



ISSN 2674-8169



Latindex



DOI



Diagnóstico Molecular por qPCR na Detecção de Microrganismos Associados à Sepse: Estudo Comparativo com a Hemocultura em Pacientes de UTI

Talita Tonin Andrighetti¹, Julia Mazetto Giolo¹, Rômulo Almeida dos Santos¹, Camilla Zottesso Pellon Ferreira¹, Edirlene Sara Wisniewski¹, Rafael Andrade Menolli¹, Alex Sandro Jorge¹



<https://doi.org/10.36557/2674-8169.2026v8n6p1290-1299>

Artigo recebido em 25 Maio e publicado em 25 de Junho de 2026

ARTIGO ORIGINAL

RESUMO

A sepse é uma condição clínica grave caracterizada por resposta inflamatória sistêmica desregulada decorrente de infecção, associada a elevadas taxas de mortalidade. O diagnóstico rápido é fundamental para o início assertivo da terapia antimicrobiana. Embora a hemocultura seja considerada o método padrão-ouro para identificação de microrganismos na corrente sanguínea, sua baixa sensibilidade e o longo tempo para obtenção dos resultados podem comprometer a conduta terapêutica. Nesse contexto, métodos moleculares como a reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) surgem como alternativas promissoras para o diagnóstico rápido da sepse. O objetivo foi avaliar a aplicação do diagnóstico molecular por qPCR na detecção de microrganismos associados à sepse e comparar seu desempenho com a hemocultura em pacientes internados em unidades de terapia intensiva. O estudo foi realizado com amostras de soro de 31 pacientes que foram submetidas à extração de DNA bacteriano e amplificação por qPCR para detecção de *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Os resultados foram comparados aos obtidos por hemocultura convencional. O diagnóstico molecular identificou microrganismos em 6 dos 31 pacientes analisados (19,35%), enquanto a hemocultura apresentou positividade em apenas dois casos, incluindo um episódio de contaminação e um microrganismo não contemplado pelo painel molecular. Dessa forma, a qPCR demonstrou maior agilidade e sensibilidade na detecção de patógenos associados à sepse quando comparada à hemocultura, sendo promissora para a otimização do diagnóstico e do manejo clínico de pacientes críticos.

Palavras-chave: Sepse, Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real, Hemocultura, Unidades de Terapia Intensiva

Molecular Diagnosis by qPCR for the Detection of Sepsis-Associated Microorganisms: A Comparative Study with Blood Culture in Intensive Care Unit Patients

ABSTRACT

Sepsis is a severe clinical condition characterized by a dysregulated systemic inflammatory response resulting from infection and is associated with high mortality rates. Rapid diagnosis is essential for the timely initiation of appropriate antimicrobial therapy. Although blood culture is considered the gold standard method for identifying microorganisms in the bloodstream, its low sensitivity and prolonged turnaround time may compromise therapeutic decision-making. In this context, molecular methods such as real-time polymerase chain reaction (qPCR) have emerged as promising alternatives for the rapid diagnosis of sepsis. The aim of this study was to evaluate the application of qPCR-based molecular diagnosis for the detection of sepsis-associated microorganisms and to compare its performance with conventional blood culture in patients admitted to intensive care units. The study was conducted using serum samples from 31 patients. Samples were subjected to bacterial DNA extraction followed by qPCR amplification for the detection of *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*. The results were compared with those obtained by conventional blood culture. Molecular diagnosis identified microorganisms in 6 of the 31 patients analyzed (19.35%), whereas blood culture yielded positive results in only two cases, including one contamination episode and one microorganism not covered by the molecular panel. Therefore, qPCR demonstrated greater speed and sensitivity in the detection of sepsis-associated pathogens when compared with blood culture, highlighting its potential as a valuable tool for improving diagnostic accuracy and optimizing the clinical management of critically ill patients.

Keywords: Sepsis, Real-Time Polymerase Chain Reaction, Blood Culture, Intensive Care Units

Instituição afiliada – UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - UNIOESTE

Autor correspondente: Julia Mazetto Giolo julia.giolo.jq@gmail.com

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



INTRODUÇÃO

A sepse, ou infecção generalizada, surge como uma reação descontrolada a uma infecção primária que desencadeia uma inflamação intensa e se dissemina rapidamente, prejudicando o funcionamento de múltiplos órgãos e resulta em disfunção orgânica. Estima-se que a sepse seja responsável por milhões de mortes anualmente em todo o mundo, representando um importante problema de saúde pública. No Brasil, as taxas de mortalidade associadas à doença permanecem elevadas, especialmente em instituições com limitações estruturais e dificuldades no manejo dos pacientes, evidenciando a necessidade de estratégias que possibilitem diagnóstico precoce e tratamento adequado (Machado *et al.*, 2023).

Pacientes internados em unidades de terapia intensiva (UTIs) apresentam maior suscetibilidade ao desenvolvimento de sepse devido à gravidade das doenças de base, ao uso frequente de dispositivos invasivos, à permanência prolongada no ambiente hospitalar e à exposição a microrganismos multirresistentes. Entre os agentes etiológicos frequentemente associados à sepse destacam-se bactérias gram-negativas, como *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*, além de bactérias gram-positivas, como *Staphylococcus aureus*. Esses microrganismos possuem diversos fatores de virulência e toxinas que favorecem a evasão da resposta imune e intensificam o processo inflamatório sistêmico característico da sepse (Ramachandran, 2014).

O método de referência para o diagnóstico microbiológico da sepse é a hemocultura, entretanto, essa técnica apresenta limitações importantes, incluindo baixa sensibilidade, possibilidade de resultados falso-negativos em pacientes previamente expostos à antibioticoterapia ou em infecções polimicrobianas e tempo prolongado para identificação do agente etiológico. Em muitos casos, o resultado definitivo pode levar vários dias para ser liberado, durante esse período os pacientes recebem tratamento empírico com antimicrobianos de amplo espectro, aumentando os custos hospitalares, a ocorrência de efeitos adversos e a seleção de bactérias resistentes, evidenciando a necessidade de métodos diagnósticos complementares com maior sensibilidade (Doualeh *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2019).

Nesse contexto, os métodos moleculares, como a reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) possibilitam a identificação de patógenos em poucas horas, inclusive em situações de baixa carga bacteriana ou após o início da antibioticoterapia. Assim, a incorporação de métodos moleculares na rotina hospitalar pode contribuir para a redução do tempo necessário para identificação dos agentes infecciosos, permitindo intervenções terapêuticas mais precoces e direcionadas. Conseqüentemente, espera-se uma utilização mais racional dos antimicrobianos, redução da resistência bacteriana e melhoria dos desfechos clínicos (Ferreira *et al.*, 2011).

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar a aplicação do diagnóstico molecular por qPCR na detecção de microrganismos associados à sepse em pacientes internados em unidades de terapia intensiva de um hospital universitário, comparando seu desempenho com a hemocultura convencional e analisando potenciais vantagens diagnósticas e clínicas.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo observacional, prospectivo e descritivo, realizado no Hospital Universitário do Oeste do Paraná (HUOP), foram incluídos 31 pacientes internados nas UTIs adulto do HUOP durante o período de coleta. Como critério de inclusão, os pacientes deveriam possuir solicitação médica para realização de hemocultura devido à suspeita clínica de infecção da corrente sanguínea.

Para cada participante, foi feito alíquota de 1 mL de soro sanguíneo em microtubo tipo Eppendorf no momento da recepção da amostra destinada à hemocultura pelo Laboratório de Análises Clínicas. As amostras foram armazenadas em freezer a -18°C até o processamento laboratorial.

A extração dos ácidos nucleicos foi realizada em equipamento semiautomatizado Extracta 32 (Loccus®), utilizando kit de extração baseado em esferas magnéticas. Posteriormente, o DNA extraído foi submetido à amplificação por reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) utilizando kit customizado fabricado pela Thermofisher Scientific® contendo primers e sondas específicos para detecção de



Acinetobacter baumannii, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

As reações foram processadas em equipamento QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems®), seguindo as recomendações do fabricante. A interpretação dos resultados foi realizada por meio da análise das curvas de amplificação geradas pelo sistema.

As amostras de hemocultura convencional foram processadas pelo sistema automatizado BACT/ALERT® 3D (bioMérieux®), que realiza monitoramento contínuo do crescimento microbiano. Quando identificada positividade, as amostras foram submetidas à semeadura em meios de cultura apropriados e posterior identificação microbiológica por meio do sistema automatizado VITEK® 2 Compact (bioMérieux®), conforme protocolo institucional.

Os resultados obtidos por qPCR foram comparados aos resultados das hemoculturas quanto à detecção dos microrganismos pesquisados. Também foram avaliadas algumas características demográficas e clínicas dos pacientes incluídos no estudo, bem como a frequência dos microrganismos identificados pelos métodos diagnósticos analisados.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), sob parecer nº 7.261.358.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliados 31 pacientes internados em unidades de terapia intensiva do Hospital Universitário do Oeste do Paraná. Observou-se predominância do sexo masculino, correspondente a 70,97% (n=22) da amostra e da faixa etária de 56 a 75 anos, representando 45,39% (n=14) dos participantes. Adicionalmente, 90,31% dos pacientes encontravam-se em uso de antibioticoterapia empírica no momento da coleta das amostras, conforme a tabela 1.

Tabela 1 – Características demográficas e clínicas da amostra (n=31)

Variável	n	%
Sexo feminino	22	70,97
Sexo masculino	9	29,03
15 a 35 anos	6	19,35
36 a 55 anos	8	25,58
56 a 75 anos	14	45,39
76 a 95 anos	3	9,68
Uso de antibioticoterapia	28	90,31
Sem antibioticoterapia	3	9,69

O predomínio de pacientes idosos observado neste estudo é semelhante ao descrito na literatura para indivíduos com sepse em ambiente hospitalar. Nessa faixa etária, a maior suscetibilidade ao desenvolvimento de infecções graves está relacionada à presença de múltiplas comorbidades e redução da resposta imunológica, fatores que contribuem para a maior gravidade clínica e para piores desfechos. Além disso, a idade avançada é reconhecida como um importante fator prognóstico, estando associada ao aumento da mortalidade em pacientes com sepse (Ibarz *et al.*, 2024).

Entre os 31 pacientes analisados, o diagnóstico molecular por qPCR identificou a presença de microrganismos em 6 casos (19,35%), enquanto 25 pacientes (80,65%) apresentaram resultados negativos, conforme a tabela 2.

Tabela 2 – Microrganismos identificados por qPCR

Microrganismo	n
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	2
<i>Escherichia coli</i>	1
<i>Acinetobacter baumannii</i> e <i>Klebsiella pneumoniae</i>	1



A predominância de bactérias gram-negativas observada neste estudo (66,66%) é atribuída à sua capacidade de desenvolver resistência antimicrobiana e sobreviver em ambientes hospitalares. A elevada frequência desses microrganismos está de acordo com a literatura recente, que aponta tais espécies como os principais agentes etiológicos da sepse em pacientes críticos, especialmente aquelas de origem abdominal e urinária (Umamura *et al.*, 2021).

Já a hemocultura, além de demandar vários dias para a identificação do microrganismo, apresentou baixa positividade, entre os 31 pacientes analisados observou-se um caso de contaminação e um caso positivo para *Staphylococcus epidermidis*, microrganismo que não fazia parte do painel molecular utilizado. Pacientes submetidos previamente à antibioticoterapia podem apresentar redução significativa da carga bacteriana circulante, diminuindo a sensibilidade do método. Esse efeito já foi demonstrado em estudos clínicos, nos quais o uso prévio de antimicrobianos esteve associado à redução significativa da positividade das hemoculturas. Como mais de 90% dos pacientes avaliados já estavam recebendo antimicrobianos, essa condição pode ter contribuído para a baixa taxa de positividade observada (Hirosawa *et al.*, 2023).

Dessa forma, a utilização de métodos moleculares pode representar uma estratégia relevante para complementar o manejo da sepse, uma vez que a rápida identificação do agente etiológico permite uma antibioticoterapia mais direcionada. Além disso, essa abordagem pode reduzir o uso desnecessário de antimicrobianos de amplo espectro e contribuir para o controle da resistência bacteriana. Considerando que o atraso na administração de tratamento adequado está associado a piores desfechos e maior mortalidade, a rapidez diagnóstica, que os métodos moleculares são capazes de fornecer, torna-se um fator importante na assistência ao paciente (Hu *et al.*, 2021; Leung *et al.*, 2024).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, o diagnóstico molecular por qPCR identificou microrganismos em um número maior de pacientes quando comparado à hemocultura convencional, demonstrando potencial para complementar a investigação microbiológica da sepse em

ambiente de terapia intensiva. A baixa positividade observada nas hemoculturas, associada ao elevado percentual de pacientes já em uso de antibioticoterapia no momento da coleta, sugere que métodos independentes do crescimento bacteriano podem oferecer vantagens em situações clínicas semelhantes. Os achados sugerem que a qPCR representa uma alternativa promissora para o aprimoramento do diagnóstico microbiológico da sepse, sendo necessários estudos adicionais com amostras maiores para confirmar seu impacto nos desfechos clínicos e na prática hospitalar.

REFERÊNCIAS

- DOUALEH, M.; PAYNE, M.; LITTON, E.; RABY, E.; CURRIE, A. Molecular Methodologies for Improved Polymicrobial Sepsis Diagnosis. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 23, n. 9, p. 4484, 19 abr. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms23094484>.
- FERREIRA, L. E.; DALPOSSO, K.; HACKBARTH, B. B.; GONÇALVES, A. R.; WESTPHAL, G. A.; FRANÇA, P. H. C. de; PINHO, M. de S. L. Painel molecular para detecção de microrganismos associados à sepse. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, [S. l.], v. 23, p. 36–40, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-507X2011000100007>.
- HIROSAWA, T.; SAKAMOTO, T.; HANAI, S.; HARADA, Y.; SHIMIZU, T. Effect of Prior Antibiotic Treatment on Blood Culture in an Outpatient Department of General Internal Medicine: A Retrospective Case-Control Analysis. **International Journal of General Medicine**, [S. l.], v. 16, p. 2709–2717, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/IJGM.S416235>.
- HU, B.; TAO, Y.; SHAO, Z.; ZHENG, Y.; ZHANG, R.; YANG, X.; LIU, J.; LI, X.; SUN, R. A Comparison of Blood Pathogen Detection Among Droplet Digital PCR, Metagenomic Next-Generation Sequencing, and Blood Culture in Critically Ill Patients With Suspected Bloodstream Infections. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 12, p. 641202, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.641202>.
- IBARZ, M.; HAAS, L. E. M.; CECCATO, A.; ARTIGAS, A. The critically ill older patient with sepsis: a narrative review. **Annals of Intensive Care**, [S. l.], v. 14, n. 1, p. 6, 1 jan. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13613-023-01233-7>.
- LEUNG, L. Y.; HUANG, H.-L.; HUNG, K. K.; LEUNG, C. Y.; LAM, C. C.; LO, R. S.; YEUNG, C. Y.; TSOI, P. J.; LAI, M.; BRABRAND, M.; WALLINE, J. H.; GRAHAM, C. A. Door-to-antibiotic time and mortality in patients with sepsis: Systematic review and meta-analysis. **European Journal of Internal Medicine**, [S. l.], v. 129, p. 48–61, 1 nov. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2024.06.015>.
- MACHADO, F. R.; CAVALCANTI, A. B.; BRAGA, M. A.; TALLO, F. S.; BOSSA, A.; SOUZA, J. L.; FERREIRA, J. F.; PIZZOL, F. D.; MONTEIRO, M. B.; ANGUS, D. C.; LISBOA, T.; AZEVEDO, L. C. P.; SPREAD ED INVESTIGATORS, THE INSTITUTO LATINO AMERICANO DE SEPSIS NETWORK. Sepsis in Brazilian emergency departments: a prospective multicenter observational study. **Internal and Emergency Medicine**, [S. l.], v. 18, n. 2, p. 409–421, mar. 2023. Disponível em:



<https://doi.org/10.1007/s11739-022-03179-3>.

RAMACHANDRAN, G. Gram-positive and gram-negative bacterial toxins in sepsis: a brief review. **Virulence**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 213–218, 1 jan. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.4161/viru.27024>.

UMEMURA, Y.; OGURA, H.; TAKUMA, K.; FUJISHIMA, S.; ABE, T.; KUSHIMOTO, S.; HIFUMI, T.; HAGIWARA, A.; SHIRAISHI, A.; OTOMO, Y.; SAITOH, D.; MAYUMI, T.; YAMAKAWA, K.; SHIINO, Y.; NAKADA, T.-A.; TARUI, T.; OKAMOTO, K.; KOTANI, J.; SAKAMOTO, Y.; SASAKI, J.; SHIRAISHI, S.-I.; TSURUTA, R.; MASUNO, T.; TAKEYAMA, N.; YAMASHITA, N.; IKEDA, H.; UEYAMA, M.; GANDO, S.; JAPANESE ASSOCIATION FOR ACUTE MEDICINE (JAAM) FOCUSED OUTCOMES RESEARCH IN EMERGENCY CARE IN ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME SEPSIS AND TRAUMA (FORECAST) STUDY GROUP. Current spectrum of causative pathogens in sepsis: A prospective nationwide cohort study in Japan. **International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases**, [S. l.], v. 103, p. 343–351, fev. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.11.168>.

ZHANG, Y.; HU, A.; ANDINI, N.; YANG, S. A ‘Culture’ Shift: Application of Molecular Techniques for Diagnosing Polymicrobial Infections. **Biotechnology advances**, [S. l.], v. 37, n. 3, p. 476–490, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.02.013>.