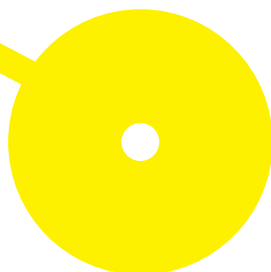




A técnica de Sonicação no diagnóstico de Infeções Associadas a Dispositivos Cardíacos Eletrónicos Implantáveis – Revisão sistemática e Meta-análise

Daniela Assunção Carneiro Araújo

09/2023





**ESCOLA
SUPERIOR
DE SAÚDE**

**A técnica de Sonicação no diagnóstico de Infecções Associadas a Dispositivos Cardíacos
Eletrónicos Implantáveis – Revisão sistemática e Meta-análise**

Autor:

Daniela Assunção Carneiro Araújo

Orientadores:

Prof. Stéphanie Lopes Ferreira/CHUdSA, ESS|P. Porto

Prof. Doutora Sandra Marlene Mota/CISA, ESS|P. Porto

Prof. Doutor João Paulo Martins/ ESS|P. Porto

Dissertação apresentada para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de **Mestre em Análises Clínicas e Saúde Pública – Ramo de Especialização em Microbiologia e Saúde Pública**, pela Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto.

Agradecimentos

Agradeço, em primeiro lugar, à professora Sandra, à professora Stephanie e ao professor João, por toda a atenção disponibilizada ao longo deste último ano. Por terem tido sempre um papel ativo na orientação desta dissertação, esclarecendo sempre as minhas dúvidas e motivando-me a fazer um bom trabalho.

Não posso deixar de agradecer, em segundo lugar, ao André, por todo o apoio, cooperação e motivação ao longo dos últimos dois anos. Agradeço-lhe por se entregar a esta causa que nos permitiu a ambos crescer e desenvolver as nossas competências pessoais.

Agradeço também aos meus pais, por me motivarem a estudar sempre mais e a enriquecer o meu percurso académico e profissional.

Gostava de agradecer às minhas colegas Liliana e Andreia, que me acompanharam lado a lado nesta jornada, partilhando as mesmas dúvidas e obstáculos, tornando todo este caminho um pouco mais fácil.

Queria ainda agradecer ao Mateus, por me acompanhar desde sempre em todas as aventuras académicas e pessoais, e por estar sempre disponível para me apoiar e motivar.

Por fim, agradeço à Mónica, à Inês, à Dora, ao Nuno e à Luana, pela amizade, pela motivação e pela distração, quando esta se mostrou necessária.

Resumo

Um dos maiores obstáculos no diagnóstico das infecções protésicas é a falta de critérios de infecção e de métodos de diagnóstico standard. Estas infecções apresentam sintomas muito variados e o seu diagnóstico pode ser dificultado pela formação de biofilmes microbianos na superfície dos implantes.

Este trabalho teve como objetivo realizar uma revisão sistemática com meta-análise, para reunir a informação disponível acerca da aplicação da sonicação no diagnóstico de infecções em Dispositivos Cardíacos Eletrónicos Implantáveis.

Foram seguidas as orientações da metodologia PRISMA e realizada uma pesquisa avançada na PubMed e Web of Science, que permitiu incluir na revisão 8 artigos, nos quais foi também realizada meta-análise.

Foi utilizado o QUADAS-2 para avaliar o risco de viés e calculadas medidas de efeito para avaliar o viés de publicação. A sensibilidade global do método foi de 0,823 (95% IC: 0,682-0,910) e a especificidade de 0,632 (95% IC: 0,506-0,743). Estes resultados sugerem que a sonicação pode oferecer vantagens no diagnóstico dessas infecções. No entanto, é crucial interpretar os resultados com cautela e considerar as recomendações do EHRA 2019.

Este estudo ressalta a importância de abordagens de diagnóstico mais eficazes para Infecções Associadas a dispositivos médicos implantáveis, visando melhorar a qualidade do tratamento e minimizar os riscos associados a essas condições médicas desafiadoras.

Palavras-chave: Sonicação; Infecções Protésicas; Biofilmes; Dispositivos Cardíacos Eletrónicos Implantáveis; Diagnóstico Microbiológico.

Abstract

One of the biggest obstacles in diagnosing prosthetic infections is the lack of infection criteria and standardized diagnostic methods. These infections present a wide range of symptoms, and their diagnosis can be hampered by the formation of microbial biofilms on the surface of implants.

The aim of this study was to carry out a systematic review with meta-analysis to gather available information on the use of sonication in the diagnosis of infections in Implantable Electronic Cardiac Devices.

The PRISMA methodology guidelines were followed, and an advanced search was carried out in PubMed and Web of Science, which enabled 8 articles to be included in the review, in which a meta-analysis was also carried out.

QUADAS-2 was used to assess the risk of bias and effect measures were calculated to assess publication bias. The overall sensitivity of the method was 0.823 (95% CI: 0.682–0.910) and the specificity was 0.632 (95% CI: 0.506–0.743). These results suggest that sonication may offer advantages in diagnosing these infections. However, it is crucial to interpret the results with caution and consider the recommendations of the EHRA 2019.

This study highlights the importance of more effective diagnostic approaches for implantable medical device-associated infections in order to improve the quality of treatment and minimize the risks associated with these challenging medical conditions.

Keywords: Sonication; Implant Associated Infections; Cardiac Implantable Electronic Devices; Biofilms; Microbiological Diagnosis.

Índice

1. Introdução.....	1
1.1. Infecções Protésicas	1
1.2. A teoria da formação de biofilme.....	3
1.3. A formação de biofilmes em dispositivos médicos	6
1.4. O diagnóstico de infecções protésicas.....	8
1.5. A técnica de Sonicação na Microbiologia Clínica.....	10
1.6. Outras técnicas para estudar biofilmes.....	12
1.7. O diagnóstico de infecções associadas aos DCEIs	13
1.8. Objetivo.....	16
2. Métodos.....	17
2.1. Critérios de elegibilidade e extração de dados.....	17
2.2. Avaliação da qualidade.....	19
2.3. Análise estatística	20
3. Resultados.....	21
3.1. Caracterização dos doentes e DCEIs incluídos nos estudos.....	22
3.2. Metodologia de diagnóstico laboratorial.....	23
3.2.1. Condições de colheita e transporte das amostras	24
3.2.2. Protocolo de sonicação	24
3.2.3. Identificação microbiana e Teste de Suscetibilidade aos Antimicrobianos.....	25
3.2.4. Avaliação da contaminação da amostra	29
3.3. Avaliação da qualidade.....	30
3.4. Meta-análise.....	32
4. Discussão.....	35
5. Conclusão.....	40
6. Referências Bibliográficas.....	41
Anexo 1 – Recomendações para o diagnóstico de Infecção Associada a DCEIs e/ou EI, segundo o EHRA 2019.....	49

Lista de siglas e abreviaturas

BGN	Bacilos Gram negativo
CDIs	Cardioversores–Desfibrilhadores Implantáveis
DCEIs	Dispositivos Cardíacos Eletrônicos Implantáveis
DMI	Dispositivos Médicos Implantáveis
DTT	Ditiotreitól
EHRA	do inglês <i>European Heart Rhythm Association</i>
EI	Endocardite Infeciosa
ESC	do inglês <i>European Society of Cardiology</i>
IACS	Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde
IBS	Infeção da Bolsa Subcutânea
IC	Intervalo de Confiança
IO	Infeções Osteoarticulares
IPs	Infeções Protésicas
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
MALDI- TOF MS	do inglês <i>Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry</i>
MeSH	do inglês <i>Medical Subject Headings</i>
NAC	N-acetilcisteína
NGS	do inglês <i>Next Generation Sequencing</i>
OCEBM	do inglês <i>Oxford Centre for Evidence-Based Medicine</i>
PCR	proteína C-reativa
PET	Tomografia por Emissão de Positrões
PRISMA	do inglês <i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses</i>
QUADAS-2	do inglês <i>Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies-2</i>
REIs	Registadores de Eventos Implantáveis
SCN	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>
SRIS	Síndrome de Resposta Inflamatória Sistémica
SPE	Substância Polimérica Extracelular
SROC	do inglês <i>summary receiver operating characteristic</i>
TC	Tomografia Computorizada
TRCs	Dispositivos de Terapia de Ressincronização Cardíaca
TSA	Testes de Suscetibilidade aos Antibióticos
TSB	do inglês <i>Trypticase Soy Broth</i>
VSV	Vórtex–Sonicação–Vórtex
18FDG	18F–fluorodesoxiglicose

Índice de tabelas

Tabela 1 - Fórmulas de pesquisa utilizadas nas bases de dados PubMed e Web of Science	17
Tabela 2 - Estudos incluídos no trabalho e respectivos doentes e amostras estudadas	22
Tabela 3 - Protocolos de sonicação utilizados nos diferentes estudos	25
Tabela 4 - Métodos utilizados para identificação das estirpes isoladas e TSA	26
Tabela 5 - Frequência relativa dos microrganismos identificados em cada estudo	28

Índice de figuras

Figura 1 – Etapas da formação de biofilme numa superfície	3
Figura 2 – (a): Componentes dos DCEI; (b): Diferentes tipos de DCEIs.....	13
Figura 3 – Esquema PRISMA do processo de seleção dos estudos	21
Figura 4 – Distribuição dos estudos de acordo com os domínios do QUADAS-2	30
Figura 5 – Gráfico em funil baseado nos valores da sensibilidade.....	31
Figura 6 – Gráfico em funil baseado nos valores da especificidade.....	32
Figura 7 – Gráfico de floresta para a sensibilidade da sonicação nos estudos incluídos.....	32
Figura 8 – Gráfico de floresta para a especificidade da sonicação nos estudos incluídos.....	33
Figura 9 – Curva SROC para o método de sonicação.....	34

1. Introdução

1.1. Infecções Protésicas

Definem-se como Dispositivos Médicos Implantáveis (DMI) aqueles que são introduzidos no corpo humano (parcial ou totalmente) com o objetivo de permanecerem implantados durante pelo menos 30 dias, podendo ser removidos apenas com intervenção médica ou cirúrgica (1). Estes dispositivos têm sido um recurso cada vez mais importante na resolução de várias patologias, podendo ser aplicados a áreas como a ortopedia, cardiologia, medicina dentária, cirurgia plástica e reconstrutiva, entre outras (2). Nos países desenvolvidos, estima-se que 6% da população já colocou um DMI para recuperar capacidades físicas ou aumentar a qualidade de vida e longevidade (3). Alguns exemplos incluem próteses valvulares, *pacemakers*, *stents* vasculares, próteses articulares, lentes intraoculares artificiais, implantes cocleares e elétrodos de estimulação cerebral profunda (4).

Os constantes avanços nas técnicas de esterilização e assepsia têm aumentado significativamente a segurança dos procedimentos cirúrgicos, no entanto, as infecções associadas à colocação de próteses e implantes continuam a ser um grave problema de saúde pública e apresentam grande morbidade e peso económico (5,6). As Infecções Protésicas (IPs) podem estar na origem de dor crónica, provocar infeções sistémicas difíceis de tratar e obrigar a cirurgias de revisão para substituição da prótese e remoção dos tecidos infetados (2). A mortalidade associada às IPs é diretamente condicionada pelo tipo de implante, sendo que os implantes intravasculares apresentam o maior risco. Estima-se que a Endocardite Infeciosa (EI) associada à colocação de próteses valvulares apresente a maior taxa de mortalidade, podendo ser superior a 25% (7). A tendência é que estes números venham a aumentar significativamente nos próximos anos devido ao envelhecimento da população e aumento das comorbilidades subjacentes (4,7). A hipótese da formação de biofilmes microbianos na superfície dos DMI pode explicar o aumento das IPs (7,8).

O diagnóstico das infeções relacionadas com a formação de biofilme é desafiante, uma vez que os microrganismos aderem às superfícies (implantes, órgãos, ossos, tecidos) e raramente se encontram em circulação na corrente sanguínea. Assim, a sua deteção é difícil em amostras obtidas por métodos menos invasivos tais como hemoculturas, drenagens do local de infeção ou amostras de líquido sinovial (2,8). A administração de antibioterapia antes da colheita das

amostras biológicas reduz também a sensibilidade no isolamento do(s) microrganismo(s) etiológico(s) da infecção (9).

Quando organizadas sob a forma de biofilme as bactérias adquirem resistência aos antibióticos e às defesas do hospedeiro. A inflamação e os danos tecidulares causados pela cirurgia e pela implantação de um corpo estranho aumentam a suscetibilidade para a colonização por microrganismos oportunistas. Assim, o tratamento das IPs é também complexo (10).

Nos últimos anos, têm sido realizados vários estudos com o objetivo de encontrar métodos de diagnóstico mais rápidos e sensíveis, e tratamentos mais eficazes para estes doentes (8,9,11). Uma das técnicas com mais destaque no estudo de IPs é a sonicação do implante, após a sua remoção cirúrgica (9,12). Esta técnica tem vindo a ser implementada na rotina laboratorial principalmente para o estudo de Infecções Osteoarticulares (IO) (12,13). No entanto, existem estudos que descrevem a sua aplicação a vários tipos de DMI, como por exemplo: próteses fonatórias (14), implantes cocleares (15), implantes mamários (16,17), cateteres venosos e geniturinários (18), implantes espinhais (19) e implantes cerebrais (20,21).

Neste contexto, este trabalho pretende avaliar a utilidade da técnica de sonicação no diagnóstico de infeções associadas a Dispositivos Cardíacos Eletrónicos Implantáveis (DCEIs).

De forma a compreender se a implementação desta técnica tem vantagens no diagnóstico em Microbiologia Clínica é fundamental discutir vários fatores e a sua possível influência nos resultados obtidos. Assim, é essencial avaliar a relação custo-benefício e evitar o desperdício de recursos, sem perder de vista o objetivo de melhorar o diagnóstico.

No estudo de IPs, o papel do hospedeiro é de grande importância. É necessário avaliar o historial clínico de cada doente, esclarecendo a influência da utilização de antibioterapia, das razões para a remoção da prótese, do número de cirurgias de revisão a que já foi submetido e do seu estado imunológico. Assim, é necessário estabelecer critérios que ajudem a clarificar em que casos a sonicação deve ser aplicada. É ainda importante conhecer as condições pré-analíticas ideais para as amostras (como acondicionamento e tempo de espera até ao processamento) e saber como adaptar o protocolo de acordo com a prótese a ser analisada. Por fim, é indispensável compreender a dinâmica dos biofilmes bacterianos, de forma a otimizar a técnica para a sua remoção. Estudos publicados na literatura indicam que a sonicação pode causar alterações bioquímicas e estruturais nos microrganismos (22). Deve ser clarificado de que forma estas alterações podem afetar a sua correta identificação e a seleção de antibióticos adequados.

1.2. A teoria da formação de biofilme

A formação de biofilme é um processo complexo que envolve várias etapas, durante as quais ocorre a transição das bactérias da sua forma livre (planctónica) para a forma sésil, capaz de formar biofilme (23). Os microrganismos que se organizam desta forma possuem mecanismos específicos que lhes permitem aderir a superfícies, desenvolver uma comunidade envolvida por uma matriz extracelular, criando um ecossistema próprio, e por fim desprenderem-se do biofilme e colonizarem novos locais (24). Este mecanismo de proteção foi uma das estratégias evolutivas desenvolvidas por algumas espécies de bactérias, permitindo-lhes lidar com as agressões do sistema imunitário do hospedeiro, de antibióticos e de outros fatores hostis do ambiente. Todo este processo é influenciado pelas condições externas de temperatura e pH, por forças gravitacionais e hidrodinâmicas, pela natureza da superfície a ser colonizada e ainda por certas moléculas de sinalização (23).

A hipótese de que as bactérias se organizam preferencialmente na forma de biofilmes nem sempre foi aceite pela comunidade médica. No entanto, com a evolução dos métodos de observação, rapidamente se percebeu que os microrganismos que causam infeções associadas a dispositivos médicos e outras infeções crónicas crescem desta forma (25). Os biofilmes bacterianos começaram então a ser associados à colonização de *pacemakers* e próteses ortopédicas, e conseqüentemente à osteomielite (26). E ainda a outras infeções crónicas tais como a tuberculose (12), a fibrose quística (25) e feridas cutâneas crónicas (24). Hoje em dia, estima-se que a formação de biofilme esteja presente em 80% das infeções microbianas (27).

O ciclo de formação de um biofilme bacteriano pode, atualmente, ser resumido em 5 etapas: adesão reversível, adesão irreversível, colonização, maturação e dispersão (23,24). Este processo está descrito na Figura 1.

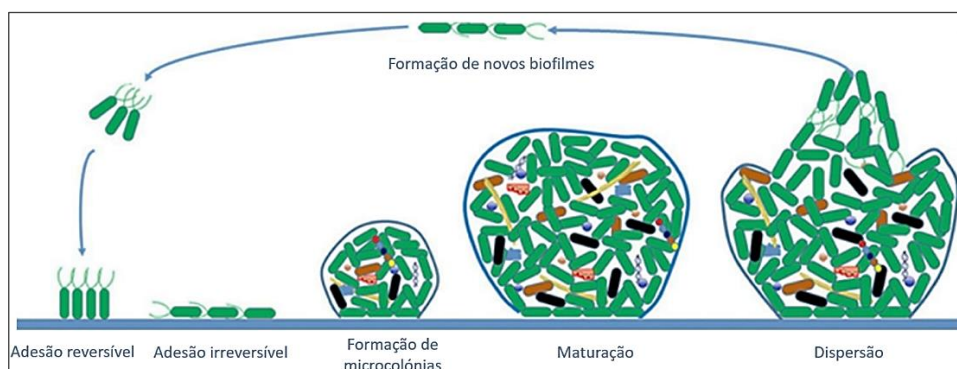


Figura 1 - Etapas da formação de biofilme numa superfície (Adaptado de Rather et al, 2021 (23))

Inicialmente, as bactérias são atraídas para as superfícies por interações eletrostáticas e hidrofóbicas, aderindo-se a estas por ligações frágeis e reversíveis, através dos seus polos. Posteriormente, alteram a sua orientação para se fixarem, irreversivelmente, à superfície. Neste processo intervêm várias moléculas importantes, responsáveis pela transformação das células planctónicas em células sésseis. O c-di-GMP é uma molécula de sinalização intracelular que inibe a motilidade bacteriana (facilitada pelos flagelos) e aumenta a produção de Substância Polimérica Extracelular (SPE). Através de estruturas presentes na membrana celular, as bactérias conseguem detetar a presença da superfície. Assim, a cada evento de adesão é secretado mais c-di-GMP, levando a que mais células bacterianas adiram irreversivelmente à superfície (23).

Posteriormente, após o processo de adesão e, devido às elevadas quantidades de c-di-GMP, o número de células bacterianas e a quantidade de SPE aumentam, levando à formação de microcolónias através da adesão célula a célula (23,28). O SPE desempenha um papel fundamental na maturação do biofilme, pois, além de participar na fase de adesão, estabiliza a estrutura tridimensional, mantendo as células unidas e protegendo-as das agressões do meio exterior (23).

Um biofilme maduro pode adquirir uma estrutura em “formato de cogumelo”, onde se cria um ecossistema próprio e em constante mudança. Dentro desta estrutura começam a formar-se subpopulações com base na densidade de células bacterianas, nutrientes disponíveis, oxigénio e gradientes químicos. Assim, as bactérias organizam-se de acordo com a sua aerotolerância e a taxa de metabolismo. Nesta fase, o biofilme é então constituído por uma mistura heterogénea de células (planctónicas, sésseis e células mortas), diferentes tipos de moléculas de sinalização, canais de água, lípidos, polissacarídeos, proteínas e DNA extracelular (23,24,29).

Por fim, o c-di-GMP regula também a etapa de dispersão do biofilme. A sua diminuição intracelular ativa novamente os genes que conferem às bactérias o seu fenótipo planctónico, como por exemplo, os genes envolvidos na formação de flagelos (24,29). Outros fatores como a temperatura e as alterações na concentração de nutrientes e oxigénio podem também iniciar o processo de dispersão. Assim, as células bacterianas desprendem-se da comunidade formada dentro do biofilme e são capazes de se fixar em novas superfícies, reiniciando o processo de colonização num novo local (24).

A formação de biofilme envolve a regulação de vários genes e é influenciada não só pelas condições do meio, mas também pelas condições dentro da própria comunidade, como já foi referido. Apesar do modelo descrito ser atualmente aceite, este possui algumas limitações. As etapas da formação de biofilme podem ser resumidas e generalizadas desta forma, porém, cada espécie bacteriana possui características únicas e diferentes mecanismos de regulação. Espécies como *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* são comumente utilizadas para estudar este processo e os seus mecanismos estão bem descritos. No entanto, estes estudos são normalmente conduzidos *in vitro*, portanto, em condições ideais para o desenvolvimento bacteriano. Assim, fica por esclarecer a influência de diversos fatores que acontecem *in vivo*, tais como o fluxo constante de novos microrganismos colonizadores, como acontece com o biofilme dentário ou em sistemas da indústria alimentar. É provável que nestes casos as várias etapas do desenvolvimento do biofilme ocorram constantemente e em simultâneo (29).

A interação dos biofilmes com o microbioma do hospedeiro também ainda não está bem elucidada (29). Sabe-se que alguns microrganismos oportunistas tais como a *Candida albicans* podem interferir nos biofilmes formados por certas bactérias, dando origem a biofilmes polimicrobianos. Estas interações alteram os fatores de virulência e os padrões de suscetibilidade aos antibióticos que as diferentes espécies apresentam (30). Na sua maioria, os estudos sobre infeção bacteriana ou sobre a formação de biofilme focam-se na dinâmica de uma única espécie. Atualmente, é relevante ter em conta a natureza polimicrobiana das doenças, principalmente para o futuro da investigação sobre os antimicrobianos (31).

O modelo de formação de biofilme descrito tem ainda outras limitações. Este não considera a grande variedade na arquitetura dos biofilmes observados na natureza, como por exemplo, a existência de "tapetes microbianos", que consistem em camadas horizontais formadas por várias espécies de microrganismos, existindo principalmente em ambientes aquáticos extremos como fontes de enxofre, nascentes termais e lagoas hipersalinas (29,32). Este modelo não tem também em conta a diversidade de formas de adesão e dispersão. Não reflete os diferentes mecanismos de adesão e dispersão de acordo com a motilidade das bactérias, nem a formação de biofilme na ausência de uma superfície de adesão (29).

O aumento das resistências aos antimicrobianos constitui um tema emergente e de grande preocupação. Os biofilmes são resistentes aos antibióticos, a desinfetantes, à fagocitose e ao

sistema imunitário do hospedeiro. A formação de células bacterianas persistentes (que permanecem na estrutura do biofilme na sua forma séssil), parece constituir uma das principais linhas de defesa contra os antibióticos. Estas células apresentam um fenótipo especializado, que se desenvolve em condições de stress desenvolvendo respostas adaptativas. As células bacterianas persistentes limitam as suas necessidades nutritivas, o seu crescimento e a sua atividade metabólica, permanecendo num estado de “dormência” e diminuindo a penetração dos antibióticos nas células. Apesar de serem fenotipicamente diferentes, estas células mantêm a sua capacidade de reprodução e dispersão. Assim quando as condições ideais se reestabelecem, conseguem multiplicar-se e formar novos biofilmes. Outros fatores, como a presença de enzimas no SPE com capacidade de modificar os antibióticos, a presença de bombas de efluxo, e os diferentes mecanismos de expressão e regulação génica existentes dentro do biofilme, também contribuem para a resistência aos antibióticos (23).

1.3. A formação de biofilmes em dispositivos médicos

A colonização de DMI por bactérias produtoras de biofilme pode ser incluída no conceito de Infecções Associadas aos Cuidados de Saúde (IACS) (33). Neste tipo de infeções, pensa-se que a contaminação inicial tenha origem na pele dos doentes e profissionais de saúde, em água contaminada ou outras fontes ambientais externas. Quando um biofilme se desenvolve nos tecidos de um hospedeiro ou em dispositivos médicos é possível que as células bacterianas que se libertam causem infeção sistémica, principalmente num hospedeiro imunocomprometido (9,24).

Os microrganismos relacionados com esta patologia são muito variados e dependem especificamente do local de infeção. Ainda assim, espécies como *S. epidermidis* e *S. aureus* são comumente associadas aos biofilmes formados em dispositivos médicos e apontadas como uma causa importante de IACS. A identificação de bactérias Gram-negativo multirresistentes como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *P. aeruginosa* está a aumentar em Unidades de Cuidados Continuados e de Cuidados Intensivos, sendo também uma causa frequente de infeções associadas à formação de biofilme, principalmente com origem em cateteres urinários (4,9,34).

Como indicado anteriormente, a implementação cirúrgica de um DMI predispõe o hospedeiro à colonização por microrganismos oportunistas e possivelmente à infeção. O processo cirúrgico leva ao contacto entre a superfície do dispositivo e a corrente sanguínea do doente,

desencadeando uma reação do seu sistema imunitário e ativando os mecanismos de coagulação (4).

Parece haver uma relação entre o risco da ocorrência de trombose e o risco de infecção após a cirurgia. Assegurar um equilíbrio hemostático na bolsa subcutânea dos *pacemakers*, por exemplo, tem demonstrado uma redução das infecções pós-operatórias. A hipótese de que formação de coágulo aumenta a capacidade de aderência das bactérias pode explicar este fenómeno. Consequentemente, a formação de biofilme ativa a cascata da coagulação, aumentando a formação de trombo. Mais concretamente, já foi demonstrado que existe uma ligação dos recetores bacterianos à fibrina que reveste os DMI, produzida através dos mecanismos de coagulação do hospedeiro. O *S. aureus*, por exemplo, utiliza esta fibrina na matriz do seu biofilme (4).

A resposta inflamatória do hospedeiro à implantação de um DMI causa danos no tecido circundante. A presença de um material estranho parece ativar o Sistema Complemento, resultando numa infiltração constante de células polimorfonucleares, no entanto, estas não conseguem fagocitar o elemento estranho. Este processo leva ao derramamento do conteúdo bactericida e citotóxico dos polimorfonucleares, resultando em inflamação e destruição local persistente. O *stress* que é assim causado nas células do sistema imunitário reduz também a sua eficácia contra as bactérias que se vão instalando no local. Os biofilmes têm um efeito semelhante ao do corpo estranho nas células polimorfonucleares, pois devido à sua estrutura, os macrófagos não conseguem fagocitar as bactérias que os compõe (4,35).

Como descrito anteriormente, a etapa final da formação de biofilme é a disseminação das células bacterianas. As bactérias que se desprendem do biofilme que coloniza um DMI podem causar infecção sistémica no hospedeiro. Se esta disseminação ocorrer através da circulação sanguínea, pode rapidamente levar a choque séptico e à morte do doente. Este cenário verifica-se mais frequentemente no caso dos implantes intravasculares, já referidos anteriormente como tendo a maior taxa de mortalidade. No caso dos implantes extravasculares (como os osteoarticulares), a infecção é de progressão mais lenta e a disseminação das células bacterianas pode ocorrer numa fase mais tardia. Deste modo, as células bacterianas persistentes conseguem criar seletividade, sobrevivendo à antibioterapia e ao sistema imunitário do hospedeiro, levando a infecções crónicas latentes (4,35).

1.4. O diagnóstico de infecções protésicas

As IPs são muitas vezes de natureza crónica e recidivante e os seus sintomas podem ser muito variados (13). Assim, um dos maiores obstáculos no seu diagnóstico e tratamento é a falta de critérios de infeção e de métodos de diagnóstico *standard* (4).

A Síndrome de Resposta Inflamatória Sistémica (SRIS) consiste numa resposta desregulada do sistema imunitário a um estímulo, que pode ser ou não de origem infecciosa. Quando há suspeita de causa infecciosa pode adotar-se o termo sépsis. O diagnóstico de SIRS pode ser feito pela satisfação de dois dos seguintes critérios: a) temperatura corporal superior a 38 °C ou inferior a 36 °C; b) taquicardia (ritmo cardíaco superior a 90 batimentos por minuto), Ritmo respiratório anormal (taquipneia ou hiperventilação); c) contagem anormal de leucócitos (leucocitose, leucopenia ou presença de neutrófilos em banda) (36,37).

Um paciente com manifestações que coincidam com os critérios de SRIS, e no qual a única origem possível de infeção é um DMI (ou seja, não há evidências clínicas de qualquer outro tipo de infeção), pode encaixar numa possível definição de sépsis associada a um DMI. No entanto, esta definição pode implicar uma alta taxa de falsos positivos, levando a intervenções desnecessárias e potencialmente prejudiciais. Além disso, em muitos casos as manifestações das IPs são muito subtis ou acontecem em doentes imunocomprometidos que não têm a capacidade de formar uma resposta completa de SRIS (4).

Uma das maiores complicações em cirurgias de reconstrução mamária, por exemplo, é a calcificação da cápsula do implante, que previamente se pensava ocorrer por causas não infecciosas, mas atualmente já se sabe que pode acontecer devido a colonização microbiana (16). O mesmo se verifica em alguns casos de falha da fixação das próteses osteoarticulares (38). Estes casos muito subtis de infeção mascaram a verdadeira prevalência das IPs (4).

Apesar dos progressos que têm sido feitos no estudo destas infeções, o seu diagnóstico continua a apresentar uma baixa sensibilidade, pelos desafios já mencionados e devido à formação de biofilme (2). Atualmente, não existem marcadores específicos que indiquem a presença de biofilme, nem de infeção associada a um DMI (4).

Alguns marcadores de infeção como a velocidade de sedimentação eritrocitária e a proteína C-reativa (PCR), têm vindo a ser considerados no estudo de IPs, no entanto estes carecem de especificidade e são pouco úteis no diagnóstico destes doentes (4).

As técnicas de imagiologia continuam a ser uma ferramenta útil no diagnóstico de infeções, apesar das suas limitações e contra-indicações (39).

A Tomografia por Emissão de Positrões (PET) pode ser utilizada na deteção de atividade metabólica através da utilização do 18FDG (18F-fluorodesoxiglicose) como contraste. Esta substância é administrada antes do exame e contém moléculas de glicose ligadas a átomos de flúor radioativo, que são absorvidas pelas células tal como acontece normalmente com a glicose. No entanto, este método não é específico para detetar infeção nem formação de biofilme, uma vez que algumas células inflamatórias e cancerígenas também absorvem o 18FDG, mas é útil como ferramenta complementar de diagnóstico (39).

Outra técnica que pode ser útil no diagnóstico de infeção é a marcação de leucócitos com radiofármacos e posterior análise por Tomografia Computorizada (TC). Estes leucócitos migram normalmente para as áreas onde há infeção ou inflamação, permitindo através da imagiologia identificar estes focos e a sua extensão. Este método pode ser mais sensível do que o 18FDG em casos de infeção crónica por biofilmes com baixa atividade metabólica (39,40).

A deteção de infeção através de hemoculturas pode ser difícil no caso das IPs. Os DMI extravasculares têm uma vasta superfície que não está em contacto direto com a circulação sanguínea originando apenas infeção dos tecidos locais, para além disso, alguns biofilmes conseguem persistir no local sem originar bacteriemia (2,4).

A cultura dos tecidos circundantes do DMI ou de fluidos (como líquido sinovial), apresentam também baixa sensibilidade e os seus resultados podem não ser representativos da população bacteriana do biofilme (4).

As técnicas de *multiplex PCR* têm sido estudadas na tentativa de detetar genes de virulência, que podem ser úteis no diagnóstico de infeções associadas a biofilme, como por exemplo o operão *ica*. Em algumas espécies de *Staphylococcus* o operão *ica* codifica um conjunto de genes que regulam a produção do polissacarídeo responsável pela adesão célula-a-célula durante a formação do biofilme (41). No entanto, este método não contempla as espécies que não são reguladas pelo operão *ica*. Além deste problema, as técnicas de biologia molecular, pela sua elevada sensibilidade podem também levar a falsos positivos, particularmente no caso de colonização benigna (4).

As células bacterianas planctônicas, ao contrário das células sésseis associadas ao biofilme, crescem mais facilmente em culturas por métodos convencionais, no entanto, estudar as bactérias sésseis do biofilme pode ser de relevância no diagnóstico (42). Nas técnicas estudadas para remover biofilme, o objetivo é desprender as células aderentes da sua estrutura multicelular, desta forma a eficiência na recuperação das bactérias e a sensibilidade da identificação pode ser aumentada (2). Várias técnicas têm sido testadas neste sentido, incluindo técnicas mecânicas (como a sonicação, agitação por vortéx, tratamento com ondas de choque), bioquímicas (tratamento com enzimas ou outras substâncias com a capacidade de bloquear os mecanismos de formação de biofilme) e regulação genética (42).

1.5. A técnica de Sonicação na Microbiologia Clínica

Atualmente, a utilização de ultrassons tem sido o recurso mais estudado para recuperar bactérias aderentes a vários tipos de implantes (42). Na técnica de sonicação são utilizadas ondas de ultrassom de baixa frequência para desprender as células bacterianas do biofilme, de forma a melhorar o crescimento bacteriano antes da cultura (2,43).

Os ultrassons de alta frequência são já amplamente utilizados na medicina para fins terapêuticos e diagnósticos. As ondas de baixa frequência têm sido também utilizadas, além do estudo dos biofilmes, para limpeza dos instrumentos médicos (42).

A utilização da sonicação não se restringe à medicina. A sua aplicação estende-se à limpeza de objetos (joalheria, máquinas de processamento de alimentos e fármacos), à utilização em laboratórios e nas indústrias de cosmética, laticínios, farmacêutica, entre outras, para dissolver, homogeneizar ou emulsificar soluções, ou para lisar células e membranas permitindo libertar o seu conteúdo (44,45)

O princípio da sonicação parece basear-se num fenómeno denominado de cavitação acústica (13). Quando se propagam num meio líquido, as ondas sonoras criam áreas de baixa pressão e alta pressão. Nas zonas de baixa pressão formam-se bolhas microscópicas que de seguida colapsam nas zonas de alta pressão, libertando uma grande quantidade de energia (46). Quando um DMI é mergulhado num meio líquido e submetido a sonicação, a agitação causada pelas ondas sonoras e a energia libertada na sua superfície causam uma ação semelhante a limpeza a vácuo, sendo possível libertar as células bacterianas aderidas a esta superfície (13).

A frequência das ondas ultrassônicas afeta o tamanho das bolhas formadas e consequentemente a energia libertada. A frequências mais baixas (20–40 kHz), formam-se bolhas maiores gerando grandes quantidades de energia quando colapsam. A frequências mais altas (512–580 kHz), formam-se bolhas menores que colapsam libertando menos energia. O tempo de aplicação das ondas afeta a viabilidade e a quantidade de células bacterianas recuperadas (46).

Alguns estudos indicam que a frequência ideal para desalojar bactérias de um biofilme é entre 20 e 38 kHz, no entanto, com um tempo de exposição superior a 15 minutos a quantidade de microrganismos recuperados começa a diminuir significativamente (46). No diagnóstico de IO têm sido utilizadas frequências entre 40 e 60 kHz, com tempos de exposição entre 1 e 30 minutos (47).

Como referido anteriormente, na Microbiologia Clínica a sonicação tem sido aplicada maioritariamente no estudo de IO (13). Na literatura existem já vários estudos sobre a sonicação de implantes osteoarticulares. Recentemente foi publicado um estudo de meta-análise, cujo objetivo foi avaliar a precisão da sonicação no estudo de IO (sendo incluídas próteses articulares da anca, joelho, ombro e cotovelo). Neste trabalho, os autores consideraram que a sonicação das próteses é favorável no diagnóstico deste tipo de infeções, no entanto, alguns resultados são ainda inconsistentes e é necessário continuar a aperfeiçoar o método (48).

Um trabalho semelhante foi também realizado acerca da aplicação da sonicação ao diagnóstico de infeções no pós-operatório de neurocirurgias. Neste estudo foram sonicados drenos de derivação ventriculoperitoneal e derivação ventricular externa, parafusos de fusão espinhal e parafusos de fixação utilizados em cranioplastias. Os resultados deste trabalho demonstraram uma maior sensibilidade da sonicação em relação aos métodos convencionais (zaragatoas e culturas de tecido). No entanto, a sonicação demonstrou uma menor especificidade levando os autores a concluir que esta é uma ferramenta útil no estudo destas infeções, e no futuro será de grande valor no campo da neurocirurgia, porém não deve ser considerada ainda como método único de diagnóstico (43).

Os estudos sobre a aplicação da sonicação a outros tipos de DMI apresentam conclusões semelhantes aos trabalhos realizados nas áreas de ortopedia e neurocirurgia. Um estudo-de-caso sobre a colonização de um implante coclear por *S. aureus* descreveu que se obtiveram melhores resultados através da sonicação do implante do que pela amostra colhida por

zaragatoa da superfície do mesmo (da qual se obteve muito pouco crescimento tendo sido considerada a hipótese de contaminação com a flora comensal da pele). Os autores consideram que a formação de biofilme explica estes resultados, bem como a observação, durante a cirurgia, de cápsula fibrosa à volta do implante com tecido de granulação e presença de uma substância gelatinosa (15). Estudos sobre a sonicação de implantes mamários demonstram que a colonização bacteriana destes implantes pode estar na origem da sua rejeição e da formação de calcificação capsular, e suportaram a maior sensibilidade da sonicação em relação às zaragatoas e culturas de tecido (16,17). No entanto, ao contrário do que acontece com as IO, não existem ainda métodos de diagnóstico *standard* nem critérios de infeção bem elucidados para os restantes tipos de DMI. O desenho destes estudos implica também menor evidência científica, não existindo ainda estudos de revisão sistemática ou meta-análise acerca destes temas.

O método de sonicação requer várias etapas desde a remoção cirúrgica de um DMI até à obtenção de culturas bacterianas. Este processo pode aumentar o risco de contaminação, levando a resultados falsamente positivos. Os longos períodos de incubação são também uma desvantagem deste método, não permitindo por vezes a obtenção de resultados em tempo útil, para iniciar a antibioterapia (2).

1.6. Outras técnicas para estudar biofilmes

Na tentativa de resolver as limitações da sonicação, outros métodos têm vindo a ser estudados. As técnicas para remoção de biofilme com base em substâncias químicas têm apresentado bons resultados como é o caso do Ditiotreitól (DTT) e da N-acetilcisteína (NAC) (49). O DTT é um agente redutor que tem a capacidade de desnaturar as proteínas rompendo as ligações dissulfureto. A NAC é conhecida no tratamento de doenças respiratórias devido às suas propriedades mucolíticas e antioxidantes. No laboratório de microbiologia estes agentes já são utilizados em algumas soluções, para descontaminar e liquidificar amostras de expectoração ou lavados brônquicos. A NAC, por exemplo, em conjunto com o Hidróxido de Sódio é utilizada para melhorar a sensibilidade da cultura para pesquisa de *Mycobacterium tuberculosis* (50,51).

Num estudo de comparação entre a utilização de NAC, DTT e sonicação no diagnóstico de IO, os autores consideraram que pela utilização da sonicação e de DTT houve uma maior recuperação de microrganismos do que utilizando a NAC. O DTT apresentou vantagens em relação à sonicação, pois é um método de execução mais fácil, requer menor manipulação das amostras e é menos dispendioso (50). Um estudo mais recente de meta-análise demonstra que o DDT e a

sonicação apresentam sensibilidades semelhantes no diagnóstico destas infecções. A escolha do método deve ser feita considerando as condições de cada laboratório, o risco de contaminação durante a manipulação das amostras e o custo de cada método (49).

1.7. O diagnóstico de infecções associadas aos DCEIs

Os DCEIs são equipamentos médicos implantados com o objetivo de regular e/ou monitorizar o ritmo cardíaco. Nesta categoria incluem-se os *pacemakers*, Cardioversores–Desfibriladores Implantáveis (CDIs), Dispositivos de Terapia de Ressincronização Cardíaca (TRCs) e os Registadores de Eventos Implantáveis (REIs) (52,53).

Por norma, os DCEIs são constituídos por um gerador de pulsos elétricos e um ou mais eletrocateres que conectam o gerador ao interior das cavidades cardíacas, como se pode observar na Figura 2(a) (52). Na Figura 2(b) encontram-se alguns exemplos dos diferentes tipos de DCEIs existentes no mercado.

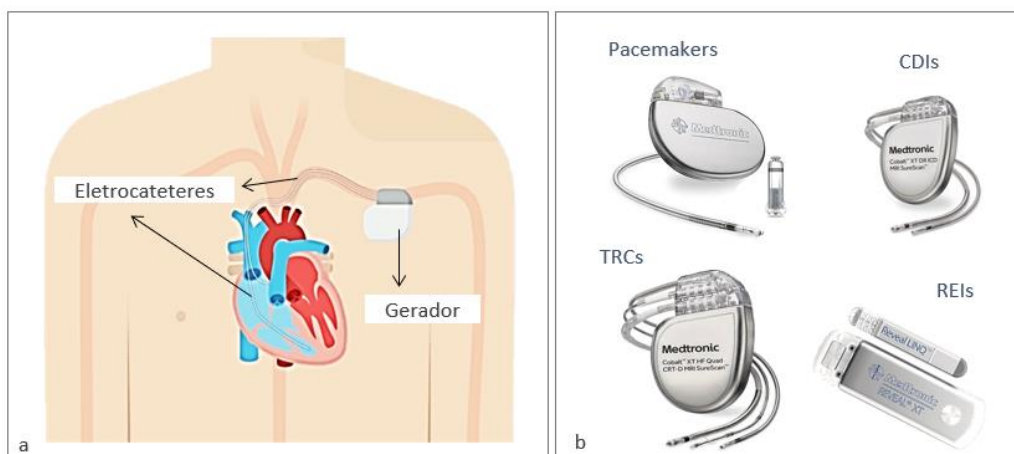


Figura 2 - (a): Componentes dos DCEI; (b): Diferentes tipos de DCEIs. (Adaptado de Medtronic Inc., Disponível em: <https://europe.medtronic.com/xd-en/healthcare-professionals/products.html>; Data de acesso: 30/08/2023)

Os REIs diferem dos restantes DCEIs, pois são apenas equipamentos de diagnóstico e não necessitam de eletrocateres pois não geram corrente elétrica. Estes possuem menores dimensões, sendo implantados na camada subcutânea através de uma pequena incisão na pele, tratando-se de um procedimento rápido e pouco invasivo. O seu objetivo é monitorizar continuamente o ritmo cardíaco e detetar arritmias, podendo permanecer implantados durante 3-5 anos (53,54).

Atualmente, já existem também *pacemakers* de tamanho reduzido que não necessitam de eletrocateres, uma vez que são diretamente implantados no miocárdio, como por exemplo o Medtronic Micra™ (55,56).

Apesar de apresentarem características semelhantes, os *pacemakers*, CDIs e TRCs são recomendados em diferentes patologias. Os *pacemakers* são normalmente prescritos para melhorar a qualidade de vida (57). Estes garantem uma normal hemodinâmica estabelecendo um ritmo estável e resposta cardíaca adequada (52). Os CDIs pelo contrário, são indicados em doentes que sofrem de taquicardia ou fibrilação ventricular, prevenindo eventos de morte súbita (57). Os TRCs incluem as vantagens dos *pacemakers* e podem também incluir as funções dos CDIs (52). Adicionalmente, corrigem casos de dissincronia ventricular. Desta forma aliviam os sintomas de insuficiência cardíaca (52,57).

O gerador de pulsos elétricos consiste num invólucro de metal, que contém a bateria, utilizada para produzir corrente elétrica e um microprocessador que interpreta o ritmo cardíaco e controla a produção dos impulsos. Por norma, os geradores são implantados numa bolsa subcutânea ou submuscular, na região peitoral ou abdominal (52,56). Os eletrocateres, que conectam o gerador ao interior das cavidades cardíacas, consistem em cateteres transvenosos com elétrodos de alta voltagem, que descarregam os impulsos do gerador diretamente no músculo cardíaco. O seu número e o local de fixação no interior das cavidades variam de acordo com o tipo de dispositivo e patologia a tratar (52).

As principais complicações deste tipo de sistemas estão então relacionadas com os eletrocateres ou com a bolsa subcutânea do gerador (56). Os eletrocateres podem sofrer deslocamentos mecânicos, quebras e desgaste levando a perda de comunicação com o gerador. Podem ainda potenciar o risco de endocardite ou causar oclusão venosa, obstruindo o fluxo sanguíneo (56,58). A localização subcutânea do gerador pode também originar complicações como hematoma, erosão da pele sobre o dispositivo e infeção da bolsa subcutânea (56,59).

De forma a atualizar o estado da arte acerca das infeções associadas a DCEIs, a Sociedade Europeia de Cardiologia (ESC do inglês *European Society of Cardiology*) criou em 2019 um documento de consenso internacional, que reflete o esforço conjunto de várias organizações para a definição de normas gerais a aplicar na gestão destas infeções: *“European Heart Rhythm Association (EHRA) consensus document on how to prevent, diagnose, and treat cardiac implantable electronic device infections”*. O objetivo deste documento é descrever o conhecimento atual sobre o risco das infeções associadas a DCEI e auxiliar os profissionais de saúde na tomada de decisão em relação à sua prevenção, diagnóstico e gestão, fornecendo informações atualizadas sobre as estratégias mais recentes e mais eficazes (60).

As infecções associadas a DCEIs podem então ser locais, como a infecção local da bolsa subcutânea do gerador, ou evoluir para infecção sistêmica e/ou endocardite infecciosa (EI) (60).

A Infecção da Bolsa Subcutânea (IBS) define-se como infecção local e limitada à bolsa do gerador, com sinais de inflamação que podem ser inicialmente ligeiros como eritema, aumento da temperatura local e deformações no revestimento da bolsa (60,61). Estes são sinais de uma infecção indolente e de baixo grau. Apesar destes sinais e sintomas poderem variar, e serem de difícil interpretação, não é aconselhável numa fase inicial recolher amostras do local de infecção. Posteriormente, se houver adesão da pele ao equipamento e deiscência da ferida cirúrgica com drenagem purulenta a IBS é clara. Pode ser então colhido material da bolsa para análise microbiológica. Se houver erosão da pele com consequente exposição do dispositivo, deve ser considerada a sua contaminação, independentemente dos resultados da microbiologia (60).

A IBS pode estar associada à infecção dos electrocateteres, a infecções sistêmicas associadas a DCEI e a EI, no entanto, estas manifestações podem também ocorrer sem associação da IBS. O diagnóstico destes casos é difícil uma vez que os sintomas são muito inespecíficos (febre, arrepios, suores noturnos) e podem manifestar-se apenas depois de longos períodos após a implantação de um DCEI (60).

Não existem critérios *standard* para o diagnóstico de endocardite associada aos DCEIs (60). Os critérios de *Duke* modificados (62) e os critérios de 2015 da ESC (63) têm sido aceites, no entanto estes não representam ferramentas *standard* nem estão validadas para estes casos específicos de infecção (60). A fim de aumentar a sensibilidade deste diagnóstico, o EHRA 2019 propõe a fusão dos critérios de *Duke* modificados e da ESC, e ainda alguns critérios adicionais (60).

O EHRA 2019 define um diagnóstico definitivo ou possível de Infecção Associada a DCEIs ou EI, e a sua rejeição, através da satisfação de Critérios *Major* (microbiológicos e imagiológicos) e outros Critérios *Minor*. O algoritmo de diagnóstico pode ser consultado no Anexo I (60).

A identificação dos microrganismos causadores de infecção é fundamental para uma antibioterapia eficaz. Assim, de acordo com o EHRA 2019, devem ser feitos esforços para obter culturas antes do início da antibioterapia (60).

A colheita de múltiplas amostras de hemocultura, em diferentes intervalos de tempo, permite a distinção entre bacteriemia transitória e persistente, aumentando a sensibilidade do diagnóstico. Em casos de suspeita de IE e/ou hemoculturas consecutivamente negativas o aumento do seu

tempo de incubação e a utilização de métodos de biologia molecular podem ser úteis na detecção de microrganismos fastidiosos ou atípicos (60).

A colheita de zaragatoas, para cultura de material de drenagens ou fístulas, é desaconselhada (60). A cultura através de zaragatoas nunca é recomendável no diagnóstico de infeções associadas aos DMI pela sua baixa sensibilidade em comparação com outros métodos, como a cultura de tecidos, por exemplo. Além disso, estas amostras são facilmente contaminadas com microrganismos da flora comensal da pele, podendo levar a um diagnóstico incorreto (2). Pelo contrário, a cultura de tecidos é então incentivada (2,60). A colheita de amostras de tecido da bolsa subcutânea é útil na identificação bacteriana em casos de IBS (60).

Segundo o EHRA 2019, em casos com sinais de infeção, mas sem crescimento bacteriano após 3 dias de incubação, deve ser considerada a possibilidade de se tratar de um microrganismo de crescimento fastidioso, como *Propionibacterium acnes*, por exemplo, e deve ser aumentado o tempo de incubação. A sonicação dos DCEI, dos eletrocateres e do tecido adjacente, após a remoção do dispositivo, pode ser útil nestes casos. No entanto, esta técnica ainda está sob observação, podendo ser utilizada se os resultados forem interpretados cuidadosamente (60).

Os métodos imagiológicos são também de grande importância na monitorização dos doentes com DCEI. A Ecocardiografia é o método de primeira linha para identificar o aparecimento de vegetações (massas ou crescimentos anormais) nos eletrocateres ou nas cavidades cardíacas. Após a identificação de uma possível vegetação deve ser feita uma avaliação cuidadosa de forma a descartar uma causa infecciosa e distinguir entre uma vegetação bacteriana ou um trombo. A realização de biópsias transvenosas tem sido também uma ferramenta útil para esta distinção (60).

1.8. Objetivo

O presente estudo tem por objetivo a realização de uma revisão sistemática da literatura com meta-análise, que pretende reunir e avaliar a qualidade da informação disponível acerca da utilização da sonicação no diagnóstico de infeções associadas aos DCEIs.

2. Métodos

2.1. Critérios de elegibilidade e extração de dados

Para conduzir este estudo foram seguidas as orientações da metodologia PRISMA (do inglês *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*). A metodologia seguida foi previamente registada no repositório de protocolos de pesquisa de revisões sistemáticas *Prospero* com o número de identificação CRD42023444537.

De forma a identificar os estudos relevantes para esta revisão, foi realizada uma pesquisa avançada nas bases de dados *PubMed* e *Web of Science* utilizando variações das palavras-chave definidas para este estudo. As fórmulas de pesquisa utilizadas encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 – Fórmulas de pesquisa utilizadas nas bases de dados *PubMed* e *Web of Science*

Base de Dados	Fórmula de Pesquisa	Resultados
PubMed	("Sonication"[MeSH Terms] AND "Cardiac Surgical Procedures"[MeSH Terms]) OR ("Sonication"[MeSH Terms] AND "heart, artificial"[MeSH Terms]) OR ("Sonication"[MeSH Terms] AND "pacemaker, artificial"[MeSH Terms]) OR ("Biofilms"[MeSH Terms] AND "Cardiac Surgical Procedures"[MeSH Terms]) OR ("Biofilms"[MeSH Terms] AND "heart, artificial"[MeSH Terms]) OR ("Biofilms"[MeSH Terms] AND "pacemaker, artificial"[MeSH Terms])	43
	#1 (ALL=(Sonication) AND ALL=(Pacemaker)) OR (ALL=(Biofilm) AND ALL=(Pacemaker))	82
	#2 (ALL=(Sonication) AND ALL=(Artificial Heart)) OR (ALL=(Biofilm) AND ALL=(Artificial Heart))	55
Web of Science	#3 (ALL=(Sonication) AND ALL=(Cardiac Implantable Devices)) OR (ALL=(Biofilm) AND ALL=(Cardiac Implantable Devices))	45
	#4 (ALL=(Sonication) AND ALL=(Cardiac Electronic Devices)) OR (ALL=(Biofilm) AND ALL=(Cardiac Electronic Devices))	37
	#5 (ALL=(Sonication) AND ALL=(Cardiac Surgical Procedures)) OR (ALL=(Biofilm) AND ALL=(Cardiac Surgical Procedures))	5
	#6 (ALL=(Sonication) AND ALL=(Cardiac Resynchronization Therapy Devices)) OR (ALL=(Biofilm) AND ALL=(Cardiac Resynchronization Therapy Devices))	2
	#7 #1 OR #2 OR #3 OR #4 OR #5 OR #6 and Review Article (Exclude – Document Types)	126

Na *PubMed* foram utilizados os termos MeSH (do inglês *Medical Subject Headings*), que permitiram englobar na pesquisa o máximo de termos relevantes, alcançando assim um maior número de estudos. Com o mesmo propósito, para a base de dados *Web of Science*, foram incluídos na pesquisa alguns termos sinónimos.

Esta pesquisa foi realizada à data de 31/07/2023. Os artigos obtidos por estas pesquisas foram exportados para o *software* de gestão de referências bibliográficas *Mendeley Reference Manager*, que permitiu eliminar automaticamente os artigos duplicados (que se encontravam nas duas bases de dados).

De forma a garantir o rigor científico da revisão sistemática, foram definidos *a priori* os critérios de inclusão e exclusão de artigos, de acordo com as normas PRISMA.

A seleção dos estudos elegíveis para este trabalho foi realizada por dois autores, de forma independente, através da análise do título e resumo dos artigos, sendo incluídos todos os registos publicados nas bases de dados *PubMed* e *Web of Science*, escritos em inglês, português ou espanhol, sem restrições quanto à data de publicação, e cujo tema estava relacionado com a questão em estudo. Após a leitura dos títulos e resumos, foram ainda excluídos todos os registos sobre estudos em modelos animais, artigos de revisão bibliográfica, livros, artigos de opinião e artigos sobre ensaios *in vitro*.

Após esta triagem, foi realizada uma análise do texto integral de todos os artigos, de forma a incluir apenas os artigos que respeitassem os seguintes critérios:

- Estudos cujo principal objetivo é descrever os resultados obtidos pela utilização da técnica de sonicação para análise microbiológica de DCEIs, incluindo: *pacemakers*, CDIs, TRCs e REIs, e os seus respetivos eletrocateteres.
- Artigos que descrevessem os procedimentos utilizados desde a remoção cirúrgica do dispositivo até à sua análise no laboratório de microbiologia. Estes deveriam ainda descrever a razão pela qual foi removido cada dispositivo, bem como as condições clínicas de cada doente estudado, incluindo-se:
 - Remoção do dispositivo devido à existência de uma infeção local ou sistémica conhecida;
 - Remoção do dispositivo por suspeita de infeção ou colonização com manifestações clínicas inespecíficas;
 - Remoção do dispositivo por outras razões, não relacionadas com a suspeita de infeção, como por exemplo para atualização do equipamento, por falhas no seu funcionamento e para troca de bateria, sendo o dispositivo retirado analisado para avaliar possível colonização sem manifestações clínicas.

- Artigos que descrevessem os procedimentos adotados no laboratório de microbiologia, incluindo: protocolo de sonicação utilizado; condições de incubação das culturas; métodos utilizados para identificação dos microrganismos e critérios utilizados para interpretação dos resultados.
- Estudos que utilizassem os métodos tradicionais para cultura (em placa) e identificação dos microrganismos, excluindo-se os métodos moleculares.
- Artigos que incluíssem a informação necessária para calcular a sensibilidade e especificidade observadas para o método de sonicação.

Foram excluídos todos os artigos que não relatam a utilização da intervenção de interesse, ou seja, da sonicação em DCEIs retirados cirurgicamente, com o objetivo de diagnosticar infecção.

Todo o processo de seriação dos artigos a incluir nesta revisão encontra-se esquematizado num diagrama de fluxo proposto pelo PRISMA, que pode ser encontrado na secção dos resultados (Figura 3).

Aos artigos incluídos nesta revisão sistemática, após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, foi também realizada meta-análise.

A informação obtida pela análise detalhada de cada artigo foi extraída para um documento do *Microsoft® Excel*. Foi registado: o título, autor e ano de publicação de cada artigo; grupos de doentes e de dispositivos estudados; o protocolo de sonicação utilizado; os métodos convencionais que foram comparados com a sonicação; os resultados e limitações de cada estudo.

2.2. Avaliação da qualidade

Para estimar o risco de viés dos estudos considerados elegíveis recorreu-se à ferramenta QUADAS-2 (do inglês *Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies-2*) (64). Esta metodologia avalia quatro domínios (seleção dos doentes, teste índice, padrão de referência e fluxo de doentes), quanto ao risco de viés e a aplicabilidade do teste (para os primeiros três domínios). O teste índice corresponde então ao método de sonicação. O padrão de referência foi considerado como uma correta definição de infecção (IBS ou EI) ou a sua ausência, segundo os critérios do EHRA 2019. Esta avaliação foi realizada por dois autores, de forma independente, sendo as inconsistências resolvidas através de consenso.

O Viés de Publicação foi avaliado através do desenho dos gráficos em funil, pelo *Software R*, separadamente para a sensibilidade e para a especificidade, de acordo com o método *Trim and Fill* (65), de forma a avaliar a simetria dos estudos incluídos e o número de estudos omissos, se aplicável.

2.3. Análise estatística

Foram calculadas medidas de efeito para os resultados obtidos (sensibilidade e especificidade). Os resultados dos verdadeiros-positivos, falsos-positivos, verdadeiros-negativos e falsos-negativos, foram organizados num ficheiro *Excel* e convertidos para o *Software R*, onde foram realizados os cálculos de sensibilidade e especificidade do método de sonicação para detetar infeções associadas aos DCEI. Se algum dos resultados foi equivalente a 0 o valor 0,5 foi adicionado. Foi calculada a sensibilidade e especificidade para cada estudo, apresentando-se os resultados nos gráficos de floresta gerados pelo *Software R* (66). Para estimar um valor médio para a sensibilidade e especificidade, a partir dos estudos individuais, foi utilizado um modelo bivariado (67). A heterogeneidade entre estudos foi avaliada pela estatística I^2 (68). Os Intervalos de Confiança (IC) foram calculados através do *Software R* utilizando o ajustamento de *Knapp and Hartung* para meta-análises com um pequeno número de estudos (69).

Através dos valores de sensibilidade e taxa de falsos positivos, foi traçada a curva SROC (do inglês *summary receiver operating characteristic*), para avaliar o desempenho da sonicação no diagnóstico de Infeções Associadas a DCEIs (70).

3. Resultados

As pesquisas avançadas nas bases de dados selecionadas permitiram encontrar 169 registos. Destes, 43 foram localizados através da *PubMed* e 126 pela *Web of Science*.

Na Figura 3 encontra-se uma adaptação do diagrama proposto pelo PRISMA, que descreve o processo de seleção dos estudos.

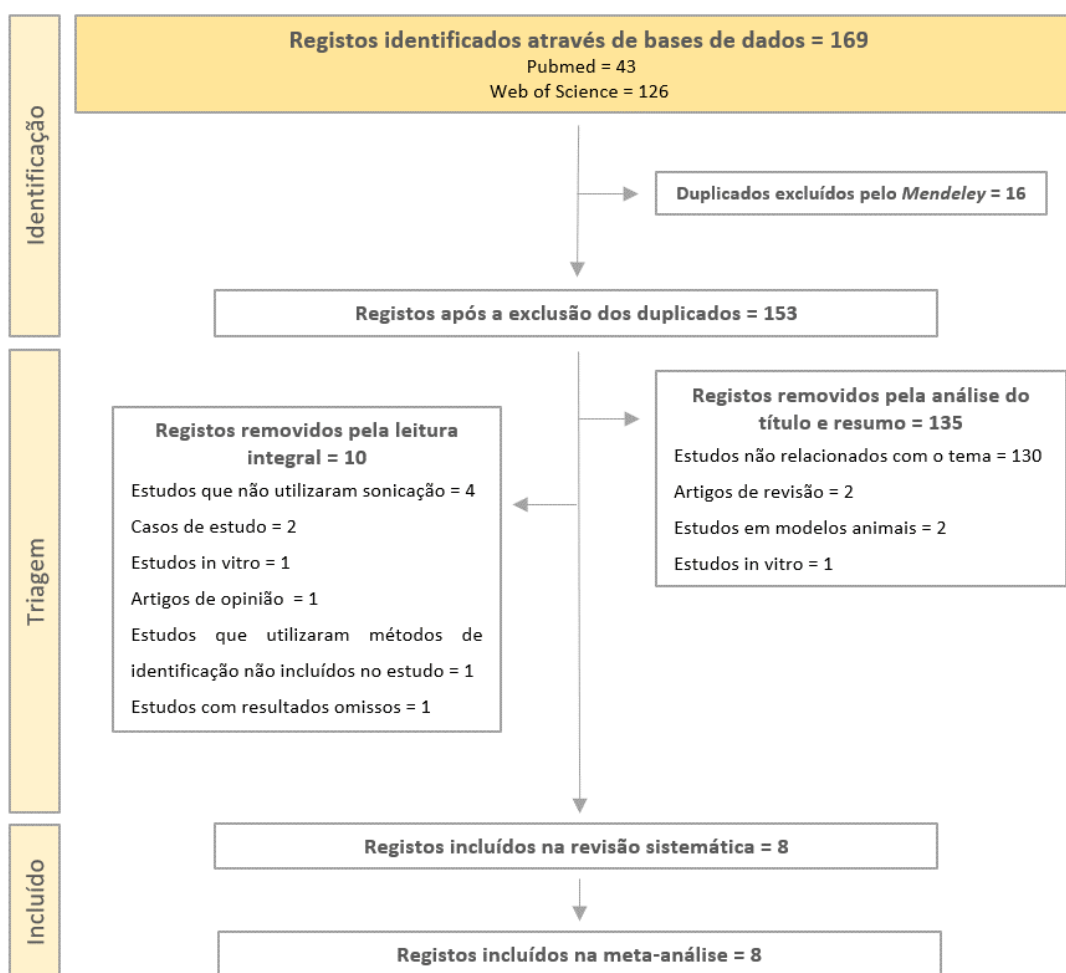


Figura 3 - Esquema PRISMA do processo de seleção dos estudos

Dos 169 artigos encontrados, foram eliminados pelo *software Mendeley* 16 duplicados. Durante o processo de triagem dos artigos, foram analisados cuidadosamente os seus títulos e resumos, excluindo-se assim 130 registos por não estarem relacionados com o tema em questão. Foram ainda excluídos 2 artigos de revisão, 2 estudos em modelos animais e 1 estudo *in vitro*. Em 18 artigos foi realizada uma análise do texto integral, a partir da qual se excluíram 10 artigos: 1 estudo *in vitro*; 1 artigo de opinião; 4 estudos nos quais não foi utilizada a técnica de sonicação ou esta não foi utilizada em DCEIs; 2 casos de estudo; 1 artigo que não utilizava os métodos de cultura

tradicionais (em placa) após a sonicação dos implantes; 1 artigo no qual não foi possível aceder aos resultados da sonicação para todos os doentes.

Assim, após serem aplicados todos os critérios de inclusão e exclusão, foram abrangidos na revisão sistemática da literatura 8 artigos, nos quais foi também realizada meta-análise.

Na presente revisão sistemática da literatura foram incluídos 8 artigos científicos que têm o objetivo comum de estudar o potencial da técnica de sonicação para melhorar o diagnóstico de infeções associadas a DCEIs.

3.1. Caracterização dos doentes e DCEIs incluídos nos estudos

Os doentes estudados foram então distribuídos em 3 grupos: doentes com IBS, doentes com EI e doentes sem sinais de infeção. Foram considerados no grupo dos doentes com IBS, todos os doentes estudados, que apresentavam sinais compatíveis com os critérios para um diagnóstico definitivo de IBS, de acordo com os critérios do EHRA 2019, descritos anteriormente. Da mesma forma, foram incluídos os doentes com critérios para um diagnóstico definitivo de EI. No grupo dos doentes sem infeção, foram abrangidos apenas indivíduos que não apresentavam nenhum sinal ou sintoma que pudesse ser incluído nos critérios de IBS, EI, ou Infeção Associada a DCEIs.

Na Tabela 2 estão enumerados os doentes estudados em cada artigo, as suas características de infeção e o tipo de dispositivos estudados.

Tabela 2 – Estudos incluídos no trabalho e respetivos doentes e amostras estudadas

Autor, Ano de publicação	Grupos de doentes estudados			Amostras de DCEIs incluídas			
	Doentes com IBS	Doentes com EI	Doentes sem infeção	Pacemakers	CDIs	TRCs	REIs
Olsen et al., 2022 (71)	50	60	-	68	21	21	-
EI-Ashry et al., 2021 (72)	12	7	33	48	4	-	-
Oliva et al., 2018 (73)	29	2	-	28	3	-	-
Inacio et al., 2015 (74)	11	4 ¹	68	72	11	-	-
Rohacek et al., 2014 (75)	14	2 ²	-	14	2	1	-
Oliva et al., 2013 (76)	18	2	20	34	4	-	2
Mason et al., 2010 (77)	16	-	66	46	36	-	-
Rohacek et al., 2010 (78)	4	2	115	68	53	-	-

IBS – Infeção da Bolsa Subcutânea

EI – Endocardite Infeciosa

¹ – 2 destes doentes também apresentavam IBS.

² – Estes doentes também apresentavam IBS

Foram estudados no total 535 doentes, destes 154 apresentavam IBS, 79 apresentavam EI e 302 retiraram o dispositivo por outras razões não relacionadas com infeção, tais como falhas de funcionamento, atualização ou bateria insuficiente. Dois artigos relataram que alguns doentes desenvolveram EI após IBS (74,75). No estudo de *Rohacek et al.* de 2014, foram analisados 2 *pacemakers* do mesmo doente, retirados em momentos diferentes durante a condução do estudo devido a reinfeção, tendo sido por isso estudados 17 dispositivos em 16 doentes (75).

Todos os artigos indicaram o tipo de DCEI removido em cada doente, tendo sido estudados 378 *pacemakers*, 134 CDIs, 22 TRCs e 2 REIs.

Em todos os estudos foi descrita a antibioterapia realizada antes da remoção do equipamento.

3.2. Metodologia de diagnóstico laboratorial

Nos artigos estudados foi então comparada a cultura do fluído obtido através da sonicação do dispositivo com os métodos convencionais (cultura de zaragatoas, culturas de tecido e hemoculturas).

Em todos os estudos, foi realizada a recolha intraoperatória de zaragatoas da bolsa do gerador. As zaragotas foram colocadas em meios de transporte, de modo a conservar a viabilidade das bactérias até chegarem ao laboratório de microbiologia. Posteriormente, as amostras foram inoculadas nos meios de cultura tradicionais e incubadas em aerobiose durante 48h e em anaerobiose (durante 5 ou 14 dias nos diferentes artigos). Dois estudos não reportaram qual o meio de transporte utilizado para estas amostras, nem o protocolo de incubação utilizado (73,77).

Ao contrário do que se verificou com as amostras em zaragatoas, metade dos estudos incluídos não realizou a colheita de tecidos para cultura (73,75,76,78). Nos restantes estudos foram colhidas amostras da cápsula fibrosa da bolsa do gerador. Estas amostras foram incubadas em meios de enriquecimento, e posteriormente foi realizada a cultura em meios sólidos que foram também incubados em aerobiose e anaerobiose (71,72,74,77).

Todos os estudos realizaram ainda a recolha de hemoculturas, exceto o estudo de *El-Ashry et al.*, 2021 (72). Foram realizadas várias colheitas, pré e pós-operatórias, tal como indicado pelo EHRA 2019 (60). Estas amostras foram também incubadas em aerobiose e anaerobiose.

Todos os estudos incluídos na revisão obtiveram um maior número de culturas positivas através da sonicação, em comparação com a cultura de zaragatoas, culturas de tecido e hemoculturas, quando estas foram realizadas. O artigo de *Olsen et al.*, 2022 descreve um maior número de

hemoculturas positivas, em relação às amostras analisadas por sonicação, mas apenas no caso dos doentes com infeção sistémica (71).

3.2.1. Condições de colheita e transporte das amostras

Os dispositivos estudados foram removidos cirurgicamente e, com os devidos cuidados de assepsia, colocados em recipientes esterilizados e com tampa hermética, submergidos numa solução de NaCl a 0,9% ou em Solução de Ringer. O estudo de *Oliva et al.*, 2013 não descreveu as características do recipiente e solução de transporte utilizado. No entanto, é indicado que todas as amostras chegaram ao laboratório em menos de 3 horas e foram de imediato incubadas em TSB (do inglês *Trypticase Soy Broth*) (76).

Apenas dois artigos, *El-Ashry et al.*, 2021 e *Inacio et al.*, 2015 (72,74), indicam que as amostras foram sonicadas num período máximo de 6 horas após a sua remoção cirúrgica. Os restantes estudos, referem apenas o tempo de transporte das amostras até ao laboratório (entre 3 e 24h), à exceção do estudo de *Olsen et al.*, 2022 (71) que indica que as amostras foram mantidas a 5°C e processadas em 48h, ou em 72h (quando extraídas fora do horário de serviço do laboratório de microbiologia, verificando-se em 25% das amostras).

3.2.2. Protocolo de sonicação

Os recipientes contendo os dispositivos removidos foram processados de acordo com o método VSV (Vórtex-Sonicação-Vórtex) (79), que consiste em realizar etapas de agitação por vórtex antes e depois da etapa de sonicação. O estudo de *Mason et al.*, 2010 não mencionou no seu procedimento as etapas de agitação por vórtex (77). Em alguns estudos, foi realizada ainda uma etapa extra de centrifugação para concentrar o fluído proveniente da sonicação, sendo inoculado apenas o sedimento obtido na centrifugação (73–75).

Na Tabela 3 estão descritas as etapas realizadas bem como as condições de agitação, sonicação e incubação, dos diferentes protocolos utilizados em cada estudo.

Tabela 3 – Protocolos de sonicação utilizados nos diferentes estudos

Autor, Ano de publicação	V1	TS	FS	V2	Inóculo	C.C.	Aerob.	Anaerob.
Olsen et al., 2022 (71)	30 s	1 min	40 kHz	30 s	0,2 mL	n.d.	5 d.	5 d.
El-Ashry et al., 2021 (72)	30 s	1 min	40 kHz	30 s	0,1 mL	n.d.	n.d.	n.d.
Oliva et al., 2018 (73)	30 s	5 min	40 kHz	30 s	n.d.	3200 rpm, 15 min	37°C, 10 d.	37°C, 10 d.
Inacio et al., 2015 (74)	30 s	5 min	40 kHz	30 s	0,1 mL	2500 rpm, 5 min	37°C, 7 d.	37°C, 14 d.
Rohacek et al., 2014 (75)	30 s	n.d.	40 kHz	30 s	0,1 mL	3200 rpm, 20 min	37°C, 7 d.	37°C, 7 d.
Oliva et al., 2013 (76)	30 s	5 min	> 20 kHz	30 s	0,5 mL	n.d.	37°C, 5 d.	37°C, 5 d.
Mason et al., 2010 (77)	n.d.	5 min	40 kHz	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Rohacek et al., 2010 (78)	30 s	1 min	40 kHz	30 s	0,1 mL	n.d.	37°C, 7 d.	37°C, 7 d.

V1 – Tempo de vórtex pré-sonicação em segundos;

TS – Tempo de sonicação em minutos;

FS – Frequência de sonicação em kHz;

V2 – Tempo de vórtex pós-sonicação em segundos;

Inóculo – Quantidade em mL de fluido proveniente da sonicação inoculado;

C.C. – Etapa extra de concentração do inóculo por centrifugação, em rpm (rotações por minuto);

Aerob. – Tempo e temperatura de incubação em aerobiose;

Anaerob. – Tempo e temperatura de incubação em anaerobiose;

n.d. – Informação sobre a etapa não foi descrita no artigo ou a etapa não foi aplicada;

Todos os artigos descreveram a inoculação do fluido sonicado em meios de cultura sólidos que foram incubados em aerobiose e anaerobiose. Alguns autores indicaram a temperatura e tempo de incubação utilizados, tal como se encontra na Tabela 3.

No estudo de *Oliva et al., 2013 (76)*, como descrito anteriormente, foi realizada uma pré-incubação durante 24h a 37°C em TSB. Após esta incubação a solução de TSB foi removida, foi adicionada Solução de Ringer e de seguida realizada a sonicação.

Em metade dos estudos (71,74,75,78), foi descrita ainda a inoculação durante 10-14 dias do fluido sonicado num caldo de Tioglicolato, um meio de enriquecimento que favorece o crescimento de microrganismos aeróbios, anaeróbios estritos e de crescimento fastidioso (80).

3.2.3. Identificação microbiana e Teste de Suscetibilidade aos Antimicrobianos

O crescimento bacteriano obtido pela inoculação do fluido sonicado foi então avaliado por diferentes técnicas de identificação. Foram também realizados Testes de Suscetibilidade aos Antibióticos (TSA) para as estirpes isoladas. Os métodos utilizados em cada artigo encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4 – Métodos utilizados para identificação das estirpes isoladas e TSA

Autor, Ano de publicação	Identificação	TSA
Olsen et al., 2022 (71)	MALDI-TOF MS	n.d.
El-Ashry et al., 2021 (72)	Coloração de Gram e Métodos bioquímicos	Método de Kirby–Bauer
Oliva et al., 2018 (73)	Métodos convencionais	VITEK®2 System
Inacio et al., 2015 (74)	Coloração de Gram e Métodos bioquímicos	Métodos “Standard”
Rohacek et al., 2014 (75)	Métodos convencionais	n.d.
Oliva et al., 2013 (76)	VITEK®2 System	VITEK®2 System
Mason et al., 2010 (77)	n.d.	n.d.
Rohacek et al., 2010 (78)	Métodos convencionais	n.d.

TSA – Testes de Suscetibilidade aos Antibióticos

n.d. – Informação sobre a etapa não foi descrita no artigo ou a etapa não foi aplicada.

O método utilizado para identificar os microrganismos isolados não foi mencionado no artigo de Mason et al., 2010. A técnica de MALDI-TOF MS (do inglês *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry*) foi utilizada no estudo de Olsen et al., 2022. Neste estudo foi também comparada sensibilidade da técnica *Next-Generation-Sequencing* (NGS) para identificação dos microrganismos. Um estudo utilizou o equipamento automático VITEK®2 System (76), para realizar a identificação dos microrganismos. Os estudos de El-Ashry et al., 2021 e Inacio et al., 2015 descreveram a utilização dos métodos convencionais de identificação, tais como a realização de esfregaços corados pelo método de Gram e testes bioquímicos (72), tais como os testes da catalase e DNase, a capacidade de fermentação da lactose e de hidrolisar a esculina, e o perfil hemolítico (α , β ou γ -hemólise) (74). Os restantes 3 artigos não especificaram os métodos convencionais utilizados (73,75,78).

A informação quanto à metodologia utilizada para a realização do TSA é escassa nos estudos incluídos. Os estudos de Oliva et al., 2013 e 2018 (73,76) utilizaram o equipamento VITEK®2 System. O estudo de El-Ashry et al., 2021 (72) utilizou o método difusão em disco de Kirby–Bauer. O artigo de Inacio et al., 2015 indicou que foram utilizados métodos *standard* de microbiologia, mas sem especificar a metodologia aplicada (74). Os restantes artigos não descrevem a utilização de qualquer método para realizar TSA.

Quanto às espécies identificadas com mais frequência existe grande concordância entre os estudos incluídos. As frequências relativas dos microrganismos identificados encontram-se na Tabela 5. Estas identificações incluem os resultados obtidos para todos os doentes incluídos em

cada estudo (com e sem infecção). No estudo de *Olsen, et al., 2022* não foi possível isolar os resultados dos microrganismos obtidos apenas por sonicação do dispositivo. Assim, os resultados apresentados incluem as espécies identificadas por MALDI-TOF MS e por NGS, em culturas de tecidos e zaragatoas da bolsa do gerador, hemoculturas e do fluído sonicado (71).

Tabela 5 – Frequência relativa dos microrganismos identificados em cada estudo

Autor, Ano de publicação	SCN		<i>S. aureus</i>	<i>P. acnes</i>	BGN				<i>Corynebacterium spp.</i>	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	Outros Microrganismos ⁴	Sem crescimento
	<i>S. epidermidis</i>	Outras espécies ²			<i>P. aeruginosa</i>	<i>Klebsiella spp.</i>	<i>A. baumannii</i>	Outras espécies ³					
Olsen et al., 2022 (71) ¹	22,73%	5,45%	28,18%	8,18%	4,54%				5,45%	9,09%	8,18%	2,72%	5,45%
El-Ashry et al., 2021 (72)	28,85%		9,62%	0%	1,92%	7,69% ⁵	0%	5,77%	0%	0%	1,92%	1,92%	42,31%
Oliva et al., 2018 (73)	65,53%	11,91%	3,97%	0%	5,29%		0%		5,29%	0%	0%	0%	10%
Inacio et al., 2015 (74)	26,51%		7,23%	0%	2,41%	3,62%	3,62%	9,64%	12%	0%	10,84%	4,81%	30,12%
Rohacek et al., 2014 (75)	25%		50% ⁶	12,5% ⁷	0%				0%	0%	0%	6,25%	6,25%
Oliva et al., 2013 (76)	40%	15%	2,5%	0%	3,75%	1,25%	0%	1,25%	2,5%	0%	0%	1,25%	32,5%
Mason et al., 2010 (77)	3,65%	6,1%	6,1%	4,88%	8,53%				0%	0%	0%	2,44%	68,29%
Rohacek et al., 2010 (78)	12,4%		0,82%	22,31%	0,82%				0%	0%	0,82%	4,13% ⁸	58,68%

SCN – *Staphylococcus coagulase negativa*;

BGN – Bacilos Gram negativo;

¹– Microrganismos identificados (por MALDI-TOF MS ou NGS) em culturas de tecidos, zaragatoas da bolsa do gerador, hemoculturas e culturas do fluido sonicado;

²– *S. hominis*, *S. hemolyticus*, *S. capitis*, *S. lugdunensis*;

³– *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Enterobacter spp.*, *Chryseobacterium indologenes*, *Brevundimonas spp.*, *Serratia marcescens*;

⁴– *Kytococcus schroeteri*, *Gordonia terrae*, *Candida albicans*, *Micrococcus spp.*, *Bacillus cereus*, *Peptostreptococcus spp.*, *Fingoldia spp.*;

⁵– Uma cultura (1,92%) foi polimicrobiana com crescimento em simultâneo de *Proteus mirabilis*;

⁶– Duas culturas (12,5%) foram polimicrobianas, uma delas com crescimento em simultâneo de *P. acnes* e outra de *P. aeruginosa*;

⁷– Uma cultura (6,25%) foi polimicrobiana com crescimento em simultâneo de SCN;

⁸– Uma cultura (0,82%) foi polimicrobiana, no entanto, os autores não especificaram as espécies identificadas;

Os cocos Gram positivo foram as espécies mais identificadas em todos os estudos, com exceção do estudo de *Rohacek et al., 2010*, em que a espécie mais comum foi *P. acnes*, seguindo-se então das espécies de *Staphylococcus* coagulase-negativo (SCN).

Em três estudos *S. aureus* foi a bactéria mais identificada (71,75,77). As espécies de SCN foram as mais frequentes em 4 estudos (72–74,76), com predomínio de *S. epidermidis*. Outras espécies como *S. hominis*, *S. haemolyticus* e *S. capitis* foram também frequentes.

Os bacilos Gram-negativo, tais como *P. aeruginosa*, *Klebsiella spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Acinetobacter baumannii*, foram também isolados, porém com menos frequência.

3.2.4. Avaliação da contaminação da amostra

Em 3 artigos foi descrita a utilização de controlos negativos, com o objetivo de excluir a hipótese de contaminação durante o processamento das amostras (72,76,78).

No estudo de *El-Ashry et al., 2021*, foram utilizados como controlos negativos 5 DCEIs estéreis. Da mesma forma, incluíram-se 7 amostras no estudo de *Oliva et al., 2013*. Estes dispositivos foram processados da mesma forma que as amostras de DCEIs retiradas dos doentes e não foi detetado crescimento bacteriano em nenhum destes controlos (72,76).

No estudo de *Rohacek et al., 2010*, foram incluídos controlos negativos ao longo de todo o período em que decorreu o estudo. Além de excluir a contaminação durante o processamento no laboratório de microbiologia, estes tinham também como objetivo avaliar a possibilidade de contaminação ambiental das amostras durante a sua remoção cirúrgica. A cada 5 dispositivos retirados de doentes, foi exposto um dispositivo estéril no bloco operatório durante todo o período da cirurgia. Desta forma foram colhidas no total 26 amostras de controlo negativo. O armazenamento, transporte e processamento destas amostras e das amostras dos doentes foram realizados da mesma forma. Numa destas amostras foi detetado um crescimento equivalente a 30 UFC/mL de SCN. Neste estudo, o valor de *cut-off* definido para um resultado positivo por sonicação é de >10 UFC/mL, sendo assim, a amostra com crescimento equivalente a 30 UFC/mL foi considerada positiva. Nas restantes 25 amostras não houve crescimento bacteriano (78).

3.3. Avaliação da qualidade

A avaliação da qualidade dos estudos incluídos foi então realizada através da ferramenta QUADAS-2. Foi avaliado o risco de viés quanto aos domínios: Seleção de doentes; Teste Índice; Padrão de Referência; Fluxo de doentes. A aplicabilidade foi avaliada quanto aos primeiros 3 domínios.

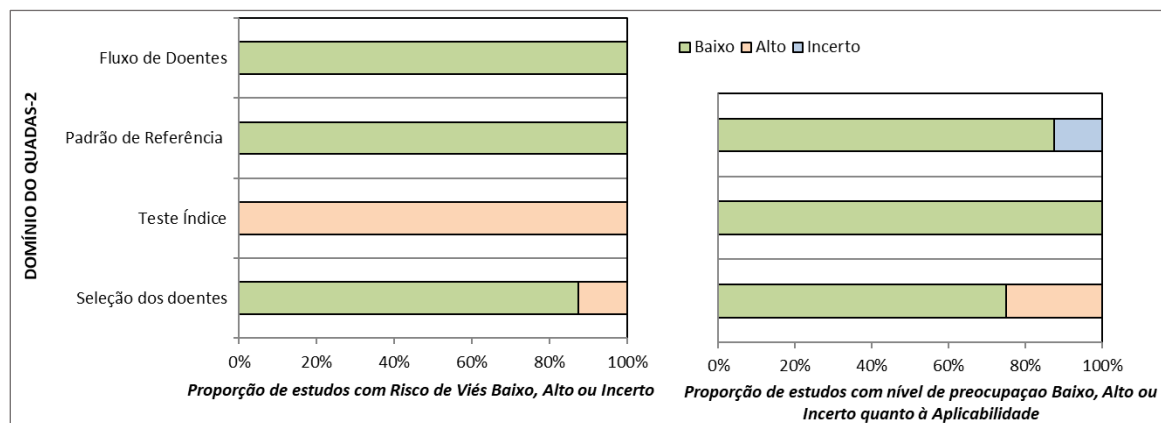


Figura 4 – Distribuição dos estudos de acordo com os domínios do QUADAS-2
(À esquerda encontra-se a distribuição quanto à avaliação do risco e à direita da preocupação quanto à aplicabilidade)

Quanto à Seleção dos doentes, foi considerado que todos os estudos apresentam baixo risco de viés, à exceção do artigo de *Olsen et al, 2022*, uma vez que este apresenta critérios de exclusão pouco explícitos, tendo sido por isso classificado como Alto Risco de Viés.

Quanto ao Teste Índice, foi atribuído a todos os estudos Alto Risco de Viés, uma vez que, este não foi aplicado de forma cega. Ou seja, a sonicação foi realizada com conhecimento das características de infeção dos doentes.

O Padrão de Referência não introduziu viés nos resultados, uma vez que obedece a critérios bem definidos, classificando corretamente a condição alvo, e sendo aplicado em todos os artigos sem conhecimento dos resultados da sonicação.

O mesmo se verificou quanto ao domínio fluxo de doentes. Todos os doentes foram incluídos na análise, recebendo o mesmo Padrão de Referência. As intervenções realizadas antes da sonicação estão bem clarificadas e foram corretamente aplicadas após a classificação pelo Padrão de Referência.

O nível de preocupação quanto à aplicabilidade do teste, considerou-se Baixo em relação ao Teste Índice para todos os estudos. Os estudos de *Oliva et al.* de 2018 e de 2013, foram considerados como apresentando um Alto Nível de Preocupação quanto à Aplicabilidade do teste

no domínio de Seleção dos Doentes, uma vez que não descrevem apropriadamente as suas condições clínicas (valores serológicos, comorbilidades subjacentes, cirurgias de revisão e infeções anteriores). O estudo de *Oliva et al*, 2018 foi considerado como Incerto no Nível de Preocupação quanto à Aplicabilidade em relação ao Padrão de Referência, uma vez que não especifica devidamente os critérios de infeção utilizados para diagnosticar os doentes com IBS. Os restantes artigos foram classificados como Baixo nível de preocupação quanto à aplicabilidade do Padrão de Referência e Seleção dos Doentes.

Assim, avaliando os domínios do QUADAS-2 quanto ao risco de viés e aplicabilidade, foram considerados 3 dos artigos incluídos como estudos de Alto Risco (71,73,76). No domínio do Teste Índice todos os artigos foram considerados como Alto Risco de Viés.

Foram traçados os gráficos em funil pelo *Software R*, de forma a avaliar o viés de publicação. Quanto à sensibilidade o *p-value* do teste de simetria foi de 0,582, de acordo com o respetivo gráfico em funil demonstrado na Figura 5. Nenhum estudo omissos foi identificado.

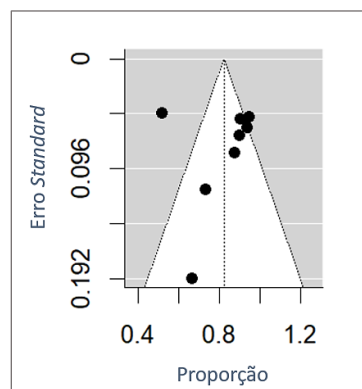


Figura 5 – Gráfico em funil baseado nos valores da sensibilidade
(*p-value* do teste de simetria= 0,582)
(Estudos omissos identificados: 0)

Quanto à especificidade obteve-se um *p-value* de 0,586 para o teste de simetria, de acordo com o gráfico em funil demonstrado na Figura 6. Novamente, nenhum estudo omissos foi identificado.

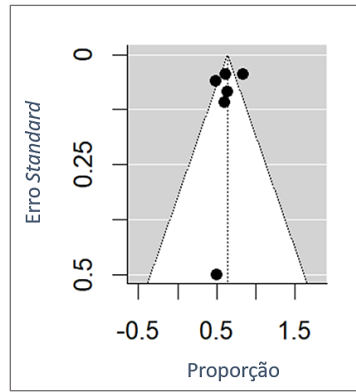


Figura 6 - Gráfico em funil baseado nos valores da especificidade
(p-value do teste de simetria= 0,586)
(Estudos omissos identificados: 0)

3.4. Meta-análise

Os dados em termos de sensibilidade e especificidade foram calculados para cada estudo, e os resultados apresentam-se nas Figuras 7 e 8, respetivamente.

Os valores da sensibilidade variaram entre 0,52 (95% IC: 0,43-0,61) e 0,95 (95% IC: 0,75-0,99). Estes valores foram observados por *Olsen et al., 2022* e *El-Ashry et al., 2021*, respetivamente.

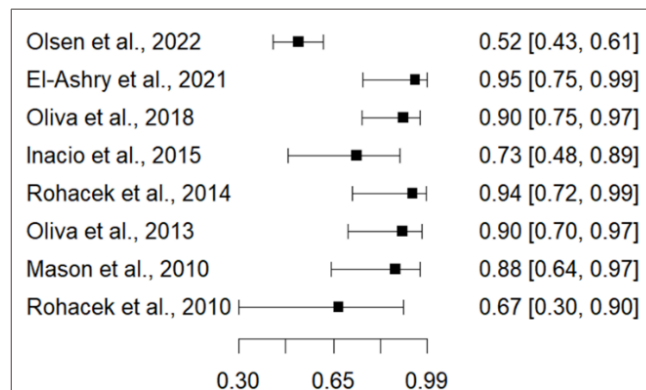


Figura 7 - Gráfico de floresta para a sensibilidade da sonicação nos estudos incluídos.
(O valor da sensibilidade está indicado pelos quadrados. A linha horizontal representa o intervalo de confiança a 95%).

A sensibilidade global do método de sonicação foi de 0,823 (95% IC: 0,682–0,910), com um $I^2=14,3\%$.

Os valores da especificidade variaram entre 0,49 (95% IC: 0,37–0,60) e 0,83 (95% IC: 0,73–0,90). Estes valores foram observados por *Inacio et al., 2015* e *Mason et al., 2010*, respetivamente.

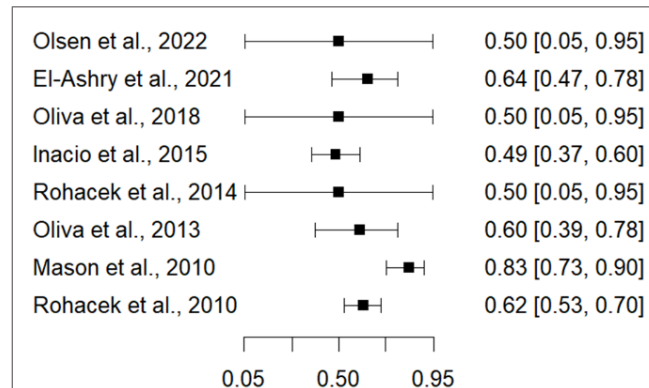


Figura 8 – Gráfico de floresta para a especificidade da sonicação nos estudos incluídos. (O valor da especificidade está indicado pelos quadrados. A linha horizontal representa o intervalo de confiança a 95%)

A especificidade global foi de 0,632 (95% IC: 0,506–0,743).

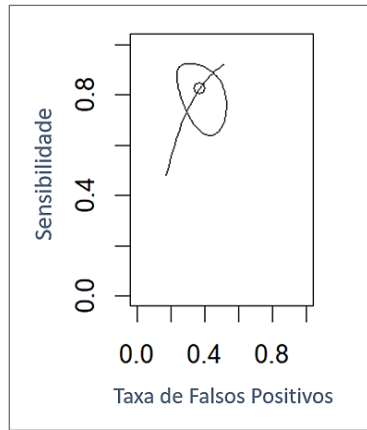
Foram ainda realizados novamente os cálculos alterando algumas variáveis, para perceber se estas podem ter impacto na sensibilidade e especificidade do método.

Para avaliar o impacto dos 3 estudos considerados de maior risco, a partir da análise da ferramenta QUADAS-2, estes foram removidos da análise, a fim de calcular as estimativas de sensibilidade e especificidade sem recurso a estes estudos. É importante realçar que nesta avaliação, o domínio do Teste Índice não foi considerado.

Os resultados obtidos foram de: 0,841 (95% IC: 0,704–0,922) para a sensibilidade e 0,662 (95% IC: 0,510–0,786) para a especificidade, com um I^2 de 0%.

Ajustando um novo modelo, de forma a incluir as amostras de controlo negativo analisadas em 3 estudos (72,76,78), obteve-se uma sensibilidade de 0,824 (95% IC: 0,682–0,910) especificidade de 0,669 (95% IC: 0,506–0,743), com um I^2 de 12,2%.

Através dos resultados obtidos para a sensibilidade do método e a taxa de falsos positivos, foi traçada a curva SROC para os estudos incluídos, pelo *Software R*. A curva SROC associada ao modelo bivariado, encontra-se apresentada na Figura 9.



*Figura 9 – Curva SROC para o método de sonicação
(O círculo representa a estimativa global, e a elipse a região a 95% de confiança para a sensibilidade e especificidade médias)*

A área parcial obtida sob a curva SROC, para o método de sonicação é de 0,754.

4. Discussão

A maior dificuldade no diagnóstico de infeções associadas a DMI é a falta de métodos de diagnóstico *standard* e de critérios bem definidos de infeção (4).

Com a introdução do documento de consenso EHRA 2019, a definição de critérios e a distinção entre os diferentes tipos de Infeção Associada a DCEIs tornou-se mais simples, uma vez que permitiu estabelecer um consenso quanto ao algoritmo de diagnóstico a seguir (60). No presente estudo, os doentes foram divididos em três grupos (doentes com IBS, doentes com EI e doentes sem sinais de infeção) de acordo estes critérios. No entanto, nenhum dos 8 artigos incluídos nesta revisão faz referência ao EHRA 2019 e 6 destes artigos foram publicados anteriormente ao documento de consenso.

Nos estudos incluídos a infeção foi avaliada como EI pelos critérios de *Duke* modificados, e como IBS, através da presença de características que se encontravam bem descritas nos artigos, permitindo assim abranger estes doentes nos critérios EHRA 2019. Apenas um artigo de *Oliva et al., 2018*, não descreveu as manifestações dos doentes com IBS e apenas referenciou os critérios de *Duke*. Por este motivo, foi considerado que este estudo apresentou Nível de Preocupação Incerto quanto à Aplicabilidade, em relação ao Padrão de Referência, segundo o QUADAS-2.

Segundo o EHRA 2019, as zaragatoas são pouco aconselhadas devido à sua baixa sensibilidade e especificidade, no entanto, por serem um método pouco invasivo, este continua a ser utilizado (60). Em todos os estudos, foi realizada a recolha intraoperatória de zaragatoas da bolsa do gerador. A cultura de tecidos, no entanto, apenas foi realizada em metade dos estudos, apesar de esta ser aconselhada para confirmar a presença de infeção bacteriana nos tecidos adjacentes ao gerador (60). Ainda assim, todos os estudos incluídos obtiveram um maior número de culturas positivas através da sonicação.

A colheita de vários *sets* de hemoculturas é altamente aconselhada na monitorização destes doentes (60). No entanto, apenas o artigo de *Olsen et al., 2022* descreve um maior número de hemoculturas positivas, em relação às amostras analisadas por sonicação, e apenas no caso dos doentes com infeção sistémica (71). Estes resultados são concordantes com os conceitos de EI e IBS. A IBS é uma forma de infeção local, limitada à bolsa do gerador, que pode não se disseminar através do sistema vascular, não evoluindo para infeção sistémica, principalmente quando associada a formação de biofilme (2,60).

A formação de biofilme e a realização de antibioterapia pode ainda explicar a baixa sensibilidade obtida pelos métodos convencionais (75,77). A capacidade de formação de biofilme das espécies isoladas foi apoiada pelo estudo *de Oliva et al., 2018*, que concluiu também que a utilização prévia de antibioterapia não afetou esta capacidade nem a precisão do método de sonicação. Estas conclusões foram corroboradas por outros estudos incluídos neste trabalho (71,77).

Não existem protocolos definidos quanto à solução de transporte/enriquecimento, ao tempo máximo de armazenamento da amostra até à sonicação, e à temperatura de armazenamento. No entanto, todos os estudos incluídos utilizaram diferentes soluções (solução salina, solução de Ringer e TSB), considerando a importância de manter a viabilidade das bactérias até ao processamento da amostra. Os tempos de incubação utilizados nos estudos incluídos não vão ao encontro das recomendações do EHRA 2019 (48–72 h em aerobiose e anaerobiose). No entanto, em alguns estudos foi aumentado o tempo de incubação para 14 dias, de forma a aumentar a taxa de recuperação de microrganismos de crescimento fastidioso, tal como aconselhado (60).

Relativamente aos meios de cultura utilizados não foi possível analisar se foram os aconselhados, devido à omissão dessa informação na maior parte dos artigos. Contudo, estes estudos foram realizados em laboratórios de microbiologia de hospitais e clínicas que seguem *guidelines* para a realização de culturas, permitindo o crescimento dos microrganismos mais frequentes neste tipo de amostras.

Quanto aos métodos utilizados para identificação dos microrganismos após a sonicação, há informação omissa em alguns estudos. No estudo de *Olsen et al., 2022*, o artigo incluído com a data de publicação mais recente, foi utilizada a técnica de MALDI-TOF MS, introduzida nos últimos anos na rotina laboratorial da microbiologia e sendo possível que nos próximos anos se torne o gold standard da identificação microbiana (71). No entanto, a divergência nos métodos de identificação utilizados não foi considerada como uma limitação deste estudo, uma vez que o objetivo era avaliar a *performance* da sonicação no diagnóstico de Infeções Associadas a DCEIs

As frequências dos microrganismos identificados nos estudos incluídos são concordantes com os descritos como mais frequentemente associados a Infeções Associadas a DCEIs segundo o EHRA 2019 (em 70–90% dos casos são bactérias Gram-positivo, das quais 37% SCN e 30,8% *S. aureus*, enquanto bactérias Gram-negativo apenas são isoladas em 8,9% dos casos).

Os microrganismos mais frequentemente isolados fazem parte da flora comensal da pele, ou da cavidade oral e nasal, sustentando a teoria de que a contaminação dos DCEIs pode ocorrer durante a sua implantação (72,78). Alguns destes microrganismos são também de crescimento fastidioso, tais como o *P. acnes*, que num dos estudos foi a espécie mais isolada (75), podendo originar infeção indolente e sem sintomatologia, contribuindo para o aumento de resultados falsos positivos detetados pela sonicação (20).

O protocolo de sonicação utilizado foi semelhante em todos os estudos e está de acordo com as instruções de uso do *BactoSonic* (*Bandelin GmbH, Berlin, Germany*), o modelo de sonicador utilizado na maior parte dos estudos, que aconselha uma frequência de 40 kHz, entre 1-15 minutos (81). Num estudo que teve como objetivo definir a frequência ideal de sonicação para recuperação bacteriana, as conclusões foram de 35 a 40 kHz, durante 7 minutos para espécies como *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e *E. faecalis* (82).

No presente trabalho a sonicação demonstrou uma sensibilidade de 0,823 (95% IC: 0,682–0,910) e especificidade de 0,632 (95% IC: 0,506–0,743), no diagnóstico de infeções associadas a DCEIs. O facto da especificidade não ser muito elevada, corrobora as recomendações do EHRA 2019, que refere que os resultados obtidos através da sonicação devem ser cuidadosamente interpretados (60). Estes resultados são também concordantes com os estudos anteriores acerca da utilização da sonicação no campo da ortopedia e neurocirurgia (43,48). No estudo de *Peng G et al., 2023*, relativo ao diagnóstico de IO foi obtido um valor elevado para a especificidade: 0,96 (95% CI: 0,95–0,96). Este pode ser explicado pela definição de valores de *cut-off* mais baixos no diagnóstico destas infeções (48). No presente estudo não foram avaliados valores de *cut-off* e os resultados das culturas foram interpretados qualitativamente. Ainda assim, no diagnóstico de IO, foi descrito um alto nível de heterogeneidade entre estudos, devido a alguns resultados inconsistentes (48). No estudo de *Apostolakis et al., 2020* a especificidade da sonicação no diagnóstico de infeções de drenos de derivação ventricular externa foi de 0,571 (95% CI: 0,230–0,856), levando os autores a considerar que este método não deve ser aplicado isoladamente na avaliação destas infeções (43).

A sensibilidade calculada para este método, cujo valor foi de 0,823 (95% IC: 0,682–0,910), demonstra que a sua utilização oferece vantagens no diagnóstico de infeções associadas a DCEIs.

Traçando a curva SROC para o método de sonicação obteve-se uma área parcial sob a curva de 0,754. Segundo o modelo utilizado, a área parcial sob a curva deve situar-se entre 0,5 e 1. Quando mais próxima a curva estiver do canto superior esquerdo do gráfico, maior a performance do teste (a área deve aproximar-se de 1) (67). Assim, podemos também inferir uma performance aceitável deste método de diagnóstico na deteção da condição em estudo (83).

O viés de publicação deste estudo foi avaliado através da construção de gráficos em funil, de acordo com a sensibilidade e especificidade. Este método permite fazer uma avaliação subjetiva quanto à possibilidade de viés entre os resultados obtidos pela presente meta-análise e os resultados de estudos não publicados ou excluídos (65). O método *Trim and Fill* foi aplicado para identificar os estudos omissos, sendo que, nenhum estudo omissos foi encontrado por esta metodologia o que indica a ausência de viés de publicação neste estudo.

Pela análise visual dos gráficos em funil podemos inferir que existe uma distribuição relativamente simétrica dos resultados. Na sua maioria os pontos situaram-se no topo do gráfico e junto ao eixo central. Podemos ver que existem alguns pontos isolados, correspondentes aos estudos com uma amostragem menor (mais próximos da base do gráfico) ou com menor sensibilidade (mais à esquerda no caso do gráfico para a sensibilidade). Ainda assim, o *p-value* do teste de simetria foi de 0,582 para a sensibilidade e 0,586 para a especificidade, demonstrando que não há evidência estatística significativa de assimetria nos resultados dos estudos incluídos, quanto à sensibilidade e à especificidade, o que vai ao encontro ao observado através do método *Trim and Fill*.

A heterogeneidade entre estudos foi também baixa ($I^2=14,3\%$), o que demonstra a robustez da meta-análise realizada. Da mesma forma, a análise de sensibilidade realizada sem os estudos identificados como sendo de maior risco revelou estimativas globais que pouco diferem das estimativas obtidas a partir da totalidade dos estudos.

Através da exclusão dos 3 estudos considerados como Alto Risco, através da ferramenta QUADAS-2 os valores subiram para 0.841 (95% IC: 0.704–0.922) no caso da sensibilidade e para 0.662 (95% IC: 0.510–0.786) para a especificidade, com um I^2 de 0%. Demonstrando que estes tiveram um impacto significativo na estimativa global.

Os cálculos realizados após a inclusão das amostras dos controlos negativos utilizados alteraram ligeiramente os valores de sensibilidade e especificidade. O número de amostras de controlo incluídas foi reduzido, pelo que o efeito na estimativa global quando se adicionam estas amostras

não foi significativo. O valor observado para a especificidade não foi muito elevado, 0.669 (95% IC: 0.506-0.743) uma vez que, de todas as amostras de controlo adicionadas, apenas uma teve crescimento.

O presente trabalho apresenta, no entanto, várias limitações. Tal como indicado no capítulo de avaliação da qualidade, nenhum dos estudos utilizou uma amostragem cega de doentes. O conhecimento da condição prévia dos doentes estudados pode introduzir viés na interpretação dos resultados (64). No entanto, na maior parte dos estudos incluídos, não foi feita uma distinção dos resultados obtidos para os 3 grupos distintos de doentes, assim não foi possível avaliar se existe variação nos resultados de acordo com as características do doente em estudo, nem comparar os microrganismos identificados em cada caso.

Apesar do objetivo deste trabalho consistir no estudo da recuperação dos microrganismos através da sonicação, foram também descritos os métodos utilizados para realização de TSA em cada estudo, uma vez que estes resultados são importantes para o tratamento dos doentes. A informação obtida quanto aos métodos utilizados para realização de TSA e os resultados obtidos foi muito escassa, uma vez que metade dos estudos não relataram o método utilizado. Esta informação seria também importante, uma vez que, sabemos que microrganismos organizados sobre a forma de biofilme alteram os seus padrões de resistência (30).

5. Conclusão

O presente trabalho permitiu consolidar a informação disponível na literatura quanto à utilidade da sonicação no diagnóstico de Infecções Associadas a DCEIs.

Complementando o trabalho de revisão sistemática com a realização de uma meta-análise, através do cálculo de medidas de efeito, da avaliação da heterogeneidade da amostra e da identificação de fontes de viés, foi possível aumentar a robustez do estudo.

Assim, é possível afirmar que a sonicação aumenta a sensibilidade do diagnóstico de Infecções Associadas a DCEIs, permitindo aumentar a taxa de recuperação de microrganismos quando comparada com os métodos convencionais de cultura. No entanto, a especificidade deste método é reduzida, por isso os resultados devem ser interpretados de forma cuidadosa e em paralelo com outros parâmetros analíticos.

No diagnóstico destas infecções, as manifestações e o historial clínico dos doentes são de grande importância. Assim, é necessário haver cooperação entre as várias equipas envolvidas no diagnóstico. Devem ser seguidas as recomendações do novo documento de consenso EHRA 2019, que aconselha a que o diagnóstico seja feito tendo em conta as manifestações clínicas do doente, a avaliação através de métodos imagiológicos, microbiológicos, laboratoriais (avaliando marcadores de infeção local e sistémica) e ainda dos fatores que podem predispor o doente ao aparecimento de infeção.

Mais estudos são necessários para aprimorar os métodos de diagnóstico, chegar a um consenso na eleição do algoritmo laboratorial *standard* para este tipo de infeções e compreender melhor as características das Infecções Associadas a DCEIs, visando um diagnóstico mais preciso e tratamento eficaz dessas condições.

6. Referências Bibliográficas

1. ISO 13485:2003. Medical devices – Quality management system – Requirements for regulatory purposes. Available from: http://www.iso.org/iso/catalogue_detail?csnumber=36786. Geneva: Switzerland;
2. Oliva A, Miele M, Al Ismail D, Di Timoteo F, De Angelis M, Rosa L, et al. Challenges in the Microbiological Diagnosis of Implant-Associated Infections: A Summary of the Current Knowledge. Vol. 12, *Frontiers in Microbiology*. 2021.
3. Joung Y. Development of implantable medical devices: From an engineering perspective. Vol. 17, *International Neurourology Journal*. 2013. p. 98–106.
4. VanEpps JS, Younger JG. Implantable device-related infection. Vol. 46, *Shock*. Lippincott Williams and Wilkins; 2016. p. 597–608.
5. Kamath AF, Ong KL, Lau E, Chan V, Vail TP, Rubash HE, et al. Quantifying the Burden of Revision Total Joint Arthroplasty for Periprosthetic Infection. *Journal of Arthroplasty*. 2015 Sep 1;30(9):1492–7.
6. Kurtz SM, Lau E, Watson H, Schmier JK, Parvizi J. Economic Burden of Periprosthetic Joint Infection in the United States. *Journal of Arthroplasty*. 2012;27.
7. Darouiche RO. Device-Associated Infections: A Macroproblem that Starts with Microadherence [Internet]. Vol. 33, *Clinical Infectious Diseases*. 2001. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article/33/9/1567/1746437>
8. Drago L, De Vecchi E. Microbiological diagnosis of implant-related infections: Scientific evidence and cost/benefit analysis of routine antibiofilm processing. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Springer New York LLC; 2017. p. 51–67.
9. Xu Y, Larsen LH, Lorenzen J, Hall-Stoodley L, Kikhney J, Moter A, et al. Microbiological diagnosis of device-related biofilm infections. Vol. 125, *APMIS*. Blackwell Munksgaard; 2017. p. 289–303.
10. Schierholz JM, Beuth J. Implant infections: A haven for opportunistic bacteria. Vol. 49, *Journal of Hospital Infection*. W.B. Saunders Ltd; 2001. p. 87–93.
11. Corvec S, Portillo ME, Pasticci BM, Borens O, Trampuz A. Epidemiology and new developments in the diagnosis of prosthetic joint infection. Vol. 35, *International Journal of Artificial Organs*. Wichtig Publishing Srl; 2012. p. 923–34.

12. Costerton JW, Post JC, Ehrlich GD, Hu FZ, Kreft R, Nistico L, et al. New methods for the detection of orthopedic and other biofilm infections. Vol. 61, FEMS Immunology and Medical Microbiology. 2011. p. 133–40.
13. Oliva A, Pavone P, D'Abramo A, Iannetta M, Mastroianni CM, Vullo V. Role of sonication in the microbiological diagnosis of implant-associated infections: Beyond the orthopedic prosthesis. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Springer New York LLC; 2016. p. 85–102.
14. Galli J, Calo L, Meucci D, Giuliani M, Lucidi D, Paludetti G, et al. Biofilm in voice prosthesis: A prospective cohort study and laboratory tests using sonication and SEM analysis. *Clinical Otolaryngology*. 2018 Oct 1;43(5):1260–5.
15. Fishpool SJC, Osborne JE, Looker N. Case report: Staphylococcus aureus biofilm formation on an explanted cochlear implant demonstrated using an ultrasonication technique. *Cochlear Implants Int*. 2012 Aug;13(3):181–3.
16. Rieger UM, Pierer G, Lüscher NJ, Trampuz A. Sonication of removed breast implants for improved detection of subclinical infection. *Aesthetic Plast Surg*. 2009 May;33(3):404–8.
17. Reischies FMJ, Krause R, Holzer J, Tiefenbacher F, Winter R, Eylert G, et al. What can we learn from sonication results of breast implants? *PLoS One*. 2017 Aug 1;12(8).
18. Rosa L, Lepanto MS, Cutone A, Berlutti F, De Angelis M, Vullo V, et al. BioTimer assay as complementary method to vortex-sonication-vortex technique for the microbiological diagnosis of implant associated infections. *Sci Rep*. 2019;9.
19. Bürger J, Akgün D, Strube P, Putzier M, Pumberger M. Sonication of removed implants improves microbiological diagnosis of postoperative spinal infections. *European Spine Journal*. 2019 Apr 1;28(4):768–74.
20. Spindler P, Faust K, Finger T, Schneider GH, Bayerl S, Trampuz A, et al. High Frequency of Low-Virulent Microorganisms Detected by Sonication of Implanted Pulse Generators: So What? *Stereotact Funct Neurosurg*. 2022 Jan 1;100(1):8–13.
21. Prinz V, Bayerl S, Renz N, Trampuz A, Vajkoczy P, Finger T. Sonication Improves Pathogen Detection in Ventriculoperitoneal Shunt-Associated Infections. *Clin Neurosurg*. 2019 Oct 1;85(4):516–23.
22. Sendi P, Frei R, Maurer TB, Trampuz A, Zimmerli W, Graber P. Escherichia coli variants in periprosthetic joint infection: Diagnostic challenges with sessile bacteria and sonication. *J Clin Microbiol*. 2010 May;48(5):1720–5.

23. Rather MA, Gupta K, Mandal M. Microbial biofilm: formation, architecture, antibiotic resistance, and control strategies. Vol. 52, *Brazilian Journal of Microbiology*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2021. p. 1701–18.
24. Percival SL, Suleman L, Vuotto C, Donelli G. Healthcare–Associated infections, medical devices and biofilms: Risk, tolerance and control. Vol. 64, *Journal of Medical Microbiology*. Microbiology Society; 2015. p. 323–34.
25. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Vol. 15, *Clinical Microbiology Reviews*. 2002. p. 167–93.
26. William Costerton J. Biofilm Theory Can Guide the Treatment of Device–Related Orthopaedic Infections. 2005;
27. Okuda K ichi, Nagahori R, Yamada S, Sugimoto S, Sato C, Sato M, et al. The Composition and Structure of Biofilms Developed by *Propionibacterium acnes* Isolated from Cardiac Pacemaker Devices. *Front Microbiol*. 2018;9.
28. Schilcher K, Horswill AR. Staphylococcal Biofilm Development: Structure, Regulation, and Treatment Strategies [Internet]. 2020. Available from: <https://doi.org/10>
29. Sauer K, Stoodley P, Goeres DM, Hall–Stoodley L, Burmølle M, Stewart PS, et al. The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation. Vol. 20, *Nature Reviews Microbiology*. Nature Research; 2022. p. 608–20.
30. Pohl CH. Recent Advances and Opportunities in the Study of *Candida albicans* Polymicrobial Biofilms. Vol. 12, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. Frontiers Media S.A.; 2022.
31. Kulshrestha A, Gupta P. Polymicrobial interaction in biofilm: mechanistic insights. *Pathog Dis*. 2022;80(1).
32. Prieto–Barajas CM, Valencia–Cantero E, Santoyo G. Microbial mat ecosystems: Structure types, functional diversity, and biotechnological application. Vol. 31, *Electronic Journal of Biotechnology*. Pontificia Universidad Catolica de Valparaiso; 2018. p. 48–56.
33. Centre for Disease Prevention E. Healthcare–associated infections: – surgical site infections 2018–2020.
34. Lebre AI, Alves A, Félix AM, Cruz AP, Palos C, Noriega E, et al. Programa de Prevenção e Controlo de Infeções e de Resistência aos Antimicrobianos, Maria do Rosário Rodrigues Equipa. Available from: www.dgs.pt

35. Schierholz JM, Beuth J. Implant infections: A haven for opportunistic bacteria. Vol. 49, *Journal of Hospital Infection*. W.B. Saunders Ltd; 2001. p. 87–93.
36. Lohmann KL, Barton MH. Systemic Inflammatory Response Syndrome. In: *Equine Infectious Diseases: Second Edition*. Elsevier Inc.; 2013.
37. Kaukonen KM, Bailey M, Pilcher D, Cooper DJ, Bellomo R. Systemic Inflammatory Response Syndrome Criteria in Defining Severe Sepsis. *New England Journal of Medicine*. 2015 Apr 23;372(17):1629–38.
38. Nelson CL, McLaren C, McLaren SG, Johnson JW, Smeltzer MS. Is aseptic loosening truly aseptic? In: *Clinical Orthopaedics and Related Research*. Lippincott Williams and Wilkins; 2005. p. 25–30.
39. Cruz A, Condinho M, Carvalho B, Arraiano CM, Pobre V, Pinto SN. The two weapons against bacterial biofilms: Detection and treatment. Vol. 10, *Antibiotics*. MDPI; 2021.
40. van der Bruggen W, Bleeker-Rovers CP, Boerman OC, Gotthardt M, Oyen WJG. PET and SPECT in Osteomyelitis and Prosthetic Bone and Joint Infections: A Systematic Review. Vol. 40, *Seminars in Nuclear Medicine*. 2010. p. 3–15.
41. Arciola CR, Gamberini S, Campoccia D, Visai L, Speziale P, Baldassarri L, et al. A multiplex PCR method for the detection of all five individual genes of ica locus in *Staphylococcus epidermidis*. A survey on 400 clinical isolates from prosthesis-associated infections. *J Biomed Mater Res A*. 2005 Oct 14;75(2):408–13.
42. Trampuz A, Osmon DR, Hanssen AD, Steckelberg JM, Patel R. Molecular and antibiofilm approaches to prosthetic joint infection. In: *Clinical Orthopaedics and Related Research*. Lippincott Williams and Wilkins; 2003. p. 69–88.
43. Apostolakis S. Use of Focused Ultrasound (Sonication) for the Diagnosis of Infections in Neurosurgical Operations: A Systematic Review and Meta-Analysis. Vol. 136, *World Neurosurgery*. Elsevier Inc.; 2020. p. 364–373.e2.
44. European Federation of Food Science and Technology (EFFoST). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2017;311–22. Available from: <https://rss.sciencedirect.com/publication/science/14668564>
45. Ensminger Dale, Bond Leonard J. *Ultrasonics – Fundamentals, Technologies, and Applications*. Vol. Volume 60. 2015. 14–26 p.

46. Joyce E, Phull SS, Lorimer JP, Mason TJ. The development and evaluation of ultrasound for the treatment of bacterial suspensions. A study of frequency, power and sonication time on cultured *Bacillus* species. In: *Ultrasonics Sonochemistry*. Elsevier; 2003. p. 315–8.
47. Zhang Q, Xi Y, Li D, Yuan Z, Dong J. The yield of sonication fluid culture for presumed aseptic loosening of orthopedic devices: A meta-analysis. *Ann Palliat Med*. 2021;10(2):1792–808.
48. Peng G, Liu Q, Guan Z, Liu M, Sun X, Zhu X, et al. Diagnostic accuracy of sonication fluid cultures from prosthetic components in periprosthetic joint infection: an updated diagnostic meta-analysis. *J Orthop Surg Res*. 2023 Dec 1;18(1).
49. Tsikopoulos K, Christofilos SI, Kitridis D, Sidiropoulos K, Stoikos PN, Gravalidis C, et al. Is sonication superior to dithiothreitol in diagnosis of periprosthetic joint infections? A meta-analysis. Vol. 46, *International Orthopaedics*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2022. p. 1215–24.
50. Drago L, Romanò CL, Mattina R, Signori V, De Vecchi E. Does dithiothreitol improve bacterial detection from infected prostheses? A pilot study. *Clin Orthop Relat Res*. 2012;470(10):2915–25.
51. Media L. *Difco™ & BBL™ Manual*, 2nd Edition.
52. Haghjoo M. Cardiac Implantable Electronic Devices. In: *Practical Cardiology*. Elsevier; 2017. p. 251–60.
53. Giada F, Bertaglia E, Reimers B, Noventa D, Raviele A. Current and emerging indications for implantable cardiac monitors. Vol. 35, *PACE – Pacing and Clinical Electrophysiology*. 2012. p. 1169–78.
54. GET STARTED WITH YOUR LINQ II™ ICM Patient System Overview.
55. World's smallest pacemakers 1 Now offering two leadless pacing options Micra™ AV and Micra™ VR transcatheter pacing systems.
56. Khan K, Kim JA, Gurgu A, Khawaja M, Cozma D, Chelu MG. Innovations in Cardiac Implantable Electronic Devices. Vol. 36, *Cardiovascular Drugs and Therapy*. Springer; 2022. p. 763–75.
57. Abi-Samra FM. Cardiac Implantable Electrical Devices: Bioethics and Management Issues Near the End of Life.
58. Gupta AK, Burgos MI, Hus N. Unusual Delayed Complication of Pacemaker Leads. *Cureus* [Internet]. 2020 Jul 30; Available from: <https://www.cureus.com/articles/37421-unusual-delayed-complication-of-pacemaker-leads>

59. Chesdachai S, DeSimone DC, Baddour LM. Risk of Cardiac Implantable Electronic Device Infection in Patients with Bloodstream Infection: Microbiologic Effect in the Era of Positron Emission Tomography–Computed Tomography. *Current Cardiology Reports*. Springer; 2023.
60. Blomström M-Lundqvist C, Traykov V, Co-Chair (, Erba PA, Burri H, Nielsen JC, et al. European Heart Rhythm Association (EHRA) international consensus document on how to prevent, diagnose, and treat cardiac implantable electronic device infections–endorsed of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). Available from: <https://academic.oup.com/europace/article/22/4/515/5614580>
61. Uslan DZ, Sohail MR, St Sauver JL, Friedman PA, Hayes DL, Stoner SM, et al. Permanent Pacemaker and Implantable Cardioverter Defibrillator Infection A Population-Based Study [Internet]. Available from: <http://archinte.jamanetwork.com/>
62. Li JS, Sexton DJ, Mick N, Nettles R, Fowler VG, Ryan T, et al. Proposed Modifications to the Duke Criteria for the Diagnosis of Infective Endocarditis [Internet]. Available from: <http://cid.oxfordjournals.org/>
63. Habib G, Lancellotti P, Antunes MJ, Bongiorni MG, Casalta JP, Del Zotti F, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis. Vol. 36, *European Heart Journal*. Oxford University Press; 2015. p. 3075–123.
64. Whiting PF, Rutjes AWS, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, Reitsma JB, et al. QUADAS–2: A Revised Tool for the Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies [Internet]. 2011. Available from: www.annals.org
65. Duval S, Tweedie R. Trim and Fill: A Simple Funnel-Plot-Based Method of Testing and Adjusting for Publication Bias in Meta-Analysis. Vol. 56, *BIOMETRICS*. 2000.
66. Doebler P, Holling H, Sousa-Pinto B. Meta-Analysis of Diagnostic Accuracy with mada [Internet]. Available from: <http://r-forge.r-project.org/projects/mada/>;
67. Rutter CM, Gatsonis CA. A hierarchical regression approach to meta-analysis of diagnostic test accuracy evaluations. *Stat Med*. 2001 Oct 15;20(19):2865–84.
68. Zhou Y, Dendukuri N. Statistics for quantifying heterogeneity in univariate and bivariate meta-analyses of binary data: The case of meta-analyses of diagnostic accuracy. *Stat Med*. 2014 Jul 20;33(16):2701–17.

69. Hartung J, Knapp G, Sinha B. *Statistical Meta-Analysis with Applications*. New Jersey: Wiley; 2008.
70. Zhou Y, Huang A, Hattori S. A likelihood-based sensitivity analysis for publication bias on the summary receiver operating characteristic in meta-analysis of diagnostic test accuracy. *Stat Med*. 2023 Mar 15;42(6):781–98.
71. Olsen T, Justesen US, Nielsen JC, Jørgensen OD, Sandgaard NCF, Ravn C, et al. Microbiological diagnosis in cardiac implantable electronic device infections detected by sonication and next-generation sequencing. *Heart Rhythm*. 2022 Jun 1;19(6):901–8.
72. El-Ashry AH, Hussein MSA, Saad K, El Elhoufey A. Clinical utility of sonication for diagnosing infection and colonization of cardiovascular implantable electronic devices. *Med Microbiol Immunol*. 2021 Dec 1;210(5–6):245–50.
73. Oliva A, Mascellino M, Nguyen B, De Angelis M, Cipolla A, Di Berardino A, et al. Detection of biofilm-associated implant pathogens in cardiac device infections: High sensitivity of sonication fluid culture even in the presence of antimicrobials. *J Glob Infect Dis*. 2018 Apr 1;10(2):74–9.
74. Inacio RC, Klautau GB, Murça MAS, da Silva CB, Nigro S, Rivetti LA, et al. Microbial diagnosis of infection and colonization of cardiac implantable electronic devices by use of sonication. *International Journal of Infectious Diseases*. 2015 Sep 1;38:54–9.
75. Rohacek M, Erne P, Kobza R, Pfyffer GE, Frei R, Weisser M. Infection of cardiovascular implantable electronic devices: Detection with sonication, swab cultures, and blood cultures. *PACE – Pacing and Clinical Electrophysiology*. 2014 Feb 1;38(2):247–53.
76. Oliva A, Nguyen BL, Mascellino MT, D’Abramo A, Iannetta M, Ciccaglioni A, et al. Sonication of explanted cardiac implants improves microbial detection in cardiac device infections. *J Clin Microbiol*. 2013 Feb;51(2):496–502.
77. Mason PK, Dimarco JP, Ferguson JD, Mahapatra S, Mangrum JM, Bilchick KC, et al. Sonication of explanted cardiac rhythm management devices for the diagnosis of pocket infections and asymptomatic bacterial colonization. *PACE – Pacing and Clinical Electrophysiology*. 2010 Feb;34(2):143–9.
78. Rohacek M, Weisser M, Kobza R, Schoenenberger AW, Pfyffer GE, Frei R, et al. Bacterial colonization and infection of electrophysiological cardiac devices detected with sonication and swab culture. *Circulation*. 2010 Apr;121(15):1691–7.

79. Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, Hanssen AD, Unni KK, Osmon DR, et al. Sonication of Removed Hip and Knee Prostheses for Diagnosis of Infection [Internet]. Available from: www.nejm.org
80. BBL™ Thioglycollate Medium without Indicator-135C L007512 • Rev. 15 • October 2015 QUALITY CONTROL PROCEDURES (Optional) [Internet]. 2015. Available from: www.bd.com/ds.
81. Ultrasonic bath BS 14. 2022.
82. Dudek P, Grajek A, Kowalczewski J, Madycki G, Marczak D. Ultrasound frequency of sonication applied in microbiological diagnostics has a major impact on viability of bacteria causing PJI. *International Journal of Infectious Diseases*. 2020 Nov;100:158–63.
83. Mandrekar JN. Receiver Operating Characteristic Curve in Diagnostic Test Assessment. *Journal of Thoracic Oncology*. 2010 Sep;5(9):1315–6.

Anexo 1 – Recomendações para o diagnóstico de Infecção Associada a DCEIs e/ou EI, segundo o EHRA 2019

Conceitos definidos por consenso:

Diagnóstico definitivo de IBS:

- A bolsa do gerador apresenta:
 - Inchaço;
 - Eritema;
 - Aumento de temperatura;
 - Dor;
 - Um ou mais dos seguintes sinais:
 - Exsudado purulento/ formação de trato sinusal;
 - Deformação da bolsa, aderência dos tecidos ao dispositivo e possível erosão cutânea;
 - Exposição do gerador ou dos electrocateteres proximais.

Diagnóstico definitivo de Infecção Associada a DCEIs ou EI:

- Uma das seguintes condições:
 - Presença de 2 Critérios *Major*;
 - Presença de 1 Critério *Major* e 3 Critérios *Minor*.

Possível Infecção Associada a DCEIs ou EI:

- Uma das seguintes condições:
 - Presença de 1 Critério *Major* e um Critério *Minor*;
 - Presença de 3 Critérios *Minor*.

Rejeição de Infecção Associada a DCEIs ou EI:

- Pacientes que não apresentam nenhum dos critérios indicados anteriormente.

Critérios *Major*:

Microbiologia:

A- Hemoculturas positivas para microrganismos típicos de Infecções Associadas a DCEIs e/ou IE (espécies de SCN, *S. aureus*);

B- Isolamento de microrganismos consistentes com EI em duas hemoculturas distintas;

- Uma das seguintes condições:
 - Espécies de *Streptococcus* do grupo *viridans*, *S. gallactycus* (*S. bovis*), bactérias do grupo HACEK (*Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella* e *Kingella*), *S. aureus*;
 - Espécies de *Enterococcus* adquiridas na comunidade, na ausência de um foco primário de infecção

C- Isolamento de microrganismos consistentes com EI em hemoculturas persistentemente positivas:

- 2 ou mais hemoculturas positivas colhidas com mais de 12 horas de diferença;
- 3 hemoculturas positivas ou a maioria (se colhidas mais do que 4), com a primeira e última amostras colhidas com mais do que 1 hora diferença;
- Uma única hemocultura positiva para *Coxiella burnetii* ou título de anticorpos IgG de fase I > 1:800

Imagiologia

D- Ecocardiograma positivo para:

- Infecção Associada a DCEIs
 - Critérios clínicos de IBS
 - Formação de vegetações nos eletrocateres
- EI afetando as válvulas
 - Formação de vegetações
 - Abscesso, pseudoaneurisma ou fístulas intracardíacas
 - Perfuração das válvulas ou aneurisma
 - Deiscência parcial das válvulas prostéticas

E- Detecção de atividade anormal na bolsa/gerador, eletrocateres ou válvulas por um dos seguintes métodos:

- PET ou TC com 18FDG
- TC ou SPECT com leucócitos marcados com radiofármacos

F- Detecção de vazamento paravalvular por TC

Critérios Minor:

- a- Condições cardíacas de predisposição a infecção ou utilização de drogas injetáveis;
- b- Febre (temperatura >38°C);
- c- Fenómenos vasculares (incluindo aqueles detectáveis apenas por imagiologia): embolia arterial, embolia pulmonar, aneurisma infeccioso, hemorragia intracraniana, hemorragias conjuntivas e lesões de *Janeway*;
- d- Uma das seguintes evidências microbiológicas:
 - Hemoculturas positivas que não encaixam nos Critérios *Major*;
 - Evidências serológicas de infecção ativa por um microrganismo consistente com EI;
 - Culturas positivas de amostras da bolsa do gerador ou de eletrocateres extraídos de uma bolsa subcutânea sem sinais de infecção.