

ESTUDO BIBLIOGRÁFICO COMPARANDO OS MÉTODOS MANUAIS E AUTOMATIZADOS PARA IDENTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS EM HEMOCULTURA

Tamires Candido¹, Thiago de Souza Candido².

1. Universidade do Sagrado Coração – USC; 2. Faculdades Integradas de Jaú – FIJ.

Resumo: A hemocultura é um dos exames, talvez o mais importante, quando se trata da identificação de microrganismos. Para o desenvolvimento da técnica, o laboratório tem um papel fundamental junto ao clínico na correta identificação e liberação dos resultados para ser iniciado o tratamento do paciente. Os sistemas de automação vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de aumentar a velocidade e, principalmente, a sensibilidade em relação ao crescimento de microrganismos na corrente sanguínea, já que, estes sistemas realizam basicamente de forma automatizada o que em métodos convencionais seria realizado de forma manual. Este trabalho trata-se de uma revisão bibliográfica por meio de pesquisas de artigos acadêmicos, relacionados ao assunto no período de 2010 a 2019. Os resultados do presente estudo mostram que existem diversos tipos de metodologias convencionais e automatizadas, onde, os métodos automatizados apresentaram maior rapidez e melhores resultados quando comparados aos convencionais, facilitando uma rotina microbiológica. Cabe ao laboratório decidir qual o melhor método e mais vantajoso de acordo com seu custo benefício.

Palavras-chave: Sistema automatizado, hemocultura, método convencional, microrganismos, cultura e sangue.

Abstract: Blood culture is one of the exams, perhaps most important, when it comes to identifying microorganisms. For the technique development, the laboratory has a fundamental role with the clinician correct identification and release of results to start the patient's treatment. Automation systems have been developed with aim of speed increasing especially the sensitivity to the microorganisms growth in the bloodstream, these systems perform basically in an automated manner which can be accomplished in instruction manual series. This works is literature review, conducting research of academic articles, from 2010 to 2019. The results of this study show there're several types of methodologies, where automated methods bring faster and better results, facilitating a routine microbiological. It's up to the laboratory to decide which method is best and most advantageous according to its cost benefit.

Keywords: Automated system, blood culture, conventional method, microorganisms, culture and blood.

1- INTRODUÇÃO

A hemocultura é um dos exames, talvez o mais importante, quando se trata da identificação de microrganismos. Este exame pode ser definido como a pesquisa de microrganismos patogênicos na corrente sanguínea, assim, esta técnica é responsável por diagnosticar microrganismos causadores de sepse, evitando altos índices de mortalidade mundial por esta causa. Para o desenvolvimento da técnica de hemocultura, o laboratório tem um papel fundamental junto ao clínico na correta identificação e liberação dos resultados para ser iniciado o tratamento do paciente (GUAREZE; BORDIGON, 2016).

Mesmo diante de um grande progresso ao decorrer dos tempos no ramo da medicina, com a implantação de técnicas altamente sofisticadas para detecção de microrganismos, as infecções de corrente sanguíneas ainda costumam causar grande

impacto em todo o mundo (YUE et al. 2018). A maioria dos microrganismos que causam infecção de corrente sanguínea são bactérias, porém fungos também podem ser causadores e bem preocupantes (MENCHINELI et al. 2019).

Segundo Alizadeh et al. (2016) infecções séricas causadas por bactérias gram-negativas, em muitos, não são analisadas corretamente devido aos poucos métodos disponíveis para imediata identificação desta classe de microrganismos. Além de possíveis erros de identificação, muitas vezes, o atraso na identificação do microrganismo e seu antibiograma pode levar à morte do paciente, principalmente em casos que o mesmo apresenta imuno-comprometimento. Ainda que a hemocultura demonstre diversas limitações, até o momento este método é considerado “padrão ouro” na identificação de bacteremias e fungemias (ELANTAMILAN et al. 2017).

Dentre os diversos métodos de incubação de hemoculturas, laboratórios de microbiologia estão usando equipamentos como o BACTECT™ da empresa BD (Becton Dickinson), onde seu método baseia-se na detecção de fluorescência emitida por um sensor de frascos com meios de cultura. Quando positivos os frascos emitem fluorescência e a bactéria presente na amostra sanguínea é detectada. Além do aspecto de detecção os frascos contêm resinas inibidoras de antibióticos que facilitam a positividade, evitando a presença de resultados falso-negativos (BEJON et al. 2014; BD, 2019).

Outro método muito usado por diversos laboratórios é o BACT/ALERT® 3D da BioMérieux, que consiste em um sensor colorimétrico embutido que muda de cor (cinza para amarelo) na presença de CO₂ que é produzido pelo crescimento de microrganismos, quando positivo, o sistema emite um alarme sonoro e visual (BIOMÉRIEUX BRASIL, 2019).

Os sistemas de automação vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de aumentar a velocidade e principalmente a sensibilidade em relação ao crescimento de microrganismos em corrente sanguínea, já que, estes sistemas realizam basicamente sozinhos o que em métodos convencionais seria necessário um profissional para dedicar-se a incubar, monitorar e agitar periodicamente os meios (LEITE, L. C. P. et al 2017).

Este trabalho teve como objetivo realizar a comparação dos diversos métodos de hemocultura manual e automatizados disponíveis no mercado, realizando um

levantamento bibliográfico descrevendo os dados e analisando a melhor técnica, com o melhor custo benefício para um laboratório de microbiologia.

2- MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho trata-se de uma revisão bibliográfica, inicial foram realizadas pesquisas de artigos acadêmicos através dos sites *PUBMED*, *Scielo* e *Google Acadêmico* utilizando os descritores: *Automated, system and/or blood culture* e *blood* em português e inglês. Trinta artigos foram selecionados, no período de 2010 a 2019 segundo a especificidade relacionada ao tema e a atual periodicidade. Estes artigos tratam de assuntos referente à comparações, levantamentos e pesquisas clínicas dos métodos atuais e disponíveis no mercado para identificação de microrganismos presentes no sangue. Destes, onze apresentaram maior relevância e foram utilizados no desenvolvimento deste artigo para maior compreensão do tema proposto.

3- RESULTADOS

Existem inúmeros métodos de detecção de microrganismos em hemoculturas, podendo ser detectados tanto por métodos manuais e convencionais, como por métodos automatizados e altamente sofisticados. Saber qual método trás mais vantagens vai de acordo com cada laboratório, sua demanda de solicitação de exames e principalmente o custo benefício.

Segundo a pesquisa de Hyman, et al. 2016 BACT / ALERT VIRTUO[®] possui a capacidade de detectar em apenas 15 minutos a presença de um microrganismo na amostra sanguínea, apresentando positividade em frascos de hemocultura sem necessitar de nenhuma influencia humana. Neste estudo foram analisadas 100 amostras isoladas, onde 77 apresentaram-se positivas e 23 apresentaram-se negativas. De acordo com os resultados apresentados, estão corretos em 85% para espécie e 90% para gênero quando comparadas com a técnica altamente sensível de espectrometria de massas do tipo MALDI TOF VITEK[®], porém, o método utilizado não necessitou de nenhuma intervenção humana, acontecendo em tempo real. Quando este método de hemocultura é contrastado com estudos moleculares existe a maior precisão das hemoculturas, porém seu custo apresenta-se elevado, sendo assim poucos estabelecimentos de saúde têm acesso a esta tecnologia.

Hyman, et al 2016, conclui que a rápida identificação de microrganismos presentes em hemoculturas podem trazer diversos benefícios ao profissional e sobretudo ao paciente, como menores taxas de mortalidade, menor tempo de internação e principalmente menos gastos com despesas hospitalares, tudo isso com um aparelho de simples manuseio.

Em um estudo realizado por Elantamilan, et al 2017, foram analisados 498 pares de amostras sanguíneas (coletados 10mL de sangue e aliquoteado 5mL em cada garrada de hemocultura para a comparação do método convencional e o método automatizado) de pacientes submetidos ao estudo, onde seu principal objetivo foi avaliar a diferença entre os pares combinados de hemoculturas coletados em locais e horários diferentes de um mesmo paciente, comparando o sistema manual e automatizado. Após a análise dos resultados, 224 amostras apresentaram-se com algum tipo de crescimento bacteriano, sendo que 105 culturas pelos dois sistemas de detecção apresentaram-se positivas, 78 apenas pelo método automatizado e 41 apenas pelo sistema manual. Dentre os 498 pares de amostras, 241 amostras de pares correspondentes foram detectadas com microrganismos. Em 105 culturas, onde, os dois métodos apresentaram-se positivas 91 delas detectaram o mesmo organismo, em 14 instâncias diferentes, os dois sistemas apresentaram resultados positivos, porém organismos distintos em subculturas, 91 deles foram recuperados de ambos os sistemas, porém 66 deles foram detectados apenas no BACT/ALERT® 3D e 48 apenas em culturas manuais. Desta forma pode-se dizer que o sistema BACT/ALERT® 3D demonstrou maior eficiência quando comparado ao método manual.

Em outro estudo os resultados apresentados foram semelhantes em negatividade, onde se utilizou o método convencional e o método automatizado BD BACTEC™ (método ao qual se baseia na detecção de fluorescência que é emitida por um sensor nas garrafas com o meio apropriado, monitorando a cada 10 minutos, aumentando a rapidez na detecção). O estudo comparou 271 amostras de pacientes internados, onde, 177 amostras apresentaram-se resultados verdadeiros positivos; 11 falso-negativos; 2 casos falso-positivos e 11 casos negativos verdadeiros. No método convencional 199 amostras negativaram e, apenas 15 amostras foram positivas; já no método automatizado BACTEC™ 222 amostras foram negativas e 31 amostras positivaram e, quanto aos resultados negativos, sendo 93% para métodos convencionais e 87,7% para o método automatizado, já quando comparado resultados positivos o método automatizado se

apresentou mais eficiente, detectando 100% de positividade das amostras. Segundo o autor a relação com a administração de antibióticos antes da coleta das amostras não obteve alterações significativas entre os métodos (ALIZADEH, et al. 2016).

Zadka et al 2019, comparou a utilização do equipamento BACT/ALERT® 3D versus MALDI TOF VITEK® MS ambos da marca bioMérieux quanto a rapidez no reconhecimento microbiano de amostras de hemoculturas quando positivas, além de identificar características microbiológicas. O equipamento MALDI TOF VITEK® MS utiliza-se da metodologia onde se fundamenta na espectrometria de massa, técnica analítica que determina a composição elementar de uma amostra. A sigla MALDI em inglês (*Matrix Assisted Lazer Desorption Ionization*) representa a análise de biomoléculas através de ionização por dissociação a laser assistida por uma matriz, seguida da detecção em um analisador de tempo de voo – TOF (*Time of flight*) (BIOMÉRIEUX BRASIL, 2019; NANOCELL NEWS, 2019). Zadka et al 2019 incluiu em seu estudo 1.460 pacientes e 2.710 em períodos de pré (antes da rápida identificação microbiana em resultados do paciente – Janeiro de 2014 a Dezembro de 2015) e pós-intervenção (com a implantação da rápida identificação microbiana em resultados do paciente – Janeiro de 2016 a Abril de 2018). Compararam-se as bactérias gram-negativas, gram-positivas, anaeróbicas e polimicrobianas, onde, resultou-se em taxas semelhantes, porém, maior parte de contaminantes. Quando comparado com o MALDI TOF VITEK® o tempo mediano diminuiu de 47,5 para 21,3 horas e, em pós-intervenção de 10,83 para 9,79 dias e taxa de transferência de UTI diminuiu de 13,8 para 11,6 % e taxa de mortalidade diminuiu de 20,9 para 18,3%. Pode-se concluir então que houve uma redução significativa no tempo-ótimo terapia, porém outros resultados clínicos não foram analisados. O estudo ainda chegou à conclusão que a intervenção originou um ótimo efeito de grande significância em análises multivariadas, porém o maior benefício foi em bactérias gram-negativas, já que, a taxa de bactérias contaminantes ainda foi alta nesta análise.

4- DISCUSSÃO

Os resultados apresentados no presente estudo mostram que existem diversos tipos de metodologias quando se diz respeito de hemoculturas. Como podemos observar no estudo de Hyman, et al 2016 quando comparado o método BACT / ALERT VIRTUO® com o método mais sofisticado MALDI TOF VITEK®, ambos da marca

Biomérieux diz que o método BACT / ALERT VIRTUO[®] tem o potencial de detectar em apenas 15 minutos a presença de microrganismos e o melhor que não necessita de nenhuma intervenção humana. Por outro lado no estudo de Zadka et al 2019, a comparação foi entre os mesmos equipamentos, porém seus resultados foram mais satisfatórios quando relacionado ao tempo de detecção, diminuindo as taxas de internações em UTI e trazendo melhor custo-benefício, por outro lado o equipamento MALDI TOF VITEK[®] além de ser um equipamento altamente sofisticado, não são todas as unidades de tratamento que conseguem adquirir e mantê-lo por possuir um alto custo.

No estudo de Elantamilan, et al 2017, compara o método convencional com a tecnologia BACT/ALERT[®] 3D, onde o método automatizado apresentou melhor desempenho de detecção quando comparado ao método convencional, mostrando que um equipamento pode trazer maior rapidez na identificação de amostras, isto pode demonstrar maior credibilidade do laboratório/profissional quanto aos seus resultados.

Já quando se compara a metodologia do BACTEC[™] com uma metodologia convencional Alizadeh, et al. 2016 mostrou resultados muito semelhantes quanto as amostras negativas, sendo, 93% para métodos convencionais e 87,7% para o método automatizado, contudo, em relação a positividade o método automatizado apresentou melhor desempenho detectando 100% das amostras.

Podemos então observar neste estudo comparativo os resultados negativos apresentaram-se maiores no método manual, pois a detecção de amostras positivas apresentou-se uma falha, já que o método automatizado foi 100% eficiente, estes resultados equiparam-se com o estudo de Elantamilan et al 2017, visto que, o método convencional ainda foi falho em ambos os estudos. Outra comparação pertinente, mostra a efetividade do método automatizado foi no estudo de Leite, et al 2017, onde, utilizando BACTEC[™], obteve maior desempenho quando comparado ao método manual. Assim observamos nestes estudos que os métodos automatizados apresentam melhor desempenho comparado ao tempo de detecção, melhor custo-benefício ao laboratório e principalmente a rápida intervenção em relação ao paciente quanto a administração rápida, segura e correta do antimicrobiano.

5- CONCLUSÃO

Podemos concluir neste estudo que as metodologias automatizadas trazem melhores resultados e melhor eficiência, além de facilitar a vida do microbiologista quando se tem uma grande rotina. Cabe ao laboratório estudar a melhor técnica a ser empregada e, principalmente a que possa trazer melhores benefícios tanto para o profissional microbiologista quanto ao paciente. A hemocultura como sendo o “padrão ouro” dentro de um laboratório de microbiologia é de suma importância que se obtenha o resultado correto ao clínico o quanto antes, evitando assim erros que podem levar a uma falha terapêutica e futuramente a transformação de uma simples bactéria em uma bactéria multirresistente.

6- REFERÊNCIAS

- ALIZADEH, A. M.; MOVAHED, R. K.; MOHAMMADNIA, M. Comparative Evaluation of Conventional and BACTEC Methods for Detection of Bacterial Infection. **TANAFOS**; IRÃ, v.15(2), 212-216, 2016
- LEITE L. C. P. et al. Comparação entre técnica manual e sistema automatizado para análise de culturas de líquido cefalorraquidiano em suspeitas de meningites. **Caderno da Escola de Saúde**, Curitiba/PR v.11 153-167, 2017.
- ELANTAMILAN, D. et al. Comparative evaluation of conventional (manual) blood culture system and BacT/ALERT 3D (automated) blood culture system in a Tertiary care hospital. **SJAMS**; Índia, v.5(2d), 544-549, 2017
- GUAREZE, G. M.; BORDIGNON, J. C. Estudo comparativo entre hemocultura automatizada e manual em um laboratório do sudoeste do Paraná, Brasil. **RBAC**; Rio de Janeiro/RJ, v.48(3), 223-228, 2016.
- GOULAR, V.A.M.; RESENDE, R.R. MALDI-TOF: Uma Ferramenta Revolucionária Para As Análises Clínicas E Pesquisa Do Câncer. **NannoCell News**, Belo Horizonte/MG, v.1, n. 3, 2013. Disponível em: <<https://www.nanocell.org.br/maldi-tof-uma-ferramenta-revolucionaria-para-as-analises-clinicas-e-pesquisa-do-cancer/>>. Acesso em: 27 jul 2019.
- HYMAN, J.M. et al. Evaluation of a Fully Automated Research Prototype for the Immediate Identification of Microorganisms from Positive Blood Cultures under Clinical Conditions. **mBio**; v.7(2), e00491, 2016
- MENCHINELLI, G. et al. In vitro Evaluation of BACT/ALERT® VIRTUO®, BACT/ALERT 3D®, and BACTEC™ FX Automated Blood Culture Systems for Detection of Microbial Pathogens Using Simulated Human Blood Samples. **Frontiers in Microbiology** . v.10:221, 2019. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.00221/full>>. Acesso em: 30 mai 2019

MINASSIAN, A.M. et al. Use of an automated blood culture system (BD BACTEC™) for diagnosis of prosthetic joint infections: easy and fast. **BMC Infectious Diseases**; v.14:233, 1471-2334/14/233, 2014.

Sistema automático de detecção microbiana - **Bact/Alert® 3D**. Disponível em: <<https://www.biomerieux.com.br/alimentos/bactalertr-3d>> Acesso em: 09 jul 2019.

The next dimension in blood culture detection - **Bact/Alert® Virtuo®**. Disponível em: <<https://www.biomerieux-usa.com/clinical/bact-alert-virtuo>>. Acesso em: 09 jul 2019.

YUE P. et al. Clinical Performance Evaluation of VersaTrek 528 Blood Culture System in a Chinese Tertiary Hospital. **Frontiers in Microbiology**, Pequim/China, v. 9:2027, 2018. Disponível em:

<<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.02027/full>>. Acesso em: 05 jun 2019.

ZADKA, H. et al. The implementation of rapid microbial identification via MALDI-ToF reduces mortality in gram-negative but not gram-positive bacteremia. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, Alemanha, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10096-019-03640-w>>.