

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

CURSO DE BIOMEDICINA NOTURNO

Júlia Brum Abib

**VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO ALTERNATIVO PARA ACELERAR A ROTINA
LABORATORIAL DE IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA E TESTE DE SENSIBILIDADE
AOS ANTIMICROBIANOS EM HEMOCULTURAS POSITIVAS**

Porto Alegre

2026

Júlia Brum Abib

**VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO ALTERNATIVO PARA ACELERAR A ROTINA
LABORATORIAL DE IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA E TESTE DE SENSIBILIDADE
AOS ANTIMICROBIANOS EM HEMOCULTURAS POSITIVAS**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação apresentado ao Departamento de Biomedicina Noturno da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Karine Rigon Zimmer

Coorientadora: Dr.^a. Mariana Preussler Mott

Porto Alegre

2026

<i>Júlia Brum Abib</i>	<i>Graduanda em Biomedicina.</i>	<i>Aluna de Graduação em Biomedicina Noturno da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)</i>	<i>Responsável pela coleta de dados, análise e organização do material. Assinar documentos de encaminhamento ao CEP. Escrita do artigo científico.</i>
<i>Mariana Preussler Mott</i>	<i>Graduada em Biomedicina pela Universidade Franciscana, Mestrado e Doutorado em Ciências da Saúde pela Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA).</i>	<i>Contratada da Unidade de Microbiologia do Serviço de Diagnóstico Laboratorial (SDLab) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).</i>	<i>Realizar consultas de pesquisa. Assinar documentos de encaminhamento ao CEP. Supervisão da escrita e correção do artigo científico.</i>
<i>Karine Rigon Zimmer</i>	<i>Graduada em Farmácia com ênfase em Análises Clínicas (PUCRS), Mestrado em Ciências e Saúde (UPJV, Amiens, França), Doutorado em Biologia Celular (UFRGS), Pós-Doutorado em Ciências Farmacêuticas (UFRGS).</i>	<i>Professor associado nível 1 na UFCSPA (Departamento de Ciências Básicas da Saúde) e membro do Programa de Pós-Graduação em Biociências (PPGBio) no qual participa da Comissão Coordenadora. Líder do Grupo de Pesquisa Biofilmes e Modelos Alternativos (BioModal)</i>	<i>Realizar consultas de pesquisa. Assinar documentos de encaminhamento ao CEP. Supervisão da escrita e correção do artigo científico.</i>
<i>Larissa Lutz</i>	<i>Graduada em Farmácia com ênfase em Análises Clínicas. Mestrado,</i>	<i>Contratada da Unidade de Microbiologia do Serviço de</i>	<i>Realizar consultas de pesquisa. Supervisão da escrita e correção do</i>

	<i>doutorado e pós-doutorado em Medicina: Ciências Médicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)</i>	<i>Diagnóstico Laboratorial (SDLab) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)</i>	<i>artigo científico.</i>
<i>Lívia Medeiros</i>	<i>Graduada em Farmácia pela Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFRGS)</i>	<i>Residente Nível 2 da Unidade de Microbiologia do Serviço de Diagnóstico Laboratorial (SDLab) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).</i>	<i>Responsável pela coleta de dados, análise e organização do material.</i>

RESUMO

A sepse é uma síndrome clínica caracterizada por uma resposta inflamatória sistêmica grave em resposta a uma infecção, frequentemente associada à bacteremia, estando os bacilos gram-negativos (BGN) entre os principais agentes causadores de septicemia. Métodos convencionais de diagnóstico microbiológico demandam de 48 a 72 horas para liberação do resultado do laudo final, o que pode comprometer a eficácia da conduta terapêutica. Assim, o presente estudo propõe a validação de uma metodologia alternativa para identificação do patógeno e realização de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos (TSA) com objetivo de reduzir o tempo de resposta laboratorial na Unidade de Microbiologia do Serviço de Diagnóstico Laboratorial do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. A técnica consiste na realização de subcultura em meios de cultura sólidos a partir de frascos de hemocultura positivos com presença de BGN, com uma incubação breve de 4 a 6 horas, seguida de identificação bacteriana por *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization - Time-of-Flight Mass Spectrometry* (MALDI TOF MS) e execução do TSA por disco-difusão, segundo os pontos de corte estabelecidos pelo BrCAST. Analisaram-se 100 hemoculturas positivas, das quais 99 foram identificadas no MALDI TOF MS a partir do subcutivo breve. 53 isolados foram selecionadas e comparadas com os resultados do TSA convencional. Foi verificada a análise de *Categorical Agreement* (CA), *Major Error* (ME), *Very Major Error* (VME) e *Minor Error* (mE).

Palavras-chave: septicemia; BGN; incubação breve; TSA.

ABSTRACT

Sepsis is a clinical syndrome characterized by a severe systemic inflammatory response to an infection, frequently associated with bacteremia, with gram-negative bacilli (GNB) being among the main causes of septicemia. Conventional microbiological diagnostic methods require 48 to 72 hours to release the final report, which can compromise the effectiveness of therapeutic management. The present study proposes the validation of an alternative methodology for pathogen identification and Antimicrobial Susceptibility Testing (AST) aiming to reduce the laboratory turnaround time at the Microbiology Unit of the Laboratory Diagnosis Service of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre. The technique consists of performing subcultures on solid culture media from positive blood culture bottles showing the presence of GNB, with a short incubation of 4 to 6 hours, followed by bacterial identification using Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization - Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) and AST execution by disk diffusion, according to the breakpoints established by BrCAST. A total of 100 positive blood cultures were analyzed, 99 of which were identified by MALDI-TOF MS from the short subculture. 53 isolates were selected and compared with conventional AST results. Categorical Agreement (CA), Major Error (ME), Very Major Error (VME), and Minor Error (mE) analyses were performed.

Keywords: sepsis; GNB; short incubation; AST.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AIT – Área de Incerteza Técnica

BrCAST – *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

CA – *Categorical Agreement*

CIM – Concentração Inibitória Mínima

CLSI – *The Clinical and Laboratory Standards Institute*

CRE – *Carbapenem Resistant Enterobacterales*

CZA – Ceftazidima/avibactam

ESBL – *Extended-Spectrum Beta-Lactamases*

EUCAST – *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

I – Sensível, aumentando exposição

KPC – *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase

MALDI-TOF MS – *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry*

ME – *Major Error*

mE – *Minor Error*

NDM – *New Delhi* Metallo-Beta-Lactamase

R – Resistente

RAST – *Rapid Antimicrobial Susceptibility Testing*

S – Sensível, dose padrão

TSA – Teste de Suscetibilidade aos Antimicrobianos

UTI – Unidade de Tratamento Intensivo

VME – *Very Major Error*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 CONTEXTUALIZAÇÃO DA SEPTICEMIA.....	14
2.2 QUADRO EPIDEMIOLÓGICO DA SEPSE NO BRASIL E REGIÃO SUL.....	16
2.3 PRINCIPAIS MICRORGANISMOS CAUSADORES DA SEPSE.....	17
2.4 BACILOS GRAM-NEGATIVOS PRODUTORES DE CARBAPENEMASES.....	18
2.5 METODOLOGIAS AUTOMATIZADAS PARA DETECTAR HEMOCULTURAS POSITIVAS.....	19
2.6 MÉTODO CONVENCIONAL PARA REALIZAR O DIAGNÓSTICO DE BACTEREMIA NO HCPA.....	19
2.7 MÉTODOS ALTERNATIVOS E MAIS RÁPIDOS PARA REALIZAR O DIAGNÓSTICO DA BACTEREMIA.....	20
2.7.1 TESTE RÁPIDO DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS (RAST).....	20
2.8 VALIDAÇÃO DE NOVAS METODOLOGIAS.....	21
3 OBJETIVOS.....	22
3.1 OBJETIVOS GERAIS.....	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
4.1 DELINEAMENTO.....	23
4.2 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO.....	23
4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	23
4.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	23
4.5 METODOLOGIA.....	24
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	26
4.7 ASPECTOS ÉTICOS.....	26
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

1 INTRODUÇÃO

Mundialmente, a sepse é uma importante causa de morbimortalidade populacional (Nieman *et al.*, 2016; Rudd *et al.*, 2020; Fleischmann-Struzek *et al.*, 2023). Apresenta como característica uma resposta inflamatória intensa decorrente da presença de microrganismos agressores no organismo humano, os quais desencadeiam uma cascata de defesa, em que mediadores químicos disseminam a inflamação por meio da corrente sanguínea (Singer *et al.*, 2016; Dondorp *et al.*, 2019). Quando o microrganismo que desencadeia a sepse é uma bactéria, têm-se a bacteremia (Phugoen *et al.*, 2021).

No Brasil, a prevalência de sepse/choque séptico nas Unidades de Tratamento Intensivo (UTI) foi de 25% a 30% em 2015, incluindo pacientes presentes ou admitidos nas UTIs brasileiras (Lobo *et al.*, 2019). Em 2025, a sepse apresentou uma taxa de letalidade de 53,2% entre 1.340 pacientes internados nas UTIs brasileiras (ILAS, 2025). Esse índice elevado reflete a gravidade da condição, bem como as dificuldades do diagnóstico precoce e do manejo adequado da sepse (Almeida *et al.*, 2022; Machado *et al.*, 2023). Entretanto, um dos maiores desafios diagnósticos é identificar o agente etiológico no menor tempo possível para direcionar o tratamento adequado e determinar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) do mesmo (ANVISA, 2020).

Na rotina laboratorial convencional, o intervalo de tempo desde a sinalização da hemocultura positiva até a liberação do resultado é de aproximadamente 48 a 72 horas (ANVISA, 2020). Em casos de septicemia, esse tempo é considerado longo e pode comprometer a evolução do quadro clínico do paciente e, conseqüentemente, evoluir à óbito (Barros *et al.*, 2016; Phungoen *et al.*, 2021). Dessa forma, metodologias alternativas devem ser validadas com o objetivo de minimizar o tempo de identificação bacteriana e do TSA, nestes casos, em que há um quadro clínico muito crítico, principalmente nos laboratórios de microbiologia no âmbito hospitalar.

A prevalência de sepse causada por bacilos gram-negativo (BGN) é bastante relevante em UTIs, nas quais esses microrganismos são responsáveis por uma

proporção significativa dos casos de bacteremia (Mota *et al.*, 2018; Carvalho *et al.*, 2021). No Brasil, os BGN representam 21% dos casos de sepse, majoritariamente em pacientes com maior gravidade da doença (Carvalho *et al.*, 2021). Os principais BGN associados à sepse são *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* e *Serratia marcescens* (Mota *et al.*, 2018; Carvalho *et al.*, 2021; Leal *et al.*, 2021).

A importância clínica dos BGN como agentes causadores de bacteremia, especialmente em ambientes hospitalares e em pacientes mais críticos, eleva o índice de mortalidade associado à sepse, principalmente em pacientes internados em UTI (ILAS, 2026), mostrando a necessidade de intervenções diagnósticas mais rápidas. A identificação precoce do agente etiológico é um fator determinante para a escolha adequada da terapia antimicrobiana empírica, o que influencia diretamente no prognóstico e na sobrevivência do paciente (Evans *et al.*, 2021). No entanto, os métodos convencionais de diagnóstico microbiológico, especialmente em casos de bacteremia, apresentam um grande tempo de resposta, entre 48 a 72 horas (ANVISA, 2020), o que, no contexto da sepse, pode comprometer gravemente a evolução clínica do paciente.

Com a implementação da espectrometria de massas MALDI-TOF MS (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry*) na rotina laboratorial, foi possível realizar a identificação bacteriana precoce diretamente do frasco de hemocultura positivo (Lopes *et al.*, 2025), o que contribuiu para diminuir o tempo de identificação do patógeno, otimizando a terapia antimicrobiana e reduzindo a taxa de mortalidade (Martiny *et al.*, 2013; Campos *et al.*, 2022). Contudo, existem limitações para esse método de identificação, já que bactérias gram-positivas têm taxas de identificação significativamente menores do que as gram-negativas (Martiny *et al.*, 2013). Além disso, há dificuldades quando ocorrem infecções polimicrobianas (Lopes *et al.*, 2025), além da obtenção de escores confirmatórios não satisfatórios, o quais podem estar relacionados a necessidade de etapas de extração proteica manual devido por exemplo, a espessura da parede celular das bactérias gram-positivas e leveduras (Martiny *et al.*, 2013; Lopes *et al.*, 2025). No caso da Unidade de Microbiologia do Serviço de Diagnóstico Laboratorial (SDLab) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), local onde o presente estudo foi realizado, na maioria dos casos não era

possível realizar a identificação adequada da bactéria a partir de hemoculturas positivas.

Com o intuito de diminuir o tempo de liberação do resultado do TSA, o EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), em 2020, padronizou o RAST (*Rapid Antimicrobial Susceptibility Testing*), uma técnica de TSA realizada diretamente do frasco de hemocultura positivo, por metodologia de disco-difusão, entretanto, sua padronização é restrita a apenas quatro espécies de BGN: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*. Essa limitação compromete a aplicabilidade do método em contextos nos quais se observa uma diversidade bacteriana significativa, no qual a SDLab do HCPA está inserida. Além disso, nem todos os antimicrobianos atualmente utilizados pelo corpo clínico possuem padronização no método RAST, o que pode dificultar a tomada de decisões terapêuticas rápidas e eficazes.

Nesse contexto, o desenvolvimento e validação de metodologias alternativas, capazes de fornecer resultados em tempo reduzido, representam uma necessidade urgente nos laboratórios de microbiologia clínica. Portanto, o presente trabalho justifica-se pela relevância clínica e epidemiológica da sepse, bem como pelas limitações dos métodos diagnósticos tradicionais. Assim, validar uma metodologia que reduza o tempo de identificação bacteriana e de obtenção do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos é uma estratégia indispensável para otimizar o cuidado ao paciente séptico, reduzir o uso empírico de antimicrobianos, promover um manejo mais racional e eficaz das infecções graves no ambiente hospitalar, e diminuir a taxa de mortalidade entre os pacientes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

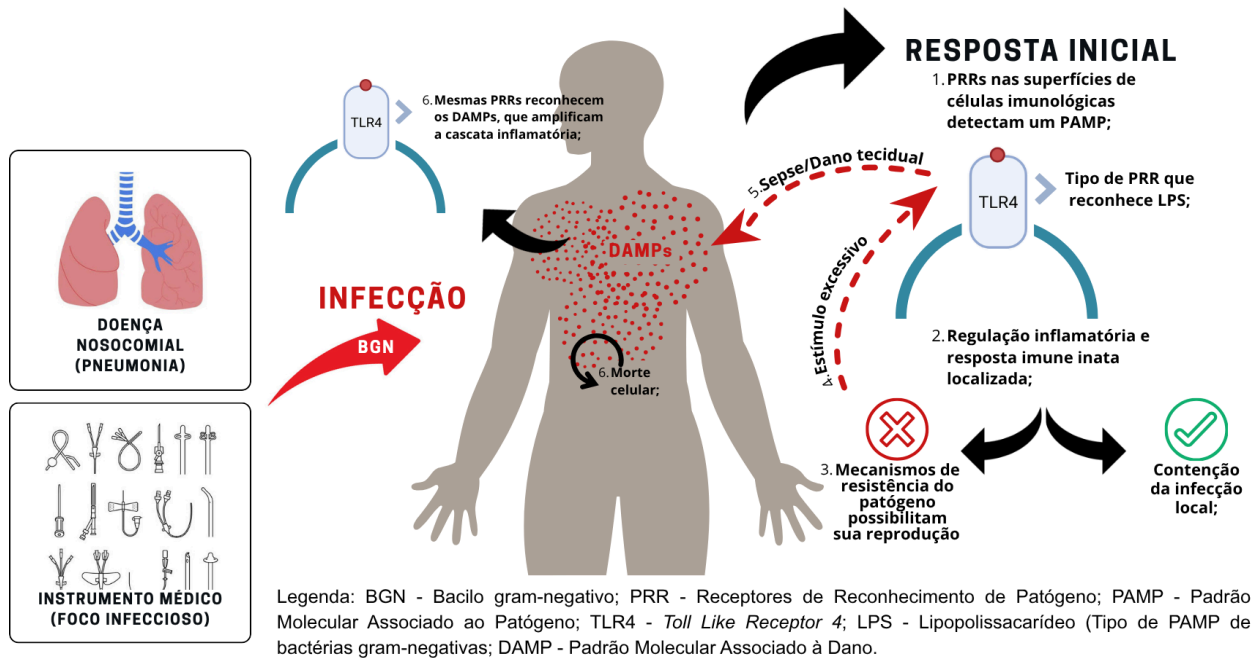
2.1 CONTEXTUALIZAÇÃO DA SEPTICEMIA

A sepse é uma complicação grave em resposta a uma infecção que causa dano funcional aos órgãos do corpo (Evans *et al.*, 2021). A condição manifesta-se clinicamente através de sinais inflamatórios e infecciosos iniciais, como febre e taquicardia, que evoluem para disfunções generalizadas, como hipotensão, alteração do estado mental e falência respiratória (Fleischmann-Struzek *et al.*, 2023). Para

reconhecer esse quadro de forma rápida, a prática clínica adota variáveis e ferramentas de triagem, que incluem os critérios da Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS), sinais vitais e escores prognósticos como o *quick Sequential Organ Failure Assessment* (qSOFA), o *National Early Warning Score* (NEWS) e o *Modified Early Warning Score* (MEWS) (Evans *et al.*, 2021).

Para que o microrganismo desencadeador da sepse alcance a corrente sanguínea, há a interação de padrões moleculares associados ao patógeno (PAMPs) com receptores de reconhecimento (PRRs) nas células do hospedeiro, tais como Receptores do tipo *Toll* (TLRs), receptores do tipo domínio de oligomerização de ligação de nucleotídeos (NLRs), receptores de lectina do tipo C (CLRs), receptores do tipo gene induzível por ácido retinóico I (RLRs) e sensores de Ácido Ribonucleico (RNA) e Ácido Desoxirribonucleico (DNA) citosólicos. Essa interação gera uma resposta inflamatória intensa e inicialmente localizada (Salomão *et al.*, 2019; Wiersinga, 2022). A falha em conter essa reação local leva à sua disseminação sistêmica, os PRRs deixam de reconhecer apenas os PAMPs, e passam a reconhecer também os padrões moleculares associados a danos (DAMPs), os quais estão envolvidos em um ciclo de lesão celular, inflamação exacerbada e contínua (Wiersinga, 2022). Desta forma, há uma liberação descontrolada de mediadores pró-inflamatórios, como: TNF- α (Fator de Necrose Tumoral Alfa), IL-1 (Interleucina 1) e IL-6 (Interleucina 6) que ativam de forma generalizada a cascata inflamatória (Salomão *et al.*, 2019). Essa hiperinflamação resulta em vasodilatação profunda, aumento da permeabilidade vascular com extravasamento de fluido para o interstício e ativação desregulada da cascata de coagulação (Salomão *et al.*, 2019). Em seguida, ocorre a formação de microtrombos, que obstruem a microcirculação, prejudicando a oxigenação dos tecidos e causando a disfunção de múltiplos órgãos (Salomão *et al.*, 2019). A fase hiperinflamatória coexiste com mecanismos de imunossupressão, o que torna o paciente vulnerável a infecções secundárias (Salomão *et al.*, 2019) (Figura 1).

Figura 1. Representação do desenvolvimento da sepse no organismo humano.



Fonte: Imagem adaptada de Wiersinga, 2022.

A gravidade da sepse está relacionada com a sua rápida e imprevisível evolução (Evans *et al.*, 2021; Wiersinga, 2022). A diretriz internacional estabelece que o atraso no reconhecimento dos sinais de hipoperfusão tecidual e no início da terapia antimicrobiana adequada na primeira hora impacta diretamente o desfecho clínico, aumentando o risco de progressão para o choque séptico e a falência de múltiplos órgãos (Evans *et al.*, 2021). A sepse exige cuidado contínuo e a aplicação de sistemas de triagem dinâmicos, uma vez que a intervenção precoce, o manejo hemodinâmico imediato e a rápida identificação do patógeno para a adequação da terapia direcionada, continuam sendo os pilares determinantes para a redução da morbimortalidade associada à condição (Evans *et al.*, 2021).

2.2 QUADRO EPIDEMIOLÓGICO DA SEPSE NO BRASIL E REGIÃO SUL

No Brasil, a epidemiologia da sepse evidencia uma taxa de letalidade global de 29,9%, sendo a UTI o local de diagnóstico/desenvolvimento de 9,8% dos casos de sepse monitorados no país (ILAS, 2025). Na Região Sul, verificou-se um registro de cerca de 135.618 internações de pacientes sépticos de 2019 a 2023 (Kissner *et al.*, 2025). Em Porto Alegre, houve um total de 12.885 internações de pacientes com

septicemia em um período de janeiro de 2020 a abril de 2026, enquanto no Rio Grande do Sul esse número foi de 87.518 (DATASUS, 2026) (Tabela 1). Além disso, o percentual de mortalidade relacionada à sepse em Porto Alegre nesse mesmo período foi de 39,31%, enquanto no Rio Grande do Sul atingiu 37,56% (DATASUS, 2026) (Tabela 1). O diagnóstico precoce da sepse representa um grande desafio, tendo em vista que a condição possui manifestações clínicas inespecíficas e variáveis, podendo ser confundido com outras síndromes inflamatórias ou infecciosas. Além disso, a ausência de biomarcadores altamente sensíveis e específicos dificulta a identificação rápida e atrasa o início do tratamento adequado, aumentando o risco de complicações graves e o óbito (Reinhart *et al.*, 2012; Rhodes *et al.*, 2017).

Tabela 1. Internações por ano em Porto Alegre e no Rio Grande do Sul de pacientes com septicemia.

Ano	Porto Alegre	Rio Grande do Sul
2020	2.064	10.876
2021	1.542	9.655
2022	1.873	13.473
2023	2.203	15.616
2024	2.365	16.907
2025	2.134	15.813
2026*	704	5.178
Total	12.885	87.518

*Até o mês de abril

2.3 PRINCIPAIS MICRORGANISMOS CAUSADORES DA SEPSE

Os principais microrganismos responsáveis pela bacteremia podem ser bactérias gram-positivas, bactérias gram-negativas, além de fungos, como *Candida albicans*, em casos específicos. Entre os cocos gram-positivos, destacam-se espécies como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Enterococcus sp.*, incluindo cepas resistentes (Duarte *et al.*, 2018). Além disso, os BGN estão entre os principais agentes causadores de sepse, especialmente em ambientes hospitalares, como as

UTIs (Barros *et al.*, 2016; ILAS, 2025). Esses microrganismos possuem características que os tornam preocupantes, como a capacidade de resistir aos antibióticos carbapenêmicos, os quais estão entre os antimicrobianos de último recurso para o tratamento de infecções multirresistentes causadas por BGN (Ramirez *et al.*, 2020; ANVISA, 2020). Os BGN mais relevantes no contexto da bacteremia são *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e *Enterobacter sp.* (Mota *et al.*, 2018).

2.4 BACILOS GRAM-NEGATIVOS PRODUTORES DE CARBAPENEMASES

As carbapenemases são enzimas que pertencem à classe das betalactamases e possuem a capacidade hidrolítica de clivar o anel betalactâmico de vários antimicrobianos (Bush *et al.*, 2020). O diferencial clínico dessas enzimas é que elas inativam penicilinas, cefalosporinas e degradam eficientemente os carbapenêmicos como o Meropenem (Bush *et al.*, 2020). Bioquimicamente divididas de acordo com a classificação de Ambler, as carbapenemases de maior relevância epidemiológica incluem as serino-betalactamases (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase: KPC, da Classe A, e as oxacilinases: OXA-48-like, (Classe D) e as metalobetalactamases (*New Delhi* metalobetalactamase: NDM (Classe B) que dependem do íon zinco para sua atividade catalítica (Amber, 1980). A disseminação dos genes codificadores dessas enzimas ocorre predominantemente por meio de plasmídeos e transposons entre diferentes espécies bacterianas, sendo uma preocupação mundial devido a rápida difusão deste mecanismo de multirresistência, além de anular as principais alternativas da terapia antimicrobiana convencional (Bush *et al.*, 2020).

O manejo clínico da sepse enfrenta um desafio global crítico: o aumento expressivo das taxas de mortalidade associadas a infecções por BGN que apresentam mecanismos avançados de resistência aos antimicrobianos (ANTIMICROBIAL RESISTANCE COLLABORATORS, 2022). Dentre esses mecanismos, a produção de carbapenemases se destaca epidemiologicamente, por interferir na eficácia dos carbapenêmicos, fármacos tradicionalmente utilizados como última linha de defesa no ambiente hospitalar (WHO, 2024). Esse fato é reconhecido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma das maiores ameaças à saúde pública contemporânea,

pois restringe as opções terapêuticas disponíveis e retarda o início do tratamento eficaz (WHO, 2024). O atraso na administração de uma terapia antimicrobiana adequada à qual o patógeno seja sensível eleva as taxas de letalidade (ANTIMICROBIAL RESISTANCE COLLABORATORS, 2022).

2.5 METODOLOGIAS AUTOMATIZADAS PARA DETECTAR HEMOCULTURAS POSITIVAS

Os sistemas automatizados baseados na identificação indireta do crescimento microbiano através da produção de dióxido de carbono (CO_2) pelos microrganismos são amplamente utilizados para a detecção precoce de hemoculturas positivas em laboratórios de microbiologia clínica (Halperin *et al.* 2022). O sistema BACTEC FX (*Becton Dickinson*) utiliza um método fluorimétrico, no qual sensores detectam alterações na fluorescência proporcionalmente ao acúmulo de CO_2 , indicando a presença de microrganismos (BECTON DICKINSON, 2024). As metodologias automatizadas oferecem monitoramento contínuo, maior segurança, rapidez na detecção (normalmente em até 24 horas) e integração com softwares laboratoriais, otimizando o diagnóstico de bacteremias.

2.6 MÉTODO CONVENCIONAL PARA REALIZAR O DIAGNÓSTICO DE BACTEREMIA NO HCPA

No SDLab do HCPA, após a sinalização da positividade da hemocultura pelo equipamento BACTEC FX (BD), os frascos são retirados do equipamento, é realizado o método de Gram e subcultivo em meios de cultura sólidos, dependendo da morfologia visualizada no Gram. A partir disso, os meios de cultura são incubados em estufa bacteriológica a 37°C por cerca de 24h (estufa normal e/ou estufa com 5% de CO_2).

Após aproximadamente 24h de incubação em meio sólido, a maioria dos microrganismos apresenta crescimento, para, então, ser identificado pela metodologia do MALDI-TOF MS (Wilhelm, 2023; EUCAST, 2024; BRCast, 2024), que no HCPA é da *bioMérieux*®. O princípio do método baseia-se na espectrometria de massas, a qual analisa as proteínas das bactérias e compara com um banco de dados, dessa maneira, uma placa inteira pode realizar a identificação de 48 bactérias em menos de 1 hora.

Após a identificação do microrganismo, é realizado o TSA por disco-difusão, esperando-se mais 24 horas para que seja possível a leitura dos halos de inibição e liberação do resultado do exame microbiológico. No HCPA, a sensibilidade ao Meropenem é utilizada para a pesquisa da presença de carbapenemase entre os BGN. Se Meropenem sensível (S), não há necessidade de testes adicionais, e então o exame é liberado em 48 horas após a positividade do frasco de hemocultura. Entretanto, se for Meropenem resistente (R) ou sensível aumentando a exposição (I), deve-se realizar pesquisa da produção de carbapenamase e execução de testes adicionais como a sensibilidade à Ceftazidima/avibactam (CZA) por disco-difusão e a Concentração Inibitória Mínima (CIM) de polimixina. Nesses casos, o tempo acresce em 24 horas a mais no tempo de liberação do resultado (Wilhelm, 2023; EUCAST, 2024; BRCAST, 2024).

2.7 MÉTODOS ALTERNATIVOS E MAIS RÁPIDOS PARA REALIZAR O DIAGNÓSTICO DA BACTEREMIA

Atualmente, uma das principais alternativas rápidas para o diagnóstico de bacteremia são os testes moleculares, os quais permitem a detecção direta de patógenos e genes de resistência antimicrobiana a partir de frascos de hemoculturas positivas. Nessa linha, sistemas como o BioFire® FilmArray utilizam a técnica de PCR multiplex em tempo real para identificar, simultaneamente, diversos agentes etiológicos, incluindo bactérias, fungos e vírus, bem como importantes genes relacionados à resistência, com resultados obtidos em aproximadamente 1 hora (BIOMÉRIEUX, 2024).

Essa abordagem busca diminuir o tempo de resposta clínica, permitindo intervenções terapêuticas precoces e direcionadas. Contudo, embora essas técnicas alternativas apresentem elevada sensibilidade e especificidade, existem importantes limitações relacionadas a elas, como o custo elevado e a dependência de infraestrutura laboratorial especializada.

2.7.1 TESTE RÁPIDO DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS (RAST)

O método RAST padronizado pelo BrCAST-EUCAST, vigente a partir de maio de 2024 no Brasil, objetiva a realização de testes rápidos de sensibilidade aos antimicrobianos diretamente de frascos de hemocultura positivos. Utilizando a

metodologia de disco-difusão do EUCAST, o RAST apresenta modificações que possibilitam leituras mais rápidas, em 4, 6, 8 ou até 16-20 horas de incubação (BrCast-RAST, 2024; EUCAST, 2026).

A metodologia foi validada para oito espécies bacterianas e pode ser aplicada a diferentes sistemas automatizados de hemocultura, das quais apenas 4 são BGN: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* (BrCast-RAST, 2024). Esse número limitado de bactérias padronizadas para o método é uma das principais limitações da técnica, pois não inclui todos os BGN que possuem ponto de corte pelo método convencional de TSA.

Nesse método, após a leitura do Gram, com a observação de apenas BGN, a amostra passa por um processo de lavagem e centrifugação para remover as hemácias. Depois, é realizada a identificação pelo MALDI-TOF, se for identificado um dos quatro BGN que possuem padronização no RAST- BrCast, então é realizado o TSA direto do frasco de hemocultura.

Para realizar o RAST, o sangue é inoculado diretamente em placas de ágar Mueller-Hinton de 140mm, a partir de uma quantidade padronizada de $125 \pm 25 \mu\text{L}$ de sangue, e discos antimicrobianos que possuem padronização são aplicados sob a superfície do meio de cultura (BrCast-RAST, 2024). Na SDLab do HCPA, a leitura dos testes RAST foi padronizada para ser feita após 6 horas de incubação em estufa bacteriológica.

Outro fator desfavorável para a técnica é que para alguns antimicrobianos, pode haver resultados duvidosos, como os casos de incerteza técnica (AIT) que não devem ser reportados até confirmação por testes adicionais, o que aumenta o tempo de liberação do resultado laboratorial e, conseqüentemente, diminui o tempo de resposta de tratamento (BrCast-RAST, 2024).

2.8 VALIDAÇÃO DE NOVAS METODOLOGIAS

No contexto das diretrizes da *Food and Drug Administration* (FDA) e de órgãos reguladores internacionais para a validação de novos testes diagnósticos, como ensaios microbiológicos e moleculares, os parâmetros de desempenho são expressos em termos de concordância e taxas de erro em relação a um método de referência

conhecido como padrão-ouro (FDA, 2009), para garantir que o novo método possua segurança e eficácia antes de sua implementação na rotina clínica (CLSI, 2015). Dentre os parâmetros estatísticos essenciais exigidos para a determinação da acurácia do teste, estão o *Categorical Agreement* (CA), que mede a capacidade da nova metodologia de reproduzir categoricamente os mesmos resultados do método de referência (FDA, 2009). Para a validação e liberação de uma nova metodologia, o FDA exige que a CA apresente um índice estatisticamente elevado, situando-se rigorosamente $\geq 90\%$, frequentemente com metas de aceitabilidade $\geq 95\%$, assegurando a equivalência clínica entre os métodos (FDA, 2009).

Para testes microbiológicos e de suscetibilidade, analisam-se desvios classificados em *Very Major Errors* (VME), correspondentes a bactérias falsamente sensíveis ao antibiótico testado, *Major Errors* (ME), correspondentes a bactérias falsamente resistentes ao antibiótico testado e *Minor Errors* (mE), que envolvem discordâncias de categorias intermediárias (CLSI, 2015). De acordo com os critérios de consenso regulatório, a margem de erro aceitável para o somatório total de discrepâncias graves deve ser $\leq 1,5\%$ para VME, ou falso-negativos, $\leq 3\%$ para ME, ou falso-positivos, e $\leq 10\%$ para mE (CLSI, 2015). A estipulação desses limites percentuais existe para diminuir o risco de desfechos clínicos desfavoráveis decorrentes de diagnósticos incorretos ou tratamentos terapêuticos tardios (FDA, 2009; CLSI, 2015).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Validar a metodologia de incubação breve, para identificação bacteriana e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de BGN, na rotina laboratorial da Unidade de Microbiologia do Serviço de Diagnóstico Laboratorial (SDLab) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Diminuir o tempo de identificação, em meio de cultura sólido após incubação breve, de BGN em hemoculturas positivas pela técnica de MALDI-TOF;

- Padronizar o antibiograma a partir da massa bacteriana que cresce entre 4h-6h de incubação (incubação breve) em meio de cultura sólido (ágar chocolate) para qualquer BGN que exista ponto de corte pelo BrCAST;
- Comparar os resultados do antibiograma realizados a partir da subcultura com incubação breve com o método convencional;
- Avaliar as concordâncias das metodologias em relação ao *Categorical Agreement* (CA), *Very Major Error* (VME), *Major Error* (ME) e *Minor Error* (mE) entre TSA a partir da subcultura com incubação breve e método convencional.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO

Estudo transversal

4.2 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO

O trabalho foi realizado na Unidade de Microbiologia do Serviço de Diagnóstico Laboratorial (SDLab) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídas no estudo 100 hemoculturas positivas com presença de apenas BGN pelo método do Gram e que ficaram pelo menos 4h-6h em incubação e possuíam uma massa bacteriana suficiente para a realização da identificação por meio do MALDI-TOF, das quais 1 não foi identificada, totalizando 99 isolados bacterianos. Posteriormente, selecionaram-se 53, para realização do antibiograma, as quais tinham ponto de corte estabelecido pelo BrCAST.

4.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídas do estudo hemoculturas negativas, hemoculturas positivas com características de crescimento polimicrobiano, hemoculturas positivas com presença de cocos gram-positivos, cocos gram-negativos, bacilos gram-positivos e leveduras na leitura do Gram e hemoculturas positivas com bacilos gram-negativos que após a

identificação bacteriana apresentasse um BGN que não possuía padronização de TSA pelo BrCAST.

4.5 METODOLOGIA

Na rotina convencional da Unidade de Microbiologia do SDLab do HCPA (Figura 2), o processo de identificação bacteriana e TSA ocorre após a sinalização da positividade da hemocultura pelo equipamento BACTEC FX (BD). Então, os frascos são retirados do equipamento e são analisados a partir do método Gram, quando visualizado apenas BGN, a amostra é subcultivada em ágar chocolate e ágar Macconkey. A partir disso, os meios de cultura sólidos (ágar chocolate e ágar Macconkey) são incubados em estufa bacteriológica à 37°C por cerca de 24h.

No dia seguinte, a partir do subcultivo em meio sólido é realizada a identificação pelo MALDI-TOF MS e após, se há padronização, é realizado o TSA por disco-difusão, que fica incubado em estufa bacteriológica (33°C - 35°C) por mais 24h. Em seguida, é realizada a leitura do tamanho dos halos de inibição.

Caso a bactéria não apresente mecanismos de resistência, ocorre a liberação do resultado após 48h da positividade do frasco de hemocultura. Se a bactéria possuir algum mecanismo de resistência, como por exemplo a produção de carbapenemase, o tempo acresce em 24h, tendo em vista a necessidade de realização de testes adicionais como sensibilidade à Ceftazidima/avibactam (CZA) por disco-difusão, CIM de polimixina e encaminhamento para a pesquisa de carbapenemase (BRCAST, 2024).

Figura 2. Representação metodológica da rotina convencional.



Fonte: Imagem autoral, 2026.

Levando em conta a rotina convencional da Unidade de Microbiologia do SDLAb do HCPA citada anteriormente, em um período de 4 meses, de setembro de 2024 à dezembro de 2024, a metodologia proposta pelo presente estudo foi realizada da seguinte forma (Figura 3): após a positividade do frasco de hemocultura pelo equipamento automatizado BACTEC FX, foi realizada a leitura do Gram. Se visualizado apenas a presença de BGN, foi realizado subcultivo em meio de cultura sólido em placa de ágar chocolate (para proporcionar o crescimento de *Haemophilus influenzae*) e ágar MacConkey. No mesmo dia, após incubação breve de aproximadamente 4-6h do subcultivo, e para as hemoculturas que apresentavam massa bacteriana suficiente para realizar a identificação bacteriana, foram encaminhadas ao MALDI-TOF MS. Se o BGN identificado possuía padronização pelo BrCAST, foi então realizado o TSA por disco-difusão pelo método convencional realizando um inóculo bacteriano padronizado de 0,5 na escala de MacFarland, adicionando-se os disco dos respectivos antibiogramas e incubando-se em estufa bacteriológica (33°C - 35°C) pelo tempo padronizado pela BrCAST de aproximadamente 18 h (BrCAST, 2021).

No dia seguinte, confirmou-se a identificação da morfologia da bactéria na placa de ágar e verificou-se a existência ou não de outro microrganismo. Então, se a morfologia da bactéria foi confirmada com a identificação do MALDI TOF MS e se não houve crescimento de outro tipo bacteriano, o resultado do TSA era liberado. A leitura dos halos de inibição foi realizada conforme os pontos de corte do BrCAST. Se a bactéria apresentasse sensibilidade ao antimicrobiano Meropenem, o laudo era liberado em 24h após a positividade do frasco de hemocultura, diminuindo em 24h o tempo de liberação do resultado final, já que na rotina convencional essa liberação ocorreria em 48h após a positividade. Em casos de resistência ou sensibilidade reduzida (categoria intermediária) ao Meropenem, esperou-se mais 24h para realizar CIM de Polimixina e sensibilidade ao CZA por disco-difusão, totalizando 48h, o que levaria 72h na rotina convencional.

Figura 3. Representação metodológica da incubação breve.



Fonte: Imagem autoral, 2026.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi feita a análise de concordância entre a identificação bacteriana após incubação breve e após incubação convencional, sendo a incubação convencional considerada o padrão-ouro. Foi aplicada uma estatística descritiva onde os dados categóricos foram apresentados como percentual e intervalos de confiança de 95%. O programa *Statistical Package for Social Sciences 20* (SPSS, Chicago, IL, EUA) foi empregado nas análises estatísticas em geral.

4.7 ASPECTOS ÉTICOS

Os pesquisadores do presente trabalho se comprometem a preservar a privacidade dos pacientes cujos isolados bacterianos foram obtidos a partir do material clínico. Devido a natureza do projeto, não há necessidade de acessar os prontuários ou qualquer informação do paciente. Portanto, foi solicitada dispensa de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Vale ressaltar que este projeto faz parte de um processo de validação de uma nova metodologia para diminuir o tempo de liberação do resultado do exame laboratorial de hemocultura. Não haverá qualquer modificação no fluxo normal do exame.

Os pesquisadores concordam também, que estas informações serão utilizadas única e exclusivamente para execução do presente estudo. As informações somente poderão ser divulgadas de forma anônima. As amostras clínicas que serão utilizadas no estudo já são previamente coletadas e encaminhadas à Unidade de Microbiologia para

exames culturais de rotina assistencial dos pacientes. Sendo assim, nenhuma coleta foi realizada exclusivamente para o estudo.

Como o presente estudo se trata de uma validação metodológica, dessa forma, os pesquisadores declaram conhecer e cumprir os requisitos da Lei Geral de Proteção de Dados (Lei No 13.709, de 14 de agosto de 2018) quanto ao tratamento de dados pessoais e dados pessoais sensíveis. O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre sob o número 2025-0340.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMBLER, R. P. The structure of beta-lactamases. ***Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences***, v. 289, n. 1036, p. 321-331, 1980. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/rstb.1980.0049>. Acesso em 05 jun. 2026.

ALMEIDA, N. R. C. de et al. Análise de tendência de mortalidade por sepse no Brasil e por regiões de 2010 a 2019. ***Revista de Saúde Pública***, v. 56, p. 25, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/s1518-8787.2022056003789>. Acesso em: 14 out. 2025.

ANTIMICROBIAL RESISTANCE COLLABORATORS. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. ***The Lancet***, v. 399, n. 10325, p. 629-655, 2022. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(21)02724-0). Acesso em: 06 jun. 2026.

BARROS, L. L. S; MAIA, C. S. F; MONTEIRO, M. C. Fatores de risco associados ao agravamento de sepse em pacientes em Unidade de Terapia Intensiva. ***Cadernos Saúde Coletiva***, v. 24, n. 4, p. 388-396, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1414-462X201600040091>. Acesso em 24 out. 2025.

BECTON DICKINSON. BD BACTEC FX blood culture system. 2024.

BIOMÉRIEUX. BacT/ALERT 3D - automated microbial detection. 2024.

BIOMÉRIEUX. BioFire FilmArray Panels. 2024.

BRASIL. Ministério da Educação. Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares. **Dia Mundial da Sepse: Brasil tem alta taxa de mortalidade por sepse entre os países em desenvolvimento**. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/hubrasil/pt-br/hospitais-universitarios/regiao-sudeste/hu-ufjf/comunicacao/noticias/2023/dia-mundial-da-sepse-brasil-tem-alta-taxa-de-mortalidade-por-sepse-dentre-os-paises-em-desenvolvimento>. Acesso em: 14 out. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). ***Deteção e Identificação de Bactérias de Importância Médica***. Módulo VI. 2020. Disponível em:

<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/modulo-6-deteccao-e-identificacao-de-bacterias-de-importancia-medica/@@download/file>. Acesso em 24 out. 2025.

BRCAST. Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos. ***BrCAST***, 2021. Disponível em:

<https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/07/Tabela-pontos-de-corte-clinicos-BrCAST-v1-mar-2021.pdf>. Acesso em: 14 out. 2025.

BRCAST. Teste de sensibilidade aos antimicrobianos. Método de disco-difusão BrCAST. Versão 12.0. São Paulo: ***BrCAST***, 2024. Disponível em:

<https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/09/Metodo-disco-difusao-BrCAST-15-04-2024.pdf>. Acesso em: 24 out. 2025.

BUSH, K; BRADFORD, P. A. Epidemiology of beta-lactamases-producing pathogens. ***Antimicrobial Agents and Chemotherapy***, v. 64, n. 6, 2020. Disponível em:

<https://doi.org/10.1128/CMR.00047-19>. Acesso em: 06 jun. 2026.

CAMPOS, A.F. *et al.* Impact of an Antimicrobial Stewardship Program Intervention Associated with the Rapid Identification of Microorganisms by MALDI-TOF and Detection of Resistance Genes in ICU Patients with Gram-Negative Bacteremia.

Antibiotics. 2022, 11, 1226. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11091226>. Acesso em: 24 out. 2026.

CARVALHO, M. K. R; CARVALHO, M. R. D. Prevalência de sepse em um centro de terapia intensiva de um hospital de ensino. ***Enfermagem em foco***, v. 12, n. 3, 2021. Disponível em: 10.21675/2357-707X.2021.v12.n3.4382. Acesso em: 24 out. 2025.

CHERKAoui, A. *et al.* Rapid identification by MALDI-TOF/MS and antimicrobial disk diffusion susceptibility testing for positive blood cultures after a short incubation on the WASPLab. ***European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases***, v. 39, n. 6, p. 1063-1070, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03817-8>. Acesso em: 13 jun. 2026.

CINTRÓN, M *et al.* Utility of digital images captured after 4 h of incubation on a microbiology laboratory automation system in guiding the work-up of subcultures from positive blood cultures. ***Journal of Clinical Microbiology***, v. 63, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jcm.01320-24>. Acesso em: 13 jun. 2026.

CLSI. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. M52: Verification of commercial microbial identification and antimicrobial susceptibility testing systems. 1st ed. Wayne: ***CLSI***, 2015. Acesso em: 05 jun. 2026.

COBO, F. *et al.* A 5-year study of bloodstream infections caused by carbapenemase-producing Gram-negative bacilli in southern Spain. **Revista Espanhola de Quimioterapia**, v. 37, n. 6, p. 472, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.37201/req/045.2024>. Acesso em: 07 jun. 2026.

DONDORP, A. M.; DÜNSER, M. W.; SCHULTZ, M. J. Current Challenges in the Management of Sepsis in ICUs in Resource-Poor Settings and Suggestions for the Future. 2019 Feb 9. In: Dondorp AM, Dünser MW, Schultz MJ, editors. Sepsis Management in Resource-limited Settings [Internet]. Cham (CH): **Springer**; 2019. Chapter 1. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553814/> doi: 10.1007/978-3-030-03143-5_1. Acesso em: 14 out. 2025.

DUARTE, F. C. *et al.* Bacteremia causada por *Staphylococcus aureus*: Uma análise de quinze anos da sensibilidade a antimicrobianos em um hospital terciário do Brasil. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 8, n. 3, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.17058/reci.v8i3.11245>. Acesso em: 25 out. 2025.

EUCAST. Rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from positive blood culture bottles. Version 7.0. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, **EuCast**, 2026. Disponível em: <https://www.eucast.org/bacteria/rapid-ast-in-blood-culture/methods-and-quality-control/>. Acesso em: 12 maio. 2026.

EVANS, L. *et al.* Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock 2021. **Intensive Care Medicine**, v. 47, n. 11, p. 1181–1247, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00134-021-06506-y>. Acesso em: 07 jun. 2026.

FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Class II Special Controls Guidance Document: Antimicrobial Susceptibility Test (AST) Systems. Guidance for Industry and FDA. Silver Spring: U.S. **Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration**, 2009. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/88069/download>. Acesso em: 05 jun. 2026.

FLEISCHMANN-STRUZEK, C.; RUDD, K. Challenges of assessing the burden of sepsis. **Medizinische Klinik-Intensivmedizin und Notfallmedizin**, v. 118, n. Suppl 2, p. 68-74, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00063-023-01088-7>. Acesso em: 14 out. 2025.

HA, Jihye *et al.* Same-Day Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacteria in Positive Blood Culture Broths Using Short-Term Incubation on Solid Medium with the MicroFlex LT, Vitek-MS, and Vitek2 Systems. **Annals of Laboratory Medicine**, v. 38, n. 3, p. 235-241, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3343/alm.2018.38.3.235>. Acesso em: 13 jun. 2026.

HALPERIN, A. V. *et al.* Impact of Automated Blood Culture Systems on the Management of Bloodstream Infections: Results from a Crossover Diagnostic Clinical Trial. ***Microbiology spectrum***, 10(5), e0143622. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/spectrum.01436-22>. Acesso em: 12 jun. 2026.

INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE SEPSE (ILAS). Relatório Nacional: Ano de Referência - 2025. São Paulo: **ILAS**, 2026. Disponível em: <https://ilas.org.br/wp-content/uploads/2026/02/Relatorio-Nacional-ILAS-2025-1.pdf>. Acesso em: 07 jun. 2026.

JOST, M. T *et al.* Morbimortalidade e custo por internação dos pacientes com sepse no Brasil, Rio Grande do Sul e Porto Alegre. ***Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção***, v. 9, n. 2, 2 abr. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.17058/reci.v9i2.12723>. Acesso em: 24 out. 2025.

KISSNER, E., DACOME, L. S., ARAÚJO, R. M., OLIVEIRA, H. R. Epidemiological profile of sepsis hospitalization in the Southern Region from 2019 to 2023: A cross-sectional study. ***Research, Society and Development***, [S. l.], v. 14, n. 5, p. e8414548873, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v14i5.48873>. Acesso em: 07 jun. 2026.

LEAL, M. S; CARNEIRO, A. A; GARCIA, P. G. Prevalência de bastonetes Gram-negativos não fermentadores isolados em amostras de hemoculturas. ***Revista Brasileira de Análises Clínicas***, p. 252-257, 2021. Disponível em: [10.21877/2448-3877.202001994](https://doi.org/10.21877/2448-3877.202001994). Acesso em: 15 out. 2025.

LOBO, S. M. *et al.* Mortalidade por sepse no Brasil em um cenário real: projeto UTIs Brasileiras. ***Revista Brasileira de Terapia Intensiva***, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 1-4, jan./mar. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/0103-507X.20190008>. Acesso em: 25 nov. 2025.

LOPES, D. *et al.* Impact of rapid identification by MALDI-TOF MS from positive blood cultures in Enterococcus spp. bloodstream infections. ***European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases***, 44, 1185–1196 (2025). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10096-025-05084-x>. Acesso em: 07 jun. 2026.

MABROUK, S. S. *et al.* Carbapenemase producers among extensive drug-resistant gram-negative pathogens recovered from febrile neutrophilic patients in Egypt. ***Infection and Drug Resistance***, p. 3113-3124, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/idr.s269971>. Acesso em: 07 jun. 2026.

MACHADO, F. R. *et al.* Sepsis in Brazilian emergency departments: a prospective multicenter observational study. ***Internal and Emergency Medicine***, v. 18, n. 2, p. 409-421, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11739-022-03179-3>. Acesso em: 14 out. 2025.

MARTINS, A. S. Teste rápido de suscetibilidade aos antimicrobianos pelo método de disco difusão direto do frasco de hemocultura, usando os pontos de corte estabelecidos pelo EUCAST. **Lume UFRGS**. 2019. Lume UFRGS

MARTINY, D. *et al.* Impact of rapid microbial identification directly from positive blood cultures using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry on patient management. **Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, 19(12), E568–E581. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12282>. Acesso em: 06 jun. 2026.

MOTA, F. S; OLIVEIRA, H. A; COUTO, R. C. F. Perfil e prevalência de resistência aos antimicrobianos de bactérias Gram-negativas isoladas de pacientes de uma unidade de terapia intensiva. **RBAC**, v. 50, n. 3, p. 270-277, 2018. Disponível em: [10.21877/2448-3877.201800740](https://doi.org/10.21877/2448-3877.201800740). Acesso em: 24 out. 2025.

MUKERJI, R. *et al.* Chryseobacterium indologenes: an emerging infection in the USA. **BMJ case reports**, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/bcr-2016-214486>. Acesso em: 09 jun. 2026.

NIEMAN, A. E. *et al.* A prospective multicenter evaluation of direct molecular detection of blood stream infection from a clinical perspective. **BMC infectious diseases**, v. 16, p. 1-9, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1646-4>. Acesso em: 14 out. 2025.

PHUNGOEN, P. *et al.* Clinical factors associated with bloodstream infection at the emergency department. **BMC Emerg Med**, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12873-021-00426-2>. Acesso em: 15 out. 2025.

RAMIREZ, M. S; BONOMO, R. A; TOLMASKY, M. E. Carbapenemases: transforming Acinetobacter baumannii into a yet more dangerous menace. **Biomolecules**, v. 10, n. 5, p. 720, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biom10050720>. Acesso em: 06 jun. 2026.

RIMA, M. *et al.* Prevalence and molecular mechanisms of carbapenem resistance among gram-negative bacilli in three hospitals of Northern Lebanon. **Antibiotics**, v. 11, n. 10, p. 1295, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101295>. Acesso em: 07 jun. 2026.

REINHART, K. *et al.* New approaches to sepsis: molecular diagnostics and biomarkers. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 25, n. 4, p. 609–634, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/cmr.00016-12>. Acesso em: 14 out. 2025.

RHODES, A. *et al.* Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. **Intensive Care Medicine**, v. 43, n. 3, p. 304–377, 2017. Disponível em: [10.1097/CCM.0000000000002255](https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000002255). Acesso em: 25 out. 2025.

RUDD, K. E. *et al.* Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. **The Lancet**, v. 395, n. 10219, p. 200-211, 2020. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(19\)32989-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(19)32989-7). Acesso em: 14 out. 2025.

SALOMÃO, R. *et al.* Sepsis: evolving concepts and challenges. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 52, n. 4, p. e8595, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1414-431X20198595>. Acesso em: 24 out. 2025.

SINGER, M. *et al.* The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). **Jama**, v. 315, n. 8, p. 801-810, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jama.2016.0287>. Acesso em: 15 out. 2025.

SOARES, V. M.; VARELLA, A. S.; VIEGAS, D. M. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) directly from positive blood cultures in a Brazilian regional public hospital. **RBAC**, v. 57, n. 1, p. 114-118, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa333>. Acesso em 12 maio. 2026.

TEJAN, N. *et al.* Evaluation of Rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) by disk diffusion on early subculture growth from positive blood culture bottles. **Journal of Microbiological Methods**, v. 235, 107153, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2025.107153>. Acesso em: 13 jun. 2026.

THOMAS, G. R. *et al.* Increased detection of carbapenemase-producing Enterobacterales bacteria in Latin America and the Caribbean during the COVID-19 pandemic. **Emerging infectious diseases**, v. 28, n. 11, p. e220415, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid2811.220415>. Acesso em: 12 maio. 2026.

TIGABIE, M. *et al.* Extended-spectrum beta-lactamase and carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in urinary tract infections in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. **BMC urology**, v. 25, n. 1, p. 11, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12894-025-01695-w>. Acesso em: 07 jun. 2026.

TJANDRA, K. C. *et al.* Diagnosis of bloodstream infections: an evolution of technologies towards accurate and rapid identification and antibiotic susceptibility testing. **Antibiotics**, v. 11, n. 4, p. 511, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040511>. Acesso em: 28 nov. 2025.

XIE, X. *et al.* Molecular epidemiology and carbapenem resistance mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from a hospital in Fujian, China. **Frontiers in microbiology**, 15, 1431154. 2024 Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1431154>. Acesso em: 09 jun. 2026.

WEBBER, D. M.; WALLACE, M. A.; BURNHAM, C. D. Stop Waiting for Tomorrow: Disk Diffusion Performed on Early Growth Is an Accurate Method for Antimicrobial

Susceptibility Testing with Reduced Turnaround Time. ***Journal of Clinical Microbiology***, v. 60, n. 2, p. e01428-21, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jcm.03007-20>. Acesso em: 28 nov. 2025.

WIERSINGA, W. *et al.* Immunopathophysiology of human sepsis. ***eBioMedicine***, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.104363>. Acesso em: 12 jun. 2026.

WILHELM, C. M. Desenvolvimento de metodologias rápidas para detecção de mecanismos de resistência bacteriana e determinação da suscetibilidade a antimicrobianos em Enterobacterales por MALDI-TOF MS. ***Lume UFRGS***. 2023.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). WHO bacterial priority pathogens list, 2024: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and public health action. Geneva: ***World Health Organization***, 2024. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>. Acesso em: 06 jun. 2026.