

Método fenotípico automatizado versus método manual na identificação de microrganismos isolados de hemoculturas: desfechos clínicos e microbiológicos

Automated phenotypic method versus manual method in the identification of microorganisms isolated from blood cultures: clinical and microbiological outcomes

Cássio Alexandre Oliveira Rodrigues¹, Gabriela Medeiros Araújo², Ivaldo Amancio da Silveira³, Rand Randall Martins⁴

¹Residência Multiprofissional em Saúde, Hospital Universitário Onofre Lopes (HUOL), Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) - Natal (RN), Brasil.

²Laboratório de Microbiologia, HUOL, UFRN - Natal (RN), Brasil.

³Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, UFRN - Natal (RN), Brasil.

⁴Departamento de Farmácia, UFRN - Natal (RN), Brasil.

DOI: <https://dx.doi.org/10.7322/abcshs.v44i2.1156>

RESUMO

Introdução: A automação laboratorial é cada vez mais utilizada em microbiologia, no entanto, poucos estudos avaliam desfechos clínicos em comparação aos métodos tradicionais. No Brasil, nenhum estudo com esse objetivo foi detectado. **Objetivo:** Analisar os impactos clínicos e microbiológicos após implantação de método fenotípico automatizado em um serviço de microbiologia. **Métodos:** Realizamos estudo observacional e retrospectivo no laboratório de microbiologia referente a exame de hemocultura de pacientes da Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Os dados foram coletados de pacientes internados entre janeiro/2014 a dezembro/2015. Analisou-se o tempo de internação, número de terapias empíricas, óbitos e dados relacionados ao isolamento microbiológico. A amostra foi obtida por conveniência. Para a comparação entre os desfechos foram empregados os testes t de Student e Qui-quadrado de Pearson. O programa empregado foi o Stata release, versão 11, sendo considerados significativos valores de $p < 0,05$. **Resultados:** Foram avaliados 472 pacientes. Não houve redução na prescrição empírica de antimicrobianos (54,7% vs 45,3%; $p=0,33$), tempo de internação na UTI (14,5 dias vs 15,8 dias $p=0,78$) e na taxa de óbitos (54,4% vs 45,6%; $p=0,36$). Similarmente, o perfil de agentes isolados em ambos os métodos não parece ser discrepante, no entanto, houve um aumento de 44,7% no número de isolados microbianos (76 vs 110) com melhor caracterização dos mesmos. **Conclusão:** A automação do laboratório de microbiologia não impactou no tempo de internação, mortalidade na UTI e no número de terapias empíricas. No entanto, a identificação e o isolamento de microrganismos melhoraram.

Palavras-chave: automação; hemocultura; microbiologia; testes de sensibilidade microbiana.

Recebido em: 14/04/2018

Revisado em: 25/07/2018

Aprovado em: 20/12/2018

Autor correspondente: Cássio Alexandre Oliveira Rodrigues - Hospital Universitário Onofre Lopes - Avenida Nilo Peçanha 620, Petrópolis - CEP: 59012-300 - Natal (RN), Brasil - E-mail: cassioalexandr3@live.com

Conflito de interesses: nada a declarar

ABSTRACT

Introduction: Automation is increasingly used in microbiology laboratory, however, few studies assessed clinical outcomes compared to traditional methods. In Brazil, no studies with this objective were detected. **Objective:** To analyze the clinical and microbiological impacts after implantation of an automated phenotypic method in a microbiology service. **Methods:** Observational and retrospective study carried out on the microbiology laboratory involving blood culture test from intensive care unit (ICU) patients. Data were collected from hospitalized patients between January 2014 and December 2015. The length of hospitalization, number of empirical therapies, deaths and information related to microbiological isolation were analyzed. The sample was obtained by convenience. Pearson's Chi-square and Student's t-tests were used to compare outcomes. The program used was the Stata release, version 11, being considered significant values of $p < 0.05$. **Results:** A total of 472 patients were evaluated. There was no reduction in the empirical prescription of antimicrobials (54.7% vs 45.3%; $p=0.33$), ICU stay (14.5 days vs 15.8 days; $p=0.78$) and mortality (54.4% vs 45.6%; $p=0.36$). Similarly, profile of isolated agents in both methods did not appear to be discrepant, however, there was an increase of 44.7% in the number of microbial isolates (76 vs 110) and a better characterization of them. **Conclusion:** The microbiology laboratory automation did not modify the length of stay, ICU mortality and the number of empirical therapies. However, identification and isolation of microorganisms was improved.

Keywords: automation; blood culture; microbiology; microbial sensitivity tests.

INTRODUÇÃO

A Automação se destaca nos laboratórios de microbiologia, caracterizada por mudanças graduais na rotina laboratorial com substituição de técnicas manuais por dispositivos automatizados, abrangendo várias etapas do exame microbiológico.

A automação microbiológica minimiza erros¹, melhora a qualidade do exame microbiológico² reduz o tempo de incubação^{3,4} e diminui os custos hospitalares⁵. Também existem estudos demonstrando vantagens na relação custo-efetividade de métodos automatizados baseado em análise molecular frente ao método convencional⁶. No entanto, como desvantagens, pode-se destacar a limitação na não realização de alguns trabalhos da etapa pré-analítica e analítica do exame microbiológico⁷. Automação em microbiologia apresenta altos custos de manutenção, bem como riscos de contaminação em processadores de amostra e incubadora⁸.

Entre os métodos mais difundidos em laboratórios de microbiologia, o fenotípico é amplamente utilizado. Consiste na detecção de alterações colorimétricas e de turbidez nos substratos incubados, estas alterações refletem o metabolismo microbiano permitindo a identificação do patógeno e realização do antibiograma. Exemplos de sistemas comercializados é o VITEK® 2, descrito na literatura como ágil e que apresenta boa acurácia na identificação microbiológica e antibiograma⁹⁻¹¹.

Apesar das vantagens, poucos estudos avaliaram desfechos clínicos⁸. Até onde sabemos, alguns estudiosos compararam o impacto da automação em pacientes e observaram menor tempo de internação, redução de custos, melhor otimização terapêutica e redução da mortalidade^{5,12,13}. No entanto, apesar da importância do tema e considerando o custo da automação, os dados são escassos para auxiliar na tomada de decisão para sua implementação nos serviços. No Brasil, não detectamos estudos com esse objetivo.

Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar os impactos clínicos e microbiológicos após a implementação de um método fenotípico automatizado (VITEK® 2 compact) na identificação microbiológica de hemocultura de pacientes críticos.

MÉTODOS

Desenho do estudo e população

Estudo observacional e retrospectivo realizado no laboratório de microbiologia do Hospital Universitário Onofre Lopes (HUOL) sobre dados relacionados à unidade de terapia intensiva (UTI) da instituição, que é referência em urgência cardiológica e transplante renal no estado do Rio Grande do Norte. O hospital conta com 248 leitos, sendo 19 leitos destinados a UTI e um laboratório exclusivo para os serviços da microbiologia.

Foram incluídas informações sobre pacientes críticos com idade igual ou superior a 18 anos e com realização de hemocultura

durante período de internação na UTI. Foram excluídos os pacientes com dados incompletos no prontuário eletrônico e aqueles que foram reinternados na unidade, sendo considerados os dados apenas da primeira internação. Consideramos como paciente crítico todos aqueles que necessitaram de cuidados intensivos na UTI. Para efeitos de melhor compreensão do artigo, os termos VITEK® 2 compact e método fenotípico/método fenotípico automatizado serão utilizados como sinônimos.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUOL (CAAE nº 60372116.0.0000.5292).

Coleta de dados

Os dados foram coletados de pacientes internados na UTI entre janeiro de 2014 a dezembro de 2015. Foram colhidas as seguintes informações: idade em anos, sexo, uso de dispositivos invasivos e permanência em dias dos acessos venosos periféricos e centrais no dia de coleta da primeira hemocultura, diagnóstico de sepse e resultados das hemoculturas. Para os desfechos clínicos foram coletados o tempo de hospitalização em dias (na UTI), números de óbitos, número de prescrições empíricas de antimicrobianos (para os pacientes com hemocultura positiva), antimicrobianos prescritos por agente isolado e perfil de sensibilidade.

As informações foram obtidas diretamente do prontuário eletrônico e dos registros do serviço de microbiologia.

No período de janeiro de 2014 a fevereiro de 2015, os processamentos das amostras referentes à identificação microbiológica foram executados por meio de metodologia manual, sendo denominado de grupo manual (Gm). O grupo automatizado (Ga) contemplou dados de março a dezembro de 2015, período em que a identificação microbiológica passou a ser automatizada por meio do VITEK® 2 Compact (BioMérieux, France).

Isolados clínicos

Para ambos os grupos, Gm e Ga, os isolados clínicos foram recuperados das amostras de sangue positivas previamente incubadas no sistema automatizado BacT/Alert® 3D (Biomérieux, França) a 36,5°C, sistema que apenas detecta amostras positivas. Os frascos positivos foram submetidos à bacterioscopia (coloração de Gram) e a amostra foi semeada nos meios de cultura ágar sangue, MacConkey e manitol (incubados a 36,5°C durante 24 horas) para identificação dos microrganismos e posterior realização do teste de sensibilidade por método manual ou automatizado. Na metodologia manual foram realizados testes bioquímicos na identificação dos microrganismos: para os Gram-negativos foram realizados testes de fermentação de glicose e lactose, motilidade, produção de gás, sulfeto, indol, fenilalanina, lisina e ornitina descarboxilase, citrato, malonato e oxidase, enquanto que para os Gram-positivos foram feitos os testes da catalase, coagulase em tubo, optoquina, bacitracina,

bile esculina e PYR (Pyrrolidônio Arilamidase). Esses testes foram acrescidos dos testes de sensibilidade por disco de difusão aos antimicrobianos específicos realizados de acordo com a padronização Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). Na metodologia automatizada a amostra foi direcionada ao VITEK® 2 Compact: colônias isoladas dos meios de culturas foram selecionadas e coletadas com swab e dissolvidas em tubo contendo 3 mL de solução salina até completa homogeneização da suspensão. A turbidez da suspensão foi realizada através de *densitochek* (Biomérieux, França) respeitando o intervalo de 0,5 a 0,63 da escala de McFarland e levadas ao aparelho. Os microrganismos foram identificados fenotipicamente em gênero e espécie pelo método automatizado. A identificação fenotípica pelo método manual só foi possível para alguns microrganismos, já que este método muitas vezes não permite uma melhor caracterização de algumas espécies.

Análise estatística

A amostra foi obtida por conveniência, buscando períodos e número de amostras equivalentes entre os dois grupos. A análise estatística foi executada usando Stata release 11 (Stata Corporation, College Station, TX, USA). Na análise descritiva, as características dos pacientes, medicamentos e microrganismos isolados foram apresentadas em média e desvio padrão ou frequências relativas ou absolutas quando apropriado. Para a comparação entre os grupos Gm e Ga foi empregado o Qui-quadrado de Pearson para as proporções e Teste t de Student para as médias entre os grupos. No caso de distribuição não paramétrica identificada pelo teste de Shapiro-Wilk, foi empregado o teste U de Mann-Whitney para comparação entre as médias. Foram considerados significativos os valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Durante o período do estudo, 492 pacientes tinham exame de hemocultura, contudo apenas 472 atenderam aos critérios de inclusão (Tabela 1). Destes, 248 são do grupo manual (Gm) e 224 do grupo automatizado (Ga). A média de idade foi de $59,0 \pm 17,3$ anos com leve predominância do sexo feminino (53,4%). Os principais dispositivos invasivos foram os acessos venosos periféricos (58,6%) e centrais (51,4%), sendo o tempo médio de permanência até a coleta da hemocultura de $3,1 \pm 3,6$ dias. A sepse foi diagnosticada em 44,1% dos pacientes e 82,2% dos casos foram daqueles que apresentaram hemocultura positiva (30,9%). Destes, 72,6% tinham antimicrobiano prescrito de forma empírica. Os pacientes tiveram uma média de $15,3 \pm 16,2$ dias sob terapia intensiva e a mortalidade geral foi de 45,1%.

Na Tabela 1, as características da população entre os grupos Gm e Ga são descritas. Foi mais acentuado no Ga o uso de cateter de hemodiálise (36,1% vs 63,9% $p < 0,01$), dispositivo

para avaliação invasiva da pressão arterial (32,4% vs 67,7% $p = 0,01$) e maior tempo de acesso venoso ($2,7 \pm 3,0$ vs $3,6 \pm 4,2$ dias $p < 0,01$).

Não houve redução na prescrição empírica de antimicrobianos ($p = 0,33$), no tempo de internação na UTI ($p = 0,37$) e na taxa de óbitos ($p = 0,36$). Quanto à prescrição empírica, não houve mudanças significativas nos tratamentos habitualmente instituídos após a automação (Figura 1).

O perfil de agentes isolados em ambos os métodos não se mostrou discrepante, porém, houve aumento no número de isolados microbianos e melhor caracterização deles, com redução percentual de agentes identificados apenas pelo gênero e identificação de espécies que não eram detectadas (Tabela 2). Ao correlacionar os antimicrobianos mais comumente prescritos empiricamente aos microrganismos que foram posteriormente isolados com maior frequência, observamos que as espécies Gram-negativas possuíam maior perfil de resistência aos tratamentos habitualmente instituídos e as infecções fúngicas foram pouco consideradas na hora de prescrever a terapia empírica (Tabela 3), com apenas 10% das prescrições empíricas incluindo o fluconazol como tratamento empírico.

Tabela 1: Perfil clínico, infeccioso e desfechos clínicos do grupo submetido ao método manual (Gm) e automatizado (Ga) (n = 472).

Características	Total (n=472)	Gm (n = 248)	Ga (n = 224)	p*			
Idade (m, sd)	59,0	17,3	58,5	17,8	59,6	16,6	0,48
Sexo feminino (n, %)	252	53,4	144	57,1	108	42,9	0,09
Tipo de acessos (n, %)							
Periférico	276	58,6	150	54,4	126	45,7	0,38
Central	242	51,4	120	49,6	122	50,4	0,17
Cateter de Hemodiálise	72	15,3	26	36,1	46	63,9	<0,01
Dreno	62	13,2	33	53,3	29	46,8	0,92
Pressão Arterial Invasiva	34	7,2	11	32,4	23	67,7	0,01
Permanência do acesso em dias (m, sd)	3,1	3,6	2,7	3,0	3,6	4,2	<0,01
Diagnóstico de sepse (n, %)	208	44,1	112	53,8	96	46,2	0,62
Hemocultura positiva (n, %)	146	30,9	75	51,4	71	48,6	0,73
Permanência na UTI em dias (m, sd)	15,3	16,2	14,5	13,2	15,8	18,9	0,37
Prescrição empírica de ATM (n, %)	106	72,6	58	54,7	48	45,3	0,33
Óbitos (n, %)	213	45,1	141	54,4	118	45,6	0,36

n – número amostral; m – média; sd – desvio padrão; *Teste qui-quadrado de Pearson ou Test t de student. ATM: Antimicrobiano. A prescrição empírica de ATM foi avaliada apenas para os pacientes com hemocultura positiva.

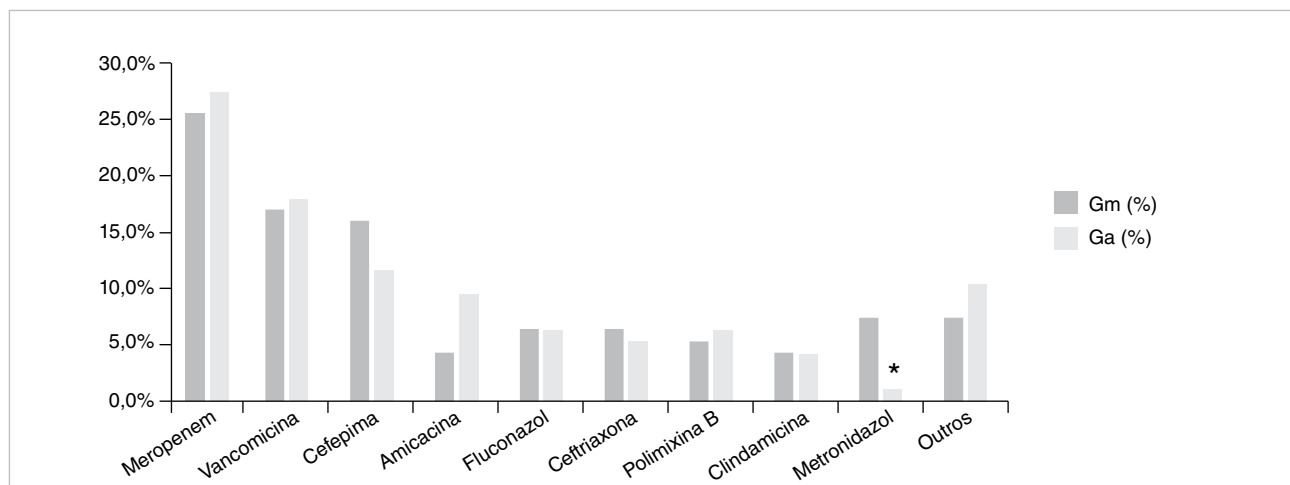


Figura 1: Prescrição empírica de antimicrobianos. * $p < 0,05$ (Teste qui-quadrado de Pearson).

Tabela 2: Agentes isolados pelo método manual (Gm) e método automatizado (Ga).

Agente etiológico	Gm (n; %)		Ga (n; %)		p^*
<i>Acinetobacter</i> spp.	10	13,1	4	3,7	0,03
<i>Acinetobacter baumannii</i> ^(a)	-	-	12	10,9	-
<i>Acinetobacter lwoffii</i> ^(a)	-	-	1	0,9	-
<i>Enterobacter</i> spp.	6	7,9	2	1,8	0,06
<i>Enterobacter cloacae</i> ^(a)	-	-	2	1,8	-
<i>Enterococcus</i> spp.	4	5,3	1	0,9	0,08
<i>Enterococcus faecalis</i> ^(a)	-	-	4	3,7	-
<i>Klebsiella</i> spp.	6	7,9	3	2,7	0,13
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ^(a)	-	-	3	2,7	-
Leveduras	4	5,3	6	5,5	0,96
<i>Candida albicans</i> ^(a)	-	-	3	2,7	-
<i>Candida glabrata</i> ^(a)	-	-	1	0,9	-
<i>Candida</i> spp. ^(a)	-	-	1	0,9	-
<i>Candida tropicalis</i> ^(a)	-	-	1	0,9	-
<i>Pseudomonas</i> spp.	5	6,6	4	3,7	0,38
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^(a)	-	-	3	2,7	-
<i>Staphylococcus</i> spp. coagulase negativa	20	26,3	26	23,6	0,75
<i>Staphylococcus capitis</i> ^(a)	-	-	2	1,8	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ^(a)	-	-	4	3,7	-
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> ^(a)	-	-	1	0,9	-
<i>Staphylococcus hominis</i> ^(a)	-	-	1	0,9	-
Outros	21 ^(b)	27,6	13 ^(c)	11,8	-
Agentes não identificados no Gm ^(d)	-	-	12	10,9	-
Total	76	100	110	100	-

n – número amostral; *Teste qui-quadrado de Pearson.

(a) Agentes que passaram a ter suas respectivas espécies identificadas somente após automação, (b) *Staphylococcus aureus* (8-10,5%); *Escherichia coli* (5-6,6%); *Proteus vulgaris* (3-4,0%); *Streptococcus* spp. (2-2,6%); *Streptococcus pneumoniae* (1-1,3%); *Proteus* spp. (1-1,3%); bacilo Gram-negativo não fermentador (1-1,3%). (c) *Staphylococcus aureus* (6-5,45%); *Escherichia coli* (4-3,63%); bacilo Gram-negativo não fermentador (3-2,72%). (d) *Serratia marcescens* (4-3,6%), *Burkholderia cepacia* (2-1,8%), *Achromobacter dentrificans* (1-0,9%), *Aeromonas hydrophila/caviae* (1-0,9%), *Citrobacter freundii* (1-0,9%), *Morganella morganii* (1-0,9%), *Raoultella ornithinolytica* (1-0,9%), *Stenotrophomonas maltophilia* (1-0,9%).

DISCUSSÃO

Observamos que o método fenotípico automatizado, apesar do maior número de isolados e melhor caracterização microbiológica, não diminuiu o número de prescrições empíricas, assim como não houve discrepâncias quanto ao tempo de internação, mortalidade e aos tratamentos empíricos habitualmente instituídos.

A automação no laboratório de microbiologia veio para melhorar aspectos do processo de trabalho e da assistência à saúde. Levando isso em consideração, a literatura relata melhor sensibilidade na identificação de amostras positivas e menor tempo de incubação¹⁴, melhor reprodutibilidade e qualidade no isolamento, reduzindo a variância e aumentando a recuperação de microrganismos em amostras biológicas². Outras vantagens implicam em melhor qualidade no rastreio, documentação e otimização do fluxo de trabalho¹ além de agilização no tempo de identificação microbiológica e resultados mais rápidos^{7,15,16}. Em relação aos benefícios diretos para o paciente, a automação reduziria erros e mortalidade, além de acarretar menor tempo de internação e custos^{1,5,8,12,16}. Contudo, dentre as vantagens destacadas, observamos algumas discrepâncias frente aos nossos dados.

Com um desenho de estudo similar, Huang *et al.*¹² comparou os desfechos clínicos em 501 pacientes com hemoculturas positivas. Os autores observaram um menor tempo de hospitalização, mortalidade e melhor otimização do uso de antimicrobianos após submeter a identificação microbiológica ao método automatizado. Da mesma forma, Perez *et al.*⁵ incluiu 219 pacientes com hemoculturas positivas para Gram-negativos aeróbios ou anaeróbios facultativo, destacando a otimização terapêutica, decréscimo no tempo de hospitalização e custo. Outro estudioso, Delpont *et al.*¹³, analisou dados de 396 pacientes com hemoculturas positivas e comparou o período de execução do método convencional de identificação microbiológica com o período após automação desse processo associado a criação de

um protocolo de identificação rápida, obtendo como resultados a redução no tempo de execução do exame microbiológico, adequação terapêutica mais ágil, menor tempo de permanência hospitalar e menor risco de mortalidade.

Metodologicamente, algumas diferenças em relação ao nosso estudo podem ser destacadas. Os autores investigaram pacientes hospitalizados com hemoculturas positivas. Em contraste, analisamos hemoculturas positivas e negativas. Como qualquer método diagnóstico, resultados negativos na avaliação microbiológica também direcionam a conduta clínica e o impacto nos custos. Nossos dados avaliaram o processo de automação considerando a totalidade dos pacientes atendidos, permitindo uma comparação mais ampla. Outra diferença foi a detecção de patógenos direto das amostras clínicas.

No entanto, uma importante diferença observada é quanto ao método automatizado empregado na identificação microbiológica por Huang *et al.*¹², Perez *et al.*⁵ e Delport *et al.*¹³: o *Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight* (MALDI-TOF). Esta tecnologia é tecnicamente superior ao VITEK® 2 compact^{17,18}. O MALDI-TOF identifica microrganismos rapidamente enquanto o método fenotípico precisa de horas a mais para a identificação. Uma maior agilidade provavelmente permitiria melhores desfechos clínicos^{19,20}. Logo, os benefícios da automação na microbiologia estão estreitamente relacionados ao tipo de método empregado. Nosso estudo compara um método fenotípico automatizado

com o método manual na identificação de microrganismos em hemoculturas, mas, diferente dos autores citados^{5,12,13}, não detectamos diferença nos desfechos mortalidade e tempo de internação.

Após a automação, no entanto, observamos uma melhor caracterização do perfil microbiológico (Tabela 3). A automação melhora a qualidade do processo e aumenta a recuperação de microrganismos em amostras biológicas². No método manual, a identificação era restrita ao gênero (por exemplo, *Acinetobacter spp.*, *Enterobacter spp.* e *Enterococcus spp.*). Em relação aos fungos, a identificação era mais limitada, havendo apenas a caracterização como leveduras. O método fenotípico automatizado permitiu melhor identificação microbiológica. Por exemplo, amostras de *Acinetobacter spp.* passaram a ser identificadas como *A. baumannii* e *A. lowffii*. Da mesma forma, espécies de fungos (*Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Candida tropicalis*) foram isoladas. Também foi possível observar um aumento no número de bactérias e fungos isolados após a automação e espécies que não eram detectadas passaram a ser identificadas. Quanto a variabilidade de microrganismos isolados em nosso estudo, não se mostrou muito diferente de outros trabalhos, diferindo apenas quanto a incidência dos diferentes agentes nos serviços^{3,12,19}.

Uma melhor caracterização dos microrganismos influencia a seleção da terapia antimicrobiana. Por exemplo, diferentes espécies de *Candida spp.* possuem diferentes sensibilidades ao tratamento com equinocandinas²¹, assim como espécies do gênero

Tabela 3: Descrição dos microrganismos mais incidentes, principais antimicrobianos prescritos empiricamente por agente isolado e perfil de sensibilidade.

Agente isolado e	ATM	Sensibilidade		p*
		Gm (n; %)	Ga (n; %)	
<i>Acinetobacter spp.</i>	Amicacina	12; 50,0	21; 71,4	0,55
	Cefepima	12; 25,0	21; 14,3	0,16
	Meropenem	12; 25,0	20; 15,0	0,20
Leveduras/ <i>Candida spp.</i>	Fluconazol	**	6; 100,0	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	Clindamicina	9; 55,5	9; 44,4	0,64
	Meropenem	NT	NT	-
	Vancomicina	9; 100,0	9; 100,0	>0,99
<i>Klebsiella spp.</i>	Meropenem	6; 50,0	6; 80,0	0,58
	Polimixina B	6; 100,0	6; 100,0	>0,99
<i>Pseudomonas spp.</i>	Amicacina	6; 66,6	7; 85,7	0,71
	Cefepima	6; 66,6	7; 57,1	0,85
	Meropenem	6; 66,6	8; 50,0	0,67
<i>Enterobacter spp.</i>	Cefepima	5; 80,0	4; 25,0	0,14
	Ceftriaxona	6; 83,3	4; 25,0	0,11
	Meropenem	6; 100,0	3; 100,0	>0,99
<i>Enterococcus spp.</i>	Amicina	6; 83,3	NT	-
	Meropenem	6; 100,0	NT	-
	Vancomicina	4; 100,0	6; 100,0	>0,99

NT – Não testado; n – número de amostras testadas; *Teste qui-quadrado de Pearson.

**Os testes de sensibilidades para isolados fúngicos só passaram a ser realizados após automação.

Os *Staphylococcus spp.* coagulase negativa representaram 29,03% do total, mas não foram incluídos nesta tabela por ter representado contaminação em mais de 90% das amostras. Os 17,73% restantes representam os demais microrganismos isolados que não foram inclusos devido ao baixo número de isolados clínicos (Tabela 2).

Enterococcus spp. possui variabilidade na resposta terapêutica à vancomicina²². Em pacientes críticos, a escolha apropriada de antimicrobianos resulta em melhores desfechos clínicos^{23,24} e menor ocorrência de resistência microbiana.

Múltiplos fatores são relacionados à prescrição de antimicrobianos: o agente isolado, sensibilidade bacteriana, a topografia da infecção, aspectos farmacocinéticos e características intrínsecas do paciente, entre outros. Quanto aos fatores relacionados à prescrição empírica, pode-se enfatizar a gravidade clínica do paciente, caso em que o menor tempo para início da terapia antimicrobiana é primordial, e o conhecimento do perfil infeccioso da instituição. Este último é essencial. Neste estudo foi observado que as infecções fúngicas não ganharam a mesma relevância nas hipóteses diagnósticas, apesar de terem sido uma das principais causas de infecção da corrente sanguínea. Neste grupo, apenas 10% das prescrições incluíram o fluconazol de forma empírica e a taxa de mortalidade superou os 80%. Outros antimicrobianos utilizados de forma empírica quando o isolado foi à levedura ou *Candida spp.* foram: meropenem e vancomicina (25% cada), cefepima (15%), polimixina B (10%) e anfotericina B, metronidazol e piperacilina-tazobactam (5% cada). Quanto ao perfil de sensibilidade, as infecções por Gram-negativos foram mais resistentes aos tratamentos empíricos frente às infecções por Gram-positivos, outro fator que impacta na qualidade da assistência e na escolha do tratamento empírico inicial.

Ajustes na terapia antimicrobiana após terapia empírica inicial pode implicar em melhores desfechos^{25,26}. Huang *et al.*¹², Perez *et al.*⁵ e Delpont *et al.*¹³ observaram que a redução no tempo de identificação dos microrganismos resultou em ajustes rápidos no tratamento antimicrobiano, contudo, como destacado, a metodologia MALDI-TOF permite análises mais ágeis frente ao método fenotípico automatizado. Portanto, apesar do menor tempo de execução na identificação microbiológica proporcionado pelo VITEK® 2 compact frente ao método manual, ela ainda não é capaz de fornecer a agilidade necessária para ajustes no tratamento antimicrobianos tão rápidos quanto o MALDI-TOF ou, em nosso caso, para reduzir o número de tratamento empírico.

Quanto a este tipo de tratamento, um fator importante a ser considerado é a sepsé, prevalente em nossa amostra. As novas diretrizes indicam o início da terapia empírica de amplo espectro em até uma hora após o diagnóstico²⁷. Considerando o que fora falado no

parágrafo anterior, essa variável impacta diretamente no número de prescrições empíricas de antimicrobianos em nosso estudo.

Esse estudo apresenta algumas limitações. Os dados foram coletados em uma única unidade de uma única instituição, diminuindo a capacidade de generalização dos achados. A coleta retrospectiva pode se associar a informações incompletas ou incorretas. Também não avaliamos se as terapias antimicrobianas foram adequadas após liberação dos resultados de exames microbiológicos, conforme outros estudos fizeram, e por isso não podemos avaliar se esse fator poderia estar relacionado a um melhor desfecho clínico em nossa análise. Por fim, não avaliamos o tempo de execução do exame microbiológico antes e após a automação.

As diferenças observadas entre os grupos quanto ao uso de cateter de hemodiálise, dispositivo para avaliação invasiva da pressão arterial (PAI) e tempo de permanência dos acessos, foram mudanças relacionadas ao serviço hospitalar e não ao processo de automação, ou seja, não afetaram os resultados do estudo.

Quanto à nossa metodologia, destacamos a análise de populações equivalentes antes e depois da automação, além de um período considerável de coleta de dados e número de participantes, embora com pouco número de agentes isolados (186 microrganismos).

É importante destacar que a automação no laboratório de microbiologia tem múltiplos benefícios. Embora não tenhamos observado vantagens em relação aos desfechos clínicos, a literatura estabelece a automação como relacionada à otimização do fluxo de trabalho e na prática clínica observamos vantagens já destacadas na literatura, como exames mais ágeis em relação ao método manual, demonstrando sua importância para o serviço e a necessidade contínua de investimentos.

Em conclusão, a automação do laboratório de microbiologia não trouxe mudanças significativas nos tratamentos empíricos habitualmente instituídos após a automação, não reduziu o número de tratamentos empíricos, tempo de internação e mortalidade na UTI. No entanto, a identificação e o isolamento de microrganismos melhoraram.

AGRADECIMENTOS

Ao Ministério da Educação pelo financiamento dos Programas de Residências Multiprofissionais e à equipe do serviço de microbiologia do HUOL/UFRN pelo apoio na execução do projeto.

REFERÊNCIAS

- Ledeboer NA. Automation advances microbiology to operational excellence. *MLO Med Lab Obs.* 2016;48(5):8-11.
- Froment P, Marchandin H, Vande Perre P, Lamy B. Automated versus manual sample inoculations in routine clinical microbiology: a performance evaluation of the fully automated inoqula instrument. *J Clin Microbiol.* 2014;52(3):796-802. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.02341-13>
- Fontanals D, Sanfeliu L, Pons L, Mariscal D, Torra M. Evaluation of the BacT/Alert and VITAL blood culture systems for the diagnosis of bacteremia. *Clin Microbiol Infect.* 1998;4(2):88-93. <https://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.1998.tb00361.x>
- Jacobs MR, Mazzulli T, Hazen KC, Good CE, Abdelhamed AM, Lo P, et al. Multicenter clinical evaluation of BacT/Alert Virtuo blood culture system. *J Clin Microbiol.* 2017;55(8):2413-21. <https://dx.doi.org/10.1128/JCM.00307-17>

5. Perez KK, Olsen RJ, Musick WL, Cernoch PL, Davis JR, Land GA, et al. Integrating rapid pathogen identification and antimicrobial stewardship significantly decreases hospital costs. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137(9):1247-54. <https://dx.doi.org/10.5858/arpa.2012-0651-OA>
6. Pliakos EE, Andreatos N, Shehadeh F, Ziakas PD, Mylonakis E. The costeffectiveness of rapid diagnostic testing for the diagnosis of bloodstream infections with or without Antimicrobial Stewardship. *Clin Microbiol Rev*. 2018;31(3):e00095-17. <https://dx.doi.org/10.1128/CMR.00095-17>
7. Dauwalder O, Landrieve L, Laurent F, Montclos M, Vandenesch F, Lina G. Does bacteriology laboratory automation reduce time to results and increase quality management? *Clin Microbiol Infect*. 2016;22(3):236-43. <https://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2015.10.037>
8. Croxatto A, Prod'hom G, Faverion F, Rochais Y, Greub G. Laboratory automation in clinical bacteriology: what system to choose? *Clin Microbiol Infect*. 2016;22(3):217-35. <https://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2015.09.030>
9. Ling TKW, Liu ZK, Cheng AFB. Evaluation of the VITEK 2 system for rapid direct identification and susceptibility testing of Gram-negative bacilli from positive blood cultures. *J Clin Microbiol*. 2003;41(10):4705-7. <https://dx.doi.org/10.1128/JCM.41.10.4705-4707.2003>
10. Nimer NA, Al-Saa'da RJ, Abuelaish O. Accuracy of the VITEK(r)2 system for a rapid and direct identification and susceptibility testing of Gram-negative rods and Gram-positive cocci in blood samples. *East Mediterr Health J*. 2016;22(3):193-200.
11. Mitchell SL, Alby K. Performance of microbial identification by MALDI-TOF MS and susceptibility testing by VITEK 2 from positive blood cultures after minimal incubation on solid media. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017;36(11):2201-6. <https://dx.doi.org/10.1007/s10096-017-3046-0>
12. Huang AM, Newton D, Kunapuli A, Gandhi TN, Washer LL, Isip J, et al. Impact of rapid organism identification via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight combined with antimicrobial stewardship team intervention in adult patients with bacteremia and candidemia. *Clin Infect Dis*. 2013;57(9):1237-45. <https://dx.doi.org/10.1093/cid/cit498>
13. Delport JA, Strikwerda A, Armstrong A, Schaus D, John M. MALDI-ToF short incubation identification from blood cultures is associated with reduced length of hospitalization and decrease in bacteremia associated mortality. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017;36(7):1181-6. <https://dx.doi.org/10.1007/s10096-017-2906-y>
14. Cockerill FR, Wilson JW, Vetter EA, Goodman KM, Torgerson CA, Harmsen WS, et al. Optimal testing parameters for blood cultures. *Clin Infect Dis*. 2004;38(12):1724-30. <https://dx.doi.org/10.1086/421087>
15. Mutters NT, Hodiament CJ, Jong MD, Overmeijer HP, van den Boogaard M, Visser CE. Performance of kiestra total laboratory automation combined with MS in clinical microbiology practice. *Ann Lab Med*. 2014;34(2):111-7. <https://dx.doi.org/10.3343/alm.2014.34.2.111>
16. Croxatto A, Dijkstra K, Prod'hom G, Greub G. Comparison of inoculation with the InoquaA and WASP automated systems with manual inoculation. *J Clin Microbiol*. 2015;53(7):2298-307. <https://dx.doi.org/10.1128/JCM.03076-14>
17. Guo L, Ye L, Zhao Q, Ma Y, Yang J, Luo Y. Comparative study of MALDI-TOF MS and VITEK 2 in bacteria identification. *J Thorac Dis*. 2014;6(5):534-8. <https://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2072-1439.2014.02.18>
18. Febbraro F, Rodio DM, Puddioni G, Antonelli G, Pietropaolo V, Trancassini M. MALDI-TOF MS Versus VITEK(r) 2: Comparison of systems for the identification of microorganisms responsible for bacteremia. *Curr Microbiol*. 2016;73(6):843-50. <https://dx.doi.org/10.1007/s00284-016-1121-x>
19. Doern GV, Vautour RV, Gaudet M, Levy B. Clinical impact of rapid in vitro susceptibility testing and bacterial identification. *J Clin Microbiol*. 1994;32(7):1757-62.
20. Maurer FP, Christner M, Hentschke M, Rohde H. Advances in rapid identification and susceptibility testing of bacteria in the clinical microbiology laboratory: implications for patient care and antimicrobial stewardship programs. *Infect Dis Rep*. 2017;9(1):6839. <https://dx.doi.org/10.4081/idr.2017.6839>
21. Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, Kroeger J, Messer SA, Tendolkar S, et al. Wild-Type MIC Distributions and epidemiological cutoff values for the echinocandins and *Candida* spp. *J Clin Microbiol*. 2010;48(1):52-6. <https://dx.doi.org/10.1128/JCM.01590-09>
22. Fernandes SC, Dhanashree B. Drug resistance & virulence determinants in clinical isolates of *Enterococcus* species. *Indian J Med Res*. 2013;137(5):981-5.
23. Harbarth S, Garbino J, Pugin J, Romand JA, Lew D, Pittet D. Inappropriate initial antimicrobial therapy and its effect on survival in a clinical trial of immunomodulating therapy for severe sepsis. *Am J Med*. 2003;115(7):529-35. <https://dx.doi.org/10.1016/j.amjmed.2003.07.005>
24. Micek ST, Lloyd AE, Ritchie DJ, Reichley RM, Fraser VJ, Kollef MH. *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection: importance of appropriate initial antimicrobial treatment. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(4):1306-11. <https://dx.doi.org/10.1128/AAC.49.4.1306-1311.2005>
25. Höffken G, Niederman MS. Nosocomial pneumonia: the importance of a de-escalating strategy for antibiotic treatment of pneumonia in the ICU. *Chest*. 2002;112(6):2183-96. <https://dx.doi.org/10.1378/chest.122.6.2183>
26. Soo Hoo GW, Wen YE, Nguyen TV, Goetz MB. Impact of clinical guidelines in the management of severe hospital-acquired pneumonia. *Chest*. 2005;128(4):2778-87. <https://dx.doi.org/10.1378/chest.128.4.2778>
27. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016. *Intensive Care Med*. 2017;43(3):304-77. <https://dx.doi.org/10.1007/s00134-017-4683-6>

