PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-IR) EM BACTÉRIAS DE INTERESSE MÉDICO

Heloiza Rodrigues de Oliveira (PIBIC-AF-IS/CNPq/FA/UEM), Brennda Heloísa Pátaro, Jean Eduardo Meneguello, Regiane Bertin de Lima Scodro, Katiany Rizzieri Caleffi Ferracioli (Coorientadora), Rosilene Fressatti Cardoso (Orientadora). E-mail: rfcardoso@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Microbiologia /Microbiologia Aplicada.

Palavras-chave: FT-IR; caracterização bacteriana; protocolo.

RESUMO

A Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) oferece tempo de resposta rápido e confiabilidade para a tipagem de microrganismos. O objetivo do presente trabalho foi avaliar protocolos de inativação bacteriana, a fim de padronizar a metodologia de caracterização de diferentes isolados bacterianos por FT-IR. Os protocolos de esfregaço direto com exposição à luz ultravioleta, suspensão alcoólica e suspensão em água com aquecimento foram avaliados em triplicata técnica e em três dias experimentais independentes usando como modelo as bactérias *Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae*. Os espectros das amostras foram adquiridos por meio do *software* IR Biotyper. A eficácia dos métodos foi avaliada com base na correlação entre as replicatas validadas pelo *software* e a ausência de crescimento bacteriano em testes de viabilidade. Os resultados demonstraram que a técnica de esfregaço direto se mostrou ineficaz para a inativação da maioria das espécies estudadas. O protocolo de suspensão alcoólica se mostrou mais consistente ao longo do estudo e obteve o melhor desempenho geral, enquanto o protocolo de suspensão em água com aquecimento apresentou resultados variáveis. Conclui-se que a suspensão alcoólica é a metodologia com maior aplicabilidade na inativação bacteriana para realização da técnica FT-IR.

INTRODUÇÃO

A Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) é uma técnica analítica que utiliza a distribuição de comprimentos de onda de infravermelho para a identificação de microrganismos (URIBE *et al*., 2023). Essa metodologia oferece curto tempo de resposta, baixo custo de processamento, boa sensibilidade e reprodutibilidade para a tipagem bacteriana (PITART *et al*., 2024). Nesse sentido, a padronização dos métodos de caracterização bacteriana, utilizando a espectroscopia

FT-IR, tem sido explorada visando garantir uma tipagem rápida e eficiente de isolados bacterianos. Posto isso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar diferentes protocolos de inativação bacteriana a fim de padronizar a metodologia de caracterização bacteriana por FT-IR.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os protocolos de inativação bacteriana avaliados foram: esfregaço direto com exposição à luz ultravioleta por 30 minutos, suspensão alcoólica e suspensão em água com aquecimento. Três diferentes tempos de aquecimento foram testados, sendo eles 10, 15 e 20 minutos. Todos os protocolos foram aplicados às bactérias *Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae* provenientes da bacterioteca do setor de Bacteriologia Médica/LEPAC/UEM. A avaliação dos protocolos ocorreu em triplicata técnica e em três dias experimentais independentes. Os espectros das amostras foram adquiridos por meio do *software* IR Biotyper. A eficácia de cada protocolo na inativação bacteriana foi avaliada a partir de testes de viabilidade celular, em que a ausência de crescimento bacteriano indicava inativação eficiente. A padronização da técnica FT-IR foi feita com base na correlação entre a eficácia da inativação e as replicatas validadas pelo IR Biotyper. A partir disso, foram estabelecidos os protocolos mais eficazes para cada uma das cepas bacterianas analisadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que a técnica de esfregaço direto se mostrou ineficaz para a inativação da maioria das espécies, exceto para *S. pneumoniae*. A Figura 1 demonstra que esse padrão foi mantido mesmo em espectros validados pelo *software*. O protocolo de suspensão alcoólica se mostrou mais consistente ao longo do estudo e obteve o melhor desempenho geral, conforme apresentado na Figura 2. Os resultados foram mais promissores para *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* e *P. aeruginosa*. De forma semelhante, os estudos de Candela *et al*. (2025) e Rakovitsky *et al*. (2020) utilizaram o protocolo de suspensão alcoólica para análises de *K. pneumoniae*, enquanto Passaris *et al*. (2022) realizou o processamento das amostras de *S. pneumoniae* a partir da técnica de esfregaço direto. Por fim, o protocolo de suspensão em água com aquecimento apresentou variação considerável. Conforme a Figura 3, ao considerar a média dos três tempos de aquecimento avaliados, os melhores resultados foram observados em *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* e *E. faecalis*. Além disso, foi observado que a principal causa da invalidação dos espectros incluíram aplicação inadequada de biomassa e interferências internas, como múltiplas reflexões, variação na espessura da camada ou vibrações externas durante a leitura dos espectros. Não foram constatadas diferenças entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas nos três protocolos avaliados.

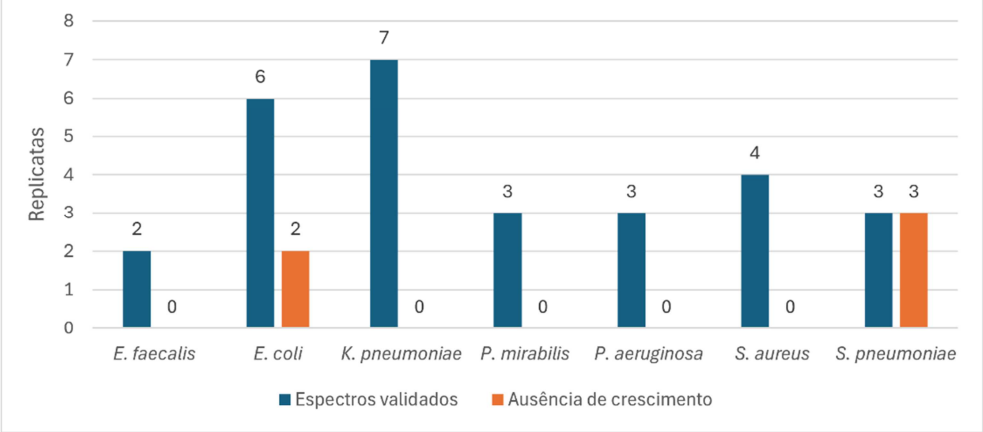


Figura 1 – Eficiência e potencial de inativação bacteriana do protocolo de esfregaço direto com exposição à luz ultravioleta.

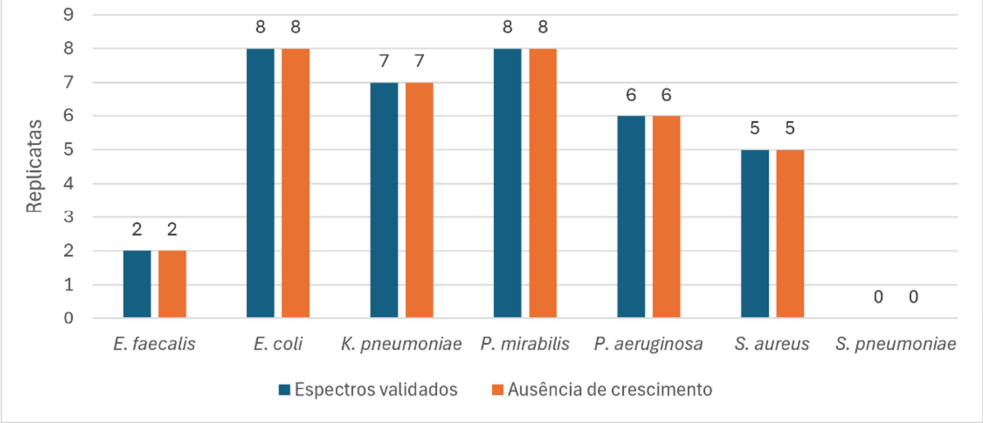


Figura 2 – Eficiência e potencial de inativação bacteriana do protocolo de suspensão alcoólica.

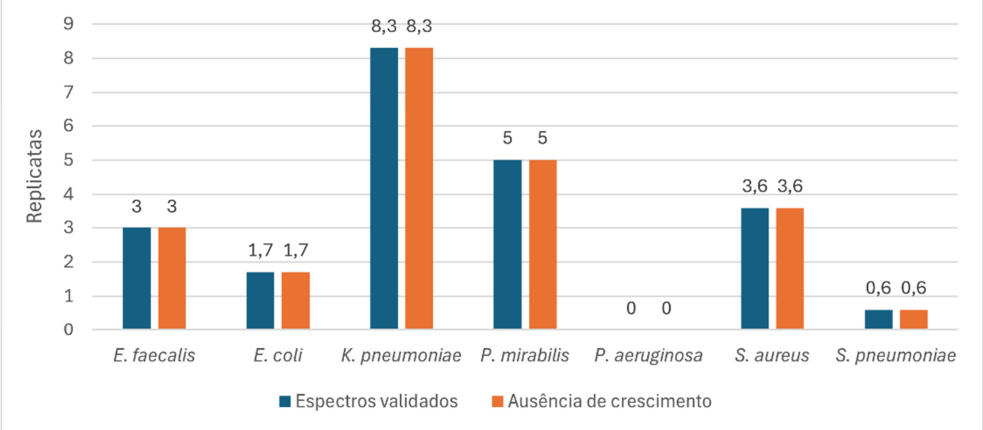


Figura 3 – Eficiência e potencial de inativação bacteriana do protocolo de suspensão em água com aquecimento.

CONCLUSÕES

Conclui-se que a suspensão alcoólica é a metodologia com maior aplicabilidade para a caracterização bacteriana por FT-IR, devido à eficiência na inativação bacteriana, na aquisição de espectros validados e na agilidade no preparo das amostras.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – Brasil, por meio da concessão de bolsa de Iniciação Científica (PIBIC-AF-IS) vinculada à Universidade Estadual de Maringá (UEM), sob orientação das profas. dras. Rosilene Fressatti Cardoso e Katiany Rizzieri Caleffi Ferracioli.

REFERÊNCIAS

CANDELA, A. *et al.* Multicenter evaluation of Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy as a first-line typing tool for carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in clinical settings. **Journal Of Clinical Microbiology**, [S.L.], v. 63, n. 1, p. 1-20, jan. 2025. Disponível em: https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.01122-24. Acesso em: 02 ago. 2026.

PASSARIS, I.; *et al.* Validation of Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Serotyping of Streptococcus pneumoniae. **Journal Of Clinical Microbiology**, [S.L.], v. 60, n. 7, p. 1-16, jul. 2022. Disponível em: https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.00325-22. Acesso em: 02 ago. 2026.

PITART, C. *et al*. Early identification of the nosocomial spread of vancomycin-resistant Enterococcus faecium by Fourier-transform infrared spectroscopy and performance comparison with PFGE and WGS. **Emerging Microbes & Infections**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 1-11, ago. 2024. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11346335/. Acesso em: 02 ago. 2026.

RAKOVITSKY, N. *et al.* Fourier Transform Infrared Spectroscopy Is a New Option for Outbreak Investigation: a retrospective analysis of an extended-spectrum-beta-lactamase-producing klebsiella pneumoniae outbreak in a neonatal intensive care unit. **Journal Of Clinical Microbiology**, [S.L.], v. 58, n. 5, p. 1-8, abr. 2020. Disponível em: https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.00098-20. Acesso em: 02 ago. 2026.

URIBE, G. *et al.* Evaluation of Fourier transform-infrared spectroscopy (FT-IR) as a control measure for nosocomial outbreak investigations. **Journal Of Clinical Microbiology**, [S.L.], v. 61, n. 10, p. 1-12, out. 2023. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10595069/. Acesso em: 02 ago. 2026.