

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Staphylococcus aureus resistente à meticilina: desafios, estratégias
terapêuticas e avaliação de novos compostos antibacterianos

PAMELLA FUKUDA DE CASTILHO

Dourados - MS

2025

PAMELLA FUKUDA DE CASTILHO

Staphylococcus aureus resistente à meticilina: desafios, estratégias
terapêuticas e avaliação de novos compostos antibacterianos

Área do CNPq: Microbiologia Aplicada (2.12.02.00-1)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências da Saúde da
Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD),
para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde

Área de concentração: Doenças Crônicas e Infecto-
Parasitárias ou Farmacologia

Orientador: Prof^a. Dr^a. Kelly Mari Pires de Oliveira

Dourados - MS

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

C352s Castilho, Pamella Fukuda De

Staphylococcus aureus resistente à meticilina: desafios, estratégias terapêuticas e avaliação de novos compostos antibacterianos [recurso eletrônico] / Pamella Fukuda De Castilho. -- 2025.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Kelly Mari Pires de Oliveira.

Tese (Doutorado em Ciências da Saúde)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2025.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Resistência antimicrobiana. 2. Atividade biológica. 3. CA-MRSA. 4. HA-MRSA. 5. Guanidina. I. Oliveira, Kelly Mari Pires De. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.



ATA DA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO APRESENTADA POR PAMELLA FUKUDA DE CASTILHO, ALUNA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "DOENÇAS INFECTO-PARASITÁRIAS".

Aos sete dias do mês de março do ano de dois mil e vinte e cinco, às treze horas e trinta minutos, em sessão pública, realizou-se na Universidade Federal da Grande Dourados, a Defesa de Tese de Doutorado intitulada **"Staphylococcus aureus resistente à metilicina: desafios, estratégias terapêuticas e avaliação de novos compostos antibacterianos"**, apresentada pela doutoranda Pamella Fukuda de Castilho, do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, à Banca Examinadora constituída pelos membros: Prof.^a Dr.^a Kelly Mari Pires de Oliveira/UFGD (presidente/orientadora), Prof.^a Dr.^a Luana Rossato/UFGD (membro titular interno), Prof.^a Dr.^a Fabiana Gomes da Silva Dantas/UFGD (membro titular externo), Prof.^a Dr.^a Quézia Moura da Silva/IFES (membro titular externo), Prof.^a Dr. Nathalia Rodrigues de Almeida/TRINITY (membro titular externo). Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer à candidata e aos integrantes da banca as normas a serem observadas na apresentação da Tese. Após a candidata ter apresentado a sua Tese, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições. Terminada a Defesa, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido a candidata considerada APROVADA. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Dourados/MS, 07 de março de 2025.

Documento assinado digitalmente
gov.br KELLY MARI PIRES DE OLIVEIRA
Data: 18/03/2025 21:40:46-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Kelly Mari Pires de Oliveira
Presidente/orientadora

Documento assinado digitalmente
v.br LUANA ROSSATO
Data: 18/03/2025 15:13:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Luana Rossato
Membro Titular Interno

Documento assinado digitalmente
gov.br FABIANA GOMES DA SILVA DANTAS
Data: 17/03/2025 19:43:12-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Fabiana Gomes da Silva Dantas
Membro Titular Externo

Documento assinado digitalmente
gov.br QUEZIA MOURA DA SILVA
Data: 17/03/2025 18:21:58-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Quézia Moura da Silva
Membro Titular Externo

Prof.^a Dr. Nathalia Rodrigues de Almeida
Membro Titular Externo

(PARA USO EXCLUSIVO DA PROPP)

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo e sempre: ao meu pai e minha mãe do céu, Jesus e Maria, por terem me dado o dom da vida, intercedido por mim e guiado todos meus passos até hoje.

Ao meu marido, Rafael, pelo amor incondicional, pelos conselhos e ensinamentos. Por me lembrar diariamente que sempre terei ao meu lado alguém me apoiando, fortalecendo e honrando. Nós somos a minha maior conquista, te amo incondicionalmente.

Aos meus pais, Marcelo e Erika, à minha irmã Nicolle e à minha batchan Mitsue. Por tudo que sou, pelo que me tornei, pelo amor, carinho e incentivo. Seguimos vencendo, família! amo muito vocês.

À minha orientadora Professora Dra Kelly Mari Pires de Oliveira, que foi muito além de uma orientadora. Foi minha amiga, minha incentivadora, me encorajou, me apoiou e me respeitou. Te levarei para minha vida e saiba que sou eternamente grata.

À Professora e minha amiga, Dra. Fabiana Gomes da Silva Dantas que tem papel fundamental em toda minha trajetória acadêmica. Obrigada por cada troca, todo ensinamento, acolhimento, amizade, humildade. Você transforma vidas que toca com seu amor e gentileza.

Aos meus amigos Fernanda, João, Diana, Cleison, Adriana e Renata que estavam sempre dispostos a ajudar. Estar ao lado de vocês nessa jornada tornou tudo mais leve, obrigada pela partilha, pelos risos, obrigada pela amizade, vocês são especiais e podem contar sempre comigo!

Aos nossos parceiros da University of Nebraska Medical Center e Palm Beach Atlantic University, por toda contribuição. Em especial, a Luana Janaína de Campos, que teve grande participação neste trabalho.

À banca examinadora, pela dedicação e contribuição neste trabalho.

Ao corpo docente, aos técnicos da Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS-UFGD), à Universidade Federal da Grande Dourados, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Apoio ao

Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT), pelo apoio e pelo fomento para o desenvolvimento desta e de todas as iniciativas que promovem o avanço da pesquisa e do conhecimento científico.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização do meu trabalho, para a construção do meu conhecimento e minha jornada acadêmica.

“Quando deixei de olhar tão ansiosamente para o que me faltava e passei a olhar com gentileza para o que eu tinha, descobri que, há muito mais a agradecer do que a pedir.”

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO DA LITERATURA

- Figura 1.** Microfotografia da bactéria *S. aureus* obtida por microscopia eletrônica de varredura. A imagem revela a estrutura morfológica da bactéria Gram-positiva como a forma esférica e a disposição que das células em individuais ou aglomerados. Fonte: A autora (2023)..... 21
- Figura 2.** Estrutura química dos antibióticos betalactâmicos, destacando anéis e grupos funcionais característicos (A) Penicilina G, apresentando um anel betalactâmico ligado a um anel tiazolidina e (B) Meticilina, derivada da penicilina, possui um grupo metil substituindo o grupo fenoximetil da estrutura da penicilina. Fonte: A autora (2023)..... 22
- Figura 3.** Principais mecanismos de resistência das bactérias MRSA aos antibióticos: (A) Expressão da forma alternativa da proteína de ligação a penicilina, a PBP2a, com afinidade reduzida para os antibióticos e (B) Produção e liberação da enzima betalactamase que cliva e inativa moléculas de antibiótico. Fonte: Murphy; Walshe, (2011)..... 23
- Figura 4.** Fórmula estrutural da guanidina, um composto orgânico que possui como átomo central o carbono, ligado a dois grupos amino (NH₂) e um grupo guanídnio (=NH). Fonte: A autora (2023)..... 28

MANUSCRITO 2

- Figura 1.** Diagrama de fluxo PRISMA ilustrando a busca e seleção de artigos para esta revisão sistemática..... 54
- Figura 2.** Classificação das alternativas antimicrobianas investigadas em estudos *in vivo* contra MRSA, com base em artigos publicados de 2014 a junho de 2024.... 55

MANUSCRITO 3

Figure 1. Effect of compounds on bacterial growth kinetics. The bacteria at a concentration of 1×10^8 cells/mL and diluted 1:100 were initially inoculated in culture medium with concentrations equivalent to 4x, 2x and 1x MIC of compounds. Time points were recorded at 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 and 24 hours after inoculation. Data represent the mean $\pm$ standard deviation (N = 3). Omitted error

bars indicate an SD value shorter than the size of the symbol presented in the plots..... 146

Figure 2. Potential of the compounds to inhibit (**A**, **B** and **C**) and to destroy (**D**, **E** and **F**) *S. aureus*, CA-MRSA and HA-MRSA biofilms evaluated according to metabolic activity using XTT. Biofilms were cultivated in culture medium with concentrations equivalent to 4x, 2x and 1x MIC of compounds. The initial inoculum consisted of 1×10^8 cells/mL of each bacterial strain. Metabolic activity was quantified by the XTT assay at 48 hours following exposure to the compounds in the formation assays and 24 hours in the destruction assays. *: $P \leq 0.05$; **: $P \leq 0.01$; ***: $P \leq 0.001$ versus the control, according to ANOVA and Dunnett's post-hoc. Each experiment included technical replicates. Omitted error bars indicate an SD value shorter than the size of the symbol presented in the plots..... 147

Figure 3. Scanning electron microscope micrographs of HA-MRSA biofilms treated with compounds. (**A0**) Untreated Biofilm; (**B**) B1, C1 and D1 are biofilms treated with 4x MIC; (**C**) B2, C2 and D2 are treated with 2x MIC; (**D**) B3, C3 and D3 are treated with 4x MIC. (**B**) corresponds to molecule **5A**; (**C**) corresponds to compound **5B**; (**D**) corresponds to compound **5C**..... 148

Figure 4. Scanning electron microscopy micrographs of cell integrity from compound treated HA-MRSA biofilms in the biofilm formation inhibition assay. The biofilms were cultivated in the presence of different concentrations of the compounds from an initial inoculum of 1×10^8 cells/mL for 48 hours. (**A**) Untreated Biofilm; (**B**) treated with 2x MIC of compound **5a**; (**C**) treated with 2x MIC of compound **5b**; (**D**) treated with 2x MIC of compound **5c**. Arrows indicate some of the cells that showed collapse, morphological change or structural damage..... 148

Figure 5. Cell viability of HA-MRSA biofilms by live/dead staining and fluorescence microscopy after treatments with compounds in the biofilm formation inhibition assay. The biofilms were cultivated in the presence of different concentrations of the compounds from an initial inoculum of 1×10^8 cells/mL for 48 hours. Living cells are stained fluorescent green and dead cells fluorescent red. (**A**) Control; (**B**) Treated at 1x MIC concentration of compound **5a**; (**C**) Treated at 1x MIC concentration of compound **5b**; (**D**) Treated at 1x MIC concentration of compound **5c**..... 149

Figure 6. Effect of compound 5c on biofilm inhibition of <i>S. aureus</i> , CA-MRSA, and HA-MRSA in an <i>ex vivo</i> porcine skin model. Biofilm inhibition of <i>S. aureus</i> , CA-MRSA, and HA-MRSA following treatment with compound 5c at 2X and 4X MIC. Biofilms were formed on porcine skin samples and quantified by CFU counting after 24 h of incubation. *: $P \leq 0.05$; **: $P \leq 0.01$; ***: $P \leq 0.001$; *****: $P \leq 0.0001$ versus the control, according to ANOVA and Dunnett's post-hoc. Each experiment included technical replicates.....	150
Figure 7. Expression of virulence genes in <i>S. aureus</i> JE2 after treatment with 2X, 3X and 4X MIC concentration of 5a and 1 $\mu\text{g/mL}$ vancomycin in a 24-hour biofilm formation experiment.....	151
Figure 8. Membrane activity investigation for the studied compounds in <i>S. aureus</i> JE2. (A) Inner membrane permeabilization evaluation by PI uptake; (B) Membrane potential analysis by the voltage sensitive fluorescent dye [DiSC3(5)]; (C) Bacterial Zeta potential changes induced by the treatment with the studied guanidines. Error bars report SEM. Each experiment included 3 biological replicates. $P \leq 0.0001$; ns: not significant by One-Way ANOVA with Dunnett's multiple comparisons test.....	151
Figure 9. SEM images of UTD control (A) and 5a at 4x MIC (B) bacteria after 2 h of treatment.....	152
Figure 10. Study of resistance development in 21 days. The bacterial strains were cultivated in MHB at a concentration of $\frac{1}{4}$ MIC of the compounds. The broth microdilution assay was employed to determine the MIC value after each passage during the 21-day period.....	153
Figure 11. Viability of 5a , 5b and 5c against HEp-2 (A) , HEK-293 (B) cell lines. Error bars report SEM (N = 3). Each experiment included technical replicates. Omitted error bars indicate an SD value shorter than the size of the symbol presented in the plots.....	153

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1. Nome, estrutura e doença relacionada aos fármacos disponíveis no mercado contendo guanidina para o tratamento de infecções bacterianas.....	29
--	----

MANUSCRITO 2

Tabela 1. Características gerais dos estudos incluídos na classe de peptídeos antimicrobianos e derivados.....	59
Tabela 2. Características gerais dos estudos incluídos na classe de compostos sintéticos e químicos antimicrobianos.....	68
Tabela 3. Características gerais dos estudos incluídos na classe de terapia fágica e enzimas antimicrobianas.....	76
Tabela 4. Características gerais dos estudos incluídos na classe de produtos naturais e extratos vegetais.....	82
Tabela 5. Características gerais dos estudos incluídos na classe de reaproveitamento de fármacos.....	87
Tabela 6. Características gerais dos estudos incluídos na classe de nanotecnologia e nanomateriais para terapia antimicrobiana.....	97
Tabela 7. Características gerais dos estudos incluídos na classe de terapia baseada em luz.....	104

MANUSCRITO 3

Table 1. Minimum Inhibitory Concentration ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) of compounds against Gram-positive and Gram-negative strains.....	154
Table 2. Antibacterial activity of compounds in combination with the antibiotic oxacillin against CA-MRSA and HA-MRSA isolates.....	154
Table 3. Hemolytic activity of the compounds.....	155

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

REVISÃO DE LITERATURA

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina/ methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

CA-MRSA – MRSA associada a comunidade/Community-associated MRSA

HA-MRSA – MRSA associada ao hospital/Hospital-associated MRSA

LA-MRSA – MRSA associada a pecuária/MRSA associated with livestock

PBP2a – Proteína 2a ligadora de penicilina/Penicillin-binding protein 2a

PBP's – Proteína ligadora de penicilina/Penicillin binding protein

pH – Potencial hidrogeniônico

6-APA – Ácido 6-aminopenicilânico

SCCmec – Cassete cromossômico estafilocócico mec/Staphylococcal Cassette Chromosome mec

OMS – Organização Mundial da Saúde

DNA –ácido desoxirribonucleico/Deoxyribonucleic acid

RNA – Ácido ribonucleico/Ribonucleic acid

ARTIGO 1

RAM – Resistência antimicrobiana

HGT – Transferência horizontal de genes/Horizontal gene transfer

OMS – Organização Mundial da Saúde

FAO – Organização das Nações Unidas Para Alimentar e Agricultura/Food Agriculture Organization

OIE – Organização Mundial da Saúde Animal/Office International des Epizooties

FDA – Administração de Alimentos e Medicamentos/Food and Drug Administration

PAM's – Peptídeos antimicrobianos

PAMS's – Peptídeos antimicrobianos sintéticos

aa – Aminoácidos

DNA –Ácido desoxirribonucleico/deoxyribonucleic acid

RNA – Ácido ribonucleico/ribonucleic acid

TNF- α –Fatores de Necrose Tumoral Alfa/Tumor necrosis fator

IL – Interleucina/Interleukin

PGE₂ – Prostaglandina E₂/Prostaglandin E₂

iNOS – Enzima óxido nítrico sintase induzível/Inducible Nitric oxide synthase

NK – Natural killer

COX-2 – Ciclooxygenase-2/Cyclooxygenase-2

ICAM-1 – Molécula de adesão intercelular-1/Intercellular adhesion molecule-1

VCAM-1 – Molécula de adesão vascular-1/Vascular adhesion molecule-1

MCP-1 – Proteína quimioatrativa de monócitos/Monocyte Chemoattractant Protein

MOFS – Compostos organometálicos/Metal-organic frameworks

Bio-MOFS – Compostos organometálicos com ligantes biologicamente ativos/Metal-organic frameworks with biologically active ligands

PBU – Unidade de construção primária/Primary Building unit

SBU – Unidade de construção secundária/Secondary Building Unit

IRMOF – Isorecticular MOF/isorecticular MOF

Ag – Ouro

Cu – Cobre

Zn – Zinco

Co – Cobalto

Ni – Níquel

Cd – Cádmio

Mg – Magnésio

Mn – Manganês

Fe – Ferro

Al – Alumínio

Ga – Gálio

Sc – Escândio

Cr – Cromo

La – Lantânio

Zr – Zircônio

Ti – Titânio

Hf – Háfênio

O – Oxigênio

K – Potássio

Na – Sódio

MANUSCRITO 2

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina

PRISMA – Itens de Relato Preferidos para Revisões Sistemáticas e Meta-Análises

OMS – Organização Mundial da Saúde

HA-MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina associado ao ambiente hospitalar

CA-MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina associado à comunidade

LA-MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina associado ao gado

PROSPERO – Registro Internacional Prospectivo de Revisões Sistemáticas

ID – Identificação

DNA – Ácido desoxirribonucleico

RNA – Ácido ribonucleico

AMPs – Peptídeos antimicrobianos

ROS – Espécies reativas de oxigênio

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

IL-1 β – Interleucina-1 beta

MCP-1 – Proteína quimiotática de monócitos-1

IL-10 – Interleucina-10

PBS – Solução tampão fosfato-salina

CFU – Unidades formadoras de colônias

ED₅₀ – Dose efetiva para 50% da população testada

PFU – Unidades formadoras de placa

rMPO – Mieloperoxidase recombinante

LED – Diodo emissor de luz

TFD – Terapia fotodinâmica

TFT – Terapia fototérmica

HMPB – Azul da Prússia mesoporoso oco

CBD – Canabidiol

MXene – Materiais bidimensionais baseados em metais de transição

ICG – Indocianina verde

HA – Ácido hialurônico

MANUSCRITO 3

ANOVA – Analysis of variance

CFU – Colony forming units
Cont – Control
CV – Crystal violet
DAPT – Daptomycin
DMEM – Dulbecco's modified Eagle medium
DMSO – Dimethyl sulfoxide
DPBS - Dulbecco's phosphate saline buffer
FBS – Fetal bovine serum
FIC – Fractional inhibitory concentration
FICI – Fractional inhibitory concentration index
HEK-293 – Immortalized human embryonic kidney cell line
HEp-2 – Epithelial type 2 cell line
HP – Human plasm
ICH – International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use
MBC – Minimum bactericidal concentration
MHA – Müller-Hinton agar
MHB – Müller-Hinton broth
MI – Mutagenic index
MIC – Minimum inhibitory concentration
OECD – Organization for Economic Cooperation and Development
Oxa – Oxacillin
PBS – Phosphate buffered saline
PHMB – Polyhexamethylene biguanide
PI – Propidium iodide
SCC*mec* – Staphylococcal chromosomal cassette
SH – Human serum
TRIP – Trypsin
TSB – Trypticase soy broth
UTD – Untreated
WHO – World Health Organization
XTT – (2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-5-[(phenylamino)carbonyl]-2H-tetrazolium hydroxide)

***Staphylococcus aureus* resistente à meticilina: desafios, estratégias terapêuticas e avaliação de novos compostos antibacterianos**

RESUMO

A resistência antimicrobiana tornou-se problema de saúde mundial acometendo milhares de indivíduos. Entre as bactérias, cepas resistentes de *Staphylococcus aureus*, denominada MRSA, se mantém entre os principais agentes com alta prevalência e terapêutica limitada. Além disso, o desenvolvimento de novos antimicrobianos enfrenta desafios significativos, incluindo barreiras econômicas, regulatórias e científicas. Assim, é fundamental explorar as estratégias disponíveis, identificar alternativas promissoras e investigar novos compostos com potencial para o tratamento de infecções resistentes. O objetivo do presente trabalho foi investigar os desafios e as alternativas no combate a resistência por meio de uma revisão narrativa da literatura, revisar sistematicamente as alternativas terapêuticas com estudos *in vivo* em desenvolvimento para MRSA e, avaliar a atividade antibacteriana e biocompatibilidade de compostos com ligante de guanidina. Para revisão narrativa, uma busca bibliográfica foi conduzida nos bancos de dados Science Direct, PubMed e Scopus para abordar estudos sobre estratégias no combate a resistência antimicrobiana e explorar alternativas promissoras. Foram selecionados artigos conforme critérios de relevância para o tema. A revisão sistemática foi conduzida de acordo com as diretrizes do PRISMA e a busca foi realizada nas bases de dados Science Direct, PubMed, Web of Science, Scopus e Embase. Palavras-chave relacionadas a alternativas antimicrobianas contra MRSA e estudos *in vivo* foram definidas, com foco em estudos publicados entre 2010 e junho de 2024. Para o artigo de pesquisa, os compostos foram sintetizados pela funcionalização do fragmento bioativo 3,5-diarildeno-4-piperidona com o grupo guanidina. A atividade antibacteriana foi determinada por microdiluição em caldo, os efeitos antibiofilme *in vitro* foram caracterizados e o potencial antibiofilme *ex vivo* foi avaliado em um modelo de pele suína. A análise de expressão gênica por RT-qPCR e os ensaios de membrana foram realizados para avaliar o mecanismo de ação. O potencial adjuvante foi analisado através do ensaio de *checkerboard*, a estabilidade frente condições adversas e a indução de resistência foi avaliada em um estudo de várias etapas. A biocompatibilidade foi verificada por meio do teste de Ames, teste de hemólise com eritrócitos humanos e citotoxicidade em células renais e epiteliais humanas. Os resultados da revisão narrativa destacaram três principais

alternativas antimicrobianas promissoras: (1) terapia fágica; (2) peptídeos antimicrobianos e (3) compostos organometálicos. Cada abordagem apresenta vantagens e desafios, demonstrando potencial no desenvolvimento de terapêuticas para microrganismos resistentes. Os resultados da revisão sistemática identificaram 587 artigos, dos quais 114 estudos atenderam aos critérios e foram analisados. As alternativas investigadas foram classificadas e as principais classes foram os peptídeos antimicrobianos e derivados; e compostos sintéticos e químicos antimicrobianos. Os modelos *in vivo* incluíram infecções cutâneas, sistêmicas, biofilmes e implantes infectados, utilizando organismos como roedores, invertebrados e suínos, abrangendo diferentes sistemas biológicos para avaliar a eficácia antimicrobiana. No artigo de pesquisa, três compostos de 3,4-di-hidropirimidin-2(1H)-imina (**5a**, **5b** e **5c**) foram sintetizados e demonstraram atividade antibacteriana contra *S. aureus* e MRSA. Os compostos também apresentaram efeito antibiofilme *in vitro* e *ex vivo*, regulação negativa de genes associados a biofilme e a virulência, sugerindo mecanismo de ação multifatorial. Os ensaios da membrana demonstraram efeito tempo e concentração dependente, indicando esse mecanismo como complementar. Além disso, **5a** e **5c** potencializaram a ação da oxacilina. Os compostos foram estáveis em condições adversas, apresentaram baixa indução de resistência e não mostraram toxicidade ou efeitos mutagênicos. Conclui-se que a resistência antimicrobiana exige o desenvolvimento de terapêuticas inovadoras e a revisão narrativa destacou a terapia fágica, peptídeos e compostos organometálicos como estratégias promissoras. A revisão sistemática reforçou esse panorama, com ênfase em MRSA e estudos *in vivo*, incluindo também nanotecnologia e terapias baseadas em luz. As abordagens exploradas apresentam potencial mas a biodisponibilidade e regulamentação são desafios associados. Ainda, os compostos com ligantes de guanidina demonstraram-se promissores para o desenvolvimento de novos fármacos para MRSA, com atividade antibacteriana e biocompatibilidade.

Palavras-chave: Resistência antimicrobiana; Guanidina; Atividade biológica; CA-MRSA; HA-MRSA; Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: challenges, therapeutic strategies and evaluation of new antibacterial compounds

ABSTRACT

Antimicrobial resistance has become a global health issue, affecting thousands of individuals. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is among the most urgent threats, with high prevalence and limited number of drugs available for treatment. Moreover, the development of new antimicrobials faces significant challenges, including economic, regulatory, and scientific barriers. Thus, it is essential to explore available strategies, identify promising alternatives, and investigate new compounds with potential for treating resistant infections. The aim of this work was to investigate the challenges and alternatives in combating resistance through a narrative literature review, systematically review therapeutic alternatives with in vivo studies in development for MRSA, and to evaluate the antibacterial activity and biocompatibility of compounds with guanidine ligand. For the narrative review, a bibliographic search was conducted in the Science Direct, PubMed, and Scopus databases to address studies on strategies for combating antimicrobial resistance and explore promising alternatives. Articles were selected based on relevance criteria. The systematic review was conducted following PRISMA guidelines, and the search was performed in the Science Direct, PubMed, Web of Science, Scopus, and Embase databases. Keywords related to antimicrobial alternatives against MRSA and in vivo studies were defined, focusing on studies published between 2010 and June 2024. For the research article, compounds were synthesized by functionalizing the bioactive fragment 3,5-diarylidene-4-piperidone with the guanidine group. Antibacterial activity was determined by broth microdilution, *in vitro* antibiofilm effects were characterized, and *ex vivo* antibiofilm potential was evaluated in a porcine skin model. Gene expression analysis by RT-qPCR and membrane assays were performed to evaluate the mechanism of action. The analysis of the adjuvant potential was conducted using a checkerboard assay with the standard drug, stability under adverse conditions, and resistance induction were evaluated in a multistep study. Biocompatibility was verified by the Ames test, hemolysis assay with human erythrocytes, and cytotoxicity in human renal and epithelial cells. The results of the narrative review highlighted three main promising antimicrobial alternatives: (1) phage therapy, (2) antimicrobial peptides, and (3) organometallic compounds. Each approach

presents advantages and challenges, showing potential for developing therapeutics for resistant microorganisms. The results of the systematic review identified 587 articles, of which 114 studies met the criteria and were analyzed. The investigated alternatives were classified and the main classes included antimicrobial peptides and derivatives; and synthetic and chemical antimicrobial compounds. *In vivo* models included skin infections, systemic infections, biofilms and infected implants, with organisms such as murine, invertebrates, and pigs, covering different biological systems to assess antimicrobial efficacy. In the research article, three 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-imine compounds (**5a**, **5b**, and **5c**) were synthesized and showed antibacterial activity against *S. aureus* and MRSA. The compounds also exhibited *in vitro* and *ex vivo* antibiofilm effects, negative regulation of genes associated with biofilm and virulence, suggesting a multifactorial mechanism of action. Membrane assays demonstrated time- and concentration-dependent effects, indicating this mechanism as complementary. Furthermore, **5a** and **5c** enhanced the action of oxacillin. The compounds were stable under adverse conditions, exhibited low resistance induction, and showed no toxicity or mutagenic effects. It is concluded that antimicrobial resistance requires the development of innovative therapeutics, and the narrative review highlighted phage therapy, peptides, and organometallic compounds as promising strategies. The systematic review reinforced this perspective, emphasizing MRSA and *in vivo* studies, also including nanotechnology and light-based therapies. The explored approaches show potential, but bioavailability and regulation are associated challenges. Furthermore, guanidine ligand compounds proved promising for the development of new drugs for MRSA, with antibacterial activity and biocompatibility.

Keywords: Antimicrobial resistance; Guanidine; Biological activity; CA-MRSA; HA-MRSA; Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	19
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1 <i>Staphylococcus aureus</i> e penicilina.....	21
2.2 <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina (MRSA).....	22
2.2.1 MRSA associado ao hospital (HA-MRSA), a comunidade (CA-MRSA) e a pecuária (LA-MRSA).....	25
3 Alternativas antimicrobianas.....	27
3.1 Compostos com ligantes de guanidina.....	27
4 OBJETIVOS.....	31
4.1 Objetivo geral.....	31
4.2 Objetivos específicos.....	31
5 REFERÊNCIAS.....	32
6 APÊNDICES.....	39
6.1 Artigo I: Desafios e Alternativas Promissoras na Luta Contra a Resistência antimicrobiana	40
6.2 Manuscrito II: Alternativas antimicrobianas em desenvolvimento contra <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina com estudos <i>in vivo</i> : uma revisão sistemática.....	50
6.3 Manuscrito III: Novel guanidine-functionalized 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-imine compounds: potential antibacterial agents targeting MRSA and insights into mechanisms of action and biocompatibility.....	126
7 CONCLUSÕES.....	165
8 ANEXOS.....	167

1 INTRODUÇÃO

Responsável por milhares de mortes anualmente e com aumento progressivo, a resistência antimicrobiana compõe os mais graves problemas de saúde mundial. De acordo com dados publicados na revista *The Lancet*, infecções por microrganismos resistentes, no ano de 2021, causou de forma direta e indireta, 1,14 e 4,71 milhões de mortes, respectivamente (NAGHAVI et al., 2024). Embora medidas relacionadas ao controle e prevenção são implementadas e difundidas, o relatório da Organização Mundial da Saúde sinalizou que infecções bacterianas com resistência aos antibióticos, aumentaram, com base em informações de 87 países (WHO, 2022).

Staphylococcus aureus, bactéria Gram-positiva residente natural da microbiota humana, adquiriu resistência ao antibiótico meticilina e, denominada MRSA (do inglês “methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*”) é um patógeno importante relacionado a infecções resistentes. Sua resistência está associada ao gene *mecA* que codifica uma proteína adicional de ligação de penicilina, PBP2a, que tem baixa afinidade aos betalactâmicos (HARTMAN; TOMASZ, 1984). Tornou-se uma ameaça ao sistema de saúde (HA-MRSA) e aos ambientes comunitários (CA-MRSA) e de forma mais recente, tem sido relatada em reservatórios animais associados a pecuária (LA-MRSA).

Infecções por MRSA podem manifestar-se de formas mais brandas como acnes e feridas, até mais severas como pneumonia, endocardite, osteomielite e septicemia (ALGAMMAL et al., 2020; SILVA et al., 2023). A terapêutica atual para MRSA inclui os glicopeptídeos vancomicina e daptomicina como tratamentos padrão, entretanto, já foram relatadas reduções na suscetibilidade a esses fármacos, indicando limitações no seu uso (HASAN et al., 2016; KANESAKA et al., 2024). Dessa forma, MRSA é considerada alta prioridade na lista global de bactérias resistentes que requerem pesquisa e produção de novos e eficazes tratamentos (WHO, 2017).

O crescente desafio imposto pela resistência antimicrobiana e a limitação da terapêutica disponível, exige a busca por novas alternativas para o tratamento de infecções resistentes. De acordo com a literatura, estratégias inovadoras têm apresentado resultados promissores, como a terapia de fagos, peptídeos antimicrobianos e compostos organometálicos, que demonstraram atividade frente microrganismos multirresistentes (BAI et al., 2024; VACEK et al., 2024; YU et al., 2025). Em adição, terapias tecnológicas, como a nanotecnologia e terapias baseadas em

luz; tradicionais, como plantas medicinais; e modernas, como compostos químicos estão sendo exploradas, buscando outras perspectivas para o tratamento de infecções causadas por MRSA. Estudos *in vivo* evidenciam sua eficácia nos estudos pré-clínicos, demonstrando resultados mais robustos, o que amplia as perspectivas para o desenvolvimento de novos fármacos (SU et al., 2024; TANG et al., 2024; WENG et al., 2024).

Considerando as alternativas, os compostos sintéticos apresentam como vantagem na projeção de novos antimicrobianos, a primazia de sua síntese, que permite adição de ligantes que potencializam a atividade biológica e adequam a biocompatibilidade. À vista disso, o grupo funcional guanidina, compostos orgânicos ricos em nitrogênio, tem sido frequentemente associado a uma gama de propriedades biológicas, como atividade anti-inflamatória, antioxidante, antitumoral, antiprotozoária, antidiabética, antifúngica e antibacteriana (LI et al., 2022; RASLAN et al., 2022; GOMES et al., 2023; SIDDIQUI et al., 2023; ZUBAIR et al., 2023).

Estudos indicam que o potencial antibacteriano relacionado aos compostos contendo guanidina, está atribuído a carga positiva que essas moléculas adquirem em pH fisiológico, o que proporciona sua interação com os alvos bacterianos como membrana, parede celular, proteínas, DNA e RNA (BROXTON et al., 1984; MUJAFARKANI et al., 2024). Ainda, de acordo com Kuppusamy et al. (2018) e Bromberg et al. (2024) compostos contendo ligantes de guanidina não apresentam toxicidade frente células humanas em estudos *in vitro*, evidenciando sua compatibilidade favorável.

Portanto, considerando a crise da resistência antimicrobiana, especialmente as infecções causadas por MRSA, e o potencial terapêutico dos compostos sintéticos, este trabalho teve como objetivo analisar estratégias emergentes contra a resistência antimicrobiana por meio de uma revisão narrativa, investigar as alternativas antibacterianas em desenvolvimento frente infecções por MRSA com estudos *in vivo* através de uma revisão sistemática e sintetizar e avaliar novos compostos com ligantes de guanidina quanto à sua atividade antibacteriana e biocompatibilidade.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 *Staphylococcus aureus* e penicilina

Staphylococcus aureus é uma bactéria Gram-positiva de morfologia esférica (Figura 1), que naturalmente pertence a microbiota corpo, colonizando pele e mucosas. Entretanto, em situações de imunodeficiência, *S. aureus* pode tornar-se um patógeno oportunista e causar desde infecções mais leves como foliculite e o impetigo, até mais graves, como bacteremia, endocardite, osteomielite, pneumonia, entre outras (BAI et al., 2022; GILLET et al., 2023). Além disso, essa bactéria é frequentemente associada a surtos de intoxicação alimentar com produção de enteroxinas (UMEDA et al., 2021; ZHAO et al., 2023). Os fatores de virulência que podem ser produzidos por *S. aureus* como oxinas citolíticas, hemolisinas, exoenzimas e superantígenos (LIU et al., 2015) contribuem para a intensidade das infecções.

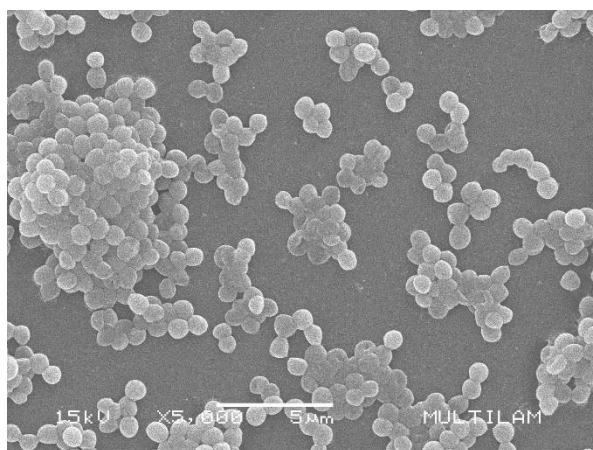


Figura 1. Microfotografia da bactéria *S. aureus* obtida por microscopia eletrônica de varredura. A imagem revela a estrutura morfológica da bactéria Gram-positiva como a forma esférica e a disposição que das células em individuais ou aglomerados. Fonte: A autora (2023).

Nos anos que antecederam o surgimento dos antibióticos, pacientes com bacteremia acometidos por *S. aureus* tinham índices de mortalidade superiores a 80%. Com a introdução da penicilina G em 1940, essa taxa reduziu drasticamente (SKINNER; KEEFER, 1941). A penicilina G é um antibiótico betalactâmico, composta pelo núcleo ácido 6-aminopenicilânico “6-APA” (anel tiazolidínico e anel betalactâmico) e uma cadeia lateral (Figura 2A). Atua na síntese da parede celular bacteriana, ligando-se as PBP’s (proteínas de ligação de penicilina) e

bloqueando a reação de transpeptidação e formação das ligações cruzadas do peptidoglicano. Assim, a rigidez da parede celular é perturbada, culminando na lise celular (LIMA et al., 2020).

Poucos anos após a introdução da penicilina G na clínica, cepas de *S. aureus* resistentes já foram relatadas. A resistência a esse antibiótico ocorre devido a produção da enzima betalactamase que hidrolisa o anel betalactâmico, desativando-o antes da ligação as PBP's e inativando a droga (DIXIT et al., 2019). Outro fator relevante, é que a betalactamase é codificada pelo gene *blaZ* contida em um plasmídeo ou transposon, elementos genéticos transferíveis entre microrganismos. Genes de resistência móvel adquiridos através da transferência horizontal de genes, estão entre os principais contribuintes para resistência antimicrobiana (EBMEYER et al., 2021). Nos dias atuais, 90% das cepas de *S. aureus* isolados de seres humanos são resistentes à penicilina (RAO et al., 2022).

2.2 *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA)

Com o surgimento de *S. aureus* resistente à penicilina, pesquisadores trabalharam para desenvolver derivados que não sofressem ação da enzima hidrolítica. Verificaram que a mudança de alguns ligantes poderiam conferir outras propriedades farmacológicas e físico-químicas aos antibióticos betalactâmicos. Assim, em 1959 é desenvolvido a meticilina, uma penicilina semissintética estável contra as betalactamases devido a presença dos grupos metoxi (-OCH₃) (Figura 2B) em sua composição causando o impedimento estérico da enzima (KNOX, 1960).

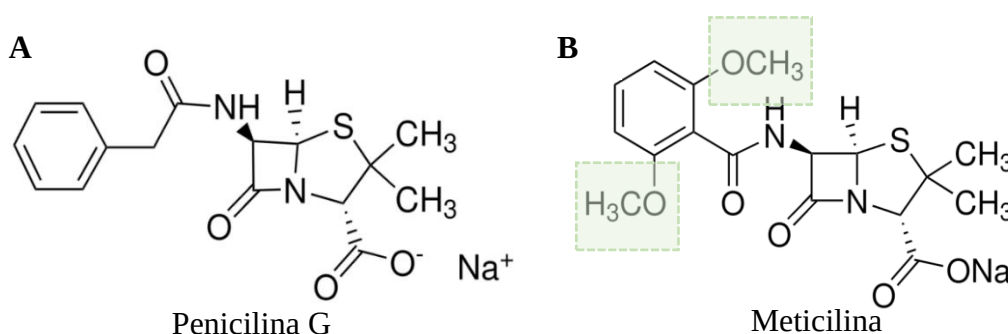


Figura 2. Estrutura química dos antibióticos betalactâmicos, destacando anéis e grupos funcionais característicos (A) penicilina G, apresentando um anel betalactâmico ligado a um anel tiazolidina e (B) meticilina. derivada da penicilina, possui um grupo metil substituindo o grupo fenoximetil da estrutura da penicilina. Fonte: A autora (2023).

No entanto, no ano seguinte, um paciente no Reino Unido foi diagnosticado com osteomielite causada por uma cepa clínica de *S. aureus* resistente à metilicina (JEVONS, 1961). Esta variante resistente foi nomeada “MRSA” do inglês “methillicin-resistant *Staphylococcus aureus*”. A metilicina não é mais produzida e utilizada comercialmente devido a sua toxicidade e foi substituída por penicilinas similares e mais seguras, entretanto, o termo persistiu e as cepas de *S. aureus* com resistência aos antibióticos betalactâmicos mais utilizados, como por exemplo a oxacilina, são referidas como MRSA (ALGHAMDI et al., 2023).

A resistência de MRSA está associada principalmente ao gene *mecA* que codifica para PBP2a. Uma proteína adicional de ligação de penicilina que tem seu sítio de ligação ativo modificado apresentando baixa afinidade pelos betalactâmicos (Figura 3). Assim, a atividade de transpeptidação é mantida mesmo na presença de concentrações que normalmente seriam letais destes antibióticos para as células (HARTMAN; TOMASZ, 1984). O gene *mecA* está localizado no elemento genético móvel denominado cassette cromossômico estafilocócico “SCC_{mec}”.

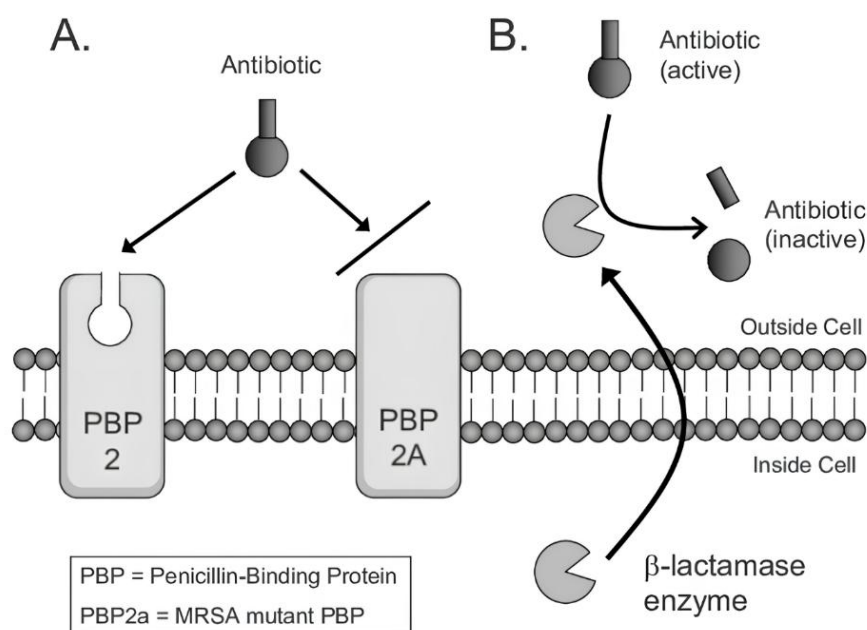


Figura 3. Principais mecanismos de resistência das bactérias MRSA aos antibióticos: **(A)** Expressão da forma alternativa da proteína de ligação a penicilina, a PBP2a, com afinidade reduzida para os antibióticos e **(B)** Produção e liberação da enzima betalactamase que cliva e inativa moléculas de antibiótico. Fonte: Murphy; Walshe, (2011).

SCC*mec* são classificados, até o momento, em tipo I a XIV com base na natureza dos complexos dos genes *mec* e *ccr* e em subtipos de acordo com seus segmentos de DNA da região J (LEE et al., 2025). Além disso, outros elementos genéticos já foram relatados como adquiridos por MRSA, como por exemplo: *blaZ* (resistência a ampicilina), *dfrA* e *dfrK* (resistência a trimetoprim), *ermC* (resistência a eritromicina), *tetK* e *tetL* (resistência a tetraciclina) (MALACHOWA; DELEO, 2010).

Depois da primeira notificação no Reino Unido, infecções por MRSA foram cada vez mais relatadas em todo o mundo (BULGER, 1967; BARRET et al., 1968) tornando-se responsável por doenças em humanos e animais com altas taxas de mortalidade. No ano de 2017, a OMS publicou uma lista de patógenos prioritários com a finalidade de orientar e promover o desenvolvimento de medicamentos para enfrentar a resistência global aos antimicrobianos. Nessa lista, MRSA encontra-se em prioridade alta (WHO, 2017).

De acordo com Andrade et al. (2020), no Brasil, os primeiros isolados foram relatados no ano de 1987 e nos anos seguintes diferentes perfis genéticos manifestaram-se clinicamente com multirresistência e alta virulência. Naghavi et al. (2024) destacam que MRSA foi o principal contribuinte para o crescimento de números de mortes relacionadas à resistência antimicrobiana no período de 1990 a 2021. Ainda, o estudo publicado no *The Lancet Regional Health* sobre a resistência antimicrobiana na região das Américas da OMS destacou MRSA e *Escherichia coli* como os dois principais agentes patogênicos da resistência antimicrobiana a nível mundial e que representaram aproximadamente 40% da carga de resistência nos continentes (AGUILAR et al., 2023).

Cepas de MRSA pode colonizar glândulas mamárias, membranas mucosas e serosas, pele, tecido mole e órgãos dos homens e animais, causando doenças como acne e ferida, intoxicação alimentar, infecção do trato urinário, pneumonia, endocardite, osteomielite, otite, mastite e septicemia (ALGAMMAL et al., 2020; UCHIDA-FUJII et al., 2022; SILVA et al., 2023). Inicialmente infecções por MRSA eram associadas ao hospital (HA-MRSA), depois, começaram a propagar-se também na comunidade (CA-MRSA) e por último na pecuária (LA-MRSA) representando uma carga global de saúde.

Considerando a diversidade de espécies hospedeiras e a patogenicidade, MRSA demanda a abordagem conhecida como “Saúde única” (*One health*). Essa prática que reconhece a interligação entre a saúde dos seres humanos, animais e ecossistemas, envolve a aplicação de

ações coordenadas, colaborativas, multidisciplinares e intersetoriais (DESPOTOVIC et al., 2023; JIN et al., 2023).

2.2.1 MRSA associado ao hospital (HA-MRSA), a comunidade (CA-MRSA) e a pecuária (LA-MRSA)

O fato dos primeiros relatos de infecção por MRSA na década de 1960 e até meados dos anos de 1980, estarem relacionados com pacientes hospitalizados, associou esse patógeno a infecções nosocomiais, denominando-o HA-MRSA (LEE et al., 2018). Caracterizado por acometer principalmente idosos e pacientes imunocomprometidos submetidos a hospitalização prolongada, hemodiálises, uso contínuo de antimicrobianos e/ou dispositivos intravasculares e manifestando-se de forma clínica mais invasiva (BAI et al., 2022; SILVA et al., 2022).

Contudo, infecções por MRSA começaram a ser reportadas em indivíduos sem fatores de risco predisponentes, sugerindo que foram adquiridas na comunidade. Denominadas CA-MRSA, essas infecções afetam principalmente bebês, crianças e jovens saudáveis, atletas e pessoas institucionalizadas. A transmissão é dependente dos determinantes sociais da saúde, mas o contato físico, compartilhamento de itens contaminados e falta de saneamento são considerados. A forma clínica de CA-MRSA está associada principalmente infecções de pele e tecido mole e são relatadas com alta taxa de transmissão e virulência (COSTA et al., 2022).

No início, especulava-se sobre CA-MRSA ser uma cepa nosocomial que foi transmitida do hospital para a comunidade, entretanto, com o avanço das técnicas moleculares, diferenças na estrutura genética, resistência aos antibióticos e fatores de risco foram observadas. Cepas de HA-MRSA carregam *SCCmec* tipo I, II e III que são maiores e conferem maior resistência aos antibióticos não betalactâmicos (multirresistentes). Já CA-MRSA carregaram *SCCmec* tipo IV e V que são menores e mais susceptíveis (ROMERO et al., 2021). Além disso, os genes da leucotoxina *Panton-Valentine Leukocidin* (PVL) que causa destruição dos leucócitos e necrose tecidual são marcadores biológicos para CA-MRSA e foi associado ao êxito na disseminação e patogenicidade na comunidade (SHOAIB et al., 2023)

Uma vez que HA-MRSA é conhecido como infecções adquiridas no hospital e CA-MRSA da comunidade, o local de aquisição da infecção era um fator de risco distinto. Entretanto, cada vez mais, pesquisas apresentam (BARCUDI et al., 2020; THIEDE et al., 2022) que as diferenças genótípicas por local de aquisição começaram a homogeneizar-se

demonstrando que HA-MRSA e CA-MRSA podem invadir um o espaço do outro e tornando esse critério questionável.

Em 2004, uma bebê apresentou colonização por MRSA em sua triagem pré-operatória. Nos meses seguintes, as tentativas de descolonização foram malsucedidas e os pais da criança também apresentaram colonização pela bactéria. Essa família vivia em uma fazenda e criava porcos e a particularidade desse caso chamou atenção dos pesquisadores. Assim, estudos foram conduzidos e demonstraram a capacidade de transmissão de MRSA entre os suínos e os seres humanos, sugerindo que a suinocultura representava um fator de risco para o transporte de MRSA (VOSS et al., 2005).

Essas cepas, que foram nomeadas LA-MRSA têm como principal reservatório os suínos, mas já foram evidenciadas em outros animais da pecuária (aves, equinos e bovinos) e em animais domésticos (cães e gatos) e está disseminada em todo mundo (KASELA et al., 2023). De uma forma geral, os animais colonizados são predominantemente assintomáticos mas podem, em determinadas condições, apresentar infecções. Um exemplo é a mastite bovina em vacas leiteiras, doença caracterizada por processo inflamatório e físico que além de lesionar a saúde do animal, apresenta prejuízos econômicos pois afeta a produção de leite (CHEN et al., 2021).

O fato de animais que estão em contato frequente com pessoas através do ambiente de trabalho ou doméstico, reservar e transportar essas cepas, apresentam um grande taxa de risco ocupacional. Os animais colonizados são vetores de transmissão de LA-MRSA para os seres humanos, que por sua vez transmitem a outros animais ou seres humanos, estabelecendo um ciclo de contaminação (CRESPO-PIAZUELO; LAWLOR, 2021). Ainda, cepas de LA-MRSA também foram isoladas em carne de animais para consumo humano como codorna, peru, porco e frango (BERNIER-LACHANCE et al., 2020; SILVA et al., 2021; TEGEGNE et al., 2021).

Embora o significado clínico de LA-MRSA na colonização e infecção de humanos esteja vago, essas cepas, mesmo em proporções mínimas comparadas a HA e CA-MRSA, já foram relatadas a infecções associada ao homem (VAN ALEN et al., 2017; STONE et al., 2022). Assim, monitoramento e medidas de controle para prevenir a transmissão devem ser empregadas considerando a interação com o hospedeiro e o conhecimento de que essa espécie tem capacidade de adaptação genética para expressar virulência, resistência e portanto, consolidar-se como patógeno em humanos.

3 Alternativas antimicrobianas

Antes da introdução dos antimicrobianos na clínica, a maioria dos indivíduos acometidos por doenças causadas por patógenos microbianos, morriam. Com o desenvolvimento dos antimicrobianos no século XX, essas doenças tornaram-se curáveis, houve promoção da saúde e aumento na qualidade e expectativa de vida. As décadas de 1940 a 1970, denominada “Era de Ouro”, marcaram a medicina moderna com a descoberta das principais classes de antimicrobianos (KHARDORI et al., 2020; ISKANDAR et al., 2022). Entretanto, quase paralelamente a introdução dos medicamentos desenvolvidos na clínica, os microrganismos resistentes foram manifestando-se (ZEON; KIBE, 2023).

Ainda, o desenvolvimento dos antimicrobianos pós a Era Ouro foi escasso e os novos medicamentos introduzidos são, na maioria, modificações químicas estruturais de medicamentos já conhecidos que não apresentam uma nova classe ou mecanismo de ação (CHAHINE et al., 2022). Com isso, a crise da resistência antimicrobiana foi tomando proporções até o cenário atual em que representa um dos maiores problemas de saúde pública (ZEON; KIBE, 2023). À medida que tais medicamentos essenciais tornam-se ineficazes e a descoberta de novos antimicrobianos estagnada, a exploração de terapias alternativas apresenta-se como necessária e promissora.

3.1 Compostos com ligantes de guanidina

Em meados do século XX, o Alemão Paul Ehrlich juntamente com químicos contribuintes, evidenciou que medicamentos podiam ser desenvolvidos e, melhorados, a partir de modificações de um composto já existente. Na época, a sífilis acometia milhares de civis e os tratamentos utilizados incluíam derivados de mercúrio e arsênio que apresentavam toxicidade, efeitos colaterais e baixa eficiência (Swain, 2018). Assim, Paul e os cientistas iniciaram a síntese de um derivado terapêutico menos tóxico e com melhores atividade a partir do Atoxyl (remédio arsênico orgânico da época) e, tempo depois, a droga nomeada “Salvarsan” era o medicamento mais prescrito em todo mundo (ONG; GASSER, 2020).

O princípio de que os medicamentos podem ser produzidos por um processo de síntese primorosa de compostos químicos, potencializando sua atividade biológica e diminuindo seus efeitos colaterais tornaram-se base para o desenvolvimento dos fármacos. Além disso, a adição de grupos funcionais aos compostos podem agregar propriedades biológicas desejáveis. Neste

contexto, compostos orgânicos com ligantes de guanidina têm sido amplamente investigados pois já foram associados a diversas aplicações na química farmacêutica (KIM et al., 2021).

Guanidinas são compostos orgânicos ricos em nitrogênio (Figura 4) que podem ser obtidos de forma sintética mas também são encontrados de forma natural, tanto em plantas e animais, quanto em moléculas biológicas importantes como aminoácidos, bases purinas de DNA e RNA e alcaloides naturais (GOMES et al., 2023). Devido seu caráter fortemente básico ($pK_a \sim 12-13$), as guanidinas permanecem predominantemente protonadas em pH fisiológico (7.4), favorecendo interações eletrostáticas com biomoléculas carregadas negativamente, como proteínas e ácidos nucleicos (AKINJOLE et al., 2023). Essa capacidade de interação, através de ligações de hidrogênio, emparelhamento de carga e interações cátion- π , atribuem as moléculas contendo guanidinas ampla atividade biológica, como: anti-inflamatória, antioxidante, antitumoral, antiprotozoária, antiviral, antidiabética, antimicrobiana (LI et al., 2022; RASLAN et al., 2022, SIDDIQUI et al., 2023; ZUBAIR et al., 2023; GOMES et al., 2023).

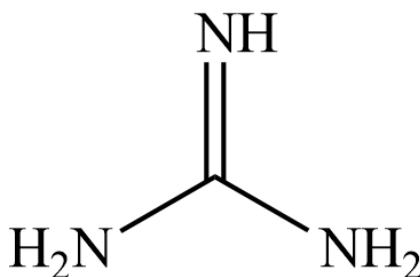


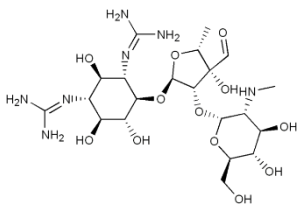
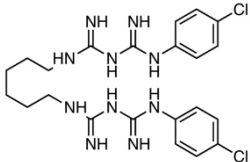
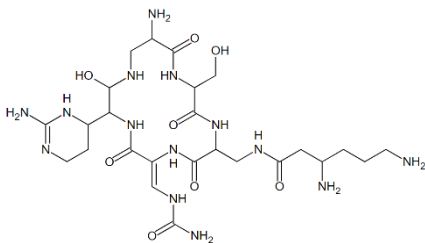
Figura 4. Fórmula estrutural da guanidina, um composto orgânico que possui como átomo central o carbono, ligado a dois grupos amino (NH_2) e um grupo guanídinio ($=NH$). Fonte: A autora (2023).

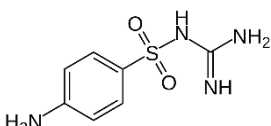
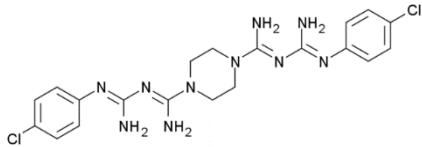
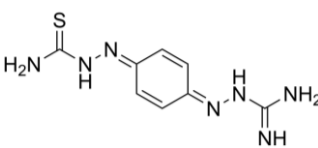
No que tange a atividade antimicrobiana dos compostos contendo guanidina, a carga positiva adquirida, favorece sua ligação a alvos bacterianos ou leva à ruptura das membranas celulares e da parede celular através da interação eletrostática com os envelopes celulares bacterianos (BROXTON et al., 1984; MUJAFARKANI et al., 2024). Além disso, após a protonação, o grupo de guanidina adquire alta estabilidade pela chamada aromaticidade Y, garantindo sua persistência na forma catiônica (YAMADA et al., 2009).

Quanto a biocompatibilidade, que poderia ser um impasse em relação a compostos visando aplicações antimicrobianas, estudos demonstraram que os compostos com ligantes de guanidina não apresentam toxicidade em fibroblastos pulmonares humanos normais e células epiteliais cervicais (BROMBERG et al., 2024; KUPPUSAMY et al., 2018). Atualmente, fármacos contendo guanidina para o tratamento de câncer, infecções fúngicas, protozoárias e de vírus estão disponíveis para uso clínico. Enquanto os medicamentos antibacterianos (Tabela 1) incluem a estreptomicina, clorexidina, capreomicina, sulfaguanidina, picloxidina e ambazone são utilizados em infecções bacterianas relacionadas ao trato gastrointestinal, oftalmológica, oral, bexiga, tuberculose, entre outras (GOMES et al., 2023).

Assim, é de conhecimento que compostos com guanidina são moléculas biológicas promissoras e versáteis. Os estudos que já foram conduzidos com esses compostos demonstram seu potencial e encorajam que mais pesquisas devem ser realizadas, principalmente visando o desenvolvimento de novas terapêuticas para o tratamento de infecções resistentes.

Tabela 1. Nome, estrutura e doença relacionada dos fármacos disponíveis no mercado contendo guanidina para o tratamento de infecções bacterianas

Nome/ Nome comercial	Estrutura	Doença
Estreptomicina		Diversas infecções bacterianas
Clorexidina (Betasept)		Desinfecção de pele, prevenção de placa dentária, impedimento do bloqueio de cateteres urinários
Capreomicina (Capastat)		Tuberculose

Sulfaguanidina		Infecções gastrointestinais, principalmente desintéria bacilar
Picloxidina (Vitabact)		Antisséptico utilizado em colírios
Ambazone (Iversal)		Antisséptico oral

Fonte: Adaptado de Gomes et al. (2023).

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Investigar os desafios e as alternativas no combate à resistência antimicrobiana, com ênfase em *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, por meio de uma revisão da literatura, uma revisão sistemática de alternativas antimicrobianas em desenvolvimento para MRSA com estudos *in vivo* e da síntese e avaliação de novos compostos antibacterianos com ligantes de guanidina.

4.2 Objetivos específicos

- Revisar os desafios da resistência antimicrobiana, analisando os principais obstáculos no desenvolvimento de novos antimicrobianos;
- Apresentar e discutir alternativas promissoras no combate à resistência antimicrobiana;
- Revisar sistematicamente as alternativas antimicrobianas em desenvolvimento contra MRSA avaliadas em estudos *in vivo*;
- Identificar e analisar os desafios e perspectivas dessas alternativas;
- Avaliar o potencial antimicrobiano dos compostos contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo cepas resistentes de *S. aureus* (CA-MRSA e HA-MRSA);
- Avaliar o potencial *in vitro* dos compostos em inibir e destruir e *ex vivo* em inibir os biofilmes de *S. aureus*, CA-MRSA e HA-MRSA e caracterizá-los;
- Avaliar os compostos quanto ao mecanismo de ação, potencial adjuvante com o antibiótico oxacilina, estabilidade em condições adversas e capacidade de induzir resistência;
- Avaliar a biocompatibilidade, determinando o potencial mutagênico, hemolítico e citotóxico dos compostos.

5 REFERÊNCIAS

- AGUILAR, G. R. et al. The burden of antimicrobial resistance in the Americas in 2019: a cross-country systematic analysis. **The Lancet Regional Health–Americas**, v. 25, 2023.
- AKINJOLE, O. et al. Novel Meta-iodobenzylguanidine and Etoposide Complex: Physicochemical Characterization and Mathematical Modeling of Anticancer Activity. **AAPS PharmSciTech**, v. 24, n. 7, p. 174, 2023.
- ALGAMMAL, A. M. et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): one health perspective approach to the bacterium epidemiology, virulence factors, antibiotic-resistance, and zoonotic impact. **Infection and Drug Resistance**, p. 3255-3265, 2020.
- ALGHAMDI, B. A. et al. Antimicrobial resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Saudi journal of biological sciences**, v. 30, n. 4, p. 103604, 2023.
- ANDRADE, M. M. et al. The history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Brazil. **Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology**, v. 2020, 2020.
- BAI, A. D. et al. *Staphylococcus aureus* bacteraemia mortality: a systematic review and meta-analysis. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 28, n. 8, p. 1076-1084, 2022.
- BAI, Y. et al. A 14-amino acid cationic peptide Bolespleenin334-347 from the marine fish mudskipper *Boleophthalmus pectinirostris* exhibiting potent antimicrobial activity and therapeutic potential. **Biochemical Pharmacology**, p. 116344, 2024.
- BARCUDI, D. et al. MRSA dynamic circulation between the community and the hospital setting: New insights from a cohort study. **Journal of Infection**, v. 80, n. 1, p. 24-37, 2020.
- BARRETT, F. F.; MCGEHEE JR, R. F.; FINLAND, M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at Boston City Hospital: bacteriologic and epidemiologic observations. **New England Journal of Medicine**, v. 279, n. 9, p. 441-448, 1968.
- BERNIER-LACHANCE, J. et al. Prevalence and characteristics of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) isolated from chicken meat in the province of Quebec, Canada. **PLoS One**, v. 15, n. 1, p. e0227183, 2020.
- BROMBERG, L. et al. Multifunctional polymeric guanidine and hydantoin halamines with broad biocidal activity. **International Journal of Pharmaceutics**, p. 123779, 2024.

BROXTON, P. et al. Interaction of some polyhexamethylene biguanides and membrane phospholipids in *Escherichia coli*. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 57, n. 1, p. 115-124, 1984.

BULGER, R. J. A methicillin-resistant strain of *Staphylococcus aureus*: clinical and laboratory experience. **Annals of internal medicine**, v. 67, n. 1, p. 81-89, 1967.

CHAHINE, E. B. et al. Antibiotic approvals in the last decade: are we keeping up with resistance?. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 56, n. 4, p. 441-462, 2022.

CHEN, C. et al. Characterisation of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis in Ningxia, Western China. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 25, p. 232-237, 2021.

COSTA, S. S. et al. *Staphylococcus aureus* causing skin and soft tissue infections in companion animals: Antimicrobial resistance profiles and clonal lineages. **Antibiotics**, v. 11, n. 5, p. 599, 2022.

CRESPO-PIAZUELO, D.; LAWLOR, P. G. Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) prevalence in humans in close contact with animals and measures to reduce on-farm colonisation. **Irish Veterinary Journal**, v. 74, p. 1-12, 2021.

DESPOTOVIC, M. et al. Reservoirs of antimicrobial resistance in the context of One Health. **Current Opinion in Microbiology**, v. 73, p. 102291, 2023.

DIXIT, A. et al. Antimicrobial resistance: progress in the decade since emergence of New Delhi metallo- β -lactamase in India. **Indian journal of community medicine: official publication of Indian Association of Preventive & Social Medicine**, v. 44, n. 1, p. 4, 2019.

EBMEYER, S.; KRISTIANSSON, E.; LARSSON, D. G. J. A framework for identifying the recent origins of mobile antibiotic resistance genes. **Communications biology**, v. 4, n. 1, p. 8, 2021.

GILLET, Y. et al. Antimicrobial treatment of skin and soft tissue infections. **Infectious Diseases Now**, v. 53, n. 8, p. 104787, 2023.

GOMES, A. R. et al. Synthetic and natural guanidine derivatives as antitumor and antimicrobial agents: A review. **Bioorganic Chemistry**, p. 106600, 2023.

HARTMAN, B. J.; TOMASZ, A. Low-affinity penicillin-binding protein associated with beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. **Journal of bacteriology**, v. 158, n. 2, p. 513-516, 1984.

HASAN, R.; ACHARJEE, M.; NOOR, R. Prevalence of vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) in methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) strains isolated from burn wound infections. **Tzu Chi Medical Journal**, v. 28, n. 2, p. 49-53, 2016.

ISKANDAR, K. et al. Antibiotic discovery and resistance: the chase and the race. **Antibiotics**, v. 11, n. 2, p. 182, 2022.

JEVONS, M. P. "Celbenin"-resistant staphylococci. **British medical journal**, v. 1, n. 5219, p. 124, 1961.

JIN, M. et al. Evidence for the transmission of antimicrobial resistant bacteria between humans and companion animals: A scoping review. **One Health**, p. 100593, 2023.

KANESAKA, I. et al. Population Analysis of Daptomycin-non-Susceptible Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Reveals the Presence of Variants That Contribute to Daptomycin Resistance. **Current Microbiology**, v. 81, n. 2, p. 61, 2024.

KASELA, M. et al. The Epidemiology of Animal-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Antibiotics**, v. 12, n. 6, p. 1079, 2023

KHARDORI, N.; STEVAUX, C.; RIPLEY, K. Antibiotics: From the beginning to the future: Part 1. **The Indian Journal of Pediatrics** , v. 39-42, 2020.

KIM, S.; SEMENYA, D.; CASTAGNOLO, D. Antimicrobial drugs bearing guanidine moieties: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 216, p. 113293, 2021.

KNOX, R. A new penicillin (BRL 1241) active against penicillin-resistant staphylococci. **British medical journal**, v. 2, n. 5200, p. 690, 1960.

KUPPUSAMY, R. et al. Design and synthesis of short amphiphilic cationic peptidomimetics based on biphenyl backbone as antibacterial agents. **European journal of medicinal chemistry**, v. 143, p. 1702-1722, 2018.

LEE, A. S. et al. *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina. **Nature revisa Disease primers**, v. 4, n. 1, p. 1-23, 2018.

LEE, Gi Yong et al. Novel Variants of SCC mec Type IX Identified in Clonal Complex 398 Livestock-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Pork Production Systems in Korea. **Antibiotics**, v. 14, n. 3, p. 217, 2025.

LI, J. et al. Novel indole-guanidine hybrids as potential anticancer agents: Design, synthesis and biological evaluation. **Chemico-Biological Interactions**, v. 368, p. 110242, 2022.

LIMA, L. M. et al. β -lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. **European journal of medicinal chemistry**, v. 208, p. 112829, 2020.

LIU, C. et al. Molecular characteristics and virulence factors in methicillin-susceptible, resistant, and heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* from central-southern China. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 48, n. 5, p. 490-496, 2015.

MALACHOWA, N.; DELEO, F. R. Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. **Cellular and molecular life sciences**, v. 67, p. 3057-3071, 2010.

MUJAFARKANI, N. et al. Antimicrobial activity of guanidine-based terpolymers: Synthesis, Spectroscopy (FT-IR, ^1H , and ^{13}C NMR), Quantum chemical investigation, and molecular docking. **Journal of Molecular Structure**, v. 1298, p. 137005, 2024.

MURPHY, J. T.; WALSHE, R. Modeling antibiotic resistance in bacterial colonies using agent-based approach. **Understanding the Dynamics of Biological Systems: Lessons Learned from Integrative Systems Biology**, p. 131-154, 2011.

NAGHAVI, M. et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. **The Lancet**, v. 404, n. 10459, p. 1199-1226, 2024.

ONG, Y. C.; GASSER, G. Organometallic compounds in drug discovery: Past, present and future. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 37, p. 117-124, 2020.

RAO, S. et al. Antimicrobial resistance and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* collected from livestock, poultry and humans. **One Health**, v. 15, p. 100407, 2022.

RASLAN, A. E. et al. Antifungal guanidine alkaloids from the marine sponges *Monanchora clathrata* and *Monanchora unguiculata*. **Phytochemistry Letters**, v. 51, p. 132-139, 2022.

ROMERO, L. C.; DE SOUZA, M. D. L. R. Insights into the epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in special populations and at the community-healthcare interface. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 25, n. 6, p. 101636, 2021

SHOAIB, M. et al. MRSA compendium of epidemiology, transmission, pathophysiology, treatment, and prevention within one health framework. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 1067284, 2023.

SIDDIQUI, M. A. et al. Design, Synthesis and bioevaluation of highly functionalized 1, 2, 3-triazole-guanidine conjugates as anti-inflammatory and antioxidant agents. **Polycyclic Aromatic Compounds**, v. 43, n. 6, p. 5567-5581, 2023.

SILVA, L. P. et al. Molecular Epidemiology of *Staphylococcus aureus* and MRSA in Bedridden Patients and Residents of Long-Term Care Facilities. **Antibiotics**, v. 11, n. 11, p. 1526, 2022.

SILVA, N. C. et al. Dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 ST8/PVL-positive in breast infections in a Brazilian region. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 106, n. 1, p. 115919, 2023.

SILVA, V. et al. Prevalence and characteristics of multidrug-resistant livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) CC398 isolated from quails (*Coturnix Coturnix Japonica*) slaughtered for human consumption. **Animals**, v. 11, n. 7, p. 2038, 2021.

SKINNER, D.; KEEFER, C. S. Significance of bacteremia caused by *Staphylococcus aureus*: a study of one hundred and twenty-two cases and a review of the literature concerned with experimental infection in animals. **Archives of internal medicine**, v. 68, n. 5, p. 851-875, 1941.

STONE, M. J. et al. An outbreak of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) clonal complex 398 in a regional burns centre. **Journal of Hospital Infection**, v. 122, p. 1-8, 2022.

SU, L. et al. Cascade encapsulation of antimicrobial peptides, exosomes and antibiotics in fibrin-gel for first-aid hemostasis and infected wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 269, p. 132140, 2024.

SWAIN, K. 'Extraordinarily arduous and fraught with danger': syphilis, Salvarsan, and general paresis of the insane. **The Lancet Psychiatry**, v. 5, n. 9, p. 702-703, 2018.

TANG, Z. et al. Discovery of novel Thymol-TPP antibiotics that eradicate MRSA persisters. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 270, p. 116381, 2024.

TEGEGNE, H. A. et al. Detection and molecular characterisation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat in the retail market. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 26, p. 233-238, 2021.

THIEDE, S. N. et al. Genomic epidemiology suggests community origins of healthcare-associated USA300 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 226, n. 1, p. 157-166, 2022.

UCHIDA-FUJII, E. et al. Outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* sequence type 1, spa type t1784, in an equine hospital in Japan. **Veterinary and Animal Science**, v. 17, p. 100259, 2022.

UMEDA, K. et al. High production of egc2-related staphylococcal enterotoxins caused a food poisoning outbreak. **International Journal of Food Microbiology**, v. 357, p. 109366, 2021.

VACEK, L. et al. Phage therapy combined with Gum Karaya injectable hydrogels for treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* deep wound infection in a porcine model. **International Journal of Pharmaceutics**, p. 124348, 2024.

VAN ALEN, S. et al. In the centre of an epidemic: Fifteen years of LA-MRSA CC398 at the University Hospital Münster. **Veterinary microbiology**, v. 200, p. 19-24, 2017.

VOSS, A. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. **Emerging infectious diseases**, v. 11, n. 12, p. 1965, 2005.

WENG, Z. et al. Antimicrobial activities of lavandulylated flavonoids in *Sophora flavences* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* via membrane disruption. **Journal of Advanced Research**, v. 57, p. 197-212, 2024.

World Health Organization. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report 2022. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240062702> . Acessado em 9 de janeiro de 2024.

World Health Organization.. WHO Publishes List of Bacteria for Which New Antibiotics are Urgently Needed; 2017 Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/en/> Acessado em 28 de novembro de 2023.

YAMADA, T. et al. Solid-state structure of free base guanidine achieved at last. **Chemistry–A European Journal**, v. 15, n. 23, p. 5651-5655, 2009.

YU, Z. et al. In³⁺-doped Bi/BiOCl/Bi (In³⁺)-MOF composite for accelerating photocatalytic elimination of antibiotic-resistant bacteria and genes under co-effect of nanoconfinement and reactive oxygen species. **Separation and Purification Technology**, v. 361, p. 131318, 2025.

ZEON, O.; KIBE, L. W. Antimicrobial Drug Resistance and Antimicrobial Resistant Threats. **Physician Assistant Clinics**, v. 8, n. 3, p. 411-420, 2023.

ZHAO, G. et al. Epidemiological and molecular evidence of foodborne poisoning outbreak caused by enterotoxin gene cluster-harboring *Staphylococcus aureus* of new sequence type 7591. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 135, p. 132-135, 2023.

ZUBAIR, S. et al. New ferrocene integrated amphiphilic guanidines: Synthesis, spectroscopic elucidation, DFT calculation and in vitro α -amylase and α -glucosidase inhibition combined with molecular docking approach. **Heliyon**, v. 9, n. 4, 2023.

6 APÊNDICES

6.1 Artigo 1. “Desafios e Alternativas Promissoras na Luta Contra a Resistência Antimicrobiana”. Publicado no periódico *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, Qualis B1.

Revista Eletrônica Acervo Saúde

Electronic Journal Collection Health ISSN 2178-2091

Desafios e alternativas promissoras na luta contra a resistência antimicrobiana

Challenges and promising alternatives in the fight against antimicrobial resistance

Desafíos y alternativas prometedoras en la lucha contra la resistencia antimicrobiana

Pamella Fukuda de Castilho¹, Rubia Fabiana Porsch¹, Diana Liz Jimenez Rolão¹, Fabiana Gomes da Silva Dantas¹, Kelly Mari Pires de Oliveira¹.

RESUMO

Objetivo: Abordar o desafio global em saúde pública e as alternativas que estão sendo desenvolvidas no combate a resistência antimicrobiana. **Revisão bibliográfica:** A crescente resistência antimicrobiana é um desafio global em saúde pública que está associada a um alto número de mortes anuais e ameaça superar o câncer como a principal causa de mortalidade até 2050. Ainda, o desenvolvimento de novos antimicrobianos enfrenta obstáculos significativos incluindo o alto custo, incerteza de mercado e falta de interesse da indústria farmacêutica. Buscando atenuar esse cenário, novas alternativas antimicrobianas estão sendo desenvolvidas e demonstram resultados promissores. A terapia fágica utiliza bacteriófagos para infectar bactérias, os peptídeos antimicrobianos são moléculas de aminoácidos com ação direta ou imunomoduladora, e os compostos organometálicos são redes de coordenação de metais e ligantes orgânicos com propriedades antimicrobianas. **Considerações finais:** Cada uma das alternativas descritas no apresenta vantagens e desafios, mas todas oferecem esperança no desenvolvimento de novos antimicrobianos eficazes. A resistência antimicrobiana representa uma ameaça à saúde pública global e exige a busca por soluções inovadoras para garantir o sucesso contínuo da medicina moderna.

Palavras-chave: Resistência antimicrobiana, terapia fágica, peptídeos antimicrobianos, compostos organometálicos.

ABSTRACT

Objective: Approach the global public health challenge and the alternatives that are being developed to combat antimicrobial resistance. **Bibliographic review:** Increasing antimicrobial resistance is a global public health challenge that is associated with a high number of annual deaths and threatens to overtake cancer as the leading cause of mortality by 2050. Still, the development of new antimicrobials faces significant obstacles including the high cost, market uncertainty and lack of interest from the pharmaceutical industry. Searching to attenuate this scenario, new antimicrobial alternatives are being developed and demonstrate promising results. Phage therapy uses bacteriophages to infect bacteria, antimicrobial peptides are amino acid molecules with direct or immunomodulatory action, and organometallic compounds are coordination networks of metals and organic ligands with antimicrobial properties. **Final considerations:** Each of the alternatives described in presents advantages and challenges, but they all offer hope in the development of new effective antimicrobials. Antimicrobial resistance represents a threat to global public health and requires the search for innovative solutions to ensure the continued success of modern medicine.

Keywords: Antimicrobial resistance, Phage therapy, Antimicrobial peptides, Organometallic compounds.

¹ Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados – MS.

RESUMEN

Objetivo: Abordar el desafío global en salud pública y alternativas que estamos desarrolladas no combatir la resistencia antimicrobiana. **Revisión bibliográfica:** Una creciente resistencia antimicrobiana es un desafío global en salud pública que está asociada a un alto número de muertes anuales y quiere superar el cáncer como principal causa de mortalidad hasta 2050. Sin embargo, el desarrollo de nuevos antimicrobianos enfrenta obstáculos significativos, incluido el alto costo, incerteza de mercado e falta de interés de la industria farmacéutica. Buscando atenuar este escenario, nuevas alternativas antimicrobianas están siendo desarrolladas y demostrando resultados promisorios. La terapia fágica utiliza bacteriófagos para infectar bacterias, los péptidos antimicrobianos, así como moléculas de aminoácidos con acción directa o inmunomoduladora, y los compuestos organometálicos con redes de coordinación de metales y ligandos orgánicos con propiedades antimicrobianas. **Consideraciones finales:** Cada una de las alternativas descritas no presentan ventajas y desafíos, pero todas ofrecen esperanza en el desarrollo de nuevos antimicrobianos eficaces. La resistencia antimicrobiana representa una amenaza de salud pública global y exige la búsqueda de soluciones innovadoras para garantizar el éxito continuo de la medicina moderna.

Palabras clave: Resistencia antimicrobiana, Terapia con fagos, Péptidos antimicrobianos, Compuestos organometálicos.

INTRODUÇÃO

A resistência antimicrobiana (RAM) surge como um desafio global cada vez mais premente em saúde pública. Estima-se que a RAM está associada com 700 mil mortes por ano e com progressão de mortalidade maior que o câncer até o ano de 2050. Este problema não é apenas uma consequência direta do uso indiscriminado de antimicrobianos, mas também da evolução genética que ocorreu ao longo de décadas (BERNARDINI A, et al., 2019). Ainda, sabe-se que determinados microrganismos resistentes e/ou os seus genes de resistência são capazes de transferir-se entre animais e humanos, logo, é promovido a abordagem de saúde única "One Health" que reconhece que a saúde dos seres humanos, animais e ecossistemas são interligadas, envolvendo a aplicação de uma abordagem coordenada, colaborativa, multidisciplinar e intersetorial.

No entanto, a busca por soluções para a RAM encontra obstáculos significativos. O processo de desenvolvimento de novos antimicrobianos é longo, dispendioso e frequentemente resulta em medicamentos que não são viáveis clinicamente, devido à sua toxicidade ou falta de eficácia. Nesse contexto, a indústria farmacêutica, diante de incertezas de mercado e baixos retornos financeiros, optou por redirecionar seus investimentos em pesquisa para outras áreas terapêuticas (WASEEM T, et al., 2020). O relatório "*Global Use of Medicines 2023*" da IQVIA Institute, destaca que o maior impulsionador dos gastos com medicamentos nos últimos anos e nos próximos cinco anos continua sendo a vacinação global contra a COVID-19, devido à sua impactante crise de saúde pública. E é por isso, que a indústria farmacêutica tem estrategicamente direcionado seus investimentos para outras áreas, relegando o desenvolvimento de produtos para tratamento de doenças infecciosas, incluindo antimicrobianos, para uma posição inferior na lista de prioridades.

Apesar da falta de investimento dessas indústrias farmacêuticas que eram uma das maiores responsáveis pelo apoio financeiro, pesquisadores de instituições públicas, privadas, de grande ou pequeno porte têm reunido forças para impulsionar o desenvolvimento de alternativas antimicrobianas e os resultados são promissores. Dentre essas alternativas, temos a terapia fágica que se utiliza de bacteriófagos que são vírus que infectam bactérias, os peptídeos antimicrobianos que são moléculas constituídas de aminoácidos com mecanismo de ação direta e/ou imunomoduladora e os metalofármacos que são complexos metálicos combinados com ligandos bioativos. Essas abordagens apresentam características únicas e, embora enfrentem desafios próprios, oferecem esperança no desenvolvimento de novos antimicrobianos eficazes. Considerando o exposto, a presente revisão tem como objetivo abordar aspectos da resistência antimicrobiana e demonstrar as estratégias que estão sendo exploradas para o desenvolvimento de novas terapêuticas.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Resistência as drogas antimicrobianas (RAM)

A resistência dos microrganismos envolve bases moleculares e pode se expressar de forma intrínseca ou adquirida. Na resistência intrínseca, o mecanismo de resistência é natural do microrganismo, relacionado com seu fenótipo, gênero e espécie (MELANDER R, et al., 2022). Como exemplo temos os bacilos Gram-negativos que são intrinsecamente resistentes a penicilina, eritromicina, clindamicina e vancomicina. Isso ocorre devido a permeabilidade limitada da membrana externa que é uma característica inerente dessa classe de microrganismo. Logo, microrganismos resistentes são resultados de uma evolução genética que ocorreu antes mesmo do desenvolvimento dos antimicrobianos e o surgimento da resistência não está exclusivamente associado ao uso indiscriminado dessas drogas, como comumente é atribuído.

Em relação a resistência adquirida, ela ocorre quando um microrganismo que era inicialmente sensível desenvolve resistência ao antimicrobiano. É consequência de mutações gênicas cromossômica ou aquisição de elementos genéticos móveis através da transferência horizontal de genes (HGT). Os genes de resistência a antibióticos são usualmente carregados em plasmídeos, transposons ou integrons que atuam como vetores transferindo essas informações e permitindo a troca do material genético. Dentro deste grupo, o uso excessivo e indiscriminado dos antibióticos é o maior contribuinte, envolvendo aplicações na agropecuária, agricultura, aquicultura, vendas em países sem regulamentação, compras on-line, entre outros (VENTOLA CL, 2015).

Além disso, evidências demonstram que determinados genes de resistência de microrganismos são capazes de serem transferidos entre animais e humanos, superando aspectos ecológicos e geográficos. Considerando o contexto, a Organização Mundial da Saúde (OMS), a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) e a Organização Mundial da Saúde Animal (OIE) aderiram forças para promover a colaboração intersetorial para avaliar, controlar e prevenir a propagação da RAM em populações humanas, animais e no meio ambiente na política chamada “*One Health*” (GUARDABASSI L, et al., 2020). Logo, a corrida contra a resistência aos antimicrobianos tornou-se multifacetada, compreendendo aspectos multissetorial e transdisciplinar, que visam além de impedir o aumento da resistência e regulamentar a distribuição dos antimicrobianos, encorajar o desenvolvimento de novas drogas.

Dificuldade do desenvolvimento de agentes antimicrobianos

Todas as principais classes de antimicrobianos foram descobertas durante a denominada “Era ouro” entre as décadas de 1940 e 1970. Embora o desenvolvimento científico e tecnológico tenha sido eminente em diversos campos da saúde, infelizmente o mesmo não pode ser dito quanto ao desenvolvimento de antimicrobianos. Diante do exposto, algumas questões devem ser consideradas. Primeiro, houve sim descoberta de novos antimicrobianos, mas estes acabaram inutilizados por não apresentarem aplicação clínica ou por serem altamente tóxicos. Além disso, alguns achados foram ilusórios pois ao aprofundar as pesquisas encontrava-se alguma substância que já tinha sido revelada (MOHR KI, 2016).

Segundo, o desenvolvimento de novos antimicrobianos é um processo complexo, moroso e de um custo altamente elevado. De acordo com a OMS a descoberta de um novo antibiótico passa por aproximadamente 3 fases de pesquisa, podendo levar mais de 10 anos e custar aproximadamente 8 milhões de dólares. Além desses processos econômicos e regulatórios, a aceitação da nova droga pelos pacientes e prescrição pelos médicos envolve inseguranças, o que reflete na comercialização. Assim, as indústrias farmacêuticas, uma das maiores responsáveis pelo apoio financeiro, foram abandonando progressivamente a pesquisa devido à falta de retorno sobre o investimento e incerteza do mercado (WASEEM T, et al., 2020).

O consumo global de medicamentos atingiu um ponto de estagnação em 2022, após um período de crescimento acentuado devido à pandemia (2020-2021). O uso per capita desses produtos varia de acordo com o Produto Interno Bruto (PIB) dos países, sendo geralmente mais elevado em nações de renda mais alta em comparação com aquelas de renda mais baixa. Além disso, a escolha da classe terapêutica dos medicamentos consumidos está diretamente relacionada às doenças prevalentes em determinadas regiões e à estrutura dos sistemas de saúde locais. Essas informações desempenham um papel crucial na alocação

de recursos pela indústria farmacêutica para o desenvolvimento de novos produtos (IQVIA, 2023). De acordo com o relatório "Global Use of Medicines 2023" do IQVIA Institute, os investimentos globais no desenvolvimento de novos medicamentos continuam sendo impulsionados pela busca constante de inovação, enquanto são mitigados pelos desafios das perdas de exclusividade e pela concorrência dos genéricos e biossimilares.

A maior parcela desses investimentos até 2026 está direcionada para a área da oncologia, com um gasto estimado de aproximadamente 377 bilhões de dólares. Por outro lado, embora os produtos antimicrobianos desempenhem um papel crucial na saúde pública, eles ocupam apenas a sétima posição no ranking das categorias de investimento (doenças infecciosas), com uma previsão de investimento em torno de 74 bilhões de dólares. Nos anos de 2010 a 2021 a *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou apenas 18 novos antibióticos que, entretanto, não apresentam novas classes ou mecanismos de ação assim como a maioria dos medicamentos atuais no pipeline de desenvolvimento clínico. Além disso, esses candidatos não possuem atividade frente os patógenos de prioridade crítica, como *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter* spp (WHO et al. 2019). Dessa forma, a realidade do desenvolvimento de antimicrobianos é insuficiente, especialmente considerando a crise de resistência.

Tal crise de resistência, desencadeou o cenário que atualmente representa um problema de saúde pública mundial acometendo milhares de pessoas e com projeção de 10 milhões de mortes anuais em 2050. Considerando o exposto, o desenvolvimento de novos antimicrobianos visando atenuar essa conjuntura tem sido objetivo de pesquisadores, instituições públicas e privadas, de grande ou pequeno porte (TROTTER AL, et al., 2019). O aumento da resistência coloca em risco procedimentos que atualmente são relativamente simples e salvam vidas, como transplantes de órgãos, cesarianas, quimioterapia, cirurgias em geral, os quais podem expor as pessoas a bactérias mortais.

Diferentes estratégias para descoberta de antimicrobianos

Bacteriófagos - Terapia fágica

Também chamados de "fagos", os bacteriófagos foram evidenciados há pouco mais de um século. Descritos pela primeira vez como manchas "vitrêas e transparentes" o primeiro cientista a observá-los foi o médico Frederick Twort. Porém, somente após dois anos o microbiologista Felix d'Herelle constatou que se tratavam de vírus que infectava bactérias e os nomeou como "bacteriófagos". Logo após a sua descoberta, estudos visando a aplicação de bacteriófagos no cenário clínico foram realizados, no entanto, dificuldades e resultados insuficientes associados com a culminância dos antibióticos na época, declinaram com a aplicação da terapia fágica (TWORT FW, 1915; D'HERELLE F, 1917).

Com o advento das bactérias multirresistentes, os estudos com a terapia fágica retornaram como fonte alternativa aos antibióticos e têm demonstrado resultados promissores. Os fagos se tornaram uma ferramenta para o desenvolvimento na biologia molecular básica e possui aplicabilidade em diversas áreas. Algumas características contribuem para o notório potencial na terapêutica antimicrobiana, como a capacidade dos bacteriófagos apresentarem especificidade, infectando somente uma espécie ou cepa bacteriana e por afetar minimamente as bactérias comensais humanas e suas células (GUPTA M, et al., 2022).

Há dois tipos de bacteriófagos, os de ciclo lisogênico e os de ciclo lítico. O último, devido seus mecanismos, é o mais atraente contra as superbactérias. A infecção de um bacteriófago lítico na célula hospedeira inicia-se pela ligação da partícula fágica a receptores específicos na superfície da respectiva célula, acompanhado pela distribuição dos ácidos nucleicos do fago na célula infectada. Já no interior da célula, o fago a controla, detém seus componentes celulares e inativa seus mecanismos de defesa (OFIR G e SOREK R, 2018).

Na literatura, pesquisas *in vitro* e pré-clínicas demonstram sucesso da terapia fágica frente bactérias multirresistentes como *Staphylococcus aureus* (WEN H, et al., 2023). Ainda, estudos demonstram que o efeito da terapia pode ser ainda mais eficaz quando administrado um coquetel combinando mais de um bacteriófago, o que amplia o espectro e evita o desenvolvimento de resistência (ALEXYUK P, et al., 2022).

Ademais, abordagens antimicrobianas duplas de fagos e antibióticos, são potencialmente consideradas, promovendo a morte bacteriana, eficiência frente biofilmes e menor incidência de resistência (MALIK S, et al., 2021). O potencial que a terapia fágica já demonstrou nas pesquisas realizadas, associado as demais vantagens, encorajam os estudos com os bacteriófagos na busca por alternativas antimicrobianas, porém, como em qualquer outra abordagem antimicrobiana há limitações.

A seleção do bacteriófago, bem como do coquetel, exige um conhecimento profundo das cepas bacterianas que causam a doença, alguns bacteriófagos podem conter endotoxinas, codificar fatores de virulência ou transduzir genes indesejados (KAKASIS A e PANITSA G, 2019). Ainda há muito a ser descoberto sobre as interações entre fagos, bactérias e hospedeiros humanos, contudo, a terapia fágica demonstra ser um grande potencial nas estratégias para antimicrobianos.

Peptídeos antimicrobianos

Dentro do espaço ambiental, os organismos vivos tem a necessidade de competir pela sua sobrevivência e um dos meios de conseguir fazê-lo é através dos "peptídeos antimicrobianos" ou também PAM's. Estes são produzidos por todos os organismos vivos: unicelulares, insetos, invertebrados, plantas, mamíferos e humanos como parte da sua primeira linha de defesa, logo, essas moléculas e seus mimetizadores, chamados de peptídeos antimicrobianos sintéticos ou PAMS's tornaram-se uma nova classe de agentes antimicrobianos promissores (YAO L, et al., 2023). Estruturalmente diferenciam-se dos antibióticos pois são constituídos de aminoácidos (12 a 100aa), carregados positivamente (carga líquida de +2 a +9) e anfífilos (HANCOCK REW e LEHRER R, 1998).

Os peptídeos antimicrobianos não possuem um sítio específico de atuação ou um modo de ação comum, fornecendo basicamente dois mecanismos diferentes: os de ação direta e os imunomoduladores. Os que atuam diretamente sobre os patógenos microbianos, têm ação rápida e potente, amplo espectro de atividade e já foram descritos na literatura frente bactérias, leveduras e vírus (GOVINDARAJAN DK e KANDASWAMY K, 2023).

No caso das bactérias, esse mecanismo envolve uma afinidade eletrostática no qual as moléculas aniônicas dos lipopolissacarídeos (Gram-negativa) e ácido lipoteicóico (Gram-positiva) são atraídas pelos resíduos catiônicos dos peptídeos. No interior da bactéria, os PAM's interagem com os lipídeos carregados negativamente na membrana citoplasmática, deslocando os cátions divalentes que os estabilizam e promovendo a perturbação da membrana ou se inserindo na bicamada, devido sua composição anfipática e afinando, alterando a curvatura ou rompendo a barreira de permeabilidade da bicamada (YAO L, et al., 2023).

Ainda, alguns PAM's com mecanismo direto, ao invés de causar danos a membrana, atuam de forma intracelular, translocando-se livremente através da mesma e interagindo com alvos intracelulares e ocasionando a inibição da síntese proteica, do DNA, RNA, atividade enzimática, síntese da parede celular e dobramento de proteínas (DASSANAYAKE RP, et al., 2021).

No segundo mecanismo, os PAM's atuam regulando os principais imunomoduladores do sistema imunológico inato: estimula ou suprime citocinas pró ou anti-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 e IL-12), afetam a produção de mediadores inflamatórios (óxido nítrico, PGE2, iNOS, COX-2, ICAM-1, VCAM-1 e MCP-1), proliferação de linfócitos, atividades de células natural killer (NK), síntese de anticorpos e atividade fagocítica de macrófagos (DONG M, et al., 2021). Uma das vantagens que os PAM's oferecem em relação as drogas atualmente utilizadas e que os tornam substitutos atraentes é que eles atuam em regiões evolutivamente conservadas no microrganismo, por exemplo, a membrana.

Para os microrganismos alterarem a composição ou estrutura de sua membrana envolve-se um processo que requer altos gastos energéticos e coloca em perigo a própria vida celular. Logo, prolonga-se e dificulta o rearranjo no desenvolvimento da resistência (LIU R, et al., 2020). A terapia combinada de PAM's e antibióticos também tem demonstrado ser uma estratégia com alto potencial, apresentando resultados para infecções de grande interesse clínicos como bactérias resistentes e fungos (DENARDI LB, et al., 2021; DUAN H, et al. 2021).

Alguns peptídeos antimicrobianos, entretanto, podem apresentar características desfavoráveis como toxicidade em células eucarióticas, baixa biodisponibilidade oral, permeabilidade limitada e meia-vida curta. Todavia, ferramentas computacionais juntamente com a possibilidade de projetar PAM's em níveis laboratoriais permite flexibilidade na estrutura química para se ajustar às propriedades desejáveis, como atividade melhorada, citotoxicidade reduzida, proteólise e melhoria na atividade biológica (LIANG Y, et al., 2020).

Organometálicos

De acordo com a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) os compostos organometálicos ou *metal-organic frameworks* (MOFs) são uma rede de coordenação com ligantes orgânicos contendo potenciais vazios. Tridimensionais, bidimensionais ou formado por somente uma estrutura, os MOFs podem ser compostos por nós formados por unidades inorgânicas denominadas PBU (Primary Building Unit) ou aglomerados de cátions metálicos SBU (Secondary Built Unit) conectados a ligantes polidentados orgânicos (MALLAKPOUR S, et al., 2022).

Praticamente todos os cátions metálicos na tabela periódica, têm sido usados como nós/clusters de metal para construir MOFs. Podendo ser classificados em: monovalentes (Ag⁺ e Cu⁺, etc.), divalente (Zn²⁺, Cu²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Cd²⁺, Mg²⁺, Mn²⁺, e Fe²⁺, etc.), trivalente (Al³⁺, Fe³⁺, Ni³⁺, Ga³⁺, Sc³⁺, Cr³⁺ e La³⁺, etc.) e íons metálicos tetravalentes (Zr⁴⁺, Ti⁴⁺ e Hf⁴⁺). O ligante orgânico é outro bloco de construção necessário de uma estrutura MOF. O⁻ (fosfonatos, carboxilatos, sulfonatos) ou N-doadores (tirazinas, piridinas, imidazóis) são algumas das classes de ligantes usadas com mais frequência (DENG X, et al., 2022).

Trabalhos com polímeros de coordenação cristalinos tinham sido descritos na literatura desde a década de 1950, no entanto pouco foi investigado somente décadas depois o termo "metal-organic framework" foi introduzido por Yaghi OM e Li H (1995) e com seu potencial evidenciado, foram cada vez mais explorados. MOFs apresentam propriedades vantajosas como volume do poro, baixa densidade, alta área de superfície e flexibilidade, características que viabilizaram sua aplicação em diversas áreas (ZHAO X, et al., 2021).

MOFs têm sido aplicados como agentes antimicrobianos e transportadores terapêuticos. A maior vantagem das estruturas organometálicas é sua natureza modular, de forma que propriedades e funções podem ser alcançadas combinando e alterando arranjos nos blocos de construção. Esta funcionalização associada a alta porosidade e a capacidade de adsorver e hospedar compostos biologicamente ativos têm agregado com sucesso os MOFs na área medicinal (MALLAKPOUR S, et al., 2022).

Ainda, MOFs antimicrobianos podem ser desenvolvidos para exibir atividade específica contra determinado grupo ou microrganismo. Por exemplo, bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, embora estruturalmente diferentes, possuem parede celular com carga negativa, dessa forma, MOFs que visam atividade antibacteriana devem estar carregados positivamente. As forças eletrostáticas são responsáveis pela fixação dos MOFs que se acumulam na parede bacteriana e perfuram a membrana ou adentram no espaço intracelular (ZHANG X, et al., 2022).

O mecanismo antimicrobiano relatado com mais frequência dos MOFs é a capacidade de reservar íons metálicos e liberá-los gradualmente. A liberação é decorrente da biodegradação das estruturas, proporcionando um efeito antimicrobiano estável e prolongado. Assim, MOFs com íons metálicos que possuem propriedades antimicrobianas conhecidas como prata, cobre, cobalto e zinco podem ser sintetizados considerando a sua toxicidade e possíveis efeitos sinérgicos e complementares (CHU H, et al., 2020).

MOFs com ligantes biologicamente ativos também são desenvolvidos para aplicações antimicrobianas e são nomeados Bio-MOFs. O ligante bioativo ao ser incorporado na estrutura dos MOFs tem as atividades melhoradas. O ácido nalidixico empregado para tratar infecções no trato urinário anteriormente esquecido por apresentar baixa solubilidade teve sua atividade antimicrobiana potencializada quando coordenado a centros metálicos (ANDRÉ V, et al., 2019). MOFs combinando ácido zeláico e K⁺, Na⁺ ou Mg²⁺ exibiram atividade antibacteriana, boa estabilidade e solubilidade maior que o próprio ácido (QUARESMA S, et al., 2019).

Além disso, MOFs podem ser empregados como carreadores para substâncias ativas, como vancomicina (GHAFFAR I, et al., 2019). A estrutura porosa promove uma alta capacidade de armazenamento e alguns problemas apresentados na entrega de fármacos como baixa permeabilidade, acúmulo fora do alvo e baixa estabilidade são superados. Uma estrutura metal-macrociclo capaz de incorporar até três moléculas diferentes foi relatada por Tashiro S, et al. (2014) o que promoveu ainda mais a sua usabilidade e designabilidade.

O efeito antimicrobiano que os MOFs apresentam nos mecanismos citados anteriormente está associado a danos físicos nas células. Exceto os microrganismos que possuem resistência intrínseca, os que desenvolvem resistência antimicrobiana o fazem a nível de alterações genéticas, considerando este fato, torna-se menor o desenvolvimento de resistência a MOFs pelos microrganismos, tornando-os promissores antimicrobianos (LI R, et al., 2021).

Outra vantagem dos MOFs é a aceitabilidade de modificações pós-sintéticas, de forma que quando o composto sintetizado não apresenta resultados satisfatórios em sua primeira projeção, é possível estudá-lo e traçar uma rota adequada para uma nova projeção e melhor desempenho. Os tratamentos pós-sintéticos incluem a troca do metal, a troca do ligante e/ou *guest replacement*. A modificação pós-sintética do IRMOF-3 desenvolvida por Abdelhameed RM, et al. (2019) resultou em 4 derivados que apresentaram atividades antimicrobianas melhoradas para Gram-positivas e Gram-negativas.

Quanto a citotoxicidade, fator limitante para materiais que são desenvolvidos para aplicações biomédicas, estudo recentes desenvolvidos com nanopartículas de MOFs obtiveram resultados animadores, pois os consideraram com baixa citotoxicidade. Centros metálicos, cátions e ligantes metálicos não tóxicos devem ser os considerados para desenvolver os MOFs. Embora a reprodutibilidade dos resultados *in vitro* possam ser diferentes nos estudos *in vivo*, MOFs também apresentaram baixa toxicidade em estudos de toxicidade aguda e/ou subaguda (RAJU P, et al., 2020).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A resistência antimicrobiana é multifacetada e não se limita apenas ao uso indiscriminado de antimicrobianos, mas também envolve a evolução genética de microrganismos. A colaboração intersetorial, através da abordagem *One Health* é essencial para conter a RAM, reconhecendo a interconexão entre humanos, animais e meio ambiente. Além disso, o desafio enfrentado no desenvolvimento de novos antimicrobianos, incluindo os obstáculos de tempo, custo e regulamentações, levaram a diminuição dos investimentos da maior financiadora de pesquisas, a indústria farmacêutica. Apesar disso, pesquisadores de instituições têm trabalhado em alternativas promissoras, como a terapia fágica, os peptídeos antimicrobianos e os compostos organometálicos. Diversas pesquisas realizadas com estas alternativas antimicrobianas podem ser encontradas na literatura e embora haja limitações, os resultados apresentados são encorajadores. Essas abordagens alternativas oferecem expectativa para o desenvolvimento de novas terapêuticas frente a RAM. A crise de resistência aos antimicrobianos afeta procedimentos médicos essenciais e é uma ameaça crescente à saúde pública global, a busca por recursos eficazes é fundamental para garantir o sucesso contínuo da medicina moderna.

AGRADECIMENTOS E FINANCIAMENTO

Os autores agradecem a Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. ABDELHAMEED RM, et al. IRMOF-3 Biological Activity Enhancement by Post-Synthetic Modification. European Journal of Inorganic Chemistry, 2019; 2019(9): 1243-1249.

2. ALEXUYUK P, et al. Isolation and characterization of lytic bacteriophages active against clinical strains of *E. coli* and development of a phage antimicrobial cocktail. *Viruses*, 2022; 14(11): 2381.
3. ANDRÉ V, et al. Mg-and Mn-MOFs boost the antibiotic activity of nalidixic acid. *ACS Applied Bio Materials*, 2019; 2(6): 2347-2354.
4. CHU HY, et al. Two silver-based coordination polymers constructed from organic carboxylate acids and 4,4'-bipyridine-like bidentate ligands: Synthesis, structure, and antimicrobial performances. *Polyhedron*, 2020; 188: 114684.
5. D'HERELLE F. An invisible microbe that is antagonistic to the dysentery bacillus. *CR Acad Sci*, 1917; 165: 373-375.
6. DASSANAYAKE RP, et al. Bovine NK-lysin-derived peptides have bactericidal effects against *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis. *Vet Res*, 2021; 52(1): 1-8.
7. DENARDI LB, et al. Activity of MSI-78, h-Lf1-11 and cecropin B antimicrobial peptides alone and in combination with voriconazole and amphotericin B against clinical isolates of *Fusarium solani*. *J Med Mycol*, 2021; 31(2): 101119.
8. DENG X, et al. Conductive MOFs based on Thiol-functionalized Linkers: Challenges, Opportunities, and Recent Advances. *Coord Chem Rev*, 2022; 450: 214235.
9. DONG M, et al. BING, a novel antimicrobial peptide isolated from Japanese medaka plasma, targets bacterial envelope stress response by suppressing *cpxR* expression. *Sci Rep*, 2021; 11(1): 12219.
10. DUAN H, et al. Synergistic effect and antibiofilm activity of an antimicrobial peptide with traditional antibiotics against multi-drug resistant bacteria. *Microb Pathog*, 2021; 105056.
11. GHAFAR I, et al. Synthesis of chitosan coated metal organic frameworks (MOFs) for increasing vancomycin bactericidal potentials against resistant *S. aureus* strain. *Mater Sci Eng C*, 2019; 105: 110111.
12. GOVINDARAJAN DK e KANDASWAMY K. Antimicrobial peptides: A small molecule for sustainable healthcare applications. *Med Microecol*, 2023; 18: 100090.
13. GUARDABASSI L, et al. One health: A multifaceted concept combining diverse approaches to prevent and control antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Infect*, 2020; 26(12): 1604-1605.
14. GUPTA M, et al. Bacteriophages: An Alternative to Combat Antibiotic Resistance? *J Drugs Dermatology (JDD)*, 2022; 21(12): 1311-1315.
15. HANCOCK REW e LEHRER R. Cationic peptides: a new source of antibiotics. *Trends Biotechnol*, 1998; 16(2): 82-88.
16. KAKASIS A e PANITSA G. Bacteriophage therapy as an alternative treatment for human infections. A comprehensive review. *Int J Antimicrob Agents*, 2019; 53(1): 16-21.
17. IQVIA Institute. Global Use of Medicines 2023. Disponível em: <https://iqvia.com/insights/the-iqvia-institute/reports/the-global-use-of-medicines-2023>. Acessado em: 20 de setembro de 2023.
18. LI R, et al. Metal–Organic-Framework-Based Materials for Antimicrobial Applications. *ACS Nano*, 2021; 15(3): 3808-3848.
19. LIANG Y, et al. Role and modulation of the secondary structure of antimicrobial peptides to improve selectivity. *Biomaterials Sci*, 2020; 8(24): 6858-6866.
20. LIU Y, et al. The revitalization of antimicrobial peptides in the resistance era. *Pharma Res*, 2020; 105276.
21. MALIK S, et al. Bacteriophage cocktail and phage antibiotic synergism as promising alternatives to conventional antibiotics for the control of multi-drug-resistant uropathogenic *Escherichia coli*. *Virus Res*, 2021; 302: 198496.
22. MALLAKPOUR S, et al. Application of MOF materials as drug delivery systems for cancer therapy and dermal treatment. *Coord Chem Rev*, 2022; 451: 214262.
23. MELANDER RJ, et al. Overcoming intrinsic resistance in gram-negative bacteria using small molecule adjuvants. *Bioorg Med Chem Lett*, 2022; 129113.
24. MOHR KI. History of antibiotics research. In: *How to Overcome the Antibiotic Crisis*, 2016. p. 237-272.
25. NIMBALKAR MN e BHAT BR. Adsorção simultânea de azul de meteno e metais pesados de água usando Zr-MOF com grupo carboxílico livre. *J Environ Chem Eng*, 2021; 9(5): 106216.
26. OFIR G e SOREK R. Contemporary phage biology: from classic models to new insights. *Cell*, 2018; 172(6): 1260-1270.

27. QUARESMA S, et al. Novel antibacterial azelaic acid BioMOFs. *Cryst Gro & Des*, 2019; 20(1): 370-382.
28. RAJU P, et al. In vitro assessment of antimicrobial, antibiofilm and larvicidal activities of bioactive nickel metal organic framework. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2020; 56: 101560.
29. TASHIRO S, et al. Simultaneous arrangement of up to three different molecules on the pore surface of a metal-macrocycle framework: cooperation and competition. *Angew Chem Int Ed*, 2014; 53(32): 8310-8315.
30. TROTTER AJ, et al. Tecnologias recentes e emergentes para o diagnóstico rápido de infecções e resistência antimicrobiana. *Opinião Atual em Microbiologia*, 2019; 51: 39-45.
31. TWORT FW. An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses. *Acta Kravsi*, 1961.
32. VENTOLA CL. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *Pharm Therapeutics*, 2015; 40(4): 277.
33. WASEEM T, et al. New approaches to antimicrobial discovery: Current development and future prospects. In: *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier, 2020. p. 67-77.
34. WEN H, et al. Effective Treatment of A Broad-host-range Lytic Phage SapYZU15 in Eliminating *Staphylococcus aureus* From Subcutaneous Infection. *Microbiol Res*, 2023; 127484.
35. WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. 2019 Antibacterial agents in clinical development: an analysis of the antibacterial clinical development pipeline, 2019.
36. YAGHI OM e LI H. Hydrothermal synthesis of a metal-organic framework containing large rectangular channels. *J Am Chem Soc*, 1995; 117(41): 10401-10402.
37. YAO L, et al. Development and challenges of antimicrobial peptide delivery strategies in bacterial therapy: A review. *Int J Biol Macromol*, 2023; 126819.
38. ZHAO X, et al. The application of MOFs-based materials for antibacterials adsorption. *Coord Chem Rev*, 2021; 440: 213970.
39. ZHANG X, et al. MOFs and MOF-Derived Materials for Antibacterial Application. *J Funct Biomater*, 2022; 13(4): 215.