

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, ALIMENTOS E NUTRIÇÃO -
FACFAN

EDUARDA THIBURCIO DO NASCIMENTO REIS

ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE UM PEPTÍDEO SINTÉTICO

Campo Grande – MS

2025

EDUARDA THIBURCIO DO NASCIMENTO REIS

ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE UM PEPTÍDEO SINTÉTICO

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado ao Curso de Farmácia da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul como requisito para obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Orientador(a): Dra. Maria Lígia Rodrigues Macedo.

Campo Grande – MS

2025

EDUARDA THIBURCIO DO NASCIMENTO REIS

ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE UM PEPTÍDEO SINTÉTICO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada ao Curso de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito para a obtenção do grau de farmacêutica.

Orientadora: Dra. Maria Lígia Rodrigues Macedo

Aprovado em:

Maria Lígia Rodrigues Macedo

Data: 07/07/2025

Ana Paula Boleti

Data: 07/07/2025

Ana Cristina Jacobowiski

Data: 07/07/2025

Campo Grande – MS

Julho – 2025

Agradecimentos

Primeiramente quero agradecer ao Deus altíssimo que me sustentou até este presente momento, em todos os sentidos, principalmente renovando minha fé nele e me dando forças para enfrentar todos os desafios. Em segundo lugar agradeço aos meus pais Juliana Thiburcio e Adeildo Reis por serem meu alicerce, meu exemplo de perseverança e resiliência, sem os senhores eu não seria nada. Agradeço também às minhas avós e avôs por todo carinho, oração e apoio, e ao meu tio Nelson por todo incentivo.

Meu muito obrigada também a Júlia Cicero, Juliana Ferreira, Petra Vieira, Gabriel Quirino, Carlos Peralta, Lucas Menezes e Issac Koslowski, amigos que me acompanharam nesta longa, árdua e sofrida jornada. Serei eternamente grata a vocês.

Por último, mas não menos importante quero agradecer a minha orientadora Dr. Lígia Macedo e a minha estimada mentora Doutoranda Layza Sá Rocha por todo apoio e orientação, e a todos os membros do LPPFB pelo companheirismo.

Resumo

As infecções relacionadas à assistência à saúde são infecções adquiridas no processo de internação, após a alta do paciente ou em procedimentos hospitalares. Corresponde a um grande problema para o sistema de saúde pública e são intensificadas pela crescente resistência a antimicrobianos por parte de microrganismos. Como divulgado pela ANVISA em 2024, a resistência antimicrobiana está entre os 10 maiores problemas de saúde pública mundial, ela acontece quando os microrganismos não respondem mais de forma esperada aos antimicrobianos existentes no mercado atualmente, o que causa uma dificuldade em combater tais infecções. Diante desta problemática, o surgimento de peptídeos antimicrobianos tem-se mostrado uma alternativa promissora como um tratamento alternativo aos antibióticos tradicionais. Dessa forma, esse estudo investigou a potencial atividade antimicrobiana do peptídeo sintético KW18, desenvolvido no Laboratório de Proteínas e suas Funções Biológicas (LPPFB), através de ensaios de Concentração Inibitória Mínima (CIM), Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Tempo-Dependente, usando bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. O resultado mais notório dos ensaios foi o de tempo-dependente, onde o KW18 superou a atividade do ciprofloxacino, eliminando as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* em 35 e 45 minutos, e nas concentrações de 64 μM e 32 μM , respectivamente.

Abstract

Healthcare-associated infections are infections acquired during hospitalization, after patient discharge, or during hospital procedures. They pose a significant challenge to public health systems and are exacerbated by the growing resistance of microorganisms to antimicrobial agents. According to ANVISA's 2024 report, antimicrobial resistance is among the top 10 global public health threats. It occurs when microorganisms no longer respond effectively to currently available antimicrobial agents, making such infections difficult to treat. In response to this issue, antimicrobial peptides (AMPs) have emerged as promising alternatives to traditional antibiotics. In this study, the potential antimicrobial activity of the synthetic peptide KW18, developed at the Laboratory of Protein Purification and Their Biological Functions (LPPFB), was investigated. Its activity was evaluated through Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Minimum Bactericidal Concentration (MBC), and time-kill assays, using both Gram-positive and Gram-negative bacteria. The most remarkable results were observed in the time-kill assays, in which KW18 outperformed ciprofloxacin by eliminating *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in 35 and 45 minutes, at concentrations of 64 μM and 32 μM , respectively.

Sumário

1. Introdução	7
2. Referencial Teórico	8
2.1 Infecções Associadas a Assistência à Saúde	8
2.2 Resistência Antimicrobiana	8
2.3 Peptídeos Antimicrobianos	9
3. Objetivos	11
3.1 Objetivo Geral	11
3.2 Objetivos Específicos	11
4. Materiais e Métodos	11
4.1 Peptídeo Sintético KW18	11
4.2 Microbiologia	12
4.2.1 Cultura de Microrganismos	12
4.2.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima	12
4.2.3 Determinação da Concentração Bactericida Mínima	13
4.2.4 Ensaio de Tempo-Dependente	13
5. Resultados	13
5.1 Atividade Antimicrobiana do KW18	13
5.1.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima e Bactericida Mínima	13
5.1.2 Ensaio de Tempo-Dependente	15
6. Discussão	15
7. Conclusão	17
9. Referências Bibliográficas	17

1 Introdução

As infecções relacionadas à assistência à saúde, ou também chamadas de infecções hospitalares, consistem na infecção adquirida durante a internação do paciente em âmbito hospitalar, ou após a alta quando é relacionada à internação e a procedimentos hospitalares (Lima, 2014). As infecções relacionadas à assistência à saúde são um notável problema de saúde pública por conta da frequência com que ocorrem, a morbimortalidade que causam e a carga que impõem aos pacientes, suas famílias, profissionais de saúde e também ao sistema de saúde (Zimmermann, 2025). Além disso, são agravadas pelo crescimento rápido da resistência a antimicrobianos por parte dos microrganismos (ANVISA, 2024).

De acordo com a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), a resistência antimicrobiana se encontra entre os 10 maiores problemas de saúde pública em âmbito global. Ela ocorre quando os microrganismos patogênicos não respondem mais de forma esperada aos tratamentos com antibióticos, tornando essas medicações ineficazes no combate às infecções causadas por esses patógenos. Isso dificulta o tratamento dessas infecções, eleva os custos com assistência à saúde, aumenta os riscos de disseminação de doenças graves e pode levar à morte (ANVISA, 2024).

Microrganismos, principalmente as bactérias, têm a capacidade de apresentar resistência intrínseca e adquirida. A primeira está relacionada com o gênero e espécie da bactéria, e a segunda ocorre através de mutações do próprio gene ou através da aquisição de genes de resistência de outras bactérias (Hospital das Clínicas UNICAMP, 2019). Isso leva ao surgimento de mecanismos de resistência antimicrobiana, são eles: produção de enzimas responsáveis pela degradação ou modificação dos antimicrobianos, redução da permeabilidade da membrana, bomba de efluxo, alteração ou bloqueio do sítio alvo do antibiótico (Silva, 2008).

Diante do crescente desafio da resistência antimicrobiana, torna-se urgente a busca por alternativas terapêuticas inovadoras. Nesse contexto, os peptídeos antimicrobianos (PAMs) emergem como potenciais candidatos, devido ao seu mecanismo de ação multifacetado e menor propensão a induzir resistência, oferecendo novas perspectivas no combate a patógenos multirresistentes (Zhang, 2025).

Os PAMs agem, principalmente, desestabilizando as membranas celulares dos patógenos. (Tripathi, 2023; Kaur, 2024; Shah, 2025). A aplicação de metodologias

computacionais avançadas e de inteligência artificial têm impulsionado significativamente a criação de PAMs, viabilizando o desenvolvimento racional de moléculas com elevada especificidade e desempenho, capazes de enfrentar desafios clínicos complexos, como a resistência antimicrobiana. Este estudo investiga a atividade antimicrobiana do peptídeo sintético KW-18, desenvolvido no Laboratório de Purificação de Proteínas e suas Funções Biológicas (LPPFB).

2 Referencial Teórico

2.1 Infecção Associada a Assistência à Saúde

De acordo com o Ministério da Saúde, estima-se que no Brasil a taxa de infecções associadas à assistência à saúde alcance 14% das internações. Cerca de 234 milhões de pacientes são operados por ano em todo o mundo. Destas operações efetuadas, 1 milhão de pacientes morrem em decorrência de infecções associadas à assistência à saúde e 7 milhões apresentam complicações no pós-operatório (BRASIL, 2019). Assim, as principais infecções hospitalares predominantes são: as infecções do trato respiratório, infecções do trato urinário, infecções em cortes cirúrgicos e infecções da corrente sanguínea. Dentre essas, a infecção do trato respiratório tem sido provocada com frequência pela pneumonia, que é desenvolvida com mais frequência em pacientes acamados com disfagia, pacientes inconscientes e pacientes que fazem uso de dispositivos invasivos, principalmente os dispositivos de suporte ventilatório (LEMOS, 2020).

Dois microrganismos patogênicos que são comumente encontrados em achados clínicos e que causam infecções do trato respiratório em âmbito hospitalar, principalmente em pacientes imunocomprometidos, são as cepas de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Essas duas bactérias, a primeira Gram-positiva e a segunda Gram-negativa, apresentam mecanismos de resistência a antimicrobianos sofisticados, o que dificulta cada vez mais o tratamento com antibióticos resultando em pacientes que ficam mais tempo internados para tratamento (Lima, 2014; Portela, 2023).

Moameri, Salehi e Haghdooost (2025) alertam que megatendências como exposição global, envelhecimento da população e aumento da resistência aos medicamentos, tornem as infecções hospitalares mais graves no futuro. Entretanto, avanços nas tecnologias de saúde terão o potencial de mudar essa possível realidade.

2.2 Resistência Antimicrobiana

Microrganismos patogênicos, como as bactérias, desempenham papel central nas doenças infecciosas. Patógenos como *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* destacaram-se ao longo do século XX por sua associação a infecções hospitalares graves e resistência crescente a antibióticos (Milani, 2023; Howden, 2023; Kunz, 2022; Yadav, 2025; Rangel, 2024). A resistência bacteriana, intensificada pelo uso indiscriminado de antimicrobianos, agravou esse cenário, especialmente a partir de 1960, quando o *S. aureus* apresentou resistência à meticilina dando origem assim ao MRSA (*Methicilin-Resistant S. aureus*) (Kong, 2023; Zhang, 2024). Além disso, *P. aeruginosa* e *A. baumannii* geraram resistência intrínseca e adquirida a diversos antimicrobianos, transformando-se em desafios críticos (WHO, 2024).

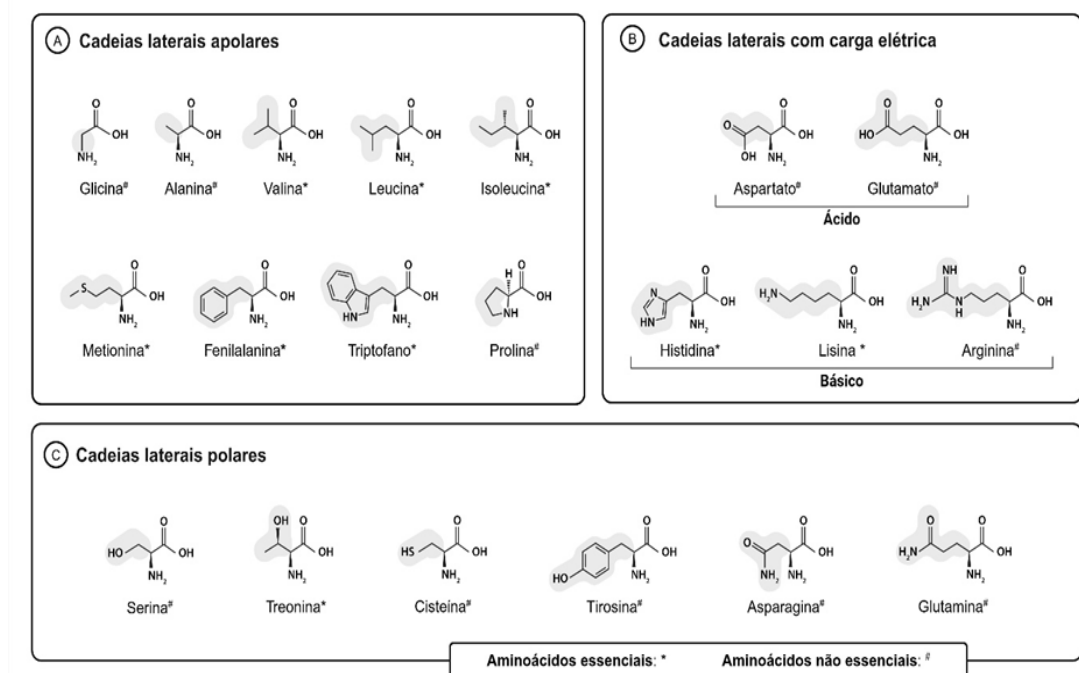
Além disso, grupo ESKAPE que inclui *Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* e *Enterobacter spp.*, representa as maiores ameaças devido à sua capacidade de "escapar" dos antibióticos disponíveis, sendo prioritário para o desenvolvimento de novos tratamentos. A Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica esses patógenos como críticos à saúde pública, alertando para a possibilidade de 10 milhões de mortes anuais por resistência a antimicrobianos até 2050 (WHO, 2023).

A resistência aos antimicrobianos ocorre através de várias características, como: produção de enzimas que degradam ou modificam o antimicrobiano, onde a bactéria possui genes que codificam a produção de enzimas modificando ou inativando de forma irreversível o fármaco (Dalmolin, 2022); redução da permeabilidade da parede celular, com alteração na composição da parede celular através da alteração das estruturas das porinas ou até mesmo na ausência delas, ocasionando uma permeabilidade seletiva ou até mesmo uma impermeabilidade aos fármacos (Da Costa; JUNIOR, 2017); superexpressão das bombas de efluxo, as quais são mecanismos naturais das bactérias que são codificados por genes cromossômicos e tem o papel de excretar substâncias tóxicas produzidas pelo próprio metabolismo das bactérias (BAPTISTA, 2013); alteração do sítio alvo do antibiótico, onde o gene bacteriano modifica a estrutura proteica bacteriana onde os antimicrobianos se ligam, assim o fármaco não consegue se ligar ao sítio alvo e tem sua ação comprometida (JUNIOR, 2017); por fim, a proteção ou bloqueio do sítio alvo, em que as bactérias produzem enzimas ou estruturas celulares que impossibilitam a ligação das drogas ao sítio alvo (BAPTISTA, 2013).

2.3 Peptídeos Antimicrobianos

Os PAMs são moléculas rápidas e eficazes no combate à resistência microbiana, descobertas nos anos 1980. Eles atuam desestabilizando membranas celulares de patógenos e têm aplicações em medicina, agricultura e conservação de alimentos (Tripathi, 2023; Kaur, 2024; Shah, 2025). Constituídos por cadeias de aminoácidos ligados por ligações peptídicas, os peptídeos são essenciais para funções como sinalização celular e resposta imune, podendo ser naturais ou sintéticos (Wang, 2022; Buonocore, 2023; Lu, 2025). As cadeias laterais dos aminoácidos, sejam eles aminoácidos essenciais (como leucina, lisina e triptofano) e não essenciais (como glutamina), determina as propriedades biológicas dos peptídeos antimicrobianos (PAMs) (Sarkar, 2021; Wang, 2022; Jafari, 2022; Gong, 2022; Lopez, 2025). As suas características biológicas e estruturais são descritas em esquemas específicos, como na figura 1 (Wu, 2025).

Figura 1: Classificação dos Aminoácidos pela Estrutura de Suas Cadeias Laterais



Aminoácidos classificados em três grupos: (A) cadeias laterais apolares, (B) cadeias laterais com carga elétrica (ácidas e básicas) e (C) cadeias laterais polares. Aminoácidos essenciais são marcados com um asterisco (*) e os não essenciais com um sinal (#). Fonte: adaptado de Wu, 2025.

Os PAMs incluem subclasses como peptídeos catiônicos, neutros e cíclicos, com diversos tipos de mecanismo de ação. Os catiônicos desestruturam as membranas, já os peptídeos cíclicos possuem maior resistência à degradação (Fandiño, 2023; Lin, 2025). A engenharia de peptídeos avançou para produzir versões sintéticas, bioinspiradas e de design *de novo*, mais estáveis e eficazes (Apostolopoulos, 2021). Além disso, peptídeos antimicrobianos

como a daptomicina têm sido eficazes contra patógenos resistentes, como o MRSA (Patel, 2023; Saadh, 2025). A aplicação de inteligência artificial e ferramentas computacionais da bioinformática amplia seu uso terapêutico, tornando os PAMs aliados promissores no enfrentamento de desafios de saúde atuais (Kumar, 2023; Yadav, 2025; Gao, 2021).

3 Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Analisar a atividade antimicrobiana do peptídeo sintético KW-18.

3.2 Objetivo Específico

- Realizar a triagem bacteriana com cepas Gram-positivas, sendo elas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213 e a cepa resistente à metilina MRSA 43300), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 00197), *Staphylococcus saprophyticus* (ATCC 49453), *Staphylococcus haemolyticus* (ATCC 29970), *Bacillus cereus* (ATCC 11778) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212); disponíveis até a finalização desta pesquisa no acervo do LPPFB, visando a seleção das bactérias-alvo;
- Realizar a triagem bacteriana com bactérias Gram-negativas, sendo elas: *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19906), *Escherichia coli* (ATCC 35218 e a variante entero-hemorrágica EHEC 43895), *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), *Enterobacter cloacae* (ATCC 13047), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Klebsiella oxytoca* (ATCC 13182), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Proteus mirabilis* (ATCC 51286), *Serratia marcescens* (ATCC 13880) e *Salmonella enterica* (ATCC 51741).
- Realizar teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM), com as bactérias mencionadas acima, para determinar o potencial bacteriostático e bactericida do peptídeo estudado;
- Realizar teste de Tempo-Dependente (*Time-Kill*), com as cepas *S. aureus* (ATCC 29213) e *P. aeruginosa* (ATCC 27853), para determinar em quanto tempo o peptídeo estudado é capaz de matá-las.

4 Materiais e Métodos

4.1 Peptídeo Sintético KW18

O peptídeo sintético KW18, foi desenvolvido usando técnicas e ferramentas computacionais da bioinformática no LPPFB, e é o objeto de estudo desta pesquisa. Ele consiste em um peptídeo de conformação em alfa-hélice, com 18 aminoácidos em sua sequência, caráter

anfipático (ou seja, tem uma parte hidrofóbica e outra hidrofílica) que garante a ele uma boa ação biológica frente as membranas das células bacterianas. Em relação aos parâmetros físico-químicos ele tem peso molecular igual a 2.501,133 Daltons, carga líquida total igual a +7, hidrofobicidade de 56% e índice de Bowman de 2.75 Kcal/mol.

4.2 Microbiologia

4.2.1 Cultura de Organismos

Para examinar o potencial antimicrobiano do peptídeo sintético KW18, foram empregados microrganismos bacterianos adquiridos de fontes comerciais e previamente catalogados pela American Type Culture Collection (ATCC), seguindo as diretrizes padronizadas do CLSI M07-A9. No grupo de bactérias Gram-positivas, os ensaios incluíram *S. aureus* (ATCC 29213 e a cepa resistente à meticilina MRSA 43300), *S. epidermidis* (ATCC 00197), *S. saprophyticus* (ATCC 49453), *S. haemolyticus* (ATCC 29970), *B. cereus* (ATCC 11778) e *E. faecalis* (ATCC 29212).

Entre as bactérias Gram-negativas analisadas estavam *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19906), *E. coli* (ATCC 35218 e a variante entero-hemorrágica EHEC 43895), *E. aerogenes* (ATCC 13048), *E. cloacae* (ATCC 13047), *K. pneumoniae* (ATCC 700603), *K. oxytoca* (ATCC 13182), *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *P. mirabilis* (ATCC 51286), *S. marcescens* (ATCC 13880) e *S. enterica* (ATCC 51741).

Os microrganismos foram preservados a -20°C em meio Brain Heart Infusion (BHI) acrescido de 20% de glicerol. Para os experimentos, as culturas foram reativadas em caldo BHI e incubadas a 37°C por 24 horas. O crescimento em meio sólido foi realizado em ágar Mueller-Hinton (MHA). Já para os testes em meio líquido, foram utilizados Mueller-Hinton Broth (MHB) e BHI, ajustados conforme os parâmetros das condições experimentais.

4.2.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima

As CIMs do peptídeo KW18 foram determinadas por meio do método de microdiluição em caldo, seguindo as diretrizes dos protocolos M27-S4 e M07-A11 do CLSI (2017, 2018). Os testes foram conduzidos em microplacas de 96 cavidades, em três experimentos independentes, em triplicata. O peptídeo KW18 foi diluído em solução salina estéril a 0,9% de NaCl, com concentrações variando de 64 μM a 0,125 μM , contendo as suspensões microbianas apropriadas. Para controle de qualidade, foi incluído um controle de crescimento (meio sem peptídeo) para assegurar a viabilidade dos microrganismos, e um controle positivo com os

antimicrobianos padrões, neste caso foi utilizado o ciprofloxacino. As suspensões bacterianas foram preparadas a partir de colônias isoladas em meio sólido, ajustadas para uma densidade óptica entre 0,08 e 0,1 unidades de absorbância (UA) em 595 nm. As placas foram então incubadas a 37 °C por um período de 24 horas.

4.2.3 Determinação da Concentração Bactericida Mínima

As CBMs do peptídeo KW18 foram analisadas após os ensaios de CIM. Foram transferidos 10 µL de cada poço das triplicatas para o meio MHA e incubados a 37 °C por 24 horas. A CBM foi definida como a menor concentração do KW18 que não possibilitou o crescimento visível a olho nu no meio sólido. Três experimentos independentes foram realizados em triplicata.

4.2.4 Ensaio de Tempo Dependente

O ensaio de cinética de ação bactericida foi conduzido utilizando o método de morte dependente do tempo, adaptado do protocolo descrito por Mitic-Culafic (2005), aplicado às cepas *S. aureus* ATCC 29213 e *P. aeruginosa* ATCC 27853, por serem bactérias de interesse clínico (Lima, 2015; Portela, 2023). Os inóculos microbianos foram preparados por cultivo direto, com ajuste da densidade óptica (DO) das suspensões bacterianas para 0,08–0,1 unidades de absorbância (UA), sendo a leitura feita a 595 nm. As suspensões foram expostas às concentrações equivalentes à CBM. Como controles positivos, utilizaram-se ciprofloxacino. A coleta de amostras foi feita em intervalos regulares de 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 minutos, com posterior semeadura em meio de cultura Mueller-Hinton Ágar (MHA), seguido de incubação a 37 °C. Após esse período, realizou-se a contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC), com o objetivo de determinar a atividade letal do peptídeo KW18 frente às cepas testadas. Todos os testes foram executados em triplicata, com três experimentações independentes, garantindo a reprodutibilidade e confiabilidade dos resultados.

5 Resultados

5.1 Atividade Antimicrobiana do KW18

5.1.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima e Bactericida Mínima

A análise da atividade antimicrobiana do peptídeo sintético KW18 demonstrou uma eficácia variável contra diferentes cepas bacterianas, em comparação ao antibiótico de referência ciprofloxacino. O peptídeo apresentou um bom desempenho contra *E. faecalis* ATCC 29212, com CIM de 2 µM, similar ao ciprofloxacino. Ademais, foi eficaz contra algumas

cepas de *Staphylococcus sp.*, com destaque para *S. epidermidis* ATCC 00197 (CIM de 4 μ M), superando o ciprofloxacino. Entretanto, em *K. oxytoca* ATCC 13182, a atividade do KW-18 foi menor, com CIM e CBM de 64 μ M. Entre as bactérias Gram-negativas, o KW-18 apresentou CIMs de 4 μ M para *E. coli* ATCC 35218 e *K. pneumoniae* ATCC 700603, mas mostrou menor eficácia contra *K. oxytoca* e *P. aeruginosa* ATCC 27853, como descrito na tabela 1.

Tabela 1: Atividade Antimicrobiana do Peptídeo KW-18 Frente a Microrganismos Gram-positivos, Gram-negativos: Comparação com Ciprofloxacino.

Leitura Visual

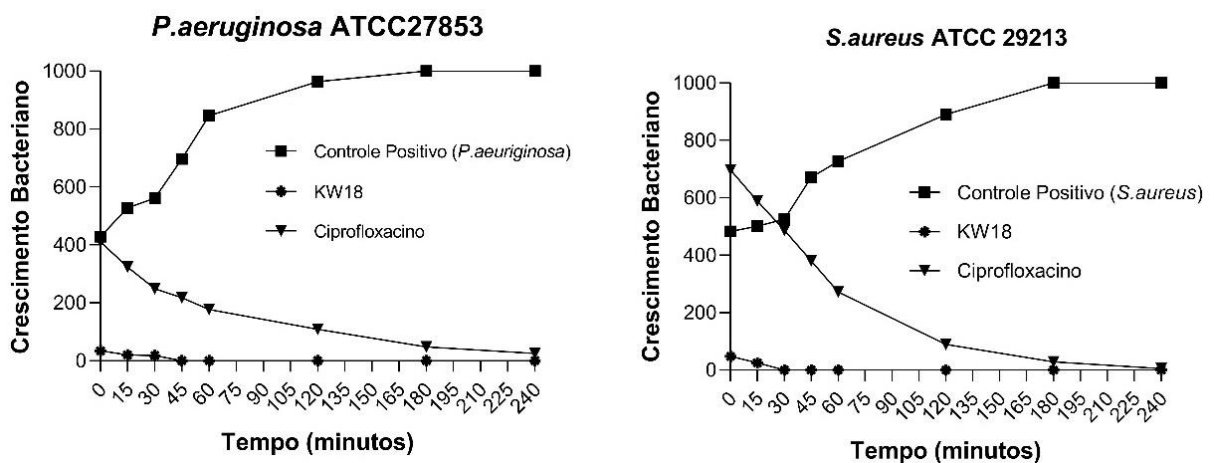
Bactérias Gram-Positivas	KW-18		Ciprofloxacino	
	CIM (μ M)	CBM (μ M)	CIM (μ M)	CBM (μ M)
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	4	64	0.5	16
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	2	64	0.125	32
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	8	64	0.5	1
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA ATCC 43300	8	64	2	2
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 00197	4	64	0.5	0.5
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> ATCC 29970	4	16	0.5	16
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 49453	4	4	1	1
Bactérias Gram-Negativas				
<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 19606	8	64	1	1
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	4	8	1	2
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	8	32	8	16
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	4	8	0.125	0.125
<i>Escherichia coli</i> EHEC ATCC 43895	32	32	1	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	4	8	0.125	1
<i>Klebsiella oxytoca</i> ATCC 13182	64	64	0.125	16
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 51286	64	64	8	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	8	32	0.5	8
<i>Salmonella</i> Entérica ATCC 51741	8	64	0.25	1
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	8	4	2	16

Os valores de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) foram determinados para o peptídeo sintético KW-18, sendo comparados ao ciprofloxacino. Os resultados destacam a eficácia antimicrobiana do KW-18 frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

5.1.2 Ensaio de Tempo-Dependente

Em combate ao *S. aureus* ATCC 29213, o peptídeo KW-18 provou eliminar a população bacteriana rapidamente em oposição a ação do ciprofloxacino, que mesmo com um período maior de exposição à cepa não mostrou o mesmo resultado. Em *P. aeruginosa* ATCC 27853, o KW-18 também se provou mais eficaz que o ciprofloxacino, com eliminação total em um tempo significativamente menor. Esses resultados ressaltam o potencial do KW-18, especialmente contra microrganismos resistentes, como a *P. aeruginosa*. Tais atividades estão descritas na figura 2.

Figura 2: Análise do Tempo-Dependente do KW18 em comparação ao Ciprofloxacino.



O KW18 foi capaz de eliminar a *P. aeruginosa* e a *S. aureus* em 45 e 30 minutos respectivamente, já o ciprofloxacino levou mais de 240 minutos para eliminá-las. Os tempos de inibição bactericida do KW18, em comparação com ciprofloxacino, indicam a eficácia do peptídeo na eliminação de microrganismos, conforme os tempos experimentais de exposição.

6 Discussão

Como dito anteriormente, infecções hospitalares representam um dos principais desafios enfrentados pelos sistemas de saúde pública, que são agravadas pela crescente resistência dos microrganismos aos antimicrobianos tradicionais (Lima, 2014; Hespanhol, 2017; ANVISA, 2024). Essa resistência antimicrobiana, considerada pela ANVISA como sendo uma das 10 maiores ameaças globais à saúde pública, compromete a eficácia dos tratamentos, elevando

desse modo os custos hospitalares e aumentando os riscos de morbidade e mortalidade (ANVISA, 2024).

Visto que os microrganismos, em especial as bactérias têm a capacidade de apresentar mecanismos de resistência contra os fármacos vigentes seja de forma intrínseca ou adquirida (Hospital das Clínicas UNICAMP, 2019), é necessário o surgimento de alternativas que possam driblar está problema de forma eficaz. Assim surgem os peptídeos antimicrobianos, que tem sido apresentado como alternativas terapêuticas promissoras, principalmente devido sua ação a bactérias multirresistentes (Tripathi, 2023; Kaur, 2024; Shah, 2025).

O ciprofloxacino foi o antibiótico de escolha para controle e comparação por ser um antibiótico de amplo espectro, ou seja, age contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, e é recomendado para infecções do trato respiratório causada pelas cepas do *S. aureus* e *P. aeruginosa*, que são de interesse clínico como dito antes. A ação bactericida do ciprofloxacino corresponde à inibição da topoisomerase bacteriana do tipo II e topoisomerase IV, que são essenciais para a replicação, transcrição, reparo e recombinação do DNA microbiano. (BRAINFARMA, 2025; Lima, 2015; Portela, 2023).

Com base nos dados experimentais obtidos para o peptídeo sintético KW18, observa-se um desempenho antimicrobiano expressivo frente a uma ampla variedade de cepas Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo patógenos resistentes como *Staphylococcus aureus* MRSA e *Pseudomonas aeruginosa*. A comparação com o ciprofloxacino revela que, embora o antibiótico clássico apresente menores valores de CIM, o KW18 demonstrou atividade bactericida mais rápida, com eliminação completa de *S. aureus* em 30 minutos e de *P. aeruginosa* em 45 minutos, contrastando com mais de 240 minutos exigidos pelo ciprofloxacino. Tais resultados estão alinhados com os achados de Mishra *et al.* (2025), que demonstraram que peptídeos antimicrobianos do tipo peptoide foram eficazes contra cepas multirresistentes de *Klebsiella pneumoniae* e *Acinetobacter baumannii*, apresentando atividade comparável ou superior à das fluoroquinolonas em termos de velocidade bactericida.

Em comparação com outros peptídeos sintéticos descritos na literatura recente, o KW18 exibe um perfil terapêutico promissor. Por exemplo, o peptídeo Mel4 demonstrou atividade contra biofilmes de *P. aeruginosa*, embora tenha requerido associação com ciprofloxacino para alcançar eliminação total da cepa, o que sugere um efeito sinérgico, porém menos eficaz em monoterapia (Yasir, Dutta e Willcox, 2020). Já os peptídeos baseados em puroindolinas apresentaram atividade contra bactérias Gram-positivas, porém limitada frente a Gram-

negativas, em contraste com o amplo espectro de ação observado para o KW18 (Ghahri, 2025). A capacidade do KW18 de eliminar rapidamente patógenos como *Escherichia coli* EHEC e *Serratia marcescens*, mesmo com valores moderados de CIM e CBM, indica um mecanismo de ação rápido e eficaz, possivelmente mediado pela desestabilização de membranas celulares, como proposto por Niño-Vega, Ortiz-Ramírez e López-Romero (2025) para peptídeos com alta afinidade por componentes da parede celular bacteriana.

Portanto, a atividade do KW18 não apenas se mostra comparável à de peptídeos sintéticos de última geração, mas supera muitos deles quanto ao tempo de ação e à amplitude do espectro bactericida. Tal desempenho reforça o potencial clínico do KW18, especialmente contra microrganismos multirresistentes. Considerando o cenário de resistência antimicrobiana crescente, abordagens como as discutidas por Oliveira et al. (2024), que envolvem sistemas de liberação para AMPs, podem potencializar a biodisponibilidade e a estabilidade de compostos como o KW18, elevando ainda mais sua aplicabilidade terapêutica. Dessa forma, o KW18 se destaca como um forte candidato para o desenvolvimento de novas estratégias antimicrobianas eficazes.

7 Conclusão

O desenvolvimento de novas táticas terapêuticas é crucial para o combate de infecções bacterianas resistentes, principalmente com a crescente resistência a antimicrobianos. Neste estudo, a investigação da atividade biológica de um peptídeo sintético trouxe à luz a importância do uso de peptídeos antimicrobianos frente ao combate de bactérias resistentes, principalmente como uma alternativa para solucionar os crescentes casos de infecções hospitalares.

Em relação à atividade antimicrobiana, o peptídeo sintético KW18 apresentou uma atividade muito significativa contra bactérias resistentes e não resistentes de interesse clínicos, embora o ciprofloxacino tenha superado os resultados obtidos pelo KW18 nos testes de CIM e CBM, o peptídeo subjugou o antibiótico no teste de Tempo-Dependente, esse cenário levanta uma suposição de uma possível atividade sinérgica dos dois em conjunto, que deve ser estudada mais para a frente com o objetivo de esclarecer essa hipótese, que se confirmada agregaria mais valor para o potencial terapêutico do KW18. Dessa forma, o peptídeo KW18 se fortifica como um promissor candidato à terapia antimicrobiana, combatendo assim infecções resistentes. Porém, alguns estudos ainda devem ser realizados para consolidar sua aplicação clínica.

8 Referência Bibliográfica

AGÊNCIA BRASIL. No Brasil, taxa de infecções hospitalares atinge 14% das internações. Simples ato dos profissionais de lavarem as mãos evita infecções. Brasil. 2019. Disponível em: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/saude/noticia/2019-05/no-brasil-taxa-de-infeccoes-hospitalares-atinge-14-das-internacoes>

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). *Resistência aos antimicrobianos é coisa séria!* Notícias. Brasília, 19 nov. 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2024/resistencia-aos-antimicrobianos-e-coisa-seria>. Acesso em: 7 jul. 2025.

BAPTISTA, Maria Galvão de Figueiredo Mendes et al. Mecanismos de resistência aos antibióticos. 2013. Dissertação de Mestrado. Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Lisboa, 2013.

BRAINFARMA INDÚSTRIA QUÍMICA E FARMACÊUTICA S.A. Cloridrato de ciprofloxacino: bula para profissionais da saúde. Brasília: ANVISA, [2023]. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/q/?nomeProduto=CIPROFLOXACINO>. Acesso em: 7 jul. 2025.

BUONOCORE, F. et al. Antibacterial and anticancer activity of two NK-lysin-derived peptides from the Antarctic teleost *Trematomus bernacchii*. **Fish Shellfish Immunol.**, v. 142, n. 109099, p. 109099, 2023.

CLSI- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard-Fourth Edition (M27-S4)**. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.

CLSI-CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Eleventh Edition (M07-A11)**. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.

DA COSTA, Anderson Luiz Pena; JUNIOR, Antonio Carlos Souza Silva. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. *Estação Científica (UNIFAP)*, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.

DALMOLIN, J.; NAKANO, R. L.; MARCUSO, P.; BOLETA-CERANTO, D. de. C. F.; COGO, J.; MELO, P. G. B. de.; ZARDETO, G. Mecanismos de expressão de resistência aos

antibióticos e saúde pública. Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR. Umuarama. v. 26, n. 3, p. 681-692, set./dez. 2022.

GAO, T. et al. Identification and functional analysis of the SARS-COV-2 nucleocapsid protein. **BMC Microbiol.**, v. 21, n. 1, p. 58, 2021.

GHAHRI, M. Antimicrobial peptides based on puroindolines: investigations of their biocidal effect, potential for resistance development, and anticancer activity. 2025. Tese (Doutorado) Swinburne University. Disponível em: https://figshare.swinburne.edu.au/articles/thesis/Antimicrobial_peptides_based_on_puroindolines_investigations_of_their_biocidal_effect_potential_for_resistance_development_and_antitumor_activity/28478036/1/files/52580939.pdf. Acesso em: 09 jul. 2025.

HOWDEN, B. P. et al. Staphylococcus aureus host interactions and adaptation. **Nat. Rev. Microbiol.**, v. 21, n. 6, p. 380–395, 2023.

HOSPITAL DAS CLÍNICAS UNICAMP. Manuais do Hospital das clínicas da UNICAMP. Campinas: UNICAMP, 2019. Disponível em: <https://intranet.hc.unicamp.br/manuais/ccih.pdf> acesso em: 03 de março 2020.

HESPAHOL, LAB; RAMOS, SCS; JUNIOR, OCR. et al. Infecção relacionada à Assistência à Saúde em Unidade de Terapia Intensiva Adulto. Revista electrónica trimestral de Enfermería. v. 18, n. 1, p. 215-254, 2018. Disponível em: <https://scielo.isciii.es/pdf/eg/v18n53/pt_1695-6141-eg-18-53-215.pdf>. Acesso julho de 2025.

JAFARI, A. et al. Clinical applications and anticancer effects of antimicrobial peptides: From bench to bedside. **Front. Oncol.**, v. 12, p. 819563, 2022.

KAUR, G.; TRIVEDI, P. Strategic Defenders: Antimicrobial Peptides and Their Impact on the Innate Immunity. Em: **Evolution of Antimicrobial Peptides**. Cham, Switzerland: Springer Nature, 2024. p. 221–273.

LIMA, Máira Ferreira Pinto; BORGES, Milka Azevedo; PARENTE, Rafael Santos; JÚNIOR, Renan Caldeira Victória; OLIVEIRA, Maria Emília de. *Staphylococcus aureus e as infecções hospitalares – revisão de literatura*. Revista UNINGÁ Review, Maringá, v. 21, n. 1, p. 32-39, jan./mar. 2015.

LEMOES, Marcela. Infecção hospitalar: o que é, tipos e como é o controle. Publicado em: 20 de abril de 2020. Recife, Pernambuco. Disponível em: <https://www.tuasaude.com/o-que-e-infeccao-hospitalar/> Acesso em: 07 jul. 2025

LIN, J. et al. Targeting peptide-mediated interactions in omics. **Proteomics**, v. 23, n. 6, p. e2200175, 2023.

LOPEZ, M. J.; MOHIUDDIN, S. S. Biochemistry, essential amino acids. **StatPearls**

MISHRA, S. K. et al. Antimicrobial activity of peptoids against Metallo- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and other WHO priority pathogens. **Journal of Applied Microbiology**, [S. l.], 2025. Disponível em: <https://academic.oup.com/jambio/advance-article-abstract/doi/10.1093/jambio/lxaf031/8009102>. Acesso em: 09 jul. 2025.

MOAMERI, H.; SALEHI, S.; HAGHDOOST, A. A. *The future of nosocomial infections*. *Iranian Journal of Public Health*, Teerã, v. 54, n. 4, p. 881–884, abr. 2025. DOI: 10.18502/ijph.v54i4.18427. Acesso em: 9 jul. 2025.

NIÑO-VEGA, G. A.; ORTIZ-RAMÍREZ, J. A.; LÓPEZ-ROMERO, E. Novel Antibacterial Approaches and Therapeutic Strategies. *Antibiotics*, Basel, v. 14, n. 4, p. 404, 2025. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/14/4/404>. Acesso em: 09 jul. 2025.

OLIVEIRA, K. B. S. de et al. Antimicrobial Peptide Delivery Systems as Promising Tools Against Resistant Bacterial Infections. *Antibiotics*, Basel, v. 13, n. 11, p. 1042, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/13/11/1042>. Acesso em: 09 jul. 2025.

PORTELA DE AZEVEDO, A.; TEIXEIRA DE SOUSA MARINHO, D.; DA CONCEIÇÃO, E. R.; BARBOSA, D.; GOMES FARIA, S.; DA SILVA NASCIMENTO, J.; DE OLIVEIRA LIMA NEVES, M.; VIEIRA DA SILVA, T.; OLIVEIRA DA FONSECA, I.; NASCIMENTO LIMA, G. *Pseudomonas aeruginosa*: Perfil de resistência antimicrobiana e principais sítios de infecção de amostras colhidas de pacientes imunossuprimidos. **Revista Feridas**, [S. l.], v. 11, n. 58, p. 2117–2122, 2023. DOI: 10.36489/feridas.2023v11i58p2117-2122. Disponível em: <http://www.revistaferidas.com.br/index.php/revistaferidas/article/view/3046>. Acesso em: 7 jul. 2025.

PATEL, D. Outcomes of daptomycin plus ceftaroline versus alternative therapy for persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteraemia. *International journal of antimicrobial agents*. **International journal of antimicrobial agents**, v. 61, n. 3, p. 106735, 2023.

SILVA, Estevão Urbano. A Importância do Controle da Prescrição de Antimicrobianos em Hospitais para Melhoria da Qualidade, Redução dos Custos e Controle da Resistência Bacteriana. *Revista Prática Hospitalar*, n. 57, 2008.

SHAH, A. B.; SHIM, S. H. Human microbiota peptides: important roles in human health. **Nat. Prod. Rep.**, 2024.

TAMO, S. P. B. Candida infections: Clinical features, diagnosis and treatment. **Infect. Dis. Clin. Microbiol.**, v. 2, n. 2, p. 91–102, 2020.

WANG, T. et al. The effect of structural modification of antimicrobial peptides on their antimicrobial activity, hemolytic activity, and plasma stability. **Journal of peptide science: an official publication of the European Peptide Society**, v. 27, n. 5, p. e3306, 2021.

WHO AWaRe classification database of antibiotics for evaluation and monitoring of use. **Geneva: World Health Organization**, 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO updates list of drug-resistant bacteria most threatening to human health**. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2024.

YADAV, N.; CHAUHAN, V. S. Advancements in peptide-based antimicrobials: A possible option for emerging drug-resistant infections. **Advances in colloid and interface science**, v. 333, n. 103282, p. 103282, 2024.

YASIR, M.; DUTTA, D.; WILLCOX, M. D. P. Activity of Antimicrobial Peptides and Ciprofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *Molecules*, Basel, v. 25, n. 17, p. 3843, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/17/3843>. Acesso em: 09 jul. 2025.

ZHANG, K. Molecular Evolution and Pathogenicity of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Antibiotics (Basel)**, v. 13, n. 10, 2024.

ZIMMERMANN, A. *et al.* Healthcare-associated infections: the role of microbial and environmental factors in infection control—A narrative review. *Infectious Diseases and Therapy*, [S.l.], v. 14, p. 933–971, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40121-025-01143-0>. Acesso em: 9 jul. 2025.

ZHANG, H.; LV, J.; MA, Z.; MA, J.; CHEN, J. *Advances in antimicrobial peptides: mechanisms, design innovations, and biomedical potential*. **Molecules**, Basel, v. 30, n. 7, p. 1529, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules30071529>. Acesso em: 9 jul. 2025.

