



HEMOCULTURAS PUBLICADAS PELO BRASIL NO PERÍODO 2012-2019

Blood cultures published by Brazil in the period 2012-2019

Abstract: Blood cultures are tests widely used in patients with signs and symptoms suggestive of bacteremia and sepsis. Large laboratories perform this exam in an automated way, however small and medium laboratories do not have this equipment. Thus, blood cultures are performed manually, a more time-consuming procedure and subject to contamination if handling is inappropriate. In Brazil, there is still no work that outlines a profile of the blood cultures performed and that were published in the form of a scientific article. Therefore, it is important to outline the profile of blood cultures published in Brazil in the last 5 years. Six articles published with Brazilian data in the period between 2012 and 2017 were evaluated. The results show that most blood cultures performed and published by researchers in Brazil were performed using automated methods. We still found a low number of publications, especially when related to performing blood cultures by manual methods. Among the main microorganisms identified are enterobacteria.

Keywords: Blood culture, Manual blood culture, Sepsis, Microbiology.

Resumo: Hemoculturas são exames amplamente utilizados em pacientes que apresentam sinais e sintomas sugestivos de bacteremia e sepse. Laboratórios de grande porte realizam este exame de forma automatizada, todavia laboratório de pequeno e médio porte não dispõe destes equipamentos. Desta forma as hemoculturas são realizadas de forma manual, procedimento mais demorado e sujeito a contaminações caso o manuseio seja inadequado. No Brasil, ainda não existe um trabalho que trace um perfil das hemoculturas realizadas e que foram publicadas em forma de artigo científico. Sendo assim, é importante traçar o perfil das hemoculturas publicadas pelo Brasil nos últimos 5 anos. Foram avaliados 6 artigos publicados com dados brasileiros no período entre 2012 e 2017. Os resultados mostram que a maioria das hemoculturas realizadas e publicadas por pesquisadores do Brasil foram realizadas utilizando-se métodos automatizados. Ainda encontramos um baixo número de publicações, principalmente quando relacionadas a realização de hemoculturas por métodos manuais. Dentre os principais microrganismos identificados encontram-se as enterobactérias.

Palavras-chave: Hemocultura, Hemocultura manual, Sepsis, Microbiologia.

INTRODUÇÃO

Dentre os diversos marcadores laboratoriais que auxiliam no diagnóstico e manejo de infecções de corrente sanguínea, está a hemocultura, que como o próprio nome sugere, é o cultivo de amostras de sangue com o objetivo de identificar crescimento de patógenos que possa causar infecções¹. Por conceito, o sangue circulante deve ser estéril, e a presença de patógenos podem estar relacionadas a bacteremia e a presença de sepsis.

Hemocultura é definida como uma amostra de sangue obtida de uma punção venosa sendo inoculada em um ou mais frascos de hemocultura e passando por um processo especial no laboratório clínico². Diversas variáveis pré-analíticas interferem nos resultados obtidos das hemoculturas, todavia deve-se também minimizar os erros analíticos, umas das formas para isso é o uso de sistemas automatizados para a rápida identificação dos microrganismos. Os procedimentos laboratoriais manuais para processamento das hemoculturas não são mais indicados, devido a uma série de limitações, todavia sabe-se que inúmeros laboratórios ainda não dispõem de equipamentos para realizar estes procedimentos e dessa forma é necessário investir em recursos humanos para a correta identificação e processamento da hemocultura³. Fazendo com que o método manual ainda seja largamente utilizado, pelo menos em nosso país.

Uma das formas de o analista clínico reforçar o conhecimento sobre métodos para realização de hemoculturas é por meio do acesso

a bases de dados *on line* que fornecem uma ampla variedade de publicações sobre o assunto. Dessa forma, a organização e qualidade das informações apresentadas são essências para uma decisão clínica laboratorial adequada. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é realizar uma revisão sistemática sobre as hemoculturas brasileiras publicadas nos últimos 5 anos.

Bacteremia e Hemoculturas

A presença de fungos ou bactérias viáveis no sangue sugerem fortemente infecções da corrente sanguínea, o que torna a hemocultura um exame essencial e de grande valia para o tratamento destes pacientes. Bacteremia é a presença de microrganismos na corrente sanguínea, e que pode ocorrer por dois principais mecanismos, entrada direta do microrganismo na corrente sanguínea, ou por drenagem de microrganismos de um foco primário de infecção através de vasos linfáticos. As bacteremias geralmente são causadas por um único microrganismo, todavia em raros casos podem ser causadas por mais de um agente⁴.

Existem subdivisões para as bacteremias, caracterizadas como transitórias, intermitentes, contínuas ou de escape, fazendo com que algumas vezes o resultado laboratorial positivo não indique presença de sepsis ou doença grave. A bacteremia transitória ocorre após manipulação de algum ferimento ou abscesso com presença infectado, geralmente dura de minutos a poucas horas, a bacteremia contínua é caracterizada por infecção constante, pode ser derivada de endocardite infecciosa, ou causada por outras infecções intravasculares, onde os

microrganismos ficam constantemente presentes na corrente sanguínea. Por outro lado, a bacteremia de escape pode ocorrer após o início da antibioticoterapia, ou seja, podem ocorrer resultados positivos mesmo após o tratamento, podendo confundir o clínico a respeito do tratamento utilizado. Ainda, podem existir hemoculturas positivas, quando a bacteremia se manifesta em intervalos variáveis de tempo e com o mesmo microrganismo, caracterizada como bacteremia intermitente ¹.

O isolamento de microrganismos em hemocultura é o método diagnóstico definitivo de infecções como endocardite bacteriana e infecção da corrente sanguínea, todavia devido a diversas manifestações das bacteremias, as hemoculturas podem ter resultados negativos. Além destes, é possível que ocorra necessidade de realização de hemocultura para suspeita de sepse, de infecções hospitalares (antes de iniciar ou antes da troca de um esquema de antibiótico, em casos de febre de origem indeterminada, presença de neutropenia febril, na presença de infecções em pacientes imunodeprimidos, além de meningites e pneumonia grave ⁵.

Microrganismo mais frequentes de hemocultura podem ser os cocos gram positivos, como *S aureus*, Estafilicocos não produtores de coagulase (ENCP), *Enterococos* e *Streptococos spp*. Além dos gram negativos, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella spp*, *Enterobacter spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp*. Além disso não são incomuns bacteremias fúngicas, principalmente por *Candida spp*, *Cryptococcus neoformans* e o *Fusarium spp*^{1,2}. Todavia, deve-se sempre conhecer a suspeita

clínica que aliada a coleta e técnica laboratorial precisa fornecer resultados mais fidedignos.

Coleta de Hemocultura

As recomendações para a coleta de hemocultura, devem ser aplicadas de forma igual, tanto para análises que envolverão procedimentos manuais ou automatizados. O Ministério da Saúde, fornece detalhes sobre o procedimento de coleta, os passos detalhados incluem:

“· Colher antes da administração de antibióticos.

· Lavar as mãos e secá-las.

· Remover os selos da tampa dos frascos de hemocultura e fazer assepsia prévia nas tampas com álcool 70%.

· Garrotear o braço do paciente e selecionar uma veia adequada. Esta área não deverá mais ser tocada com os dedos. Fazer a anti-sepsia com álcool 70% de forma circular e de dentro para fora. Aplicar solução de iodo (tintura de iodo 1% a 2% ou PVPI 10%) também com movimentos circulares e de dentro para fora. Para ação adequada do iodo, deixar secar por um a dois minutos antes de efetuar a coleta.

· Coletar a quantidade de sangue e o número de amostras recomendados de acordo com as orientações descritas ou se discriminadas no pedido médico. · Remover o iodo do braço do paciente com álcool 70% para evitar reação alérgica.

· Identificar cada frasco com todas as informações padronizadas e enviar ao laboratório, juntamente com a solicitação médica devidamente preenchida.”³

A antissepsia adequada da pele é parte fundamental do processo e é o fator que determina a probabilidade de uma hemocultura positiva ser considerada contaminação ou infecção. Ainda é importante não voltar a tocar o local onde foi feita antissepsia, a não ser com luvas estéreis (se necessária nova palpação do local). Se houver suspeita de contaminação da área, repetir o procedimento de antissepsia.¹ Classicamente, duas amostras são coletadas do mesmo paciente, observando-se diversos critérios presentes na literatura, ou mesmo à critério da experiência do clínico.

Processamento manual de hemoculturas

Apesar de ser o mais utilizado, o método manual não é o mais indicado por apresentar baixa sensibilidade (quando comparado com métodos automatizados), ser mais trabalhoso, além de favorecer a possibilidade de contaminação das amostras examinadas e de acidentes com perfurocortantes durante o processamento e repiques sucessivos.¹

São necessários em torno de sete dias de incubação, com agitação constante dos frascos, além de cultivos de forma sucessiva, o que pode gerar demora nos resultados, todavia, muitos laboratórios de médio e pequeno porte dispõem apenas deste método. Outro empecilho para novas tecnologias que permitem diagnóstico mais rápido, são os valores pagos pela maioria dos planos de saúde, incluindo o sistema público⁶.

Inicialmente, os frascos de hemoculturas manuais, são aerados com a introdução de uma agulha estéril na tampa de borracha, até que o frasco se encha completamente de ar atmosférico. Os frascos são incubados por 24h, em estufa

microbiológica, a 35° C $\pm$ 1, repicados em meios específicos, e observado crescimento 24h após. Relata-se resultado parcial. Em caso negativo, incuba-se por mais 24h e repete-se o ciclo até completar-se sete dias. Em caso de crescimento microbiano, deve-se relatar resultado parcial, com relato de identificação pelo método de Gram, em seguida deve-se proceder a identificação e realização do antibiograma, para liberação do resultado definitivo.

Cada laboratório pode desenvolver seu próprio sistema de liberação de resultados parciais, sempre levando em consideração a complexidade, gravidade e necessidade de urgência na liberação dos resultados para a condução clínica do paciente envolvido.

Processamento automatizado de hemocultura

Existem diferentes equipamentos automatizados disponíveis no mercado para a realização de hemoculturas, são exemplos: o MGIT (Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Sparks, MD, USA), BacT/ALERT® 3D 60/120/240 (BioMérieux, Durham, NC, EUA), e BACTEC® modelos FX, série 9000 (9050, 9120, 9240), que têm como forma de detecção a colorimétrica ou fluorescência. Estes equipamentos dispõem de frascos específicos e direcionados para a pesquisa de diversos microorganismos. São realizadas medições a cada espaço de tempo para identificar variações de concentração que podem indicar atividade metabólica do microrganismo⁷. As vantagens incluem a rapidez, e a identificação de pequenas variações que podem indicar o crescimento de um microrganismo em pequenas concentrações, todavia o custo destes sistemas é ainda considerado

elevado, sendo necessário que laboratório clínico tenha rotina de hemoculturas suficiente para custear o investimento.

METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão narrativa sobre artigos brasileiros publicados nos últimos 5 anos. A pesquisa foi realizada nas bases de dados: Scielo e Pubmed, utilizando os seguintes descritores: Hemocultura, Brasil, infecção da corrente sanguínea, sepse, os descritores serão combinados entre si, para uma busca mais ampliada. Cabe ressaltar que os mesmos descritores foram utilizados em língua portuguesa e inglesa.

Após a seleção dos artigos, os títulos e resumos foram lidos para que os mesmos fossem organizados em categorias, de acordo com os objetivos específicos. Inicialmente dividir os artigos que apresentem métodos manuais para realização da hemocultura, dos artigos que apresentam métodos automatizados. Em seguida, para cada método serão classificados os microrganismos identificados.

RESULTADOS

Na busca realizada com os descritores anteriormente citados, foram encontrados 41 artigos publicados entre janeiro de 2012 e julho de 2017, destes apenas cinco entraram neste estudo. Apenas um mostrou resultado de hemoculturas convencionais, os demais apontam para uso de sistemas automatizados. Todos os artigos em questão avaliavam aspectos que não estavam relacionados ao procedimento utilizado e mais precisamente relacionados a prevalência de cada microrganismo identificado, ou até mesmo

confirmação da identificação de cepas por métodos mais indicados. Os dados estão representados no quadro 1.

O artigo publicado por Nunes e colaboradores⁸, investigou presença de bacteremia causada por fungos, e o tempo entre a positividade do teste, utilizando sistema automatizado. Os autores concluem que a mortalidade mais elevada estava relacionada com a positividade mais demorada no sistema de identificação, sugerindo terapia fúngica empírica. O estudo de Silva e seus colaboradores⁹ buscou identificar perfil de susceptibilidade de fungos isolados em hemoculturas.

Outro estudo objetivou comparar as duas metodologias, validando uma metodologia molecular, LightCycler® SeptiFast v2.0 (LCS; Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha), onde os autores obtiveram 86% de concordância, concluindo que este método pode ser usado em paralelo com a hemocultura manual, uma vez que este sistema é capaz de identificar microrganismos normalmente não identificáveis na metodologia manual¹⁰.

Em 2015, pesquisadores utilizaram um estudo observacional para mostrar que os laboratórios podem utilizar o peso dos frascos de hemocultura para avaliarem o volume coletado⁵. No ano de 2016, um grupo de pesquisas do Rio de Janeiro analisou as características clínicas de paciente com endocardite com hemoculturas positivas e negativas, e utilizando ferramentas moleculares identificaram os microrganismos envolvidos nesta infecção¹¹.

Dentre os microrganismos identificados encontram-se os principais já conhecidos na literatura como causadores de bacteremias,

especialmente os gram negativos, cabe ressaltar que dois trabalhos utilizaram dados que incluíam apenas bacteremias fúngicas.

CONCLUSÕES

Buscou-se identificar as publicações realizadas pelo Brasil sobre hemoculturas nos últimos cinco anos. Existem poucas publicações brasileiras entre os anos de 2012 a 2017, que tratem de hemoculturas e que incluam métodos automatizados e convencionais. Os microrganismos identificados são em grande parte os já relatados na literatura como causadores de bacteremias. As publicações existentes, buscam fazer levantamentos e alguns utilizam métodos moleculares para caracterizar os microrganismos identificados.

Todavia, não há nenhuma publicação recente que trate apenas de hemoculturas manuais, ou buscando padronizar os diferentes protocolos utilizados pelo país. Desse modo, abre-se

possibilidades de novos estudos mais aprofundados e surge a necessidade de se traçar um perfil para as hemoculturas realizadas no país e possivelmente busca por padronização para procedimentos realizados de forma manual.

REFERÊNCIAS

1. Araujo MRE de. Hemoculturas Recomendações de coleta, processamento e interpretação dos resultados Coleta de hemoculturas. J Infect Control. 2012;1(1):8–19.
2. Koneman, Elmer W. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 5. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2001. 1465 p. ISBN 85-7199-246-0.
3. BRASIL. para o Controle de Infecção Hospitalar. Microbiologia (Madrid). 2000.
4. Gauna TT, Oshiro E, Luzio YC, Paniago a MM, Pontes E, Chang MR. Bloodstream infection in patients with end-stage renal disease in a teaching hospital in central-western Brazil. Rev Soc Bras Med Trop [Internet]. 2013;46(4):426–32. Available from: <Go to ISI>://WOS:000325050900007/nhttp://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v46n4/0037-8682-rsbmt-00-00-29.pdf
5. Neves L, Marra AR, Camargo TZS, dos Santos MC, Zulin F, da Silva PC, et al. Correlation between mass and volume of collected blood with positivity of blood cultures. BMC Res Notes [Internet]. 2015;8:383. Available from: "http://dx.doi.org/10.1186/s13104-015-1365-8
6. Dunne WM. Blood culture systems. Laboratory Diagnosis of Bacterial Infections. New York. 2001.
7. Menezes EA, Sá KM, Cunha FA, Rozellê M, Ângelo F, Regis I, et al. Frequência e percentual de suscetibilidade de bactérias isoladas em pacientes atendidos na Unidade de Terapia Intensiva do Hospital Geral de Fortaleza. J Bras Patol Med Lab. 2007;43(3):149–55.
8. Nunes CZ, Marra AR, Edmond MB, da Silva Victor E, Pereira CA. Time to blood culture positivity as a predictor of c
10. Sitnik R, Marra a R, Petroni RC, Ramos OP, Martino MD, Pasternak J, et al. SeptiFast for diagnosis of sepsis in severely ill patients from a Brazilian hospital. Einstein (Sao Paulo) [Internet]. 2014;12(2):191–6. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25003925 linical outcome in patients with Candida albicans bloodstream infection. BMC Infect Dis [Internet]. 2013;13(1):486. Available from: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3854507&tool=pmcentrez&rendertype=abstract
9. Silva MGC, Rodrigues GS, Gonçalves IL, Grazziotin NA. Candida species distribution and fluconazole susceptibility of blood isolates at a regional hospital in Passo Fundo, RS, Brazil. J Bras Patol y Med Lab [Internet]. 2015;51(3):158–61. Available from: http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v51n3/1676-2444-jbpml-51-03-0158.pdf
11. Lamas CC, Fournier PE, Zappa M, Brand?o TJD, Janu?rio-da-Silva C a., Correia MG, et al. Diagnosis of blood culture-negative endocarditis and clinical comparison between blood culture-negative and blood culture-positive cases. Infection [Internet]. 2016;44(4):459–66. Available from: "http://dx.doi.org/10.1007/s15010-015-0863-x