

Terapia Fotodinâmica e Educação no Combate à Resistência Bacteriana

Photodynamic Therapy and Education to Combat Bacterial Resistance

LUCAS D. DIAS ¹
JÚLIA M. VERONESE ²
MARIETTE M. PEREIRA ³

Resumo

As doenças infecciosas são de fato um dos grandes desafios da humanidade. Neste âmbito, as infecções causadas por bactérias multirresistentes representam uma grande ameaça mundial, aumentando drasticamente os custos com saúde pública/número de mortes. Se nenhuma medida for tomada visando minimizar a propagação e o combate à resistência bacteriana, estima-se a morte de milhões de pessoas nos próximos 30 anos. O presente artigo reporta uma visão crítica do problema da resistência bacteriana, apresentando conceitos sobre as etapas de descoberta/desenvolvimento de novos fármacos, conceitos históricos do que foi a “era de ouro” dos antibióticos, descrição das principais classes e mecanismos de ação dos antibióticos, mecanismos de resistência aos antibióticos e, por fim, conceitos básicos de uma técnica fotônica designada por Terapia Fotodinâmica e sua aplicação na fotoinativação de bactérias. Além disso, enfatiza-se o papel crucial da educação na conscientização do uso adequado de antibióticos junto à sociedade e da necessidade de investimento do setor público/privado na descoberta de novos antibióticos e novas terapias para diminuir o desenvolvimento de bactérias multirresistentes.

Palavras Chave: Antibióticos. Resistência bacteriana. Educação. Terapia fotodinâmica.

Abstract

Infectious diseases are one of the greatest challenges facing humanity over time. In this context, infections caused by multi-drug resistant bacteria represent a major threat worldwide, dramatically increasing public health costs and number of deaths. If no action is taken to minimize the spread and fight bacterial resistance, millions of people are expected to die in the next 30 years. This paper reports a critical view regarding the problem of bacterial resistance, presenting fundamental concepts about the stages of discovery and development of new drugs, historical concepts about the “golden age” of antibiotics, description of the main classes and mechanisms of action of antibiotics in clinical use, mechanisms of resistance to antibiotics and, finally, concepts about a photonic technique named Photodynamic Therapy and its application for photoinactivation of bacteria. In addition, the crucial role of education in raising awareness of the appropriate use of antibiotics with society and the need for public/private sector investment in the discovery of new antibiotics is emphasized.

Keywords: Antibiotics. Bacterial resistance. Education. Photodynamic Therapy.

¹ Doutor em Química pela Universidade de Coimbra (Portugal), Pós-doutorando no Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo (USP). ORCID 0000-0003-2858-7539. E-mail: lucasdanillodias@gmail.com

² Graduanda em Medicina pela Universidade de Gurupi-TO-Brasil. ORCID 0000-0002-3075-9283. E-mail: juliamveronese@gmail.com

³ Doutora em Química pela Universidade de Coimbra (Portugal), Professora Catedrática (*Full Professor*) na Universidade de Coimbra (Portugal). ORCID 0000-0003-4958-7677. E-mail: mmpereira@qui.uc.pt

1. Introdução

Ao longo dos anos, as doenças infecciosas têm sido um dos principais desafios da humanidade. Como exemplo, entre 1347 e 1350, aproximadamente um terço da população europeia foi dizimada devido à peste bubônica, causada pela bactéria *Yersinia pestis*. Desde então, diversos avanços em higiene e condições sanitárias foram estabelecidas visando controlar novos surtos infecciosos, no entanto, estes persistem até à presente data, (DA CUNHA; FONSECA; CALADO, 2019) como é o caso da pandemia COVID-19, sigla em inglês para “coronavirus disease 2019”, causada pelo coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2). Neste âmbito, *já imaginou um mundo onde ferimentos leves, acometidos por infecção e, eventualmente, levados à sepse, possam ser fatais?*

As infecções causadas por bactérias multirresistentes aos antimicrobianos disponíveis no mercado são uma das principais ameaças mundiais, resultando no drástico aumento com custos em saúde pública e consequente aumento do número de mortes (POULAKOU; BASSETTI; RIGHI; DIMOPOULOS, 2014). Estima-se que até 2050, mais de 10 milhões de pessoas por ano morrerão como resultado da resistência a antibióticos em todo o mundo, ultrapassando as mortes atribuídas ao câncer, sendo está a maior causa de mortes no mundo (TRAN-DIEN; LE HELLO; BOUCHIER; WEILL, 2018). De acordo com um relatório recente da Organização Mundial da Saúde (OMS), conhecem-se cerca de 12 estirpes de bactérias multirresistentes, para as quais é de extrema urgência a pesquisa e o desenvolvimento de novas famílias de antibióticos e/ou terapias alternativas. É importante salientar o papel fundamental da educação e da disseminação de informação sobre o uso adequado dos antibióticos junto aos profissionais de Saúde, escolas, universidades setor agroindustrial e população em geral, como uma ferramenta no combate a resistência aos antibióticos.

Neste contexto, este artigo de perspectiva reporta aspectos conceituais sobre os antibióticos em um ponto de vista científico e educacional, alertando sobre a problemática do uso e abuso dos mesmos e a consequente formação da resistência bacteriana. Além disso, reporta o uso de uma técnica fotônica, designada por Terapia Fotodinâmica (TFD),

uma potencial ferramenta para o futuro combate às bactérias multirresistentes e seu crescimento. Por fim, o presente artigo traz ao leitor uma visão crítica do atual problema da resistência bacteriana e potenciais soluções, acerca da real necessidade de investimento do setor público e privado na descoberta de novas classes de antibióticos, bem como no desenvolvimento e consolidação de técnicas alternativas para combater bactérias multirresistentes.

2. Processo de Descoberta e Desenvolvimento de novos Fármacos

O desenvolvimento de um novo medicamento, desde a ideia original, síntese/descoberta de um candidato a fármaco até o lançamento de um produto acabado, é um processo complexo e de várias etapas, e que pode levar cerca de 12 a 15 anos, apresentando um custo superior a US\$ 1 bilhão (HUGHES; REES; KALINDJIAN; PHILPOTT, 2011). Contudo, salienta-se que, nas últimas duas décadas, foram desenvolvidas e aplicadas aos processos de descoberta de novos fármacos novas tecnologias biomoleculares, genéticas, computacionais e de caracterização (GERSHELL; ATKINS, 2003). Esta revolução biotecnológica permitiu o monitoramento de indicadores celulares e/ou bioquímicos (marcadores), identificação de alterações fisiológicas e/ou induzidas por candidatos a fármacos, caracterização estrutural de proteínas alvos, bem como no monitoramento de interações de pequenas moléculas no sítio de ligação das proteínas alvo.

Em termos conceituais, o processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos é dividido em duas grandes etapas: i) pesquisa básica ou pré-clínica; ii) desenvolvimento ou clínica (**Figura 1**). A etapa inicial, chamada de pesquisa básica, ocorre em centros de pesquisa e/ou nas universidades, gerando dados suficientes através de estudos *in vitro* e/ou *in vivo*, para desenvolver/comprovar uma hipótese. Um dos principais objetivos da pesquisa básica é demonstrar que uma entidade química é capaz de inibir ou ativar uma biomolécula, gerando um efeito terapêutico e com potencial desenvolvimento clínico.

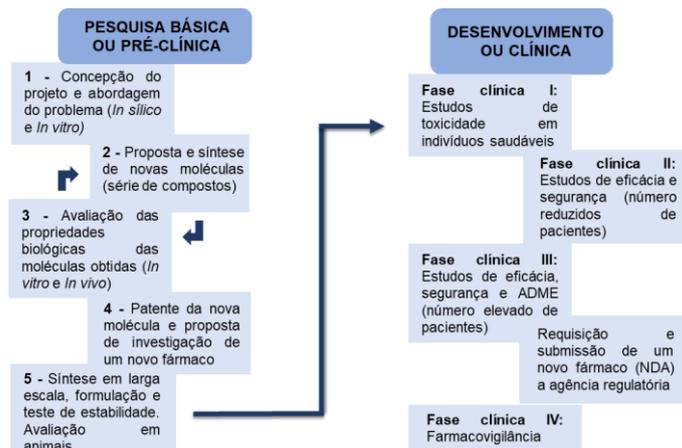


Figura 1: Processo de desenvolvimento e descoberta de novos fármacos, sendo elas: pesquisa básica ou pré-clínica – consiste na idealização, síntese de novas moléculas, avaliação *in vitro* e *in vivo* e desenvolvimento de patente; etapa de desenvolvimento ou clínica – consiste no estudo de toxicidade, eficácia e segurança utilizando voluntários saudáveis até chegar à farmacovigilância, que determina riscos e benefícios do medicamento ao longo do tempo. **Fonte:** Adaptado (LOMBARDINO; LOWE, 2004).

Na etapa clínica, o foco principal é avaliar a segurança e eficácia desta entidade química em seres humanos. A etapa clínica é subdividida em quatro fases: i) fase I: tem como objetivo avaliar a segurança e tolerabilidade da nova entidade química, bem como do perfil farmacocinético e farmacodinâmico utilizando voluntários saudáveis; ii) fase II: avaliar a eficácia terapêutica de um novo medicamento em voluntários com a doença em estudo, avaliando simultaneamente a sua segurança; iii) fase III: estudos comparativos, geralmente multicêntricos, necessários para demonstrar a segurança, eficácia e benefício terapêutico de um novo medicamento; iv) fase IV: estuda os riscos/benefícios de um determinado medicamento em um maior número de voluntários doentes.

Neste contexto é notável a complexidade do processo de desenvolvimento de um novo fármaco, sendo de extrema importância o planejamento racional, como no desenvolvimento de novas tecnologias terapêuticas capazes de combater doenças que ainda são consideradas desafios, como as infecções bacterianas.

3. A “Era de ouro” dos Antibióticos

A descoberta do oficial médico inglês Alexander Fleming, abriu as portas para um novo mundo, devido ao surgimento de uma grande indústria que passou a se dedicar à produção

de penicilina e outros antibióticos (derivados de produtos naturais e/ou sintéticos), como representado na **tabela 1**.

Tabela 1. Descrição dos marcos históricos nas descobertas de antibióticos ao longo do tempo (1900 – 2010) (HUTCHINGS; TRUMAN; WILKINSON, 2019).

Ano de descoberta	Marcos históricos na descoberta de antibióticos
1900	Primeira análise sistemática de antibióticos por bactérias do solo
1910	Salvarsan ^{®4} – Primeiro antibiótico sintético usado clinicamente
1920	Primeiro relato de antibióticos por Actinomicetos
1928	Sulfonamidas ⁴ – Descoberta da penicilina
1940	Aminoglicosídeos ¹ , tetraciclina ¹ , anfencóis ¹ , polipetídeos ² , bacitracina ² , penicilina ³ , sulfonas ⁴ , salicilatos ⁴ – Penicilina aprovada para uso clínico, descoberta da estreptomicina
1950*	Macrolídeos ¹ , glicoptídeos ¹ , tuberactinomicinas ¹ , polimixinas ² , nitrofuranas ⁴ , piridinamidas ⁴
1960*	Ansamicinas ¹ , lincosamidas ¹ , estreptograminas ¹ , cicloserina ¹ , ácido fusídico ³ , cefalosporinas ³ , eniatiais ³ , quinolonas ⁴ , azólicos ⁴ , fenazina ⁴ , diaminopirimidinas ⁴ , etambutol ⁴ , tioamidas ⁴
1970	Fosfonatos ¹
1980	Carbapenos ¹ , mupirocina ² , monobactâmicos ²
2000	Lipopeptídeos ¹ , pleuromutilinas ³ , oxazolidinonas ⁴ – Primeira sequência genômica de actinomicetos
2010	Lipiarmicinas ¹ , diarilquinolina ⁴

¹ Produtos naturais derivados do Actinomicetos; ² Produtos naturais derivados de outras bactérias; ³ Produtos naturais derivados de fungos; ⁴ Antibióticos sintéticos; * Considerada a “Era de ouro” na descoberta dos antibióticos

Muitos autores consideram que a descoberta de Fleming foi vista como o início da era de ouro dos antibióticos. Destacamos que, antes da “era de ouro” dos antibióticos, iniciada em meados de 1930, as taxas de mortalidade por pneumonia pneumocócica e pielonefrite aguda eram maiores que nos dias atuais, chegaram em uma crescente de até 30-35% (WENZEL; EDMOND, 2000) e ~20% (MONTINI; TULLUS; HEWITT, 2011), respectivamente. Fleming, no ano de 1928, após regresso da Primeira Guerra Mundial, visando minimizar o sofrimento dos soldados com feridas infectadas e diminuir o número de mortes, após anos de estudos no St. Mary’s Hospital (Londres), descobriu por “acaso” o primeiro antibiótico da história – a penicilina. Posteriormente, em 1940, Howard Florey e Ernest Chain otimizaram e publicaram o processo de purificação de quantidades de penicilina suficientes para teste clínico, levando a sua distribuição em 1945 (CHAIN; FLOREY; ADELAIDE; GARDNER *et al.*, 1993). Como resultado, Fleming, Florey e

Chain foram laureados com o Prêmio Nobel de Fisiologia, em 1945. De fato, o período entre as décadas de 1950 e 1970 foi marcado pela época de ouro da descoberta de novas classes de antibióticos, contudo, nenhuma outra nova classe foi descoberta desde então. Vale salientar que, entre 1940 e 1962, mais de 20 novas classes de antibióticos foram comercializadas.

4. Principais Classes e Mecanismos de Antibióticos em Uso Clínico

Os antibióticos em uso clínico podem ser classificados quanto a sua origem em três grandes grupos: i) origem natural; ii) derivados semi-sintéticos; iii) sintéticos. Os antibióticos de origem natural e derivados semi-sintéticos são representados pelas classes dos β -lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapeninas, oxapeninas e monobactamas), tetraciclina, aminoglicosídeos, macrolídeos, peptídicos cíclicos (glicopeptídeos, lipodepsipeptídeos), estreptograminas, entre outros (lincosamidas, cloranfenicol, rifamicinas etc). Já os de origem sintética são classificados em sulfonamidas, fluoroquinolonas e oxazolidinonas (LUNDJENS.C, 1967; PILLAIYAR; MEENAKSHISUNDARAM; MANICKAM; SANKARANARAYANAN, 2020). Na **tabela 2**, encontram-se a descrição das principais classes de antibióticos bem como os seus respectivos alvos moleculares e mecanismo de ação.

Tabela 2. Principais classes de antibióticos e os seus respectivos alvos moleculares e mecanismo de ação (GUIMARAES; MOMESSO; PUPO, 2010).

Entradas	Classe de antibiótico	Alvos biomoleculares	Mecanismo de ação
1	β -lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapeninas, monobactamas)	Enzima transpeptidase	Inibe a formação de ligação cruzada entre cadeias de peptidoglicano que impede a formação correta da parede celular bacteriana
2	β -lactâmicos (oxapeninas, sulfozaxepinas)	Enzima β -lactamase	Inibe a enzima de resistência bacteriana que degrada antibióticos β -lactâmicos
3	Macrolídeos, lincosamidas, estreptograminas (dalfopristina e quinupristina), cloranfenicol, oxazolidinonas (linezolida)	Subunidade 50S ribossômica	Inibe a síntese bacteriana.
4	Aminoglicosídeos, tetraciclina	Subunidade 30S ribossômica	Inibe a síntese bacteriana.
5	Glicopeptídeos (vancomicina, teicoplanina)	Dipeptídeo terminam D-Alta-D-Ala do peptidoglicano	Complexa as cadeias peptídicas não ligadas e bloqueia a transpeptidação, impede a formação correta da parede celular bacteriana
6	Peptídeos não ribossomais (bacitracina, gramicidina C, polimixina B)	Membrana plasmática	Afetam a permeabilidade da membrana bacteriana por facilitar o movimento descontrolado de íons através da membrana
7	Lipodepsipeptídeos	Membrana plasmáticas	Afeta a permeabilidade da membrana bacteriana e bloqueia a síntese do ácido

			pipoproteico, componente da membrana externa de bactérias Gram positivo
8	Rifampicina	RNA polimerase dependente de DNA	Inibe a síntese de RNA
9	Fluoroquinolonas	Enzima DNA girase	Bloqueia a replicação e reparo de DNA
10	Sulfonamidas	Enzima di-hidropteroato sintetase	Bloqueia a formação de cofatores do ácido fólico, importantes para a síntese de ácidos nucleicos

Os antibióticos beta-lactâmicos são fármacos que inibem de forma irreversível a enzima transpeptidase, a qual possui a função de catalisar a reação de transpeptidação entre as cadeias de peptideoglicano da parede celular bacteriana. Esta classe de antibióticos possui uma alta seletividade, uma vez que atuam na enzima transpeptidase, presente unicamente em bactérias (VON NUSSBAUM; BRANDS; HINZEN; WEIGAND *et al.*, 2006; WERNER; COQUE; FRANZ; GROHMANN *et al.*, 2013).

Os inibidores de β -lactamases apresentam fraca ação antibiótica (por exemplo, ácido clavulânico), contudo apresentam uma reação rápida e irreversível com enzimas de resistência bacteriana, com mecanismo análogo ao da reação de penicilinas e cefalosporinas com a enzima transpeptidase. São geralmente usados em combinações com penicilinas de amplo espectro de ação.

Os macrolídeos são agentes bacteriostáticos, caracterizados pela presença de um anel macrocíclico de lactona, cuja droga de referência é a eritromicina (DA SILVA; PINTO; STEIN, 2015). Os antibióticos do tipo macrolídeos atuam através da ligação com o RNA ribossomal 23S da subunidade 50S, interferindo na elongação da cadeia peptídica durante a translocação e promovendo a inibição da síntese proteica bacterianas. Os macrolídeos são usados principalmente em infecções respiratórias como a pneumonia, sinusite aguda, tonsilites, dentre outras (BROTZ-OESTERHELT; BRUNNER, 2008).

Os antibióticos do tipo aminoglicosídicos apresentam efeito bactericida *via* ligação específica com a subunidade 30S dos ribossomos bacterianos, impedindo o movimento do ribossomo ao longo do mRNA e, conseqüentemente, interrompendo a síntese de proteínas. De um ponto de vista estrutural, os aminoglicosídeos são constituídos por dois ou mais aminoaçúcares unidos por ligação glicosídica à hexose ou aminociclitol que habitualmente está em posição central. A estreptomicina, antibiótico isolado de um actinomicetos de solo, *Streptomyces griseus*, pode ser considerado o fármaco referência

para esta classe de antibiótico, sendo principalmente efetivos contra bactérias Gram negativa aeróbicas, como a *Pseudomonas aeruginosa* (GOODMAN; GILMAN, 2012).

Os glicopeptídeos atuam na inibição da síntese da parede celular bacteriana pela formação de um complexo com o resíduo dipeptídico terminal D-Ala-D-Ala das cadeias peptídicas que constituem a parede celular. Esta complexação específica impede que o resíduo dipeptídico terminal D-Ala-D-Ala esteja disponível para a ação da transpeptidase inibindo a reação de transpeptidação (PACE; YANG, 2006). Esta classe de antibióticos é frequentemente usada para tratar infecções com risco de vida causadas por patógenos Gram-positivos multirresistentes como a MRSA, (do inglês, **M**ultiple-**R**esistant *Staphylococcus aureus*) (JAMES; PIERCE; OKANO; XIE *et al.*, 2012).

Peptídeos não ribossomais (NRP) são uma classe de compostos naturais produzidos por organismos eucariotos, como fungos filamentosos, através de vias biossintéticas enzimáticas das quais não participa o ribossomo (MARAHIEL; STACHELHAUS; MOOTZ, 1997). A principal fonte de peptídeos não ribossomais são as bactérias, constituindo aproximadamente 89% dos microorganismos produtores. Dentre os peptídeos não ribossomais, destacam-se os antibióticos como a vancomicina e a daptomicina produzidos pelas bactérias *Amycolatopsis orientalis* (VAN WAGENINGEN; KIRKPATRICK; WILLIAMS; HARRIS *et al.*, 1998) e *Streptomyces roseosporus*, (MIAO; COEFFET-LEGAL; BRIAN; BROST *et al.*, 2005) respectivamente.

A rifampicina é um antibiótico semi-sintético derivado de produto natural de poliketídeos e peptídeos não ribossomais e seu mecanismo de ação está relacionado com sua alta afinidade para inibir a RNA polimerase bacteriana (CAMPBELL; KORZHEVA; MUSTAEV; MURAKAMI *et al.*, 2001). Já as fluoroquinolonas, atuam através da interação com a DNA girase e a topoisomerase IV. A formação do complexo ternário de quinolona, DNA e girase de DNA ou topoisomerase IV, enzima fundamental na síntese de material genético bacteriano, induz alterações no DNA e falhas na estrutura em sua composição (HOOPER, 1999).

Por fim as sulfonamidas, são antibióticos antagonistas competitivos do ácido *p*-aminobenzóico (PABA), estrutura responsável pela inibição da produção de ácido fólico

pelas bactérias, que é crucial para a produção dos ácidos nucleicos. Esta inibição competitiva ocorre através da ligação na enzima di-hidropteroato sintetase, responsável pela inclusão do PABA no ácido diidropteroico, precursor do ácido fólico (CARRASCO; VANDER STRATEN; TYRING, 2002), resultando no bloqueio do crescimento bacteriano.

5. Mecanismos de Resistência de Antibióticos. O Fim da Era dos Antibióticos?

A resistência aos antibióticos é um problema dinâmico e pode ser considerada um fenômeno ecológico que ocorre como resposta da bactéria frente ao amplo uso de antibióticos e sua presença no meio ambiente (DEMAIN, 2002). As causas são variadas, como exemplo: i) aumento do uso de antibióticos em clínicas; ii) uso excessivo na agricultura/produção animal; iii) prescrição e uso inapropriado; iv) propagação da vida selvagem; v) sistema de saneamento básico deficiente, entre outras (SINGER; SHAW; RHODES; HART, 2016).

Com relação aos mecanismos de resistência bacteriana, as bactérias usam duas estratégias gênicas para se adaptar à ação dos antibióticos, sendo elas: i) mutações no (s) gene (s) frequentemente associado (s) ao mecanismo de ação do composto; e ii) aquisição de DNA estranho que codifica determinantes de resistência através da transferência horizontal de genes (HGT). Além disso, as bactérias adquirem resistência aos antibióticos por diferentes rotas bioquímicas: i) barreiras impermeáveis, ii) prevenção para atingir o antibiótico alvo (diminuindo a penetração ou extrudando ativamente o composto antimicrobiano), iii) alterações e / ou desvio dos locais de destino; e iv) resistência devido a processos globais de adaptação celular (**Figura 2**). Da análise da **figura 2**, o mecanismo de resistência **1** é baseado na impermeabilidade de membrana. Neste caso, algumas bactérias são resistentes a certos antibióticos simplesmente por possuírem uma membrana impermeável aos antibióticos. Já o mecanismo de resistência **2**, baseia-se na ação de bombas de efluxo, onde elas secretam antibióticos para fora das células. O mecanismo de resistência **3**, consiste no desenvolvimento de mutações que conferem resistência, capazes de modificar a proteína alvo, desativando o sítio de ligação a antibióticos, não afetando a

função proteica. Por fim, as bactérias podem gerar resistência aos antibióticos através da inativação do antibiótico **4**, ou seja, através da modificação estrutural dos antibióticos catalisadas por enzimas.

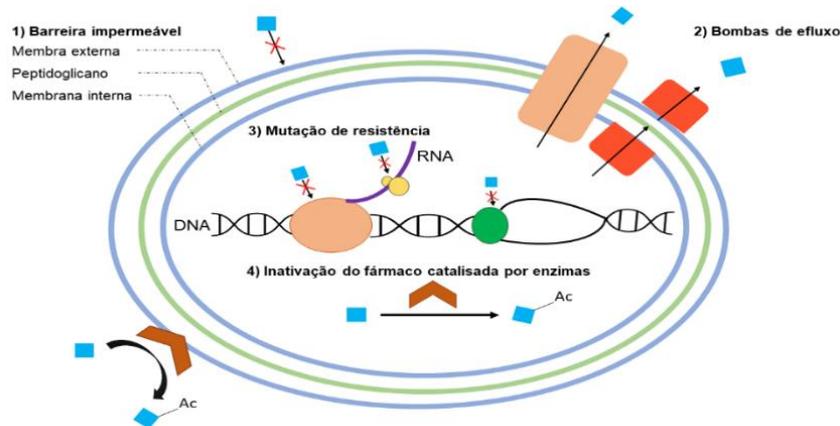


Figura 2: Mecanismos de resistência aos antibióticos em bactérias: 1) mecanismo de membrana pela sua composição impermeável; 2) bombas de efluxo que secretam antibióticos para fora da célula; 3) modificação da proteína alvo por mutações gênicas e 4) modificação estrutural dos antibióticos através de enzimas. **Fonte:** Adaptado (ALLEN; DONATO; WANG; CLOUD-HANSEN *et al.*, 2010).

Ao longo dos anos foram identificadas bactérias com resistência aos antibióticos de todas as classes existentes no mercado, como exemplificado na linha do tempo abaixo indicada (**Figura 3**). Salienta-se que foi logo no final da Segunda Guerra Mundial, mesmo ano em que Alexander Fleming, Howard Florey e Ernst Chain receberam o Prêmio Nobel pela descoberta e desenvolvimento de penicilina, que começaram a surgir as primeiras linhagens de *S. aureus* resistentes à penicilina (WENZEL; PERL, 1995).

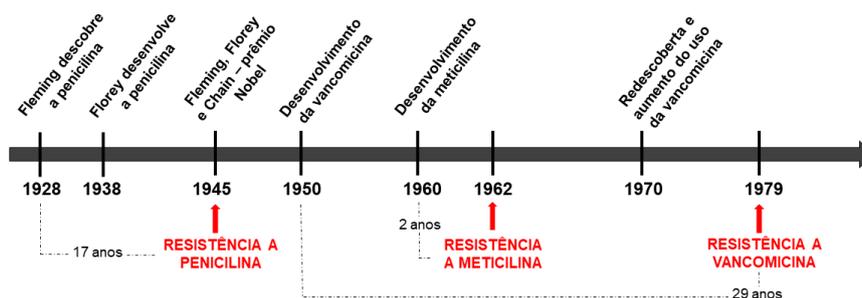


Figura 3: Linha do tempo da formação de resistência aos antibióticos. **Fonte:** Adaptado (VENTER; HENNINGSEN; BEGG, 2017).

Muitos pesquisadores concluíram que o principal mecanismo de resistência bacteriana aos antibióticos β -lactâmicos, no caso da penicilina, é através da produção de enzimas

(lactamases) que apresentam grupos nucleofílicos (em geral, resíduos de serina) capazes de promover a abertura do anel β -lactâmico. Neste caso, o mecanismo de resistência é via a modificação estrutural dos antibióticos. Os mecanismos gerais de resistência estão descritos na **figura 2**.

Uma maneira de ultrapassar e vencer a resistência gerada pela ação das β -lactamases, foi através da modulação sintética de antibióticos do tipo penicilina. A estratégia utilizada foi orientada no sentido de adicionar grupos volumosos no carbono ligado à carbonila, impedindo o acesso dos antibióticos ao sítio ativo da enzima β -lactamase por impedimento estérico, gerando a família das penicilinas semi-sintéticas, denominadas metecilina e a oxacilina (PEACOCK; PATERSON, 2015). No entanto, a resistência à metecilina foi documentada pela primeira vez apenas 2 anos após a sua introdução na clínica, dando origem a cepa de *S. aureus* resistente à metecilina, referido pela sigla MRSA. No geral, os antimicrobianos β -lactâmicos ligam-se às proteínas que participam na síntese da parede celular, chamadas PBPs (proteínas ligadoras de penicilina), impedindo a formação da parede celular e resultando em lise bacteriana. O mecanismo de resistência à metecilina está relacionado com o desenvolvimento de uma PBP adicional, a PBP2a, que é plenamente funcional, mas não tem afinidade por antimicrobianos β -lactâmicos (HAO; DAI; WANG; HUANG *et al.*, 2012).

6. Terapia fotodinâmica Antimicrobiana: Conceitos e Aplicações

Existem relatos na história do uso de luz no tratamento de patologias de pele desde 3000 anos A.C. Neste âmbito, após anos de estudos e observações sobre a interação de luz com sistemas biológicos, surgiu uma técnica fotônica aplicada no tratamento de câncer e inativação de microrganismos (vírus, bactérias, protozoários, fungos), chamada de Terapia Fotodinâmica (TFD) (CHILAKAMARTHI; GIRIBABU, 2017).

Desta forma, a TFD, hoje considerada uma técnica alternativa ao uso de antibióticos, para a sua aplicação requer 3 componentes: i) uma molécula fotossensibilizadora (PS); ii) luz com comprimento de onda apropriada (de acordo com o espectro de absorção do fotossensibilizador utilizado); iii) oxigênio molecular (O_2). A TFD é caracterizada pela produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) capazes de reagir com biomoléculas

vitais presentes na estrutura de microrganismos e/ou com organelas e consequentemente promovendo a sua inativação (AROSO; CALVETE; PUCELIK; DUBIN *et al.*, 2019). O mecanismo de ação pode ser explicado através do diagrama de Jablonski, apresentado na **figura 4**. Da análise do diagrama de Jablonski (**Figura 4**), o ^0PS no seu estado fundamental (S_0) possui dois elétrons com spins opostos, os quais após absorver luz (fótons) são excitados para um orbital de mais alta energia (S_1). Nesta etapa, o PS^* pode perder energia emitindo luz através de um processo chamado de fluorescência (processo utilizado em fotodiagnóstico) ou liberando calor através de conversão interna. Além destes dois processos, o PS^* no estado excitado (S_1) pode passar pelo processo conhecido como cruzamento intersistema (CI), pelo qual a rotação do elétron excitado inverte para formar o estado tripleto excitado (^3PS) de vida relativamente longa (microsegundos).

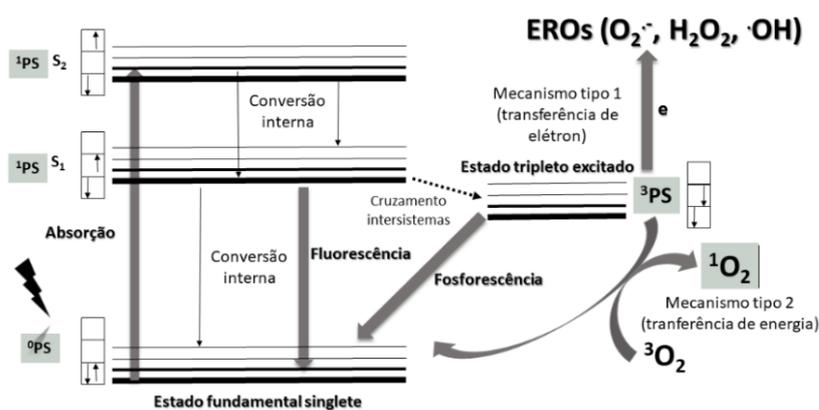


Figura 4: Diagrama de Jablonski. Caracteriza-se pela formação de espécies oxidativas (O_2^- , H_2O_2 , $\cdot\text{OH}$ e $^1\text{O}_2$) através da interação de luz com uma molécula fotossensível, seguido da transferência de energia e/ou elétrons para o O_2 . Estas espécies oxidativas formadas reagem com biomoléculas presentes em bactérias. **Fonte:** Adaptado (PUCELIK; SULEK; DABROWSKI, 2020).

Em seguida, o fotossensibilizador no estado tripleto (^3PS) pode reagir com o $^3\text{O}_2$ através de dois mecanismos: i) tipo I: transferência de elétrons e/ou abstração de prótons (H^+) formando O_2^- , H_2O_2 e/ou $\cdot\text{OH}$; ii) tipo II: transferência de energia do ^3PS para o O_2 formando oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$). Neste contexto, as EROs e $^1\text{O}_2$ formados promovem reações de oxidação em biomoléculas/organelas presentes em microrganismos, como lipídeos, proteínas, mitocôndrias e/ou outras.

7. Terapia Fotodinâmica *versus* Resistência Bacteriana

O crescente número de bactérias multirresistentes a antibióticos implicam a demanda por tratamentos alternativos para doenças infecciosas. Neste contexto, a TFD surgiu e vem se destacando com uma técnica alternativa, efetiva e segura. O potencial desenvolvimento de mecanismos de resistência aos protocolos de TFD são amplamente discutidos e estudados. Contudo, até a presente data, estudos demonstram que a TFD é uma técnica para a qual é pouco provável serem desenvolvido mecanismos de resistência por bactérias (CIEPLI; DENG; CRIELAARD; BUCHALLA *et al.*, 2020).

Em geral, o desenvolvimento de mecanismos de resistência em bactérias é mais provável para tratamentos que visam uma estrutura alvo de acordo com o chamado princípio de bloqueio de chave, como a ação dos antibióticos ou a maioria dos antissépticos (MCDONNELL; RUSSELL, 1999). Nesse caso, é fácil as bactérias superarem o desafio antimicrobiano por mutações pontuais, expressões de bombas de efluxo ou regulação positiva de enzimas associadas à defesa, como reportado e explicado na seção 5. Como também reportado acima, a TFD é uma ferramenta que não possui um alvo molecular específico, ou seja, é uma técnica que pode atuar em diversos alvos, DNA, parece celular, proteínas, enzimas e/outras, diferente dos antibióticos comerciais utilizados. Portanto, tem sido reportado que poderá ser muito improvável que as bactérias possam vir a desenvolver resistência à PDT (CIEPLI; DENG; CRIELAARD; BUCHALLA *et al.*, 2020).

8. Papel da Educação na Diminuição de Bactérias Multirresistentes

Tal como referido nas seções anteriores, após descoberta da penicilina e de inúmeras outras moléculas naturais ou totalmente obtidas por síntese química, às quais foram reconhecidas propriedades antimicrobianas, foi-se criando a chamada “era de ouro” dos antibióticos. Este desenvolvimento da química sintética e medicinal permitiu desenvolver massivamente a produção industrial de antibióticos, específicos para a inibição de cada patogênico, causando uma melhoria da saúde pública sem precedentes, que muito contribuiu para o bem-estar da sociedade e para o aumento da esperança de vida.

Contudo, é de salientar que, tal como em inúmeras outras situações, o Homem explora mal os avanços da ciência, colocando-os mesmo contra si próprio, ao abusar das

facilidades que esta lhe fornece. Isto aconteceu com as descobertas de Einstein e Marie Curie que foram utilizadas para preparar bombas atômicas e destruir milhares de vidas, em vez de servirem como fontes de energia alternativas. Foi este uso indevido dos antibióticos pelo Homem que conduziu ao desenvolvimento de múltiplos mecanismos de defesa pelas bactérias dando origem à situação de calamidade de saúde pública atual. Salienta-se que muitas mortes causadas pela pandemia de COVID-19, 2020, resultam do aparecimento de bactérias multirresistentes e de biofilmes nos tubos endotraqueais que são resistentes aos antibióticos (PÓVOA; CHIANCA; IORIO, 2020).

A falta de novos antibióticos capazes de combater as novas estirpes bacterianas pode atribuí-se a diferentes fatores: i) falta de investimento em pesquisa universitária e empresarial para o desenvolvimento de novas moléculas; ii) falta de investimento em terapias alternativas, como por exemplo a terapia fotodinâmica; iii) deficiência na educação básica para alertar para o problema da utilização incorreta de antibióticos; iv) falta de políticas ambientais assertivas que proíbam a utilização em larga escala dos antibióticos na agricultura.

Em suma, consideramos que para diminuir o desenvolvimento de bactérias multirresistentes é crucial introduzir nos currículos do ensino fundamental, médio e superior, temáticas que alertem para o problema da utilização abusiva de antibióticos e efetuar também ações de sensibilização na comunidade em geral.

Além disso, salientamos a relevância do investimento na investigação e desenvolvimento nas universidades tanto para o desenvolvimento de novos antibióticos como de terapias alternativas, das quais destacamos a terapia fotodinâmica (AROSO; CALVETE; PUCELIK; DUBIN *et al.*, 2019; VINAGREIRO., 2020; ZANGIROLAMI., 2019).

9. Conclusão

O cenário das infecções causadas por bactérias resistentes aos antibióticos é alarmante, sendo também considerado uma carga econômica insuportável tanto para os sistemas de saúde mundial como para os pacientes e seus familiares. Elas geralmente são desenvolvidas e ocorrem em hospitais, devido ao agrupamento de pacientes altamente vulneráveis, ao uso extensivo de procedimentos invasivos e às altas taxas de uso de

antibióticos. Ao longo dos anos, observa-se uma taxa insustentável de desenvolvimento de novos antibióticos, uma vez que as bactérias continuaram a desenvolver novos mecanismos de resistência.

Dentre vários fatores, a desmotivação principal do setor privado em investir no desenvolvimento de novos antibióticos é devido ao fato de que o tratamento de infecções bacterianas geralmente é curto, durando apenas alguns dias (o que não é rentável) e à alta probabilidade do desenvolvimento de mecanismos de resistência em curto tempo. No âmbito do desenvolvimento de ferramentas eficazes e seguras no combate às bactérias multirresistentes, a terapia fotodinâmica como uma técnica simples, eficaz, aplicada a uma vasta família de estirpes bacteriana e, como fator principal, possui uma baixa probabilidade do desenvolvimento de resistência por bactérias. Ademais, enfatiza-se o papel crucial da educação na conscientização dos jovens e da sociedade (público no geral e profissionais da saúde) relativo ao uso adequado de antibióticos.

Em suma, acreditamos e esperamos que, para superar infecções causadas por bactérias multirresistentes e nos prepararmos para futuros desafios microbianos como o da pandemia do COVID-19, a coordenação entre os setores público/privado e a união de pesquisadores de equipes pluridisciplinares de universidades/indústrias seja uma força motriz.

Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPESP pelos projetos (CEPOF 2013/07276-1, INCT (FAPESP 2014/50857-8), CNPq pelo projeto 465360/2014-9 e a FCT pelos projetos UIDB/00313/2020 e PTDC/QUI-OUT/27996/2017. L. D. Dias agradece a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pela bolsa de Pós-doutorado (2019/13569-8).

Referências

ALLEN, H. K.; DONATO, J.; WANG, H. H.; CLOUD-HANSEN, K. A. *et al.* Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. **Nature Reviews Microbiology**, 8, n. 4, p. 251-259, Apr 2010. Review.

AROSO, R. T.; CALVETE, M. J. F.; PUCELIK, B.; DUBIN, G. *et al.* Photoinactivation of microorganisms with sub-micromolar concentrations of imidazolium metallophthalocyanine salts. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 184, p. 13, Dec 2019. Article.

BROTZ-OESTERHELT, H.; BRUNNER, N. A. How many modes of action should an antibiotic have? **Current Opinion in Pharmacology**, 8, n. 5, p. 564-573, Oct 2008. Review.

CAMPBELL, E. A.; KORZHEVA, N.; MUSTAEV, A.; MURAKAMI, K. *et al.* Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial RNA polymerase. **Cell**, 104, n. 6, p. 901-912, Mar 2001. Article.

CAROLINA S. VINAGREIRO; AMANDA ZANGIROLAMI; FABIO A. SCHABERLE; SANDRA C. C. NUNES *et al.* Antibacterial Photodynamic Inactivation of Antibiotic-Resistant Bacteria and Biofilms with Nanomolar Photosensitizer Concentrations. **ACS Infectious Diseases**, 6, p. 9, 2020.

CARRASCO, D. A.; VANDER STRATEN, M.; TYRING, S. K. A review of antibiotics in dermatology. **Journal of Cutaneous Medicine and Surgery**, 6, n. 2, p. 128-150, Mar-Apr 2002. Review.

CHAIN, E.; FLOREY, H. W.; ADELAIDE, M. B.; GARDNER, A. D. *et al.* THE CLASSIC - PENICILLIN AS A CHEMOTHERAPEUTIC AGENT. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, n. 295, p. 3-7, Oct 1993. Article.

CHILAKAMARTHI, U.; GIRIBABU, L. Photodynamic Therapy: Past, Present and Future. **The Chemical Record**, 17, p. 775-802, Jan 2017.

CIEPLIK, F.; DENG, D., CRIELAARD, W., BUCHALLA, W. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy – what we know and what we don't. **Critical Reviews in Microbiology**, 44, n. 5, p. 571-589, Sep 2018.

DA CUNHA, B. R.; FONSECA, L. P.; CALADO, C. R. C. Antibiotic Discovery: Where Have We Come from, Where Do We Go? **Antibiotics-Basel**, 8, n. 2, p. 21, Jun 2019. Review.

DA SILVA, L.; PINTO, L. A.; STEIN, R. T. Use of macrolides in lung diseases: recent literature controversies. **Jornal De Pediatria**, 91, p. S52-S60, Nov-Dec 2015. Review.

DEMAIN, A. L. Prescription for an ailing pharmaceutical industry. **Nature Biotechnology**, 20, n. 4, p. 331-331, Apr 2002. Editorial Material.

GERSHELL, L. J.; ATKINS, J. H. A brief history of novel drug discovery technologies. **Nature Reviews Drug Discovery**, 2, n. 4, p. 321-327, Apr 2003. Article.

GOODMAN, L.; GILMAN, A. **Pharmacological basis of therapeutics**, 12. ed., New York: The McGraw-Hill Companies, 2011.

GUIMARAES, D. O.; MOMESSO, L. D.; PUPO, M. T. ANTIBIOTICS: THERAPEUTIC IMPORTANCE AND PERSPECTIVES FOR THE DISCOVERY AND DEVELOPMENT OF NEW AGENTS. **Quimica Nova**, 33, n. 3, p. 667-679, 2010. Review.

HAO, H. H.; DAI, M. H.; WANG, Y. L.; HUANG, L. L. *et al.* Key genetic elements and regulation systems in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Future Microbiology**, 7, n. 11, p. 1315-1329, Nov 2012. Review.

HOOVER, D. C. Mode of action of fluoroquinolones. **Drugs**, 58, p. 6-10, 1999. Article; Proceedings Paper.

HUGHES, J. P.; REES, S.; KALINDJIAN, S. B.; PHILPOTT, K. L. Principles of early drug discovery. **British Journal of Pharmacology**, 162, n. 6, p. 1239-1249, Mar 2011. Review.

HUTCHINGS, M. I.; TRUMAN, A. W.; WILKINSON, B. Antibiotics: past, present and future. **Current Opinion in Microbiology**, 51, p. 72-80, Oct 2019. Review.

JAMES, R. C.; PIERCE, J. G.; OKANO, A.; XIE, J. *et al.* Redesign of Glycopeptide Antibiotics: Back to the Future. **Acs Chemical Biology**, 7, n. 5, p. 797-804, May 2012. Article.

LOMBARDINO, J. G.; LOWE, J. A. The role of the medicinal chemist in drug discovery - Then and now. **Nature Reviews Drug Discovery**, 3, n. 10, p. 853-862, Oct 2004. Article.

LUNDJENS.C. Comments on empirical and rational method for development of new drugs . An introduction to medicinal chemistry. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, 42, n. 4, p. 193-&, 1967. Article.

MAISCH, T. Resistance in antimicrobial photodynamic inactivation of bacteria. **Photochemical & Photobiological Sciences**, 14, n. 8, p. 1518-1526, 2015. Review.

MARAHIEL, M. A.; STACHELHAUS, T.; MOOTZ, H. D. Modular peptide synthetases involved in nonribosomal peptide synthesis. **Chemical Reviews**, 97, n. 7, p. 2651-2673, Nov 1997. Review.

MCDONNELL, G.; RUSSELL, A. D. Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, 12, n. 1, p. 147-+, Jan 1999. Review.

MIAO, V.; COEFFET-LEGAL, M. F.; BRIAN, P.; BROST, R. *et al.* Daptomycin biosynthesis in *Streptomyces roseosporus*: cloning and analysis of the gene cluster and revision of peptide stereochemistry. **Microbiology-Sgm**, 151, p. 1507-1523, May 2005. Article.

MONTINI, G.; TULLUS, K.; HEWITT, I. Medical progress febrile Urinary Tract Infections in Children. **New England Journal of Medicine**, 365, n. 3, p. 239-250, Jul 2011. Review.

PACE, J. L.; YANG, G. Glycopeptides: Update on an old successful antibiotic class. **Biochemical Pharmacology**, 71, n. 7, p. 968-980, Mar 2006. Review.

PEACOCK, S. J.; PATERSON, G. K. Mechanisms of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *In*: KORNBERG, R. D. (Ed.). **Annual Review of Biochemistry**, Vol 84. Palo Alto: Annual Reviews, 2015. v. 84, p. 577-601. (Annual Review of Biochemistry).

PILLAIYAR, T.; MEENAKSHISUNDARAM, S.; MANICKAM, M.; SANKARANARAYANAN, M. A medicinal chemistry perspective of drug repositioning: Recent advances and challenges in drug discovery. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 195, p. 24, Jun 2020. Review.

PÓVOA, H.; CHIANCA, G.; IORIO, N. COVID-19: An Alert to Ventilator-Associated Bacterial Pneumonia. **Infectious Diseases and Therapy**, May 2020.

POULAKOU, G.; BASSETTI, M.; RIGHI, E.; DIMOPOULOS, G. Current and future treatment options for infections caused by multidrug-resistant Gram-negative pathogens. **Future Microbiology**, 9, n. 9, p. 1053-1069, 2014. Review.

PUCELIK, B.; SULEK, A.; DABROWSKI, J. M. Bacteriochlorins and their metal complexes as NIR-absorbing photosensitizers: properties, mechanisms, and applications. **Coordination Chemistry Reviews**, 416, p. 47, Aug 2020. Review.

SINGER, A. C.; SHAW, H.; RHODES, V.; HART, A. Review of Antimicrobial Resistance in the Environment and Its Relevance to Environmental Regulators. **Frontiers in Microbiology**, 7, p. 22, Nov 2016. Review.

TRAN-DIEN, A.; LE HELLO, S.; BOUCHIER, C.; WEILL, F. X. Early transmissible ampicillin resistance in zoonotic *Salmonella enterica* serotype Typhimurium in the late 1950s: a retrospective, whole-genome sequencing study. **Lancet Infectious Diseases**, 18, n. 2, p. 207-214, Feb 2018. Article.

VAN WAGENINGEN, A. M. A.; KIRKPATRICK, P. N.; WILLIAMS, D. H.; HARRIS, B. R. *et al.* Sequencing and analysis of genes involved in the biosynthesis of a

vancomycin group antibiotic. **Chemistry & Biology**, 5, n. 3, p. 155-162, Mar 1998. Article.

VENTER, H.; HENNINGSEN, M. L.; BEGG, S. L. Antimicrobial resistance in healthcare, agriculture and the environment: the biochemistry behind the headlines. *In*: VENTER, H. (Ed.). **Antimicrobial Resistance**. London: Portland Press Ltd, 2017. v. 61, p. 1-10. (Essays in Biochemistry).

VON NUSSBAUM, F.; BRANDS, M.; HINZEN, B.; WEIGAND, S. *et al.* Antibacterial natural products in medicinal chemistry - Exodus or revival? **Angewandte Chemie-International Edition**, 45, n. 31, p. 5072-5129, 2006. Review.

WENZEL, R. P.; EDMOND, M. B. Managing antibiotic resistance. **New England Journal of Medicine**, 343, n. 26, p. 1961-1963, Dec 2000. Editorial Material.

WENZEL, R. P.; PERL, T. M. The significance of nasal carriage of staphylococcus aureus and the incidence of postoperative wound-infection. **Journal of Hospital Infection**, 31, n. 1, p. 13-24, Sep 1995. Review.

WERNER, G.; COQUE, T. M.; FRANZ, C.; GROHMANN, E. *et al.* Antibiotic resistant enterococci-Tales of a drug resistance gene trafficker. **International Journal of Medical Microbiology**, 303, n. 6-7, p. 360-379, Aug 2013. Review.

ZANGIROLAMI, A. C.; BLANCO, K.; BAGNATO, V.; INADA, N. M. *et al.* Processo de obtenção de superfícies poliméricas funcionalizadas com fotossensibilizadores, material polimérico funcionalizado e seu uso. **INDUSTRIAL., I.-I. N. d. P. BR10201901468** 2019.