

A IMPORTÂNCIA DO ANTIBIOGRAMA NO ESTUDO DA RESISTÊNCIA BACTERIANA

Julia de Jesus Mantovani (UNIFAJ); Sabrina da Silva Camargo (UNIFAJ); Michele Soares de Oliveira (UNIFAJ), Luis Henrique Romano (UNIFAJ)

Resumo

A resistência bacteriana é um desafio que vem crescendo na saúde pública, especialmente entre bactérias da família *Enterobacteriaceae*. Este artigo tem o objetivo de analisar por meio de revisão de literatura, como o teste de antibiograma pode contribuir na seleção terapêutica assertiva de antibióticos e como a técnica de cristalização de proteínas auxilia no estudo da resistência. Foram analisados artigos científicos, documentos institucionais e diretrizes técnicas como as normas Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), que descreve a sensibilidade bacteriana a diferentes antibióticos como Cefazolina, Ampicilina, Norfloxacin e Sulfametoxazol-trimetoprim. Além disso, foi analisada a importância da cristalização de proteínas em laboratórios tecnológicos, que permite visualizar de forma tridimensional proteínas-alvo bacterianas, auxiliando no desenvolvimento de novas terapias e fármacos antimicrobianos. Conclui-se que o antibiograma é uma ferramenta essencial para aplicação de tratamentos eficazes e que os avanços tecnológicos como a cristalografia permitem o entendimento detalhado da resistência.

Palavras-chave: Antibiograma, resistência bacteriana, cristalização, proteínas.

Introdução

A resistência bacteriana vem sendo um dos maiores desafios à saúde pública, “é um fenômeno multifacetado e global, que compromete a eficácia dos antibióticos e representa ameaça crescente” (PRESTINACI, PEZZOTTI, PANTOSI, 2015). Para enfrentar esse cenário, uma técnica essencial é o antibiograma, que avalia o grau de sensibilidade bacteriana a diferentes antibióticos. Ele fornece dados sobre a eficácia dos antibióticos e é amplamente difundido em laboratórios clínicos e hospitais, seguindo normas como as diretrizes M39 e CLSI. Essas diretrizes garantem um padrão dos resultados gerados.

Em estudos institucionais os antibiogramas vêm demonstrando impacto positivo nas prescrições de antibióticos adequados para um melhor tratamento. Diversos fatores têm contribuído para o agravamento da resistência bacteriana, entre eles o uso irregular de antibióticos, automedicação e a proliferação de genes de resistência em ambientes hospitalares e comunidades.

Apesar da importância do antibiograma, ele oferece apenas uma análise fenotípica do comportamento externo da bactéria em contato com o antibiótico. Para analisar os mecanismos moleculares da resistência, estuda-se a biologia estrutural, através da cristalização de proteínas. Instituições como CNPEM (CeBiME e LCP) e o ROBOLAB utilizam tecnologia automatizada para produzir cristais de proteínas bacterianas, como enzimas de resistência e proteínas-alvo de antibióticos para conseguirem resolver suas estruturas tridimensionais por difração de raio-x. Esse conhecimento auxilia o desenvolvimento de novos fármacos ou a modificação de alguns já existentes, buscando modificar mecanismos como β -lactamases, bombas de efluxo e alterações de porosidade da membrana.

A combinação entre os resultados obtidos por métodos tradicionais como antibiograma e as informações estruturais obtidas pela cristalização de proteínas permite uma visão mais completa e avançada sobre os mecanismos de resistência bacteriana. Os estudos realizados atualmente têm um papel fundamental nesse processo, para melhor entendimento dos resultados.

Dessa forma, o presente trabalho se justifica pela importância do combate à resistência bacteriana e a necessidade de inserir os métodos tradicionais e modernos no estudo. Tem como objetivo mostrar como o antibiograma e a cristalização de proteínas contribuem para a escolha de tratamentos antimicrobianos mais eficazes.

Objetivos Gerais

Analisar como o antibiograma e a cristalização de proteínas contribuem de forma complementar para a compreensão dos mecanismos de resistência bacteriana e para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes.

Objetivos Específicos

Descrever os principais mecanismos de resistência bacteriana relatados na literatura científica;

Analisar a importância do antibiograma na avaliação da sensibilidade bacteriana e na seleção racional de antimicrobianos;

Discutir as contribuições da cristalização de proteínas para o entendimento estrutural dos mecanismos moleculares envolvidos na resistência bacteriana;

Avaliar como a integração entre métodos fenotípicos e técnicas de biologia estrutural pode auxiliar no desenvolvimento de novos fármacos e estratégias terapêuticas.

METODOLOGIA

Para elaboração desse artigo de revisão descritiva de literatura, foram realizadas pesquisas sobre análise da relação entre a resistência bacteriana, a aplicação do antibiograma e a utilização da cristalização de proteínas como ferramenta complementar para o entendimento dos mecanismos de resistência antimicrobiana.

Para a elaboração do trabalho, foram realizadas buscas em bases de dados científicas, incluindo Google Scholar, SciELO e PubMed, além da consulta a documentos técnicos e materiais institucionais de órgãos e centros de pesquisa reconhecidos nacional e internacionalmente. Foram também utilizados materiais disponibilizados por instituições como a Organização Mundial da Saúde (OMS), o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), o European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), o Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM) e o European Molecular Biology Laboratory (EMBL).

As publicações selecionadas compreenderam o período de 2012 a 2024, sendo escolhidas de acordo com critérios de relevância temática, atualidade e confiabilidade científica. As buscas foram direcionadas para conteúdos relacionados aos mecanismos de resistência bacteriana, à interpretação e aplicação do antibiograma, às técnicas de cristalização de proteínas e às experiências desenvolvidas em laboratórios voltados à biologia estrutural.

Para o embasamento dos aspectos técnicos relacionados ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos, foi utilizado o documento “Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing”, publicado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), além de diretrizes disponibilizadas pelo European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Também foram incluídos estudos referentes ao método de difusão em disco (Kirby-Bauer), amplamente empregado em laboratórios clínicos para avaliação da sensibilidade bacteriana aos antimicrobianos.

A discussão sobre cristalização de proteínas e biologia estrutural foi fundamentada em publicações científicas, relatórios institucionais e materiais técnicos relacionados às atividades desenvolvidas em centros de pesquisa especializados. A análise das informações obtidas foi realizada de forma descritiva, buscando compreender a contribuição do antibiograma para a escolha terapêutica dos antimicrobianos e o papel da cristalização de proteínas na investigação dos mecanismos moleculares envolvidos na resistência bacteriana.

Como ferramenta auxiliar, foram utilizados recursos de inteligência artificial (OpenIA) para apoio na revisão gramatical, organização textual, padronização de referências bibliográficas e tradução de trechos originalmente publicados em língua inglesa. O uso dessas ferramentas limitou-se ao aprimoramento da apresentação do manuscrito, sem interferência na seleção das fontes, interpretação dos dados, análise crítica da literatura ou elaboração das conclusões do estudo.

Desenvolvimento

Resistência Bacteriana

A resistência bacteriana é conhecida como a capacidade de microrganismos sobreviverem à ação de antibióticos que antes tinham um papel de destruí-los. Considerado que em 2019 cerca de 1,27 milhão de mortes tenham influência direta à resistência bacteriana, o que gerou um impacto ainda maior em regiões da América Latina e Caribe. Esse assunto vem aumentando a taxa de mortalidade, prolongando o tempo de internação e elevando os custos hospitalares (The Lancet, 2019).

Além de bactérias resistentes, há também a existência de fungos com resistência, o que indica que é um fenômeno transdisciplinar. É provável que poucos casos estejam sendo divulgados na América do Sul, devido à identificação incorreta sem o uso de técnicas moleculares, ainda não há protocolos específicos de vigilância para fungo no Brasil, sendo essencial investir em diagnósticos avançados, como testes baseados em biologia molecular, e capacitar profissionais de saúde para reconhecer casos como esse.

Entre os principais mecanismos de resistência estão:

- 1- Produção de enzimas inativadoras: como as β -lactamases (incluindo ESBL, AmpC e carbapenemases) que degradam antibióticos beta-lactâmicos, como penicilinas e cefalosporinas.
- 2- Alteração de alvos moleculares: como mutações no DNA-girase e na topoisomerase IV, que conferem resistência a fluoroquinolonas
- 3- Redução da permeabilidade: pela perda de porinas na membrana externa de bactérias gram-negativas.
- 4- Aumento da atividade de bombas de efluxo: que expulsam os antibióticos antes que eles atinjam seus alvos intracelulares.
- 5- Formação de biofilmes: estruturas multicelulares que dificultam a penetração de antibióticos.

Esses mecanismos podem ocorrer separadamente ou em conjunto, e muitas vezes, são adquiridos por transferência horizontal de genes, o que acelera a proliferação da resistência em ambientes clínicos. A espécie *Acinetobacter baumannii* destaca-se nesse contexto, sendo frequentemente associada a infecções em unidades de terapia intensiva em ambientes hospitalares (PELEG et al., 2008).

Antibiograma

O antibiograma é um teste laboratorial que analisa a sensibilidade de bactérias em contato a diferentes tipos de antibióticos, um dos métodos mais utilizados é o teste de difusão em disco (Kirby-Bauer) que é padronizado por organizações como o CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Esse método consiste em aplicar discos com antibióticos sobre uma placa de ágar inoculada com a bactéria, após a incubação, é possível observar a formação de halos de inibição ao redor dos discos, que podem ser medidos por uma régua ou paquímetro, esses resultados são comparados a tabelas padronizadas já existentes que classificam a bactéria como sensível, intermediária ou resistente.

O antibiograma tem um papel fundamental na medicina, pois auxilia o uso correto de antibióticos, reduz a prescrição incorreta e contribui com o controle de infecção hospitalar. Portanto, é importante destacar que o antibiograma oferece apenas uma análise fenotípica, ou seja, mostra como a bactéria se comporta em contato ao antibiótico visualmente, mas não revela mecanismos moleculares que justifiquem os resultados (SILVA; MORAES, 2016).

Cristalização de Proteínas e Biologia Estrutural

A biologia estrutural é uma área que busca entender a forma das moléculas biológicas e suas interações. No assunto da resistência bacteriana, destaca-se o estudo da estrutura tridimensional de proteínas relacionadas à resistência, como enzimas β -lactamases, bombas de efluxo e proteínas-alvo de antibióticos.

A cristalização de proteínas é uma das principais técnicas avançadas, ela permite isolar a proteína escolhida, purificá-la e formar cristais que são analisados por difração de raios-x. A partir disso, é possível mapear a estrutura 3D das proteínas e identificar regiões que poderiam ser alvo para novos fármacos (Lima et al., 2022).

No Brasil, o CNPEM (Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais) por meio do laboratório nacional de biociências (LNBio), possui instalações para cristalização automatizada, como o ROBOLAB, nesses laboratórios é possível preparar amostras, realizar triagens e produzir cristais de alta qualidade de forma automatizada. O LNBio também inclui o Sirius, uma fonte de luz síncrotron de quarta geração, a mais avançada da América Latina, que permite a obtenção de imagens com altíssima resolução de estruturas moleculares.

Dessa forma, a cristalização de proteínas tem sido utilizada para compreender o funcionamento de enzimas responsáveis pela resistência bacteriana, como as carbapenemases e auxiliar no desenvolvimento de inibidores específicos, tornando os antibióticos já existentes mais eficazes (WHO, 2015).

Combinação entre Antibiógrama e Cristalização de Proteínas

O uso combinado do antibiógrama e da cristalização de proteínas apresenta um resultado altamente eficaz. Enquanto o antibiógrama mostra a resposta externa da bactéria em contato com o antibiótico, a cristalização revela os detalhes estruturais justificando essa resposta observada.

Esse conjunto de técnicas permite confirmar se a resistência observada no teste clínico está relacionada a uma mutação estrutural específica, auxiliar no desenvolvimento de novos antibióticos mais eficazes e apoiar terapias em casos de infecções multirresistentes.

Essa prática já é adotada em instituições internacionais como o EMBL (*European Molecular Biology Laboratory*) e também em universidades brasileiras como a UNICAMP e a USP que apresentam a importância da junção entre a microbiologia clínica e a biologia estrutural.

Considerações Finais

A junção de tecnologias como a cristalização de proteínas, tem permitido analisar níveis estruturais nos mecanismos moleculares que influenciam a resistência bacteriana. Essa abordagem complementa o antibiógrama e oferece suporte para desenvolvimentos de novos fármacos para um tratamento mais específico.

Dessa forma, pode-se afirmar que o antibiógrama continua tendo um papel essencial para a escolha rápida de tratamentos. No entanto, os avanços tecnológicos como a cristalografia de proteínas aumentam o entendimento estrutural da resistência bacteriana e ajudam em tratamentos mais eficazes. A integração das técnicas clínica e estrutural é o caminho para superar a crise global da resistência antimicrobiana.

Referência Bibliográfica

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 33rd ed. CLSI Supplement M100. Wayne, PA: CLSI, 2023.

CNPEM – CENTRO NACIONAL DE PESQUISA EM ENERGIA E MATERIAIS. Laboratório Nacional de Biociências (LNBio) – Cristalização de Proteínas. Campinas: CNPEM, 2024. Disponível em: <https://lnbio.cnpem.br/instalacoes-abertas/laboratorio-automatizado-de-cristalizacao-de-proteinas/>.

EMBL – EUROPEAN MOLECULAR BIOLOGY LABORATORY. Protein crystallography facility. Heidelberg: EMBL, 2024. Disponível em: <https://www.embl.org/services/core-facilities/x-ray-crystallography/>. Acesso em: 04 ago. 2025.

EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 14.0. Växjö: EUCAST, 2024. Disponível em: https://www.eucast.org/clinical_breakpoints. Acesso em: 04 ago. 2025.

JORNAL DA USP. Primeiro caso de fungo resistente que causa micose extensa foi identificado no Brasil. São Paulo: USP, 25 mar. 2025. Disponível em: <https://jornal.usp.br/ciencias/primeiro-caso-de-fungo-resistente-que-causa-micose-extensa-foi-identificado-no-brasil/>.

LIMA, C. G. et al. Structural biology and antibiotic resistance: insights from protein crystallography. *Revista Brasileira de Biociências*, v. 20, n. 3, p. 1–12, 2022.

SOUZA, Marta Antunes de; RIBEIRO, Luana Cássia Miranda; PRIMO, Mariusa Gomes Borges; SIRICO, Suely Cunha Albernaz; GUILARDE, Adriana Oliveira; BATISTA, Lindon Johnson de Abreu. Enterococo resistente à vancomicina em um hospital universitário no Centro-Oeste do Brasil. *Revista de Patologia Tropical*, Goiânia, v. 41, n. 2, p. 241–246, abr.–jun. 2012. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/iptsp/article/download/19332/11232/79617>.

PELEG, A. Y.; SEIFERT, H.; PATERSON, D. L. *Acinetobacter baumannii: emergence of a successful pathogen*. *Clinical Microbiology Reviews*, 2008.

PRESTINACI, F.; PEZZOTTI, P.; PANTOSTI, A. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathogens and Global Health*, v. 109, n. 7, p. 309–318, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1179/2047773215Y.0000000030>.

SILVA, J. A.; MORAES, G. M. A importância do antibiograma na escolha racional de antimicrobianos. *Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança*, v. 14, n. 1, p. 45–52, 2016.

THE LANCET. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, v. 399, n. 10325, p. 629–655, 2022. Disponível em: [https://www.thelancet.com/article/S0140-6736\(21\)02724-0/fulltext](https://www.thelancet.com/article/S0140-6736(21)02724-0/fulltext).

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS (UNICAMP). Avanços na compreensão da estrutura de patógenos. Jornal da Unicamp, ed. 717, 2022. Disponível em: <https://www.jornal.unicamp.br/edicao/717/avancos-na-compreensao-da-estrutura-de-patogenos/>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. Geneva: WHO, 2015. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241509763>.

Padronizar o uso de termos como β -lactamases, β -lactamases ou ao longo de todo o texto.