



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA MÉDICA

ÉRICA RAYANNE MOTA DA COSTA

**EFEITO DA PROMETAZINA ISOLADA E EM ASSOCIAÇÃO A
ANTIBACTERIANOS FRENTE À CEPAS DE *Staphylococcus aureus* E SUA AÇÃO
PREVENTIVA NA FORMAÇÃO DE BIOFILMES EM CATETER DE SILICONE**

FORTALEZA

2024

ÉRICA RAYANNE MOTA DA COSTA

EFEITO DA PROMETAZINA ISOLADA E EM ASSOCIAÇÃO A ANTIBACTERIANOS
FRENTE À CEPAS DE *Staphylococcus aureus* E SUA AÇÃO PREVENTIVA NA
FORMAÇÃO DE BIOFILMES EM CATETER DE SILICONE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Médica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Microbiologia Médica. Área de concentração: Microbiologia Humana e Animal.

Orientador: Prof. Dr. Hélio Vitoriano Nobre Júnior

Coorientadora: Profa. Dra. Cecília Rocha da Silva

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- D11e da Costa, Érica Rayanne Mota.
Efeito da prometazina isolada e em associação a antibacterianos frente à cepas de *Staphylococcus aureus* e sua ação preventiva na formação de biofilmes em cateter de silicone / Érica Rayanne Mota da Costa. – 2024. 98 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Médica, Fortaleza, 2024.
Orientação: Prof. Dr. Hélio Vitoriano Nobre Júnior.
Coorientação: Profa. Dra. Cecília Rocha da Silva.
1. *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina. 2. Prometazina. 3. Reposicionamento de fármacos. 4. Biofilme. 5. Infecções urinárias associadas a cateter. I. Título.

CDD 616.9

ÉRICA RAYANNE MOTA DA COSTA

EFEITO DA PROMETAZINA ISOLADA E EM ASSOCIAÇÃO A ANTIBACTERIANOS
FRENTE À CEPAS DE *Staphylococcus aureus* E SUA AÇÃO PREVENTIVA NA
FORMAÇÃO DE BIOFILMES EM CATETER DE SILICONE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Médica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Microbiologia Médica. Área de concentração: Microbiologia Humana e Animal.

Aprovada em: 18/07/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Hélio Vitoriano Nobre Júnior (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Iri Sandro Pampolha Lima
Universidade Federal do Cariri (UFCA)

Prof. Dr. Hemerson Iury Ferreira Magalhães
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Profª. Dra. Ana Cristina de Oliveira Monteiro-Moreira
Universidade de Fortaleza (Unifor)

À Deus.

À minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pelo dom da vida e por tudo que tem me proporcionado até aqui.

À minha mãe, Francisca Edina, por ser meu pilar e a razão de todo meu esforço. Ao meu namorado Dyllan Dias, por toda parceria. Ao meu cachorro Nick, pelas incontáveis alegrias durante os momentos que passamos juntos.

À Ma. Vitória Farias, pelo apoio, disponibilidade e paciência ao longo de toda realização deste estudo. Agradeço também ao Me. Daniel Sampaio e a Ma. Amanda Dias pelo valioso auxílio prestado nas etapas conclusivas desta pesquisa.

À Ma. Lara Moreira, Janielly Castelo Branco, Tatiana Paiva e Leilson Carvalho, minha gratidão por todo amparo, acadêmico e emocional, durante os desafios enfrentados no decorrer da pós-graduação.

Aos demais participantes do Laboratório de Bioprospecção de Moléculas Antimicrobianas (LABIMAN), que contribuíram de forma direta ou indiretamente para a concretização deste trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Hélio Vitoriano, pela confiança, paciência, por todas as novas oportunidades proporcionadas e pelos valiosos conselhos fornecidos.

Às Profas. Dra. Cecília Rocha e Dra. Livia Gurgel, minha gratidão pelo suporte contínuo, pelas ideias inspiradoras, pelos conselhos e contribuições.

Ao Prof. Dr. João Batista, por me apresentar o mundo da pesquisa, por acreditar em meu potencial desde o início, pelos ensinamentos preciosos e por ser um guia nessa jornada, minha inestimável gratidão.

À Central Analítica da UFC pela concessão do tempo e das instalações necessárias para a condução de parte experimental desta pesquisa.

À FUNCAP, pela manutenção da bolsa de auxílio.

Aos membros da banca, pela disponibilidade e contribuição ao desenvolvimento deste estudo.

“Não é o mais forte que sobrevive, nem o mais inteligente, mas o que melhor se adapta às mudanças.” (Charles Darwin)

RESUMO

As infecções urinárias ocasionadas por *Staphylococcus aureus* estão comumente associadas ao cateterismo urinário, e frequentemente resultam em complicações graves. A ocorrência de resistência antimicrobiana (RA) nestes isolados torna o manejo clínico das infecções ainda mais desafiador. Nesse contexto, o reposicionamento de fármacos é uma estratégia que representa uma alternativa viável à descoberta de novos antimicrobianos. Por atuar em diversos receptores, a prometazina, um anti-histamínico de primeira geração, é alvo constante de estudos que visam explorar novas propriedades farmacológicas. Diante dessa problemática, o objetivo do estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana da prometazina, isoladamente e em associação com oxacilina e vancomicina, frente a células planctônicas e biofilmes de *Staphylococcus aureus*, além de investigar sua ação preventiva contra a formação de biofilme de *Staphylococcus aureus* resistente a metilina quando impregnada em cateter urinário. Para isso, utilizou-se a técnica de microdiluição em caldo, conforme o protocolo M07-A10 do CLSI de 2015, para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM). Em sequência, realizaram-se testes para estabelecer a Concentração Bactericida Mínima (CBM) e o nível de tolerância da prometazina. Para analisar a interação entre os fármacos, foi aplicada a técnica de checkerboard. Adicionalmente, conduziu-se um ensaio de citometria de fluxo para investigar o possível mecanismo de ação do fármaco. Observou-se também a eficácia da prometazina contra biofilmes já formados e em formação através do ensaio de redução do brometo de tiazolil azul de tetrazólio (MTT), assim como sua ação preventiva impregnada em fragmentos de cateteres urinários por meio de contagem de colônias. Por fim, a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi empregada para analisar as alterações morfológicas induzidas pela prometazina. A prometazina apresentou atividade antimicrobiana bactericida com valores de CIM variando entre 170,6 a 256 µg/mL, interação majoritariamente aditiva em combinação com oxacilina e vancomicina e redução da viabilidade celular de biofilmes formado e em formação de *S. aureus* sensíveis e resistentes a metilina. Também foram observadas alterações morfológicas, danos a membrana e ao material genético de células tratadas com prometazina. Os resultados permitiram inferir que a prometazina pode ser classificada como um agente antimicrobiano promissor para ser utilizado no revestimento antibacteriano de dispositivos urinários de uso prolongado.

Palavras-Chave: *Staphylococcus aureus* resistente a metilina. Prometazina. Reposicionamento de fármacos. Biofilme. Infecções urinárias associadas a cateter.

ABSTRACT

Urinary infections caused by *Staphylococcus aureus* are commonly associated with urinary catheterization and often result in severe complications. The occurrence of antimicrobial resistance (AR) in these isolates makes the clinical management of infections even more challenging. In this context, drug repositioning is a strategy that represents a viable alternative to the discovery of new antimicrobials. Due to its action on various receptors, promethazine, a first-generation antihistamine, is a constant target of studies aimed at exploring new pharmacological properties. Given this problem, the objective of the study was to evaluate the antimicrobial activity of promethazine, alone and in combination with oxacillin and vancomycin, against planktonic cells and biofilms of *Staphylococcus aureus*, and to investigate its preventive action against the formation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm when impregnated in urinary catheters. For this purpose, the broth microdilution technique was used, according to the 2015 CLSI M07-A10 protocol, to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC). Subsequently, tests were conducted to establish the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) and the tolerance level of promethazine. The checkerboard technique was applied to analyze the interaction between the drugs. Additionally, a flow cytometry assay was conducted to investigate the possible mechanism of action of the drug. The efficacy of promethazine against already formed and forming biofilms was also observed through the reduction assay of tetrazolium blue thiazolyl bromide (MTT), as well as its preventive action impregnated in urinary catheter fragments through colony counting. Finally, Scanning Electron Microscopy (SEM) was used to analyze the morphological changes induced by promethazine. Promethazine showed bactericidal antimicrobial activity with MIC values ranging from 170.6 to 256 µg/mL, predominantly additive interaction in combination with oxacillin and vancomycin, and reduction of cell viability of forming and formed biofilms of methicillin-sensitive and methicillin-resistant *S. aureus*. Morphological changes, membrane damage, and genetic material damage were also observed in cells treated with promethazine. The results allowed us to infer that promethazine can be classified as a promising antimicrobial agent for use in the antibacterial coating of long-term urinary devices.

Keywords: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Promethazine. Drug repositioning. Biofilm. Catheter-associated urinary tract infection.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Mecanismos de resistência antimicrobiana	21
Figura 2 – Mecanismo de resistência a meticilina em <i>S. aureus</i>	25
Figura 3 – Prevalência de <i>S. aureus</i> resistente a meticilina por região	27
Figura 4 – Distribuição de infecções da corrente sanguínea por <i>S. aureus</i> em países da América Latina	29
Figura 5 – Fatores de virulência do <i>S. aureus</i>	32
Figura 6 – Fases da formação do biofilme	35
Figura 7 – Efeito do antibiótico nas diferentes camadas do biofilme.....	38
Figura 8 – Diagrama esquemático das localizações mais comuns de dispositivos médicos	41
Figura 9 – Representação estrutural da prometazina	49
Figura 10 – Fluxograma das metodologias empregadas no estudo	54
Figura 11 – MEV de células planctônicas de SARM	64
Figura 12 – MEV dos biofilmes formado e em formação de SARM	71
Figura 13 – MEV de cateter de silicone impregnado com PMT submetido à formação de biofilme de SARM	73
Figura 14 – Possíveis mecanismos de ação da prometazina frente biofilme de <i>S. aureus</i>	77

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Atividade dos fármacos testados frente a uma cepa representativa de SARM evidenciando células em morte celular	65
Gráfico 2 – Atividade dos fármacos testados frente a uma cepa representativa de SARM evidenciando danos ao DNA	66
Gráfico 3 – Atividade dos fármacos testados sobre a viabilidade celular de biofilmes maduros de SASM avaliada pelo ensaio de redução do MTT	67
Gráfico 4 – Atividade dos fármacos testados sobre a viabilidade celular de biofilmes maduros de SARM avaliada pelo ensaio de redução do MTT	68
Gráfico 5 – Atividade dos fármacos testados sobre a viabilidade celular de biofilmes em formação de SASM avaliada pelo ensaio de redução do MTT	69
Gráfico 6 – Atividade dos fármacos testados sobre a viabilidade celular de biofilmes em formação de SARM avaliada pelo ensaio de redução do MTT	70
Gráfico 7 – Contagem de colônias (% UFC/ml) de cateteres impregnados com PMT em diferentes concentrações.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Lista de patógenos bacterianos prioritários da OMS, atualização de 2024. Destacando os microrganismos do grupo ESKAPE	22
Tabela 2 – Determinação da CIM da das drogas isoladas, CBM e nível de tolerância da PMT frente a cepas de <i>S. aureus</i>	61
Tabela 3 – Determinação da CIM associada e interação farmacológica frente a cepas de <i>S. aureus</i>	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BHI	Infusão Cérebro e Coração
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CVC	Cateter Venoso Central
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DO	Densidade Óptica
EPS	Exopolissacarídeos
ET	Toxina esfoliativa
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
Fg	Fibrinogênio
HMDS	Hexametildisilazano
ICIF	Índice da Concentração Inibitória Fracionada
ICS	Infecção da Corrente Sanguínea
IDSA	<i>Infectious Disease Society of America</i>
IgG	Imunoglobulina G
IP	Iodeto de Propídio
IPTM	Infecções de Tecidos e Peles Moles
IRAS	Infecções Relacionadas a Assistência à Saúde
ITUs	Infecções do Trato Urinário
ITUs – AC	Infecções do Trato Urinário Adquirido na Comunidade
IVIG	Imunoglobulina Intravenosa
LABIMAN	Laboratório de Bioprospecção de Moléculas Antimicrobianas
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MSCRAMM	Componentes da Superfície Microbiana que Reconhecem Moléculas de Matriz Adesiva
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio
NMDA	N-metil-D-aspartato

OMS	Organização Mundial da Saúde
OXA	Oxacilina
PBP	Proteína Ligadora de Penicilina
PBP2a	Proteína Alternativa Ligadora de Penicilina
PIA	Polissacarídeo Adesina Intercelular
PMT	Prometazina
PVL	Panton-Valentine Leucocidina
RA	Resistência Antimicrobiana
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> Resistente à Meticilina
SARM-AC	<i>Staphylococcus aureus</i> Resistente à Meticilina Adquirido na Comunidade
SARM-ICS	<i>Staphylococcus aureus</i> Resistente à Meticilina associado a Infecções da Corrente Sanguínea
SARV	<i>Staphylococcus aureus</i> Resistente à Vancomicina
SASM	<i>Staphylococcus aureus</i> Sensível à Meticilina
SASM-ICS	<i>Staphylococcus aureus</i> Sensível à Meticilina associado a Infecções da Corrente Sanguínea
SCT	Síndrome do Choque Tóxico
SE	Enterotoxina Estafilocócica
SISGEN	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético
SUB	Subinibitória
TSB	Caldo Triptona Soja
TSST -1	Toxina da Síndrome do Choque Tóxico Estafilocócico 1
TUNEL	<i>Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick-end labeling</i>
UFC	Universidade Federal do Ceará
UFC/mL	Unidades Formadoras de Colônias por mililitro
VAN	Vancomicina
ZGQ	Zona de Gatilho Quimiorreceptora

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 Resistência antimicrobiana.....	20
2.2 <i>Staphylococcus aureus</i> : Classificação e estrutura	22
2.2.1 Mecanismos de Resistência.....	24
2.2.2 Epidemiologia.....	26
2.2.3 Patogênese	30
2.2.4 Fatores de virulência	31
2.2.5 Infecções associadas	38
2.2.6 Tratamentos disponíveis.....	42
2.3 Reposicionamento de fármacos	46
2.4 Fenotiazinas.....	48
2.5 Prometazina	49
3. HIPÓTESES	52
4. OBJETIVOS	53
4.1 Objetivo geral.....	53
4.2 Objetivos específicos	53
5. MATERIAIS E MÉTODOS	54
5.1 Microrganismos	54
5.2 Fármacos	55
5.3 Testes de sensibilidade antimicrobiana	55
5.3.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	55
5.3.2 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)	55
5.3.3 Análise do nível de tolerância	55
5.3.4 Determinação da interação farmacológica	56
5.3.5 Análise dos dados	56
5.4 Ensaio de análise por citometria de fluxo e microscopia de fluorescência	56
5.4.1 Preparo das células.....	56
5.4.2 Tratamento das células	56
5.4.3 Determinação da integridade de membrana	56
5.4.4 Análise de fragmentação do DNA.....	57
5.4.5 Análise dos dados	57

5.5	Análise da atividade antibiofilme	57
5.5.1	Formação do biofilme	57
5.5.2	Sensibilidade do biofilme	57
5.5.3	Impregnação de fragmentos de cateter.....	58
5.5.4	Avaliação da atividade antibiofilme de cateteres impregnados.....	58
5.5.5	Análise estatística	58
5.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	59
6.	RESULTADOS.....	60
6.1	Atividade antibacteriana da PMT frente a células planctônicas de <i>S. aureus</i>	60
6.1.1	Determinação da CIM e CBM.....	60
6.1.2	Nível de tolerância	60
6.1.3	Determinação da CIM da PMT associada aos antimicrobianos	60
6.1.4	Alterações morfológicas observadas por MEV	63
6.2	Análise do possível mecanismo de ação	65
6.2.1	Redução da viabilidade de células SARM	65
6.2.2	Fragmentação do DNA de células SARM	66
6.3	Atividade antibacteriana da PMT frente a biofilme.....	67
6.3.1	Atividade da PMT frente a biofilme formado	67
6.3.2	Atividade da PMT frente biofilme em formação.....	68
6.3.3	Alterações morfológicas observadas por MEV	70
6.3.4	Ação preventiva da PMT frente à formação de biofilme em cateter de silicone ..	72
6.3.5	Alterações morfológicas observadas por MEV	72
7.	DISCUSSÃO	74
8.	CONCLUSÃO.....	80
9.	REFERÊNCIAS.....	81

1. INTRODUÇÃO

As infecções do trato urinário (ITUs) são prevalentes em todo mundo, e representam a causa mais comum de infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS). Destas, aproximadamente 75% estão associadas ao uso de cateteres urinários contaminados (ASSADI, 2018; CHUANG; TAMBYAH, 2021; DADI *et al.*, 2021). Estima-se que anualmente, nos Estados Unidos, mais de um milhão de pacientes em unidades de cuidados intensivos e em instituições de longa permanência para idosos adquirem infecções do trato urinário associadas a cateteres (ITUs-AC) (ÖZTÜRK; MURT, 2020), resultando em um impacto econômico de cerca de US\$ 1,7 bilhões anuais (SHARMA *et al.*, 2023).

ITUs podem ser provocadas por uma variedade de microrganismos. Entre eles, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* são capazes de infectar independentemente da utilização de cateteres. Por outro lado, *Enterococcus spp.*, *Candida spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Protheus mirabilis* e *Staphylococcus aureus* estão comumente associados a essas infecções relacionadas ao uso de cateteres (DADI *et al.*, 2021; FLORES-MIRELES; HREHA; HUNSTAD, 2019).

Staphylococcus aureus é um patógeno humano frequentemente associado a altos índices de morbidade e mortalidade em hospitais (IKUTA *et al.*, 2022; MANCUSO *et al.*, 2021), sendo a segunda causa mais frequente de IRAS nos EUA, responsável por até 11,8% dessas infecções (O'TOOLE, 2021).

As infecções urinárias ocasionadas por esse microrganismo estão comumente associadas ao cateterismo urinário (ALSHOMRANI *et al.*, 2023; CALDARA *et al.*, 2022; KITANO *et al.*, 2021; NYE *et al.*, 2024), e frequentemente resultam em complicações graves, que incluem anomalias do trato urinário e infecção ascendentes, contribuindo assim para a elevação das taxas de morbidade e mortalidade (FLORES-MIRELES; HREHA; HUNSTAD, 2019; MEGGED, 2014; VASUDEVAN R, 2015). Além disso, entre 8,3% e 21% dos pacientes com bacteriúria causada por *S. aureus* podem apresentar simultaneamente bacteremia pelo microrganismo, ou vir a desenvolver após a detecção de *S. aureus* na urina (KARAKONSTANTIS; KALEMAKI, 2018; KITANO *et al.*, 2021; MEGGED, 2014).

A ocorrência de resistência antimicrobiana (RA) nestes isolados aos principais tratamentos, com destaque para a meticilina, torna o manejo clínico das infecções ainda mais desafiador. A meticilina atua na inibição da proteína ligadora de penicilina (PBP), enzima essencial para a construção da parede celular bacteriana. Nesse sentido, a aquisição do gene *mecA* por *S. aureus*, através da transferência horizontal de genes, resulta na produção de uma

proteína alternativa de ligação à penicilina (PBP2a), que permite a síntese da parede celular bacteriana mesmo na presença do antibiótico (ALI ALGHAMDI *et al.*, 2023; RASHEED; HUSSEIN, 2021).

Pacientes com cateteres de longa permanência, em uso recente de antibióticos ou que apresentam condições médicas subjacentes, são altamente propensos à infecção por *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (SARM) (ALSHOMRANI *et al.*, 2023; KARAKONSTANTIS; KALEMAKI, 2018; VASUDEVAN R, 2015). As ITUs-AC ocasionadas por cepas resistentes de *S. aureus* estão associadas a um risco superior para doenças sistêmicas e um episódio mais febril, devido a maior prevalência de genes codificadores de exotoxinas nestes isolados (KARAKONSTANTIS; KALEMAKI, 2018; KITANO *et al.*, 2021; PAUDEL *et al.*, 2023). Além disso, a presença de SARM nessas infecções torna o tratamento difícil, dado o número restrito de opções terapêuticas disponíveis (PAUDEL *et al.*, 2023).

O quadro clínico se agrava ainda mais quando *S. aureus* passa a viver em estado de biofilme. Neste estado, as células bacterianas são recobertas por uma matriz polimérica extracelular autoproduzida que fornece proteção contra o sistema imune do hospedeiro e uma resistência até mil vezes maior que a da forma planctônica, frente aos antimicrobianos usuais (CORTESE *et al.*, 2018; PUSPARAJAH *et al.*, 2021). Isso inclui resistência à vancomicina, principal fármaco de escolha para o tratamento de infecções por SARM (DAVID; DAUM, 2017).

Biofilmes bacterianos desempenham um papel importante nas infecções recorrentes do trato urinário e podem se formar facilmente em cateteres urinários, auxiliados pelas características da superfície do material e o fornecimento constante de nutrientes da urina que flui através deles (MORENO *et al.*, 2023; PELLING *et al.*, 2019; YOUSEFI *et al.*, 2016).

Nesse contexto, o reposicionamento de fármacos é uma abordagem que busca uma nova indicação terapêutica a fármacos já aprovados e inseridos no mercado (JOURDAN *et al.*, 2020). Essa estratégia representa uma alternativa viável à descoberta de novos antimicrobianos por possuir um processo mais rápido e de menor custo, se comparado ao desenvolvimento tradicional de medicamentos (HUA *et al.*, 2022a; PEYCLIT *et al.*, 2019; ZHENG *et al.*, 2018). Além disso, o medicamento reaproveitado pode se tornar um grande candidato à terapia combinada, onde pode ter sua eficácia aumentada ao ser associado a um antibiótico conhecido, podendo até mesmo reverter a resistência a este antibiótico (PEYCLIT; BARON; ROLAIN, 2019).

Por atuar em diversos receptores, a prometazina (PMT) é alvo constante de estudos que visam explorar novas propriedades farmacológicas (VARGA *et al.*, 2017). A PMT é um anti-histamínico de primeira geração, pertencente à classe das fenotiazinas (DENHOLM; GALLAGHER, 2018). Devido sua capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica antagonizando receptores colinérgicos e dopaminérgicos, é um fármaco comumente utilizado em condições alérgicas, no alívio sintomático de náuseas, vômitos, enjoos, e para tratamento de insônia em adultos e crianças (INCE; RUETHER, 2021; VARGA *et al.*, 2017).

Pesquisas demonstraram que a PMT possui atividade antimicrobiana *in vitro* contra isolados fúngicos (AGUIAR *et al.*, 2023; BRILHANTE *et al.*, 2018, 2020; FIALLOS *et al.*, 2022) e bacterianos diversos (AKINJOGUNLA *et al.*, 2021; FIALLOS *et al.*, 2022; GUEDES *et al.*, 2023a, 2023b), além de apresentar efeito sobre biofilme de cepas de *Staphylococcus* spp. (GUEDES *et al.*, 2023a). Embora seja reconhecido o impacto da PMT em biofilmes, a literatura carece de estudos que investiguem sua capacidade de proteção em materiais médico-hospitalares, o que poderia reduzir a disseminação de microrganismos com relevância clínica.

Diante desse cenário, o presente estudo teve como objetivo analisar a atividade antimicrobiana da PMT, bem como os mecanismos de ação subjacentes, tanto de forma isolada quanto em combinação com oxacilina (OXA) e vancomicina (VAN), frente a células planctônicas e biofilmes de *Staphylococcus aureus*. Além disso, buscou-se investigar a atividade antimicrobiana da PMT impregnada em fragmentos de cateter urinário frente a biofilmes de *Staphylococcus aureus*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Resistência antimicrobiana

Nas últimas décadas, observou-se globalmente um crescimento alarmante de bactérias patogênicas humanas resistentes a múltiplos antimicrobianos. Infecções provocadas por esses microrganismos estão cada vez menos suscetíveis aos métodos de tratamento habituais, e mesmo os antibióticos considerados como última linha de defesa estão se tornando ineficazes (CHELLAT; RAGUŽ; RIEDL, 2016; FRIERI; KUMAR; BOUTIN, 2017; VELAZQUEZ-MEZA *et al.*, 2022). Atualmente a resistência antimicrobiana (RA) é apontada como uma das principais ameaças globais (WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION., 2019), gerando impacto na saúde humana, animal e no meio ambiente (WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2023).

Estima-se que mais de 2,8 milhões de infecções associadas à RA ocorram por ano nos Estados Unidos, resultando em mais de 35.000 óbitos e custos superiores a 4,6 bilhões de dólares para o sistema de saúde (CDC, 2019; UDDIN *et al.*, 2021). Mundialmente, RA foi responsável por 4,95 milhões de infecções fatais, apenas em 2019 (MURRAY *et al.*, 2022; WHO, 2023). Além disso, acredita-se que, sem medidas efetivas de contenção, a propagação da RA poderá acarretar despesas adicionais aproximadas de 3,4 trilhões de dólares por ano para a economia global até 2030 (WHO, 2023; WORLD BANK, 2017).

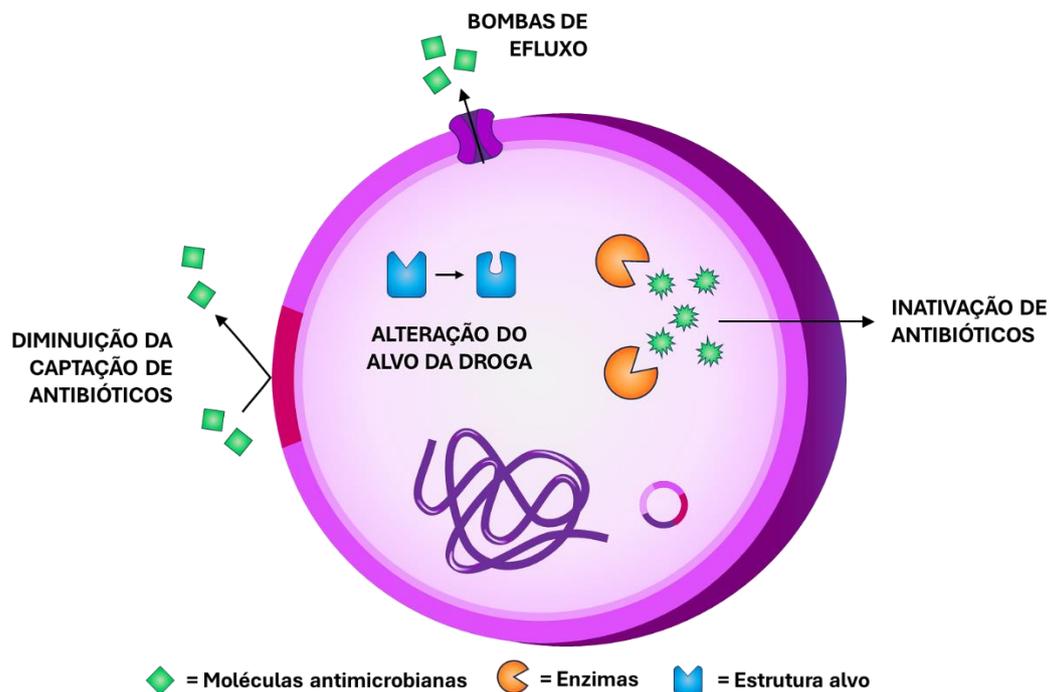
A RA é um processo inerente aos microrganismos, geralmente impulsionada por fatores biológicos naturais, incluindo aspectos bioquímicos e genéticos. No entanto, o uso abusivo de antimicrobianos, prescrição inadequada de antibióticos, ambientes de saúde precários, higiene pessoal deficiente e utilização excessiva de agentes antimicrobianos na agricultura e como desinfetantes nas tarefas domésticas tem exacerbado essa problemática (PULINGAM *et al.*, 2022; UDDIN *et al.*, 2021).

As formas de obtenção da RA podem ser amplamente classificadas como intrínsecas e adquiridas. A resistência intrínseca ocorre naturalmente, sem a necessidade de exposição antimicrobiana e trata-se de características fenotípicas que proporcionam resistência a certos antibióticos. A resistência adquirida acontece quando microrganismos originalmente sensíveis desenvolvem resistência contra antimicrobianos usados na clínica, através de mutações genéticas ou pela transferência horizontal de genes (ABUSHAHEEN *et al.*, 2020; C REYGAERT, 2018; MORRISON; ZEMBOWER, 2020).

Os mecanismos de RA conhecidos podem ser classificados em quatro categorias, sendo elas: diminuição da captação de antibióticos, em geral pela diminuição da

permeabilidade da membrana; inativação de antibióticos, através da produção de enzimas que inativam ou destroem as moléculas antimicrobianas; alteração do alvo da droga por meio de mutações que levam a mudanças conformacionais ou estruturais do alvo, ou produção de proteínas alternativas; e ativação das bombas de efluxo (Figura 1) (C REYGAERT, 2018; DARBY *et al.*, 2023; MORRISON; ZEMBOWER, 2020; PULINGAM *et al.*, 2022; UDDIN *et al.*, 2021).

Figura 1 – Mecanismos de resistência antimicrobiana.



Fonte: Elaborada pela autora. Adaptada de C Reygaert (2018).

A RA causa um impacto significativo nas infecções relacionadas ao ambiente de saúde (IRAS), tendo em vista que os principais microrganismos associados a essas infecções em todo mundo pertencem ao grupo ESKAPE, acrônimo para as seguintes bactérias: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter spp.*, reconhecidos por possuírem resistência intrínseca relevante e capacidade expansiva para adquirir resistência a múltiplos medicamentos (ALOKE; ACHILONU, 2023; AYOBAMI *et al.*, 2022; BOUCHER *et al.*, 2009).

Ademais, conforme indicado pela OMS, os microrganismos classificados como ESKAPE continuam a ser alvos prioritários para a investigação e criação de novos antibióticos (Tabela 1), enquanto o avanço global na área de desenvolvimento de

antimicrobianos permanece limitado, atribuído principalmente à falta de financiamento adequado. Isso destaca o descompasso entre o ritmo lento do desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas e a rápida evolução da resistência antimicrobiana (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2024; WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2017, 2017).

Tabela 1 - Lista de patógenos bacterianos prioritários da OMS, atualização de 2024. Destacando os microrganismos do grupo ESKAPE.

PRIORIDADE CRÍTICA

***Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenêmicos**

Enterobacterales resistentes à cefalosporina de terceira geração

Enterobacterales resistentes a carbapenêmicos

Mycobacterium tuberculosis resistente à rifampicina

PRIORIDADE ALTA

Salmonella Typhi resistente a fluoroquinolonas

Shigella spp. resistente às fluoroquinolonas

***Enterococcus faecium* resistente à vancomicina**

***Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenêmicos**

Salmonella não tifoide resistente a fluoroquinolonas

Neisseria gonorrhoeae cefalosporina de terceira geração e/ ou resistente a fluoroquinolonas

***Staphylococcus aureus* resistente a meticilina**

PRIORIDADE MÉDIA

Estreptococos do Grupo A resistentes a macrolídeos

Streptococcus pneumoniae resistente a macrolídeos

Haemophilus influenzae resistente à ampicilina

Estreptococos do grupo B resistentes à penicilina

Fonte: Adaptada de World Health Organization (2024).

2.2 *Staphylococcus aureus*: Classificação e estrutura

As células estafilocócicas, embora sejam tão antigas quanto a Terra (ALEGADO; KING, 2014), só foram identificadas pela primeira vez em 1880, quando o cirurgião escocês Alexander Ogston isolou a bactéria do pus de abscessos cirúrgicos. A configuração das bactérias, que lembrava cachos de uvas devido à sua forma circular e arranjo em grupos,

inspirou Ogston a batizá-las como estafilococos, um termo originado do grego “*staphyle*”, que significa “cacho de uvas” (KHAN, 2017; OGSTON, 1984; RASHEED; HUSSEIN, 2021). Em 1884, Friedrich Rosenbach atribuiu à espécie o nome de “*aureus*”, após observar a tonalidade das colônias isoladas, que podiam ser douradas ou amarelo-claras (KHAN, 2017; RASHEED; HUSSEIN, 2021).

Staphylococcus aureus, pertencente à família *Staphylococcaceae*, é uma bactéria Gram-positiva, imóvel, anaeróbia facultativa e não formadora de esporos, que cresce em um padrão característico semelhante a um cacho de uvas, individualmente possui formato esférico e mede aproximadamente 1 µm de diâmetro. No que diz respeito às propriedades bioquímicas, *S. aureus* é catalase-positivo, oxidase-negativo, e produtora das enzimas coagulase e DNase, o que permite sua diferenciação de outras espécies do gênero (BHUNIA, 2018; HOU *et al.*, 2023; MURRAY, 2022; RASHEED; HUSSEIN, 2021; RUNGELRATH; DELEO, 2021).

O crescimento de *S. aureus* em placas de ágar enriquecido com sangue de carneiro ou cavalo, é caracterizado pela presença de colônias grandes, de superfície lisa e elevada, e uma coloração amarelo dourado, além de zonas difusas ou características de β-hemólise ao redor das colônias (HOU *et al.*, 2023; RASHEED; HUSSEIN, 2021). Ademais, quando cultivada em meios de cultura seletivos como ágar sal manitol, *S. aureus* apresenta colônias acompanhadas de zonas amareladas, decorrentes da fermentação do manitol pelo microrganismo, que ao acidificar o pH do meio, conseqüentemente altera sua cor (BHUNIA, 2018; RASHEED; HUSSEIN, 2021).

A constituição da estrutura celular não é uma particularidade de *S. aureus*. Assim como em outras bactérias Gram-positivas, a parede celular que envolve o microrganismo é composta majoritariamente por uma camada espessa e resistente de peptidoglicano, onde estão contidas estruturas poliméricas denominadas de ácidos teicóicos. Esses ácidos desempenham um papel importante no transporte de materiais e na antigenicidade bacteriana. A membrana citoplasmática, que serve como barreira osmótica da célula, e as proteínas externas, que atuam como fatores de virulência, constituem o restante da parede celular. Além disso, a maioria das cepas de *S. aureus* desenvolve uma cápsula polissacarídica que resguarda a bactéria das células fagocíticas durante a infecção (MURRAY, 2022; RASHEED; HUSSEIN, 2021).

2.2.1 Mecanismos de Resistência

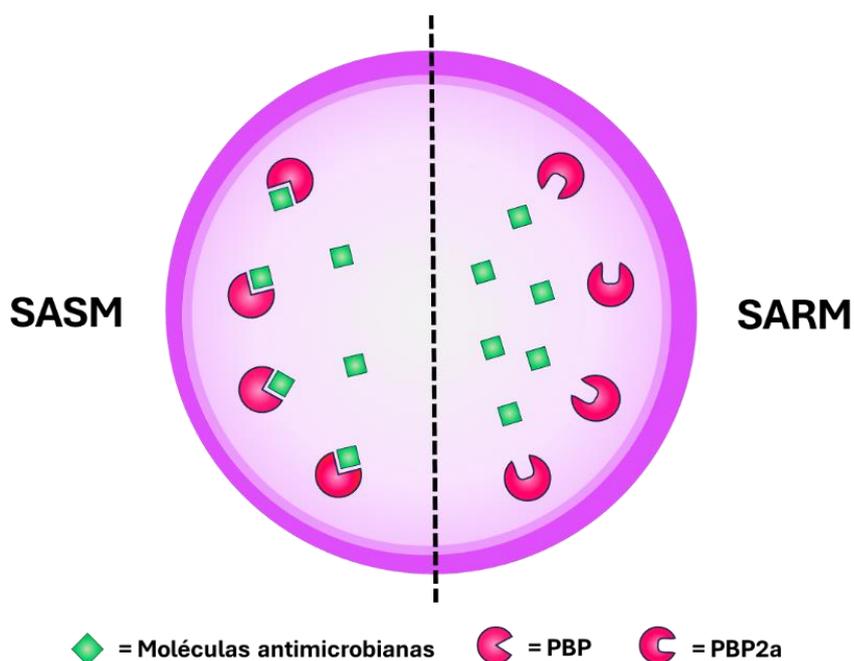
S. aureus demonstra uma notável capacidade adaptativa, conseguindo desenvolver resistência contra diversos antibióticos ao longo do tempo (CRAFT *et al.*, 2019). O primeiro caso de resistência antimicrobiana foi observado em *S. aureus* na década de 1940, quando cepas da bactéria passaram a resistir a ação da penicilina, o primeiro antibiótico comercializado. Nesse cenário, a resistência era mediada por uma β -lactamase, codificada por plasmídeo, capaz de hidrolisar o anel β -lactâmico presente no antibiótico, inativando sua ação antimicrobiana. Atualmente, mais de 90% das estirpes de *S. aureus* são resistentes à penicilina (CRAFT *et al.*, 2019; LAKHUNDI; ZHANG, 2018; RASHEED; HUSSEIN, 2021; RUNGELRATH; DELEO, 2021).

Em 1959, em um esforço para enfrentar a resistência desenvolvida contra a penicilina, a meticilina, um antibiótico semissintético com afinidade reduzida pelas β -lactamases, foi introduzido na clínica. No entanto, em 1960, menos de um ano depois, os primeiros casos de resistência à meticilina foram observados no Reino Unido (LAKHUNDI; ZHANG, 2018; RASHEED; HUSSEIN, 2021). As penicilinas resistentes a penicilinases, como meticilina e oxacilina, são um grupo de fármacos que alcançam sua eficácia devido à adição de uma grande cadeia lateral à molécula de penicilina. Essa modificação impede que a penicilinase, produzida por estafilococos, acesse a molécula de penicilina e realize a clivagem do anel beta-lactâmico (MILLER, 2002; WRIGHT, 1999).

Neste caso, a resistência a meticilina se originou de uma transferência horizontal de genes que resultou na obtenção do gene *mecA* pelas cepas de *S. aureus*. O gene *mecA* possui a função de codificar uma proteína alternativa de ligação à penicilina (PBP2a), que possui baixa afinidade para a maioria das penicilinas semissintéticas, permitindo a síntese da parede celular bacteriana mesmo na presença do antibiótico (Figura 2) (CRAFT *et al.*, 2019; LAKHUNDI; ZHANG, 2018; RASHEED; HUSSEIN, 2021; RUNGELRATH; DELEO, 2021).

Durante a década seguinte a incidência de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (SARM) aumentou em todo o mundo e o início da década de 80 foi marcada pelo surgimento de novas linhagens, desencadeando uma crise global que persiste até hoje (LAKHUNDI; ZHANG, 2018; RASHEED; HUSSEIN, 2021). Vale ressaltar que, a expressão de PBP2a confere um mecanismo de resistência de amplo espectro as cepas de *S. aureus*, o que lhe permite inativar a ação antimicrobiana da maioria dos β -lactâmicos (CRAFT *et al.*, 2019).

Figura 2 – Mecanismo de resistência a metcilina em *S. aureus*.



Fonte: Elaborada pela autora. Adaptada de Craft *et al.* (2019).

Desse modo, no final da década de 80, a vancomicina tornou-se última linha de defesa para o tratamento de infecções graves causadas por SARM (CONG; YANG; RAO, 2020; HOU *et al.*, 2023). Em 2002, a primeira cepa de *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina (SARV) foi recuperada nos Estados Unidos e até 2020, um total de 52 estirpes SARV já haviam sido relatadas (CONG; YANG; RAO, 2020).

A vancomicina é um glicopeptídeo tricíclico que possui baixa absorção pelo trato gastrointestinal devido à sua estrutura complexa. Geralmente, é administrada por via intravenosa, o que a classifica como um fármaco hospitalar. Esse antibiótico exerce seu principal efeito, bactericida, inibindo a síntese do peptidoglicano nas bactérias. O alvo de sua atividade são os monômeros de mureína, precursores do peptidoglicano. Neste caso, a vancomicina se liga à fração D-alanil-D-alanina dos monômeros, levando a uma mudança conformacional que resulta no bloqueio da transpeptidação com consequente interrupção da síntese da parede celular (DE MATOS *et al.*, 2023; RUBINSTEIN; KEYNAN, 2014; WILHELM, 1991).

Assim como em SARM, a resistência a vancomicina é resultado da alteração estrutural do alvo. A modificação da porção terminal, D-alanil-D-alanina para D-alanil-D-lactato, das cadeias de peptidoglicano que compõem a parede celular, reduz a afinidade dessa porção para a vancomicina, neutralizando o seu efeito antimicrobiano (CRAFT *et al.*, 2019).

De acordo com as diretrizes da *Infectious Disease Society of America* (IDSA), vancomicina, gentamicina e rifampicina permanecem como padrão de tratamento para infecções graves por SARM (KAUSHIK *et al.*, 2024), no entanto, a dificuldade em tratar infecções por SARM tem crescido devido à habilidade dessas cepas de adquirir genes que conferem resistência (RASHEED; HUSSEIN, 2021). Neste cenário, a terapia antimicrobiana dupla deve ser considerada. Algumas opções incluem a combinação de ceftarolina com trimetoprima-sulfametoxazol ou vancomicina, bem como combinações de linezolida com um carbapenêmico, telavancina com ceftarolina ou rifampicina, e quinupristina-dalfopristina (ELNOUR; RAMADAN, 2021; KAUSHIK *et al.*, 2024).

Embora SARV seja uma ameaça potencial para a saúde pública, atualmente, não existem diretrizes de tratamento específicos para infecções por essas cepas, devido à escassez de casos relatados (CONG; YANG; RAO, 2020). No entanto, considerando a incidência de infecções relacionadas a SARV, antimicrobianos de amplo espectro como a gentamicina e a rifampicina emergiram como opções terapêuticas. Apesar disso, mesmo sob uso regulado, já se reportaram casos em que o *S. aureus* desenvolveu resistência a esses antibióticos, através da aquisição de enzimas específicas ou alteração do alvo da droga (RASHEED; HUSSEIN, 2021).

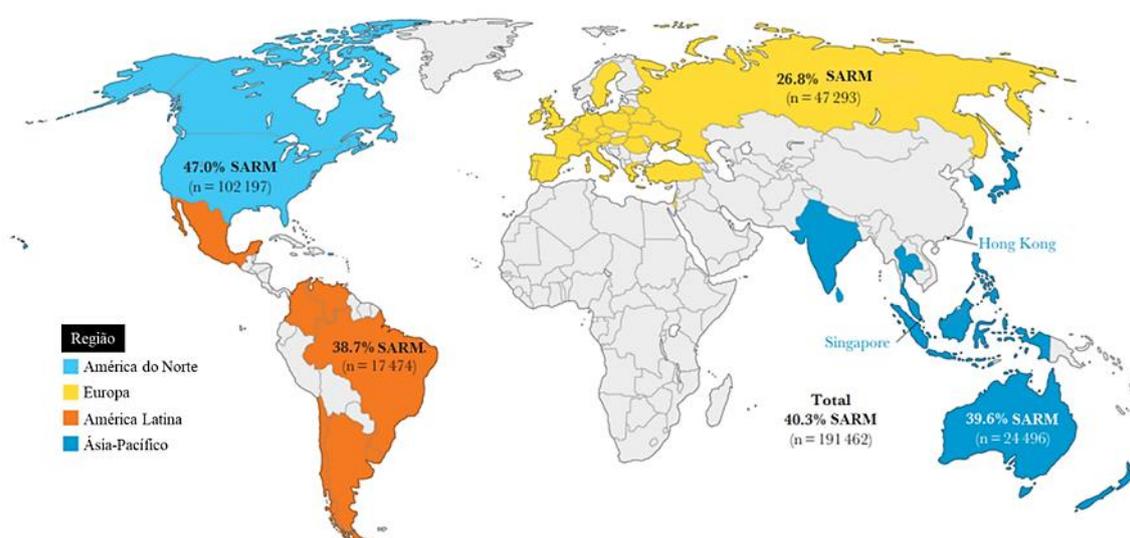
2.2.2 Epidemiologia

Staphylococcus aureus é um microrganismo comensal presente em várias regiões do organismo humano, sendo a pele, as narinas, a garganta e o trato gastrointestinal os habitats mais comuns. Aproximadamente 25% dos indivíduos saudáveis são colonizados por *S. aureus*, enquanto 15% são portadores persistentes da bactéria e outros 60% podem ser listados como hospedeiros transitórios. No entanto, *S. aureus* também pode atuar como uma bactéria patogênica e oportunista causando uma variedade de doenças infecciosas humanas (HOU *et al.*, 2023; NIKOLIC; MUDGIL, 2023; RASHEED; HUSSEIN, 2021; RUNGELRATH; DELEO, 2021).

Agravante a este cenário, um grande problema associado ao *S. aureus* é sua notável capacidade de desenvolver resistência (LAKHUNDI; ZHANG, 2018). Por esse motivo, hoje, as infecções por SARM são consideradas uma das principais doenças infecciosas do mundo, com elevadas taxas de morbidade e mortalidade (GUO *et al.*, 2020). Apenas em 2019, as infecções por SARM contribuíram com 100.000 óbitos do total de 1,27 milhões de mortes causados por RA bacteriana globalmente (MURRAY *et al.*, 2022).

Embora as infecções nosocomiais por SARM seja uma condição endêmica global, a sua prevalência em ambientes hospitalares difere conforme a região geográfica (CRAFT *et al.*, 2019; SHOAIIB *et al.*, 2023). Uma pesquisa conduzida pelo Programa de Vigilância Antimicrobiana SENTRY durante o período de 1997 a 2016, em 45 países, observou uma prevalência de 40,3% de cepas SARM em 191.460 isolados de *S. aureus*. O estudo também apontou que as maiores taxas de infecção por SARM foram registradas nas Américas, com 47% na América do Norte e 38,7% na América do Sul, enquanto Europa e Ásia apresentaram prevalências menores, sendo 26,8% e 39,6%, respectivamente (Figura 3) (DIEKEMA *et al.*, 2019).

Figura 3 – Prevalência de *S.aureus* resistente a metilicina por região.



Fonte: Adaptada de Diekeman *et al.* (2019).

As instituições de cuidado para idosos também podem ser consideradas reservatórios de SARM e fontes de disseminação dessas cepas para hospitais de cuidados intensivos (DA SILVEIRA *et al.*, 2018). Nesse sentido, Hasanpour *et al.* (2023) fizeram um levantamento bibliográfico para verificar a prevalência global da colonização por SARM em residentes de centros de atendimento a idosos de 29 países. A análise dos dados indicou que, dos 164.717 participantes dos estudos, 14,69% apresentavam colonização por SARM. O estudo também mapeou a prevalência geográfica dessa colonização, revelando que 22,27% ocorreram nas Américas, 16,57% no Pacífico Ocidental, 10,93% na Europa, 8,55% no Mediterrâneo Oriental e 9,04% na África (HASANPOUR *et al.*, 2023).

A globalização teve um impacto significativo na propagação da resistência antimicrobiana. O intenso fluxo de comércio e o aumento das viagens internacionais

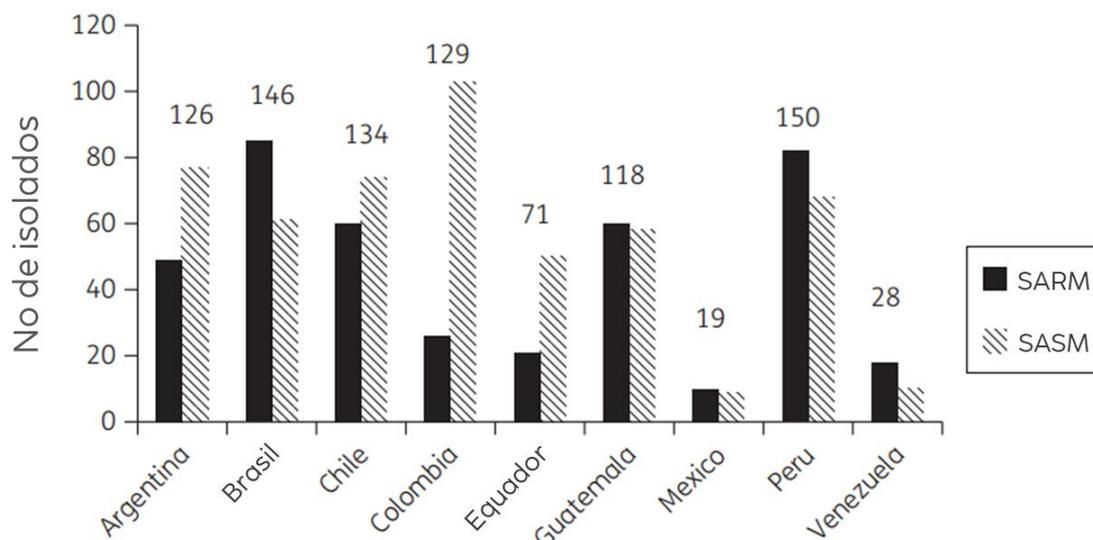
facilitaram a disseminação de organismos resistentes em uma escala sem precedentes (MACPHERSON, 2009; RASHEED; HUSSEIN, 2021). Diante desse cenário, Nurjadi *et al.*, (2019) investigaram a prevalência de SARM adquirido na comunidade (SARM-AC) entre viajantes que retornaram à Europa com infecções de pele e tecidos moles (IPTM) entre 2011 e 2016. Os resultados obtidos revelaram que dos 564 indivíduos com IPTM, 67% apresentaram lesões positivas para *S. aureus*, das quais 14% eram SARM. Além disso, o estudo destacou a distribuição de SARM-AC conforme a região geográfica de origem dos viajantes, indicando que 28% eram da América Latina, 15% do Sul e Sudeste Asiático, e 3% da África Subsaariana. (NURJADI *et al.*, 2019).

A bacteremia causada por *S. aureus* é um tipo sério de infecção na corrente sanguínea que está ligada a altos índices de morbidade e mortalidade. Estima-se que a incidência anual seja superior a 50 casos por 100.000 habitantes, com uma taxa de mortalidade estimada entre 20% e 30% em países desenvolvidos. De acordo com um relatório do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), em 2017, ocorreram cerca de 119.247 infecções da corrente sanguínea por *S. aureus*, com 19.832 mortes associadas (KOURTIS *et al.*, 2019).

Nesse contexto, um estudo realizado em 2019 por Di Gregorio e colaboradores (2023) avaliou a ocorrência de *S. aureus* na corrente sanguínea de pacientes atendidos em 58 hospitais de cinco países sul-americanos: Argentina, Bolívia, Brasil, Paraguai e Uruguai. Foram identificados 443 isolados de *S. aureus*, dos quais 41,1% eram SARM e 58,9% *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina (SASM). O estudo também apurou as principais fontes da bacteremia, sendo as IPTMs as mais frequentes, com 23,7% de prevalência, seguidas por infecções respiratórias (19,4%), e infecções relacionadas a cateteres (16,9%) (DI GREGORIO *et al.*, 2023).

Em um estudo prospectivo de coorte realizado entre 2011 e 2014, por Seas *et al.* (2018) foi analisada a mortalidade atribuível em 30 dias entre pacientes com infecções da corrente sanguínea (ICS) causadas por SARM e SASM, em hospitais de nove países da América Latina. A pesquisa, que incluiu 915 pacientes, indicou uma maior prevalência de SASM (55,6%) nas infecções de corrente sanguínea em comparação com SARM (44,7%), no entanto, os pacientes com SARM-ICS (25%) tiveram maior mortalidade atribuível em 30 dias em comparação com pacientes com SASM-ICS (13,2%). Além disso, o estudo mapeou a presença de *S. aureus* resistente e sensível aos antibióticos por país, constatando uma predominância de SARM no Brasil e Peru e de SASM na Colômbia, Argentina e Chile (Figura 4). A pesquisa também apontou que a maioria das aquisições de *S. aureus*, tanto resistente quanto sensível, ocorreram em ambiente hospitalar (SEAS *et al.*, 2018).

Figura 4 – Distribuição de infecções da corrente sanguínea por *S. aureus* em países da América Latina.



Fonte: Adaptada de Seas *et al.* (2018).

No período de 2010 a 2017, um estudo retrospectivo foi realizado no Hospital Universitário de Hiroshima com o intuito de identificar os fatores de risco clínicos para infecções do trato urinário (ITU) sintomáticas associadas ao *S. aureus*. Das 286 culturas que testaram positivo para o patógeno, mais da metade eram SARM, enquanto 96 (33,5%) desses pertenciam a pacientes que faziam uso de cateter urinário de longa permanência (KITANO *et al.*, 2021). Já em um coorte multicêntrico conduzido em três hospitais universitários da Espanha no período de 1996 a 2018, foram registrados 4.181 episódios de ICS por *S. aureus*, sendo a ITU um fator preditor da infecção em 132 desses pacientes, dos quais 94 (71,2%) estavam em uso de cateteres urinários (GRILLO *et al.*, 2020).

Os primeiros casos de SARM no Brasil foram relatados em 1987, no Rio de Janeiro, e atualmente SARM está presente nas cinco regiões do Brasil, com uma maior prevalência nas regiões Sul e Sudeste do País (ANDRADE *et al.*, 2020). Corroborando com esses dados, um estudo de coorte retrospectivo realizado em um centro médico localizado no Sul do Brasil entre 2014 a 2019 registrou 928 casos de pacientes com bacteremia por *S. aureus*, dos quais 22% foram identificados como SARM (RICHE *et al.*, 2023). Outro estudo realizado entre 2016 e 2018 em um hospital terciário do Rio de Janeiro verificou que 113 pacientes desenvolveram ICS por *S. aureus*, sendo 30,1% desses atribuídos a SARM (AUGUSTO *et al.*, 2022).

Por ser uma bactéria comensal e um patógeno, a colonização por *S. aureus* pode funcionar como reservatório para a disseminação da bactéria ou para o desenvolvimento de futuras infecções no indivíduo colonizado (TURNER *et al.*, 2019). Nessa perspectiva, da

Silva *et al.*, (2020) conduziram uma pesquisa com 80 profissionais de saúde de um hospital público na Bahia, com o objetivo de analisar a prevalência de colonização por SARM nesses profissionais. Das 240 amostras coletadas de mãos, cavidade nasal e jalecos, 178 foram identificadas como *S. aureus*, com a maioria proveniente da cavidade nasal. Entre esses, 30 isolados (16,8%) foram classificados como SARM (DA SILVA *et al.*, 2020). Em outro estudo com a mesma proposta, os pesquisadores coletaram esfregaços das narinas e mãos de 140 manipuladores de alimentos em 10 hospitais públicos da Bahia. Os resultados revelaram que 50% dos profissionais analisados apresentavam *S. aureus* nas mãos, enquanto 29,3% tinham a bactéria nas narinas. Adicionalmente, foi identificado que 28,6% dos isolados eram SARM e 72,9% eram resistentes à vancomicina (FERREIRA *et al.*, 2014).

2.2.3 Patogênese

As infecções ocasionadas por *S. aureus* tem como alvo indivíduos imunossuprimidos e por isso, é motivo de grande preocupação nos ambientes hospitalares, especialmente nas unidades de terapia intensiva, onde o risco de infecção aumenta com a duração da permanência do paciente nesses ambientes. Dentre as diversas manifestações clínicas ocasionadas por esse patógeno, o furúnculo é apontado como a doença mais comum em adultos, enquanto o impetigo é mais frequente em crianças (Craft *et al.*, 2019; Rasheed & Hussein, 2021).

A colonização assintomática por *S. aureus* em diferentes sítios anatômicos humanos aumenta o risco de infecção bacteriana, principalmente em casos onde a barreira imunológica do hospedeiro está comprometida (SHOAIB *et al.*, 2023; TURNER *et al.*, 2019). Nesse sentido, os indivíduos colonizados também podem funcionar como vetores para a disseminação de infecções. Outras formas de transmissão incluem compartilhamento de itens pessoais, alimentos e fômites contaminados. Ademais, a ocorrência de RA nestes isolados torna o manejo clínico das infecções por *S. aureus* ainda mais desafiador (RASHEED; HUSSEIN, 2021).

Superfícies epiteliais íntegras atuam como barreiras físicas que separam os microrganismos presentes no ambiente externo do tecido interno do hospedeiro. Para que ocorra uma infecção sistêmica por *S. aureus*, é necessário que haja uma lesão na barreira epitelial que normalmente protege contra bactérias. Contudo, *S. aureus* pode também desencadear uma ruptura ativa na barreira epitelial, através de um processo mediado por toxinas. Além disso, os epitélios também produzem peptídeos que matam ou inibem o crescimento de patógenos. Por outro lado, o *S. aureus* dispõe de uma variedade de

mecanismos que lhe permitem neutralizar essas defesas epiteliais (CHEUNG; BAE; OTTO, 2021; PIETROCOLA *et al.*, 2017).

Um fator chave para a patogênese é a adesão do microrganismo ao tecido do hospedeiro (BERRY *et al.*, 2022; LEONARD; PETRIE; COX, 2019). A fixação no tecido epitelial é iniciada pela agregação de proteínas de superfície da célula de SARM ao fibrinogênio, fibronectina e fibras de colágeno das células hospedeiras (SHOAIB *et al.*, 2023). A proximidade alcançada por meio da adesão permite a entrega de toxinas, acesso a nutrientes, colonização e formação de biofilme, processos que podem resultar em infecções por dispositivos médicos, de ossos, articulações e no sistema endovascular (BERRY *et al.*, 2022; CHEUNG; BAE; OTTO, 2021; SHOAIB *et al.*, 2023).

O sucesso de uma infecção por *S. aureus* também está associado à sua habilidade de escapar das barreiras imunológicas do hospedeiro. Durante a colonização e na fase de infecção, *S. aureus* secreta diversos peptídeos que interferem na deposição do sistema complemento na superfície bacteriana. A partir daí, *S. aureus* adota uma série de estratégias para se esquivar da destruição. Essas incluem bloqueio da adesão de neutrófilos ao endotélio vascular, produção de toxinas letais para fagócitos (como as leucocidinas), a ativação de processos que levam a apoptose dos fagócitos, produção de substâncias extracelulares, como a cápsula que inibe a fagocitose, aglutinação, e formação de biofilmes, que oferecem uma barreira de proteção contra o sistema imunológico (CHEUNG; BAE; OTTO, 2021; PIETROCOLA *et al.*, 2017).

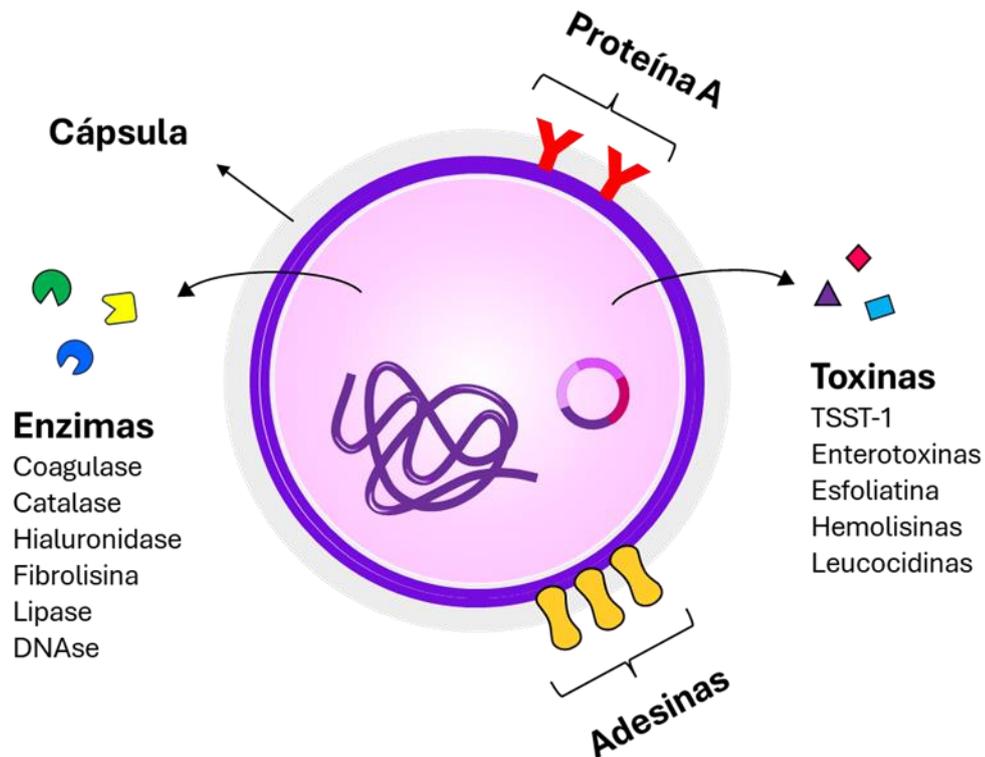
Os eventos pós-invasão por *S. aureus* são influenciados pela natureza da célula hospedeira e pela cepa de *S. aureus* infectante (STROBEL *et al.*, 2016). Em um estudo que avaliou as infecções sistêmicas em modelos murinos, foi observado que células do *S. aureus* são rapidamente transportadas (em 1 a 3 horas) para os órgãos, e lesões detectadas por microscopia se tornaram aparentes após de 48 horas de infecção (CHENG *et al.*, 2009; CHEUNG; BAE; OTTO, 2021). Além disso, através da troca de fenótipo que reduz a expressão de fatores de virulência, as bactérias conseguem permanecer dentro das células por longos períodos de tempo, podendo servir como reservatório para infecções persistentes (TUCHSCHERR *et al.*, 2011, 2015).

2.2.4 Fatores de virulência

Para sobreviver às condições adversas encontradas no hospedeiro e invadir os tecidos, *S. aureus* conta com um conjunto diversificado de fatores de virulência (Figura 5). Com o objetivo de estabelecer uma infecção eficaz, a bactéria desenvolveu um sistema que lhe

permite regular a expressão dos genes precursores a esses elementos (BIEN; SOKOLOVA; BOZKO, 2011; JENUL; HORSWILL, 2019). Durante o curso da doença, essas moléculas podem atuar na adesão às células hospedeiras, evasão das defesas do hospedeiro, degradação e aquisição de nutrientes (CHEUNG; BAE; OTTO, 2021; PIETROCOLA *et al.*, 2017).

Figura 5 – Fatores de virulência do *S. aureus*.



Fonte: Elaborada pela autora. Adaptada de Shettigar & Murali (2020).

2.2.4.1 Proteínas associadas ao processo de adesão

A adesão em superfícies bióticas e abióticas é o primeiro passo no processo da infecção. Embora diversas proteínas atuem na fixação do microrganismo a célula hospedeira, os membros da família de componentes da superfície microbiana que reconhecem as moléculas de adesão da matriz (MSCRAMM), podem ser citadas como as mais prevalentes. Essas proteínas, ancoradas a parede celular, medeiam a adesão de *S. aureus* a macromoléculas da matriz hospedeira (colágeno, elastina, fibronectina, fibrinogênio e outros lipídios celulares) e ao material de dispositivos implantados. O fator de agregação A e B (ClfA e ClfB), as proteínas A e B de ligação à fibronectina e a adesina de colágeno (Cna) estão entre os MSCRAMM mais conhecidos (BECKER, 2018; BIEN; SOKOLOVA; BOZKO, 2011; PROCOP, 2018).

2.2.4.2 Proteínas associadas ao processo de evasão imunológica

A proteína A, pertencente à família MSCRAMM, também desempenha um papel na evasão das respostas imunes. Ela afeta a opsonização e a subsequente fagocitose do microrganismo ao interagir com o fragmento Fc das imunoglobulinas G (IgG) alterando a sua conformação, o que faz com que as bactérias revestidas não sejam reconhecidas pelos receptores Fc dos polimorfonucleares (ALGAMMAL *et al.*, 2020; BIEN; SOKOLOVA; BOZKO, 2011; PROCOP, 2018). Os polissacarídeos capsulares produzidos pela maioria das cepas de *S. aureus* também possuem um papel na inibição da fagocitose, eles impedem a opsonização mediada por complemento (C3b) e anticorpos ao bloquearem a interação entre C3b ou imunoglobulina ligada à parede celular da bactéria, e os receptores para essas moléculas na célula fagocítica (ALGAMMAL *et al.*, 2020; CHEUNG; BAE; OTTO, 2021; O'RIORDAN; LEE, 2004).

2.2.4.3 Enzimas Extracelulares

A maior parte das cepas de *S. aureus* secretam um grupo de proteínas extracelulares (Exoproteínas) que possuem como funções principais, a aquisição de nutrientes, sobrevivência bacteriana e disseminação da infecção (BIEN; SOKOLOVA; BOZKO, 2011; TAM; TORRES, 2019).

As enzimas coagulase e estafiloquinase, presentes em *S. aureus*, atuam na evasão do sistema imunológico e a propagação da infecção, respectivamente. A coagulase interage com a protrombina presente no plasma para formar um complexo que tem a função de converter o fibrinogênio em fibrina, assim as coagulases geram um escudo de fibrina que protege a bactéria da infiltração de células imunitárias. Enquanto isso, a estafiloquinase sequestra a plasmina do hospedeiro para ativar o plasminogênio e causar a quebra de coágulos de fibrina, promovendo a disseminação bacteriana. Outro grupo de enzimas secretadas por *S. aureus*, incluem as nucleases (DNAses), proteases, lipases e hialuronidasas, que possuem como principal função a decomposição de componentes do tecido hospedeiro para ser usado como nutriente pela célula bacteriana (ALGAMMAL *et al.*, 2020; TAM; TORRES, 2019).

2.2.4.4 Exotoxinas

As exotoxinas estafilocócicas modulam o sistema imunológico do hospedeiro e são críticas para infecções por *S. aureus*. Embora se conheça uma variedade de mais de 40

exotoxinas produzidas por essas bactérias, muitas apresentam funções semelhantes e exibem uma alta similaridade em suas estruturas (TAM; TORRES, 2019).

S. aureus produz exotoxinas que formam poros na membrana plasmática e causam vazamento do conteúdo da célula e consequente lise da célula alvo. Dentre as várias toxinas citolíticas secretadas por *S. aureus*, estão a α -hemolisina, β -hemolisina, γ -hemolisina, leucocidina e a leucocidina Panton-Valentine (PVL). A α -hemolisina é o principal elemento citotóxico produzido por *S. aureus*, ela atua formando poros que levam à citólise osmótica, afetando principalmente plaquetas e monócitos humanos. A PVL, uma citolisina composta por duas proteínas (LukF-PV e LukS-PV), provoca a lise de neutrófilos e está ligado a condições como dermonecrose, IPTM crônica, infecções mucocutâneas recorrentes e pneumonia necrosante. O PVL tem uma grande afinidade por leucócitos, enquanto outras toxinas bicomponentes como a γ -hemolisina e leucocidina são citotóxicas para eritrócitos e leucócitos, respectivamente (ALGAMMAL *et al.*, 2020; BIEN; SOKOLOVA; BOZKO, 2011; TAM; TORRES, 2019).

Também conhecidas como superantígenos, as toxina-1 da síndrome do choque tóxico (TSST-1), enterotoxinas estafilocócicas (SEA, SEB, SECn, SED, SEE, SEG, SEH e SEI) e as toxinas esfoliativas (ETA e ETB) possuem a capacidade de estimular a proliferação de linfócitos T, com consequente produção massiva de citocinas e uma resposta inflamatória exacerbada. A toxina TSST-1 é reconhecida como um dos superantígenos mais potentes produzidos por *S. aureus*, sendo responsável por desencadear a síndrome do choque tóxico em seres humanos. Esta condição é marcada por uma série de distúrbios sistêmicos e gastrointestinais. As enterotoxinas estafilocócicas são os principais fatores de virulência envolvendo intoxicações alimentares em humanos. Enquanto as toxinas esfoliativas atuam promovendo a síndrome da pele escaldada, que afeta principalmente lactentes e recém-nascidos (ALGAMMAL *et al.*, 2020; BIEN; SOKOLOVA; BOZKO, 2011; SHETTIGAR; MURALI, 2020; TAM; TORRES, 2019).

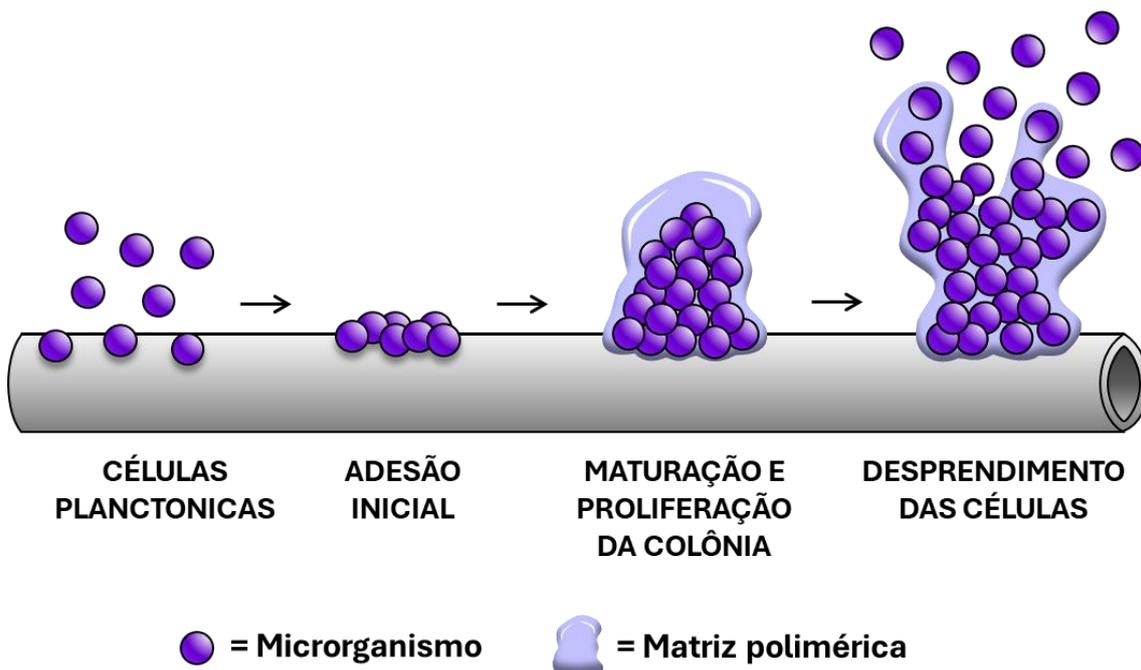
2.2.4.5 Biofilme

Outra forma notável pela qual o *S. aureus* mantém uma infecção é pela formação de biofilmes. Biofilmes são comunidades complexas de microrganismos, onde aglomerados celulares são encapsulados por uma matriz extracelular autoproduzida composta principalmente por polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos (CHEUNG; BAE; OTTO, 2021; GUO *et al.*, 2020; PUSPARAJAH *et al.*, 2021; TRAN *et al.*, 2023). Essas estruturas fornecem proteção significativa contra o sistema imune do hospedeiro e uma resistência até

mil vezes maior do que a forma planctônica, frente aos antimicrobianos usuais (GUO *et al.*, 2020; PUSPARAJAH *et al.*, 2021).

Os estafilococos são conhecidos como bons formadores de biofilme, uma característica que é atribuída à produção de diversas moléculas de superfície que facilitam o desenvolvimento da matriz extracelular (OTTO, 2012). Esses microrganismos possuem a capacidade de se aderirem a uma variedade de superfícies, tais como cateteres, lentes de contato, válvulas cardíacas artificiais e próteses, o que resulta em infecções prolongadas e recorrentes associadas a dispositivos médicos, e por isso, são motivo de grande preocupação nas unidades de terapia intensiva (CRAFT *et al.*, 2019; PUSPARAJAH *et al.*, 2021; TRAN *et al.*, 2023). O processo de formação de biofilme ocorre em três fases fundamentais: a adesão inicial, a maturação e proliferação da colônia e, por fim, o desprendimento das células (Figura 6) (CHEUNG; BAE; OTTO, 2021).

Figura 6 – Fases da formação do biofilme.



Fonte: Elaborada pela autora. Adaptada de Craft *et al.* (2019).

A formação do biofilme se inicia com a adesão das células planctônicas flutuantes a superfícies bióticas ou abióticas (IDREES *et al.*, 2021). Nessa fase, a ligação à superfície biótica depende de uma série de fatores que permitem a *S. aureus* aderir ao tecido hospedeiro. Dentre os diversos elementos presentes nesta etapa, a família de proteínas MSCRAMM, ancoradas na parede celular da bactéria, se destaca ao estabelecer ligação com as proteínas da matriz hospedeira (JAMAL *et al.*, 2018; PUSPARAJAH *et al.*, 2021; TRAN *et al.*, 2023). A

fixação a uma superfície abiótica geralmente depende das características físico-químicas do dispositivo e das superfícies bacterianas, portanto, esse tipo de conexão é geralmente promovido por meio de interações hidrofóbicas e eletrostáticas (IDREES *et al.*, 2021; JAMAL *et al.*, 2018; PUSPARAJAH *et al.*, 2021).

Uma vez que as bactérias se fixam no tecido do hospedeiro, elas progridem para a fase de crescimento e maturação. Nesta etapa, as células estafilocócicas sintetizam uma matriz extracelular polimérica (EPS), composta essencialmente por polissacarídeos, proteínas, ácidos teicóicos, DNA extracelular e canais de água, que fornecem acesso a nutrientes e oxigênio ao longo da estrutura (CRAFT *et al.*, 2019; PUSPARAJAH *et al.*, 2021; TRAN *et al.*, 2023). No biofilme produzido pelo *S. aureus*, o polissacarídeo adesina intercelular (PIA) é o componente principal do EPS, e elemento crucial para a formação do biofilme, pois oferece superfícies carregadas positivamente que facilitam a aderência das células bacterianas à matriz polimérica, além de conferir proteção contra a fagocitose. Enquanto isso, outras proteínas específicas, como Aap e SasG, demonstram ser importantes para a adesão às células hospedeiras e agregações interbacterianas (CRAFT *et al.*, 2019; KAUSHIK *et al.*, 2024; PUSPARAJAH *et al.*, 2021).

Dentro da matriz do biofilme, inicia-se um processo de multiplicação e divisão de células microbianas, um processo desencadeado por sinalização química específica dentro do EPS (JAMAL *et al.*, 2018; PUSPARAJAH *et al.*, 2021). Nesse momento, as células de *S. aureus* estabelecem comunicação e coordenam o seu comportamento umas com as outras para construir microcolônias, através de um fenômeno denominado “detecção de quórum”. *Quorum sensing*, ou detecção de quórum, é um sistema de sinalização intercelular que regula a densidade populacional das células e adapta-se às variações ambientais. Estas microcomunidades coordenam-se entre si em múltiplos aspectos, o que é essencial para a troca de nutrientes, distribuição de metabólitos significativos e eliminação de resíduos metabólicos (JAMAL *et al.*, 2018; TRAN *et al.*, 2023).

Na fase de desprendimento das células os aglomerados se separam da estrutura do biofilme, um fenômeno que pode ocorrer de duas formas: dispersão ativa ou passiva. Durante a dispersão ativa, as bactérias dentro do biofilme liberam enzimas que quebram a matriz extracelular e permitem que as microcolônias se dispersem. Já a dispersão passiva ocorre por forças mecânicas ou pela quebra enzimática externa das estruturas do biofilme (CRAFT *et al.*, 2019; JAMAL *et al.*, 2018; KAUSHIK *et al.*, 2024). O processo de dispersão bacteriana pode resultar de uma série de influências que incluem, a escassez de nutrientes e oxigênio e a existência de toxinas e estressores adicionais, e é controlado pelo sistema regulador de genes

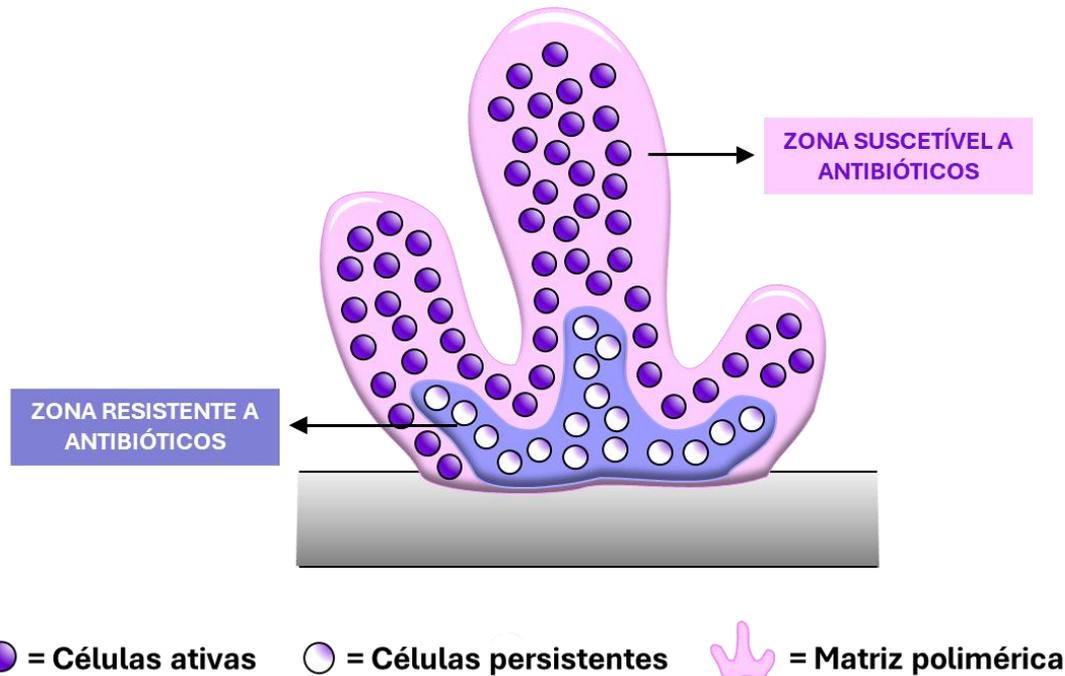
acessórios (*agr*), que influencia diretamente o *quorum sensing* e consequentemente na coordenação bacteriana (KAUSHIK *et al.*, 2024; PUSPARAJAH *et al.*, 2021; TRAN *et al.*, 2023).

Uma vez dispersas, as bactérias planctônicas ficam livres para recolonizar e reiniciar o um novo ciclo, o que pode impulsionar infecções associadas a dispositivos médicos. Isso se deve ao fato de que as células bacterianas que se desprendem de um dispositivo médico podem provocar uma reinfecção no local original ou se deslocar para outras regiões do organismo e iniciar infecções no sistema circulatório (IDREES *et al.*, 2021; KAUSHIK *et al.*, 2024; PUSPARAJAH *et al.*, 2021)

A propagação de biofilmes em dispositivos médicos implantados representa aproximadamente 65% de todas as infecções bacterianas no setor da saúde e é apontada como uma das principais causas de infecções prolongadas e persistentes, além de causar falha do dispositivo e altas taxas de mortalidade e morbidade (JAMAL *et al.*, 2018; KHATOON *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2021; SHARMA *et al.*, 2023). Cerca de dois terços das infecções relacionadas a dispositivos implantáveis são provocadas por bactérias estafilocócicas, com aproximadamente 70% destes associados a cateteres (CALDARA *et al.*, 2022; KHATOON *et al.*, 2018).

Além da estrutura robusta e a composição polimérica que permitem que as bactérias evitem à penetração de antibióticos, o crescimento assíncrono das células imersas na matriz também pode representar um mecanismo de resistência. Situadas na parte mais interna da matriz, as células de crescimento lento, chamadas de dormentes ou persistentes, são uma pequena fração dos microrganismos presentes no biofilme que, diferente das células das camadas superiores, são extremamente tolerantes aos antibióticos (Figura 7) (KAUSHIK *et al.*, 2024; SAXENA *et al.*, 2019). Devido a taxa reduzida de crescimento desses microrganismos, a eficácia dos antibióticos, especialmente aqueles que têm como alvo processos celulares ativos, pode ser limitada. Com isso, essas células possuem a capacidade de sobreviver a inúmeros ciclos de tratamento, o que as torna contribuintes essenciais para a restauração das comunidades de biofilme e o desenvolvimento de resistência antimicrobiana (CRAFT *et al.*, 2019; GUO *et al.*, 2020; TRAN *et al.*, 2023).

Figura 7 – Efeito do antibiótico nas diferentes camadas do biofilme.



Fonte: Elaborada pela autora. Adaptada de Saxena *et al.* (2019).

2.2.5 Infecções associadas

Dentre as mais de 80 espécies e subespécies de estafilococos, *S. aureus* é a mais importante no contexto clínico, sendo a espécie mais associada a doenças humanas (MURRAY, 2022). As infecções por *S. aureus* podem ser leves a potencialmente fatais, localizadas ou sistêmicas e são capazes de comprometer qualquer parte do organismo. As manifestações mais comuns da infecção por *S. aureus* incluem as causadas por toxinas, IPTMs, bacteremia, endocardite, pneumonia, infecções osteoarticulares, e infecções associadas a equipamentos médicos (MURRAY, 2022; RUNGELRATH; DELEO, 2021).

As infecções ocasionadas pelos chamados superantígenos incluem a síndrome da pele escaldada, intoxicação alimentar e a síndrome do choque tóxico. Os superantígenos, produzidos por algumas cepas de *S. aureus*, são toxinas que podem desencadear uma resposta imune intensa a partir da ativação de um grande número de células T, levando a uma liberação massiva de citocinas, o que pode causar danos graves aos tecidos e órgãos (KRAKAUER; PRADHAN; STILES, 2016; PROCOP, 2018).

A intoxicação alimentar estafilocócica é uma das doenças de origem alimentar mais comuns, que resulta da presença de enterotoxinas nos alimentos, ocasionando sintomas como vômitos graves, diarreia, dor abdominal ou náuseas, que geralmente apresentam duração

inferior a 24 horas. A síndrome da pele escaldada, causada por toxinas esfoliativas, comum em recém-nascidos e crianças pequenas, apresenta eritema disseminado seguido de lesões bolhosas, e subsequente descamação do epitélio. A síndrome do choque tóxico é produzida por espécies de *S. aureus* que produzem TSST-1, e acomete principalmente mulheres em uso de absorventes íntimos internos, embora também possa ser visto como uma complicação de outras infecções por *S. aureus*. A doença pode atingir múltiplos órgãos e sistemas, causando uma infecção generalizada (MURRAY, 2022; PROCOP, 2018).

As IPTMs causadas por *S. aureus*, em sua maioria piogênicas, podem variar de condições superficiais e relativamente benignas a infecções graves e potencialmente fatais. As infecções superficiais da pele incluem condições como impetigo, uma infecção ocasionada por toxinas esfoliativas, porém de forma localizada, que é altamente contagiosa e manifesta como bolhas cheias de pus na pele. Outras infecções superficiais podem incluir foliculites e furúnculos. Em alguns casos, *S. aureus* pode penetrar mais profundamente nos tecidos, causando infecções mais graves como o carbúnculo que representa uma extensão dos furúnculos para os tecidos subcutâneos mais profundos, podendo causar uma disseminação sistêmica (MURRAY, 2022; TONG *et al.*, 2015).

S. aureus é responsável por mais de 25% dos episódios de endocardite infecciosa registrados, com uma taxa de mortalidade próxima de 50% (MURRAY, 2022; RUNGELRATH; DELEO, 2021). A doença tem início com sintomas inespecíficos semelhantes à gripe, no entanto, a condição pode se agravar rapidamente, incluindo interrupção do débito cardíaco e embolia séptica. A endocardite por SARM do lado direito está comumente associada ao uso de drogas e cateteres intravenosos. Enquanto, pacientes com envolvimento das válvulas mitral e aórtica podem desenvolver infecções secundárias em focos distantes (MURRAY, 2022; SIDDIQUI; KOIRALA, 2024; TONG *et al.*, 2015).

As infecções pulmonares causadas por *S. aureus* podem surgir em consequência de aspiração ou de disseminação hematogênica originada de um foco infeccioso diferente. A pneumonia por aspiração esta geralmente associada a condições respiratórias preexistentes e imunossupressão do paciente. Enquanto pneumonias nosocomiais por *S. aureus* estão atreladas ao uso de ventilação mecânica. Já a de pneumonia necrosante ocasionada por SARM adquirido na comunidade é a forma grave da doença, caracterizada por intensa expectoração de sangue, choque séptico e alta taxa de mortalidade (MURRAY, 2022; PROCOP, 2018; SIDDIQUI; KOIRALA, 2024; TONG *et al.*, 2015).

A osteomielite, ocasionada por *S. aureus*, geralmente se manifesta como uma complicação local, resultante da propagação direta ou da disseminação pelo sangue. Em geral,

a osteomielite hematogênica observada em crianças é caracterizada pelo acometimento dos ossos longos e pelo início repentino de dor localizada no osso envolvido e febre alta. Nos adultos, a osteomielite se apresenta principalmente como uma inflamação das vértebras e, menos frequentemente, como uma infecção dos ossos longos. Os sintomas incluem febre e dores lombares agudas. *S. aureus* também pode ser listado como a principal causa de artrite séptica que ocorre principalmente em crianças no período pré-púbere e resulta de complicações da bacteremia tanto em crianças quanto em adultos (MURRAY, 2022; PROCOP, 2018).

S. aureus é um agente comum em infecções do sistema circulatório e está associado a uma taxa de mortalidade que oscila entre 15% e 60%. A bacteremia causada por este microrganismo muitas vezes é secundária a outras infecções de origem incerta, mas também pode ser contraída diretamente após intervenções cirúrgicas ou pelo uso de cateteres intravasculares contaminados. Os sintomas típicos em pacientes com bacteremia estafilocócica incluem febre, calafrios e tremores. É possível notar também pequenas manchas hemorrágicas na pele, que podem progredir para úlceras necróticas de maior tamanho (MURRAY, 2022; PROCOP, 2018; SIDDIQUI; KOIRALA, 2024).

Embora a presença de *S. aureus* na urina possa indicar uma doença invasiva originada da disseminação hematogênica do microrganismo de um local diferente para os rins, também é possível que o trato urinário seja a fonte primária da bacteremia por *S. aureus*. As ITUs que apresentam *S. aureus* como um dos agentes isolados mais recorrentes estão frequentemente associadas a fatores de risco. Estes incluem idade avançada, utilização de cateter ou intervenções instrumentais no trato urinário, residência em instituições de cuidado de longo prazo e histórico de procedimentos cirúrgicos, obstrução ou neoplasias malignas no trato urinário (PROCOP, 2018; SCHULER *et al.*, 2021).

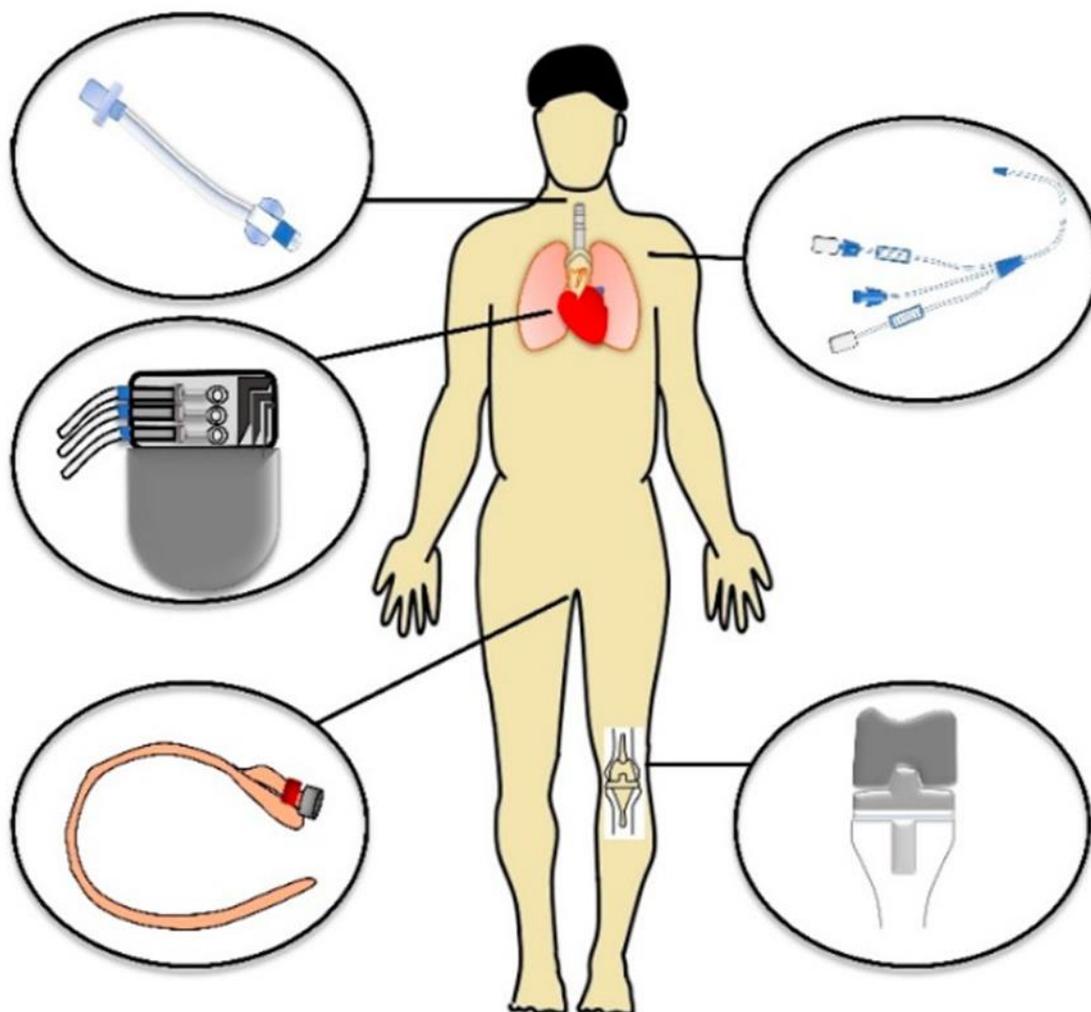
2.2.5.1 Infecções relacionadas a dispositivos médicos

As infecções em dispositivos médicos implantados são comumente provocadas por estafilococos. Entre os dispositivos mais suscetíveis a essas condições clínicas, estão os implantes cardíacos, cateteres venosos centrais (CVC), cateteres urinários, tubos endotraqueais e próteses articulares (Figura 8). Essas infecções representam uma grande preocupação, especialmente pela sua associação a ambientes hospitalares e contribuição significativa para a morbidade e mortalidade (KAUSHIK *et al.*, 2024; ZHENG *et al.*, 2018a).

SARM é reconhecido globalmente como um dos principais patógenos hospitalares, destacando-se pela sua capacidade de resistir a antibióticos e pela sua eficiência em criar

biofilmes. Mais da metade das cepas de SARM são identificados como fortes produtores de biofilme em infecções relacionadas a cateteres, o que torna as infecções por *S. aureus* mais graves e agressivas do que aquelas causadas por outros estafilococos (CANGUI-PANCHI *et al.*, 2022; ZHENG *et al.*, 2018a).

Figura 8 - Diagrama esquemático das localizações mais comuns de dispositivos médicos.



Fonte: Dadi *et al.* (2021).

As válvulas cardíacas mecânicas são comumente implantadas em substituição às válvulas aórticas e mitrais que foram prejudicadas pelo envelhecimento, doenças específicas ou anomalias congênitas. Tanto *S. epidermidis* quanto *S. aureus* formam biofilmes nesses dispositivos e nos tecidos cardiovasculares circundantes, o que pode levar a condições médicas críticas, como a endocardite (PIETROCOLA *et al.*, 2022; ZHENG *et al.*, 2018a).

CVCs são utilizados para consignar hemoderivados, nutrientes e medicamentos, além de facilitar o tratamento dialítico. Devido ao seu método invasivo de inserção, esses

dispositivos são considerados uma importante fonte de infecções da corrente sanguínea. Os estafilococos são os principais agentes causadores de infecções por CVCs. No caso de infecções por *S. aureus*, os sinais clínicos típicos incluem purulência, eritema e sensibilidade (DADI *et al.*, 2021; PIETROCOLA *et al.*, 2022; ZHENG *et al.*, 2018a).

A pneumonia associada a ventilação mecânica é a segunda infecção relacionada aos cuidados de saúde mais comum em unidades de cuidados intensivos pediátricos. Os tubos endotraqueais acoplados a esses ventiladores ligam diretamente o ambiente externo e os pulmões, tornando-os vulneráveis a infecções bacterianas exógenas. Por esta razão, os biofilmes podem se desenvolver rapidamente nos tubos endotraqueais. *S. aureus* é o patógeno mais frequente que infecta pneumonia associada à ventilação mecânica, ao lado de *Pseudomonas aeruginosa* (PIETROCOLA *et al.*, 2022; ZHENG *et al.*, 2018a).

A infecção protética articular pode resultar de complicações da artroplastia total da articulação, disseminação hematogênica ou, mais frequentemente, de contaminação durante a cirurgia. *S. aureus* e os estafilococos coagulase-negativos são a principal causa de infecção protética articular (DI DOMENICO; OLIVA; GUEMBE, 2022; PIETROCOLA *et al.*, 2017; ZHENG *et al.*, 2018a).

As principais bactérias isoladas de cateteres urinários incluem *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*. O risco de infecção urinária relacionada ao cateter aumenta com a duração do seu uso, chegando a aumentar cerca de 10% por dia de uso. Após a inserção do cateter, os biofilmes podem formar-se tanto na parte interna quanto externa, o que torna a prevenção de infecções bacterianas um desafio, mesmo com procedimentos higiênicos adequados. O uso de cateteres urinários desencadeia uma reação inflamatória que resulta na liberação e deposição de fibrinogênio nesses dispositivos, e a interação desse composto com o *S. aureus* pode contribuir significativamente para a colonização do cateter, facilitando a colonização do urotélio e subsequente infecção (GRILLO *et al.*, 2020; PIETROCOLA *et al.*, 2022; ZHENG *et al.*, 2018a).

2.2.6 Tratamentos disponíveis

S. aureus destaca-se como um patógeno bem-sucedido, demonstrando uma capacidade notável de evoluir e se ajustar com persistência às constantes mudanças nas práticas médicas e à variedade de agentes antimicrobianos existentes (GAJDÁCS, 2019). A maioria dos antibióticos disponíveis no mercado tornam-se menos ativos contra bactérias resistentes, particularmente contra SARM (NANDHINI *et al.*, 2022).

Há uma série de diretrizes publicadas por organizações profissionais e instituições governamentais em todo o mundo que se referem à terapia das infecções por *S. aureus*. Embora existam diferenças nestas diretrizes, elas compartilham fundamentos comuns e muitas das recomendações diferentes refletem variações nos padrões locais de sensibilidade antimicrobiana em diferentes países. Além disso, as divergências nas recomendações podem ser atribuídas as diferenças nos antimicrobianos aprovados pelas agências nacionais, bem como pelas indicações aprovadas para a sua utilização (DAVID; DAUM, 2017).

O tratamento primário das IPTMs superficiais por *S. aureus* é a incisão e drenagem e, quando indicado, seguida do uso de terapia oral com cefalosporinas de primeira geração, como cefalexina, e penicilinas resistentes à penicilinase, como cloxacilina. Em relação às IPTMs superficiais ocasionadas por SARM, é recomendada a terapia com clindamicina, sulfametoxazol/trimetoprima, doxiciclina ou, menos frequentemente, linezolidina (DAVID; DAUM, 2017b; LINZ *et al.*, 2023).

Na ocorrência de IPTMs profundas, também chamadas de abscessos, a terapia intravenosa é a mais recomendada. Nessas condições clínicas, o tratamento primário pode incluir drenagem de focos relevantes associado à terapia intravenosa, com β -lactâmicos para casos de infecções por SASM e com vancomicina em casos de infecções profundas por SARM (DAVID; DAUM, 2017b; LEE *et al.*, 2018).

Para endocardite, recomenda-se que a antibioticoterapia seja iniciada o mais rápido possível e que o controle da fonte seja obtido se houver um foco de infecção identificado para drenar ou remover fora do local infectado no coração. A endocardite do lado direito, associada ao uso de drogas e cateteres intravenosos, geralmente responde mais prontamente ao tratamento antimicrobiano e está associada a menos complicações do que a endocardite do lado esquerdo (ASGEIRSSON; THALME; WEILAND, 2018; DAVID; DAUM, 2017).

Em casos de endocardite em válvulas nativas ocasionada por SASM é realizada a terapia antimicrobiana isolada com oxacilina, nafcilina ou outra penicilina específica para estafilococos. Já para a endocardite valvar nativa por SARM, a vancomicina é o tratamento de eleição, sendo a daptomicina uma alternativa viável (ASGEIRSSON; THALME; WEILAND, 2018; DAVID; DAUM, 2017).

No cenário das infecções de próteses valvares por SASM a indicação é a terapia combinada, onde os antibióticos nafcilina ou oxacilina são associados a rifampicina, antibiótico eficaz no tratamento de infecções relacionadas a biofilme, em que nesse caso, a inclusão de um aminoglicosídeo no início do tratamento é recomendada. Para a endocardite protética por SARM, a combinação de vancomicina e rifampicina é sugerida. Além disso, a

cirurgia para substituir a prótese valvar deve ser fortemente considerada em todos os pacientes (ASGEIRSSON; THALME; WEILAND, 2018; DAVID; DAUM, 2017).

O manejo da pneumonia causada por *S. aureus* geralmente envolve o uso de um antibiótico apropriado por um período de sete dias, no entanto em casos de infecções severas, períodos de tratamento mais extensos podem ser necessários. No tratamento de SASM, as penicilinas específicas para estafilococos, como oxacilina ou nafcilina, são as opções preferenciais, e, se a cepa for sensível, pode-se optar por clindamicina ou linezolida (DAVID; DAUM, 2017b). Em relação ao SARM, a vancomicina é o medicamento mais indicado inicialmente. Se houver contraindicações ao uso de vancomicina, alternativas como linezolida e telavancina podem ser utilizadas. Vale ressaltar que a daptomicina não é aconselhada para esses casos, pois é neutralizada pelo surfactante dos pulmões (DAVID; DAUM, 2017; LEE *et al.*, 2018; WELTE; PLETZ, 2010).

S. aureus é a causa mais comum de osteomielite bacteriana. Na seleção de um antimicrobiano para o tratamento desta condição, deve-se considerar a habilidade do fármaco em penetrar no tecido ósseo e alcançar níveis terapêuticos adequados. Para SASM, um agente β -lactâmico é a terapia de escolha. Para osteomielite por SARM ou SASM em pacientes com alergia a β -lactâmicos, recomenda-se vancomicina ou daptomicina. Como alternativas, considera-se o uso de sulfametoxazol/trimetoprim em combinação com rifampicina oral, linezolida ou clindamicina (DAVID; DAUM, 2017; URISH; CASSAT, 2020).

As diretrizes essenciais para o tratamento de bacteremia abrangem a localização e identificação da origem primária da infecção, a extração de qualquer material estranho infectado, se existente, a drenagem ou remoção cirúrgica de qualquer foco infeccioso que não possa ser eliminado somente com o uso de antimicrobianos, a confirmação laboratorial da esterilização do sangue, e a administração de um agente antibacteriano eficaz específico para a bacteremia (DAVID; DAUM, 2017; PARSONS *et al.*, 2023).

Para bacteremia por SASM, o agente primário tem sido tradicionalmente a oxacilina, a nafcilina ou outra penicilina antiestafilocócica semissintética. As alternativas incluem cefalosporinas. Em casos de bacteremia provocada por SARM ou em pacientes que apresentam alergia à penicilina, a vancomicina é geralmente o tratamento de preferência. Agentes alternativos podem ser empregados de forma empírica se o paciente demonstrar intolerância à vancomicina (DAVID; DAUM, 2017; LEE *et al.*, 2018).

Em relação as doenças ocasionadas por superantígenos, o tratamento padrão para a síndrome do choque tóxico (SCT) normalmente envolve a remoção ou desbridamento da fonte da infecção, acompanhado pelo uso de um antibiótico eficiente e a aplicação de

imunoglobulina intravenosa (IVIG). Embora os antibióticos não sejam o principal foco no tratamento da SCT, fármacos que atuam contra os ribossomos, como a clindamicina e a linezolida, são comumente prescritos para reduzir a produção de toxinas. O tratamento da síndrome da pele escaldada geralmente é feito em uma unidade de queimados, utilizando-se de antibioticoterapia com os mesmos fármacos sugeridos para infecções invasivas causadas por *S. aureus* (DAVID; DAUM, 2017).

As infecções causadas por biofilmes de *S. aureus* são difíceis de erradicar devido à alta tolerância desta bactéria a agentes antibacterianos e às defesas imunológicas do hospedeiro. A utilização da terapia antibiótica tradicional para tratar essas infecções é um desafio, pois apenas doses subletais ao biofilme podem ser administradas com segurança aos pacientes, enquanto as células bacterianas em biofilmes podem tolerar concentrações até 1000 vezes maiores de antibióticos do que células planctônicas. Assim, os antibióticos não podem ser dosados numa concentração suficiente para erradicar o biofilme sem também trazer efeitos colaterais nocivos ao paciente (TUON *et al.*, 2023).

O tratamento da infecção por biofilme requer antibióticos capazes de penetrar efetivamente, assegurando assim que concentrações adequadas do medicamento atinjam o local infectado pelo biofilme. Por essa razão, prefere-se o uso de tetraciclínas, macrólidos, rifamicinas, lincosamidas, quinolonas, ácido fusídico, oxazolidinonas, sulfonamidas e nitroimidazol em detrimento de glicopeptídeos, aminoglicosídeos, polimixinas e β -lactamases (TUON *et al.*, 2023).

A combinação de vancomicina e rifampicina tem sido objeto de estudo, especialmente em casos de infecções por biofilme, devido ao seu potencial de reduzir a aderência das bactérias. Contudo, embora essa combinação possa ser efetiva contra infecções por SARM, ela pode não ser tão eficaz contra infecções por biofilme SARM. A combinação de rifampicina com outros antibióticos é considerada o melhor tratamento disponível atualmente para infecções em próteses articulares. No entanto, o uso isolado de rifampicina é geralmente evitado na prática clínica devido à rápida resistência que o *S. aureus* pode desenvolver contra este fármaco (IDREES *et al.*, 2021; LEE *et al.*, 2018; TUON *et al.*, 2023).

Os processos exatos através dos quais os antibióticos afetam ou interrompem o biofilme de *S. aureus* ainda não são completamente entendidos. Assim, entender os mecanismos de ação antibiofilme dos antibióticos representa um campo de pesquisa importante para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas mais efetivas contra infecções por biofilme de *S. aureus* (IDREES *et al.*, 2021; TUON *et al.*, 2023).

Uma abordagem promissora na prevenção de infecções é a alteração das superfícies dos biomateriais, tais como cateteres e implantes, com o objetivo de impedir a aderência de estafilococos e a formação subsequente de biofilmes. A este respeito, tem-se observado resultados encorajadores com implantes que foram revestidos com surfactantes, antibióticos ou peptídeos antimicrobianos, isoladamente ou em combinação mostrando efeitos promissores. No entanto, é importante ressaltar que ainda são necessários estudos clínicos mais aprofundados para comprovar a efetividade dessas inovações no combate aos biofilmes (SURESH; BISWAS; BISWAS, 2019; TUON *et al.*, 2023).

2.3 Reposicionamento de fármacos

O reposicionamento de fármacos é uma estratégia de pesquisa que busca fazer uso de uma nova indicação das propriedades biológicas para medicamentos já aprovados. Neste sentido, o reposicionamento de fármacos é fundamentado em dois pilares científicos essenciais: (1) a descoberta, através da elucidação do genoma humano que algumas doenças partilham, por vezes, alvos biológicos comuns e (2) o conceito de medicamentos pleiotrópicos (JOURDAN *et al.*, 2020).

O processo de reaproveitamento de medicamentos oferece diversas vantagens em comparação com o desenvolvimento de novos fármacos. A principal vantagem desse processo é a redução no tempo de desenvolvimento de medicamentos, em comparação com o processo convencional de criação de novos fármacos. Isso ocorre porque o reaproveitamento elimina a necessidade de passar por muitas das etapas iniciais de descoberta e testes pré-clínicos, já que informações sobre a farmacocinética, farmacodinâmica e toxicidade dos medicamentos geralmente já estão bem estabelecidas, fatores que também minimizam os riscos de falha (FARHA; BROWN, 2019; JOURDAN *et al.*, 2020; XUE *et al.*, 2018).

Além disso, sob o ponto de vista econômico, as etapas de desenvolvimento que são dispensadas no processo de reaproveitamento de medicamentos podem resultar em uma economia de cerca de 15% do custo total para desenvolver um novo fármaco. Desse modo, o reposicionamento de medicamentos oferece uma oportunidade para muitos países com um investimento reduzido avançarem no desenvolvimento de medicamentos (FARHA; BROWN, 2019; XUE *et al.*, 2018).

O desafio central do reposicionamento de fármacos reside em identificar novas conexões entre medicamentos existentes e diferentes patologias. Para superar esse desafio, foram criadas diversas metodologias, que incluem técnicas computacionais, abordagens experimentais biológicas, e estratégias que combinam ambos os enfoques (XUE *et al.*, 2018).

Nesse contexto, a área de reutilização de medicamentos pode tirar proveito de métodos computacionais avançados para descobrir novas associações entre várias entidades biológicas, incluindo genes, proteínas, doenças e fármacos, assim como para encontrar possíveis usos terapêuticos e novas aplicações para medicamentos já existentes (JARADA; ROKNE; ALHAJJ, 2020).

À medida que o conceito de reposicionamento de medicamentos ganhou destaque no meio científico, uma série de pesquisas foi conduzida para desvendar os mecanismos de ação de fármacos antidepressivos, neurológicos, dentre outros. Essas investigações conseguiram identificar com êxito novos usos para medicamentos que já tinham aprovação, assim como para aqueles que ainda estavam em fase de desenvolvimento (JARADA; ROKNE; ALHAJJ, 2020). A literatura científica está repleta de estudos focados em evidenciar a utilidade de medicamentos já existentes para novas aplicações terapêuticas (JOURDAN *et al.*, 2020).

O ácido acetilsalicílico representa o caso mais antigo de reutilização farmacêutica. Comercializado como analgésico pela Bayer em 1899, a aspirina experimentou seu primeiro reposicionamento terapêutico em 1980, quando foi adotada para funcionar como um agente antiplaquetário. Conhecida por seus efeitos teratogênicos, a talidomida foi banida pela Organização Mundial da Saúde em 1962 após causar inúmeros casos de malformações congênitas pelo seu uso indevido como antiemético em gestantes. Contudo, em 1964, se descobriu o surpreendente efeito da talidomida no tratamento de complicações da hanseníase (JARADA; ROKNE; ALHAJJ, 2020; JOURDAN *et al.*, 2020; KULKARNI *et al.*, 2023).

O sildenafil é um exemplo de substância farmacêutica que foi reaproveitada antes de chegar ao mercado. Enquanto era alvo de pesquisas da Pfizer em 1985 como possível remédio para hipertensão, o medicamento mostrou potencial no tratamento de angina. No entanto, um efeito colateral inesperado de ereções penianas foi notado em ensaios clínicos no Reino Unido. Esse fenômeno levou a Pfizer a introduzir o sildenafil no mercado em 1998 como uma solução para disfunção erétil, com o nome comercial Viagra (JARADA; ROKNE; ALHAJJ, 2020; JOURDAN *et al.*, 2020; KULKARNI *et al.*, 2023).

A amantadina, inicialmente desenvolvida como um antiviral na década de 1950 e utilizada para combater a influenza, é um exemplo notável de reorientação farmacológica em neurologia. Descobriu-se mais tarde que ela atua como um antagonista não competitivo dos receptores NMDA, promovendo a liberação de dopamina e inibindo sua recaptação, processo benéfico no tratamento da doença de Parkinson, caracterizada pela degeneração de neurônios dopaminérgicos. Além disso, a amantadina foi reconhecida por regular a atividade glutamatérgica e influenciar as vias subtalâmico-palidais, mecanismos essenciais no

surgimento da discinesia parkinsoniana. Em 1973, tornou-se o primeiro fármaco a receber aprovação da FDA para tratar a discinesia associada à doença de Parkinson (HUA *et al.*, 2022).

A problemática da resistência antimicrobiana representa um desafio de escala mundial, exigindo com urgência a descoberta de novos fármacos e abordagens terapêuticas. O processo de reutilização de medicamentos tem demonstrado avanços significativos, contribuindo para a criação de alternativas eficazes no combate a infecções microbianas na última década (HUA *et al.*, 2022). Embora tenham sido feitos esforços para reutilizar novos agentes antimicrobianos, até o presente, apenas alguns foram aprovados com sucesso para novas indicações, focados principalmente para doenças parasitárias e protozoárias. Ainda não se viu a reutilização de fármacos para fins antibacterianos. Contudo, o interesse na reorientação de medicamentos para este fim permanece elevado, impulsionado pela necessidade urgente de enfrentar o crescimento preocupante da resistência antimicrobiana (FARHA; BROWN, 2019).

2.4 Fenotiazinas

As fenotiazinas constituem uma classe de medicamentos antipsicóticos utilizados no tratamento de várias condições psiquiátricas, como esquizofrenia, transtorno bipolar controle de náuseas e vômitos e outros transtornos psicóticos. Esses compostos atuam no sistema nervoso central, principalmente através da inibição do receptor de dopamina, o que resulta na redução dos sintomas, como delírios e alucinações. No entanto, as fenotiazinas também influenciam receptores como serotonina, histamina, muscarínicos e GABAérgicos o que resulta em efeitos sedativos e antieméticos, permitindo seu uso no controle de náuseas e vômitos, bem como em situações de ansiedade e agitação (GRIMSEY; PIDDOCK, 2019; JASZCZYSZYN *et al.*, 2012; KATZUNG; TODD W. VANDERAH, 2023).

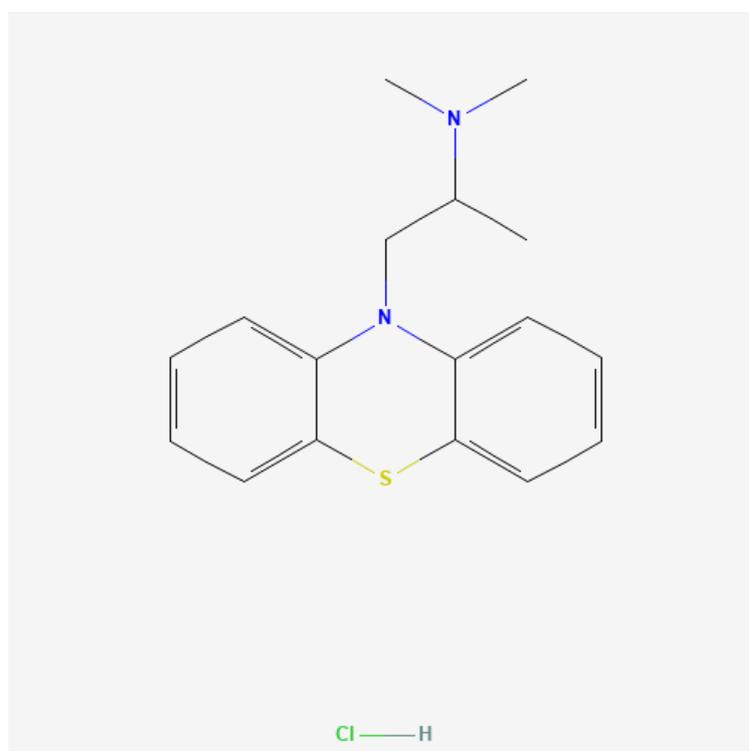
Devido sua atuação em diversos receptores, os derivados fenotiazínicos são frequentemente investigados em estudos que buscam novas aplicações farmacológicas para essas substâncias (VARGA *et al.*, 2017). Pesquisas clínicas apontaram que as fenotiazinas desempenham um papel importante na pesquisa contra o câncer, atuando como agentes antitumorais. Diversos fármacos da classe demonstraram exercer atividade antitumoral através de vários mecanismos, mas principalmente por meio de processos que induzem a apoptose, como a inibição de mecanismos de reparo de DNA e vias de transdução de sinal (MEHRABI; ELMİ; NYLANDSTED, 2023; RÁCZ; SPENGLER, 2023; VARGA *et al.*, 2017).

Outro importante uso da ampla atividade biológica das fenotiazinas que vem sendo alvo de estudos é a atividade antimicrobiana. Derivados fenotiazínicos como tioridazina e a clorpromazina demonstraram possuir atividade antibacteriana atuando na inibição de bombas de efluxo. Além de apresentar atividade antibiofilme, principalmente através do mecanismo de inibição de *quorum sensing*, processo de comunicação célula a célula dependente de moléculas de sinalização extracelular, atribuído ao fármaco (DENG *et al.*, 2020; GAJDÁCS; SPENGLER, 2019a; GRIMSEY; PIDDOCK, 2019; RÁCZ; SPENGLER, 2023).

2.5 Prometazina

O Cloridrato de prometazina, nomenclatura (RS)-N,N-dimethyl-1-(10H-phenothiazin-10-yl) propan-2-amine (Figura 9) é um anti-histamínico de primeira geração, pertencente à classe das fenotiazinas, que possui efeitos sedativos (DENHOLM; GALLAGHER, 2018). Devido sua capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica antagonizando receptores colinérgicos e dopaminérgicos, é um fármaco comumente utilizado em condições alérgicas, no alívio sintomático de náuseas, vômitos, enjoos, e para tratamento de insônia em adultos e crianças (INCE; RUETHER, 2021; VARGA *et al.*, 2017).

Figura 9 – Representação estrutural da prometazina.



Fonte: PubChem

A absorção da prometazina pelo sistema digestivo é eficiente, alcançando o pico de concentração no plasma entre 2 a 3 horas após administração oral (dosagens de 25 a 50 mg) ou intramuscular (25 mg). Quando administrada via retal com supositórios, a concentração plasmática máxima é atingida aproximadamente após 8 horas. A taxa de biodisponibilidade quando ingerida oralmente é de cerca de 25%, enquanto que para a administração retal, é de 23%. A prometazina se distribui extensivamente pelos tecidos do corpo e apresenta um volume de distribuição considerável após administração oral e intramuscular. Em pacientes pediátricos, a administração de prometazina segue a metodologia utilizada em adultos. Contudo, é essencial realizar ajustes na dosagem conforme o peso corporal e a condição clínica da criança (CANTISANI *et al.*, 2013; SOUTHARD; AL KHALILI, 2024).

Além disso, a prometazina atravessa rapidamente a placenta, sendo detectada no sangue do cordão umbilical em apenas 1,5 minutos após a administração intravenosa. Ela também é capaz de penetrar a barreira hematoencefálica. Estima-se que a prometazina tenha uma meia-vida de eliminação oral entre 12 e 15 horas. Com uma dose intravenosa de 12,5 mg, as concentrações de prometazina no sangue diminuem de forma bioexponencial, apresentando uma meia-vida terminal de eliminação de aproximadamente 12 horas (CANTISANI *et al.*, 2013).

A principal função da prometazina é antagonizar os efeitos centrais e periféricos da histamina mediados pelos receptores H1 do trato gastrointestinal, útero, grandes vasos sanguíneos e músculos brônquicos. Seu efeito contra náuseas e vômitos pode estar relacionado ao bloqueio de receptores dopaminérgicos na zona gatilho quimiorreceptora (ZGQ) da medula. Além disso, o fármaco possui acentuadas propriedades anticolinérgicas, bloqueando as respostas à acetilcolina que são mediadas pelos receptores muscarínicos. Estas ações conjuntas são a causa de muitos dos efeitos colaterais que são observados durante seu uso em tratamentos clínicos (CANTISANI *et al.*, 2013; SOUTHARD; AL KHALILI, 2024).

Por atuar em diversos receptores, a prometazina é alvo constante de estudos que visam explorar novas propriedades farmacológicas (VARGA *et al.*, 2017). Pesquisas demonstraram que a prometazina possui atividade antimicrobiana *in vitro* contra isolados de *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., *Trichosporon* spp. (AGUIAR *et al.*, 2023; BRILHANTE *et al.*, 2018, 2020; FIALLOS *et al.*, 2022), *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* (AKINJOGUNLA *et al.*, 2021; FIALLOS *et al.*, 2022; GUEDES *et al.*, 2023a, 2023b). Além de apresentar atividade antibiofilme em cepas de *Staphylococcus* spp. e atividade inibidora de

bomba de efluxo em isolados de *Trichosporon asahii* e *Trichosporon inkin* (AGUIAR *et al.*, 2023; GUEDES *et al.*, 2023a).

Diante desse cenário, o presente estudo teve como objetivo analisar a atividade antimicrobiana da prometazina, bem como os mecanismos de ação subjacentes, tanto de forma isolada quanto em combinação com oxacilina e vancomicina, frente a células planctônicas e biofilmes de *Staphylococcus aureus*. Além disso, buscou-se investigar a atividade antimicrobiana da prometazina impregnada em fragmentos de cateter urinário frente a biofilmes de *Staphylococcus aureus*.

3. HIPÓTESES

- 3.1 A prometazina apresenta atividade antimicrobiana *in vitro* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina.
- 3.2 A prometazina apresenta atividade bactericida frente a cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina
- 3.3 A prometazina apresenta atividade antimicrobiana *in vitro* frente biofilme formado e em formação de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina.
- 3.4 A prometazina associada à oxacilina e a vancomicina promove redução da Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina.
- 3.5 A prometazina apresenta mecanismo de ação antimicrobiano frente *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina através de alterações na permeabilidade da membrana celular e danos ao material genético bacteriano.
- 3.6 A Prometazina atua na prevenção da formação de biofilme em cateter urinário.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* da prometazina isoladamente e em associação com oxacilina e vancomicina frente a cepas de *Staphylococcus aureus* sensíveis e resistentes à meticilina, na sua forma planctônica e sobre biofilmes formado e em formação.

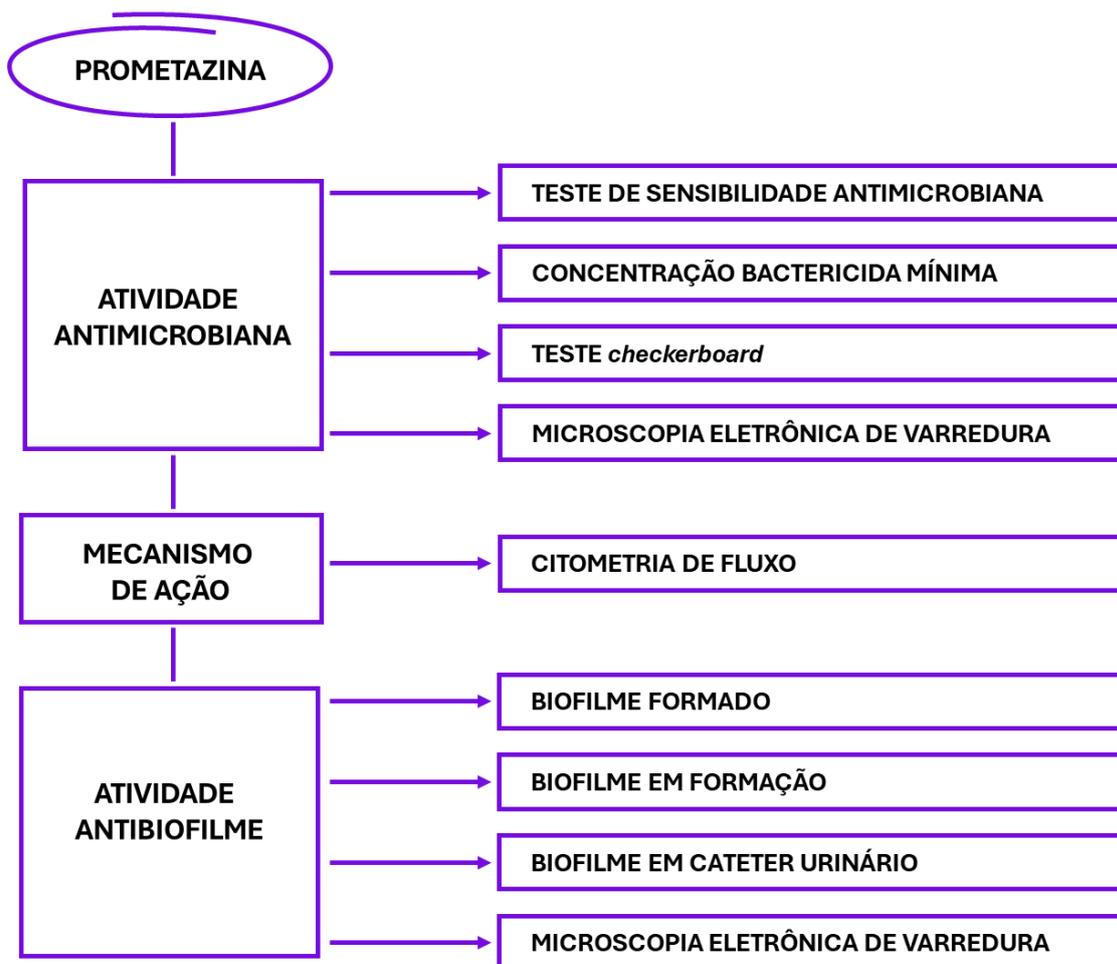
4.2 Objetivos específicos

- 4.2.1 Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) da prometazina frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.
- 4.2.2 Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) da oxacilina e vancomicina isoladas frente a cepas de *Staphylococcus aureus*
- 4.2.3 Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e o Índice da Concentração Inibitória Fracionada (FICI) da prometazina em associação a antibacterianos frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, e analisar a interação farmacológica.
- 4.2.4 Avaliar a ação da prometazina isolada e associada a oxacilina e vancomicina frente a biofilme formado e em formação de *Staphylococcus aureus*.
- 4.2.5 Investigar o possível mecanismo de ação antibacteriano da prometazina frente *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina por meio da utilização de citometria de fluxo.
- 4.2.6 Avaliar o potencial da prometazina na prevenção da formação de biofilme de *Staphylococcus aureus* em cateter urinário.
- 4.2.7 Analisar possíveis alterações morfológicas causadas pela prometazina isolada e associada a oxacilina e vancomicina em cepa de *Staphylococcus aureus* na forma planctônica e de biofilme através de microscopia eletrônica de varredura.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

As abordagens metodológicas deste estudo foram conduzidas de acordo com o que está representado na figura 10. Três pilares fundamentais foram adotados no processo: Ensaios para avaliação da atividade antimicrobiana, ensaios de investigação do possível mecanismo de ação e ensaios para avaliação do efeito da droga sobre os biofilmes de *S. aureus*.

Figura 10 – Fluxograma das metodologias empregadas no estudo.



Fonte: Elaborada pela autora.

5.1 Microrganismos

Foram utilizadas 14 cepas clínicas de *S. aureus*, sendo 8 resistentes à meticilina (SARM), 6 sensíveis à meticilina (SASM) e 1 cepa *S. aureus* ATCC 6538P de coleção (SisGen: AF317AF). Os isolados pertencem à bacterioteca do Laboratório de Bioprospecção de Moléculas Antimicrobianas da Universidade Federal do Ceará (LABIMAN/UFC).

5.2 Fármacos

Foram utilizadas a oxacilina sódica monohidratada e cloridrato de vancomicina, obtidas comercialmente da Sigma Aldrich (EUA) e cloridrato de prometazina, obtido comercialmente da Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos (Brasil). Os compostos foram diluídos em água destilada estéril e armazenados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posterior uso.

5.3 Testes de sensibilidade antimicrobiana

5.3.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A CIM foi determinada através da técnica de microdiluição em meio caldo Mueller Hinton (Cátions ajustados), utilizando placas de 96 poços, seguindo o protocolo M07-A10 do CLSI (2015) (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015) para bactérias aeróbicas, em que a CIM foi definida como a menor concentração que, após o período de incubação, visivelmente inibiu de forma completa o crescimento bacteriano. A OXA foi testada na faixa de concentração variando entre 0,0156-8 $\mu\text{g/mL}$ para as cepas SASM e de 2-1024 $\mu\text{g/mL}$ para as cepas SARM. A VAN foi testada na faixa de 0,0625-32 $\mu\text{g/mL}$. A PMT foi testada na faixa de 2-1024 $\mu\text{g/mL}$. Os isolados foram classificados como sensíveis (S) ou resistentes (R) aos antibióticos de acordo com os pontos de corte descritos no documento M100-S31 (CLSI, 2021) (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2021), sendo $\leq 2\text{ }\mu\text{g/ml}$ (S) e $\geq 4\text{ }\mu\text{g/ml}$ (R) para OXA e $\leq 2\text{ }\mu\text{g/ml}$ (S) para a VAN.

5.3.2 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

A CBM foi determinada de acordo com Andrade Neto *et al.* (2019) (BATISTA DE ANDRADE NETO *et al.*, 2019) e Sá *et al.* (2020) (AV SÁ *et al.*, 2020), em que alíquotas das suspensões dos poços sem crescimento bacteriano visível foram inoculadas em ágar BHI, e incubadas a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 h. A menor concentração da PMT em que não foi observado crescimento foi considerada a CBM.

5.3.3 Análise do nível de tolerância

O nível de tolerância da PMT foi determinado pela fórmula: CBM/CIM . O agente foi classificado como bactericida quando a razão ≤ 4 , e bacteriostático quando > 4 (PIASECKI *et al.*, 2021).

5.3.4 Determinação da interação farmacológica

Após a determinação das CIMs de PMT, OXA e VAN isoladamente, o efeito da combinação dessas drogas foi avaliado pela técnica do *checkerboard* (ODDS, 2003), a qual de acordo com a CIM obtida para cada isolado, foi realizada uma combinação única dos fármacos em associação. O Índice da Concentração Inibitória Fracionada (ICIF) foi calculado a partir equação: $CIM_A \text{ associada} / CIM_A \text{ isolada} + CIM_B \text{ associada} / CIM_B \text{ isolada}$, sendo o resultado interpretado de acordo com os seguintes parâmetros: sinérgico ($ICIF \leq 0,5$), aditivo ($0,5 < ICIF \leq 1$), indiferente ($1 < ICIF \leq 4$) e antagônico ($ICIF > 4$) (JORGE *et al.*, 2017).

5.3.5 Análise dos dados

Os testes foram realizados em triplicata e as médias aritméticas foram utilizadas para determinar os valores de CIM, CBM e ICIF.

5.4 Ensaios de análise por citometria de fluxo e microscopia de fluorescência

5.4.1 Preparo das células

Para o ensaio por citometria de fluxo, foi selecionada uma cepa representativa (SARM 2). As suspensões das células de SARM foram incubadas em caldo BHI (Himedia, Mumbai, Índia) a 35 °C por 20 h, e coletadas em crescimento exponencial, posteriormente centrifugadas a 2500 r.p.m. por 5 min, lavadas três vezes com solução salina 0,85%, centrifugadas novamente (2500 r.p.m. por 5 min), e ressuspensas em caldo BHI ($1,5 \times 10^6$ UFC/mL) (CABRAL *et al.*, 2023).

5.4.2 Tratamento das células

Para análise da integridade da membrana e fragmentação do DNA, as células de SARM foram expostas à PMT, OXA e VAN isoladamente nas concentrações de CIM, PMT + OXA (CIM associada) e incubadas a 35 °C por 20 h (CABRAL *et al.*, 2023).

5.4.3 Determinação da integridade de membrana

Foi avaliada pelo método de exclusão com iodeto de propídio (IP) na concentração de 2 mg/L. A fluorescência das células foi determinada pelo citômetro de fluxo FACSCalibur™ (Becton Dickinson, CA, EUA) e o software CytoSoft 4.1 (42,43,49).

5.4.4 Análise de fragmentação do DNA

Foi realizado o ensaio de marcação da extremidade de corte dUTP mediado pela desoxinucleotidil-transferase (TUNEL) de acordo com o protocolo do fabricante do kit (Roche, Rotkreuz, Suíça). As células tratadas foram fixadas em paraformaldeído a 7% e lavadas com Triton X-100 a 1% por 10 minutos, em gelo, sendo incubadas com a mistura da reação de TUNEL por 1 h a 37 °C, e observadas em microscópio de fluorescência (Olympus, Tóquio, Japão) (BATISTA DE ANDRADE NETO *et al.*, 2019; CABRAL *et al.*, 2023; DWYER *et al.*, 2012).

5.4.5 Análise dos dados

Os dados foram comparados através da análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Tukey ($p < 0.05$), utilizando o programa GraphPad Prism versão 5.01 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

5.5 Análise da atividade antibiofilme

5.5.1 Formação do biofilme

A análise foi realizada segundo Sá *et al.* (2020) e Brambilla *et al.* (2017), com algumas modificações. Foram selecionadas duas cepas representativas de *S. aureus*, sendo 1 SASM e 1 SARM. As estirpes foram previamente inoculadas em caldo triptico de soja (TSB) (Kasvi, Paraná, Brasil) suplementado com 2% de glicose (Isofar, Rio de Janeiro, Brasil) e incubadas por 24 h a 35 °C. As células foram centrifugadas a 2500 r.p.m. por 5 min e lavadas três vezes com solução salina. Uma suspensão de inóculo preparada de acordo com a escala 1 de McFarland (3×10^8 UFC/mL) foi adicionada em placa de poliestireno de 96 poços que foram incubadas por 48 h a 37 °C. Poços foram destinados ao controle de esterilidade do meio.

5.5.2 Sensibilidade do biofilme

Para avaliar o efeito dos compostos frente aos biofilmes formado e em formação, a PMT foi testada nas concentrações CIM/2, CIM e 2x CIM. OXA e VAN foram testadas isoladamente nas concentrações de CIM isoladas e CIM quando associadas à prometazina. A atividade metabólica foi analisada através do ensaio utilizando brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT) para investigação da viabilidade celular, com as

leituras em densidade óptica (DO) de 490 nm (AV SÁ *et al.*, 2020; BRAMBILLA *et al.*, 2017). Poços foram dedicados ao controle do biofilme (meio de cultura + microrganismo), para comparação das absorvâncias dos biofilmes tratados com as drogas.

5.5.3 Impregnação de fragmentos de cateter

A impregnação foi realizada segundo Fisher *et al.* (2015) e Nair *et al.* (2016) com algumas modificações. Fragmentos de sonda Foley (Látex siliconizado, número 12, SOLIDOR™) de aproximadamente 0,5 cm foram submersos em clorofórmio por 1 h em agitação (25 r.p.m.), para dilatação do material e melhor penetração do fármaco. Em seguida, os fragmentos foram tratados com PMT, diluída em água, nas concentrações de 4x CIM, 8x CIM, 16x CIM e 32x CIM, e incubados a 35 °C por 1 h em agitação. Posteriormente os fragmentos foram colocados em placas de Petri estéreis e deixados para secar a 35 °C por 24 h. Fragmentos de cateter foram submersos em clorofórmio e, posteriormente, água, não submetidos ao tratamento com PMT, de forma a serem utilizados posteriormente como controle de crescimento do biofilme.

5.5.4 Avaliação da atividade antibiofilme de cateteres impregnados

Para a realização do ensaio com cateter impregnado foi selecionada uma cepa representativa (SARM 8). Após o processo de impregnação, fragmentos de cateter foram colocados em placa de 24 poços de poliestireno, e submersos em inóculo preparado em TSB suplementado com 2% de glicose, de acordo com a escala 1 de McFarland (3×10^8 UFC/mL), e incubados por 48 h a 35 °C. Em seguida, os materiais foram lavados com solução salina 0,85%, colocados em 1 mL desta solução, e agitados em vórtex por 1,5 minuto para desprendimento das células do biofilme. Posteriormente, uma alíquota da solução foi semeada em placas de Petri contendo ágar Sal Manitol (Kasvi, Paraná, Brasil). Feito isso, as placas foram incubadas por 48 h a 35 °C, sendo realizada a contagem de colônias e conversão para UFC/mL (IWATA *et al.*, 2021).

5.5.5 Análise estatística

Os dados foram comparados através da análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Tukey ($p < 0.05$) utilizando o programa GraphPad Prism versão 5.01 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

5.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Células de *S. aureus* na forma planctônica e em biofilme foram analisadas por MEV de acordo com Sá *et al.* 2020 e Cabral *et al.* 2023. Para isso foi selecionada uma cepa representativa (SARM 8).

As células em sua forma planctônica foram aderidas em lamínulas de vidro com silano a 2,5% e em seguida foram expostas à PMT e OXA isoladas nas concentrações de CIM, em concentrações subinibitórias (SUB) (CIM/2) e em associação (CIM associada PMT + OXA).

Para o ensaio com os biofilmes formado e em formação, o tratamento foi realizado com a PMT na concentração de 2x CIM, com VAN na concentração de CIM isoladamente, e PMT + VAN (CIM associada). No ensaio com biofilme em cateter, as células foram tratadas com PMT nas concentrações de 8x CIM, 16x CIM e 32x CIM.

As células (planctônicas e biofilmes) foram fixadas com glutaraldeído a 2,5%, e submetidas à incubação noturna a 4 °C. Em seguida, as lamínulas e cateteres foram lavados duas vezes com solução tampão cacodilato 0,1 M e desidratadas com etanol em concentrações crescentes para, posteriormente, serem cobertos com hexametildisilazano (HMDS) até que o reagente estivesse completamente seco. Para visualização, as lamínulas e cateteres foram revestidos com uma camada de ouro (Emitech, Uckfield, Reino Unido; Q150T) (10 nm) e examinados em microscópio FEI Quanta 450 FEG (FEI CompanyR, MA, USA) (AV SÁ *et al.*, 2020; CABRAL *et al.*, 2023).

6. RESULTADOS

6.1 Atividade antibacteriana da PMT frente a células planctônicas de *S. aureus*

6.1.1 Determinação da CIM e CBM

A PMT demonstrou atividade antimicrobiana contra as cepas de *S. aureus* testadas, com a CIM variando entre 171 a 256 $\mu\text{g/mL}$. A CIM da OXA variou de 0,25 a 1 $\mu\text{g/mL}$ para as cepas SASM, e entre 64 e 683 $\mu\text{g/mL}$ para SARM. Todos os isolados foram sensíveis à VAN, com CIMs variando entre 0,67 e 2,67 $\mu\text{g/mL}$ (Tabela 2). Já os valores de CBM da PMT variaram de 128 a 384 $\mu\text{g/mL}$ (Tabela 2).

6.1.2 Nível de tolerância

A PMT exerceu efeito bactericida contra todas as cepas de *S. aureus* testadas, considerando que a relação CBM/CIM apresentou níveis de tolerância inferiores a 4 (Tabela 2).

6.1.3 Determinação da CIM da PMT associada aos antimicrobianos

Na associação de PMT e OXA, as CIMs variaram de 27 a 171 $\mu\text{g/mL}$ para a PMT e entre 0,16 e 0,67 $\mu\text{g/mL}$ para a OXA frente a cepas SASM e entre 10,66 e 455,13 $\mu\text{g/mL}$ frente a cepas SARM. A interação farmacológica foi sinérgica em 20% dos isolados testados, aditivo em 53%, e em 27% dos isolados a interação foi indiferente. Não houve interação antagônica (Tabela 3). Já na associação de PMT e VAN, as CIMs variaram de 85 a 142 $\mu\text{g/mL}$ para a PMT e entre 0,41 e 1,33 $\mu\text{g/mL}$ para a VAN frente cepas SASM e SARM. A interação farmacológica foi aditiva em 80% dos isolados e indiferente em 20%. Não houveram interações sinérgicas nem antagônicas frente aos isolados testados (Tabela 3).

Tabela 2 - Determinação da CIM da das drogas isoladas, CBM e nível de tolerância da PMT frente a cepas de *S. aureus*.

Cepas ^a	CIM ^b isolada (µg/mL)			CBM ^c (µg/mL)	CBM/CIM ^d	EFEITO ^e
	PMT	OXA	VAN			
				341	1,33	Bactericida
<i>S. aureus</i> ATCC 6538P	256	0,25	1,33	256	1	Bactericida
<i>S. aureus</i> 1	256	1	1	341	1,6	Bactericida
<i>S. aureus</i> 2	213	0,42	1	341	2	Bactericida
<i>S. aureus</i> 3	171	1	1	256	1	Bactericida
<i>S. aureus</i> 4	256	0,67	0,83	256	1	Bactericida
<i>S. aureus</i> 5	256	0,67	1,33	384	2,25	Bactericida
<i>S. aureus</i> 6	171	0,67	0,67	128	1	Bactericida
SARM 1	128	85	1,33	256	1	Bactericida
SARM 2	256	256	1,67	256	1	Bactericida
SARM 3	256	64	1	256	1	Bactericida
SARM 4	256	64	1,67	341	1,33	Bactericida
SARM 5	256	85	1,17	256	1	Bactericida
SARM 6	256	512	2,67	256	1	Bactericida
SARM 7	256	683	1,67	256	1,33	Bactericida
SARM 8	213	85	1	341	1,33	Bactericida

^aIsolados de *S. aureus*. ^bCIM necessária para inibição visual completa do crescimento bacteriano. ^cConcentração bactericida mínima. ^dRazão entre a concentração bactericida mínima e concentração inibitória mínima. ^eO efeito é classificado como bacteriostático quando CBM/CIM \geq 4 e bactericida quando CBM/CIM \leq 4. PMT: prometazina; OXA: Oxacilina; VAN: Vancomicina.

Tabela 3 - Determinação da CIM associada e interação farmacológica frente a cepas de *S. aureus*.

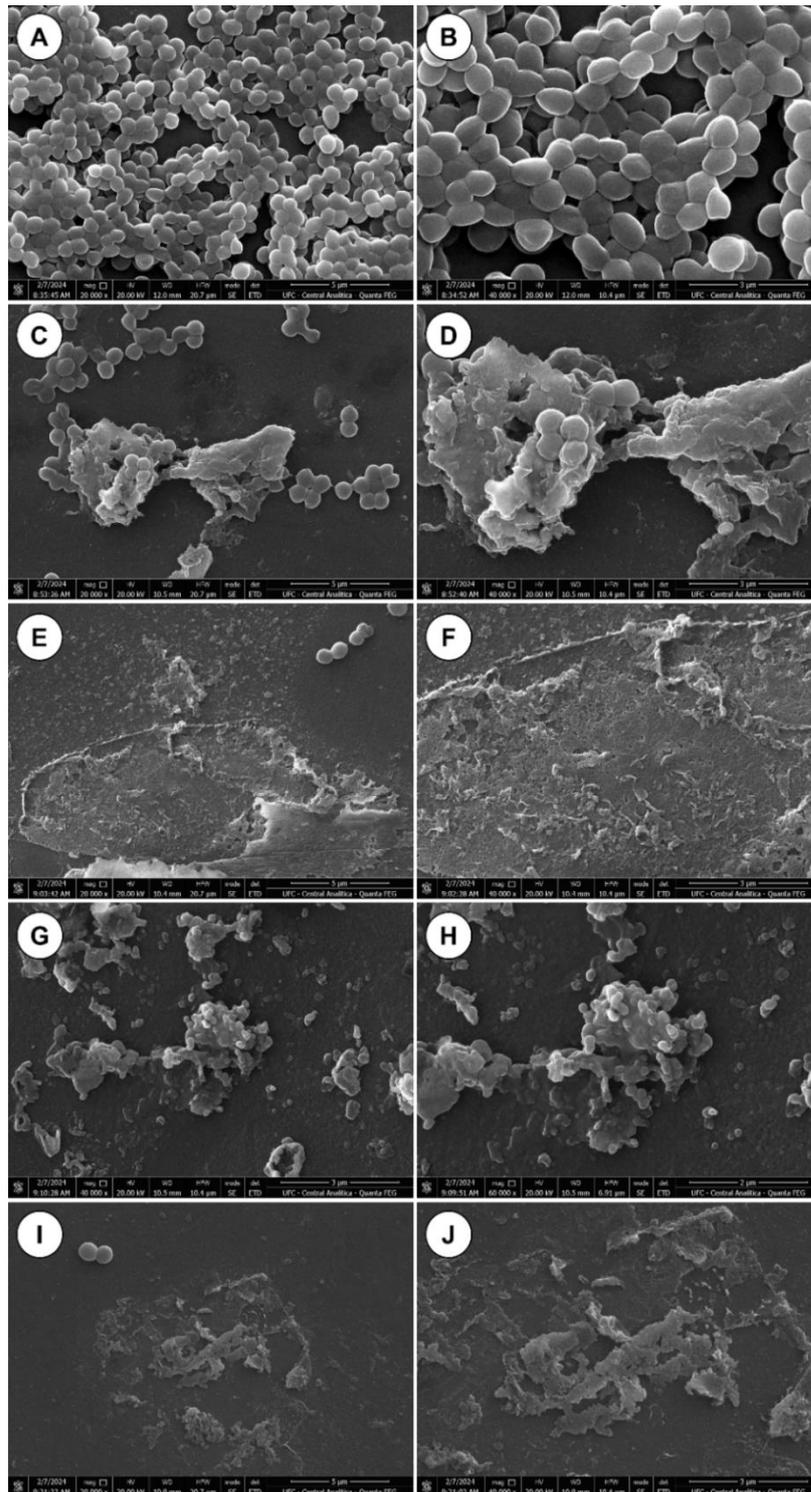
Cepas ^a	CIM ^b associada (µg/mL)							
	PMT	OXA	ICIF	INTERAÇÃO	PMT	VAN	ICIF	INTERAÇÃO
<i>S. aureus</i> ATCC 6538P	128	0,125	1	Aditivo	128	0,66	1	Aditivo
<i>S. aureus</i> 1	171	0,67	1,3	Indiferente	128	0,50	1	Aditivo
<i>S. aureus</i> 2	142	0,28	1,3	Indiferente	107	0,50	1	Aditivo
<i>S. aureus</i> 3	85	0,5	1,0	Aditivo	114	0,67	1,3	Indiferente
<i>S. aureus</i> 4	64	0,16	0,5	Sinérgico	128	0,66	1	Aditivo
<i>S. aureus</i> 5 ^Δ	128	0,33	1,0	Aditivo	128	0,41	0,99	Aditivo
<i>S. aureus</i> 6	114	0,45	1,3	Indiferente	142	0,56	1,7	Indiferente
SARM 1	37	24,89	0,6	Aditivo	85	0,88	1,3	Indiferente
SARM 2 [°]	64	64	0,5	Sinérgico	128	0,83	1	Aditivo
SARM 3	85	21,33	0,7	Aditivo	128	0,50	1	Aditivo
SARM 4	85	21,33	0,7	Aditivo	128	0,83	1	Aditivo
SARM 5	69	24,89	0,6	Aditivo	128	0,58	1	Aditivo
SARM 6	128	256	1	Aditivo	128	1,33	1	Aditivo
SARM 7	171	455,13	1,3	Indiferente	128	0,83	1	Aditivo
SARM 8 ^{*Δ}	27	10,66	0,2	Sinérgico	107	0,50	1	Aditivo

^aIsolados de *S. aureus*. ^bCIM necessária para inibição visual completa do crescimento bacteriano em placa de 96 poços. (°) Isolado selecionado para os experimentos usando citometria de fluxo. (*) Isolado selecionado para os experimentos usando cateter impregnado e MEV. (Δ) Isolados selecionados para os experimentos de biofilme formado e em formação. PMT: prometazina; OXA: Oxacilina; VAN: Vancomicina; ICIF: índice de concentração inibitória fracionada.

6.1.4 Alterações morfológicas observadas por MEV

A Figura 11 contém imagens obtidas por MEV que mostram células planctônicas de SARM íntegras e com alterações morfológicas ocasionadas pelos tratamentos realizados. Os controles (A e B) mostram cocos agrupados em cachos, característicos do gênero *Staphylococcus*, com estruturas celulares externas íntegras. No tratamento realizado com CIM/2 (26,66 µg/ml) de PMT (C e D), é possível visualizar células íntegras e restos celulares que evidenciam danos na morfologia. No tratamento com a CIM (213,33 µg/mL) de PMT isolada, observa-se uma maior quantidade de danos celulares, enquanto no tratamento realizado com OXA isolada (85,3 µg/mL) (G e H) ainda é possível a visualização de células íntegras em meio aos restos celulares. Na CIM associada de PMT (26,66 µg/mL) e OXA (10,66 µg/mL) representada pelas imagens I e J observa-se uma quantidade ainda maior de restos celulares.

Figura 11 - MEV de células planctônicas de SARM.



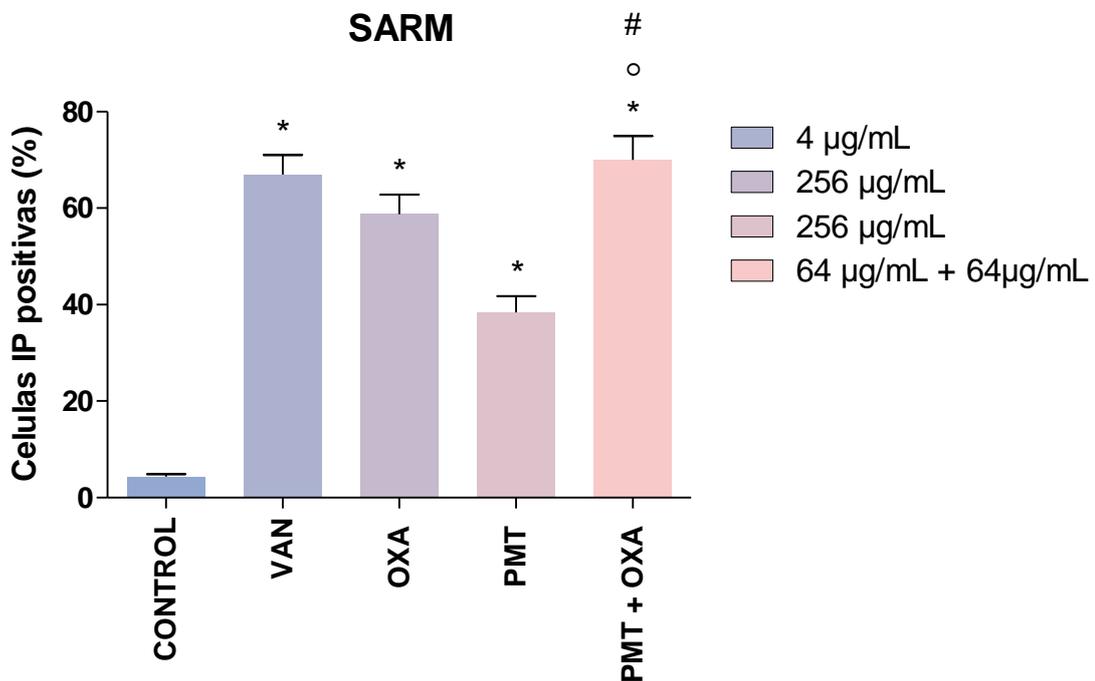
(A e B): Controle; (C e D): PMT em concentração subinibitória (26,66 $\mu\text{g/mL}$); (E e F): CIM PMT isolada (213,33 $\mu\text{g/mL}$); (G e H): CIM OXA isolada (85,3 $\mu\text{g/mL}$); (I e J): CIM combinado de PMT (26,66 $\mu\text{g/mL}$) e OXA (10,66 $\mu\text{g/mL}$). As imagens A, C, E e I foram obtidas com ampliação de 20.000 \times (Barra: 5 μm), as imagens B, D, F, G e J foram obtidas com ampliação de 40.000 \times (Barra: 3 μm) e a imagem H foi obtida com ampliação de 60.000 \times (Barra: 2 μm).

6.2 Análise do possível mecanismo de ação

6.2.1 Redução da viabilidade de células SARM

O gráfico 1 ilustra a redução nas células viáveis, detectadas através da absorção do IP, em decorrência dos tratamentos utilizados. Foram observados aumentos de células não viáveis em todas as concentrações utilizadas no tratamento das células de SARM em comparação ao controle. No tratamento com a CIM de PMT (256 µg/mL) foi observado uma diferença de 33,98% de células não viáveis em relação ao grupo controle ($p < 0,05$). Na associação de PMT (64 µg/mL) e OXA (64 µg/mL) (PMT + OXA) observou-se um acréscimo de 11,26% de células não viáveis quando comparado à CIM de OXA isolada, e de aproximadamente 31%, quando comparada à CIM de PMT isolada, enquanto no tratamento com a VAN (4 µg/mL), o número de células não viáveis observadas correspondeu a 66,9%, sendo significativo ($p < 0,05$) em comparação ao controle.

Gráfico 1 - Atividade dos fármacos testados frente a uma cepa representativa de SARM evidenciando células em morte celular.

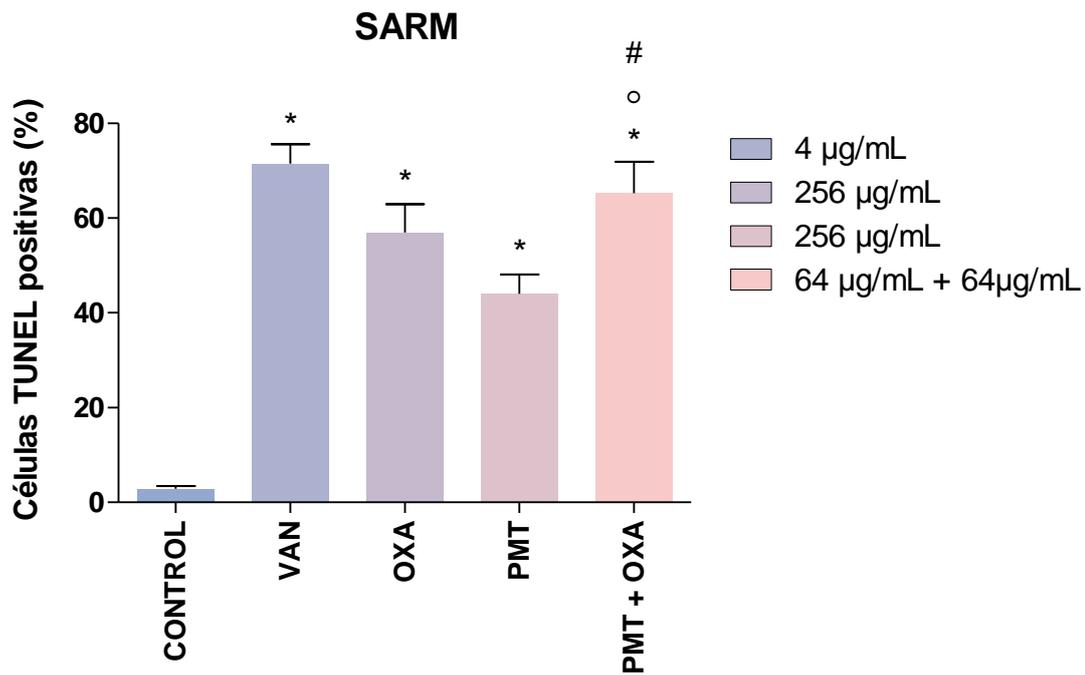


OXA: CIM OXA (256 µg/mL); VAN: CIM VAN (4 µg/mL); PMT: CIM PMT (256 µg/mL); PMT + OXA: CIM da associação entre PMT (64 µg/mL) e OXA (64 µg/mL). * $P < 0,05$: Comparados com o controle de crescimento e determinados por ANOVA seguida de teste de Tukey. ° $P < 0,05$: Comparados com PMT e determinados por ANOVA, seguida de teste de Tukey. # $P < 0,05$: Comparados com OXA e determinados por ANOVA, seguida de teste de Tukey

6.2.2 Fragmentação do DNA de células SARM

O gráfico 2 ilustra os danos ao material genético bacteriano, detectados pelo ensaio TUNEL, em decorrência dos tratamentos utilizados. Foram observados danos ao DNA em todas as concentrações utilizadas no tratamento das células de SARM. No tratamento com a CIM de PMT (256 µg/mL) foi observado uma diferença de 41,16% de fragmentação do DNA em relação ao controle ($p < 0,05$). Além disso, na associação de PMT (64 µg/mL) e OXA (64 µg/mL) pode ser observado um acréscimo de 8,34% de células apresentando danos ao material genético em comparação a CIM de OXA isolada (256 µg/mL) e um acréscimo de 21,27% em comparação com PMT isolada (256 µg/mL), enquanto no tratamento com VAN (4 µg/mL) o número de células com DNA fragmentado correspondeu a 71,5% sendo significativo ($p < 0,05$) em relação ao controle.

Gráfico 2 - Atividade dos fármacos testados frente a uma cepa representativa de SARM evidenciando danos ao DNA.



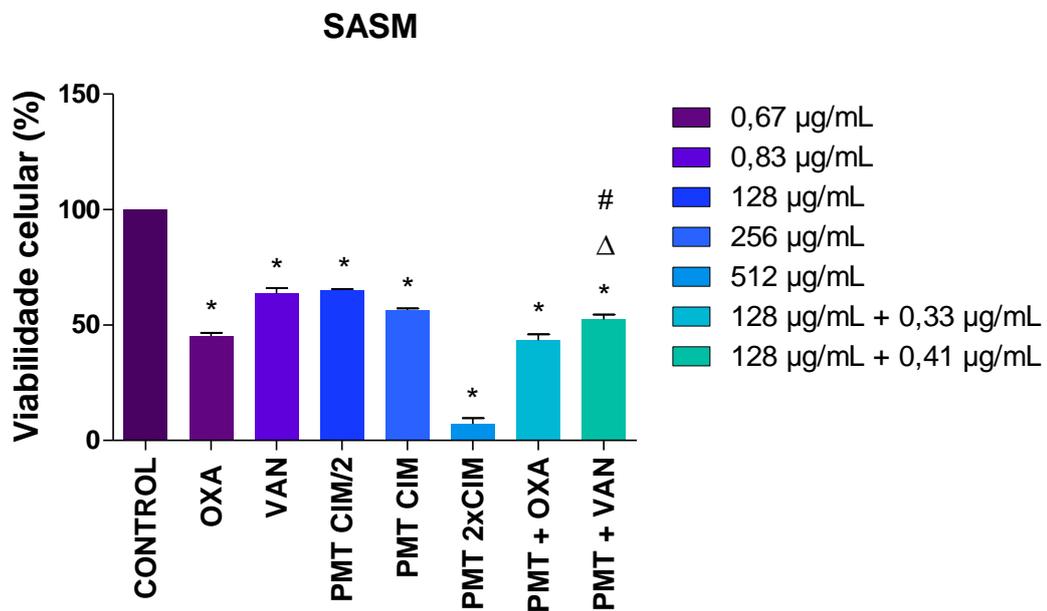
OXA: CIM OXA (256 µg/mL); VAN: CIM VAN (4 µg/mL); PMT: CIM PMT (256 µg/mL); PMT + OXA: CIM da associação entre PMT (64 µg/mL) e OXA (64 µg/mL). * $P < 0,05$: Comparados com o controle de crescimento e determinados por ANOVA seguida de teste de Tukey. ° $P < 0,05$: Comparados com PMT e determinados por ANOVA, seguida de teste de Tukey. # $P < 0,05$: Comparados com OXA e determinados por ANOVA, seguida de teste de Tukey.

6.3 Atividade antibacteriana da PMT frente a biofilme

6.3.1 Atividade da PMT frente a biofilme formado

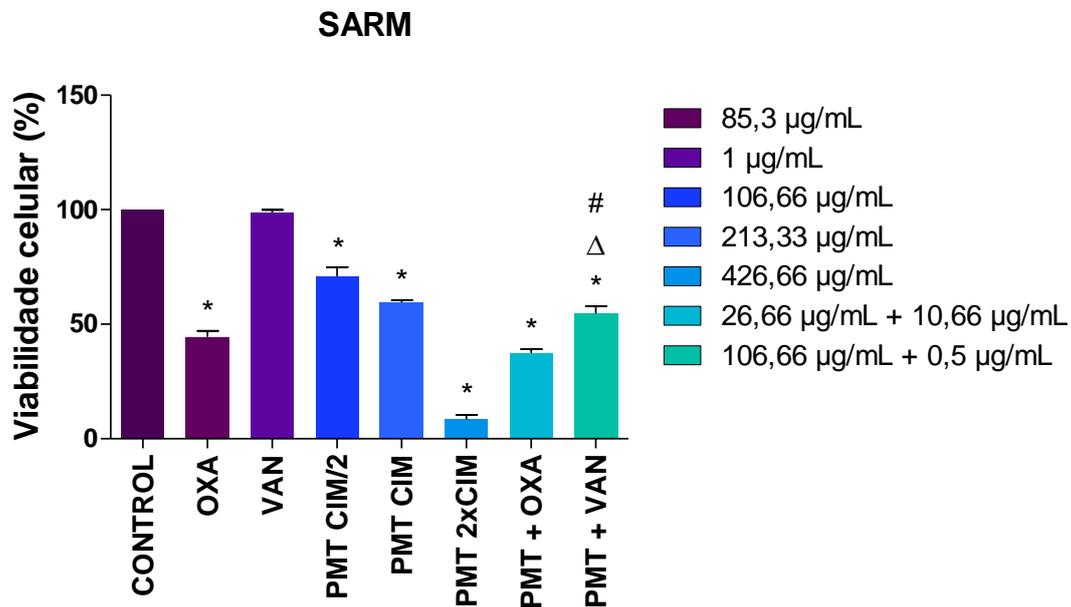
Foram observadas reduções na viabilidade celular em todas as concentrações utilizadas no tratamento dos biofilmes maduros de SASM e SARM (Gráfico 3). A concentração SUB de PMT (CIM/2: 128 $\mu\text{g/mL}$) reduziu 34% da viabilidade celular de SASM em comparação ao controle, enquanto a maior concentração utilizada de PMT (2x CIM: 512 $\mu\text{g/mL}$) reduziu 92% ($p < 0,05$) (Gráfico 3). No biofilme maduro da estirpe resistente foi observada redução de 29% na viabilidade pela concentração SUB de PMT (CIM/2: 106,66 $\mu\text{g/mL}$), enquanto a maior concentração (2x CIM: 426,66 $\mu\text{g/mL}$) reduziu cerca de 91%. Em SARM também foi observada redução na viabilidade celular em 44% pela associação de PMT (106,66 $\mu\text{g/mL}$) e VAN (0,5 $\mu\text{g/mL}$) (PMT + VAN) em comparação com a VAN isolada (1 $\mu\text{g/mL}$), e de 16% em comparação a concentração SUB de PMT (CIM/2: 106,66 $\mu\text{g/mL}$) ($p < 0,05$) (Gráfico 4).

Gráfico 3 - Atividade dos fármacos testados sobre a viabilidade celular de biofilmes maduros de SASM avaliada pelo ensaio de redução do MTT.



SASM - PMT CIM/2: 128 $\mu\text{g/mL}$; PMT CIM: 256 $\mu\text{g/mL}$; PMT 2xCIM: 512 $\mu\text{g/mL}$; PMT + OXA: 128 $\mu\text{g/mL}$ + 0,33 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente; PMT + VAN: 128 $\mu\text{g/mL}$ + 0,41 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente; OXA 0,67 $\mu\text{g/mL}$; VAN 0,83 $\mu\text{g/mL}$. * $P < 0,05$: Comparados com o controle de crescimento. $\Delta P < 0,05$: Resultados comparados com VAN. # $P < 0,05$: Resultados comparados com PMT CIM/2. As significâncias estatísticas foram determinadas a partir da utilização de ANOVA, seguida de teste de Tukey.

Gráfico 4 - Atividade dos fármacos testados sobre a viabilidade celular de biofilmes maduros de SARM avaliada pelo ensaio de redução do MTT.



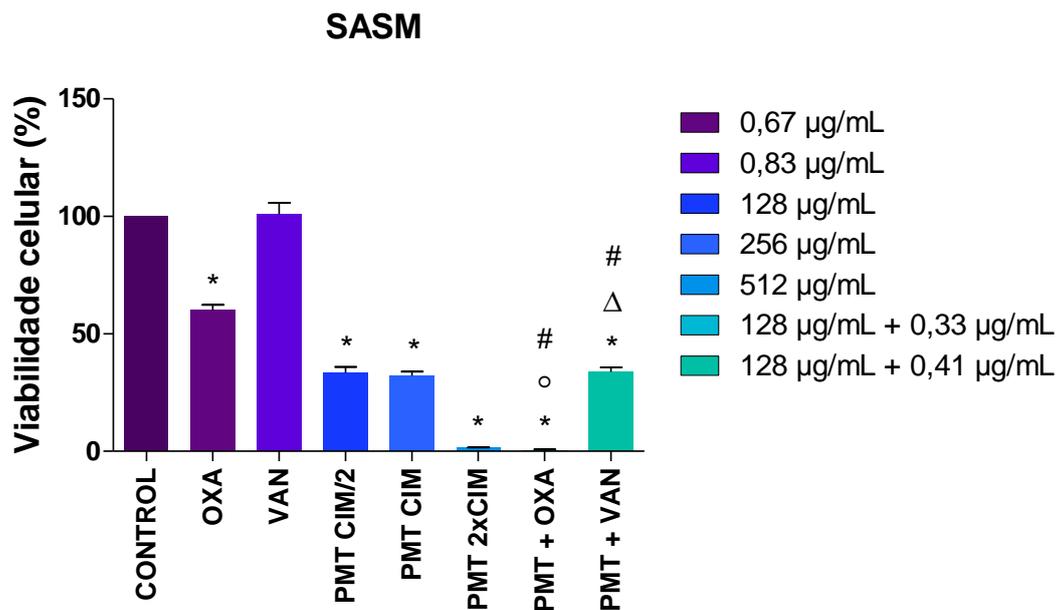
SARM - PMT CIM/2: 106,66 µg/mL; PMT CIM: 213,33 µg/mL; PMT 2x CIM: 426,66 µg/mL; PMT + OXA: 26,66 µg/mL + 10,66 µg/mL, respectivamente; PMT + VAN: 106,66 µg/mL + 0,5 µg/mL, respectivamente; OXA 85,3 µg/mL; VAN: 1 µg/mL. *P<0,05: Comparados com o controle de crescimento. ΔP<0,05: Resultados comparados VAN. #P<0,05: Resultados comparados com PMT CIM/2. As significâncias estatísticas foram determinadas a partir da utilização de ANOVA, seguida de teste de Tukey.

6.3.2 Atividade da PMT frente biofilme em formação

Foram observadas reduções na viabilidade celular em todas as concentrações utilizadas no tratamento dos biofilmes em formação de SARM, exceto em VAN. Em SARM, apenas o tratamento com a concentração SUB de PMT (CIM/2: 106,66 µg/mL) não apresentou redução significativa (Gráfico 5). A concentração SUB de PMT (CIM/2: 128 µg/mL) reduziu 66% da viabilidade celular de SARM, enquanto a maior concentração de PMT (2x CIM: 512 µg/mL) utilizada chegou a reduzir 98%, todas em comparação ao controle. A associação de PMT (128 µg/mL) e OXA (0,33 µg/mL) (PMT + OXA) reduziu 99% da viabilidade do biofilme, quando comparado ao controle, já em comparação aos fármacos isolados a redução foi de 59% em relação a OXA (0,67 µg/mL) e 33% em relação a PMT SUB (CIM/2: 128 µg/mL). A associação de PMT (128 µg/mL) e VAN (0,83 µg/mL) (PMT + VAN), chegou a reduzir aproximadamente 70% do biofilme de SARM em comparação aos fármacos isolados (VAN: 0,83 µg/mL e PMT CIM/2: 128 µg/mL) (Gráfico 6). No biofilme em formação da estirpe resistente, a concentração de 2x CIM de PMT (426,66

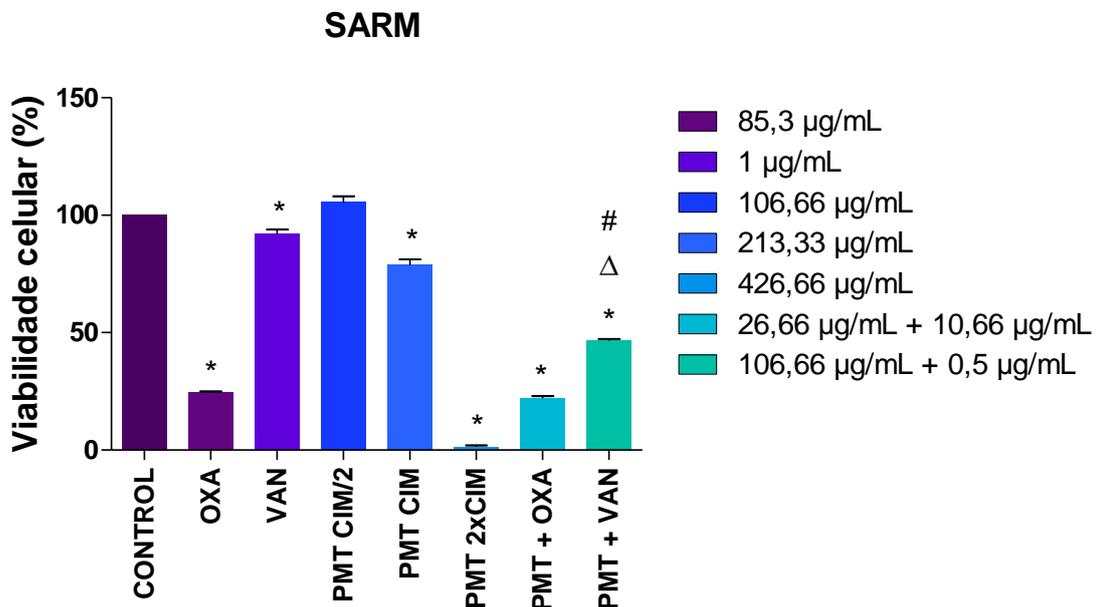
$\mu\text{g/mL}$) reduziu cerca de 98% da viabilidade em comparação ao controle. Em SARM a associação de PMT (106,66 $\mu\text{g/mL}$) e VAN (0,5 $\mu\text{g/mL}$) (PMT + VAN) reduziu a viabilidade celular em 45% em comparação com a VAN isolada (1 $\mu\text{g/mL}$) e em 58% em comparação com a concentração SUB de PMT (CIM/2: 106,66 $\mu\text{g/mL}$) (Gráfico 6).

Gráfico 5 - Atividade dos fármacos testados sobre a viabilidade celular de biofilmes em formação de SASM avaliada pelo ensaio de redução do MTT.



SASM - PMT CIM/2: 128 $\mu\text{g/mL}$; PMT CIM: 256 $\mu\text{g/mL}$; PMT 2x CIM: 512 $\mu\text{g/mL}$; PMT + OXA: 128 $\mu\text{g/mL}$ + 0,33 $\mu\text{g/mL}$; PMT + VAN: 128 $\mu\text{g/mL}$ + 0,41 $\mu\text{g/mL}$; OXA: 0,67 $\mu\text{g/mL}$; VAN: 0,83 $\mu\text{g/mL}$. * $P < 0,05$: Comparados com o controle de crescimento. ° $P < 0,05$: Resultados comparados com OXA. Δ $P < 0,05$: Resultados comparados com VAN. # $P < 0,05$: Resultados comparados com PMT CIM/2. As significâncias estatísticas foram determinadas a partir da utilização de ANOVA, seguida de teste de Tukey.

Gráfico 6 - Atividade dos fármacos testados sobre a viabilidade celular de biofilmes em formação de SARM avaliada pelo ensaio de redução do MTT.

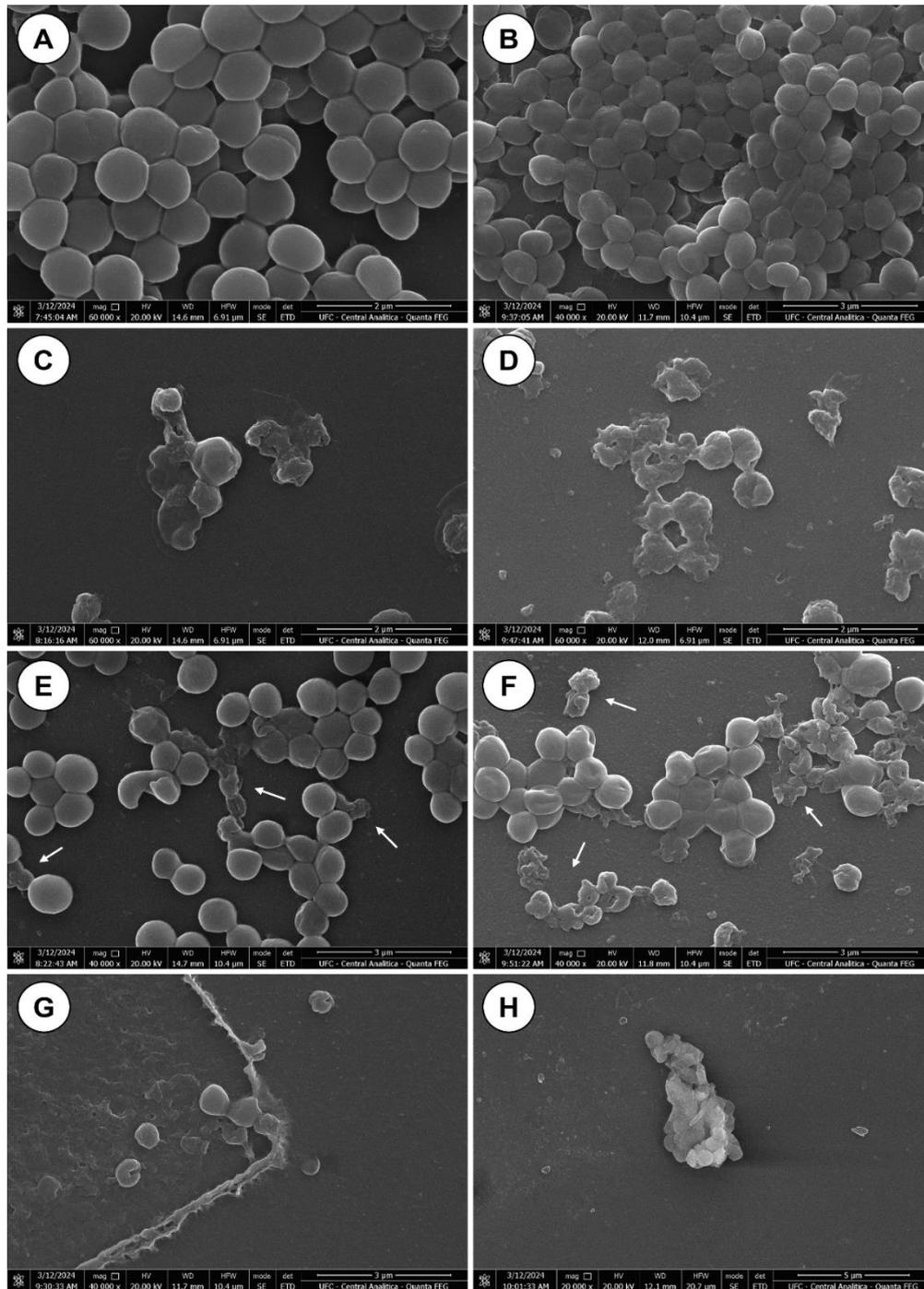


SARM - PMT CIM/2: 106,66 µg/mL; PMT CIM: 213,33 µg/mL; PMT 2x CIM: 426,66 µg/mL; PMT + OXA: 26,66 µg/mL + 10,66 µg/mL; PMT + VAN: 106,66 µg/mL + 0,5 µg/mL; OXA: 85,3 µg/mL; VAN: 1 µg/mL. *P<0,05: Comparados com o controle de crescimento. ΔP<0,05: Resultados comparados com VAN. #P<0,05: Resultados comparados com PMT CIM/2. As significâncias estatísticas foram determinadas a partir da utilização de ANOVA, seguida de teste de Tukey.

6.3.3 Alterações morfológicas observadas por MEV

A Figura 12 contém imagens obtidas por MEV que mostram biofilmes formados e em formação de SARM íntegros e com alterações morfológicas ocasionadas pelos tratamentos realizados. Os controles dos biofilmes formado (A) e em formação (B) mostram cocos agrupados em cachos, característicos do gênero *Staphylococcus*. Tanto no biofilme formado (C) quanto no em formação (D) é possível observar inibição celular e restos celulares que indicam danos à estrutura de SARM, ocasionados pelo tratamento com a PMT na concentração de 2x CIM (426,66 µg/mL). As imagens E e F demonstram que o tratamento com VAN isolada (1 µg/mL em ambos) na concentração de CIM teve pouco efeito danoso (indicado pelas setas) às estruturas celulares dos biofilmes formado (E) e em formação (F) de SARM. Já o tratamento com a CIM combinada de PMT (106,66 µg/mL) e VAN (0,5 µg/mL) inibiu grande parte das células de ambos biofilmes, além de causar severos danos celulares, assim como evidenciado nas imagens G (biofilme formado) e H (biofilme em formação).

Figura 12 - MEV dos biofilmes formado e em formação de SARM.

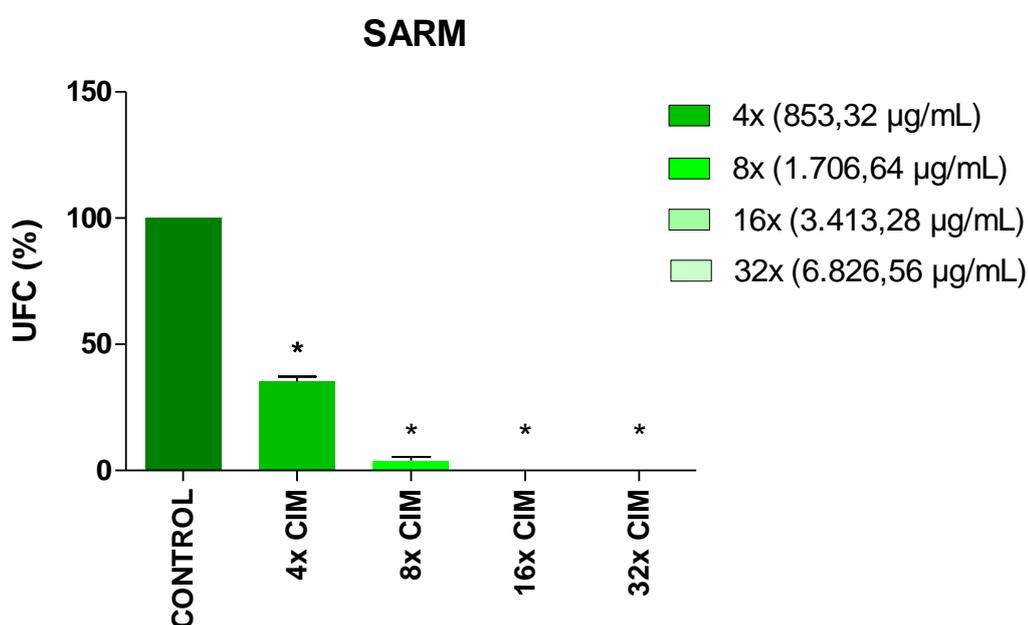


(A e B): Controle dos biofilmes formado e em formação, respectivamente; (C e D): PMT na concentração 2x CIM (426,66 $\mu\text{g}/\text{mL}$) para biofilmes formado e em formação, respectivamente; (E e F): CIM da VAN isolada para biofilmes formado e em formação, respectivamente (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ em ambos); (G e H): CIM combinado de PMT (106,66 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e VAN (0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) para biofilmes formado e em formação, respectivamente. Setas: Restos celulares indicando danos às células de SARM. A imagem H foi obtida com ampliação de 20.000 \times (Barra: 5 μm), as imagens B, E, F e G forma obtidas com a ampliação de 40.000 \times (Barra: 3 μm) e as imagens A, C e D foram obtidas na ampliação de 60.000 \times (Barra: 2 μm).

6.3.4 Ação preventiva da PMT frente à formação de biofilme em cateter de silicone

Foram observadas reduções significativas de UFC/mL em todas as concentrações de PMT utilizadas no tratamento do biofilme de SARM em cateter de silicone quando comparado ao controle. A menor concentração de PMT (4x CIM) reduziu 65% de UFC/mL de SARM em comparação ao controle ($P < 0,05$). A PMT nas concentrações de 16x CIM e 32x CIM chegaram a reduzir 100% de UFC/mL em comparação ao controle (Gráfico 7).

Gráfico 7 - Contagem de colônias (% UFC/ml) de cateteres impregnados com PMT em diferentes concentrações.



4x CIM: 853,32 µg/mL; 8x CIM: 1.706,64 µg/mL; 16x CIM: 3.413,28 µg/mL; 32x CIM: 6.826,56 µg/mL.

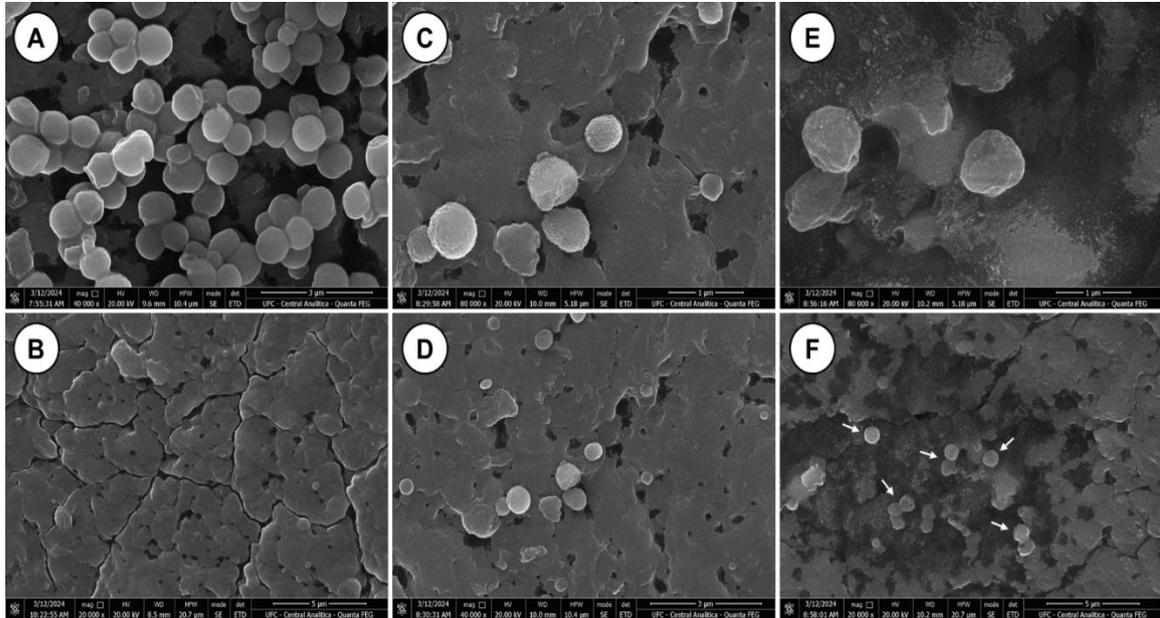
* $P < 0,05$: Comparados com o controle de crescimento e determinados por ANOVA seguida de teste de Tukey.

6.3.5 Alterações morfológicas observadas por MEV

A figura 13 contém imagens obtidas por MEV que mostram fragmentos de cateter de silicone impregnados com PMT submetidos à formação de biofilme de SARM. A imagem A (Controle positivo) mostra cocos agrupados em cachos, característicos do gênero *Staphylococcus*. (B) evidencia a superfície do cateter dilatado, porém não submetido à impregnação nem a formação de biofilme (controle negativo). Nas imagens C e D, que dizem respeito ao fragmento tratado com a concentração de 8x CIM de PMT, é possível observar a redução celular em comparação ao controle, além de células com superfície lesionadas. Nas imagens E e F, correspondentes ao tratamento com 16x CIM de PMT, foi observado uma

redução no número de células em relação ao controle e uma maior quantidade de restos celulares em comparação ao tratamento com 8x CIM de PMT.

Figura 13 - MEV de cateter de silicone impregnado com PMT submetido a formação de biofilme de SARM.



(A): Controle positivo; (B): Controle negativo; (C e E): PMT na concentração 8x CIM (1.706,64 $\mu\text{g/mL}$); (E e F): PMT na concentração 16x CIM (3.413,28 $\mu\text{g/m}$); Setas: Indicam a presença de células de SARM. As imagens B e F foram obtidas com ampliação de 20.000 \times (Barra: 5 μm), as imagens A e D foram obtidas com a ampliação de 40.000 \times (Barra: 3 μm) e as imagens C e E foram obtidas na ampliação de 80.000 \times (Barra: 1 μm).

7. DISCUSSÃO

As ITU-AC representam o tipo mais comum de infecção relacionada a dispositivos médicos em hospitais, especialmente nas unidades de terapia intensiva (ASSADI, 2018; ÖZTÜRK; MURT, 2020). Stickler *et al.* apontaram que de 10% a 50% dos pacientes submetidos a cateterismo de curto prazo (< 7 dias) desenvolvem ITU-AC, enquanto todos os indivíduos submetidos a cateterismo de longo prazo (>28 dias) são afetados por essas infecções (SHARMA *et al.*, 2023; STICKLER *et al.*, 1993).

SARM é uma causa emergente de ITUs complicadas (WALKER *et al.*, 2017), com destaque para as ITU-ACs, que são frequentemente associadas a sequelas graves (FLORES-MIRELES; HREHA; HUNSTAD, 2019; YAMAMOTO, 2016). A elevada resistência aos antibióticos encontrada nas cepas de *S. aureus*, responsáveis por infecções do trato urinário (ITU), restringe as opções de tratamento com antimicrobianos. Além disso, a propagação de cepas multirresistentes representa um risco significativo para os pacientes em ambiente hospitalar (YOUSEFI *et al.*, 2016).

Os resultados obtidos neste estudo evidenciaram que a PMT isolada possui atividade antimicrobiana contra cepas planctônicas de *S. aureus* sensíveis e resistentes à meticilina, com CIMs variando de 128 µg/ml a 256 µg/ml. Esses achados corroboram os resultados exibidos por Guedes *et al.* (2023), onde a PMT apresentou atividade inibitória com CIMs variando entre 97,66 e 195,31 µg/mL para isolados de *S. aureus* sensíveis e resistentes à meticilina. Hadji-nejad *et al.* (2010) obteve resultados semelhantes, com CIMs de 128 µg/mL para todos os isolados, sensíveis e resistentes a meticilina, testados. Em nosso estudo, a PMT exerceu efeito bactericida frente às cepas estudadas, assim como apontado por Akinjogunla *et al.* (2021) em uma cepa sensível de *S. aureus*.

Na associação de PMT e OXA, a interação foi sinérgica em 20% dos isolados, enquanto 53% mostraram efeito aditivo nas cepas de *S. aureus* analisadas. Tais resultados são consistentes com os encontrados por Hadji-nejad *et al.* (2010), que relataram interações aditivas em todos os isolados estudados. Vale ressaltar que o efeito aditivo pode ser atribuído ao fato de os compostos atingirem diferentes alvos durante a ação antimicrobiana. Autores descrevem a atuação da prometazina nos sistemas enzimáticos dependentes de Ca^{2+} como uma possível explicação para a redução do efluxo de agentes antimicrobianos (GRIMSEY; PIDDOCK, 2019; KAATZ *et al.*, 2003; VARGA *et al.*, 2017), o que pode justificar a interação benéfica vista entre a PMT e a OXA. Esse efeito pode ser observado por MEV, onde as

imagens que correspondem à combinação PMT + OXA evidenciaram danos celulares mais acentuados.

Poucos estudos descrevem a associação entre PMT e VAN, embora o antibiótico isolado seja um importante padrão de tratamento para infecções por SARM, no entanto, seu efeito nefrotóxico, dependente de concentração, se torna um fator limitante na necessidade de tratamento prolongado. No presente estudo, a combinação de PMT e VAN apresentou interação farmacológica aditiva em 80% das estirpes. Resultados semelhantes foram obtidos por Rahbar *et al.* (2010), onde a associação entre os fármacos frente a cepas de *Enterococcus faecium* exibiu efeito aditivo. Nesse sentido, a terapia combinada se destaca por permitir ajustes posológicos, mitigando potenciais efeitos adversos (CHANG *et al.*, 2023; DE MATOS *et al.*, 2023).

Os experimentos conduzidos com citometria de fluxo demonstraram um aumento na absorção de IP por células bacterianas após o tratamento com PMT, e quando comparado ao controle, a associação de PMT + OXA também apresentou uma maior captação de IP em relação aos tratamentos isolados. Tendo em vista que IP é um corante vital impermeável na membrana plasmática íntegra (MCGAHON *et al.*, 1995), esses resultados revelam uma diminuição da viabilidade dessas células, o que sugere alterações na permeabilidade da membrana celular bacteriana, observadas no processo de morte celular. Tal consequência é apontada em estudos anteriores como um dos mecanismos subjacentes de fármacos fenotiazínicos (EL-NAKEEB *et al.*, 2011; GRIMSEY; PIDDOCK, 2019; LAGADINOU *et al.*, 2020; MOHIUDDIN; NGUYEN; ORMAN, 2022).

Outro efeito da PMT contra *S. aureus*, observado através de análises de citometria de fluxo, é a ocorrência de danos ao DNA. A partir do ensaio TUNEL, que consiste na adição de nucleotídeos marcados (dUTP-FITC) à extremidade 3' exposta em cada fragmento de DNA durante o processo apoptótico (MAJTNEROVÁ; ROUŠAR, 2018), foi possível observar danos intensos ao material genético das células de SARM tratadas com PMT, em comparação ao controle. Além disso, a CIM combinada de PMT e OXA ocasionou maior fragmentação ao DNA em comparação a OXA e PMT isoladas.

No que diz respeito aos mecanismos de ação antimicrobiana mencionados na literatura, Akinjogunla *et al.* (2021) e Brilhante *et al.* (2018) indicam que, assim como proposto no presente estudo, um dos efeitos da PMT no tratamento antimicrobiano é elevar a permeabilidade da membrana, além de interagir com o material genético das células, inibindo a replicação do DNA dos isolados sob análise (LEHTINEN; LILIUS, 2007; MARTINS *et al.*, 2008; VARGA *et al.*, 2017).

A capacidade de formação de biofilme do *S. aureus* é crucial para seu destaque como um dos agentes infecciosos mais importantes no contexto hospitalar (KAUSHIK *et al.*, 2024). Células de *S. aureus*, quando imersas na matriz do biofilme, manifestam propriedades fenotípicas únicas que lhes conferem alta resistência frente ao sistema imune do hospedeiro e aos antimicrobianos comuns. Por esse motivo, as infecções associadas a biofilmes são prolongadas, recorrentes e de difícil tratamento (FIGUEIREDO *et al.*, 2017; IDREES *et al.*, 2021; KAUSHIK *et al.*, 2024; SCHILCHER; HORSWILL, 2020; SILVA *et al.*, 2021).

O biofilme bacteriano é uma estrutura complexa coordenada por um conjunto de mecanismos regulatórios que habilitam as bactérias a identificar e reagir a uma diversidade de fatores bióticos e abióticos (GUO *et al.*, 2020; SCHILCHER; HORSWILL, 2020). A maior parte dos antibióticos usados clinicamente são formulados com o foco em células planctônicas; conseqüentemente, o tratamento antibiótico direcionado a biofilmes requer uma terapia prolongada e em doses elevadas. Contudo, o tratamento crônico pode aumentar o risco de resistência antimicrobiana e toxicidade medicamentosa, em razão da capacidade de adaptação complexa e rápida da população de biofilme (PENG *et al.*, 2022), o que torna urgente a identificação de atividade anti-biofilme em medicamentos clinicamente aprovados (RIBEIRO *et al.*, 2016; RICHTER; VAN DEN DRIESSCHE; COENYE, 2017).

Nesse sentido, a investigação do presente estudo sobre a atividade da PMT frente a biofilme formado demonstrou que o fármaco reduziu mais de 90% da viabilidade celular dos biofilmes maduros de SASM e SARM. Resultado notável, considerando que a penetração do medicamento é difícil devido à densa camada polimérica que se forma; além da baixa disponibilidade de oxigênio e nutrientes, que afetam o metabolismo das bactérias, tornando a ação de medicamentos desafiadora (PARASTAN *et al.*, 2020; SHARMA *et al.*, 2023). Assim, esses achados destacam o potencial da PMT no combate a biofilmes robustos.

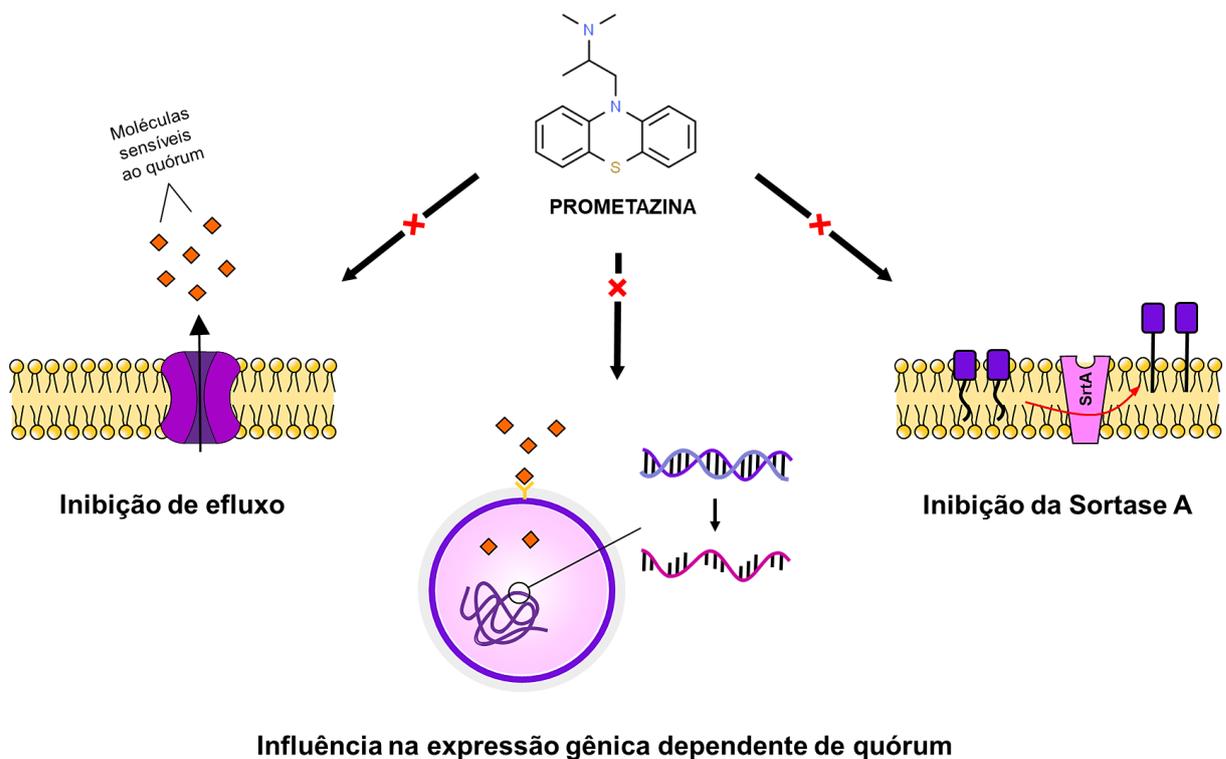
Frente ao biofilme em desenvolvimento, a redução ocasionada pelo tratamento com PMT chegou a 98% tanto para cepas sensíveis quanto resistentes de *S. aureus*. O que classifica o anti-histamínico como uma possível alternativa eficaz na prevenção de biofilmes em tecidos biológicos e materiais hospitalares. Resultados similares foram encontrados por Guedes *et al.* (2023) onde a PMT na concentração de 390,62 µg/mL reduziu 80,71% do biofilme de *S. aureus*, enquanto em outro estudo, realizado pelo mesmo grupo, a inibição do biofilme em crescimento tratado com PMT na concentração de CIM foi de 41,1% (GUEDES *et al.*, 2023a).

No que diz respeito aos tratamentos realizados em combinação com os antibióticos, os resultados obtidos indicam que a PMT tem o potencial de alterar a estrutura do biofilme dos

isolados testados (GRELA; KOZŁOWSKA; GRABOWIECKA, 2018), atuando como adjuvante de OXA e VAN, visto que a associação dos fármacos demonstrou ser tão eficaz ou até superior na prevenção e combate aos biofilmes de SASM e SARM, em comparação com o uso individual de cada fármaco. Além disso, todas as CIMs associadas apresentaram uma eficácia superior à da VAN, que é o medicamento de primeira linha para tratar infecções por cepas resistentes de *S. aureus* (DAVID; DAUM, 2017).

Acredita-se que a atividade antimicrobiana da prometazina seja consequência de uma variedade de mecanismos pelas quais a droga interage com esses microrganismos (Figura 14) (GUEDES *et al.*, 2023a). Dawan e Ahn (2022) relataram que a prometazina como inibidora de bomba de efluxo atua não apenas interrompendo a exportação de moléculas nocivas, como antimicrobianos, mas também inibindo o efluxo de moléculas sensíveis ao quórum, essenciais para a formação e manutenção de biofilmes. Também se propõe que a prometazina tenha a capacidade de influenciar a expressão gênica dependente de quórum, podendo modificar a patogenicidade, virulência e resistência a antibióticos (GABOR VARGA *et al.*, 2011; GAJDÁCS; SPENGLER, 2019b; GRIMSEY; PIDDOCK, 2019; OBAID *et al.*, 2024; VARGA *et al.*, 2017).

Figura 14 – Possíveis mecanismos de ação da prometazina frente biofilme de *S. aureus*.



Fonte: Elaborada pela autora.

Ademais, pesquisas sugerem que os medicamentos fenotiazínicos possuem a capacidade de reduzir aderência de patógenos nas células endoteliais (LAGADINOU *et al.*, 2020; VARGA *et al.*, 2017), um processo chave para a formação e fixação do biofilme (SELVARAJ; PRIYA; SINGH, 2019). Isso ocorre devido a habilidade desses fármacos de inibir a Sortase A (SrtA), enzima responsável por ancorar proteínas de superfície à parede celular bacteriana e que desempenha um papel vital na virulência de bactérias Gram-positivas, incluindo *S. aureus*. Em virtude disso, a SrtA se torna um alvo promissor para potencializar tratamentos farmacológicos (ALHARTHI *et al.*, 2021; ESCAICH, 2010; OBAID *et al.*, 2024; SELVARAJ; PRIYA; SINGH, 2019; VERMOTE; VAN CALENBERGH, 2017).

Cepas de SARM estão entre os principais patógenos isolados de implantes urinários e representam uma causa significativa de infecções persistentes com complicações severas (CALDARA *et al.*, 2022; KARAKONSTANTIS; KALEMAKI, 2018; YOUSEFI *et al.*, 2016). Walker e colaboradores (2017) demonstraram que patogênese de ITU-CA por *S. aureus* resistente a meticilina se assemelha à patogênese observada nas infecções de cateter venoso e doença sistêmica. Neste processo, o SARM se beneficia da presença do fibrinogênio (Fg), que é secretado como parte da reação inflamatória desencadeada pela presença de um objeto estranho, para mediar a colonização da bexiga e do cateter. Além disso, o microrganismo intensifica a inflamação causada pelo implante ao produzir citocinas pró-inflamatórias, que estimulam a liberação e acúmulo de Fg no ambiente. Isso contribui para a criação de um biofilme robusto ligado à fibrina, que permite a replicação bacteriana enquanto protege a estrutura do ataque de células imunológicas que chegam em resposta à infecção (FLORES-MIRELES; HREHA; HUNSTAD, 2019; ZHENG *et al.*, 2018b).

No contexto de ITU-AC ocasionadas ao cateterismo de longo prazo, o tratamento profilático com antibióticos não é recomendado pelo risco de resistência antimicrobiana (CORTESE *et al.*, 2018; FLORES-MIRELES; HREHA; HUNSTAD, 2019). Atualmente a terapia se concentra em prevenir a formação de biofilmes nesses implantes, utilizando a estratégia de impregnação de antimicrobianos e antissépticos nesses materiais. (CORTESE *et al.*, 2018; FLORES-MIRELES; HREHA; HUNSTAD, 2019; PARIDA; MISHRA, 2013). Diante desse cenário, a identificação de uma abordagem que evite a adesão do biofilme ao urotélio e ao material implantado pode se tornar uma estratégia eficaz no combate a essas infecções. No presente estudo a PMT demonstrou atividade preventiva contra biofilme de SARM nos fragmentos de cateter tratados com o fármaco. Observou-se ainda uma relação concentração dependente, em que para as maiores concentrações PMT chegou a inibir totalmente a formação de biofilmes.

Embora haja evidências da eficácia da PMT contra biofilmes, existe uma lacuna nos estudos publicados sobre sua capacidade de proteger equipamentos médico-hospitalares, o que ressalta a relevância de tal abordagem. Considerando os mecanismos de ação contra biofilmes da PMT mencionados em estudos anteriores (GRIMSEY; PIDDOCK, 2019; LI *et al.*, 2021; VARGA *et al.*, 2017), e os resultados obtidos nesta pesquisa, concluímos que a PMT pode ser classificada como um agente antimicrobiano promissor para ser utilizado no revestimento antibacteriano de dispositivos urinários de uso prolongado.

8. CONCLUSÃO

Os achados da pesquisa indicam que a PMT representa uma opção eficaz no combate a células planctônicas e biofilmes compostos por cepas de *S. aureus*, sensíveis e resistentes a meticilina, além da capacidade de perturbar a integridade da membrana plasmática celular, podendo também provocar fragmentação no DNA das células afetadas. Os resultados também revelaram que a PMT tem potencial para ser aplicado na clínica como protetor em cateteres urinários revestidos de silicone, com o intuito de diminuir o risco de infecções associadas a esses dispositivos. Porém, futuros estudos *in vivo* devem ser conduzidos a fim de avaliar a eficácia dessa substância e referendá-la em preparações destinadas ao uso antibacteriano.

9. REFERÊNCIAS

ABUSHAHEEN, M. A. *et al.* Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. **Disease-a-Month**, v. 66, n. 6, p. 100971, jun. 2020.

AGUIAR, A. L. R. *et al.* Promethazine inhibits efflux, enhances antifungal susceptibility and disrupts biofilm structure and functioning in *Trichosporon*. **Biofouling**, v. 39, n. 2, p. 218–230, 7 fev. 2023.

AKINJOGUNLA, O. J. *et al.* Antibacterial activity and time kill kinetics of Amlodipine, Thioridazine and Promethazine against pathogenic clinical bacterial isolates. **African Journal of Clinical and Experimental Microbiology**, v. 22, n. 3, p. 397–406, 2 jul. 2021.

ALEGADO, R. A.; KING, N. Bacterial influences on animal origins. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 6, n. 11, p. a016162, 3 out. 2014.

ALGAMMAL, A. M. *et al.* Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (SARM): One Health Perspective Approach to the Bacterium Epidemiology, Virulence Factors, Antibiotic-Resistance, and Zoonotic Impact. **Infection and Drug Resistance**, v. Volume 13, p. 3255–3265, set. 2020.

ALHARTHI, S. *et al.* Sortase A (SrtA) inhibitors as an alternative treatment for superbug infections. **Drug Discovery Today**, v. 26, n. 9, p. 2164–2172, set. 2021.

ALI ALGHAMDI, B. *et al.* Antimicrobial resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 30, n. 4, p. 103604, abr. 2023.

ALOKE, C.; ACHILONU, I. Coping with the ESKAPE pathogens: Evolving strategies, challenges and future prospects. **Microbial Pathogenesis**, v. 175, p. 105963, fev. 2023.

ALSHOMRANI, M. K. *et al.* Isolation of *Staphylococcus aureus* Urinary Tract Infections at a Community-Based Healthcare Center in Riyadh. **Cureus**, 18 fev. 2023.

ANDRADE, M. M. *et al.* The History of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Brazil. **Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology**, v. 2020, p. 1–18, 7 out. 2020.

ASGEIRSSON, H.; THALME, A.; WEILAND, O. *Staphylococcus aureus* bacteremia and endocarditis – epidemiology and outcome: a review. **Infectious Diseases**, v. 50, n. 3, p. 175–192, 4 mar. 2018.

ASSADI, F. Strategies for preventing catheter-associated urinary tract infections. **International Journal of Preventive Medicine**, v. 9, n. 1, p. 50, 2018.

AUGUSTO, M. F. *et al.* Pandemic clone USA300 in a Brazilian hospital: detection of an emergent lineage among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from bloodstream infections. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 11, n. 1, p. 114, 14 set. 2022.

AV SÁ, L. G. DO *et al.* Etomidate Inhibits the Growth of SARM and Exhibits Synergism with Oxacillin. **Future Microbiology**, v. 15, n. 17, p. 1611–1619, 20 nov. 2020.

AYOBAMI, O. *et al.* Antibiotic resistance in hospital-acquired ESKAPE-E infections in low- and lower-middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. **Emerging Microbes & Infections**, v. 11, n. 1, p. 443–451, 31 dez. 2022.

BATISTA DE ANDRADE NETO, J. *et al.* A mechanistic approach to the in-vitro resistance modulating effects of fluoxetine against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains. **Microbial Pathogenesis**, v. 127, p. 335–340, fev. 2019.

BECKER, K. Pathogenesis of *Staphylococcus aureus*. In: FETSCH, Alexandra. **Staphylococcus aureus**. Elsevier, 2018. p. 13–38.

BERRY, K. A. *et al.* *Staphylococcus aureus* adhesion to the host. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1515, n. 1, p. 75–96, 15 set. 2022.

BHUNIA, A. K. *Staphylococcus aureus*. In: BHUNIA, Arun K. **Foodborne Microbial Pathogens**. New York: Springer, 2018. p. 181–192.

BIEN, J.; SOKOLOVA, O.; BOZKO, P. Characterization of Virulence Factors of *Staphylococcus aureus*: Novel Function of Known Virulence Factors That Are Implicated in Activation of Airway Epithelial Proinflammatory Response. **Journal of Pathogens**, v. 2011, p. 1–13, 2011.

BOUCHER, H. W. *et al.* Bad Bugs, No Drugs: No ESKAPE! An Update from the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 48, n. 1, p. 1–12, jan. 2009.

BRAMBILLA, L. Z. S. *et al.* Anti-biofilm activity against *Staphylococcus aureus* SARM and MSSA of neolignans and extract of *Piper regnellii*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 1, p. 112–117, jan. 2017.

BRILHANTE, R. S. N. *et al.* *In vitro* effects of promethazine on cell morphology and structure and mitochondrial activity of azole-resistant *Candida tropicalis*. **Medical Mycology**, 9 out. 2018.

BRILHANTE, R. S. N. *et al.* Antifungal activity of promethazine and chlorpromazine against planktonic cells and biofilms of *Cryptococcus neoformans*/*Cryptococcus gattii* complex species. **Medical Mycology**, v. 58, n. 7, p. 906–912, 1 out. 2020.

C REYGAERT, W. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. **AIMS Microbiology**, v. 4, n. 3, p. 482–501, 2018.

CABRAL, V. P. *et al.* Antibacterial Activity of Paroxetine Against *Staphylococcus aureus* and Possible Mechanisms of Action. **Future Microbiology**, v. 18, n. 7, p. 415–426, 22 mai 2023.

CALDARA, M. *et al.* Environmental, Microbiological, and Immunological Features of Bacterial Biofilms Associated with Implanted Medical Devices. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 35, n. 2, 20 abr. 2022.

CANGUI-PANCHI, S. P. *et al.* Biofilm-forming microorganisms causing hospital-acquired infections from intravenous catheter: A systematic review. **Current Research in Microbial Sciences**, v. 3, p. 100175, 2022.

CANTISANI, C. *et al.* Topical Promethazine Side Effects: Our Experience and Review of the Literature. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 1–9, 2013.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019**. Atlanta, GA: U.S, 2019.

CHANG, J. *et al.* Contemporary pharmacologic treatments of SARM for hospitalized adults: rationale for vancomycin versus non-vancomycin therapies as first line agents. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 21, n. 12, p. 1309–1325, 2 dez. 2023.

CHELLAT, M. F.; RAGUŽ, L.; RIEDL, R. Targeting Antibiotic Resistance. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 55, n. 23, p. 6600–6626, 22 jun. 2016.

CHENG, A. G. *et al.* Genetic requirements for *Staphylococcus aureus* abscess formation and persistence in host tissues. **The FASEB Journal**, v. 23, n. 10, p. 3393–3404, 12 out. 2009.

CHEUNG, G. Y. C.; BAE, J. S.; OTTO, M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. **Virulence**, v. 12, n. 1, p. 547–569, 31 dez. 2021.

CHUANG, L.; TAMBYAH, P. A. Catheter-associated urinary tract infection. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 27, n. 10, p. 1400–1406, out. 2021.

CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Tenth Edition. **CLSI document M07-A10**. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (31st ed.). **CLSI supplement M100**. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2021.

CONG, Y.; YANG, S.; RAO, X. Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* infections: A review of case updating and clinical features. **Journal of Advanced Research**, v. 21, p. 169–176, jan. 2020.

CORTESE, Y. J. *et al.* Review of Catheter-Associated Urinary Tract Infections and *In vitro* Urinary Tract Models. **Journal of Healthcare Engineering**, v. 2018, p. 1–16, 14 out. 2018.

CRAFT, K. M. *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (SARM): antibiotic-resistance and the biofilm phenotype. **MedChemComm**, v. 10, n. 8, p. 1231–1241, 2019.

DA SILVA, L. S. C. *et al.* Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization among healthcare workers at a tertiary care hospital in northeastern Brazil. **Infection Prevention in Practice**, v. 2, n. 4, p. 100084, dez. 2020.

DA SILVEIRA, M. *et al.* Nasal colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among elderly living in nursing homes in Brazil: risk factors and molecular epidemiology. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 17, n. 1, p. 18, 4 dez. 2018.

DADI, N. C. T. *et al.* Impact of Healthcare-Associated Infections Connected to Medical Devices—An Update. **Microorganisms**, v. 9, n. 11, p. 2332, 11 nov. 2021.

DARBY, E. M. *et al.* Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. **Nature Reviews Microbiology**, v. 21, n. 5, p. 280–295, 21 maio 2023.

DAVID, M. Z.; DAUM, R. S. Treatment of *Staphylococcus aureus* Infections. In: BAGNOLI, Fábio; RAPPUOLI, Rino; GRANDI, Guido. **Staphylococcus aureus**. Springer, 2018. p. 325–383.

DAWAN, J.; AHN, J. Bacterial Stress Responses as Potential Targets in Overcoming Antibiotic Resistance. **Microorganisms**, v. 10, n. 7, p. 1385, 9 jul. 2022.

DE MATOS, B. C. *et al.* GLICOPEPTÍDEOS: ASPECTOS FARMACOLÓGICOS E APLICAÇÕES CLÍNICAS. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 27, n. 10, p. 5863–5879, 23 out. 2023.

DENG, Z. *et al.* Quorum Sensing, Biofilm, and Intestinal Mucosal Barrier: Involvement the Role of Probiotic. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, 25 set. 2020.

DENHOLM, L.; GALLAGHER, G. Physiology and pharmacology of nausea and vomiting. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**, v. 19, n. 9, p. 513–516, set. 2018.

DI DOMENICO, E. G.; OLIVA, A.; GUEMBE, M. The Current Knowledge on the Pathogenesis of Tissue and Medical Device-Related Biofilm Infections. **Microorganisms**, v. 10, n. 7, p. 1259, 21 jun. 2022.

DI GREGORIO, S. *et al.* Genomic epidemiology of *Staphylococcus aureus* isolated from bloodstream infections in South America during 2019 supports regional surveillance. **Microbial Genomics**, v. 9, n. 5, 25 maio 2023.

DIEKEMA, D. J. *et al.* Twenty-Year Trends in Antimicrobial Susceptibilities Among *Staphylococcus aureus* From the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 6, n. Supplement_1, p. S47–S53, 15 mar. 2019.

DWYER, D. J. *et al.* Antibiotic-Induced Bacterial Cell Death Exhibits Physiological and Biochemical Hallmarks of Apoptosis. **Molecular Cell**, v. 46, n. 5, p. 561–572, jun. 2012.

EL-NAKEEB, M. A. *et al.* *In vitro* antibacterial activity of some antihistaminics belonging to different groups against multi-drug resistant clinical isolates. **Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]**, v. 42, n. 3, p. 980–91, jul. 2011.

ELNOUR, A. A.; RAMADAN, A. Vancomycin: an overview on current alternative antibiotic therapy to vanquish. **Journal of Pharmaceutical Health Services Research**, v. 12, n. 4, p. 597–599, 23 dez. 2021.

ESCAICH, S. Novel agents to inhibit microbial virulence and pathogenicity. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 20, n. 10, p. 1401–1418, 18 out. 2010.

FARHA, M. A.; BROWN, E. D. Drug repurposing for antimicrobial discovery. **Nature Microbiology**, v. 4, n. 4, p. 565–577, 4 mar. 2019.

FERREIRA, J. S. *et al.* Food handler-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in public hospitals in Salvador, Brazil. **Food Control**, v. 37, p. 395–400, mar. 2014.

FIALLOS, N. DE M. *et al.* The Potential of Phenothiazines against Endodontic Pathogens: A Focus on Enterococcus-Candida Dual-Species Biofilm. **Antibiotics**, v. 11, n. 11, p. 1562, 5 nov. 2022.

FIGUEIREDO, A. M. S. *et al.* The role of biofilms in persistent infections and factors involved in *ica* -independent biofilm development and gene regulation in *Staphylococcus aureus*. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 43, n. 5, p. 602–620, 3 set. 2017.

FISHER, L. E. *et al.* Biomaterial modification of urinary catheters with antimicrobials to give long-term broadspectrum antibiofilm activity. **Journal of Controlled Release**, v. 202, p. 57–64, mar. 2015.

FLORES-MIRELES, A.; HREHA, T. N.; HUNSTAD, D. A. Pathophysiology, Treatment, and Prevention of Catheter-Associated Urinary Tract Infection. **Topics in Spinal Cord Injury Rehabilitation**, v. 25, n. 3, p. 228–240, jun. 2019.

FRIERI, M.; KUMAR, K.; BOUTIN, A. Antibiotic resistance. **Journal of Infection and Public Health**, v. 10, n. 4, p. 369–378, jul. 2017.

GABOR VARGA, Z. *et al.* Quorum Sensing Inhibition by Phenothiazines and Related Compounds. **Letters in Drug Design & Discovery**, v. 8, n. 2, p. 133–137, 1 fev. 2011.

GAJDÁCS, M. The Continuing Threat of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Antibiotics**, v. 8, n. 2, p. 52, 2 mai 2019.

GAJDÁCS, M.; SPENGLER, G. The Role of Drug Repurposing in the Development of Novel Antimicrobial Drugs: Non-Antibiotic Pharmacological Agents as Quorum Sensing-Inhibitors. **Antibiotics**, v. 8, n. 4, p. 270, 17 dez. 2019a.

GAJDÁCS, M.; SPENGLER, G. The Role of Drug Repurposing in the Development of Novel Antimicrobial Drugs: Non-Antibiotic Pharmacological Agents as Quorum Sensing-Inhibitors. **Antibiotics**, v. 8, n. 4, p. 270, 17 dez. 2019b.

GRELA, E.; KOZŁOWSKA, J.; GRABOWIECKA, A. Current methodology of MTT assay in bacteria – A review. **Acta Histochemica**, v. 120, n. 4, p. 303–311, maio 2018.

GRILLO, S. *et al.* Characteristics and Outcomes of *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infection Originating From the Urinary Tract: A Multicenter Cohort Study. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 7, n. 7, 1 jul. 2020.

GRIMSEY, E. M.; PIDDOCK, L. J. V. Do phenothiazines possess antimicrobial and efflux inhibitory properties? **FEMS Microbiology Reviews**, v. 43, n. 6, p. 577–590, 1 nov. 2019.

GUEDES, G. M. DE M. *et al.* Effect of promethazine on biofilms of gram-positive cocci associated with infectious endocarditis. **Biofouling**, v. 39, n. 2, p. 189–203, 7 fev. 2023a.

GUEDES, G. M. DE M. *et al.* Antibiofilm activity of promethazine, deferiprone, and Manuka honey in an *ex vivo* wound model. **Letters in Applied Microbiology**, v. 76, n. 10, 4 out. 2023b.

GUO, Y. *et al.* Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 10, p. 107, 2020.

HADJI-NEJAD, S.; RAHBAR, H.; MEHRGAN, H. Synergy between phenothiazines and oxacillin against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 9, n. 3, 8 jul. 2010.

HASANPOUR, A. H. *et al.* The global prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in residents of elderly care centers: a systematic review and meta-analysis. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 12, n. 1, p. 4, 29 jan. 2023.

HOU, Z. *et al.* Progress in the Prevalence, Classification and Drug Resistance Mechanisms of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Infection and Drug Resistance**, v. Volume 16, p. 3271–3292, mai 2023.

HUA, Y. *et al.* Drug repositioning: Progress and challenges in drug discovery for various diseases. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 234, p. 114239, abr. 2022.

IDREES, M. *et al.* *Staphylococcus aureus* Biofilm: Morphology, Genetics, Pathogenesis and Treatment Strategies. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 14, p. 7602, 16 jul. 2021.

IKUTA, K. S. *et al.* Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **The Lancet**, v. 400, n. 10369, p. 2221–2248, dez. 2022.

INCE, M.; RUETHER, P. Histamine and antihistamines. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**, v. 22, n. 11, p. 749–755, nov. 2021.

IWATA, Y. *et al.* D-Serine inhibits the attachment and biofilm formation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 537, p. 50–56, jan. 2021.

JAMAL, M. *et al.* Bacterial biofilm and associated infections. **Journal of the Chinese Medical Association**, v. 81, n. 1, p. 7–11, jan. 2018.

JARADA, T. N.; ROKNE, J. G.; ALHAJJ, R. A review of computational drug repositioning: strategies, approaches, opportunities, challenges, and directions. **Journal of Cheminformatics**, v. 12, n. 1, p. 46, 22 dez. 2020.

JASZCZYSZYN, A. *et al.* Chemical structure of phenothiazines and their biological activity. **Pharmacological Reports**, v. 64, n. 1, p. 16–23, jan. 2012.

JENUL, C.; HORSWILL, A. R. Regulation of *Staphylococcus aureus* Virulence. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 2, 12 abr. 2019.

JORGE, P. *et al.* Searching for new strategies against biofilm infections: Colistin-AMP combinations against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* single- and double-species biofilms. **PLOS ONE**, v. 12, n. 3, p. e0174654, 29 mar. 2017.

JOURDAN, J.-P. *et al.* Drug repositioning: a brief overview. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 72, n. 9, p. 1145–1151, 10 ago. 2020.

KAATZ, G. W. *et al.* Phenothiazines and Thioxanthenes Inhibit Multidrug Efflux Pump Activity in *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 47, n. 2, p. 719–726, fev. 2003.

KARAKONSTANTIS, S.; KALEMAKI, D. Evaluation and management of *Staphylococcus aureus* bacteriuria: an updated review. **Infection**, v. 46, n. 3, p. 293–301, 11 jun. 2018.

KATZUNG, B. G.; TODD W. VANDERAH. **Farmacologia básica e clínica**. Porto Alegre: AMGH, 2023.

KAUSHIK, A. *et al.* Biofilm Producing Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (SARM) Infections in Humans: Clinical Implications and Management. **Pathogens**, v. 13, n. 1, p. 76, 15 jan. 2024.

KHAN, M. F. Brief history of *Staphylococcus aureus*: a focus to antibiotic resistance. **EC Microbiology**, v. 5, n. 2, p. 36–39, 2017.

KHATOON, Z. *et al.* Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. **Heliyon**, v. 4, n. 12, p. e01067, dez. 2018.

KITANO, H. *et al.* Indwelling catheterization, renal stones, and hydronephrosis are risk factors for symptomatic *Staphylococcus aureus*-related urinary tract infection. **World Journal of Urology**, v. 39, n. 2, p. 511–516, 3 fev. 2021.

KOURTIS, A. P. *et al.* *Vital Signs*: Epidemiology and Recent Trends in Methicillin-Resistant and in Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infections — United States. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 68, n. 9, p. 214–219, 8 mar. 2019.

KRAKAUER, T.; PRADHAN, K.; STILES, B. G. Staphylococcal Superantigens Spark Host-Mediated Danger Signals. **Frontiers in Immunology**, v. 7, 2 fev. 2016.

KULKARNI, V. S. *et al.* Drug Repurposing: An Effective Tool in Modern Drug Discovery. **Russian Journal of Bioorganic Chemistry**, v. 49, n. 2, p. 157–166, 21 abr. 2023.

LAGADINO, M. *et al.* Antimicrobial Properties on Non-Antibiotic Drugs in the Era of Increased Bacterial Resistance. **Antibiotics**, v. 9, n. 3, p. 107, 2 mar. 2020.

LAKHUNDI, S.; ZHANG, K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, out. 2018.

LEE, A. S. *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1, p. 18033, 31 mai 2018.

LEHTINEN, J.; LILIUS, E.-M. Promethazine renders *Escherichia coli* susceptible to penicillin G: real-time measurement of bacterial susceptibility by fluoro-luminometry. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 30, n. 1, p. 44–51, jul. 2007.

LEONARD, A. C.; PETRIE, L. E.; COX, G. Bacterial Anti-adhesives: Inhibition of *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization. **ACS Infectious Diseases**, v. 5, n. 10, p. 1668–1681, 11 out. 2019.

LI, X. *et al.* Novel Approaches to Combat Medical Device-Associated BioFilms. **Coatings**, v. 11, n. 3, p. 294, 4 mar. 2021.

LINZ, M. S. *et al.* Clinical Impact of *Staphylococcus aureus* Skin and Soft Tissue Infections. **Antibiotics**, v. 12, n. 3, p. 557, 11 mar. 2023.

MACPHERSON, D. W. Population Mobility, Globalization, and Antimicrobial Drug Resistance. **Emerging Infectious Diseases**, 2009.

MAJTNEROVÁ, P.; ROUŠAR, T. An overview of apoptosis assays detecting DNA fragmentation. **Molecular Biology Reports**, v. 45, n. 5, p. 1469–1478, 18 out. 2018.

MANCUSO, G. *et al.* Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens. **Pathogens**, v. 10, n. 10, p. 1310, 12 out. 2021.

MARTINS, M. *et al.* Potential role of non-antibiotics (helper compounds) in the treatment of multidrug-resistant Gram-negative infections: mechanisms for their direct and indirect

activities. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 31, n. 3, p. 198–208, mar. 2008.

MCGAHON, A. J. *et al.* Chapter 9 The End of the (Cell) Line: Methods for the Study of Apoptosis *in vitro*. Em: [s.l: s.n.]. p. 153–185.

MEGGED, O. *Staphylococcus aureus* urinary tract infections in children are associated with urinary tract abnormalities and vesico-ureteral reflux. **Pediatric Nephrology**, v. 29, n. 2, p. 269–272, 30 fev. 2014.

MEHRABI, S. F.; ELMI, S.; NYLANDSTED, J. Repurposing phenothiazines for cancer therapy: compromising membrane integrity in cancer cells. **Frontiers in oncology**, v. 13, p. 1320621, 2023.

MILLER, E. L. THE PENICILLINS: A REVIEW AND UPDATE. **Journal of Midwifery & Women's Health**, v. 47, n. 6, p. 426–434, 12 nov. 2002.

MOHIUDDIN, S. G.; NGUYEN, T. V.; ORMAN, M. A. Pleiotropic actions of phenothiazine drugs are detrimental to Gram-negative bacterial persister cells. **Communications Biology**, v. 5, n. 1, p. 217, 9 mar. 2022.

MORENO, C. E. L. *et al.* Impact of urinary catheter on resistance patterns and clinical outcomes on complicated urinary tract infection. **International Urogynecology Journal**, v. 34, n. 6, p. 1195–1201, 22 jun. 2023.

MORRISON, L.; ZEMBOWER, T. R. Antimicrobial Resistance. **Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America**, v. 30, n. 4, p. 619–635, out. 2020.

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

MURRAY, P. R. ; R. K. S. ; P. M. A. **Microbiologia Médica**. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2022.

NAIR, S. V. *et al.* Antimicrobial activity of plumbagin, a naturally occurring naphthoquinone from *Plumbago rosea*, against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 306, n. 4, p. 237–248, jun. 2016.

NANDHINI, P. *et al.* Recent Developments in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (SARM) Treatment: A Review. **Antibiotics**, v. 11, n. 5, p. 606, 29 abr. 2022.

NIKOLIC, P.; MUDGIL, P. The Cell Wall, Cell Membrane and Virulence Factors of *Staphylococcus aureus* and Their Role in Antibiotic Resistance. **Microorganisms**, v. 11, n. 2, p. 259, 19 jan. 2023.

NURJADI, D. *et al.* Import of community-associated, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to Europe through skin and soft-tissue infection in intercontinental travellers, 2011–2016. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 25, n. 6, p. 739–746, jun. 2019.

NYE, T. M. *et al.* Microbial co-occurrences on catheters from long-term catheterized patients. **Nature Communications**, v. 15, n. 1, p. 61, 2 jan. 2024.

OBAID, N. A. *et al.* In silico identification of new potential inhibitors of quorum sensing by Gram-positive bacteria through specialized molecular docking. **Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences**, v. 10, n. 1, p. 83–90, 26 mar. 2024.

ODDS, F. C. Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 52, n. 1, p. 1–1, 12 jun. 2003.

OGSTON, A. “On Abscesses”. **Clinical Infectious Diseases**, v. 6, n. 1, p. 122–128, 1 jan. 1984.

O’RIORDAN, K.; LEE, J. C. *Staphylococcus aureus* Capsular Polysaccharides. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 17, n. 1, p. 218–234, jan. 2004.

O’TOOLE, R. F. The interface between COVID-19 and bacterial healthcare-associated infections. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 27, n. 12, p. 1772–1776, dez. 2021.

OTTO, M. SARM virulence and spread. **Cellular Microbiology**, v. 14, n. 10, p. 1513–1521, out. 2012.

ÖZTÜRK, R.; MURT, A. Epidemiology of urological infections: a global burden. **World Journal of Urology**, v. 38, n. 11, p. 2669–2679, 10 nov. 2020.

PARASTAN, R. *et al.* *Staphylococcus aureus* biofilms: Structures, antibiotic resistance, inhibition, and vaccines. **Gene Reports**, v. 20, p. 100739, set. 2020.

PARIDA, S.; MISHRA, S. K. Urinary tract infections in the critical care unit: A brief review. **Indian Journal of Critical Care Medicine**, v. 17, n. 6, p. 370–374, dez. 2013.

PARSONS, J. B. *et al.* Persistent Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Bacteremia: Host, Pathogen, and Treatment. **Antibiotics**, v. 12, n. 3, p. 455, 24 fev. 2023.

PAUDEL, S. *et al.* Defining the Roles of Pyruvate Oxidation, TCA Cycle, and Mannitol Metabolism in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Catheter-Associated Urinary Tract Infection. **Microbiology Spectrum**, v. 11, n. 4, 17 ago. 2023.

PELLING, H. *et al.* Bacterial biofilm formation on indwelling urethral catheters. **Letters in Applied Microbiology**, v. 68, n. 4, p. 277–293, 21 abr. 2019.

PENG, Q. *et al.* A Review of Biofilm Formation of *Staphylococcus aureus* and Its Regulation Mechanism. **Antibiotics**, v. 12, n. 1, p. 12, 22 dez. 2022.

PEYCLIT, L.; BARON, S. A.; ROLAIN, J.-M. Drug Repurposing to Fight Colistin and Carbapenem-Resistant Bacteria. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 9, 11 jun. 2019.

PIASECKI, B. *et al.* Composition, Anti-SARM Activity and Toxicity of Essential Oils from Cymbopogon Species. **Molecules**, v. 26, n. 24, p. 7542, 13 dez. 2021.

PIETROCOLA, G. *et al.* *Staphylococcus aureus* Manipulates Innate Immunity through Own and Host-Expressed Proteases. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, 5 maio 2017.

PIETROCOLA, G. *et al.* Colonization and Infection of Indwelling Medical Devices by *Staphylococcus aureus* with an Emphasis on Orthopedic Implants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 11, p. 5958, 25 maio 2022.

PROCOP, G. W. **Diagnóstico Microbiológico - Texto e Atlas**. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2018.

PULINGAM, T. *et al.* Antimicrobial resistance: Prevalence, economic burden, mechanisms of resistance and strategies to overcome. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 170, p. 106103, mar. 2022.

PUSPARAJAH, P. *et al.* *Streptomyces sp.*—A Treasure Trove of Weapons to Combat Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Biofilm Associated with Biomedical Devices. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 17, p. 9360, 28 ago. 2021.

RÁCZ, B.; SPENGLER, G. Repurposing Antidepressants and Phenothiazine Antipsychotics as Efflux Pump Inhibitors in Cancer and Infectious Diseases. **Antibiotics**, v. 12, n. 1, p. 137, 10 jan. 2023.

RAHBAR, M.; MEHRGAN, H.; HADJI-NEJAD, S. Enhancement of Vancomycin Activity by Phenothiazines against Vancomycin-Resistant *Enterococcus Faecium in vitro*. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 107, n. 2, p. 676–679, 14 ago. 2010.

RASHEED, N. A.; HUSSEIN, N. R. *Staphylococcus aureus*: An Overview of Discovery, Characteristics, Epidemiology, Virulence Factors and Antimicrobial Sensitivity. **European Journal of Molecular & Clinical Medicine**, v. 8, n. 3, 2021.

RIBEIRO, S. M. *et al.* New frontiers for anti-biofilm drug development. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 160, p. 133–144, abr. 2016.

RICHE, C. V. W. *et al.* Epidemiology and risk factors for mortality among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremic patients in Southern Brazil. **PLOS ONE**, v. 18, n. 4, p. e0283774, 13 abr. 2023.

RICHTER, K.; VAN DEN DRIESSCHE, F.; COENYE, T. Innovative approaches to treat *Staphylococcus aureus* biofilm-related infections. **Essays in Biochemistry**, v. 61, n. 1, p. 61–70, 3 mar. 2017.

RUBINSTEIN, E.; KEYNAN, Y. Vancomycin Revisited “60 Years Later. **Frontiers in Public Health**, v. 2, 31 out. 2014.

RUNGELRATH, V.; DELEO, F. R. *Staphylococcus aureus*, Antibiotic Resistance, and the Interaction with Human Neutrophils. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 34, n. 6, p. 452–470, 20 fev. 2021.

SAXENA, P. *et al.* Biofilms: Architecture, Resistance, Quorum Sensing and Control Mechanisms. **Indian Journal of Microbiology**, v. 59, n. 1, p. 3–12, 21 mar. 2019.

SCHILCHER, K.; HORSWILL, A. R. Staphylococcal Biofilm Development: Structure, Regulation, and Treatment Strategies. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 84, n. 3, 19 ago. 2020.

SCHULER, F. *et al.* A Narrative Review on the Role of *Staphylococcus aureus* Bacteriuria in *S. aureus* Bacteremia. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 8, n. 6, 1 jun. 2021.

SEAS, C. *et al.* *Staphylococcus aureus* bloodstream infections in Latin America: results of a multinational prospective cohort study. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, n. 1, p. 212–222, 1 jan. 2018.

SELVARAJ, C.; PRIYA, R. B.; SINGH, S. K. Exploring the Biology and Structural Architecture of Sortase Role on Biofilm Formation in Gram Positive Pathogens. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 29, p. 2462–2480, 12 fev. 2019.

SHARMA, S. *et al.* Microbial Biofilm: A Review on Formation, Infection, Antibiotic Resistance, Control Measures, and Innovative Treatment. **Microorganisms**, v. 11, n. 6, p. 1614, 19 jun. 2023.

SHETTIGAR, K.; MURALI, T. S. Virulence factors and clonal diversity of *Staphylococcus aureus* in colonization and wound infection with emphasis on diabetic foot infection. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 39, n. 12, p. 2235–2246, 18 dez. 2020.

SHOAIB, M. *et al.* SARM compendium of epidemiology, transmission, pathophysiology, treatment, and prevention within one health framework. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 10 jan. 2023.

SIDDIQUI, A. H.; KOIRALA, J. **Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus***. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023.

SILVA, V. *et al.* Biofilm Formation of Multidrug-Resistant SARM Strains Isolated from Different Types of Human Infections. **Pathogens**, v. 10, n. 8, p. 970, 30 jul. 2021.

SOUTHARD, B. T.; AL KHALILI, Y. **Promethazine**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024.

STICKLER, D. J. *et al.* Blockage of urethral catheters by bacterial biofilms. **Journal of Infection**, v. 27, n. 2, p. 133–135, set. 1993.

STROBEL, M. *et al.* Post-invasion events after infection with *Staphylococcus aureus* are strongly dependent on both the host cell type and the infecting *S. aureus* strain. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, n. 9, p. 799–809, set. 2016.

SURESH, M. K.; BISWAS, R.; BISWAS, L. An update on recent developments in the prevention and treatment of *Staphylococcus aureus* biofilms. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 309, n. 1, p. 1–12, jan. 2019.

TAM, K.; TORRES, V. J. *Staphylococcus aureus* Secreted Toxins and Extracellular Enzymes. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 2, 12 abr. 2019.

TONG, S. Y. C. *et al.* *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 3, p. 603–661, jul. 2015.

TRAN, N. N. *et al.* Current therapies and challenges for the treatment of *Staphylococcus aureus* biofilm-related infections. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**, v. 43, n. 8, p. 816–832, 14 ago. 2023.

TUCHSCHERR, L. *et al.* *Staphylococcus aureus* phenotype switching: an effective bacterial strategy to escape host immune response and establish a chronic infection. **EMBO Molecular Medicine**, v. 3, n. 3, p. 129–141, 26 mar. 2011.

TUCHSCHERR, L. *et al.* Sigma Factor SigB Is Crucial to Mediate *Staphylococcus aureus* Adaptation during Chronic Infections. **PLOS Pathogens**, v. 11, n. 4, p. e1004870, 29 abr. 2015.

TUON, F. F. *et al.* Antimicrobial Treatment of *Staphylococcus aureus* Biofilms. **Antibiotics**, v. 12, n. 1, p. 87, 4 jan. 2023.

TURNER, N. A. *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 4, p. 203–218, 8 abr. 2019.

UDDIN, T. M. *et al.* Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. **Journal of Infection and Public Health**, v. 14, n. 12, p. 1750–1766, dez. 2021.

URISH, K. L.; CASSAT, J. E. *Staphylococcus aureus* Osteomyelitis: Bone, Bugs, and Surgery. **Infection and Immunity**, v. 88, n. 7, 22 jun. 2020.

VARGA, B. *et al.* Possible Biological and Clinical Applications of Phenothiazines. **Anticancer research**, v. 37, n. 11, p. 5983–5993, nov. 2017.

VASUDEVAN R. Emergence of UTI causing *Staphylococcus aureus* as a superbug: Has the pathogen reduced the options of antimicrobial agents for treatment. **EC Microbiol**, v. 1, p. 88–112, abr. 2015.

VELAZQUEZ-MEZA, M. E. *et al.* Antimicrobial resistance: One Health approach. **Veterinary World**, p. 743–749, 28 mar. 2022.

VERMOTE, A.; VAN CALENBERGH, S. Small-Molecule Potentiators for Conventional Antibiotics against *Staphylococcus aureus*. **ACS Infectious Diseases**, v. 3, n. 11, p. 780–796, 10 nov. 2017.

WALKER, J. N. *et al.* Catheterization alters bladder ecology to potentiate *Staphylococcus aureus* infection of the urinary tract. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 41, 10 out. 2017.

WELTE, T.; PLETZ, M. W. Antimicrobial treatment of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (SARM) pneumonia: current and future options. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 36, n. 5, p. 391–400, nov. 2010.

WHO. **Ten threats to global health in 2019**. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/spotlight/ten-threats-to-global-health-in-2019>. Acesso em: 28 mai. 2024.

WHO. **Antimicrobial resistance**. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Acesso em: 28 mai. 2024.

WILHELM, M. P. Vancomycin. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 66, n. 11, p. 1165–1170, nov. 1991.

WORLD BANK. Drug-resistant infections : a threat to our economic future (Vol. 2) : final report. Washington, DC: **World Bank**, 2017. Disponível em: <https://documents1.worldbank.org/curated/en/323311493396993758/pdf/final-report.pdf>.

Acesso em: 28 mai. 2024.

WHO. WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. Geneva: **WHO**, 2024. Disponível em: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376776/9789240093461-eng.pdf?sequence=1>.

Acesso em: 29 mai. 2024.

WHO. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. Geneva: **WHO**, 2017. Disponível em: <https://remed.org/wp-content/uploads/2017/03/global-priority-list-of-antibiotic-resistant-bacteria-2017.pdf>. Acesso em: 29 mai. 2024.

Acesso em: 29 mai. 2024.

WRIGHT, A. J. The Penicillins. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 74, n. 3, p. 290–307, mar. 1999.

XUE, H. *et al.* Review of Drug Repositioning Approaches and Resources. **International Journal of Biological Sciences**, v. 14, n. 10, p. 1232–1244, 2018.

YAMAMOTO, S. Prevention and treatment of complicated urinary tract infection. **Urological Science**, v. 27, n. 4, p. 186–189, dez. 2016.

YOUSEFI, M. *et al.* Characterization of *Staphylococcus aureus* Biofilm Formation in Urinary Tract Infection. **Iranian journal of public health**, v. 45, n. 4, p. 485–93, abr. 2016.

ZHENG, Y. *et al.* Colonization of medical devices by staphylococci. **Environmental Microbiology**, v. 20, n. 9, p. 3141–3153, 6 set. 2018.