o ARG-ANNOT (*Antibiotic Resistance Gene-ANNOTation*), que integra uma base de dados e uma ferramenta de anotação automática (Gupta et al., 2014). A base de

dados reúne sequências de ARGs conhecidos, acompanhadas de informação funcional e descritiva. A ferramenta de anotação utiliza algoritmos que identificam e anotam automaticamente estes genes em sequências de DNA (Gupta et al., 2014).

4.5 Metagenômica funcional

A metagenômica funcional é uma abordagem que possibilita identificar os genes efetivamente expressos, incluindo ARGs previamente desconhecidos, permitindo a descoberta de novos mecanismos de resistência. Por este método, inicialmente, o DNA total da amostra é extraído e clonado num vetor, geralmente um plasmídeo. Uma bactéria hospedeira, frequentemente *Escherichia coli*, é então transformada com o vetor, seguindo-se a seleção de clones capazes de sobreviver na presença de antibióticos. No entanto, apresenta limitações importantes: a eficiência depende fortemente da capacidade da bactéria hospedeira em expressar determinados genes, e a resistência intrínseca da própria estirpe pode dificultar a detecção de alguns ARGs (Willmann & Peter, 2017). O ideal é utilizar este método em combinação com a sequenciação metagenômica shotgun: primeiro para descobrir novos ARGs funcionais e, posteriormente, para quantificar e localizar esses genes, de modo a obter uma visão mais completa (Singh et al., 2019).

5 Conclusão

O resistoma do microbioma humano emergiu como um campo de estudo central para compreender a complexidade e a dinâmica da resistência antimicrobiana. Este trabalho permitiu discutir o conhecimento atual sobre a sua composição, a heterogeneidade entre diferentes regiões do corpo e entre indivíduos e a influência de fatores próprios do hospedeiro, bem como de determinantes ambientais e comportamentais na sua evolução. Além disso, foi abordada a relevância dos MGEs na disseminação dos ARGs, evidenciando a elevada plasticidade do resistoma.

Esta revisão permitiu igualmente destacar a estreita relação entre o resistoma e o microbioma. Um aspeto fundamental é a manutenção de um microbioma diversificado e equilibrado, dado que a diversidade microbiana constitui um fator protetor, não só na incidência de diversas doenças, mas também contra a colonização por patógenos resistentes, limitando assim a expansão do resistoma e o risco de infeções nosocomiais por bactérias multirresistentes. Estratégias que visem restaurar ou preservar essa diversidade deverão assumir um papel cada vez mais relevante na redução da disbiose e na modulação do resistoma.

Paralelamente, torna-se evidente que o uso de antibióticos deve ser acompanhado por uma abordagem mais personalizada, apoiada no estudo do microbioma através de técnicas de metagenómica, sequenciação e bioinformática, de forma a evitar o seu uso inadequado. Adaptar o tratamento às características individuais do resistoma e do microbioma de cada paciente poderá reduzir significativamente a pressão seletiva exercida pelos antibióticos e, conseqüentemente, o risco de emergência de novos mecanismos de resistência. Esta medicina personalizada abre caminho a prescrições mais direcionadas e eficazes, contribuindo para preservar a eficácia dos antibióticos existentes.

Conclui-se, assim, que o estudo aprofundado do resistoma humano é indispensável para o desenvolvimento de estratégias inovadoras de combate à resistência antimicrobiana. A sua caracterização contínua contribuirá não apenas para a otimização do uso de antibióticos, mas também para o reforço de políticas globais de saúde pública destinadas a conter a sua disseminação.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afzaal, M., Saeed, F., Shah, Y. A., Hussain, M., Rabail, R., Socol, C. T., Hassoun, A., Pateiro, M., Lorenzo, J. M., Rusu, A. V., & Aadil, R. M. (2022). Human gut microbiota in health and disease: Unveiling the relationship. *Frontiers in Microbiology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.999001>
- Akrami, F., Rajabnia, M., & Pournajaf, A. (2019). Resistance integrons; A mini review. *Caspian Journal of Internal Medicine*, *10*(4), 370–376. <https://doi.org/10.22088/cjim.10.4.370>
- Almonajjed, M. B., Wardeh, M., Atlagh, A., Ismaiel, A., Popa, S. L., Rusu, F., & Dumitrascu, D. L. (2025). Impact of Microbiota on Irritable Bowel Syndrome Pathogenesis and Management: A Narrative Review. *Medicina (Lithuania)*, *61*(1), 109. <https://doi.org/10.3390/medicina61010109>
- Ambler, R. P. (1980). The structure of β -lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, *289*(1036), 321–331. <https://doi.org/10.1098/rstb.1980.0049>
- Arabameri, N., Heshmatipour, Z., Ardebili, S. E., & Bidhendi, Z. J. (2021). The role of gene mutations (Gyra, parc) in resistance to ciprofloxacin in clinical isolates of pseudomonas aeruginosa. *Iranian Journal of Pathology*, *16*(4), 426–432. <https://doi.org/10.30699/ijp.2021.520570.2542>
- Araos, R., Battaglia, T., Ugalde, J. A., Rojas-Herrera, M., Blaser, M. J., & D'agata, E. M. C. (2019). Fecal microbiome characteristics and the resistome associated with acquisition of multidrug-resistant organisms among elderly subjects. *Frontiers in Microbiology*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02260>
- Auzat, I., Ouldali, M., Jacquet, E., Fauler, B., Mielke, T., & Tavares, P. (2024). Dual function of a highly conserved bacteriophage tail completion protein essential for bacteriophage infectivity. *Communications Biology*, *7*(1). <https://doi.org/10.1038/s42003-024-06221-6>
- Babakhani, S., & Oloomi, M. (2018). Transposons: the agents of antibiotic resistance in bacteria. *Journal of Basic Microbiology*, *58*(11), 905–917. <https://doi.org/10.1002/jobm.201800204>

- Baquero, F., & Nombela, C. (2012). The microbiome as a human organ. *Clinical Microbiology and Infection*, *18*, 2–4. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03916.x>
- Bargheet, A., Noordzij, H. T., Ponsero, A. J., Jian, C., Korpela, K., Valles-Colomer, M., Debelius, J., Kurilshikov, A., & Pettersen, V. K. (2025). Dynamics of gut resistome and mobilome in early life: a meta-analysis. *eBioMedicine*, *114*. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2025.105630>
- Barlow, G. M., & Mathur, R. (2023). Type 2 Diabetes and the Microbiome. *Journal of the Endocrine Society*, *7*(2). <https://doi.org/10.1210/jendso/bvac184>
- Barreto, S. C., Uppalapati, M., & Ray, A. (2014). Small Circular DNAs in Human Pathology. *The Malaysian journal of medical sciences* *21*(3), 4–18.
- Belay, W. Y., Getachew, M., Tegegne, B. A., Teffera, Z. H., Dagne, A., Zeleke, T. K., Abebe, R. B., Gedif, A. A., Fenta, A., Yirdaw, G., Tilahun, A., & Aschale, Y. (2024). Mechanism of antibacterial resistance, strategies and next-generation antimicrobials to contain antimicrobial resistance: a review. *Frontiers in Pharmacology*, *15*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1444781>
- Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M. C. C., Charles, T., Chen, X., Cocolin, L., Eversole, K., Corral, G. H., Kazou, M., Kinkel, L., Lange, L., Lima, N., Loy, A., Macklin, J. A., Maguin, E., Mauchline, T., McClure, R., ... Schloter, M. (2020). Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*, *8*(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>
- Bertani, B., & Ruiz, N. (2018). Function and Biogenesis of Lipopolysaccharides. *EcoSal Plus*, *8*(1). <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.esp-0001-2018>
- Bessa, L. J., Egas, C., Botelho, J., Machado, V., Alcoforado, G., Mendes, J. J., & Alves, R. (2025). Unveiling the Resistome Landscape in Peri-Implant Health and Disease. *Journal of Clinical Medicine*, *14*(3). <https://doi.org/10.3390/jcm14030931>
- Biswas, T., Houghton, J. L., Garneau-Tsodikova, S., & Tsodikov, O. V. (2012). The structural basis for substrate versatility of chloramphenicol acetyltransferase CATI. *Protein Science*, *21*(4), 520–530. <https://doi.org/10.1002/pro.2036>
- Björk, J. R., O'Hara, R. B., Ribes, M., Coma, R., & Montoya, J. M. (2017). *The dynamic core microbiome: Structure, dynamics and stability*. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/137885>
- Blanco, P., Hernando-Amado, S., Reales-Calderon, J. A., Corona, F., Lira, F., Alcalde-Rico, M., Bernardini, A., Sanchez, M. B., & Martinez, J. L. (2016). Bacterial

- multidrug efflux pumps: Much more than antibiotic resistance determinants. *Microorganisms*, 4(1). <https://doi.org/10.3390/microorganisms4010014>
- Blokesch, M. (2016). Natural competence for transformation. *Current Biology*, 26(21), R1126–R1130.
- Bonaz, B., Bazin, T., & Pellissier, S. (2018). The vagus nerve at the interface of the microbiota-gut-brain axis. *Frontiers in Neuroscience*, 12. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00049>
- Brennan, C., Chan, K., Kumar, T., Maissy, E., Brubaker, L., Dothard, M. I., Gilbert, J. A., Gilbert, K. E., Lewis, A. L., Thackray, V. G., Zarrinpar, A., & Knight, R. (2024). Harnessing the power within: engineering the microbiome for enhanced gynecologic health. *Reproduction and Fertility*, 5(2). <https://doi.org/10.1530/RAF-23-0060>
- Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(3), 969–976. <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
- Canani, R. B., Paparo, L., Nocerino, R., Scala, C. Di, Gatta, G. Della, Maddalena, Y., Buono, A., Bruno, C., Voto, L., & Ercolini, D. (2019). Gut microbiome as target for innovative strategies against food allergy. *Frontiers in Immunology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00191>
- Charitos, I. A., Inchingolo, A. M., Ferrante, L., Inchingolo, F., Inchingolo, A. D., Castellaneta, F., Cotoia, A., Palermo, A., Scacco, S., & Dipalma, G. (2024). The Gut Microbiota's Role in Neurological, Psychiatric, and Neurodevelopmental Disorders. *Nutrients*, 16(24). <https://doi.org/10.3390/nu16244404>
- Chen, D. R., Cheng, K., Wan, L., Cui, C. Y., Li, G., Zhao, D. H., Yu, Y., Liao, X. P., Liu, Y. H., D'Souza, A. W., Lian, X. L., & Sun, J. (2024). Daily occupational exposure in swine farm alters human skin microbiota and antibiotic resistome. *iMeta*, 3(1). <https://doi.org/10.1002/imt2.158>
- Chiang, Y. N., Penadés, J. R., & Chen, J. (2019). Genetic transduction by phages and chromosomal islands: The new and noncanonical. *PLoS Pathogens*, 15(8). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007878>
- Chng, K. R., Li, C., Bertrand, D., Ng, A. H. Q., Kwah, J. S., Low, H. M., Tong, C., Natrajan, M., Zhang, M. H., Xu, L., Ko, K. K. K., Ho, E. X. P., Av-Shalom, T. V., Teo, J. W. P., Khor, C. C., Chen, S. L., Mason, C. E., Ng, O. T., Marimuthu, K., ... Zhu, S. (2020). Cartography of opportunistic pathogens and antibiotic resistance

- genes in a tertiary hospital environment. *Nature Medicine*, 26(6), 941–951. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0894-4>
- Choi, U., & Lee, C. R. (2019). Distinct Roles of Outer Membrane Porins in Antibiotic Resistance and Membrane Integrity in *Escherichia coli*. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00953>
- Cohen, L. J., Cho, J. H., Gevers, D., & Chu, H. (2019). Genetic Factors and the Intestinal Microbiome Guide Development of Microbe-Based Therapies for Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*, 156(8), 2174–2189. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.03.017>
- Corley, R. P., Reynolds, C. A., Wadsworth, S. J., Rhea, S. A., & Hewitt, J. K. (2019). The Colorado Twin Registry: 2019 Update. *Twin Research and Human Genetics*, 22(6), 707–715. <https://doi.org/10.1017/thg.2019.50>
- Courvalin, P. (2006). Vancomycin Resistance in Gram-Positive Cocci. Em *Clinical Infectious Diseases*, 42. <http://cid.oxfordjournals.org/>
- Cox, G., & Wright, G. D. (2013). Intrinsic antibiotic resistance: Mechanisms, origins, challenges and solutions. *International Journal of Medical Microbiology*, 303(6–7), 287–292. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.02.009>
- Coyne, S., Courvalin, P., & Périchon, B. (2011). Efflux-mediated antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(3), 947–953. <https://doi.org/10.1128/AAC.01388-10>
- Crits-Christoph, A., Hallowell, H. A., Koutouvalis, K., & Suez, J. (2022). Good microbes, bad genes? The dissemination of antimicrobial resistance in the human microbiome. *Gut Microbes*, 14(1). <https://doi.org/10.1080/19490976.2022.2055944>
- Dabrowska, K., & Witkiewicz, W. (2016). Correlations of host genetics and gut microbiome composition. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01357>
- D’Costa, V. M., McGrann, K. M., Hughes, D. W., & Wright, G. D. (2006). Sampling the antibiotic resistome. *Science*, 311(5759), 374–377.
- Demmitt, B. A., Corley, R. P., Huibregtse, B. M., Keller, M. C., Hewitt, J. K., McQueen, M. B., Knight, R., McDermott, I., & Krauter, K. S. (2017). Genetic influences on the human oral microbiome. *BMC Genomics*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4008-8>
- Diebold, P. J., Rhee, M. W., Shi, Q., Trung, N. V., Umrani, F., Ahmed, S., Kulkarni, V., Deshpande, P., Alexander, M., Thi Hoa, N., Christakis, N. A., Iqbal, N. T., Ali, S.

- A., Mathad, J. S., & Brito, I. L. (2023). Clinically relevant antibiotic resistance genes are linked to a limited set of taxa within gut microbiome worldwide. *Nature Communications*, *14*(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-42998-6>
- Dill-McFarland, K. A., Tang, Z. Z., Kemis, J. H., Kerby, R. L., Chen, G., Palloni, A., Sorenson, T., Rey, F. E., & Herd, P. (2019). Close social relationships correlate with human gut microbiota composition. *Scientific Reports*, *9*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37298-9>
- Dulanto Chiang, A., & Dekker, J. P. (2024). Efflux pump-mediated resistance to new beta lactam antibiotics in multidrug-resistant gram-negative bacteria. *Communications Medicine*, *4*(1). <https://doi.org/10.1038/s43856-024-00591-y>
- Dunn, A. B., Jordan, S., Baker, B. J., & Carlson, N. S. (2017). The Maternal Infant Microbiome: Considerations for Labor and Birth. *MCN The American Journal of Maternal/Child Nursing*, *42*(6), 318–325. <https://doi.org/10.1097/NMC.0000000000000373>
- Egorov, A. M., Ulyashova, M. M., & Rubtsova, M. Y. (2018). Bacterial enzymes and antibiotic resistance. *Acta Naturae (English edition)*, *10*(4 (39)), 33–48.
- Elois, M. A., Silva, R. da, Pilati, G. V. T., Rodríguez-Lázaro, D., & Fongaro, G. (2023). Bacteriophages as Biotechnological Tools. *Viruses*, *15*(2). <https://doi.org/10.3390/v15020349>
- Elshobary, M. E., Badawy, N. K., Ashraf, Y., Zatioun, A. A., Masriya, H. H., Ammar, M. M., Mohamed, N. A., Mourad, S., & Assy, A. M. (2025). Combating Antibiotic Resistance: Mechanisms, Multidrug-Resistant Pathogens, and Novel Therapeutic Approaches: An Updated Review. *Pharmaceuticals*, *18*(3). <https://doi.org/10.3390/ph18030402>
- Eren, K., Taktakoğlu, N., & Pirim, I. (2022). DNA sequencing methods: from past to present. *The Eurasian Journal of Medicine*, *54*(Suppl 1), S47–S56.
- Escudero*, J. A., Loot*, C., Nivina, A., & Mazel, D. (2015). The Integron: Adaptation On Demand. *Microbiology Spectrum*, *3*(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.mdna3-0019-2014>
- Eshraghi, R. S., Deth, R. C., Mittal, R., Aranke, M., Kay, S. I. S., Moshiree, B., & Eshraghi, A. A. (2018). Early disruption of the microbiome leading to decreased antioxidant capacity and epigenetic changes: Implications for the rise in autism. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00256>

- Evans, D. R., Griffith, M. P., Sundermann, A. J., Shutt, K. A., Saul, M. I., Mustapha, M. M., Marsh, J. W., Cooper, V. S., Harrison, L. H., & Van Tyne, D. (2020). Systematic detection of horizontal gene transfer across genera among multidrug-resistant bacteria in a single hospital. *eLife*, *9*. <https://doi.org/10.7554/eLife.53886>
- Fanelli, G., Pasqua, M., Prosseda, G., Grossi, M., & Colonna, B. (2023). AcrAB efflux pump impacts on the survival of adherent-invasive *Escherichia coli* strain LF82 inside macrophages. *Scientific Reports*, *13*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-29817-0>
- Ferreira, C., Otani, S., Aarestrup, F. M., & Manaia, C. M. (2023). Quantitative PCR versus metagenomics for monitoring antibiotic resistance genes: balancing high sensitivity and broad coverage. *FEMS Microbes*, *4*. <https://doi.org/10.1093/femsmc/xtad008>
- Forslund, K., Sunagawa, S., Kultima, J. R., Mende, D. R., Arumugam, M., Typas, A., & Bork, P. (2013). Country-specific antibiotic use practices impact the human gut resistome. *Genome Research*, *23*(7), 1163–1169. <https://doi.org/10.1101/gr.155465.113>
- Frank, D. N., Feazel, L. M., Bessesen, M. T., Price, C. S., Janoff, E. N., & Pace, N. R. (2010). The human nasal microbiota and *Staphylococcus aureus*. *PLoS ONE*, *5*(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010598>
- Fredriksen, S., de Warle, S., van Baarlen, P., Boekhorst, J., & Wells, J. M. (2023). Resistome expansion in disease-associated human gut microbiomes. *Microbiome*, *11*(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-023-01610-1>
- Fri, J., Raphalalani, M., Mavhandu-Ramarumo, L. G., & Bessong, P. O. (2024). Exploring the Potential Influence of the Human Gut Microbiota on the Gut Resistome: A Systematic Review. *Microbiology Research*, *15*(3), 1616–1633. <https://doi.org/10.3390/microbiolres15030107>
- Frye, J. G., Lindsey, R. L., Rondeau, G., Porwollik, S., Long, F., McClelland, M., Jackson, C. R., Englen, M. D., Meinersmann, R. J., Berrang, M. E., Davis, J. A., Barrett, J. B., Turpin, J. B., Thitaram, S. N., & Fedorka-Cray, P. J. (2010). Development of a DNA Microarray to Detect Antimicrobial Resistance Genes Identified in the National Center for Biotechnology Information Database. *Microbial Drug Resistance*, *16*(1), 9–19.
- Gabriyan, L., & Avashia, N. (2013). Research Techniques Made Simple: Polymerase Chain Reaction (PCR). *Journal of Investigative Dermatology*, *133*(3), e6.

- Galeana-Cadena, D., Gómez-García, I. A., Lopez-Salinas, K. G., Irineo-Moreno, V., Jiménez-Juárez, F., Tapia-García, A. R., Boyzo-Cortes, C. A., Matías-Martínez, M. B., Jiménez-Alvarez, L., Zúñiga, J., & Camarena, A. (2023). Winds of change a tale of: asthma and microbiome. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1295215>
- Galgano, M., Pellegrini, F., Catalano, E., Capozzi, L., Del Sambro, L., Sposato, A., Lucente, M. S., Vasinioti, V. I., Catella, C., Odigie, A. E., Tempesta, M., Pratelli, A., & Capozza, P. (2025). Acquired Bacterial Resistance to Antibiotics and Resistance Genes: From Past to Future. *Antibiotics*, 14(3). <https://doi.org/10.3390/antibiotics14030222>
- Ghai, I. (2023). A Barrier to Entry: Examining the Bacterial Outer Membrane and Antibiotic Resistance. *Applied Sciences*, 13(7). <https://doi.org/10.3390/app13074238>
- Ghai, I., & Ghai, S. (2018). Understanding antibiotic resistance via outer membrane permeability. *Infection and Drug Resistance*, 11, 523–530. <https://doi.org/10.2147/IDR.S156995>
- Gillings, M. R. (2014). Integrons: Past, Present, and Future. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 78(2), 257–277. <https://doi.org/10.1128/membr.00056-13>
- Goldlust, K., Ducret, A., Halte, M., Dedieu-Berne, A., Erhardt, M., & Lesterlin, C. (2023). The F pilus serves as a conduit for the DNA during conjugation between physically distant bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 120(47). <https://doi.org/10.1073/pnas.2310842120>
- Gullberg, E., Cao, S., Berg, O. G., Ilbäck, C., Sandegren, L., Hughes, D., & Andersson, D. I. (2011). Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations. *PLoS Pathogens*, 7(7). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002158>
- Gupta, S. K., Padmanabhan, B. R., Diene, S. M., Lopez-Rojas, R., Kempf, M., Landraud, L., & Rolain, J. M. (2014). ARG-annot, a new bioinformatic tool to discover antibiotic resistance genes in bacterial genomes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(1), 212–220. <https://doi.org/10.1128/AAC.01310-13>
- Han, Y., He, J., Li, M., Peng, Y., Jiang, H., Zhao, J., Li, Y., & Deng, F. (2024). Unlocking the Potential of Metagenomics with the PacBio High-Fidelity Sequencing Technology. *Microorganisms*, 12(12). <https://doi.org/10.3390/microorganisms12122482>

- Hansen, Z. A., Cha, W., Nohomovich, B., Newton, D. W., Lephart, P., Salimnia, H., Khalife, W., Shade, A., Rudrik, J. T., & Manning, S. D. (2021). Comparing gut resistome composition among patients with acute *Campylobacter* infections and healthy family members. *Scientific Reports*, *11*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01927-7>
- Hansson, K., & Brenthel, A. (2022). Imagining a post-Antibiotic era: A cultural analysis of crisis and antibiotic resistance. *Medical Humanities*, *48*(3), 381–388. <https://doi.org/10.1136/medhum-2022-012409>
- Harris, M., Fasolino, T., Davis, N. J., Ivankovic, D., & Brownlee, N. (2023). Multiplex Detection of Antimicrobial Resistance Genes for Rapid Antibiotic Guidance of Urinary Tract Infections. *Microbiology Research*, *14*(2), 591–602. <https://doi.org/10.3390/microbiolres14020041>
- Harris, M., Fasolino, T., Ivankovic, D., Davis, N. J., & Brownlee, N. (2023). Genetic Factors That Contribute to Antibiotic Resistance through Intrinsic and Acquired Bacterial Genes in Urinary Tract Infections. *Microorganisms*, *11*(6). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061407>
- Hilt, E. E., & Ferrieri, P. (2022). Next Generation and Other Sequencing Technologies in Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases. *Genes*, *13*(9). <https://doi.org/10.3390/genes13091566>
- Hirt, H., Greenwood-Quaintance, K. E., Karau, M. J., Till, L. M., Kashyap, P. C., Patel, R., & Dunny, G. M. (2018). *Enterococcus faecalis* sex pheromone cCF10 enhances conjugative plasmid transfer in vivo. *mBio*, *9*(1), 10–1128.
- Hollister, E. B., Gao, C., & Versalovic, J. (2014). Compositional and functional features of the gastrointestinal microbiome and their effects on human health. *Gastroenterology*, *146*(6), 1449–1458. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.01.052>
- Hu, T., Chitnis, N., Monos, D., & Dinh, A. (2021). Next-generation sequencing technologies: An overview. *Human Immunology*, *82*(11), 801–811. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2021.02.012>
- Järvå, M. A., Hirt, H., Dunny, G. M., & Berntsson, R. P. A. (2020). Polymer Adhesion Domains in Gram-Positive Cell Surface Proteins. *Frontiers in Microbiology*, *11*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.599899>
- Jernberg, C., Löfmark, S., Edlund, C., & Jansson, J. K. (2007). Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *ISME Journal*, *1*(1), 56–66. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.3>

- Kennedy, M. S., & Chang, E. B. (2020). The microbiome: Composition and locations. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 176, 1–42. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2020.08.013>
- Kim, D. W., & Cha, C. J. (2021). Antibiotic resistome from the One-Health perspective: understanding and controlling antimicrobial resistance transmission. *Experimental and Molecular Medicine*, 53(3), 301–309. <https://doi.org/10.1038/s12276-021-00569-z>
- Kim, J. W., Bugata, V., Cortés-Cortés, G., Quevedo-Martínez, G., & Camps, M. (2020). Mechanisms of Theta Plasmid Replication in Enterobacteria and Implications for Adaptation to Its Host. *EcoSal Plus*, 9(1). <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.esp-0026-2019>
- Koliada, A., Moseiko, V., Romanenko, M., Lushchak, O., Kryzhanovska, N., Guryanov, V., & Vaiserman, A. (2021). Sex differences in the phylum-level human gut microbiota composition. *BMC Microbiology*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02198-y>
- Kortright, K. E., Chan, B. K., Koff, J. L., & Turner, P. E. (2019). Phage Therapy: A Renewed Approach to Combat Antibiotic-Resistant Bacteria. *Cell Host and Microbe*, 25(2), 219–232. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.014>
- Kowalska-Duplaga, K., Gosiewski, T., Kapusta, P., Sroka-Oleksiak, A., Wędrychowicz, A., Pieczarkowski, S., Ludwig-Słomczyńska, A. H., Wołkow, P. P., & Fyderek, K. (2019). Differences in the intestinal microbiome of healthy children and patients with newly diagnosed Crohn's disease. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55290-9>
- Kumar, S., & Varela, M. F. (2013). Molecular mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *Chemotherapy*, 14(18), 522–534.
- Kumawat, M., Nabi, B., Daswani, M., Viquar, I., Pal, N., Sharma, P., Tiwari, S., Sarma, D. K., Shubham, S., & Kumar, M. (2023). Role of bacterial efflux pump proteins in antibiotic resistance across microbial species. *Microbial Pathogenesis*, 181. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106182>
- Lambert, P. A. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: Modified target sites. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(10), 1471–1485. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.04.003>
- Laver, T., Harrison, J., O'Neill, P. A., Moore, K., Farbos, A., Paszkiewicz, K., & Studholme, D. J. (2015). Assessing the performance of the Oxford Nanopore

- Technologies MinION. *Biomolecular Detection and Quantification*, 3, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.bdq.2015.02.001>
- Lederberg, J., & McCray, A. T. (2001). 'Ome Sweet 'Omics – A Genealogical Treasury of Words. *The Scientist*, 15(7), 8–8.
- Leite, G., Pimentel, M., Barlow, G. M., Chang, C., Hosseini, A., Wang, J., Parodi, G., Sedighi, R., Rezaie, A., & Mathur, R. (2021). Age and the aging process significantly alter the small bowel microbiome. *Cell Reports*, 36(13). <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109765>
- Leo, S., Curtis, N., & Zimmermann, P. (2022). The neonatal intestinal resistome and factors that influence it—a systematic review. *Clinical Microbiology and Infection*, 28(12), 1539–1546. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2022.07.014>
- Letchumanan, G., Abdullah, N., Marlini, M., Baharom, N., Lawley, B., Omar, M. R., Mohideen, F. B. S., Addnan, F. H., Nur Fariha, M. M., Ismail, Z., & Pathmanathan, S. G. (2022). Gut Microbiota Composition in Prediabetes and Newly Diagnosed Type 2 Diabetes: A Systematic Review of Observational Studies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.943427>
- Li, J., Cao, J., Zhu, Y. G., Chen, Q. L., Shen, F., Wu, Y., Xu, S., Fan, H., Da, G., Huang, R. J., Wang, J., De Jesus, A. L., Morawska, L., Chan, C. K., Peccia, J., & Yao, M. (2018). Global Survey of Antibiotic Resistance Genes in Air. *Environmental Science and Technology*, 52(19), 10975–10984. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b02204>
- Li, M., Budding, A. E., van der Lugt-Degen, M., Du-Thumm, L., Vandeven, M., & Fan, A. (2019). The influence of age, gender and race/ethnicity on the composition of the human axillary microbiome. *International Journal of Cosmetic Science*, 41(4), 371–377. <https://doi.org/10.1111/ics.12549>
- Li, X., Brejnrod, A., Thorsen, J., Zachariassen, T., Trivedi, U., Russel, J., Vestergaard, G. A., Stokholm, J., Rasmussen, M. A., & Sørensen, S. J. (2023). Differential responses of the gut microbiome and resistome to antibiotic exposures in infants and adults. *Nature Communications*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-44289-6>
- Li, X. Z., Plésiat, P., & Nikaido, H. (2015). The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(2), 337–418. <https://doi.org/10.1128/CMR.00117-14>
- Li, Y., Shi, X., Zuo, Y., Li, T., Liu, L., Shen, Z., Shen, J., Zhang, R., & Wang, S. (2022). Multiplexed Target Enrichment Enables Efficient and In-Depth Analysis of

- Antimicrobial Resistome in Metagenomes. *Microbiology Spectrum*, 10(6). <https://doi.org/10.1128/spectrum.02297-22>
- Li, Z., Xia, J., Jiang, L., Tan, Y., An, Y., Zhu, X., Ruan, J., Chen, Z., Zhen, H., Ma, Y., Jie, Z., Xiao, L., Yang, H., Wang, J., Kristiansen, K., Xu, X., Jin, L., Nie, C., Krutmann, J., ... Wang, J. (2021). Characterization of the human skin resistome and identification of two microbiota cutotypes. *Microbiome*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00995-7>
- Lin, J., Lv, H., Wang, T., Tao, H., Zhong, Y., Zhou, Y., Tang, Y., Xie, F., Zhuang, G., Xu, C., Chu, Y., Wang, X., Yang, Y., & Song, T. (2024). The global distribution of the macrolide esterase EstX from the alpha/beta hydrolase superfamily. *Communications Biology*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s42003-024-06473-2>
- Linares, R., Francés, R., Gutiérrez, A., & Juanola, O. (2021). Bacterial Translocation as Inflammatory Driver in Crohn's Disease. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.703310>
- Liu, F., Li, J., Wu, F., Zheng, H., Peng, Q., & Zhou, H. (2019). Altered composition and function of intestinal microbiota in autism spectrum disorders: a systematic review. *Translational Psychiatry*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0389-6>
- Liu, G., Thomsen, L. E., & Olsen, J. E. (2022). Antimicrobial-induced horizontal transfer of antimicrobial resistance genes in bacteria: A mini-review. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 77(3), 556–567. <https://doi.org/10.1093/jac/dkab450>
- Liu, P., Arsuaga, J., Calderer, M. C., Golovaty, D., Vazquez, M., & Walker, S. (2021). Ion-dependent DNA configuration in bacteriophage capsids. *Biophysical Journal*, 120(16), 3292–3302. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2021.07.006>
- Liu, S., Gao, J., Zhu, M., Liu, K., & Zhang, H. L. (2020). Gut Microbiota and Dysbiosis in Alzheimer's Disease: Implications for Pathogenesis and Treatment. *Molecular Neurobiology*, 57(12), 5026–5043.
- López, C. A., Travers, T., Pos, K. M., Zgurskaya, H. I., & Gnanakaran, S. (2017). Dynamics of Intact MexAB-OprM Efflux Pump: Focusing on the MexA-OprM Interface. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16497-w>
- Lu, N., Hu, Y., Zhu, L., Yang, X., Yin, Y., Lei, F., Zhu, Y., Du, Q., Wang, X., Meng, Z., & Zhu, B. (2014). DNA microarray analysis reveals that antibiotic resistance-gene diversity in human gut microbiota is age related. *Scientific Reports*, 4. <https://doi.org/10.1038/srep04302>

- Lynch, S. V., & Boushey, H. A. (2016). The microbiome and development of allergic disease. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 16(2), 165–171. <https://doi.org/10.1097/ACI.0000000000000255>
- Ma, Z. Z. (2024). Revisiting microgenderome: detecting and cataloguing sexually unique and enriched species in human microbiomes. *BMC Biology*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12915-024-02025-6>
- Maestre-Carballa, L., Navarro-López, V., & Martínez-García, M. (2022). A Resistome Roadmap: From the Human Body to Pristine Environments. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.858831>
- Maestre-Carballa, L., Navarro-López, V., & Martínez-García, M. (2024). City-scale monitoring of antibiotic resistance genes by digital PCR and metagenomics. *Environmental Microbiome*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s40793-024-00557-6>
- Marti, E., Variatza, E., & Balcázar, J. L. (2014). Bacteriophages as a reservoir of extended-spectrum β -lactamase and fluoroquinolone resistance genes in the environment. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(7). <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12446>
- McArthur, A. G., Wagleichner, N., Nizam, F., Yan, A., Azad, M. A., Baylay, A. J., Bhullar, K., Canova, M. J., De Pascale, G., Ejim, L., Kalan, L., King, A. M., Koteva, K., Morar, M., Mulvey, M. R., O'Brien, J. S., Pawlowski, A. C., Piddock, L. J. V., Spanogiannopoulos, P., ... Wright, G. D. (2013). The comprehensive antibiotic resistance database. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(7), 3348–3357. <https://doi.org/10.1128/AAC.00419-13>
- McCarthy, A. J., Witney, A. A., & Lindsay, J. A. (2012). Staphylococcus aureus temperate bacteriophage: carriage and horizontal gene transfer is lineage associated. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2, 6. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00006>
- McClintock, B. (1950). The origin and behavior of mutable loci in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 36(6), 344–355.
- Meadow, J. F., Altrichter, A. E., Bateman, A. C., Stenson, J., Brown, G. Z., Green, J. L., & Bohannan, B. J. M. (2015). Humans differ in their personal microbial cloud. *PeerJ*, 3, e1258. <https://doi.org/10.7717/peerj.1258>
- Młynarska, E., Barszcz, E., Budny, E., Gajewska, A., Kopeć, K., Wasiak, J., Rysz, J., & Franczyk, B. (2025). The Gut–Brain–Microbiota Connection and Its Role in Autism Spectrum Disorders. *Nutrients*, 17(7). <https://doi.org/10.3390/nu17071135>

- Mousavi, S. M. J., Hosseinpour, M., Kodori, M., Rafiei, F., Mahmoudi, M., Shahraki, H., Shiri, H., Hashemi, A., & Sharahi, J. Y. (2025). Colistin antibacterial activity, clinical effectiveness, and mechanisms of intrinsic and acquired resistance. *Microbial Pathogenesis*, *201*. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2025.107317>
- Muñoz-López, M., & García-Pérez, J. L. (2010). DNA Transposons: Nature and Applications in Genomics. *Current Genomics*, *11*(2), 115-28. [https://doi: 10.2174/138920210790886871](https://doi.org/10.2174/138920210790886871).
- Muscogiuri, G., Cantone, E., Cassarano, S., Tuccinardi, D., Barrea, L., Savastano, S., & Colao, A. (2019). Gut microbiota: a new path to treat obesity. *International Journal of Obesity Supplements*, *9*(1), 10–19. <https://doi.org/10.1038/s41367-019-0011-7>
- Nagpal, R., Mainali, R., Ahmadi, S., Wang, S., Singh, R., Kavanagh, K., Kitzman, D. W., Kushugulova, A., Marotta, F., & Yadav, H. (2018). Gut microbiome and aging: Physiological and mechanistic insights. *Nutrition and Healthy Aging*, *4*(4), 267–285. <https://doi.org/10.3233/NHA-170030>
- Neil, K., Allard, N., & Rodrigue, S. (2021). Molecular Mechanisms Influencing Bacterial Conjugation in the Intestinal Microbiota. *Frontiers in Microbiology*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.673260>
- Neu, A. T., Allen, E. E., & Roy, K. (2021). Defining and quantifying the core microbiome: Challenges and prospects. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *118*(51), e2104429118. <https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.2104429118>
- Nikaido, H. (2003). Molecular Basis of Bacterial Outer Membrane Permeability Revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *67*(4), 593–656. <https://doi.org/10.1128/membr.67.4.593-656.2003>
- Noster, J., Thelen, P., & Hamprecht, A. (2021). Detection of multidrug-resistant enterobacterales—from esbls to carbapenemases. *Antibiotics*, *10*(9). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10091140>
- Ogunrinola, G. A., Oyewale, J. O., Oshamika, O. O., & Olasehinde, G. I. (2020). The Human Microbiome and Its Impacts on Health. *International Journal of Microbiology*, *2020*. <https://doi.org/10.1155/2020/8045646>
- Oliver, A., Xue, Z., Villanueva, Y. T., Durbin-Johnson, B., Alkan, Z., Taft, D. H., Liu, J., Korf, I., Laugero, K. D., Stephensen, C. B., Mills, D. A., Kable, M. E., & Lemay, D. G. (2022). Association of Diet and Antimicrobial Resistance in Healthy U.S. Adults. *mBio*, *13*(3). <https://doi.org/10.1128/mbio.00101-22>

- Ouyang, Y., Qiu, G., Zhao, X., Su, B., Feng, D., Lv, W., Xuan, Q., Wang, L., Yu, D., Wang, Q., Lin, X., Wu, T., & Xu, G. (2021). Metabolome-Genome-Wide Association Study (mGWAS) Reveals Novel Metabolites Associated with Future Type 2 Diabetes Risk and Susceptibility Loci in a Case-Control Study in a Chinese Prospective Cohort. *Global Challenges*, 5(4). <https://doi.org/10.1002/gch2.202000088>
- Papp, M., & Solymosi, N. (2022). Review and Comparison of Antimicrobial Resistance Gene Databases. *Antibiotics*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030339>
- Park, S. Y., Moon, S. M., Kim, B., Lee, M. J., Park, J. Y., Hwang, S., Yu, S. N., Lee, Y. M., Lee, H. J., Hong, K. W., Park, K. H., Kwak, Y. G., Moon, C., Jeon, M. H., Park, S. H., Kim, Y. K., Song, K. H., Kim, E. S., Kim, T. H., & Kim, H. Bin. (2022). Appropriateness of antibiotic prescriptions during hospitalization and ambulatory care: a multicentre prevalence survey in Korea. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 29, 253–258. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2022.03.021>
- Partridge, S. R., Tsafnat, G., Coiera, E., & Iredell, J. R. (2009). Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons: Review article. *FEMS Microbiology Reviews*, 33(4), 757–784. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00175.x>
- Patangia, D. V., Anthony Ryan, C., Dempsey, E., Paul Ross, R., & Stanton, C. (2022). Impact of antibiotics on the human microbiome and consequences for host health. *MicrobiologyOpen*, 11(1). <https://doi.org/10.1002/mbo3.1260>
- Perry, J. A., Westman, E. L., & Wright, G. D. (2014). The antibiotic resistome: What's new? *Current Opinion in Microbiology*, 21, 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2014.09.002>
- Perry, J., Wagglechner, N., & Wright, G. (2016). The prehistory of antibiotic resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(6). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025197>
- Peterson, J., Garges, S., Giovanni, M., McInnes, P., Wang, L., Schloss, J. A., Bonazzi, V., McEwen, J. E., Wetterstrand, K. A., Deal, C., Baker, C. C., Di Francesco, V., Howcroft, T. K., Karp, R. W., Lunsford, R. D., Wellington, C. R., Belachew, T., Wright, M., Giblin, C., ... Guyer, M. (2009). The NIH Human Microbiome Project. *Genome Research*, 19(12), 2317–2323. <https://doi.org/10.1101/gr.096651.109>
- Peykov, S., & Strateva, T. (2023). Whole-Genome Sequencing-Based Resistome Analysis of Nosocomial Multidrug-Resistant Non-Fermenting Gram-Negative

- Pathogens from the Balkans. *Microorganisms*, 11(3).
<https://doi.org/10.3390/microorganisms11030651>
- Pinart, M., Dötsch, A., Schlicht, K., Laudes, M., Bouwman, J., Forslund, S. K., Pischon, T., & Nimptsch, K. (2022). Gut microbiome composition in obese and non-obese persons: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*, 14(1).
<https://doi.org/10.3390/nu14010012>
- Pinheiro, L. B., Coleman, V. A., Hindson, C. M., Herrmann, J., Hindson, B. J., Bhat, S., & Emslie, K. R. (2012). Evaluation of a droplet digital polymerase chain reaction format for DNA copy number quantification. *Analytical Chemistry*, 84(2), 1003–1011. <https://doi.org/10.1021/ac202578x>
- Pittet, D., Allegranzi, B., Sax, H., Dharan, S., Pessoa-Silva, C. L., Donaldson, L., & Boyce, J. M. (2006). Evidence-based model for hand transmission during patient care and the role of improved practices. *The Lancet Infectious Diseases*, 6(10), 641–652.
- Pourahmad, R., saleki, K., Zare Gholinejad, M., Aram, C., Soltani Farsani, A., Banazadeh, M., & Tafakhori, A. (2024). Exploring the effect of gut microbiome on Alzheimer’s disease. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 39.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2024.101776>
- Qin, Y., Havulinna, A. S., Liu, Y., Jousilahti, P., Ritchie, S. C., Tokolyi, A., Sanders, J. G., Valsta, L., Brożyńska, M., Zhu, Q., Tripathi, A., Vázquez-Baeza, Y., Loomba, R., Cheng, S., Jain, M., Niiranen, T., Lahti, L., Knight, R., Salomaa, V., ... Méric, G. (2022). Combined effects of host genetics and diet on human gut microbiota and incident disease in a single population cohort. *Nature Genetics*, 54(2), 134–142.
<https://doi.org/10.1038/s41588-021-00991-z>
- Qiu, Q., Wang, J., Yan, Y., Roy, B., Chen, Y., Shang, X., Dou, T., & Han, L. (2020). Metagenomic Analysis Reveals the Distribution of Antibiotic Resistance Genes in a Large-Scale Population of Healthy Individuals and Patients With Varied Diseases. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.590018>
- Ravindran, S. (2012). Barbara McClintock and the discovery of jumping genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(50), 20198–20199. <https://doi.org/10.1073/pnas.1219372109>
- Rosado, P. C., Marques, M. M., & Justino, G. C. (2025). Targeting MRSA penicillin-binding protein 2a: structural insights, allosteric mechanisms, and the potential of

- adjuvant inhibitors. *Biochemical Pharmacology*, 239.
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2025.117048>
- Sabbagh, P., Rajabnia, M., Maali, A., & Ferdosi-Shahandashti, E. (2021). Integron and its role in antimicrobial resistance: A literature review on some bacterial pathogens. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 24(2), 136–142.
<https://doi.org/10.22038/ijbms.2020.48905.11208>
- Sakalauskiene, G. V., Malcienė, L., Stankevičius, E., & Radzevičienė, A. (2025). Unseen Enemy: Mechanisms of Multidrug Antimicrobial Resistance in Gram-Negative ESKAPE Pathogens. *Antibiotics*, 14(1).
<https://doi.org/10.3390/antibiotics14010063>
- Sandoval-Quintana, E., Lauga, B., & Cagnon, C. (2023). Environmental integrons: the dark side of the integron world. *Trends in Microbiology*, 31(5), 432–434.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2022.01.009>
- Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(12), 5463–5467.
- Satam, H., Joshi, K., Mangrolia, U., Waghoo, S., Zaidi, G., Rawool, S., Thakare, R. P., Banday, S., Mishra, A. K., Das, G., & Malonia, S. K. (2023). Next-Generation Sequencing Technology: Current Trends and Advancements. *Biology*, 12(7).
<https://doi.org/10.3390/biology12070997>
- Savage, A. L., Schumann, G. G., Breen, G., Bubb, V. J., Al-Chalabi, A., & Quinn, J. P. (2019). Retrotransposons in the development and progression of amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 90(3), 284–293.
<https://doi.org/10.1136/jnnp-2018-319210>
- Schaenzer, A. J., & Wright, G. D. (2020). Antibiotic Resistance by Enzymatic Modification of Antibiotic Targets. *Trends in Molecular Medicine*, 26(8), 768–782.
<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2020.05.001>
- Scharn, C. R., Tenover, F. C., & Goering, R. V. (2013). Transduction of staphylococcal cassette chromosome mec elements between strains of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(11), 5233–5238.
<https://doi.org/10.1128/AAC.01058-13>
- Scharschmidt, T. C., & Fischbach, M. A. (2013). What lives on our skin: Ecology, genomics and therapeutic opportunities of the skin microbiome. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*, 10(3–4). <https://doi.org/10.1016/j.ddmec.2012.12.003>

- Schmitt, H., Neurath, M. F., & Atreya, R. (2021). Role of the IL23/IL17 Pathway in Crohn's Disease. *Frontiers in Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.622934>
- Seppälä, H., Skurnik, M., Soini, H., Roberts, M. C., & Huovinen, P. (1998). A novel erythromycin resistance methylase gene (ermTR) in *Streptococcus pyogenes*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42(2), 257–262.
- Shaikh, S. D., Sun, N., Canakis, A., Park, W. Y., & Weber, H. C. (2023). Irritable Bowel Syndrome and the Gut Microbiome: A Comprehensive Review. *Journal of Clinical Medicine*, 12(7). <https://doi.org/10.3390/jcm12072558>
- Sharma, N., Bhatia, S., Sodhi, A. S., & Batra, N. (2018). Oral microbiome and health. *AIMS Microbiology*, 4(1), 42–66. <https://doi.org/10.3934/MICROBIOL.2018.1.42>
- Sharon, I., Quijada, N. M., Pasolli, E., Fabbri, M., Vitali, F., Agamennone, V., Dötsch, A., Selberherr, E., Grau, J. H., Meixner, M., Liere, K., Ercolini, D., de Filippo, C., Caderni, G., Brigidi, P., & Turrone, S. (2022). The Core Human Microbiome: Does It Exist and How Can We Find It? A Critical Review of the Concept. *Nutrients*, 14(14). <https://doi.org/10.3390/nu14142872>
- Shen, Y., Sun, D., Chen, K., Jiang, J., Shao, D., Yang, L., Sun, C., Liu, D., Ke, Y., Wu, C., Walsh, T. R., Shen, J., Lv, Z., & Wang, Y. (2025). High-fat and low-fiber diet elevates the gut resistome: a comparative metagenomic study. *npj Biofilms and Microbiomes*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41522-025-00799-3>
- Shin, Y., Han, S., Kwon, J., Ju, S., Choi, T. G., Kang, I., & Kim, S. S. (2023). Roles of Short-Chain Fatty Acids in Inflammatory Bowel Disease. *Nutrients*, 15(20). <https://doi.org/10.3390/nu15204466>
- Shintani, M., Vestergaard, G., Milaković, M., Kublik, S., Smalla, K., Schloter, M., & Udiković-Kolić, N. (2023). Integrons, transposons and IS elements promote diversification of multidrug resistance plasmids and adaptation of their hosts to antibiotic pollutants from pharmaceutical companies. *Environmental Microbiology*, 25(12), 3035–3051. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.16481>
- Siguier, P., Gourbeyre, E., & Chandler, M. (2014). Bacterial insertion sequences: Their genomic impact and diversity. *FEMS Microbiology Reviews*, 38(5), 865–891. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12067>
- Singh, S., Verma, N., & Taneja, N. (2019). The human gut resistome: Current concepts & future prospects. *Indian Journal of Medical Research*, 150(4), 345–358. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1979_17

- Singh, T., Dar, S. A., Singh, S., Shekhar, C., Wani, S., Akhter, N., Bashir, N., Haque, S., Ahmad, A., & Das, S. (2021). Integron mediated antimicrobial resistance in diarrheagenic *Escherichia coli* in children: in vitro and in silico analysis. *Microbial Pathogenesis*, *150*. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104680>
- Soldán, M., Argalášová, L., Hadvinová, L., Galileo, B., & Babjaková, J. (2024). The Effect of Dietary Types on Gut Microbiota Composition and Development of Non-Communicable Diseases: A Narrative Review. *Nutrients*, *16*(18). <https://doi.org/10.3390/nu16183134>
- Stecher, B., Denzler, R., Maier, L., Bernet, F., Sanders, M. J., Pickard, D. J., Barthel, M., Westendorf, A. M., Krogfelt, K. A., Walker, A. W., Ackermann, M., Dobrindt, U., Thomson, N. R., & Hardt, W. D. (2012). Gut inflammation can boost horizontal gene transfer between pathogenic and commensal Enterobacteriaceae. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *109*(4), 1269–1274. <https://doi.org/10.1073/pnas.1113246109>
- Strange, J. E. S., Leekitcharoenphon, P., Møller, F. D., & Aarestrup, F. M. (2021). Metagenomics analysis of bacteriophages and antimicrobial resistance from global urban sewage. *Scientific Reports*, *11*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-80990-6>
- Sukumar, S., Rahmanyar, Z., El Jurf, H. Q., Akil, W. S., Hussain, J., Elizabeth Martin, F., Ekanayake, K., & Martinez, E. (2024). Mapping the oral resistome: a systematic review. *Journal of Medical Microbiology*, *73*(8). <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001866>
- Taico Oliva, C., Musa, I., Kopulos, D., Ardalani, F., Maskey, A., Wilson, A., Yang, N., & Li, X. M. (2024). The gut microbiome and cross-reactivity of food allergens: current understanding, insights, and future directions. *Frontiers in Allergy*, *5*. <https://doi.org/10.3389/falgy.2024.1503380>
- Tansirichaiya, S., Mullany, P., & Roberts, A. P. (2016). PCR-based detection of composite transposons and translocatable units from oral metagenomic DNA. *FEMS Microbiology Letters*, *363*(18). <https://doi.org/10.1093/femsle/fnw195>
- Tao, S., Chen, H., Li, N., Wang, T., & Liang, W. (2022). The Spread of Antibiotic Resistance Genes In Vivo Model. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, *2022*. <https://doi.org/10.1155/2022/3348695>

- Tavella, T., Turrone, S., Brigidi, P., Candela, M., & Rampelli, S. (2021). The Human Gut Resistome up to Extreme Longevity. *mSphere*, 6(5). <https://doi.org/10.1128/msphere.00691-21>
- Thacharodi, A., & Lamont, I. L. (2022). Aminoglycoside-Modifying Enzymes Are Sufficient to Make *Pseudomonas aeruginosa* Clinically Resistant to Key Antibiotics. *Antibiotics*, 11(7). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070884>
- Tooke, C. L., Hinchliffe, P., Bragginton, E. C., Colenso, C. K., Hirvonen, V. H. A., Takebayashi, Y., & Spencer, J. (2019). β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *Journal of Molecular Biology*, 431(18), 3472–3500. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.04.002>
- Torres-Barceló, C. (2018). The disparate effects of bacteriophages on antibiotic-resistant bacteria. *Emerging Microbes and Infections*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0169-z>
- van Dijk, E. L., Jaszczyszyn, Y., Naquin, D., & Thermes, C. (2018). The Third Revolution in Sequencing Technology. *Trends in Genetics*, 34(9), 666–681. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2018.05.008>
- van Duijkeren, E., Schink, A.-K., Roberts, M. C., Wang, Y., & Schwarz, S. (2018). Mechanisms of Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents. *Microbiology Spectrum*, 6(2).
- van Schaik, W. (2015). The human gut resistome. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1670). <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0087>
- VanGuilder, H. D., Vrana, K. E., & Freeman, W. M. (2008). Twenty-five years of quantitative PCR for gene expression analysis. *BioTechniques*, 44(5), 619–626. <https://doi.org/10.2144/000112776>
- Varghese, S., Rao, S., Khattak, A., Zamir, F., & Chaari, A. (2024). Physical Exercise and the Gut Microbiome: A Bidirectional Relationship Influencing Health and Performance. *Nutrients*, 16(21). <https://doi.org/10.3390/nu16213663>
- Virolle, C., Goldlust, K., Djermoun, S., Bigot, S., & Lesterlin, C. (2020). Plasmid transfer by conjugation in gram-negative bacteria: From the cellular to the community level. *Genes*, 11(11), 1–33. <https://doi.org/10.3390/genes11111239>
- Von Döhren, H. (2004). Antibiotics: Actions, origins, resistance, by C. Walsh. 2003. Washington, DC: ASM Press. 345 pp. \$99.95 (hardcover). *Protein Science*, 13(11), 3059.

- Von Wintersdorff, C. J. H., Penders, J., Van Niekerk, J. M., Mills, N. D., Majumder, S., Van Alphen, L. B., Savelkoul, P. H. M., & Wolffs, P. F. G. (2016). Dissemination of antimicrobial resistance in microbial ecosystems through horizontal gene transfer. *Frontiers in Microbiology*, 7, 17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00173>
- Wachino, J. ichi. (2025). Horizontal Gene Transfer Systems for Spread of Antibiotic Resistance in Gram-Negative Bacteria. *Microbiology and Immunology*, 69(7), 367–376. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.13222>
- Wang, J., Huang, J., & Shi, G. (2020). Retrotransposons in pluripotent stem cells. *Cell Regeneration*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s13619-020-00046-4>
- Wang, M., Zhang, Y., Pei, F., Liu, Y., & Zheng, Y. (2025). Loss of OprD function is sufficient for carbapenem-resistance-only but insufficient for multidrug resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Microbiology*, 25(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-025-03935-3>
- Wasiak, J., & Gawlik-Kotelnicka, O. (2023). Intestinal permeability and its significance in psychiatric disorders – A narrative review and future perspectives. *Behavioural Brain Research*, 448. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2023.114459>
- Whipps, J. M., Lewis, K., & Cooke, R. C. (1988). In: *Fungi in Biological Control Systems* (Burge, M.N. ed.), 161-187.
- Willmann, M., & Peter, S. (2017). Translational metagenomics and the human resistome: confronting the menace of the new millennium. *Journal of Molecular Medicine*, 95(1), 41–51. <https://doi.org/10.1007/s00109-016-1478-0>
- Willmann, M., Vehreschild, M. J. G. T., Biehl, L. M., Vogel, W., Dörfel, D., Hamprecht, A., Seifert, H., Autenrieth, I. B., & Peter, S. (2019). Distinct impact of antibiotics on the gut microbiome and resistome: A longitudinal multicenter cohort study. *BMC Biology*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12915-019-0692-y>
- Wright, G. D. (2011). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Chemical Communications*, 47(14), 4055–4061.
- Wu, D., Jin, L., Xie, J., Liu, H., Zhao, J., Ye, D., & Li, X. D. (2022). Inhalable antibiotic resistomes emitted from hospitals: metagenomic insights into bacterial hosts, clinical relevance, and environmental risks. *Microbiome*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01197-5>
- Wu, L., Xie, X., Li, Y., Liang, T., Zhong, H., Ma, J., Yang, L., Yang, J., Li, L., Xi, Y., Li, H., Zhang, J., Chen, X., Ding, Y., & Wu, Q. (2021). Metagenomics-based

- analysis of the age-related cumulative effect of antibiotic resistance genes in gut microbiota. *Antibiotics*, *10*(8). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10081006>
- Yakout, M. A., & Ali, G. H. (2022). A novel parC mutation potentiating fluoroquinolone resistance in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* clinical isolates. *Journal of Infection in Developing Countries*, *16*(2), 314–319. <https://doi.org/10.3855/jidc.15142>
- Yang, S., Wang, Y.-L., Lyu, Y., Jiang, Y., Xiang, J., Ji, S., Kang, S., Lyu, X., He, C., Li, P., Liu, B., & Wu, C. (2021). mGWAS identification of six novel single nucleotide polymorphism loci with strong correlation to gastric cancer. *Cancer & Metabolism*, *9*(1). <https://doi.org/10.1186/s40170-021-00269-2>
- Yu, Z., Wang, Y., Henderson, I. R., & Guo, J. (2022). Artificial sweeteners stimulate horizontal transfer of extracellular antibiotic resistance genes through natural transformation. *ISME Journal*, *16*(2), 543–554. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01095-6>
- Zankari, E., Hasman, H., Cosentino, S., Vestergaard, M., Rasmussen, S., Lund, O., Aarestrup, F. M., & Larsen, M. V. (2012). Identification of acquired antimicrobial resistance genes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *67*(11), 2640–2644. <https://doi.org/10.1093/jac/dks261>
- Zdarska, V., Kolar, M., & Mlynarcik, P. (2024). Occurrence of beta-lactamases in bacteria. *Infection, Genetics and Evolution*, *122*. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2024.105610>
- Zhang, P. (2022). Influence of Foods and Nutrition on the Gut Microbiome and Implications for Intestinal Health. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(17). <https://doi.org/10.3390/ijms23179588>
- Zhao, X., Hu, M., Zhou, H., Yang, Y., Shen, S., You, Y., & Xue, Z. (2023). The role of gut microbiome in the complex relationship between respiratory tract infection and asthma. *Frontiers in Microbiology*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1219942>
- Zhou, K., Sun, F., Xu, X. L., Hao, X. K., & Liu, J. Y. (2020). Prevalences and characteristics of cultivable nasal bacteria isolated from preclinical medical students. *Journal of International Medical Research*, *48*(10). <https://doi.org/10.1177/0300060520961716>