

Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE
JOAQUIM VENÂNCIO

Rodrigo Caldas de Santana

Fagoterapia: alternativa frente à resistência bacteriana

Rio de Janeiro

2022

Rodrigo Caldas de Santana

Fagoterapia: alternativa frente à resistência bacteriana

Monografia apresentado à Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio – Fundação Oswaldo Cruz (EPSJV-Fiocruz) como requisito parcial para aprovação no Curso Técnico em Biotecnologia.

Orientador(a): Joseli Maria da Rocha Nogueira

Coorientador(a): Lillian Oliveira Pereira da Silva

Rio de Janeiro

2022

Rodrigo Caldas de Santana

Fagoterapia: alternativa frente a resistência bacteriana

Monografia apresentado como requisito parcial
para aprovação no Curso Técnico em
Biotecnologia.

Aprovado em: __/__/____

BANCA EXAMINADORA:

Joseli Maria da Rocha Nogueira
(Orientadora - ENSP/FIOCRUZ)

Lílian Oliveira Pereira da Silva
(Co-orientadora - ENSP/FIOCRUZ)

Fernanda de Oliveira Bottino
(EPSJV/FIOCRUZ)

Rio de Janeiro

2022

Na vida, não existe nada a temer, mas a entender.

(Marie Curie)

RESUMO

O surgimento de bactérias resistentes aos antibióticos, alavancado pelo uso indiscriminado destes fármacos, é um grave problema de saúde pública. Logo, o uso de métodos alternativos, como a fagoterapia, vem sendo considerada uma frente promissora para substituir e/ou complementar o uso da antibioticoterapia, uma vez que os bacteriófagos, também denominados como fagos, são vírus com a capacidade de infectar e causar a morte de bactérias. Não obstante, o sinergismo e uso combinado de fagos e antibióticos podem ser excelentes alternativas para uma maior eficácia do tratamento de infecções causadas por bactérias resistentes, reduzindo os custos e efeitos adversos ocasionados pela antibioticoterapia. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo destacar o potencial da fagoterapia, do sinergismo e do uso combinado de fagos e antibióticos frente a multirresistência bacteriana como uma alternativa a ser implementada na prática clínica.

Palavras Chaves: Bacteriófagos; Fagoterapia; Multirresistência bacteriana; Sinergismo fago-antibiótico.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 Mecanismos de ação, principais classes e exemplos de antibióticos	14
--	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura básica do Bacteriófago (Fago T4)	8
Figura 2 - Prognóstico das principais causas de morte até 2050	11
Figura 3 - Ação dos fármacos na inibição da biossíntese DNA e RNA	15
Figura 4 - Entrada pela porina, incapacidade de entrada e a extrusão de antibióticos	21
Figura 5 - Apresentação da formação de um biofilme	22
Figura 6 - Ciclo lítico e lisogênico de bacteriófagos em uma <i>E. coli</i>	25

LISTA DE ABREVIACÕES

ABC	Cassete de ligação de ATP
AMR	Resistência antimicrobiana
ATP	Adenosina trifosfato
DNA	ácido desoxirribonucleico
EPS	Substâncias poliméricas extracelulares
LPS	Lipopolissacarídeos
MATE	Extrusão de compostos tóxicos e multidrogas
MFS	Superfamília facilitadora principal
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Pan-americana de Saúde
PABA	Ácido p-aminobenzóico
PAS	Sinergia bacteriófago-antibiótico
PBP	Proteína ligadora de penicilina
RDN	Resistência-nodulação-divisão
RNA	Ácido ribonucleico
SMR	Pequena resistência a múltiplas drogas

[OBJ] [OBJ]

SUMÁRIO

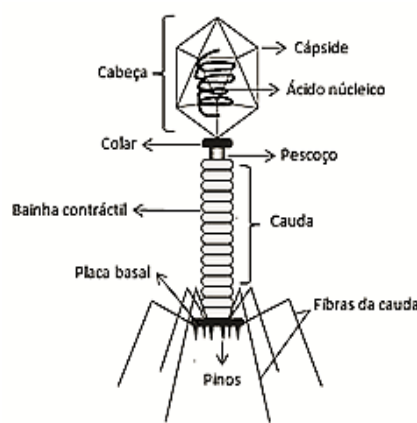
1. INTRODUÇÃO	10
1.1. JUSTIFICATIVA	13
2. OBJETIVOS	14
2.1. OBJETIVO GERAL	14
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3. METODOLOGIA	15
4. DESENVOLVIMENTO	16
4.1. CAPÍTULO 01 – RESISTÊNCIA BACTERIANA	16

4.1.1. Antibióticos	
16	
4.1.2. Uso indiscriminado de antibióticos	
18	
4.1.2. Resistência Bacteriana	19
4.1.3 Mecanismos de resistência bacteriana aos antibiótico	21
4.2 CAPÍTULO 2 – FAGOTERAPIA	26
4.2.1 Bacteriófagos	26
4.2.2 Ciclos de replicação dos bacteriófagos	27
4.2.3 Enquadramento Histórico	Error!
Bookmark not defined.	
4.2.4 Prática clínica	29
4.2.5 Comparativa com os antibióticos	30
4.3 CAPITULO 3 - BACTERIÓFAGOS E ANTIBIÓTICOS	32
4.3.1 Combinação fago-antibiótico	32
5.3.2 Sinergia fago-antibiótico (PAS)	33
CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

1. INTRODUÇÃO

Os bacteriófagos, também chamados de fagos, são parasitas intracelulares obrigatórios que tem seus receptores específicos localizados nas bactérias, logo, não são capazes de infectar eucariotos, como as células humanas. Estes vírus estão em grande abundância no planeta e sua estrutura básica é feita por um capsídeo proteico, envolvendo o material genético viral, que pode ser DNA ou RNA. Logo abaixo do capsídeo, há uma cauda com fibras e espículas responsável pelo processo de interação com os receptores específicos da célula bacteriana, cujo processo é denominado adsorção, e da passagem do genoma viral para dentro desta célula. A Figura 1 traz a estrutura básica dos bacteriófagos (LOBA, 2014).

Figura 1 - Estrutura básica do Bacteriófago (Fago T4)



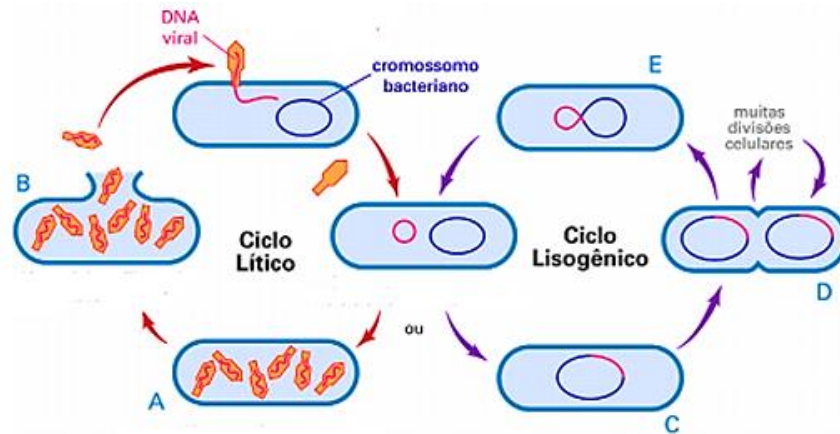
Adaptado de Loba, 2014.

Os bacteriófagos, assim como qualquer outro parasita intracelular obrigatório, necessitam de células suscetíveis, com a presença de receptores específicos para a sua entrada, e precisam de uma célula permissível, a qual deve ter um metabolismo adequado para a sua replicação. Com a adsorção na célula bacteriana, a replicação do bacteriófago pode ocorrer, principalmente, de duas maneiras (Figura 2), no qual pode haver alternância entre esses ciclos de replicação de acordo com a necessidade e situação dos fagos no momento (TORTORA, 2017). São eles:

- a) **Ciclo lítico** – Ocorre a replicação dos bacteriófagos, posteriormente ocasionando na lise (morte) da célula hospedeira (TORTORA, 2017);

Ciclo lisogênico – Ocorre a inclusão do material genético no genoma bacteriano, chamado de profago, e após ocorrer a replicação do genoma bacteriano, também irá ocorrer a replicação do material genético viral, mas sem causar a morte da célula hospedeira (TORTORA, 2017).

Figura 6 - Ciclo lítico e lisogênico de bacteriófagos em uma *E. coli*



Adaptado: Tortora *et al*, 2017.

Frederick Twort, em 1915, descobriu e relatou sobre um agente causador de morte bacteriana, mas o termo bacteriófago é associado ao nome de Félix d'Herelle em 1917, na qual implementou o uso dos fagos líticos como forma de tratamento, contudo, o uso da fagoterapia entrou em desuso dada a dificuldade de implementação através da sua especificidade e pela ascensão dos antibióticos (LOBA, 2014; MYELNIKOV, 2018).

Os antibióticos são substâncias químicas que têm o poder de ação bactericida, sendo capazes de matar a bactéria, ou bacteriostática, podendo interferir e prejudicar a bactéria de muitos modos, alterando seu metabolismo. Como as bactérias são organismos que têm um grande poder de adaptação, ao longo dos anos, sua resistência à ação das drogas vem causando grandes preocupações e problemas para a saúde, através de mecanismos como a alteração no sítio de ligação, alteração da permeabilidade da droga, bomba de fluxo, produção de enzimas que inativam os fármacos e o biofilme (LIMA, BENJAMIM e SANTOS, 2017; NOGUEIRA *et al*, 2016).

O surgimento desenfreado de bactérias multirresistentes, que são resistentes a muitas classes de antibióticos, vêm ocorrendo por causa do uso indiscriminado destes fármacos, alavancando no processo de adaptação delas, assim, podendo ocorrer casos em que a ação antibiótica seja mínima ou completamente nula frente as bactérias. Logo, há como necessidade encontrar novos antimicrobianos ou explorar uma nova alternativa para continuar a corrida

contra a resistência bacteriana (LIMA, BENJAMIM e SANTOS, 2017; NOGUEIRA *et al*, 2016; OMS, 2019; LA PENÃ, 2020).

Na fagoterapia, uma de suas vantagens é que ela será personalizada de acordo com a infecção do paciente, pois os fagos vão ser específicos para as bactérias causadoras da doença, ou seja, os tratamentos vão ser livres de efeito adversos relacionados a destruição das bactérias benéfica do corpo, mas como principal desvantagem necessitam ter um diagnóstico preciso. As demais vantagens e desvantagens deste método serão mais aprofundadas no tópico 4.2.5 (ROMERO, 2020).

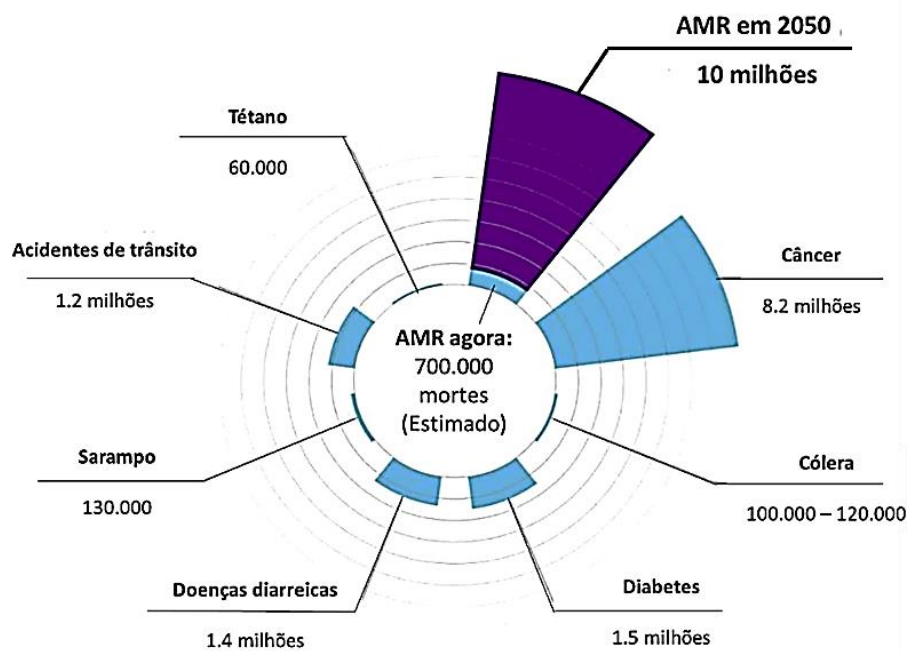
A ideia de utilizar os bacteriófagos no controle de infecções bacterianas surgiu na França por volta de 1920. No Brasil, em 1923, surgiram os primeiros sucessos clínicos e, a partir de 1924, os bacteriófagos já eram produzidos e utilizados em larga escala, passando a ser comercializado em farmácias. No fim dos anos 30, o uso da fagoterapia estava generalizado, fazendo parte do treinamento dos profissionais de saúde. Sua principal utilização na época englobava a disenteria bacilar e infecções estafilocócicas. Apesar do sucesso dessa terapia, ela caiu em desuso após os anos 40, devido a descoberta e a larga utilização dos antimicrobianos que eram de mais fácil administração e comercialização (ALMEIDA e SUNDBERG, 2020).

Apesar de parcialmente esquecida, ao longo dos anos, os bons resultados do uso de bacteriófagos não podem ser esquecidos, principalmente pela abundância de fagos no planeta e o aumento dos casos de resistência bacteriana. Com base nisso, o uso da fagoterapia vem sendo considerado novamente na atualidade, como alternativa para substituir a antibioticoterapia, mas além disso, ainda há a possibilidade do uso combinado de bacteriófagos e antibióticos, onde dois agentes diferentes, mas com o mesmo intuito de eliminar ou prejudicar o funcionamento das bactérias, tenham uma melhor eficácia, na qual uma terapia complementa a outra. Também há a sinergia fago-antibiótico (PAS), no qual é o termo utilizado para falar sobre o uso dos antibióticos na função de estimular a ação de fagos líticos na célula hospedeira (TORRES-BARCELÓ e HOCHBERG, 2016; ROMERO, 2020).

1.1.JUSTIFICATIVA

O alarmante nível de bactérias resistentes, alavancado pelo uso indiscriminado de antibióticos, vem sendo uma grande preocupação para a saúde pública, necessitando de novas opções de antibióticos ou novas alternativas frente a esse problema, pois, segundo a publicação da Organização Mundial de Saúde (OMS), até 2050, a principal causa de morte da população será por microrganismos resistentes aos antimicrobianos (AMR, do inglês, *antimicrobial resistance*), como mostra a Figura 2 (OMS, 2019).

Figura 2 – Prognóstico das principais causas de morte até 2050.



Adaptado de La Peña, 2020

O uso da terapia por bacteriófagos vem sendo considerado como alternativa frente a resistência bacteriana, como também o substituto da antibioticoterapia. Além disso, há a possibilidade de uso combinado, onde os fagos atuam como complemento ao uso do antibiótico ou vice-versa, combinando as duas terapias e potencializando sua ação. Portanto, são grandes alternativas frente as infecções por bactérias resistentes, onde esses métodos poderão proporcionar uma melhora no tratamento e na qualidade de vida dos pacientes (BLAIR, 2015; TORRES-BARCELÓ e HOCHBERG, 2016).

2. OBJETIVOS

2.1.OBJETIVO GERAL

Discutir sobre a resistência bacteriana frente aos antimicrobianos e destacar o potencial da fagoterapia e o uso combinado de bacteriófagos e antibióticos como alternativa frente a esta resistência.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elencar os mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos.
- Destacar o uso da fagoterapia como tratamento de infecções.
- Dissertar sobre a possibilidade de sinergismo e uso combinado de bacteriófagos e antibióticos frente às bactérias multirresistentes.

3. METODOLOGIA

A pesquisa se baseia em uma revisão de literatura, seguindo uma abordagem qualitativa, fazendo uso do banco de dados Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) acessível em <<https://bvsalud.org/>>, além do portal *Pubmed*, acessível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>> e do buscador Google Acadêmico, acessível em: <<https://scholar.google.com.br/>>, cuja busca se deu pelos seguintes termos associados: Bacteriófago (*Bacteriophage*), resistência bacteriana (*bacterial resistance*), sinergia fago-antibiótico (*phage-antibiotic synergy*) e combinação terapêutica de bacteriófagos e antibióticos (*combination therapy of phage and antibiotic*).

A busca foi realizada de março a outubro de 2022, fazendo uso das buscas booleanas com "AND", "OR" e "NOT", filtrando para publicações dos últimos 5 anos, onde os critérios de seleção foram a partir da presença das palavras-chaves, leitura do título, em seguida, a leitura do resumo, leitura na íntegra e relação com o conhecimento que será utilizado no estudo.

A monografia foi dividida em três capítulos: No capítulo 1, foram abordados os mecanismos de resistência bacteriana, enquanto no capítulo 2, foi tratado sobre a fagoterapia e os bacteriófagos. O capítulo 3 foi referente ao uso combinado de bacteriófagos e antibióticos, seguido das considerações finais do trabalho.

4. DESENVOLVIMENTO

4.1. CAPÍTULO 01 – RESISTÊNCIA BACTERIANA

4.1.1. Antibióticos

Os antibióticos são substâncias químicas que podem ser de origem natural ou sintética e podem fazer a eliminação ou a inibição da multiplicação bacteriana. Sua introdução ocorreu em 1928, quando o médico Alexander Fleming, após anos de pesquisa, possibilitou o contato de sua cultura bacteriana de *Staphylococcus aureus* com o fungo *Penicillium notatum*, resultando na origem da penicilina e na ascensão da era antibiótica (GIRALDO-HOYOS, 2021). Atualmente, há diferentes classes de antibióticos que vão ser diferenciados pelos mecanismos de ação que cada um possui, como mostra o Quadro 1.

Quadro 1 - Mecanismos de ação, principais classes e exemplos de antibióticos

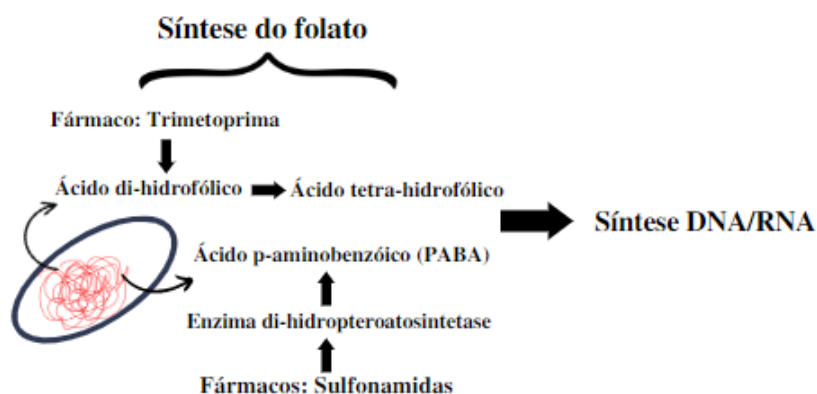
MECANISMO DE AÇÃO	CLASSE	EXEMPLOS
Ação na parede celular	Penicilinas	Penicilina G, Amoxicilina.
	Carbapenêmicos	Meropenem, Emipenem.
	Cefalosporinas	Cefepima 4º geração
	Monobactâmicos	Aztreonam
	Glicopeptídeos	Vancomicina
Metabólitos essenciais	Sulfonamidas	Sulfanilamida, Sulfametoxazol.
	Antimetabólitos	Trimetoprima
Síntese de proteínas	Aminoglicosídeos	Neomicina, Gentamicina
	Lincosaminas	Licomicina, Clindamicina
	Macrolídeos	Azitromicina, Claritromicina
	Tetraciclina	Tetraciclina, Minociclina
	Anfenicóis	Cloranfenicol
Biossíntese DNA/RNA	Quinolonas / Fluorquinolonas	Ciprofloxacina, Metronidazol
	Nitroimidazólicos	Ácido Nalidíxico
Ação na membrana celular	Polimixinas	Polimixina B e Polimixina E, Daptomicina

Adaptado de ANVISA (2007) e PEREIRA *et al* (2021).

Os antibióticos que agem na biossíntese DNA/RNA (Quadro 1) farão com que ocorra a inibição da síntese do folato, impedindo também que ocorra a síntese de purinas, pirimidinas e outras bases que são essenciais para a manutenção da vida bacteriana, pois quando as bactérias não conseguem adquirir folatos do meio externo, a maioria delas precisa sintetizá-lo, e será nessa síntese que ocorrerá a ação do antibiótico (LIMA, BENJAMIM e SANTOS 2017; NOGUEIRA *et al*, 2016).

Na síntese do folato, ocorrerá a ação das sulfanilamidas, inibindo a formação do ácido treta-hidrofólico, que surge a partir do ácido di-hidrofólico. Já o antibiótico Trimetoprima, terá função de competir com o ácido p-aminobenzóico (PABA) pela ação da enzima di-hidropteroatosintetase na inibição da síntese do pré-folato que é formado a partir do PABA (Figura 3) (NOGUEIRA *et al*, 2016).

Figura 3 - Ação dos fármacos na inibição da biossíntese DNA e RNA.



Fonte: Elaborada pelo autor (2022)

Outro mecanismo de ação dos antibióticos é na membrana externa da parede celular, especificamente as bactérias Gram negativas, onde a classe das Polimixinas possuem o papel de se ligar a estrutura lipopolissacarídeos (LPS), removendo peças-chaves com a função de estabilizar a membrana da bactéria, fazendo com que esta perca este componente, ocasionando assim, a sua morte (NOGUEIRA *et al* 2016; SCHERER *et al*, 2016).

Os antibióticos que realizam a inibição da síntese da parede celular, fazem com que a bactéria não forme sua camada de proteção, o peptidoglicano, numa ação dos antibióticos que possuem o anel β -lactâmico. Já os glicopeptídeos são fármacos que tem múltiplos locais de ação, como a de inibir a síntese do peptidoglicano, interferir no RNA e alterar a permeabilidade

da membrana (PEREIRA, ANDRADE e ABREU 2021; TEXEIRA, FIGUEIREDO e FRANÇA, 2019).

A classe dos fármacos que realiza a inibição da síntese de proteínas, como os macrolídeos e as tetraciclinas, age se ligando a subunidades 50s ou 30s, com esses fármacos operando de forma específica que impedirá a atividade ribossomal, que é importante para bactéria (ROCHA, 2021).

Já atuante na função do DNA bacteriano, a classe de quinolonas e seus posteriores, as fluorquinolonas, são antibióticos que vão agir impedindo que enzimas, como a DNA-girase, exerçam suas funções específicas na replicação do DNA bacteriano, enquanto a classe dos nitroimidazólicos, fará com que compostos tóxicos afetem o DNA da bactéria, após os fármacos sofrerem redução como receptores de elétrons e liberarem esses compostos (ANVISA, 2007; NOGUEIRA *et al*, 2016).

4.1.2. Uso indiscriminado de antibióticos

O antibiótico está entre os fármacos mais prescritos no mundo e 30% deles são desnecessários para combater a doença para qual foi indicado. Por esse uso inadequado e sem precedentes de antibióticos, o desenvolvimento de bactérias multirresistentes têm sido facilitado por anos (CRISTALDO *et al*, 2022).

Durante a pandemia de COVID-19, o uso indiscriminado de antibióticos de forma empírica para o tratamento dos sintomas da doença, intensificaram a resistência bacteriana aos fármacos utilizados, pois o desespero da população mundial mediante as milhares de mortes que estavam ocorrendo durante a pandemia, como também a ausência da vacina, ocasionou na busca e uso inconsequente de medicamentos (CRISTALDO *et al*, 2022; FREIRES e JUNIOR, 2022; RIBEIRO *et al*, 2022).

Vale ressaltar também, a previsão da OMS nos anos anteriores ao início da pandemia de COVID-19, destacando que uma das principais causas de mortes até o ano de 2050 seria por resistência antimicrobiana, causando a morte de milhões de pessoas por ano. Recentemente, ao final do ano de 2021, a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), ficou atenta a um surto de infecções ocasionados por bactérias e outros microrganismos resistentes aos fármacos nos países do continente americano, provavelmente decorrente do uso indiscriminado de medicamento durante a pandemia de COVID-19 (OMS, 2017; PENA, 2020; OPAS, 2021).

Acerca desse cenário, a descoberta de novos fármacos ou de alternativas que sejam mais potentes frente às bactérias multirresistentes e seus mecanismos de resistência, é uma solução

necessária para superar a ineficácia dos antibióticos, entretanto, será uma solução em vão, caso não ocorra uma intervenção nas prescrições associada a uma conscientização do uso racional de antibióticos (RIBEIRO, 2021; ANDRADE e NASCIMENTO, 2022).

Essas informações se tornam preocupantes quando há uma carência de novos fármacos, um aumento de antibióticos ineficazes e o uso indiscriminado de antibióticos, portanto, é importante entender que em um futuro próximo, a saúde pública mundial sofrerá com os impactos ocasionados por bactérias que se tornaram resistentes aos antibióticos utilizados de forma indevida e sem precedentes ao longo dos anos, e principalmente, aqueles utilizados durante a pandemia de COVID-19 (OMS, 2019; LA PENA, 2020; BRITO e TREVISAN, 2021; SILVA, NOGUEIRA e ALVES 2022).

4.1.2. Resistência Bacteriana

Na teoria da evolução, Charles Darwin disse o seguinte: “Não é o mais forte que sobrevive, nem o mais inteligente, mas o que melhor se adapta às mudanças”, com essa simples frase, podemos entender o sentido que ela traz relacionando-a com as bactérias, pois elas são seres procariontes que tem um grande poder de adaptação e estão praticamente em todo lugar, logo, mesmo com a ascensão dos antibióticos, trazendo uma grande revolução na medicina frente às infecções, poucos anos após o implemento da penicilina e de outros antibióticos, bactérias resistentes aos fármacos começaram a ficar evidentes (COSTA e JUNIOR, 2017; ROCHA, 2021).

As bactérias podem ser diferenciadas em duas grandes classes a partir do uso de corantes que evidenciam diferenças em sua parede celular. A partir dessa classificação, as bactérias caracterizadas como Gram positivas vão possuir uma camada rígida e espessa de peptidoglicano na qual o corante fica retido, já as bactérias Gram negativas vão possuir uma membrana externa e uma fina camada de peptidoglicano, na qual o corante não ficará retido e será removido na etapa de lavagem e diferenciação com o álcool (RIBEIRO, 2021).

Essas estruturas da parede bacteriana, tanto de bactérias Gram positivas, com o ácido lipoteicóico, lhes dando o poder de aderência, quanto das bactérias Gram negativas, com os lipopolissacarídeos (LPS) presentes na membrana externa, terão um papel importante no grau de virulência e patogenicidade, resultando em uma resposta exacerbada do sistema imune, além de desencadear a ativação do sistema complemento (RIBEIRO, 2021).

A resistência bacteriana se propaga de forma intrínseca ou adquirida, na qual as bactérias apresentam diferentes ações, como: alteração do sítio de ligação do antibiótico, extrusão do

fármaco por bombas de efluxo, alteração da permeabilidade celular ao fármaco, modificação ou inativação enzimática do antibiótico e o biofilme (TEXEIRA, FIGUEIREDO e FRANÇA, 2019).

A propagação de resistência intrínseca, vem como uma resistência natural de determinadas espécies ou gêneros de bactérias de acordo com a sua estrutura, metabolismo e os próprios genes que expressam resistência a determinada classe de antibióticos. Bactérias Gram positivas, por exemplo, tem resistência intrínseca às polimixinas, pois esses fármacos se ligam ao alvo na membrana externa, que somente está presente em bactérias Gram negativas. Por outro lado, no caso das bactérias Gram negativas, estas têm resistência intrínseca a moléculas grandes que não conseguem penetrar em sua membrana externa, como os glicopeptídeos (NASCIMENTO e ANDRADE, 2022).

Já a propagação de resistência adquirida, é decorrente de mutações genéticas ou ganho de informações através da transferência horizontal de genes, por meio de plasmídeos, transformação, bacteriófagos e entre outros, na qual, a partir desses meios, fazem com que uma bactéria anteriormente suscetível a ação de um determinado antibiótico, torne-se uma bactéria resistente (ROSA, 2015; TEXEIRA, FIGUEIREDO e FRANÇA, 2019; BRITO e TREVISAN, 2021).

Mesmo com as mutações genéticas sendo um processo de evolução bacteriana, a transferência horizontal de genes é a principal causadora do rápido surgimento de resistência, pois com ela ocorre a inserção de um gene externo estranho originado de uma bactéria resistente para outras bactérias (ROSA, 2015).

Um desses modos de transferência ocorre através de plasmídeos. Os plasmídeos estão presentes nas bactérias e são pequenas moléculas de DNA que se diferenciam por sua reprodução independente, com eles podem conter informações vantajosas para a bactéria, como, por exemplo, a de resistência. De forma geral, a transferência acontecerá no contato de bactéria para bactéria, em um processo denominado conjugação, a partir de uma bactéria receptora apta a receber a informação, portanto, ao ocorrer a inserção do DNA plasmidial da bactéria doadora na receptora e a bactéria receptora poderá expressar essa nova informação, como também repassá-la, agindo como doadora (ORTEGA, 2019).

Na transferência de genes por transformação, ocorre a captura de um material genético presente no meio; isso acontece quando o genoma de uma bactéria que sofreu lise fica disperso vagando no meio, são capturados e incorporados no genoma da própria bactéria apta a receber essas informações (TEXEIRA, FIGUEIREDO e FRANÇA, 2019).

Outra forma de transferência de genes pode ocorrer em uma infecção por parasitas intracelulares obrigatórios, como os bacteriófagos, onde há a transdução, que pode ocorrer de forma generalizada ou especializada. Na transdução generalizada, durante a maturação dos vírions de bacteriófagos, pode ocorrer a inserção de uma fração aleatória do DNA, seja ele cromossômico, plasmidial ou até de outros bacteriófagos no DNA bacteriano, e após ocasionar a lise da célula hospedeira, estes fagos podem infectar outras bactérias repassando essa informação, benéfica ou não, para uma bactéria apta a integrar a informação contida no material genético viral (TORTORA, 2017; ORTEGA, 2019). Já na transdução especializada, os bacteriófagos que estão no ciclo de replicação lisogênico, com o seu material genético incorporado no genoma bacteriano, podem carrear genes anexados a eles, os quais estavam adjacentes, e, ao realizarem a infecção em outra célula bacteriana ou a mudança de ciclo de replicação, a informação presente no vírus poderá também ser integrada em uma nova bactéria hospedeira apta a adquirir essa informação (TORTORA, 2017; ORTEGA, 2019).

Para além dessas, também há outros modos de resistência por transferência horizontal de genes, como a transferência por transposição e por íntegrans. Na transferência por transposição, pequenas sequências de DNA, chamadas de transposons, que codificam a enzima transporase, são responsáveis por fazerem os genes se deslocarem para outra posição dentro do genoma, sendo chamados de “genes saltadores”, gerando assim, a possibilidade de transferência (ORTEGA, 2019).

Quanto aos íntegrans, eles serão responsáveis por integrar genes no genoma bacteriano, incorporando elementos chamados cassetes gênicos, nos quais vão estar presentes os genes de resistência, portanto, vão expressar qualquer gene que demonstre vantagem para a bactéria, sem alterar os já existentes (ORTEGA, 2019).

4.1.3 Mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos

Os mecanismos de ação dos antibióticos são distintos, logo, os mecanismos de resistência bacteriana também serão variados. Além do mais, as bactérias não vão se limitar a um determinado mecanismo, podendo apresentar múltiplas estratégias de resistência, passando a serem consideradas então, bactérias multirresistentes (NOGUEIRA *et al*, 2016).

Entre os mecanismos de resistência, um deles é a produção de enzimas que interferem ou modificam o alvo de ação do antibiótico. Essa interferência ocorre quando bactérias codificam genes que expressam enzimas capazes de degradar a estrutura do fármaco, do mesmo modo que elas podem trocar grupos químicos, realizando processos como glicosilação,

fosforilação e outros que modificam os antibióticos, principalmente os aminoglicosídeos (RIBEIRO, 2021).

A produção de β -lactamases é um exemplo onde a bactéria libera enzimas que realizam a degradação do antibiótico. As β -lactamases são encontradas tanto em bactérias Gram positivas, quanto em Gram negativas, mas são os principais mecanismos de defesa das bactérias Gram negativas, pois diferem das Gram positivas por agirem dentro da própria bactéria, enquanto nas bactérias gram positivas elas agem fora, na qual nas gram negativas o fármaco realiza sua ação, tornando a ação dessas enzimas mais efetiva (RIBEIRO, 2021).

As β -lactamases vão ocasionar na hidrólise dos fármacos de anel beta lactâmico, constituídos por penicilina, carbapenêmicos, monobactâmicos e cefalosporinas, portanto, essa ampla classe de fármacos não irá conseguir se ligar ao seu alvo específico, como por exemplo a proteína ligadora de penicilina (PBP), que tem envolvimento na produção do peptidoglicano, e, devido a estrutura danificada do fármaco, torna-os inúteis para realizar sua função de inibir a síntese da parede celular (ORTEGA, 2019).

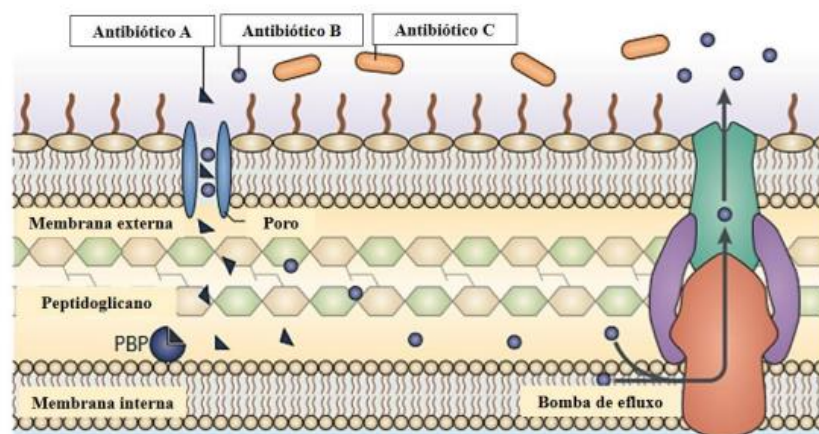
Para o antimicrobiano desempenhar sua ação específica na bactéria, deve ocorrer a interação fármaco e receptor específico. Caso contrário, o fármaco não fará sua função específica na célula bacteriana e será inútil. A alteração do sítio de ligação do antibiótico é decorrente de mutações que ocasionam na ausência do receptor específico ou a alteração desse receptor sem mudar sua função específica para a bactéria (SILVA, 2021).

Pode-se observar a alteração do sítio de ligação na classe das polimixinas, pois por elas agirem na estrutura LPS das bactérias Gram negativas, com a modificação de partes da estrutura da bactéria, decorrido de transferência de genes por plasmídeos ou por mutações genéticas, vão interferir na interação do fármaco com seu receptor específico, sem mudar a função da LPS para a bactéria (NOGUEIRA, 2016).

Na interferência da membrana bacteriana na entrada do fármaco, a bactéria age impedindo que substâncias nocivas passem para o meio intracelular e realizem sua ação específica. As porinas presentes na membrana externa de bactérias Gram negativas são canais responsáveis por regular o acesso e a saída de componentes, na qual ela é a responsável pela entrada do antibiótico para o meio intracelular bacteriano, mas ao apresentar meios de mutações que lhes conferem a diminuição da expressão ou mudança de estrutura desses canais, terá como resultado o bloqueio da entrada de fármacos em bactérias Gram negativas (NOGUEIRA et al, 2016; SCHERER et al, 2016).

Em um outro cenário com as porinas, há a entrada do antibiótico na célula bacteriana, todavia ocorre o seu retorno para o meio extracelular, fazendo com o que tenha restado dele no meio intracelular não esteja em níveis satisfatórios para realizar sua função. O mecanismo responsável por essa ação é chamado bomba de efluxo, que, normalmente, remove compostos tóxicos para fora da célula bacteriana. Em alguns casos, estas bactérias passam por mutações ou adquirem genes para expressar as proteínas com a função de expulsar o antibiótico (Figura 4). Esse mecanismo se destaca por sua forte presença nas bactérias e como auxiliar na sua resistência aos antimicrobianos (ORTEGA, 2019).

Figura 4 - Entrada pela porina, incapacidade de entrada e a extrusão de antibióticos



Legenda: PBP - Proteína de ligação a penicilina.

Adaptado de SILVA (2021)

As bombas de efluxo podem apresentar ação sobre um substrato de antibiótico específico, como a tetraciclina, como também podem agir sobre diversos substratos de diferentes antibióticos, sendo chamadas de resistentes a múltiplos antibióticos (NOGUEIRA *et al*, 2016).

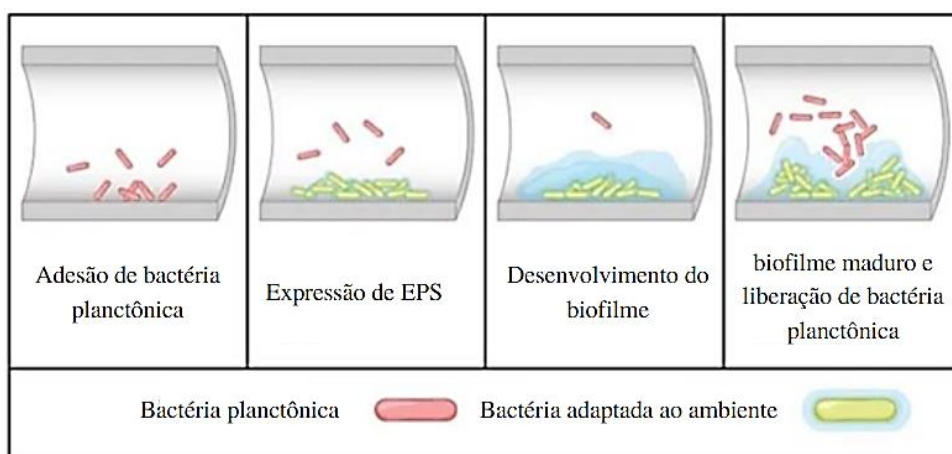
As grandes famílias de bombas de efluxo são resistência-nodulação-divisão (RND, do inglês, *resistance-nodulation-division*), Cassete de ligação de ATP (ABC, do inglês, *ATP binding cassette*), pequena resistência a múltiplas drogas (SMR, do inglês, *small multidrug resistance*) extrusão de compostos tóxicos e multidrogas (MATE, do inglês, *multidrug and toxic compound extrusion*) e superfamília facilitadora principal (MFS, do inglês, *major facilitator superfamily*) (NOGUEIRA *et al*, 2016).

De um modo geral, todas as bombas de efluxo fazem força motriz a partir de prótons e íons de sódio para remover o fármaco, menos a família ABC que retira sua energia dos ATPs para fazer essa função. Já a bomba de efluxo da família RND tem destaque por ser comum em bactérias Gram negativas e por conter uma ampla seleção de substrato para diferentes antibióticos (NOGUEIRA *et al*, 2016; ORTEGA, 2019).

Importante destacar a formação de biofilme como mais um método de resistência bacteriana, que pode se formar em lugares como cateteres médicos ou na placa dentária. Os microrganismos podem se aderir ao composto produzido pelas bactérias, transferirem informações genéticas e serem protegidos, pois o composto dificulta o acesso dos antimicrobianos, sendo um mecanismo de resistência bem difícil de tratar (ARIAS, 2015; COSTA e JUNIOR, 2017).

A formação de biofilme (Figura 5) se inicia a partir de duas partes: a primeira parte ocorre quando bactérias planctônicas, que estão livres, se aderem a uma superfície e passam por mutações para se adaptarem ao ambiente, já na segunda parte ocorre a expressão de uma matriz extracelular por substâncias poliméricas extracelulares (EPS, do inglês, *extracellular polymeric substances*) com a formação de colônias que realizam uma comunicação de célula para célula, que terminará na formação do biofilme maduro e a liberação de bactérias planctônicas para outras partes, para formação de mais biofilmes (COSTA e JUNIOR, 2017; RIBEIRO, 2021).

Figura 5 - Apresentação da formação de um biofilme



Legenda: EPS - substâncias poliméricas extracelulares

Adaptado de RIBEIRO (2021).

Em suma, é importante entender que a descoberta dos antibióticos e as distintas classes que surgiram trouxeram impacto na prevenção de doenças, entretanto, o potencial das bactérias com seus múltiplos meios que executaram ao longo do tempo para resistir aos fármacos, além da negligência pública no uso indiscriminado de antibióticos levando a resistência acelerada, fez com que a saúde pública ficasse em alerta devido ao número limitado de antibióticos disponíveis e pela ausência de novos fármacos para fazer frente às bactérias multirresistentes, portanto, a descoberta acelerada de antibióticos deve ocorrer ou novos horizontes devem ser utilizados, podendo eles serem possíveis substitutos ou adjuvantes a antibioticoterapia (LOBA, 2014).

4.2 CAPÍTULO 2 – FAGOTERAPIA

4.2.1 Enquadramento Histórico

A história dos bacteriófagos é antiga, tendo registros em 1896, com o bacteriologista Ernest Hanking, que postulou que nos rios Ganges e Jumna na Índia, havia um agente que ocasionava uma ação antibacteriana frente ao *Vibrio cholerae* (ROTHWELL, 2014).

Em 1915, Frederick Twort observou que suas placas bacterianas estavam transparentes e que as bactérias não conseguiam se replicar, logo, concluiu que o causador da morte bacteriana era um agente filtrável, mas, infelizmente, as pesquisas de Twort não avançaram devido a primeira guerra mundial (LOBA, 2014; MYELNIKOV, 2018).

Em 1917, o microbiologista Félix d’Herelle cunhou o termo bacteriófago, Ele registrou que um agente invisível ocasionava na morte de sua cultura bacteriana, observando o mesmo que Frederick Twort, onde havia ali uma parte transparente seguida de uma incapacidade de replicação bacteriana, chegando à conclusão que ele estava lidando com um parasita intracelular obrigatório, que necessitava das células viáveis para se replicar (ROTHWELL, 2014; MYELNIKOV, 2018).

Com d’Herelle descobrindo que os bacteriófagos são capazes de causar a morte das bactérias, em 1919, foi possível isolar fagos a partir de fezes de soldados e utilizá-los para o tratamento de crianças que sofriam de disenteria grave no hospital *Enfants malades*, da capital francesa, resultando em uma boa redução no tempo de recuperação dos pacientes (ABEDON *et al*, 2011; ROTHWELL, 2014).

Apesar dos resultados promissores, a utilização da fagoterapia por d’Herelle não foi muito popular, pois a descoberta da antibioticoterapia, iniciada na década de 40, era mais eficaz que o uso dos bacteriófagos. Ainda assim, a fagoterapia prosseguiu em alguns países do oriente, como a antiga união soviética (ABEDON *et al*, 2011; ROTHWELL, 2014).

Por outro lado, na atualidade, devido ao surgimento de bactérias multirresistentes aos antibióticos, formas de ajudar no mecanismo de ação ou de substituir os antibióticos vêm sendo pesquisadas e o tratamento por bacteriófagos ganhou força novamente, como alternativa à ineficácia dos antibióticos (ABEDON *et al*, 2011; MYELNIKOV, 2018).

4.2.2 Bacteriófagos

Os bacteriófagos são um grupo de vírus caracterizado por sua capacidade de infectar células procarióticas e, portanto, desempenham um papel importante no equilíbrio e evolução

de organismos pertencentes ao reino das bactérias e das archaea. Esses vírus coexistem com as bactérias, são estimuladores da sua evolução e se encontram em elevada quantidade na biosfera, fazendo com que sejam um dos agentes mais abundantes da Terra (ROMERO, 2020).

O genoma viral do bacteriófago pode apresentar-se sob a forma de DNA ou RNA, de cadeia simples ou dupla, na conformação linear, circular ou enrolada. No entanto, a grande maioria dos fagos possuem uma molécula linear de cadeia dupla DNA (ROMERO, 2020).

A estrutura básica dos bacteriófagos consiste na parte superior formada por um capsídeo, que é uma estrutura constituída por subunidades proteicas e que envolve o material genético, protegendo-o. O capsídeo pode possuir, também, proteínas que lhes conferem especificidade para determinadas células bacterianas. Já na parte inferior do corpo do bacteriófago, na cauda, ele possui uma placa basal conectada a fibras e espículas que apresentam proteínas específicas que interagem com os receptores de membrana de bactérias específicas, portanto, vão desempenhar um papel importante para a infecção, inserindo o material genético no hospedeiro (LOBA, 2014).

Os bacteriófagos possuem uma grande variedade de estrutura e tamanho, sendo classificados de acordo com a forma de seu capsídeo, como complexos, icosaédricos, filamentosos ou circulares. Como exemplo, podemos citar os grupos de fagos com cauda, a ordem *Caudovirales*, que é representado por três famílias distintas *Myoviridae*, *Siphoviridae* e *Podoviridae*, na qual a família *Myoviridae* e *Siphoviridae* possuem os maiores bacteriófagos, e a família *Podoviridae* os menores. Além disso, os bacteriófagos da família *Myoviridae* tem uma cauda longa e flexível, os bacteriófagos da família *Siphoviridae* possuem uma cauda longa e rígida, enquanto os fagos da família *Podoviridae* possuem uma cauda curta (LOBA, 2014; ROMERO, 2020).

4.2.3 Ciclos de replicação dos bacteriófagos

Esses parasitas intracelulares obrigatórios apresentam dois principais ciclos de replicação (Figura 6) e são divididos em virulentos e temperados. Os virulentos têm o ciclo de replicação lítico como representante, no qual ocasionam a morte da célula hospedeira, já os temperados têm o ciclo lisogênico e que não ocasionam na morte da célula bacteriana, podendo ocorrer variações como o ciclo de replicação pseudolisogênico e o ciclo de infecção crônico (PÉREZ 2020).

O ciclo de replicação lítico, como já citado, é conhecido por causar a lise da célula bacteriana, uma vez que desencadeará na morte da célula hospedeira, após utilizar a própria

bactéria para se replicar e produzir suas proteínas e ácidos nucleicos. Após o egresso da bactéria, os novos vírions irão infectar outras células bacterianas (LOBA, 2014).

O ciclo de replicação lítico é dividido em cinco etapas: a primeira etapa é a adsorção, na qual o bacteriófago através de suas proteínas específicas interage com os receptores da célula bacteriana que são as proteínas, LPS, flagelo e entre outros (PÉREZ 2020). A segunda etapa do processo é a penetração, processo pelo qual o bacteriófago penetra na bactéria. A terceira etapa é a replicação, que é o processo no qual o vírus se replica dentro da célula, produzindo novos vírions (partículas virais), seguido da quarta etapa que é o desenvolvimento dos vírions, passando por maturação, e na última etapa ocorre a saída dos fagos por lise, com a liberação de endolisinas que degradam o peptidoglicano, levando a um desequilíbrio osmótico. Sendo assim, quando há uma numerosa quantidade de vírus no meio intracelular, estes fazem com que a membrana celular não suporte e a bactéria seja eliminada (LOBA, 2014; PÉREZ, 2020).

No ciclo de replicação lisogênico, ocorre do mesmo modo, uma interação entre vírus e seu receptor específico, ocasionando a adsorção do vírus na célula hospedeira, porém diferente do ciclo lítico, no ciclo lisogênico, há inclusão do material genético viral no genoma bacteriano ou até no plasmídeo bacteriano, não levará à destruição da célula bacteriana, onde o hospedeiro continuará vivo com o vírus se mantendo “silencioso” em seu genoma e permanecendo ali por tempo indeterminado, sendo chamado de prófago. A alternância para o ciclo de infecção lítica pode ocorrer quando o prófago passa por “estresses”, como mudanças de temperatura, substâncias químicas, exposição aos raios ultravioleta e outros, que podem fazer com que o fago saia de seu estado de dormência (LOBA, 2014; ROSA, 2015).

Na infecção crônica, a bactéria resiste a ação dos bacteriófagos, não possibilitando que eles realizem a lise. Isso faz com que a liberação do fago do hospedeiro seja por exocitose ou por brotamento, com a diferença de que, por exocitose, o fago será liberado pela bactéria para o meio extracelular, sem romper a membrana ou causar a morte da própria, e por brotamento o vírus levará temporariamente uma parte da membrana com ele, não sendo algo comum de ocorrer entre os bacteriófagos e que também não acarretará na morte da bactéria (ROSA, 2015; SILVA e NOGUEIRA, 2022).

Já pelo ciclo de replicação pseudo-lisogênico, há a coexistência de células resistentes não permissíveis e células suscetíveis a adsorção do bacteriófago, onde há a falta ou ausência de nutrientes e energia do hospedeiro para ocorrer a replicação e ação das partículas virais, fazendo com que os fagos fiquem entre o ciclo lítico e o lisogênico, sem entrar no estado de

dormência como profago e também sem causar a lise bacteriana, sendo suscetível a passar por transdução e favorecer a resistência bacteriana (PÉRES,2020; ROSA, 2015).

4.2.4 Prática clínica

Como já dito, no passado, muitos estudos sobre a fagoterapia para tratamento de infecções foram realizados em diferentes países ocidentais que abandonaram esta terapia, todavia, países como Rússia, Geórgia e Polônia continuaram com essas técnicas, obtendo experiência, seguido de informações e retornos positivos sobre o tratamento utilizando bacteriófagos. Além disso, em grande parte dos estudos feitos, os fagos não são capazes de ocasionar doenças, afetar células humanas ou acarretar efeitos indesejáveis relevantes, portanto, são considerados seguros (ROTHWELL, 2014).

A fagoterapia envolve a infusão de bacteriófagos específicos e exclusivamente de infecção lítica, frente à bactéria causadora da infecção. Os fagos são selecionados de acordo com a bactéria alvo e com a análise de variáveis, como meios de administração, ciclo de replicação, efeitos adversos, virulência, produção de lisinas, resistência e entre outros fatores (ROMERO, 2020).

O tratamento é feito com preparações (coquetéis) de um bacteriófago específico ou preparações com múltiplos fagos, tendo em vista que a aplicação de múltiplos bacteriófagos dificulta o desenvolvimento da resistência bacteriana, pois, devido ao amplo campo de receptores, irá compensar caso algum dos bacteriófagos selecionados na preparação não tenha a atividade desejada (LA PENA, 2020).

Na Geórgia e Rússia, são utilizadas formulações criadas por d'Herelle, chamadas de coquetéis *Pyophage* e *Intestiphage*, já pela Polônia, são utilizados banco de dados com múltiplos bacteriófagos. Os coquetéis *pyophage* são usados frente a bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* sp. entre outras, enquanto os coquetéis *Intestiphage* são referentes às bactérias entéricas, como *Shigella* e *E. coli*. Nos bancos de dados de fagos é possível encontrar agentes frente a diferentes gêneros como: *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter* e *Pseudomonas* (ROTHWELL, 2014; ROSA, 2015).

Na atualidade, há experiências e estudos com bons resultados da fagoterapia sobre doenças como úlceras, diarreia, septicemias, infecções respiratórias, infecções do trato urinário, queimaduras, entre outros, tendo diferentes vias de administração, como: a via tópica, entérica, inalatória, enteral ou intravenosa (ROMERO, 2020).

Podemos considerar importantes nessa terapia, os trabalhos de Rhoads e colaboradores (2009), que utilizaram coquetéis de fagos para tratamento de úlceras venosas na perna, causadas por *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *E. coli*, aplicando-os por via tópica em 20 pacientes (RHOADS *et al*, 2009). O tratamento também foi utilizado por Marozova e equipe (2018), que aplicaram bacteriófagos como tratamento adicional em infecções de úlceras do pé diabético, obtendo resultados positivos, tendo em vista o complicado tratamento com antibiótico devido a formação de biofilmes resistentes, fazendo com que a cicatrização seja lenta (MAROZOVA *et al*, 2018).

Em infecções no trato urinário, devido às bactérias multirresistentes e pela formação de biofilmes, os antibióticos são incapazes de realizar sua função, por isso o trabalho de Ujmajuridze e equipe (2018) enfatizara a importância de controlar as infecções uropatogênicas utilizando a fagoterapia. Eles visaram encontrar mais resultados sobre a efeito de fagos comercialmente disponíveis adaptados aos uropatógenos e, ao final do estudo, os pacientes tratados não apresentaram efeitos adversos, demonstrando que os fagos podem ser utilizados com eficácia frente aos patógenos do trato urinário (UJMAJURIDZE *et al*, 2018).

Na mesma linha de pesquisa, Zalewska-Piatek e Piatek (2020) também abordaram a importância de uma alternativa, na qual a fagoterapia seria um meio necessário para fazer frente e controlar as complicadas infecções persistentes no trato urinário (ZALEWSKA-PIATEK e PIATEK, 2020).

Em 2020, na Austrália, Fabijan e colaboradores utilizaram bacteriófagos para tratamentos emergenciais. Eles relataram eficácia sem efeitos adversos, no seu uso como terapia adjuvante, na qual ocorreu a preparação de coquetéis com três bacteriófagos da família *Myoviridae* frente a uma grave infecção por *S. aureus* resistente, administrando-os por via intravenosa (FARBIJAN *et al*, 2020).

Já em um caso clínico de um paciente de 12 anos com fibrose cística, que necessitava ter o auxílio de oxigenação, a fagoterapia foi utilizada como tratamento frente a uma infecção pulmonar crônica por *Achromobacter xylosoxidans* multirresistente. Após duas rodadas de coquetéis de fagos por nebulização, suas condições respiratórias foram melhorando aos poucos, obtendo sucesso ao final da terapia (LEBEAUX *et al*, 2021).

4.2.5 Comparativa com os antibióticos

A princípio, como dito anteriormente, os bacteriófagos são entidades replicantes mais abundantes do planeta e que estão em constante evolução, portanto, eles podem ser explorados

e utilizados de ilimitados modos, sendo uma ótima alternativa visando o longo prazo. Além disso, eles podem ser modificados para descartar limitações, torná-los mais virulentos, possibilitar sinergias e melhorar sua ação terapêutica frente a uma infecção (LOBA, 2014; ROMERO, 2020).

Ao contrário da antibioticoterapia, que afeta não só a bactéria causadora da infecção, mas também a microbiota bacteriana ao redor, a fagoterapia será personalizada de acordo com a infecção, pois os fagos serão específicos para as bactérias causadoras da doença, ou seja, os tratamentos serão livres de efeito adversos relacionados a destruição da microbiota benéfica do corpo (ROMERO, 2020).

Por um outro lado, sendo os fagos específicos para a bactéria causadora da infecção, é necessário realizar um diagnóstico preciso da bactéria infectante, o que necessita de tempo e recursos. Ademais, os bacteriófagos, por serem agentes que se replicam e matam o hospedeiro, não serão necessárias altas doses dos mesmos, mas é importante considerar que, por também serem antígenos, sua eficácia pode ser reduzida quando são expulsos pelo sistema imunológico (LA PEÑA, 2020).

Os bacteriófagos também podem realizar a transferência horizontal de genes, assim, se fagos possuírem genes de resistência a determinado antibiótico adquirido durante uma infecção, na infecção em um outro hospedeiro, há a possibilidade da aquisição de genes pelo próprio. Entretanto, isso é mais comum de ocorrer em bacteriófagos temperados, que estão no ciclo lisogênico (ROSA, 2015; LA PEÑA, 2020).

Outro cenário importante a considerar é que, como na fagoterapia, utilizam-se os fagos de ciclo lítico, no fim do seu processo de infecção podem ocasionar num efeito indesejável, caso ocorra junto à lise bacteriana a liberação de enterotoxinas, que podem também prejudicar o estado do paciente (ROSA, 2015; LA PEÑA, 2020).

Desta forma, mesmo a fagoterapia sendo uma alternativa promissora frente às bactérias resistentes, mais estudos explorando sua eficácia devem ser apresentados, além da necessidade de formações específicas para um conhecimento de preparação, aplicação e prescrição de fagos (ROMERO, 2020; ROTHWELL, 2014).

4.3 CAPITULO 3 - BACTERIÓFAGOS E ANTIBIÓTICOS

4.3.1 Combinação fago-antibiótico

A fagoterapia é uma alternativa promissora ao antibiótico para tratar infecções por bactérias resistentes, mas mesmo a terapia por bacteriófagos tendo vantagens em decorrência da evolução e da abundância de fagos no planeta, essa terapia pode sofrer com os mesmos problemas observados na antibioticoterapia e, portanto, não exercer função terapêutica (TAGLIAFERRI *et al*, 2019).

Devido à ausência de novos fármacos e da ameaça de um estoque limitado frente às bactérias multirresistentes, já se sabe sobre o potencial da fagoterapia como alternativa aos antibióticos, todavia, ao invés de utilizar os fagos no propósito de terapia única, pode-se utilizá-los em combinações com antibióticos para potencializar a ação frente a uma infecção persistente (TAGLIAFERRI *et al*, 2019).

O raciocínio para o uso combinado de bacteriófagos e antibióticos é devido ao potencial terapêutico de duas terapias completamente diferentes, na qual, provavelmente, será superior aos efeitos únicos adquiridos de ambos e, portanto, poderá alavancar uma melhor ação sobre a morte de bactérias multirresistentes e biofilmes (TORRES-BARCELÓ e HOCHBERG, 2016; ROMERO, 2020).

A combinação de fago com antibióticos pode ter uma variedade de resultados, incluindo efeitos aditivos, sinérgicos, ineficazes ou antagônicos. No estudo de Torres barceló e colaboradores (2016), chegou-se à conclusão que a evolução bacteriana tem limitações genéticas, pois, mutações genéticas contra os fagos ou aos antibióticos, são retardados pelos custos de adequação que geram para a bactéria, como também, adquirir resistência a bacteriófagos poderá culminar na restauração de suscetibilidade aos antibióticos (TORRES-BARCELÓ e HOCHBERG, 2016).

O caso da restauração da suscetibilidade bacteriana aos antibióticos é referente ao uso da terapia de um bacteriófago específico de mesmo receptor, pois isso forçará uma resistência bacteriana a ele, assim, após a mutação no receptor alvo do fago, ocorrerá uma nova sensibilidade ao antibiótico (TORRES-BARCELÓ e HOCHBERG, 2016).

O estudo de Chan e colaboradores (2018), sugere que a terapia por bacteriófagos alcança o sucesso quando o fago não apenas elimina a bactéria alvo, mas também quando as bactérias desenvolvem resistência aos fagos, na qual elas voltam a ter sensibilidade ao antibiótico,

ocorrendo assim uma troca evolutiva (CHAN *et al*, 2018; OPPERMAM, WOJNO e BRINK, 2022).

No estudo, eles identificaram um fago que parece utilizar proteínas da membrana externa dos sistemas de bomba de efluxo multirresistente de *P. aeruginosa* para infecção viral, logo, os fagos exercem pressão evolutiva para que as bactérias façam algum movimento em torno de seu receptor específico, e, por meio das mutações, fazem com que ela tenha resistência ao fago, alterando as proteínas da bomba de efluxo na qual o fago se liga. Após essa alteração, a bomba de efluxo perde a capacidade de expulsar antibióticos (CHAN *et al*, 2018).

5.3.2 Sinergia fago-antibiótico (PAS)

Importante entender o termo "sinergia", na qual surge com o uso do efeito de dois agentes distintos e combinado, que é mais forte em comparação aos efeitos individuais. A par disso, entende-se o fenômeno da sinergia fago-antibiótico (PAS, do inglês, *phage antibiotic synergy*), que é referente ao uso do antibiótico como fator de estimulação de bacteriófagos líticos na bactéria hospedeira e, portanto, a partir de doses subletais do fármaco, pode desencadear um efeito sinérgico com bacteriófagos (TORRES-BARCELÓ *et al*, 2018; LI *et al*, 2021).

Na PAS, os antibióticos afetam significativamente os bacteriófagos, começando pelo período de latência. Um estudo com fagos e uma população de *E. coli*, demonstrou que o fago tinha um período latente de 24 minutos no hospedeiro com aplicação única sem antibiótico, mas ao adicionar o antibiótico cefotaxima, o tempo latente caiu para 18 minutos. Além disso, a PAS também resulta no aumento da concentração, adsorção e virulência de bacteriófagos (LI *et al*, 2021).

Ademais, os diferentes estudos feitos com diferentes combinações fago-antibióticos provam ter sucesso, onde múltiplas classes de antibióticos demonstraram realizar o fenômeno da PAS, sendo efetivo também contra biofilmes, devido a habilidade de alguns bacteriófagos de penetrar e degradar a matriz extracelular produzida pela bactéria e encontrar seu receptor específico na superfície do hospedeiro, promovendo a ação do antibiótico, na qual o fago abrirá caminho para o fármaco (OPPERMAM, WOJNO e BRINK, 2022; TAGLIAFERRI, 2019).

Contudo, pode-se esperar efeitos antagônicos de alguns antibióticos aos fagos, como o a rifampicina, que age sobre a RNA polimerase da bactéria, uma vez que, para a replicação das partículas virais dos fagos, eles necessitam da RNA polimerase da bactéria. Portanto, este fármaco inibe a produção dos vírions e é antagônico aos bacteriófagos (LI *et al*, 2021).

Já nos testes de Torres Barceló e equipe (2018), houve efeitos negativos, na qual o fenômeno de PAS não foi observado, onde a densidade e a ação dos fagos diminuíram na maioria dos testes devido a presença do fármaco. Entretanto, ao decorrer de uma semana, percebeu-se que os fagos se adaptaram ao ambiente com a presença de antibióticos e não ocorreu os efeitos negativos observados anteriormente (TORRES-BARCELÓ *et al*, 2018).

O patógeno oportunista, *P. aeruginosa*, está frequentemente envolvido em uma gama de estudos de sinergia devido ao importante impacto clínico que causa, relacionado à infecções do trato urinário, queimaduras, fibrose cística e entre outras. Os biofilmes e culturas planctônicas de *P. aeruginosa* foram o alvo de muitos estudos, como o de Chaudhry e sua equipe (2017) que avaliaram o uso de dois bacteriófagos, um da família *Siphoviridae* e outro da *Myoviridae*, na combinação com ceftazidima, ciprofloxacina, colistina, gentamicina e tobramicina frente ao biofilme de *P. aeruginosa*, apresentando atividade considerável (CHAUDHRYE *et al*, 2017; TAGLIAFERRI, 2019). Cada antimicrobiano mostrou uma eficácia média contra o biofilme, mas, ao aplicarem simultaneamente, a sinergia entre os agentes foi observada, como no caso da sinergia entre os dois fagos, eliminando uma fração maior de células em conjunto, em relação ao uso único. Além disso, aplicar uma dose específica de tobramicina resultou numa maior replicação do fago e na significável morte bacteriana em relação aos outros testes, reduzindo as bactérias a níveis abaixo das quais podiam se replicar (CHAUDHRYE *et al*, 2017).

Já a partir de outra dose de tobramicina junto ao fago, ocorreram resultados abaixo do esperado, quando comparados ao uso único, portanto, a partir dos diferentes testes, o principal fator para a sinergia de bacteriófagos e antibióticos para se ter uma aplicação bem-sucedida, deve ser de acordo com a dosagem e o momento certo da adição do fármaco (CHAUDHRYE *et al*, 2017).

Já no quesito da evolução, a imposição de duas pressões seletivas distintas pode reduzir drasticamente as chances de as bactérias desenvolverem resistência, todavia, do mesmo modo, não está descartada a possibilidade do surgimento de resistência dupla, tanto para o bacteriófago quanto para o antibiótico (TORRES-BARCELÓ e HOCHBERG, 2016). Em suma, os resultados são encorajadores e nos mostram que a fagoterapia, junto ao antibiótico e a PAS, pode ser um potencial alternativa a ser explorada quando surgirem casos futuros, onde antibióticos venham a ter uma ação mínima ou completamente nula frente às bactérias multirresistentes (LI *et al*, 2021; OPPERMAM, WOJNO e BRINK, 2022).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este presente trabalho abordou sobre os mecanismos de ação dos antibióticos e a aquisição de resistência bacteriana aos fármacos, problematizando o uso indiscriminado de antibióticos e dissertando sobre o uso da fagoterapia como alternativa a antibioticoterapia, além de seu uso combinado com os próprios. A pesquisa com os bacteriófagos vem despertando o interesse nos últimos anos devido ao surgimento das bactérias multirresistentes. Por sua vez, o tratamento com bacteriófagos se mostra promissor em casos de resistência bacteriana, uma vez que tais vírus se adaptam e até superam os mecanismos de resistência das bactérias, fazendo com que não sejam inativados tão rapidamente como ocorre com os antibióticos. Além disso, o uso combinado e sinérgico aos antibióticos se mostra ainda mais promissor, onde há a potencialização da atividade e até a possibilidade do retorno de cepas resistentes à sensibilidade frente a determinados fármacos. Todavia, apesar dos resultados encontrados serem promissores e destacarem o potencial da fagoterapia e do sinergismo, mais estudos se fazem necessários para que seja possível implementar essa metodologia na medicina como uma alternativa de tratamento para infecções causadas por bactérias resistentes aos antibióticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, G.M.F; SUNDBERG, L.R. The forgotten tale of Brazilian phage therapy. **The lancet**, infectious diseases. v. 20, n. 5, p. 90-101, 2020.
- ABEDON, S.T, *et al.* Phage treatment of human infections. **Bacteriophage**, v. 1, n. 2, p. 66-85, 2011.
- ARIAS, L.C. Bactéria-Biofilmes y resistencia antimicrobiana. **Revista Facultad Ciencias de la Salud. Universidad del Cauca**. v. 17, n. 1, 2015.
- ANDRADE, L.G.; NASCIMENTO R.D.M. Infecção hospitalar e multirresistência bacteriana. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**. v. 8, n. 3, 2022.
- ANVISA. **Antimicrobianos - base teóricas e uso clínico, 2007**. Disponível em: https://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo1/conceitos.htm. Acesso em: 20 de setembro de 2022.
- BLAIR, J. M. *et al.* Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance. **Nature**, v. 13, p. 42-51, 2015.
- BRITO, G.B. ; TREVISAN, M. O uso indevido de antibióticos e o eminente risco de resistência bacteriana, **Revista Artigos.Com**. v. 30, p. 1-9, 2021.
- CHAN B.K, *et al.* Phage treatment of an aortic graft infected with *Pseudomonas aeruginosa*. **Evolution, Medicine, and Public Health**, v 2018, n. 1, p 60-66, 2018.
- CHAUDHRYE, W.N. *et al.* Synergy and Order Effects of Antibiotics and Phages in Killing *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. **Plos one, Research article**. v. 12, n. 1, p. 1-13, 2017.
- COSTA, A.L.P. ; JUNIOR, A.C.S.S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.
- CRISTALDO, Y.C. *et al.* O uso indiscriminado de antibióticos e sua relação com a resistência bacteriana. **Tópicos especiais em ciência da saúde: teoria, métodos e práticas 5**. Cap. 10. p. 117-128, 2022.
- FARBIJAN, A.B, *et al.* Safety of bacteriophage therapy in severe *Staphylococcus aureus* infection. **Nature Microbiology**, v. 5, p. 465-472, 2020.
- FREIRES, M.S; JUNIOR, O.M.R. Resistência bacteriana pelo uso indiscriminado da azitromicina frente a Covid-19: uma revisão integrativa, **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2022.
- GERALDO-HOYOS, Nicolás. História de la penicilina: más allá de los héroes, una construcción social, **LATREIA**, v.34, n. 02, p. 172-179, 2021.
- LA PEÑA, M.M. **Bacteriófagos, una herramienta prometedora contra las bacterias multirresistentes**. Trabalho de conclusão de curso (Faculdade de Ciências) – Departamento de Bioquímica, Biologia celular e genética, Universidade de La Laguna. 2020.
- LIMA, C. C. BENJAMIM, S.C.C; SANTOS, R.F.S. Mecanismo de resistência bacteriana frente aos fármacos : uma revisão. **CuidArte Enfermagem**, v. 11, n. 1, p. 105-113, 2017.
- LI, X, *et al.* A combination therapy of Phages and Antibiotics: Two is better than one **International Journal of Biological Sciences**. v. 17, n. 13, p. 3573-3582, 2021.

LEABEAUX, D. *et al.* A Case of Phage Therapy against Pandrug-Resistant *Achromobacter xylosoxidans* in a 12-Year-Old Lung-Transplanted Cystic Fibrosis Patient. **Viruses**, v 13, n.60, p. 1-10, 2021.

LOBA, A.F.F.R. **Fagoterapia como alternativa ao uso de antibióticos convencionais.** Dissertação (Mestrado em Ciências farmacêuticas) - Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. 2014.

MARZOVA, V.V, et al. Bacteriophage treatment of infected diabetic foot ulcers. Bacteriophage Therapy, **Humana Press, New York, NY**. v.1693, p. 151-158, 2018

MYELNIKOV, D. An Alternative Cure The Adoption and Survival of Bacteriophage Therapy in the USSR, 1922-1955 **Journal of the History of Medicine and Allied Sciences**. v. 73, n. 04, 2018.

NOGUEIRA, H. S. *et al.* Antibacterianos: principais classes, mecanismos de ação e resistência. **Unimontes Científica**, v. 18, n. 2, p. 96-108, 2016.

OMS; OPAS. **Novo relatório pede ação urgente para evitar crise de resistência antimicrobiana.** 2019. Disponível em: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5922:novo-relatorio-pede-acao-urgente-para-evitar-crise-de-resistencia-antimicrobiana&Itemid=812. Acesso em: 15 de março de 2022.

OPAS. **OMS Publica lista de bactérias para as quais se necessitam novos antibióticos urgente.** 2017. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/27-2-2017-oms-publica-lista-bacterias-para-quais-se-necessitam-novos-antibioticos>. Acesso em: 15 de março de 2022

OPAS. **Américas notificam aumento de infecções resistentes a medicamentos devido ao uso indevido de antimicrobianos durante a pandemia.** 2021. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/17-11-2021-americas-notificam-aumento-infeccoes-resistentes-medicamentos-devido-ao-uso>. Acesso em: 01 de outubro de 2022.

OPPERMAM. C.J; WOJNO, J.M; BRINK, A.J. Treating bacterial infections with bacteriophages in the 21st century. **Southen african journal of infectious.diseases**. v. 37, n. 1, p. 1-7, 2022

ORTEGA, L.L. **Resistência bacteriana: aquisição, mecanismos e prevenção.** Trabalho de conclusão de curso (graduação) no departamento de odontologia, Universidade federal de Santa Catarina. 2019.

PEREIRA, T.J; ANDRADE, L.G; ABREU, T.P. O farmacêutico frente ao risco do uso irracional de antibióticos. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**. v.7. n.9. p. 482-500, 2021.

PÉRES, K.A.B. **Bacteriófagos como alternativa antimicrobiana y suaplicación en la medicina veterinaria y zootecnia.** Monografia, Facultad de medicina veterinaria y zootecnia. Universidade de cordoba. 2020

ROMERO, J.M.S. **Los bacteriófagos como alternativa terapéutica a los antibióticos.** Monografia (Bacharelado em Farmácia), Faculdade de Farmacia, Universidade de Sevilla. 2020.

RIBEIRO, E.A. *et al*, Impacto da pandemia de COVID-19 na ocorrência de resistência bacteriana frente aos antimicrobianos - revisão integrativa. **Brazilian Journal of Development**. v.8, n.7, p. 54080-54099, 2022.

- RIBEIRO, B.D.D. Novos compostos antimicrobianos no combate à resistência bacteriana a antibióticos. **Faculdade de Ciências e Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade do Porto** (Mestrado em Bioquímica), 2021.
- ROCHA E.J.O. **Resistência bacteriana a antibiótico: uma revisão**. Trabalho de conclusão de curso (Licenciatura Ciência em Biológicas), Instituto federal goiano, 2021.
- RHOADS D. D., *et al.* Bacteriophage therapy of venous leg ulcers in humans: results of a phase I safety trial. **Journal of wound care**, v. 18, n. 6, 237-243, 2009.
- ROSA J.E.C. **Multirresistência bacteriana – uma “nova” terapêutica: Bacteriófagos**. Dissertação (Mestrado em medicina), Universidade da beira interior, Portugal, 2015.
- SILVA L.O.P; NOGUEIRA J.R.M. Uso de bacteriófagos como alternativa no controle de infecções bacterianas, **Research, Society and Development**, v. 11, n. 11. p. 1-14 2022.
- SILVA L.O.P; NOGUEIRA J.R.M; ALVES E.A. Consequências do uso indiscriminado de antimicrobianos durante a pandemia de COVID-19. **Brazilian Journal of Development**. v. 8, n. 2, p. 10381-10389, 2022.
- SILVA S.M. **Investigação de genes de resistência e fatores associados a formação de biofilme em *Providencia stuartii***. Trabalho de conclusão de curso (Especialização em bioquímica e fisiologia), Universidade federal de Pernambuco, 2021.
- SCHERER C.B. *et al.* Mecanismos de ação de antimicrobianos e resistência bacteriana. **Revista de Educação Continuada em Dermatologia e Alergologia Veterinária**. v. 4, n. 13, p. 12-20, 2017.
- TAGLIAFERRI T.L., *et al.* Fighting Pathogenic Bacteria on Two Fronts: Phages and Antibiotics as Combined Strategy. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 9, n. 22, p. 1-13, 2019.
- TEXEIRA A.R; FIGUEIREDO A.F.C; FRANÇA R.F. Resistência bacteriana relacionada ao uso indiscriminado de antibióticos. **Revista Saúde em Foco**, Edição n. 11, 2019.
- TORRES-BARCELÓ, C.; HOCHBERG, M. E. Evolutionary rationale for phages as complements of antibiotics. **Trends in microbiology**, v. 24, n. 4, p. 249-256, 2016.
- TORRES-BARCELÓ C, *et al.* Transient negative effects of antibiotics on phages do not jeopardise the advantages of combination therapies. **FEMS Microbiology Ecology**. v. 94, n. 8, p. 1-9, 2018.
- TORTORA, G. J., *et al.* **Microbiologia-12ª Edição**. Artmed Editora, 2017.
- UJMAJURIDZE, A. *et al.* Adapted bacteriophages for treating urinary tract infections. **Front. Microbiol.** v. 9, p. 1-7, 2018.
- ZALEWSKA-PIATEK, B; PIATEK, R. Phage Therapy as a Novel Strategy in the Treatment of Urinary Tract Infections Caused by *E. Coli*, **Antibiotics**, v. 9, n. 304, p. 1-20, 2020.