

A Nossa
University

Colégio dos Jesuítas
Rua dos Ferreiros - 9000-082, Funchal

Tel: +351 291 209400
Fax: +351 291 209410
Email: gabinetedareitoria@uma.pt

DM

Estudo da Utilização de Marcadores Bioquímicos no Diagnóstico de Sepsis

Annabella Farinha



Estudo da Utilização
de Marcadores Bioquímicos
no Diagnóstico de Sepsis

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Annabella Farinha

MESTRADO EM BIOQUÍMICA APLICADA


UNIVERSIDADE da MADEIRA
A Nossa Universidade
www.uma.pt

setembro | 2018

DIMENSÕES: 45 X 29,7 cm

PAPEL: COUCHÊ MATE 350 GRAMAS

IMPRESSÃO: 4 CORES (CMYK)

ACABAMENTO: LAMINAÇÃO MATE

NOTA*

Caso a lombada tenha um tamanho inferior a 2 cm de largura, o logótipo institucional da UMA terá de rodar 90°, para que não perca a sua legibilidade/identidade.

Caso a lombada tenha menos de 1,5 cm até 0,7 cm de largura o layout da mesma passa a ser aquele que consta no lado direito da folha.



Estudo da Utilização de Marcadores Bioquímicos no Diagnóstico de Sepsis

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Annabella Farinha

MESTRADO EM BIOQUÍMICA APLICADA

ORIENTADORA

Irene Gomes Câmara Camacho

CO-ORIENTADORES

Roberto Alexandre Pisa Camacho
Ana Paula Gonçalves Cruz Aguiar



UNIVERSIDADE da MADEIRA

Estudo da utilização de marcadores bioquímicos no diagnóstico de sépsis

Dissertação submetida à Universidade da Madeira com vista à obtenção do grau de Mestre em Bioquímica Aplicada

Annabella Farinha

Orientadora: Irene Gomes Câmara Camacho

Co-orientadores: Roberto Alexandre Pisa Camacho
Ana Paula Gonçalves Cruz Aguiar

Dissertação realizada sob a orientação da Professora Doutora Irene Gomes Câmara Camacho, Doutorada em Biologia, especialidade em Bioquímica e Biotecnologia, Docente do Centro de Competência das Ciências da Vida da Universidade da Madeira e da co-orientação do Dr. Roberto Alexandre Pisa Camacho, Mestre em Biodiversidade e Conservação e da Enf. Ana Paula Gonçalves Cruz Aguiar, Mestre em Infecção em Cuidados de Saúde, Enfermeira Especialista em Enfermagem Médico Cirúrgico no SESARAM, E.P.E..

AGRADECIMENTOS

Ao longo da elaboração deste trabalho, foi possível contar com a preciosa ajuda de várias pessoas, que contribuíram direta ou indiretamente, para a sua concretização, a quem gostaria de dirigir o meu sincero agradecimento.

À Professora Doutora Irene Gomes Câmara Camacho, pela orientação e revisão deste trabalho, pela disponibilidade no esclarecimento de dúvidas, pela dedicação, apoio, motivação, paciência e compreensão.

Ao Dr. Roberto Alexandre Pisa Camacho, pela sua co-orientação, pelo apoio, pelo importante contributo no tratamento estatístico dos dados e pela disponibilidade no esclarecimento de dúvidas.

À Enf. Ana Paula Gonçalves Cruz Aguiar, pela sua co-orientação e pelo apoio.

Ao Dr. Nuno Canhoto, pela colaboração no desenho do estudo, pelo acesso aos dados clínicos imprescindíveis para a elaboração deste trabalho e pelas sugestões.

À Dr^a Graça Andrade, pela disponibilização de todas as condições necessárias para o desenvolvimento da componente prática deste trabalho, no Serviço de Patologia Clínica do Hospital Dr. Nélio Mendonça.

À Técnica Maria da Luz Sardinha, pelo apoio demonstrado, pela compreensão e pela amizade.

Ao Dr. Ilídio Ornelas, pelo apoio, pelos conselhos oportunos, pela partilha de conhecimentos e pela amizade.

Às minhas colegas, mas acima de tudo amigas: Claudia Pita, Dina Abreu e Fátima Costa, que me acompanharam nesta aventura. Muito obrigada pelo companheirismo, pela cumplicidade, pela amizade, pelo incentivo, pelo ombro amigo e pelo empurrão quando necessário. Esta jornada teria sido muito mais árdua sem vocês!

Por último, um agradecimento especial aos meus pais e irmãos. Ao meu pai (*in memoriam*), que partiu durante a elaboração deste trabalho, e à minha mãe, pelo exemplo de força e coragem, por sempre me terem incentivado a seguir os meus sonhos, a lutar pelos meus objetivos e a nunca desistir. Aos meus irmãos, pelo apoio,

compreensão de todas as minhas ausências, dedicação e paciência. O meu eterno agradecimento.

A todos, o meu sincero **Obrigada!**

RESUMO

A sépsis apresenta vários graus de gravidade. Pode provocar sinais e sintomas ligeiros ou poderá levar a choque, falência de múltiplos órgãos e até à morte.

Apesar dos avanços na medicina, a sépsis continua a ser um problema comum em pacientes críticos, sendo uma das principais causas de morte nestes pacientes. Atraso no diagnóstico e início da terapia antibiótica aumenta a mortalidade e morbilidade, prolongando o internamento e tratamento, com os respetivos custos sócio-económicos associados.

O seu diagnóstico por vezes pode ser desafiante. Sabendo que o organismo reage bioquimicamente às infeções bacterianas, a utilização de marcadores bioquímicos poderá ser vantajoso para auxiliar no diagnóstico de sépsis.

Neste estudo foram doseados alguns marcadores bioquímicos comumente analisados no laboratório hospitalar, com o intuito de determinar se algum se adequa ao diagnóstico de sépsis. Para tal, foi doseado a concentração sérica de bilirrubina total (TBil), bilirrubina indireta (IBil), bilirrubina direta (DBil), procalcitonina (PCT), proteína C reativa (PCR) e lactato (LACT), em 100 indivíduos saudáveis, que constituiu o grupo controlo e 200 indivíduos distribuídos por quatro subgrupos, Septicémia (20 indivíduos), Sépsis (52 indivíduos), Sépsis grave (41 indivíduos) e Choque séptico (87 indivíduos), que constituiu o grupo patológico.

A concentração sérica de TBil ($2,95 \pm 7,64$ mg/dL), IBil ($1,13 \pm 1,76$ mg/dL) e DBil ($1,82 \pm 5,96$ mg/dL), PCT ($35,26 \pm 36,25$ ng/mL) e de PCR ($240,36 \pm 120,25$ mg/L) foram mais elevadas no subgrupo Sépsis grave. Quanto ao LACT, o subgrupo Choque séptico apresentou a concentração sérica mais elevada ($5,11 \pm 4,95$ mmol/L). A percentagem de mortalidade aumentou de acordo com a severidade de sépsis.

De entre os marcadores estudados, o melhor para a deteção de sépsis foi a PCR, que obteve uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 99,5%, seguido pela PCT, com uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 92,5%.

Palavras-chave: Sépsis, Marcadores bioquímicos, Procalcitonina, Proteína C reativa, Lactato.

ABSTRACT

Sepsis has varying degrees of severity. It may produce mild signs and symptoms or may lead to shock, multiple organ failure and even death.

Despite the advances in medicine, sepsis remains a common problem in critically ill patients and is also a leading cause of death in these patients. Delay in diagnosis and initiation of antibiotic therapy increases mortality and morbidity, leads to prolonged hospitalization and treatment, with associated socioeconomic costs.

The diagnosis sometimes can be challenging. Knowing that the organism reacts biochemically to bacterial infections, the use of biochemical markers may be advantageous to aid in the diagnosis of sepsis.

In this study, some biochemical markers commonly analyzed in the hospital laboratory were dosed, in order to determine if any would be fit for the diagnosis of sepsis.

The serum concentration of total bilirubin (TBil), indirect bilirubin (IBil), direct bilirubin (DBil), procalcitonin (PCT), C-reactive protein (CRP) and lactate (LACT) was measured in a 100 healthy individuals, constituting the control group and 200 individuals divided into four subgroups, Septicemia (20 individuals), Sepsis (52 individuals), Severe sepsis (41 individuals) and Septic shock (87 individuals), which constituted the pathological group.

The serum concentration of TBil ($2,95 \pm 7,64$ mg/dL), IBil ($1,13 \pm 1,76$ mg/dL) and DBIL ($1,82 \pm 5,96$ mg/dL), PCT ($35,26 \pm 36,25$ ng/mL) and CRP ($240,36 \pm 120,25$ mg/L) were higher in the Severe sepsis subgroup. Regarding LACT, the Septic shock subgroup had the highest serum concentration ($5,11 \pm 4,95$ mmol/L). The percentage of mortality increased according to the severity of sepsis.

Among the markers studied, the best for the detection of sepsis was CRP, which obtained a sensitivity of 100% and a specificity of 99,5%, followed by PCT, with a sensitivity of 100% and a specificity of 92,5 %.

Keywords: Sepsis, Biochemical markers, Procalcitonin, C-reactive protein, Lactate.

ÍNDICE

Agradecimentos	I
Resumo	III
Abstract	IV
Índice de Figuras	VII
Índice de Tabelas	VIII
Lista de Abreviaturas e Siglas	IX
1. Introdução	1
1.1. Sépsis	1
1.2. Septicémia	7
1.3. Sépsis grave	7
1.4. Choque séptico	8
1.5. Tratamento	9
1.6. Biomarcadores	10
1.6.1. Procalcitonina	11
1.6.2. Proteína C reativa	14
1.6.3. Lactato	15
2. Objetivos	17
3. Metodologia	18
3.1. Amostragem	18
3.2. Critérios de inclusão	18
3.3. Critérios de exclusão	18
3.4. Recolha de dados	19
3.5. Recolha de sangue	20
3.6. Testes laboratoriais	21
3.7. Tratamento estatístico	24
4. Resultados	25
4.1. Caracterização da população estudada	25
4.2. Características laboratoriais	29
4.3. Curvas ROC	37
4.4. Valores de <i>cut-off</i> , sensibilidade e especificidade	39
5. Discussão	41

6. Conclusão	50
7. Perspetivas Futuras	51
8. Bibliografia	52
9. Anexos	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Os vários graus de gravidade de sépsis	2
Figura 2 – Relação entre SIRS, sépsis e infeção	4
Figura 3 – Principais características dos vários graus de gravidade de sépsis.	6
Figura 4 – Estrutura da procalcitonin	12
Figura 5 – Princípio de Coulter	21
Figura 6 – Distribuição do grupo patológico pelos diferentes subgrupos	25
Figura 7 – Distribuição da população quanto ao género	26
Figura 8 – Distribuição da população quanto à idade	27
Figura 9 – Caracterização dos subgrupos do grupo patológico quanto ao género	28
Figura 10 – Caracterização do grupo de controlo e dos subgrupos do grupo patológico quanto à idade	29
Figura 11 – Concentração sérica de PCT	35
Figura 12 – Concentração sérica de PCR	35
Figura 13 – Concentração sérica de LACT	36
Figura 14 – Mortalidade por subgrupo do grupo patológico	37
Figura 15 A – Curva ROC para a TBil, DBil, PCR, PCT e LACT	38
Figura 15 B – Curva ROC para a LEU, NEU, LIN, ERIT, Hgb, Hct e RDW	38

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros bioquímicos analisados nas amostras do grupo controlo e dos subgrupos do grupo patológico.....	30
Tabela 2 - Análise comparativa entre os grupos	32
Tabela 3 – Valores de <i>Cut-Off</i> , Sensibilidade e Especificidade	39
Tabela 4 – Valores de <i>Cut-Off</i> , Sensibilidade e Especificidade calculado manualmente..	
.....	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a.a - aminoácidos

ACCP - *American College of Chest Physicians*

ATS - *American Thoracic Society*

AUC - *area under the curve*

BAS- Basófilos

bpm – batimentos por minuto

CALC-1 – gene calcitonina-1

CCP-I - calcitonina-calcitoninacarbopeptidase I

CHCM - Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

DBil - Bilirrubina Direta

DP – desvio padrão

DPD - tetrafluoroborato de 3,5-diclorofenildiazonio

EDTA – ácido etilenodiaminotetracético

EOS - Eosinófilos

ERIT - Eritrócitos

ESICM - *European Society of Intensive Care Medicine*

EUA – Estados Unidos da América

HCM - Hemoglobina Corpuscular Média

Hct - Hematócrito

Hgb - Hemoglobina

IBil - Bilirrubina Indireta

IC – Intervalo de confiança

IL – 1 – interleucina - 1

IL – 6 - interleucina – 6

IL - Instrumentation Laboratory

ITF- γ - interferon gama

K3EDTA - ácido etilenodiaminotetracético tripotássico

LACT – Lactato

LEU - Leucócitos

LIN - Linfócitos

MON - Monócitos

NEU - Neutrófilos
PaCO₂ - Pressão arterial de gás carbônico
PCR - proteína C reativa
PCT - procalcitonina
PDW - *platelet distribution width*
PLQ - Plaquetas
RAM - Região Autónoma da Madeira
RDW - *red cell distribution width*
Ref. – Referência
ROC - *receiver operating characteristic curve*
rpm – rotações por minuto
SCCM - *Society of Critical Care Medicine*
SIRS - síndrome de resposta inflamatória sistémica
SIS - *Surgical Infection Society*
SPSS - *Statistical Package for the Social Sciences*
TBil - Bilirrubina Total
TNF – fator de necrose tumoral
VCM - Volume Corpuscular Médio

1. INTRODUÇÃO

1.1. SÉPSIS

O termo sépsis não é recente, derivando do grego “*sepein*” que significa “putrefação”. Antigamente, e durante muito tempo, chamavam-lhe “envenenamento de sangue”, todavia não existe nenhum tipo de envenenamento na sépsis ^[1].

A sépsis é comum e frequentemente tem como desfecho a morte. Apesar dos inúmeros avanços da medicina como os antibióticos, cuidados intensivos, entre outros, continua a representar a principal causa de morte por infeção. A sua incidência tem vindo a aumentar em todo mundo ^[2]. Nos países desenvolvidos, estima-se que ocorre sépsis em cerca de 2% de todos os internamentos ^[2].

Atualmente a sépsis constitui uma das principais causas de morbilidade e de mortalidade das unidades de cuidados intensivos ^[3, 4]. A nível mundial, a sépsis é uma das principais causas de mortalidade situando-se entre 30% a 60% ^[5].

Sepsis é uma síndrome clínica caracterizada por uma inflamação causada por infeção. Infeções graves podem complicar e evoluir para sépsis, nomeadamente infeções que se alastram rapidamente pelo organismo, afetando vários órgãos. Os focos de infeção mais frequentes são os pulmões devido à pneumonia, intestinos no caso de haver perfuração para a cavidade abdominal, rins devido a infeções do trato urinário, a pele devido à celulite, feridas cirúrgicas, úlceras de pressão ou infeção em redor de cateteres, cérebro no caso de meningite e ossos no caso de osteomielite ^[6]. Num terço dos casos o foco de infeção é indeterminado ^[2].

A sépsis surge quando a resposta do organismo a uma infeção, que tem por objetivo eliminar os patógenos invasores, danifica os seus próprios tecidos ou órgãos ^[5] através de uma resposta inflamatória exacerbada, que pode por si só provocar disfunção orgânica, bem como, quando o organismo não consegue controlar a infeção ou crescimento do patógeno invasor ^[7]. Isto é, quando um patógeno entra num local normalmente estéril do organismo, este é detetado e é iniciado uma resposta inflamatória com o objetivo de eliminá-lo. Se a quantidade de patógenos invasores for pequena, a resposta local é suficiente para os eliminar. Os macrófagos fagocitam bactérias e produzem citocinas pró-inflamatórias que ativam a via inata do sistema imune em resposta ao patógeno bacteriano, o que desencadeia a produção de

interleucina 1- β (IL 1- β), fator de necrose tumoral (TNF) e interleucina 6 (IL-6) [2, 8]. Citocinas têm sido implicadas na patogênese da sépsis [2].

Contudo, por vezes ocorre uma produção excessiva de mediadores inflamatórios e excessiva ativação de células inflamatórias, originando uma anarquia na qual o organismo perde controlo do que criou, o que é característico da sépsis [9]. Por outro lado, o patógeno pode ser de tal forma agressivo ou estar presente em quantidade tão elevada que a resposta inflamatória para o eliminar é equiparada na agressividade, no entanto, o paciente com sépsis é incapaz de compensar os danos colaterais que daí advêm como o comprometimento de órgãos por exemplo [8].

Desta forma, o desfecho da sépsis depende não apenas da resposta do hospedeiro, que poderá ser intensa e provocar danos de órgãos e de tecidos mas também da viabilidade do patógeno invasor, que poderá ser tóxico e destrutivo para os tecidos, uma vez que não há uma discriminação pelos efetores altamente potentes entre alvos microbianos e do hospedeiro [10].

A sépsis é uma patologia que apresenta vários graus de gravidade: Septicémia, Sépsis, Sépsis Grave e Choque Séptico, sendo a Septicémia a menos grave e o Choque Séptico o mais grave.

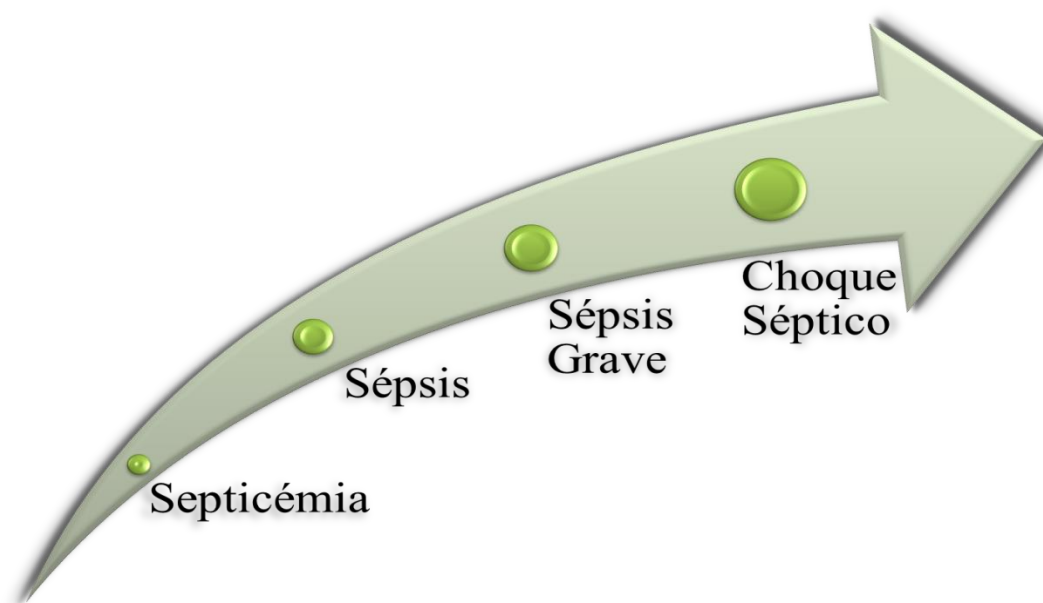


Figura 1 – Os vários graus de gravidade de sépsis. Adaptado de [11].

A sépsis pode provocar sinais e sintomas ligeiros ou poderá levar a choque, falência de múltiplos órgãos e até a morte, especialmente se não for diagnosticada e

tratada de imediato. Quanto maior a gravidade da patologia, maior é a taxa de mortalidade^[2]. Fatores tais como a origem do foco da infecção, a virulência do patógeno invasor, presença de outras patologias, estado imunológico do paciente, entre outros, explicam a ampla variação clínica da sépsis^[12].

É difícil detetar precocemente a sépsis, uma vez que, os primeiros sinais e sintomas, para além de poderem ser muito variados, podem ser confundidos com manifestações clínicas de outros processos não infecciosos, visto que, normalmente não são específicos. Os exames bacteriológicos requerem algum tempo para obter resultados. Outros parâmetros utilizados para auxiliar o diagnóstico da sépsis como o hemograma por exemplo, apresentam pouca sensibilidade e especificidade. Uma deteção célere de forma a permitir uma antibioticoterapia adequada e atempada é essencial para que o tratamento seja bem sucedido, reduzindo conseqüentemente a mortalidade^[4, 5, 13, 14, 15].

É frequente haver complicações durante a sépsis tais como hipotensão, insuficiência cardíaca, coma, insuficiência renal, coagulação intravascular disseminada entre outros, ou seja, pode haver falha multi-orgânica levando à morte. A taxa de mortalidade é mais elevada na infância, nos idosos, nos indivíduos imunodeprimidos e com outras comorbidades^[16].

É crucial tentar eliminar o patógeno invasor, verificar a resposta imune do hospedeiro e administrar um antibiótico apropriado durante as primeiras horas de infecção de forma a melhorar o prognóstico dos pacientes com sépsis^[7].

Em 1991, o *American College of Chest Physicians* e o *Society of Critical Care Medicine* desenvolveram o conceito de sepsis e síndrome de resposta inflamatória sistémica (SIRS) diferenciando-os. Definiram sépsis como uma resposta inflamatória sistémica à infecção, que poderá se desenvolver em resposta a diversas causas infecciosas^[17]. Quando surge uma infecção, ou seja, quando o organismo do hospedeiro desencadeia uma resposta inflamatória à presença de micro-organismos tais como bactérias, fungos, vírus, entre outros, leva à produção de SIRS. Habitualmente a infecção é de origem bacteriana^[18].

Trauma, cirurgia, enfarte agudo do miocárdio, pancreatite, pielonefrites bacterianas, infeções sistémicas resultantes de pneumonias, isquémia, choque hemorrágico e queimaduras graves são condições que podem evoluir para uma SIRS^[10, 16].

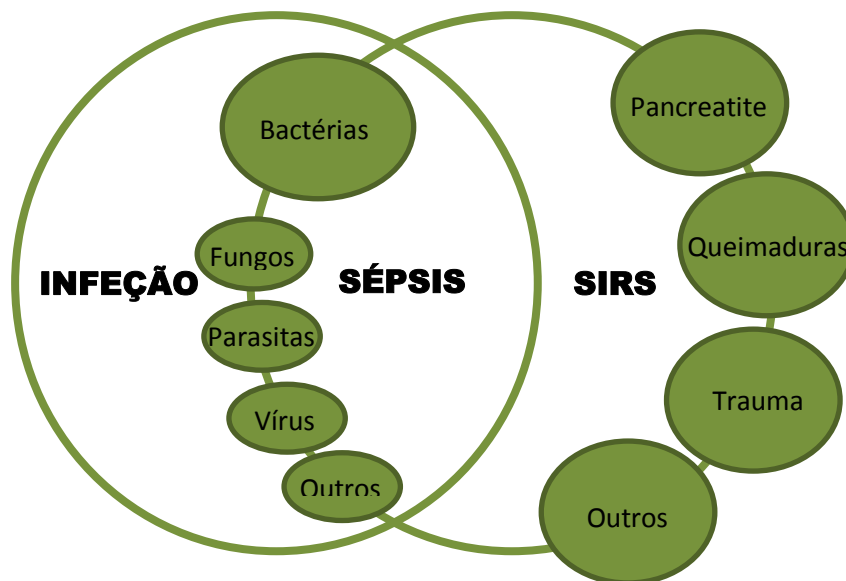


Figura 2 - Relação entre SIRS, sépsis e infecção. Adaptado de [19].

A SIRS é definida como uma síndrome generalizada caracterizada pela presença de pelo menos dois sinais e sintomas clínicos de inflamação nomeadamente ^[16]:

- Febre ou hipotermia – temperatura corporal $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ou $\leq 36^{\circ}\text{C}$ respetivamente;
- Taquicardia – frequência cardíaca ventricular > 90 batimentos por minuto (bpm);
- Taquipneia – frequência respiratória > 20 respirações por minuto ou Pressão arterial de gás carbónico (PaCO_2) < 32 mmHg;
- Leucocitose – leucócitos $> 12000 \times 10^3 \mu\text{L}$ ou leucopénia – leucócitos $< 4000 \times 10^3 \mu\text{L}$.

A sépsis é uma resposta sistémica à infecção à semelhança da SIRS, no entanto, para ser considerado sépsis deve haver infecção (comprovada ou suspeita) e pelo menos dois sinais de inflamação sistémica ^[10].

Em 2001, os critérios estabelecidos em 1991 foram revistos por representantes do *American College of Chest Physicians (ACCP)*, da *Society of Critical Care Medicine (SCCM)*, da *European Society of Intensive Care Medicine (ESICM)*, da *American Thoracic Society (ATS)*, e da *Surgical Infection Society (SIS)*. Apesar de concluírem que ainda estavam adequados para serem utilizados na prática clínica, foram adicionados novos critérios (Anexo 1).

Quando a etiologia destas manifestações clínicas é um processo infeccioso, é adotado o termo sépsis. A nível sistémico, em simultâneo com estas manifestações, ocorre um aumento dos níveis dos principais mediadores humorais envolvidos na resposta inflamatória, nomeadamente fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) interleucina 6 (IL-6), interleucina 1 alfa (IL 1- α) e interferon gama (ITF- γ). Quando a resposta humoral ou celular do hospedeiro é exagerada, pode ocorrer disfunção multiorgânica (alteração das funções dos órgãos de forma a que homeostase não possa ser assegurada sem intervenção terapêutica), hipotensão (pressão arterial sistólica inferior a 90 mmHg ou queda dos valores tensionais base de mais de 40 mmHg) ou manifestações sistémicas de hipoperfusão tecidual (acidose láctica, oligúria ou manifestações neurológicas) ^[2].

O diagnóstico clínico da sépsis requer a existência de SIRS que resulta de um foco de infeção ^[2]. A sépsis, por si só, tem um pior prognóstico do que a SIRS ^[20].

Tanto a resposta proinflamatória como a antiinflamatória fazem parte da resposta do hospedeiro à sépsis. A quantidade e virulência do patógeno invasor e as características do hospedeiro como a idade, medicação, patologias coexistentes, entre outros, vão influenciar a resposta específica do paciente em termos de direção, extensão e duração, que irá variar a nível local, regional e sistémico ^[17].

Em situações como por exemplo, após queimaduras, trauma, pancreatite, pós-operatórios existe SIRS, mas sem sépsis. O contrário já não se verifica, ou seja, a sépsis é SIRS de origem infecciosa ^[9]. Nem todos os pacientes com SIRS têm sépsis, mas a maioria dos pacientes com sépsis têm SIRS ^[21].

Apesar de todos os pacientes com sépsis terem uma infeção, nem todos os pacientes com uma infeção têm sépsis ^[22]. Num terço dos pacientes com sépsis a origem é desconhecida o que adia o tratamento adequado, recorrendo a antibióticos de largo espetro antes de saber os resultados das hemoculturas o que contribui para o aumento da resistência aos antibióticos ^[10].

A resposta inflamatória de indivíduos com sépsis engloba uma fase pró-inflamatória que poderá ser mais ou menos acentuada, na qual ocorre a ativação do sistema imune inato, ou seja, os leucócitos, monócitos, macrófagos, complemento, a resposta das células endoteliais e epiteliais, entre outros. Posteriormente haverá sinais de inflamação sistémica nomeadamente febre, leucocitose, taquicárdia, aumento da respiração, disfunção orgânica e edema. Após esta fase, em alguns casos pode haver uma fase anérgica, na qual estes mecanismos deixam de funcionar aumentando o risco de ocorrer

uma infecção secundária. A resposta inflamatória varia de pessoa para pessoa e com a gravidade da situação ^[10].

Os produtos libertados pelos patógenos invasores ou as substâncias sintetizadas pelo organismo do hospedeiro para os combater provocam alterações metabólicas nos pacientes com sépsis ^[18].

Tem sido verificado que a sépsis grave ocorre devido à incapacidade do hospedeiro controlar o crescimento bacteriana, bem como da resposta inflamatória exacerbada que pode por si só provocar uma disfunção orgânica. Desta forma, as primeiras horas do desenvolvimento da sépsis são cruciais para erradicar o invasor bacteriano e ter em atenção a resposta imune do hospedeiro. A administração de antibióticos apropriados nesta fase inicial permite um melhor desfecho para estes pacientes ^[7].

A sépsis é uma resposta sistémica à infecção que poderá evoluir para sépsis grave e choque séptico ^[23].

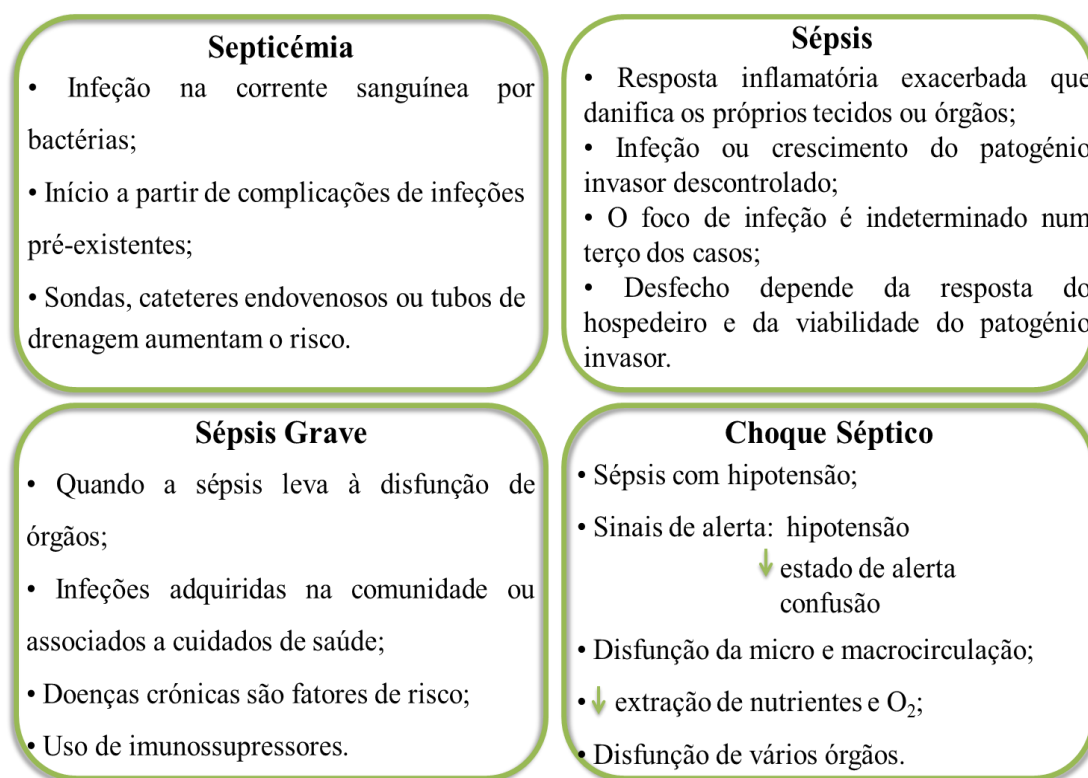


Figura 3 – Principais características dos vários graus de gravidade de sépsis.

1.2. SEPTICÉMIA

A septicémia é uma infecção na corrente sanguínea causada por bactérias ou suas toxinas. Uma vez na corrente sanguínea, as bactérias, espalham-se por todo o organismo. Nas últimas décadas tem-se verificado um aumento exponencial na sua incidência em pessoas hospitalizadas. Habitualmente, tem início a partir de complicações de infecções pré-existentes noutras áreas do organismo, nomeadamente os pulmões, trato urinário, abdómen, feridas cirúrgicas entre outras. A introdução de sondas, cateteres endovenosos ou tubos de drenagem aumentam o risco de desenvolver septicémia. O risco é tanto maior, quanto mais prolongado for o tempo que o objeto estranho ao organismo permanecer colocado. Também varia de acordo com a sua localização. Pessoas imunodeprimidas têm maior predisposição para desenvolver septicémia. A sua elevada mortalidade e custos associados constituem uma preocupação crescente^[24].

1.3. SÉPSIS GRAVE

Estamos perante um quadro de sépsis grave quando a sépsis conduz à disfunção de pelo menos um órgão^[10, 17]. Tanto infeções adquiridas na comunidade como associadas a cuidados de saúde podem provocar sépsis grave. Aproximadamente metade dos casos é causada por pneumonia, que representa a causa mais comum, seguido de infeções intra abdominais e do trato urinário^[17].

Doenças crónicas como a doença pulmonar obstrutiva crónica, síndrome de imunodeficiência adquirida e vários tipos de cancro, o uso de imunossuppressores constituem fatores de risco para o desenvolvimento de sépsis grave. Estes fatores de risco dependem da predisposição do paciente em adquirir uma infeção e da probabilidade de ocorrer disfunção orgânica aguda na eventualidade do mesmo^[17].

O sistema respiratório e cardiovascular são habitualmente os mais afetados pela disfunção orgânica aguda. O comprometimento a nível respiratório é manifestado pela hipóxia. A nível cardiovascular, a manifestação ocorre por hipotensão e/ou níveis séricos de lactato elevados. O cérebro e rins também são frequentemente afetados. A disfunção do sistema nervoso central manifesta-se por delírio. A diminuição da excreção urinária (oligúria) e um aumento do nível sérico de creatinina indica a

presença de uma lesão renal aguda, que muitas vezes necessitará de uma terapia de substituição (diálise) [17].

Pensa-se que o dano tecidual colateral na sépsis grave se deve às reações pró-inflamatórias que são direcionadas à eliminação de patógenos invasores, enquanto que o aumento da suscetibilidade a infecções secundárias é atribuído às reações anti-inflamatórias que são relevantes na limitação de danos tecidulares locais e sistêmicos [17].

O sistema imune pode atenuar os efeitos potencialmente prejudiciais da resposta pró-inflamatória através de mecanismos humorais, celulares e neuronais. Os fagócitos podem adquirir características anti-inflamatórias o que promove a reparação tecidual. Os mecanismos neuronais podem inibir a inflamação [17].

1.4. CHOQUE SÉPTICO

O choque séptico é definido como sépsis com hipotensão (pressão arterial sistólica < 90 mmHg ou uma redução de 40 mmHg da pressão arterial sistólica basal, excluídas outras causas de hipotensão) apesar de uma adequada reposição de fluidos, concomitante disfunção orgânica ou perfusão inadequada (acidose láctica, oligúria ou alteração aguda do estado mental) [2,10].

A hipotensão pode ser de tal forma baixa que poderá colocar a vida em risco. Isto acontece devido à dilatação dos vasos sanguíneos, apesar do aumento do ritmo cardíaco e do volume de sangue bombeado. Poderá haver edema devido a perdas de líquido dos vasos sanguíneos para os tecidos. A quantidade de sangue disponível para os órgãos vitais é reduzida. Posteriormente, há uma tentativa de elevação da pressão arterial pela contração dos vasos sanguíneos, no entanto, a quantidade de sangue bombeada pelo coração diminui, permanecendo o estado de hipotensão [25].

Os primeiros sinais de choque séptico, para além da hipotensão, são a redução do estado de alerta e confusão uma vez que o cérebro recebe uma menor quantidade de sangue [25]. No choque séptico ocorre uma disfunção da microcirculação, uma disfunção da macrocirculação (causando hipotensão arterial), e uma diminuição na extração de nutrientes e de oxigénio pelos tecidos periféricos [26]. Pode ocorrer disfunção de vários órgãos tais como os pulmões (dificultando a respiração e diminuindo a oxigenação do sangue), os rins (provocando oligúria) e o coração (provocando a retenção de líquidos e edema) à medida que o choque séptico se agrava [25].

No choque séptico existem vários fatores que contribuem para a ocorrência de disfunção orgânica nomeadamente a hipotensão, trombose microvascular e diminuição da capacidade dos eritrócitos se deformarem o que vai provocar uma diminuição da distribuição de oxigénio. Pode haver disfunção do endotélio vascular devida à inflamação, levando à perda da integridade da membrana, morte celular e edema. A utilização de oxigénio pelas células é dificultada devido a dano mitocondrial causado por *stress* oxidativo ^[17]. A hipoperfusão tecidual caracteriza o choque, independentemente da sua etiologia, provocando hipóxia, acidose e conseqüentemente a disfunção orgânica ^[18].

1.5. TRATAMENTO

O *Surviving Sepsis Campaign* estabeleceu directrizes internacionais que têm por base fornecer a ressuscitação cardiorrespiratória e diminuir as ameaças de infeção descontrolada. A utilização de vasopressores e fluidos intravenosos, recorrendo à terapia com oxigénio e ventilação mecânica se necessário, são requisitos para a ressuscitação. Primeiro é necessário realizar um diagnóstico provável através da colheita de hemoculturas, a iniciação de uma antibioterapia empírica e o controlo do foco de infeção. A suspeita do foco de infeção e história clínica vão determinar a escolha da terapia empírica. Uma terapia inadequada ou tardia está associada ao aumento da mortalidade, daí que deve ser iniciada o mais cedo possível e ser de largo espectro ^[17].

Em alguns casos, o foco da infeção tem de ser eliminado através de uma intervenção cirúrgica, como por exemplo, um abscesso. Se houver suspeita do foco de infeção ser um cateter ou uma sonda, é retirado ^[25]. O paciente deve ser transferido para um local apropriado como os cuidados intensivos para continuar o tratamento. Após as primeiras 6 horas, de forma a evitar complicações, deve haver monitorização da função orgânica. Logo que possível deve haver uma redução do antibiótico de largo espectro para prevenir o surgimento de bactérias multi-resistentes, toxicidade medicamentosa e redução de custos ^[17].

O doseamento de lactato e a colheita das hemoculturas antes da administração de antibióticos deve ser feito nas primeiras três horas. A administração de vasopressores, medição da saturação venosa central de oxigénio, da pressão venosa central e reavaliação do lactato deve ser feita nas primeiras seis horas ^[27].

Devido à elevada mortalidade da sépsis e à dificuldade do seu diagnóstico precoce, que é fundamental para um tratamento adequado e atempado, de forma a obter um desfecho favorável, a utilização de biomarcadores poderá ser uma ajuda importante para os clínicos^[28, 29].

As hemoculturas de indivíduos com uma forte suspeita de sépsis são positivas em aproximadamente 50% dos casos devido à altura em que são colhidas não ser a mais adequada ou interferência do antibiótico no crescimento bacteriano, não permitindo uma confirmação microbiológica da suspeita de infeção. Também pode ocorrer contaminação ou serem colhidas após o início do antibiótico^[16, 21, 30].

Para além da obtenção dos resultados das hemoculturas levar algum tempo, um terço dos pacientes com sinais clínicos de sépsis, apresentam resultados negativos devido à altura da colheita não ser a mais favorável^[31].

Nos últimos anos, largas dezenas de moléculas têm sido estudadas e sugeridas como biomarcadores para permitir o diagnóstico precoce da sépsis^[15]. Entre os mais estudados encontram-se a procalcitonina (PCT) e a proteína C reativa (PCR).

A identificação precoce de pacientes com elevado risco de morte por sépsis seria muito útil para tomar as medidas adequadas para a aplicação de uma terapêutica apropriada de forma célere, podendo ter um impacto na mortalidade e morbidade da sépsis^[5].

1.6. BIOMARCADORES

Biomarcadores são entidades que podem ser objetivamente medidas e avaliadas como um indicador da ocorrência de uma determinada função normal ou patológica de um organismo ou uma resposta a um agente farmacológico^[32]. Existem vários tipos de biomarcadores: histológicos (amostras de tecido obtidas por biópsias), anatómicos, físicos (modificações características em estruturas biológicas) e fisiológicos (funções de órgãos). No geral podem constituir hormonas, enzimas, genes, moléculas, células específicas, um parâmetro químico, físico ou biológico, e não servem apenas para diagnosticar ou avaliar a progressão da doença, mas também o efeito do tratamento. Devido à relativa facilidade de obtenção a partir de fluidos biológicos, os marcadores bioquímicos são possivelmente os biomarcadores com maior relevância na prática clínica e na investigação médica.

É importante conhecer as vantagens e limitações de um biomarcador antes de ser utilizado no diagnóstico de uma patologia [2]. Um biomarcador deve ser sensível de forma a permitir que o resultado seja positivo sempre que exista infecção. Deve ser específico de modo a evitar que pacientes sem infecção sejam diagnosticados e tratados como tendo infecção [33].

Um biomarcador apenas será uma ferramenta de diagnóstico útil se for possível obter uma amostra utilizando técnicas pouco invasivas (sangue, urina, saliva, líquido cefalorraquidiano) onde este possa ser detetado com facilidade [34]. Deve poder ser analisado num curto espaço de tempo, de forma fiável e com custos reduzidos. Outra característica desejável é o aumento precoce do biomarcador no início do processo infeccioso e uma diminuição rápida se houver resposta favorável ao tratamento [35].

Encontrar um biomarcador que auxilie num diagnóstico preciso e precoce da sépsis continua a ser uma tarefa desafiante. Este desafio tem impacto não só no desfecho do paciente em si, mas também na saúde pública em geral devido à resistência bacteriana emergente aos antibióticos resultante do seu uso excessivo [36] o que acarreta custos [37].

Para além de experiência clínica, existe atualmente a necessidade de encontrar um biomarcador que auxilie no diagnóstico da sépsis e na diferenciação entre sépsis e SIRS. A PCT tem sido alvo de vários estudos com resultados promissores. Níveis elevados de PCT indicam uma infecção bacteriana sistémica sendo igualmente útil na monitorização do tratamento com antibióticos [2, 4, 8, 10, 13].

Atualmente existe um vasto leque de biomarcadores que estão a ser alvo de estudos, entre os quais se encontram a PCT e a PCR.

1.6.1. PROCALCITONINA

A PCT é uma proteína funcional constituída por 116 aminoácidos e possui uma massa molecular de 14,5 kDa. É sintetizada principalmente nas células C parafoliculares [36] da tiróide mas também pelas células neuroendócrinas do pulmão e intestino [2, 16]. É o principal precursor da calcitonina e é codificada pelo gene CALC-1, localizado no braço curto do cromossoma 11.

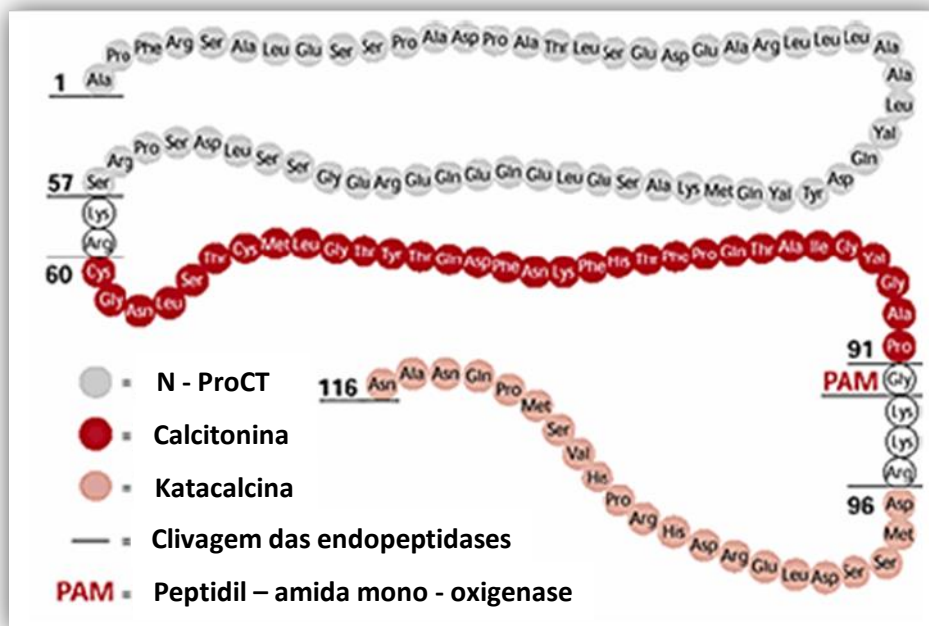


Figura 4 – Estrutura da procalcitonina. Adaptado de [38].

A PCT é constituída por três peptídeos, a amino-procalcitonina com uma sequência de 57 aminoácidos (a.a) na terminação amina, a calcitonina imatura na posição central e o composto calcitonina-calcitoninacarboxipeptidase I (CCP-I), com uma sequência de 21 a.a na terminação carboxil. A calcitonina apresenta uma sequência de 32 a.a que se localiza entre o 60º e 91º posição da cadeia de PCT. A pré-procalcitonina, um peptídeo de 141 a.a é responsável pela produção de PCT [36].

A pré-procalcitonina sofre uma clivagem por endopeptidases, originando PCT. A PCT, por sua vez, é clivada e são adicionadas cisteínas nas posições 1 e 7, numa ponte dissulfídica, resulta em calcitonina que pode ser secretada ao se ligar ao recetor específico, catacalcina e a região N-terminal da PCT. Uma vez que não existem enzimas com a capacidade de clivar a PCT em calcitonina em meio extracelular, esta proteólise acontece apenas em meio intracelular. Por este motivo, os níveis séricos de PCT em indivíduos saudáveis são quase indetetáveis [36]. A PCT que chega à circulação, por escapar à proteólise intracelular possui uma semi-vida de 25 – 30 horas [36].

Durante infeções bacterianas, há um aumento da transcrição do gene CALC-1 em vários tecidos que não a tiroide por todo o corpo [39]. Contudo, na ausência de infeção, a transcrição deste gene noutros tecidos além da tiroide é suprimida. Desta forma, a PCT detetável em circulação durante uma infeção não é produzida pelas células C da tiróide, mas sim pelas células neuroendócrinas do pulmão ou intestino [2]. A

capacidade de produção de PCT em resposta a estímulos infecciosos é mantida em doentes tireoidectomizados, o que indica a origem extra-tiroideia como as células mononucleadas^[40].

A indução e síntese da PCT ocorre de forma célere e pode ser detetada 2 a 4 horas após o início do estímulo e atinge o pico entre 24 a 48 horas^[41]. O nível de PCT está correlacionado com a severidade da patologia^[16]. Enquanto o fenómeno inflamatório ou infeccioso persistir, o nível de PCT manter-se-á elevado, diminuindo aquando da melhoria clínica do paciente resultante de uma resposta favorável ao tratamento. Valores continuamente elevados ou crescentes indicam mau prognóstico^[42].

Vários estudos indicam que há uma elevação da concentração sanguínea de PCT em situações de infeção, principalmente de origem bacteriana, uma vez que as citocinas e endotoxinas inibem a proteólise. As infeções virais sistémicas têm níveis de PCT mais reduzidos comparativamente com infeções bacterianas^[16].

Quando a sua estrutura exata foi identificada, mais precisamente em 1981, a sua real função era dúbia uma vez que no início era apenas verificado um aumento em pacientes com carcinomas de pequenas células do pulmão e com carcinoma medular da tireoide^[36]. Em pessoas saudáveis apresentava níveis extremamente reduzidos. A sua ligação com pacientes com infeção foi estabelecida em 1993, aquando do surgimento de relatos destes pacientes apresentarem níveis elevados de PCT, sendo feita também uma relação entre a gravidade da doença e com a resposta ao tratamento com antibióticos^[36].

A indução de PCT está relacionada com a ativação e adesão de células monocíticas, que ocorre durante a sépsis e noutras situações como trauma tecidual^[41].

Indivíduos com sépsis apresentam níveis de PCT mais elevados do que indivíduos com SIRS^[16]. Durante o decorrer da sépsis poderá existir um aumento significativo da PCT, o que frequentemente indica um agravamento da patologia. Porém uma redução do nível de PCT frequentemente indica um sinal positivo na evolução da patologia^[16, 43]. É de salientar que durante a sépsis poderão ocorrer complicações tais como hipotensão, choque, insuficiência cardíaca, insuficiência respiratória ou coagulação vascular disseminada. Estas complicações podem influenciar acentuadamente o decorrer da patologia, sem por si só, afetarem os níveis de PCT^[16].

A principal causa fisiopatológica que despoleta a elevação da PCT é a infeção, tanto de origem exógena como endógena. Ao contrário das citocinas pro-inflamatórias e anti-inflamatórias, que aumentam de forma muito célere perante uma infeção, durante a

sépsis, têm uma semi-vida muito curta e apresentam flutuações irregulares, a PCT tem uma elevação mais lenta e persistente^[16].

A PCT tem sido apontada como um biomarcador importante na definição da terapêutica e da sua duração. Atualmente tem sido verificado uma resistência crescente aos antibióticos e surgimento de estirpes multi-resistentes a esta terapêutica, a redução da sua duração mas mantendo a sua eficácia clínica e a utilização em casos estritamente necessários seria muito útil para melhorar esta situação^[44].

1.6.2. PROTEÍNA C REATIVA

A PCR foi descoberta em 1930 por Tillett e Francis. Foi-lhe atribuída este nome pelo facto de reagir com o polissacarídeo C da cápsula dos pneumococos na fase aguda da pneumonia pneumocócica^[45]. A introdução da designação de “proteína de fase aguda” surgiu inicialmente para classificar os doentes com infeção cujo soro era PCR positivo^[42]. Ao longo do tempo, vários estudos demonstraram a utilidade desta proteína como indicador em várias patologias inflamatórias. Atualmente é um parâmetro bioquímico amplamente utilizado com um aumento exponencial na sua solicitação^[42, 45].

É uma proteína de 206 resíduos de aminoácidos com um peso molecular de 118Kd aproximadamente. É formada por um pentâmero cíclico composto por cinco subunidades polipeptídicas idênticas, não glicosiladas, que adquirem uma configuração circular, ligadas de forma não covalente pertencente à família de proteínas pentraxinas^[46].

É sintetizada pelo fígado em resposta a estímulos inflamatórios como infeções, inflamação ou traumatismos com danificação tecidular. A intensidade do estímulo inflamatório determina a taxa de síntese hepática da qual vai depender a sua concentração sérica^[40, 47]. A PCR medeia a eliminação de patógenos e células danificadas através da interação com células e mediadores inflamatórios^[10]. É uma proteína de fase aguda, isto é, a quantidade de PCR aumenta drasticamente durante os processos inflamatórios que ocorrem no organismo e volta rapidamente ao normal depois da resolução do processo. A sua concentração pode permanecer elevada se o estímulo persistir.

A síntese hepática de PCR começa entre 6 a 8 horas após o início do estímulo inflamatório e atinge o seu pico entre 36 a 50 horas depois do início da infeção. Tem

uma semi-vida de 19 horas^[45, 46]. O regresso ao nível basal poderá acontecer após vários dias^[48].

Apesar de ser muito sensível, é necessário considerar sempre a história clínica, exame físico e outros exames do doente para chegar a uma conclusão. O papel fisiológico da PCR, após se ligar à fosfocolina de determinados polissacarídeos da parede de algumas bactérias e fungos consiste essencialmente na ativação da via clássica do complemento, ou seja, na imunidade inata^[40, 46].

A ativação da via clássica do complemento ocorre pela formação de um complexo entre a PCR, que se liga a várias glicoproteínas e polissacarídeos que estão presentes em bactérias, fungos e parasitas, na presença de cálcio, o que leva à opsonização e fagocitose destes micro-organismos.

A PCR liga-se à fosfocolina que é uma molécula que se expressa em algumas bactérias e na superfície de células danificadas ou apoptóticas. Todo sistema imune é ativado quando ativa o sistema complemento. A interleucina – 6 (IL - 6) representa um dos maiores estímulos para a produção de PCR pelo fígado^[46].

A PCR participa na resposta de fase aguda, isto é, a reação do organismo que inicia o processo de reparação de qualquer lesão das estruturas do corpo. A resposta de fase aguda é desencadeada pela morte não natural das células, o que indica a presença de uma lesão em alguma parte do organismo. As células que morrem pelo processo da apoptose não desencadeiam esta resposta.

1.6.3. LACTATO

O lactato (LACT) é um composto orgânico produzido em vários tecidos do corpo humano tais como o intestino, cérebro, eritrócitos, a maior produção ocorre no músculo esquelético. Normalmente é produzido 1 mmol/kg/h de LACT. A concentração normal de LACT é inferior a 2 mmol/L em repouso, durante o exercício poderá aumentar até 5 mmol/L^[49].

Em condições normais, o LACT é rapidamente eliminado pelo fígado através dos rins^[26]. Em condições aeróbicas, o piruvato é produzido na glicólise entrando depois no ciclo de Krebs. O piruvato é convertido em LACT pelo metabolismo anaeróbio, através da catalisação da enzima lactato desidrogenase. O fígado tem a capacidade de captar este lactato e convertê-lo em glicose através da gliconeogénese ou para ser utilizado como uma fonte de energia^[49, 50].

Em condições de anaerobiose o LACT é o produto final resultante da glicólise e entra no ciclo de Cori como um substrato para a gliconeogénese ^[26].

O LACT tem vindo a ser alvo de estudo desde a década de 1960 quando Broder e Weil verificaram que o prognóstico dos pacientes estava ligado aos níveis de LACT. Estes investigadores verificaram que pacientes com choque indiferenciado cujos níveis de LACT eram superiores a 4 mmol/L apresentavam um mau prognóstico ^[26].

Quando o organismo necessita de maior quantidade de oxigénio do que há disponível, ocorre hipóxia tecidual. Ocorre a ativação do metabolismo anaeróbio e produção de LACT, cujo doseamento representa um marcador da hipóxia tecidual e choque circulatório ^[51]. Para manter a produção de energia pelas células normal, em situações de hipóxia tecidual há um aumento da glicólise anaeróbia e conseqüente aumento de LACT. A síndrome de choque (séptico, hipovolémico ou cardiogénico) é a principal causa desta situação ^[51].

A glicólise anaeróbia consiste na degradação da glicose na ausência de oxigénio. Por sua vez, a glicólise aeróbia consiste na degradação da glicose na presença de oxigénio e cujo piruvato é o produto final. O piruvato completa a sua oxidação em CO₂ e H₂ no interior da mitocôndria ativando o ciclo de Krebs e a cadeia respiratória ^[26].

Tendo por base que as alterações dos parâmetros refletem os eventos fisiológicos recentes e que esses eventos vão ter manifestações nas horas seguintes, estas alterações têm sido usadas para estabelecer a probabilidade de risco da ocorrência de mortalidade. O LACT é um dos parâmetros mais utilizados para tentar prever o prognóstico do paciente, o que se torna importante na escolha do tratamento correcto ^[52].

2. OBJETIVOS

Com a realização deste estudo, pretendeu-se determinar se entre o leque de marcadores bioquímicos comumente utilizados no laboratório hospitalar existe algum que se adeque ao diagnóstico de sépsis. Para o efeito estudaram-se dois grupos de indivíduos adultos. Um grupo de indivíduos saudáveis, que constituiu o grupo controlo e um grupo de indivíduos com sépsis, que constituiu o grupo patológico. O grupo patológico foi dividido em quatro subgrupos de acordo com a severidade de sépsis (septicémia, sépsis, sépsis grave e choque séptico). Foi efetuada a caracterização demográfica da população estudada.

Para cada grupo pretendeu-se determinar vários parâmetros laboratoriais nomeadamente o hemograma, bilirrubina total (TBil), bilirrubina indireta (IBil), bilirrubina direta (DBil), PCT, PCR e LACT. Estes parâmetros foram posteriormente analisados estatisticamente e comparados entre os grupos amostrais de forma a verificar, se a utilização destes marcadores bioquímicos, permitirá um diagnóstico precoce de sépsis possibilitando um início mais rápido da terapia antibiótica, menor tempo de internamento e de terapia, menor mortalidade e morbidade e ainda menor grau de resistências bacterianas em ambiente hospitalar. Pretendeu-se igualmente determinar os valores de *cut-off*, sensibilidade e especificidade.

3. METODOLOGIA

3.1. AMOSTRAGEM

Este estudo incidiu em indivíduos que foram diagnosticados com sépsis, sépsis grave, choque séptico ou septicémia e que conseqüentemente estiveram internados no Hospital Dr. Nélio Mendonça ou no Hospital dos Marmeleiros entre janeiro de 2012 e outubro de 2014.

O estudo obteve a aprovação da Comissão de Ética do Hospital Dr. Nélio Mendonça, SESARAM, E.P.E. sob o parecer nº 37/2013 (Anexo 2).

A população do estudo foi dividida em dois grupos. Um grupo patológico formado pelos indivíduos internados com diagnóstico clínico de sépsis, sépsis grave, choque séptico ou septicémia e um grupo controlo. O grupo controlo foi constituído por indivíduos saudáveis oriundos dos diversos Centros de Saúde da Região Autónoma da Madeira (RAM), que realizaram análises clínicas de rotina no Serviço de Patologia Clínica do Hospital Dr. Nélio Mendonça.

3.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos neste estudo os indivíduos:

- que realizaram análises clínicas no dia em que foram diagnosticados com a patologia em estudo;

3.3. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Neste estudo foram excluídos todos os indivíduos:

- que não realizaram doseamento de lactato;
- que apresentavam diagnóstico diferente ao do grupo patológico.

3.4. RECOLHA DE DADOS

A recolha de dados foi efetuada recorrendo a dois programas informáticos utilizados no Serviço de Patologia Clínica do Hospital Dr. Nélio Mendonça, o *Modulab Gold*, versão 2.3.08 e o *ATRIUM (SEIS - RAM)*, versão 2.0.0.22.

Foi aplicado um filtro no *Modulab Gold*, no período compreendido entre janeiro de 2012 e outubro de 2014, a todas as amostras que deram entrada no Serviço de Patologia Clínica do Hospital Dr. Nélio Mendonça com os seguintes parâmetros:

- Leucócitos (LEU)
- Neutrófilos (NEU)
- Linfócitos (LIN)
- Monócitos (MON)
- Eosinófilos (EOS)
- Basófilos (BAS)
- Eritrócitos (ERIT)
- Hemoglobina (Hgb)
- Hematócrito (Hct)
- Volume Corpuscular Médio (VCM)
- Hemoglobina Corpuscular Média (HCM)
- Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM)
- RDW
- Plaquetas (PLQ)
- Bilirrubina Total (TBil)
- Bilirrubina Indireta (IBil)
- Bilirrubina Direta (DBil)
- Proteína C reativa (PCR)

De seguida, o processo clínico correspondente a cada pedido obtido pelo filtro foi individualmente consultado com recurso ao programa informático *ATRIUM (SEIS - RAM)*, de forma a não apenas obter o valor de lactato, mas também de verificar o diagnóstico clínico e a respetiva data de diagnóstico.

Para além dos respetivos resultados dos parâmetros e identificação do paciente, foram igualmente apurados alguns dados demográficos nomeadamente idade e género e

também alguns dados clínicos relevantes como o número de processo clínico e a data do pedido. Todos os dados obtidos foram compilados e exportados para uma folha de Microsoft Office Excel® 2010, para posterior tratamento.

3.5. RECOLHA DE SANGUE

As amostras de sangue foram colhidas por punção venosa através do sistema de vácuo Vacuette® (Greiner Bio-One, Áustria), por profissionais qualificados.

Todas as amostras foram colhidas em tubos devidamente identificados. Foi colhido um tubo de 3 mL contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) (Vacuette® K3EDTA, Ref.454086), um tubo seco de 5 mL (Vacuette® Z Serum Sep Clot Activator, Ref.456018) e uma seringa de 3 mL contendo heparinato de lítio (PRO-VENT® Smiths Medical International, Keene, EUA, Ref. 4698PE).

O hemograma (LEU, NEU, LIN, MON, EOS, BAS, ERIT, Hgb, Hct, VCM, HCM, CHCM, RDW, PLQ) foi efetuado de seguida, a partir de sangue total colhido no tubo contendo EDTA. Os parâmetros bioquímicos (TBil, IBil, DBil, PCR e PCT) foram doseados a partir de soro obtido após centrifugação do tubo seco na centrífuga Heraeus Megafuge 16R (Thermo Fisher Scientific) durante 8 minutos a 4200 rotações por minuto (rpm), à temperatura ambiente. O tubo seco foi centrifugado após um período mínimo de 30 minutos de repouso na posição vertical à temperatura ambiente, para facilitar a retração do coágulo. Uma vez centrifugadas, o soro obtido de cada amostra foi alíquotado para microtubos devidamente identificados para a determinação da PCT. Foram utilizadas pipetas de Pasteur para transferir 500 µL de soro de cada amostra para a respetiva alíquota, sendo conservadas a -20°C até ao momento de processamento dos mesmos. A TBil, IBil, DBil e a PCR bem como outros parâmetros de rotina de interesse clínico foram processados no próprio dia. O LACT foi determinado a partir da amostra colhida na seringa contendo heparinato de lítio. Após a colheita a amostra foi homogeneizada e processada de imediato em condições de anaerobiose.

3.6. TESTES LABORATORIAIS

HEMOGRAMA

O hemograma foi determinado no contador automático Coulter LH780 (Beckman Coulter Inc., EUA).

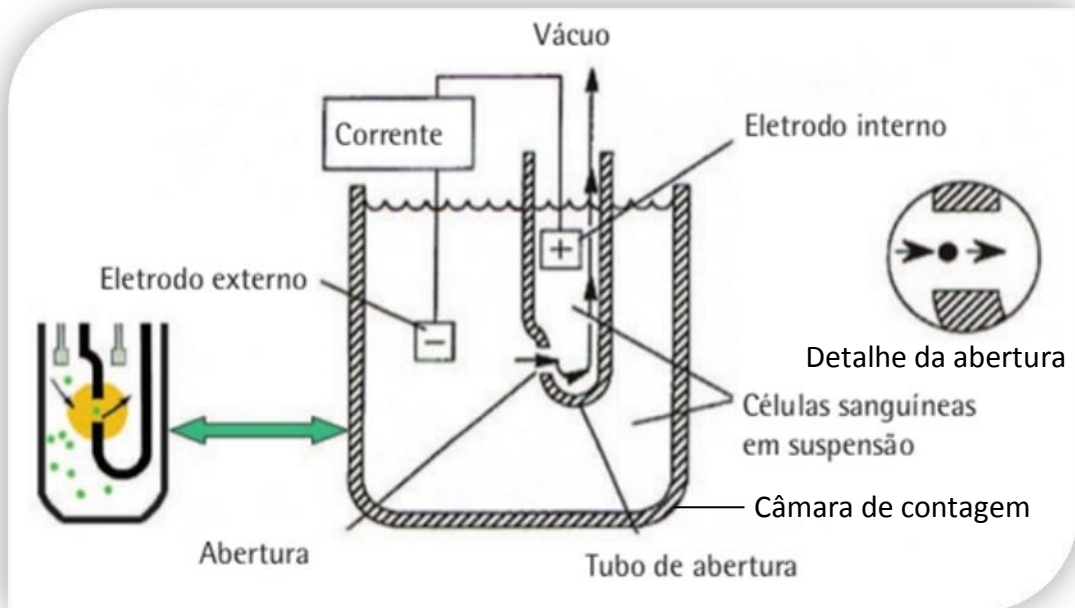


Figura 5 – Princípio de Coulter. Adaptado de [53].

A contagem de células é realizada através de impedância elétrica que tem por base o princípio de Coulter. Uma suspensão de células sanguíneas é forçada a passar através de uma pequena abertura que é separada por dois eletrodos entre os quais é gerada uma corrente elétrica. As células passam individualmente pela abertura devido à dimensão reduzida da mesma. Há uma alteração da impedância cada vez que uma célula passa pelo orifício. A alteração de impedância é proporcional ao tamanho da célula, resultando na contagem individual de células e distribuição por tamanho celular.

PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

A TBil, DBil e a PCR foram doseados *in vitro* no analisador automático de Química Clínica AU5400 (Beckman Coulter Inc., EUA). Este analisador destina-se à determinação espectralométrica de diversos parâmetros bioquímicos através de reações colorimétricas e imunoturbidimétricas.

Os reagentes utilizados foram da Beckman Coulter, não requerendo nenhuma preparação prévia. Os lotes de reagentes usados foram calibrados e realizado um controlo de qualidade. O valor da concentração de cada parâmetro foi obtido automaticamente recorrendo à respetiva curva de calibração que é guardada na base de dados do equipamento.

DOSEAMENTO DA BILIRRUBINA TOTAL

A determinação quantitativa da TBil foi realizada através de um método colorimétrico, utilizando o *kit* TOTAL BILIRUBIN, Ref. OSR6212 (Beckman Coulter Inc., EUA). Um sal de diazónio estabilizado, reage com a DBil e com a IBil na presença de um catalisador para formar a azobilirrubina. A absorvância a 540 nm é proporcional à concentração de TBil da amostra.

DOSEAMENTO DA BILIRRUBINA DIRETA

A determinação quantitativa da DBil foi efetuada por um método colorimétrico, utilizando o *kit* DIRECT BILIRUBIN, Ref. OSR6111 (Beckman Coulter Inc., EUA). Um sal de diazónio estabilizado, liga-se diretamente com a DBil num meio ácido para formar azobilirrubina. A absorvância a 570 nm é proporcional à concentração de DBil presente na amostra.

BILIRRUBINA INDIRETA

O valor da IBil é obtido através das subtração do valor da DBil ao valor da TBil.

$$\text{Bilirrubina total} - \text{Bilirrubina direta} = \text{Bilirrubina indireta}$$

DOSEAMENTO DA PROTEÍNA C REATIVA

A PCR foi determinada quantitativamente através de um ensaio imunoturbidimétrico utilizando o *kit* CRP Látex, Ref. OSR6299 (Beckman Coulter Inc., EUA). Ao misturar uma amostra com um tampão e uma suspensão de partículas de látex revestidas com anticorpos anti-PCR, a PCR reage especificamente com as partículas de látex para formar agregados insolúveis. A absorvância destes agregados é proporcional à concentração de PCR presente na amostra.

DOSEAMENTO DA PROCALCITONINA

A PCT foi determinada *in vitro* no auto-analisador Cobas e 411 (Roche Diagnostics, Alemanha). Este analisador determina vários parâmetros utilizando a eletroquimioluminescência através da técnica de *sandwich*.

O reagente utilizado foi da Roche e estava pronto a usar. Os valores da concentração são determinados com base numa curva de calibração gerada especificamente pelo analisador e numa curva principal incluída no código de barras do reagente.

O *kit* usado foi o Elecsys BRAHMS PCT, Ref. 05056888 200 (Roche Diagnostics GmbH, Alemanha) O antigénio presente na amostra, um anticorpo monoclonal biotilado específico de PCT e um anticorpo monoclonal específico de PCT marcado com um complexo de ruténio reagem entre si e formam um complexo *sandwich*. Após a adição das micropartículas revestidas de estreptavidina, o complexo formado liga-se à fase sólida pela interação da biotina e da estreptavidina. A mistura da reação é aspirada para uma célula de leitura, onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eléctrodo. Os elementos não ligados são então removidos. A aplicação de uma corrente elétrica ao eléctrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador. A luz medida e a intensidade do sinal é proporcional à concentração de PCT na amostra.

DOSEAMENTO DO LACTATO

O LACT foi determinado *in vitro* no analisador automático GEM® Premier 3000™ (Instrumentation Laboratory, Inc., Bedford, EUA), que tem por base um método com elétrodos seletivos que utiliza princípios de amperometria.

O *kit* usado foi o GEM Premier 3000 PAK® Cartridge Ref. 24315089 (Instrumentation Laboratory, Inc., Bedford, EUA). Os sensores do LACT são elétrodos de platina com potencial positivo, em relação ao eletrodo de referência. O LACT é determinado pela reação enzimática com oxigénio na presença de lactato oxidase para produzir peróxido de hidrogénio que reage com o eletrodo de platina. O fluxo da corrente gerada entre os elétrodos é proporcional à taxa de oxidação do peróxido de hidrogénio que por sua vez é diretamente proporcional à concentração de LACT da amostra.

3.7. TRATAMENTO ESTATÍSTICO

A análise estatística foi realizada com recurso ao *software* SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) 20.0 para Windows (IBM SPSS statistics 20.0, Chicago, Inc).

Na estatística descritiva, as variáveis quantitativas foram expressas em média ± desvio padrão e as variáveis qualitativas em frequências e percentagens. A normalidade da distribuição dos dados das variáveis foi testada pelo teste de *Shapiro-Wilk*. Na análise comparativa, entre todos os grupos, foi usado o teste de *Kruskal Wallis*. Para a análise comparativa entre o grupo controlo e os subgrupos do grupo patológico foi usado o teste de *Mann-Whitney U*. O poder de diagnóstico de sépsis pelos marcadores foi avaliado pela análise ROC (*Receiver Operating Characteristics*), com representação gráfica da sensibilidade vs. especificidade (95% IC), em que a precisão é dada pelo índice AUC (*Area Under Curve*). Foram determinados os valores de *cut-off* e parâmetros de sensibilidade e especificidade.

Foram consideradas estatisticamente significativos os valores de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1. CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA

Este estudo contemplou um total de 300 indivíduos distribuídos por dois grupos principais:

- o **grupo de controle** constituído por 100 indivíduos (n=100)
- o **grupo patológico** constituído por 200 indivíduos (n=200). Este grupo foi subdividido em 4 subgrupos distintos:
 - Septicémia constituído por 20 indivíduos (n=20)
 - Sépsis constituído por 52 indivíduos (n=52)
 - Sépsis grave constituído por 41 indivíduos (n=41)
 - Choque séptico constituído por 87 indivíduos (n=87)

A distribuição dos indivíduos que constituem o grupo patológico pelos diferentes subgrupos está representada percentualmente na Figura 6.

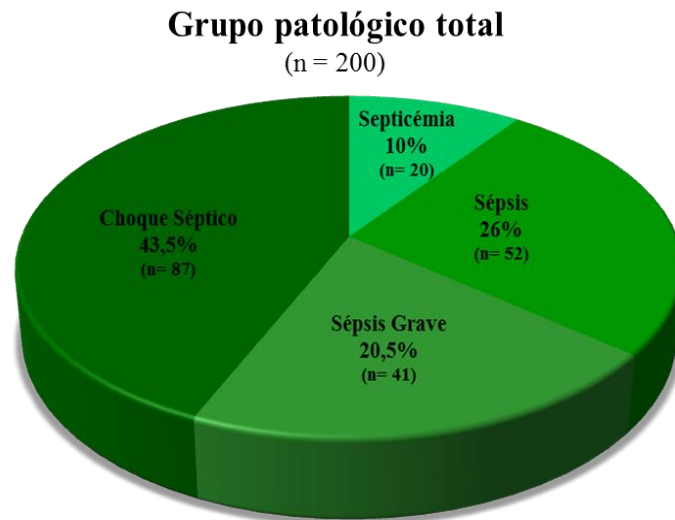


Figura 6 – Distribuição do grupo patológico pelos diferentes subgrupos.

Na distribuição do grupo patológico constituído por 200 indivíduos, verificou-se uma predominância do subgrupo de choque séptico com 87 indivíduos (43,5%). O

subgrupo com menor número de indivíduos foi o de septicémia, constituído por 20 indivíduos (10,0%).

Caracterização demográfica

A distribuição dos indivíduos que constituem o grupo de controlo e o grupo patológico quanto ao género e à idade está representada na Figura 7 e Figura 8 respetivamente.

Caracterização da população quanto ao género

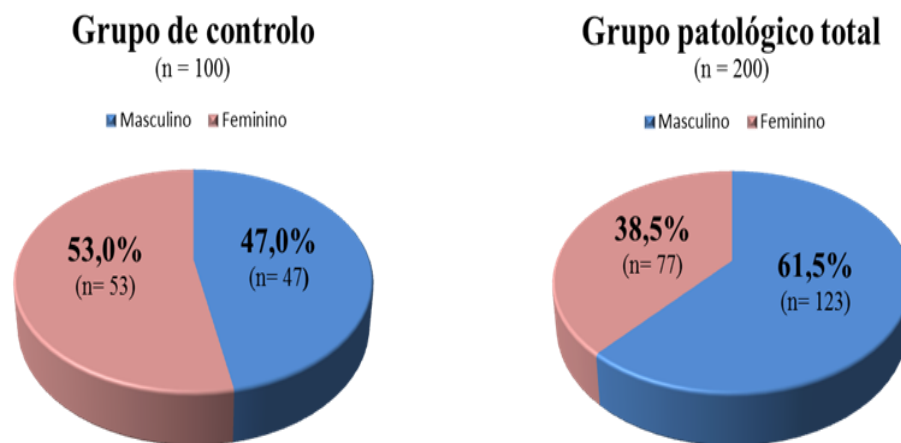


Figura 7 – Distribuição da população quanto ao género.

Os valores apresentados no topo das colunas referem-se ao valor da média \pm desvio padrão. n refere-se ao tamanho da amostra.

O grupo de controlo foi constituído por 100 indivíduos saudáveis dos quais 53 mulheres (53,0%) com uma idade média de $59,7 \pm 13,2$ que variou entre 36 e 86 anos, e por 47 homens (47,0%) com uma idade média de $57,3 \pm 13,0$ anos que variou entre os 36 e 82 anos, como ilustram a Figura 7 e a Figura 8.

Caracterização da população quanto à idade

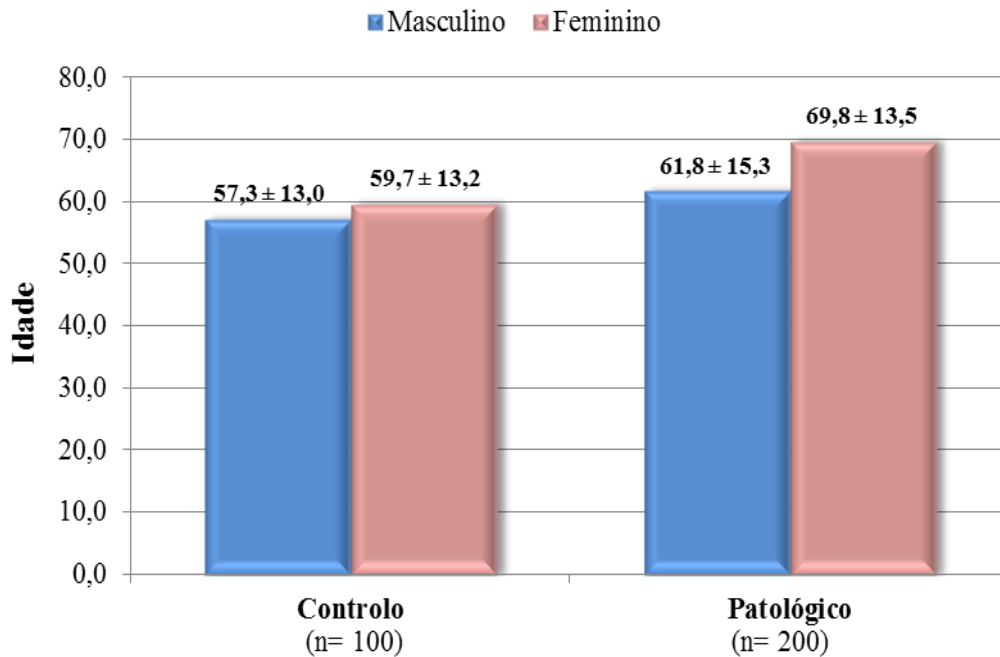


Figura 8 – Distribuição da população quanto à idade.

Os valores apresentados no topo das colunas referem-se ao valor da média \pm desvio padrão. n refere-se ao tamanho da amostra.

No grupo patológico total, constituído por 200 indivíduos, os homens prevaleceram com 123 indivíduos (61,5%) em relação às mulheres com 77 indivíduos (38,5%). Relativamente à idade, verificou-se que no grupo patológico à semelhança do grupo de controlo, as mulheres tinham uma idade média mais elevada do que os homens. As mulheres do grupo patológico tinham uma idade média de $69,8 \pm 13,5$ que variou entre os 31 e 89 anos. No caso dos homens deste grupo a idade média foi de $61,8 \pm 15,3$ que variou entre os 20 e 96 anos.

Caracterização dos subgrupos do grupo patológico quanto ao género

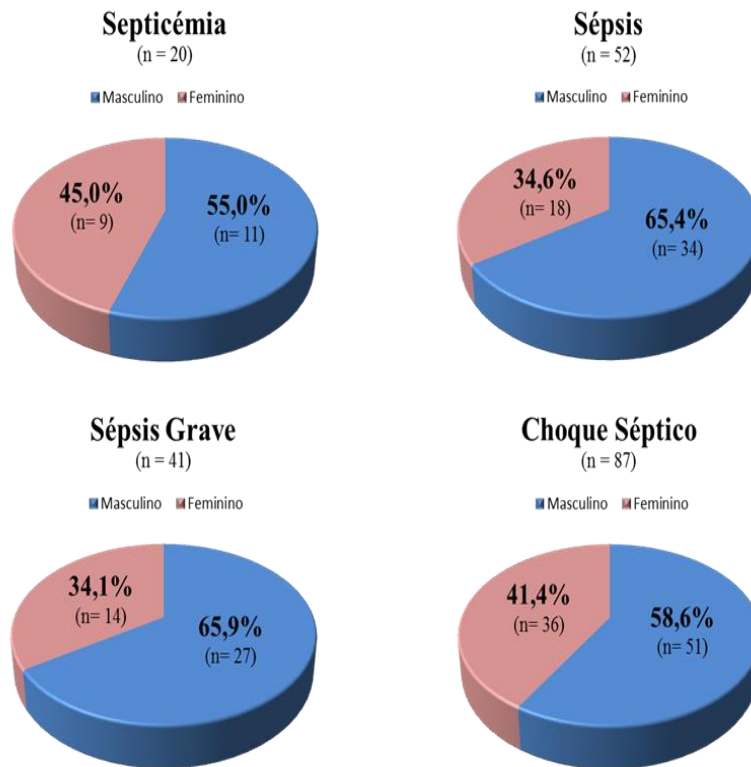


Figura 9 - Caracterização dos subgrupos do grupo patológico quanto ao género.
n refere-se ao tamanho da amostra.

Verificou-se um predomínio de homens em relação às mulheres em todos os subgrupos do grupo patológico. Como mostra a Figura 9, o subgrupo do grupo patológico com maior equilíbrio entre mulheres (45,0%) e homens (55%) foi o de Septicémia. O subgrupo do grupo patológico em que a diferença entre mulheres (34,1%) e homens (65,9%) foi mais notório foi o de Sépsis grave.

Caracterização da população quanto à idade

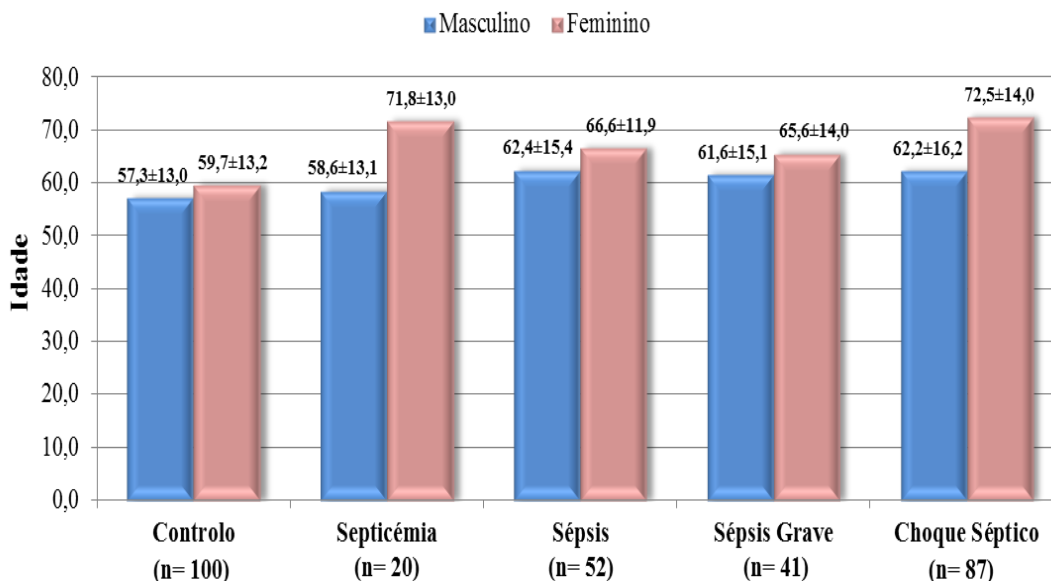


Figura 10 - Caracterização do grupo de controlo e dos subgrupos do grupo patológico quanto à idade.

Os valores apresentados no topo das colunas referem-se ao valor da média \pm desvio padrão. n refere-se ao tamanho da amostra.

No referente à idade, verificou-se que tanto no grupo de controlo como em todos os subgrupos do grupo patológico, a idade média dos homens era mais baixa comparativamente com a das mulheres como mostra a Figura 10.

4.2. CARACTERÍSTICAS LABORATORIAIS

Relativamente à idade, foi possível verificar que tanto o grupo controlo quanto todos os subgrupos apresentaram uma idade média semelhante (Tabela 1).

A média da contagem de leucócitos ($6,87 \pm 1,24 \times 10^3 \mu\text{L}$) e a média da contagem de neutrófilos ($3,97 \pm 1,06 \times 10^3 \mu\text{L}$), do grupo controlo foi mais baixa do que a dos subgrupos. O subgrupo Choque séptico obteve a média da contagem de leucócitos ($18,35 \pm 12,12 \times 10^3 \mu\text{L}$) e a média da contagem de neutrófilos ($16,44 \pm 11,34 \times 10^3 \mu\text{L}$) mais elevada. Pelo contrário, a média da contagem de linfócitos do grupo controlo ($2,13 \pm 0,45 \times 10^3 \mu\text{L}$), foi mais elevado do que a dos subgrupos.

Tabela 1 – Parâmetros bioquímicos analisados nas amostras do grupo controle e dos subgrupos do grupo patológico.

Variáveis	Controlo (n= 100)	Septicemia (n= 20)	Sépsis (n= 52)	Sépsis Grave (n= 41)	Choque Séptico (n= 87)
Idade (Anos)	58,6 ± 13,1	64,5 ± 14,4	63,9 ± 14,3	63,0 ± 14,7	66,5 ± 16,0
Leucócitos (4,5 - 11 x 10 ³ µL)	6,87 ± 1,24	15,67 ± 9,05	13,04 ± 7,86	13,64 ± 7,81	18,35 ± 12,12
Neutrófilos (1,5 - 7,1 x 10 ³ µL)	3,97 ± 1,06	13,91 ± 9,22	11,52 ± 7,33	12,18 ± 7,42	16,44 ± 11,34
Linfócitos (1,5 - 4,0 x 10 ³ µL)	2,13 ± 0,45	0,98 ± 0,76	0,86 ± 0,62	0,84 ± 0,60	1,09 ± 0,89
Monócitos (0,0 - 1,0 x 10 ³ µL)	0,55 ± 0,15	0,64 ± 0,44	0,58 ± 0,49	0,54 ± 0,39	0,69 ± 0,68
Eosinófilos (0,0 - 0,5 x 10 ³ µL)	0,19 ± 0,12	0,12 ± 0,29	0,04 ± 0,09	0,06 ± 0,13	0,12 ± 0,77
Basófilos (0,0 - 0,2 x 10 ³ µL)	0,01 ± 0,03	0,02 ± 0,04	0,00 ± 0,01	0,01 ± 0,03	0,01 ± 0,03
Eritrócitos Mulher: (3,8-5,8x10 ⁶ µL) Homem: (4,5-6,5x10 ⁶ µL)	4,72 ± 0,19	3,04 ± 0,64	3,34 ± 0,63	3,42 ± 0,82	3,48 ± 0,77
Hemoglobina Mulher: (11,5 - 16 g/dL) Homem: (13 - 18 g/dL)	14,16 ± 1,01	9,00 ± 1,38	10,30 ± 1,99	10,64 ± 2,52	10,69 ± 2,30
Hematócrito Mulher: (37 - 47 %) Homem: (40 - 54 %)	43,17 ± 2,99	27,45 ± 4,30	30,97 ± 5,92	32,01 ± 7,59	32,18 ± 7,03
Volume Corpuscular Médio (80 - 100 fL)	91,62 ± 3,17	91,57 ± 8,45	92,93 ± 7,02	93,99 ± 7,23	92,54 ± 6,69
Hemoglobina Corpuscular Média (> 27 pg)	30,04 ± 1,09	30,12 ± 3,23	30,88 ± 2,54	31,30 ± 3,03	30,79 ± 2,32
Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (30 - 35 g/dL)	32,77 ± 0,54	32,86 ± 1,06	33,23 ± 0,95	33,26 ± 1,18	33,27 ± 0,81
RDW (11,5 - 14,5%)	13,26 ± 0,57	15,81 ± 1,99	16,34 ± 3,19	15,67 ± 2,44	15,68 ± 2,22
Plaquetas (150 - 450 x 10 ³ µL)	224,38 ± 50,87	255,50 ± 176,65	177,15 ± 119,10	175,54 ± 155,15	189,28 ± 125,60
Bilirrubina Total (0,30 - 1,20 mg/dL)	0,60 ± 0,16	1,49 ± 2,00	1,85 ± 2,49	2,95 ± 7,64	2,70 ± 5,62
Bilirrubina Indireta (< 1,10 mg/dL)	0,48 ± 0,13	0,76 ± 0,79	0,80 ± 0,70	1,13 ± 1,76	0,94 ± 1,35
Bilirrubina Direta (< 0,20 mg/dL)	0,12 ± 0,03	0,73 ± 1,27	1,05 ± 2,17	1,82 ± 5,96	1,77 ± 4,52
Procalcitonina (< 0,05 ng/mL)	0,03 ± 0,02	10,77 ± 14,66	31,38 ± 37,58	35,26 ± 36,25	31,77 ± 35,54
Proteína C reativa (< 6,10 mg/L)	2,21 ± 1,57	210,36 ± 109,03	214,80 ± 117,15	240,36 ± 120,25	236,38 ± 116,05
Lactato (0,5 - 2,5 mmol/L)	0,59 ± 0,12	1,81 ± 1,18	3,68 ± 3,10	3,74 ± 3,09	5,11 ± 4,95

Os resultados estão apresentados em média ± desvio padrão.

Quanto à média da contagem de monócitos foi possível verificar que tanto o grupo controlo quanto todos os subgrupos apresentaram valores médios semelhantes.

A média da contagem de eosinófilos do grupo controlo ($0,19 \pm 0,12 \times 10^3 \mu\text{L}$), foi mais elevado do que os subgrupos do grupo patológico.

O grupo controlo apresentou uma contagem média de eritrócitos ($4,72 \pm 0,19 \times 10^6 \mu\text{L}$), uma contagem média de Hgb ($14,16 \pm 1,01 \text{ g/dL}$) e uma percentagem média de Hct ($43,17 \pm 2,99 \%$) mais elevada do que as dos subgrupos.

A média da contagem de VCM do subgrupo Sepsis grave ($93,99 \pm 7,23 \text{ fL}$) foi a mais elevada.

A média da contagem de HCM do grupo controlo ($30,04 \pm 1,09 \text{ pg}$) foi mais baixa do que a dos subgrupos. A média da contagem de HCM do subgrupo Sepsis grave ($31,30 \pm 3,03 \text{ pg}$) foi a mais elevada.

Da mesma forma, a média de CHCM do grupo controlo ($32,77 \pm 0,54 \text{ g/dL}$) foi mais baixa do que a dos subgrupos. A média de CHCM mais elevado foi obtida pelo subgrupo Choque séptico ($33,27 \pm 0,81 \text{ g/dL}$).

A percentagem média de RDW do grupo controlo ($13,26 \pm 0,57 \%$), foi mais baixa do que a dos subgrupos, sendo a percentagem média de RDW mais elevado obtida pelo subgrupo Sepsis ($16,34 \pm 3,19 \%$).

A média da contagem de plaquetas do subgrupo Septicémia ($255,50 \pm 176,65 \times 10^3 \mu\text{L}$) foi a mais elevada.

O grupo de controlo apresentou uma concentração sérica de TBil ($0,60 \pm 0,16 \text{ mg/dL}$), concentração sérica de IBil ($0,48 \pm 0,13 \text{ mg/dL}$) e uma concentração sérica de DBil ($0,12 \pm 0,03 \text{ mg/dL}$) mais baixa do que a dos subgrupos. As concentrações séricas de TBil ($2,95 \pm 7,64 \text{ mg/dL}$), IBil ($1,13 \pm 1,76 \text{ mg/dL}$) e de DBil ($1,82 \pm 5,96 \text{ mg/dL}$) foram mais elevadas no subgrupo Sepsis grave.

Testes de normalidade da distribuição dos dados das variáveis

De acordo com resultados do teste Shapiro-Wilk, todas as variáveis têm distribuição não normal dos dados, pelo que foi aplicado a estatística não paramétrica para comparação das variáveis (Anexo 3). Foi aplicado o teste *Kruskal Wallis* para comparar os valores médios das variáveis entre todos os grupos e o *Teste Mann-Whitney U* para comparar os valores médios das variáveis entre o grupo controlo e os vários

subgrupos do grupo patológico (Septicémia, Sépsis, Sépsis grave e Choque séptico) (Tabela 2).

Tabela 2 - Análise comparativa entre os grupos.

Variáveis	<i>P</i> (Teste <i>Kruskal Wallis</i>)	Comparações múltiplas	<i>P</i> (Teste <i>Mann-Whitney U</i>)	
Idade (Anos)	0,001	Controlo vs.	Septicémia	0,078
			Sépsis	0,031
			Sépsis grave	0,044
			Choque séptico	0,000
Leucócitos	0,000	Controlo vs.	Septicémia	0,000
			Sépsis	0,000
			Sépsis grave	0,000
			Choque séptico	0,000
Neutrófilos	0,000	Controlo vs.	Septicémia	0,000
			Sépsis	0,000
			Sépsis grave	0,000
			Choque séptico	0,000
Linfócitos	0,000	Controlo vs.	Septicémia	0,000
			Sépsis	0,000
			Sépsis grave	0,000
			Choque séptico	0,000
Monócitos	0,696	Controlo vs.	Septicémia	0,222
			Sépsis	0,379
			Sépsis grave	1,000
			Choque séptico	0,363
Eosinófilos	0,001	Controlo vs.	Septicémia	0,001
			Sépsis	1,000
			Sépsis grave	1,000
			Choque séptico	0,284
Basófilos	1,000	Controlo vs.	Septicémia	1,000
			Sépsis	1,000
			Sépsis grave	1,000
			Choque séptico	1,000
Eritrócitos	0,000	Controlo vs.	Septicémia	0,000
			Sépsis	0,000
			Sépsis grave	0,000
			Choque séptico	0,000
Hemoglobina	0,000	Controlo vs.	Septicémia	0,000
			Sépsis	0,000
			Sépsis grave	0,000
			Choque séptico	0,000

Hematócrito	0,000	Controlo vs.	Septicémia	0,000
			Sépsis	0,000
			Sépsis grave	0,000
			Choque séptico	0,000
Volume Corpuscular Médio	0,195	Controlo vs.	Septicémia	0,876
			Sépsis	0,456
			Sépsis grave	0,007
			Choque séptico	0,326
Hemoglobina Corpuscular Média	0,006	Controlo vs.	Septicémia	0,300
			Sépsis	0,007
			Sépsis grave	0,001
			Choque séptico	0,008
Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média	0,001	Controlo vs.	Septicémia	0,621
			Sépsis	0,003
			Sépsis grave	0,010
			Choque séptico	0,000
RDW	0,000	Controlo vs.	Septicémia	0,000
			Sépsis	0,000
			Sépsis grave	0,000
			Choque séptico	0,000
Plaquetas	0,000	Controlo vs.	Septicémia	0,792
			Sépsis	0,000
			Sépsis grave	0,000
			Choque séptico	0,001
Bilirrubina Total	0,000	Controlo vs.	Septicémia	0,023
			Sépsis	0,000
			Sépsis grave	0,009
			Choque séptico	0,000
Bilirrubina Indireta	0,005	Controlo vs.	Septicémia	0,143
			Sépsis	0,008
			Sépsis grave	0,000
			Choque séptico	0,015
Bilirrubina Direta	0,000	Controlo vs.	Septicémia	0,000
			Sépsis	0,000
			Sépsis grave	0,000
			Choque séptico	0,000
Procalcitonina	0,000	Controlo vs.	Septicémia	0,000
			Sépsis	0,000
			Sépsis grave	0,000
			Choque séptico	0,000
Proteína C reativa	0,000	Controlo vs.	Septicémia	0,000
			Sépsis	0,000
			Sépsis grave	0,000
			Choque séptico	0,000

Lactato	0,000	Controlo vs.	Septicémia	0,000
			Sépsis	0,000
			Sépsis grave	0,000
			Choque séptico	0,000

Consideraram-se estatisticamente significativos os valores de $p < 0,05$.

Após a aplicação do teste *Kruskal Wallis*, foi possível verificar que havia diferença estatisticamente significativa entre todas as variáveis analisadas, à exceção dos monócitos ($p= 0,696$), basófilos ($p= 1,000$) e VCM ($p= 0,195$).

Pela aplicação do *Teste Mann-Whitney U*, na comparação entre o grupo controlo e os subgrupos do grupo patológico, verificou-se que havia diferença estatisticamente significativa entre a maioria das variáveis, contudo, não entre todas.

Relativamente à idade, foi possível verificar que apenas o subgrupo Septicémia não apresentava diferença estatisticamente significativa ($p= 0,078$) quando comparada com o grupo controlo.

Não se verificou diferença estatisticamente significativa na média da contagem de monócitos em nenhum dos subgrupos do grupo patológico (Tabela 2).

Na média da contagem de eosinófilos, apenas o subgrupo Septicémia apresentou diferença estatisticamente significativa ($p= 0,001$) quando comparada com o grupo controlo.

Não se verificou diferença estatisticamente significativa na média da contagem de eosinófilos em nenhum dos subgrupos do grupo patológico (Tabela 2).

A média da contagem de VCM, apenas o subgrupo Sépsis grave apresentou diferença estatisticamente significativa ($p= 0,007$) quando comparada com o grupo controlo.

Em relação à média da contagem de HCM, à média da contagem de CHCM, à média da contagem de plaquetas e à concentração sérica de IBil, apenas o subgrupo Septicémia não apresentava diferença estatisticamente significativa ($p= 0,300$; $p= 0,621$; $p= 0,792$ e $p= 0,143$ respetivamente) quando comparada com o grupo controlo.

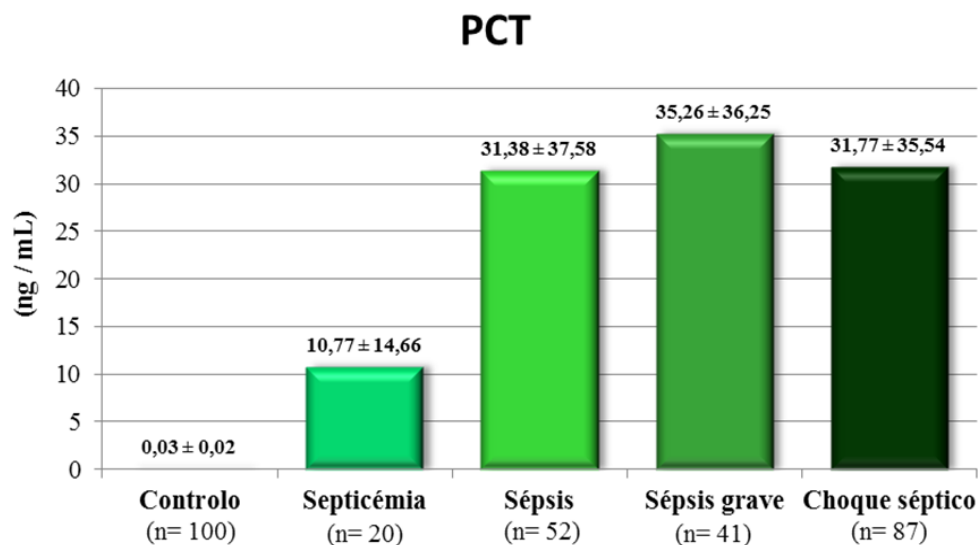


Figura 11 – Concentração sérica de PCT.

Os valores apresentados no topo das colunas referem-se ao valor da média ± desvio padrão. n refere-se ao tamanho da amostra.

Todos os subgrupos do grupo patológico apresentaram uma concentração sérica de PCT significativamente mais elevada do que o grupo de controlo ($0,03 \pm 0,02$ ng/mL). A concentração sérica de PCT foi mais elevada no subgrupo Sépsis grave ($35,26 \pm 36,25$ ng/mL). O subgrupo que apresentou a concentração sérica de PCT mais baixa foi o subgrupo Septicémia ($10,77 \pm 14,66$ ng/mL) como é possível verificar na Figura 11.

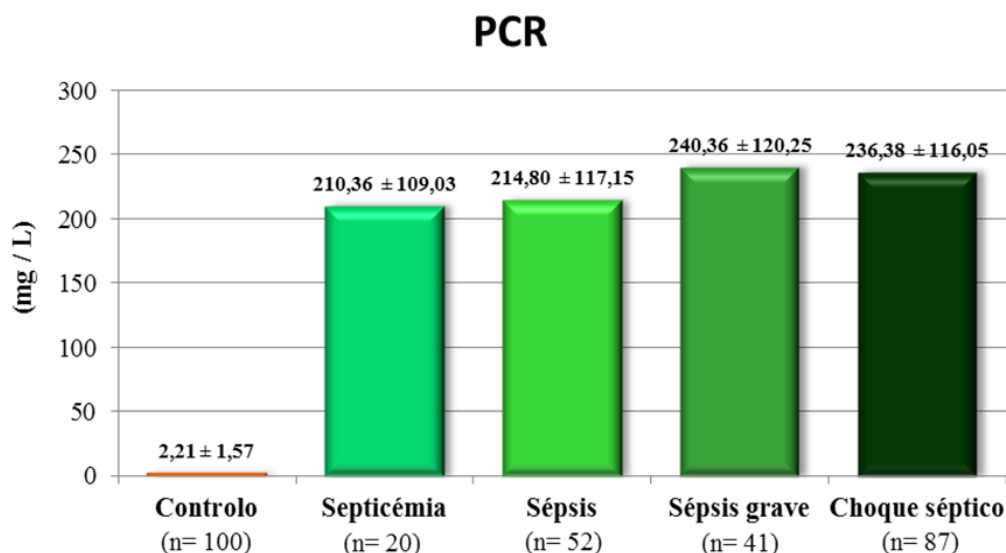


Figura 12 – Concentração sérica de PCR.

Os valores apresentados no topo das colunas referem-se ao valor da média ± desvio padrão. n refere-se ao tamanho da amostra.

Relativamente à concentração sérica de PCR, foi possível verificar que o grupo de controlo apresentou uma concentração sérica de PCR ($2,21 \pm 1,57$ mg/L) significativamente inferior aos dos subgrupos do grupo patológico. A concentração sérica de PCR foi mais elevada no subgrupo Sepsis grave ($240,36 \pm 120,25$ mg/L) (Figura 12) à semelhança da concentração sérica de PCT (Figura 11).

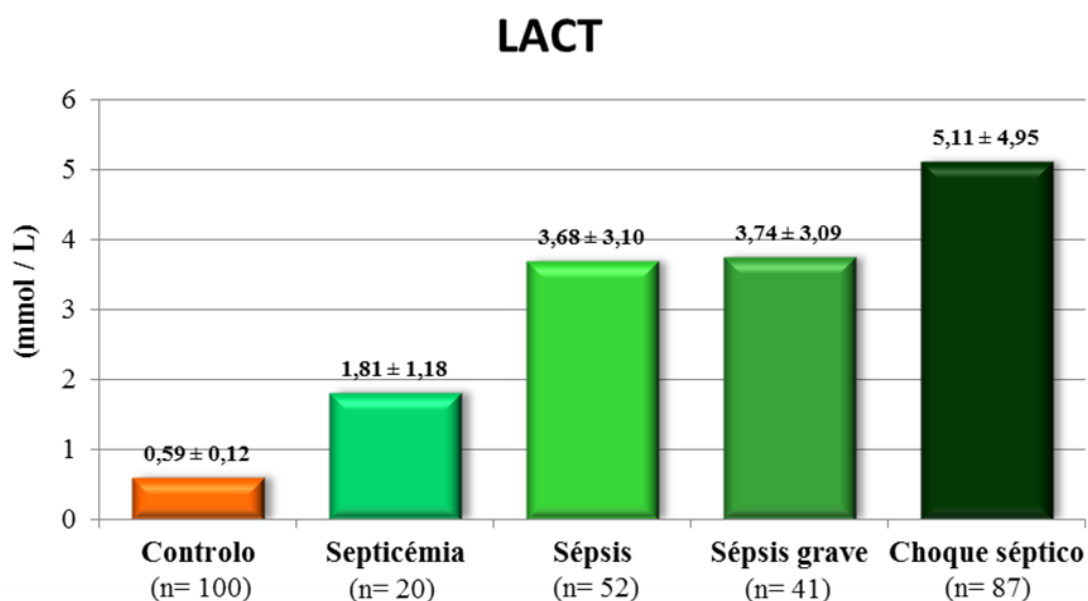


Figura 13 – Concentração sérica de LACT.

Os valores apresentados no topo das colunas referem-se ao valor da média \pm desvio padrão. n refere-se ao tamanho da amostra.

O grupo de controlo apresentou uma concentração sérica de LACT ($0,59 \pm 0,12$ mmol/L) significativamente inferior aos dos subgrupos do grupo patológico. O subgrupo com a concentração mais elevada de LACT foi o subgrupo Choque séptico ($5,11 \pm 4,95$ mmol/L). O subgrupo Septicémia apresentou a concentração de LACT mais baixa ($1,81 \pm 1,18$ mmol/L) dos quatro subgrupos como mostra a Figura 13.

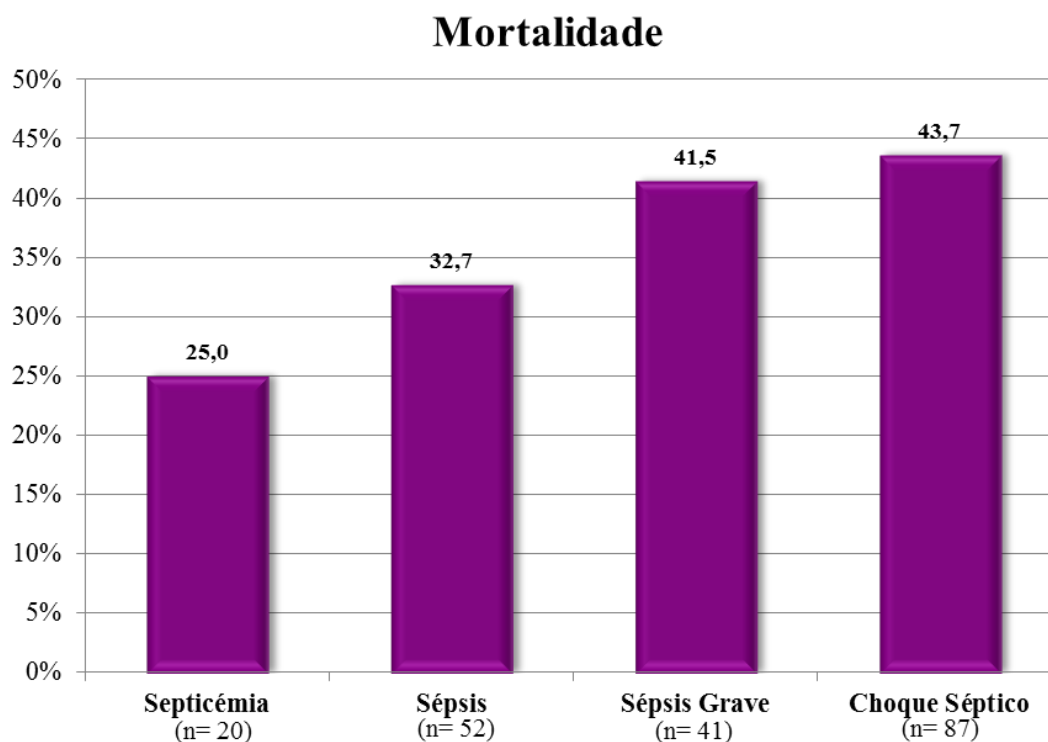


Figura 14 – Mortalidade por subgrupo do grupo patológico.

n refere-se ao tamanho da amostra.

Como é possível verificar na Figura 14, a percentagem de indivíduos que faleceram aumenta com de acordo com a severidade de sépsis. Isto é, o subgrupo Septicémia apresentou a menor percentagem de indivíduos que faleceram (25%) e o subgrupo Choque séptico apresentou a maior percentagem de indivíduos que faleceram (43,7%).

4.3. CURVAS ROC

Foram elaboradas curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic curve*) para as variáveis que apresentaram diferença estatisticamente significativa entre o grupo controlo e todos os subgrupos do grupo patológico, nos quais a precisão foi calculada pelo AUC (*area under the curve*).

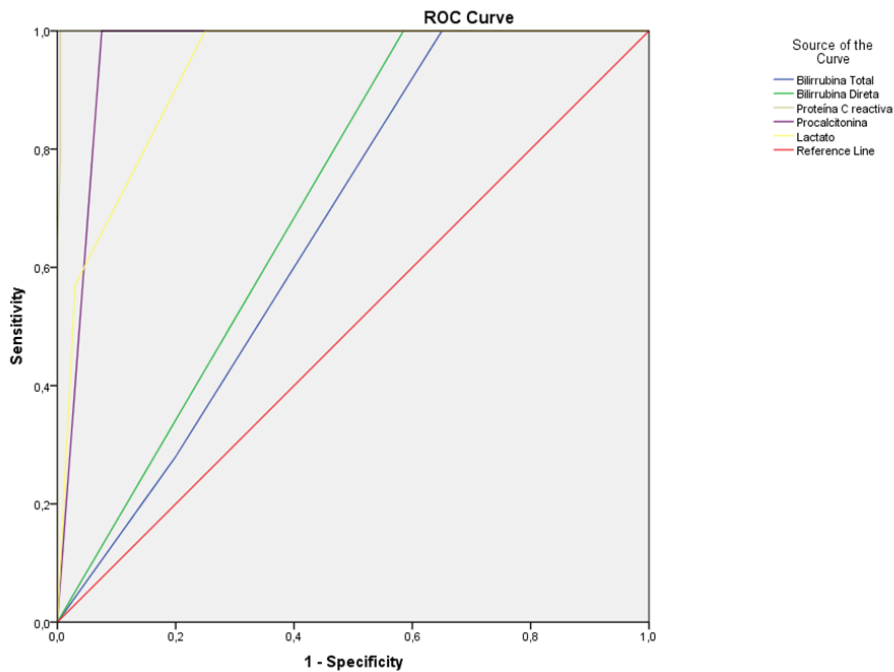


Figura 15 A – Curva ROC para a TBil, DBil, PCR, PCT e LACT.

De entre as várias variáveis selecionadas, a melhor para deteção de sépsis foi a PCR (é quase perfeita), seguida pela PCT, LACT, DBil e TBil.

A PCR apresentou a maior AUC (0,999) (Anexo 4) e a TBil apresentou a menor AUC (0,666) (Anexo 4).

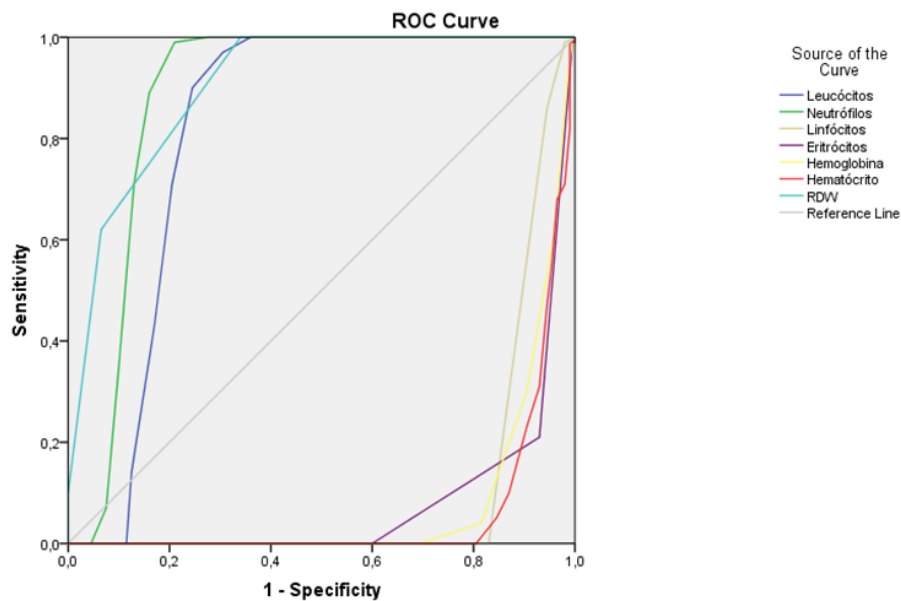


Figura 15 B – Curva ROC para LEU, NEU, LIN, ERIT, Hgb, Hct e RDW.

De entre as várias variáveis selecionadas, apenas 3 são utilizáveis para detecção de sépsis: o RDW seguido pelos NEU e LEU. No entanto não são tão boas como os marcadores bioquímicos.

O RDW apresentou a maior AUC (0,906) (Anexo 5).

4.4. VALORES DE CUT-OFF, ESPECIFICIDADE E SENSIBILIDADE

Com base nos gráficos anteriores e tabelas criadas no SPSS, foi possível chegar aos valores de *cut-off* que melhor refletem um balanço entre sensibilidade e especificidade, como é possível verificar na Tabela 3.

Tabela 3 – Valores de *Cut-Off*, Sensibilidade e Especificidade.

Variáveis	<i>Cut-Off</i>	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)
PCR	7,5	100,0	99,5
PCT	0,5	100,0	92,5
LACT	1,5	100,0	75,0
DBil	0,5	100,0	41,5
TBil	1,5	100,0	35,0
NEU	5,5	89,0	84,0
RDW	13,5	62,0	93,5
LEU	7,5	71,0	79,5

Nota: as variáveis estão dispostas na sequência da melhor para o pior para a detecção de sépsis.

Entre estas variáveis, a PCR foi a melhor para a detecção de sépsis uma vez que apresentou uma sensibilidade de 100,0% e uma especificidade de 99,5%. O RDW apresentou a menor sensibilidade (62,0%) e a TBIL apresentou a menor especificidade (35,0%).

Todavia, observando com mais detalhe e ordenando manualmente os dados por ordem crescente de cada variável, foi possível verificar que haveria uma melhor separação entre o grupo controlo e o grupo patológico, se fossem considerados novos valores de *cut-off*. Assim, o novo valor de *cut-off* para cada variável foi aquele que ficou no limite entre os valores obtidos para o grupo controlo e o grupo patológico. Os novos valores de *cut-off*, com menor taxa de erro, estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Valores de *Cut-Off*, Sensibilidade e Especificidade calculado manualmente.

Variáveis	<i>Cut-Off</i>	Sensibilidade	Especificidade	Falhas ID	<i>Cut-Off</i> "Manual"	Falhas ID "Manual"
PCR	7,5	100,0%	99,5%	1	7,695	1
PCT	0,5	100,0%	92,5%	15	0,095	2
LACT	1,5	100,0%	75,0%	50	0,9	22
DBil	0,5	100,0%	41,5%	114	0,2	61
TBil	1,5	100,0%	35,0%	130	0,9	100

Nota: as variáveis estão dispostas na sequência da melhor para o pior para a detecção de sépsis.

ID – identificação.

Foi possível verificar que os valores de *cut-off* “manual” foram mais baixos, à exceção da PCR. As falhas de ID também diminuíram.

5. DISCUSSÃO

A sépsis é um problema comum em pacientes em estado crítico e representa uma das principais causas de morte neste tipo de pacientes. Está igualmente associado a elevados custos sócio-económicos [24, 54, 55]. Consiste numa reação imune intensa do hospedeiro em resposta a um agente agressor [46, 56, 57]. Quando há infeção com manifestações sistémicas de infeção, estamos perante sépsis [2]. A sépsis surge quando um indivíduo não tem a capacidade de controlar o crescimento bacteriano bem como uma resposta inflamatória exacerbada que poderá provocar disfunção orgânica [7].

Temos assistido a um aumento dos casos de sépsis bem como o aumento da sua severidade devido à crescente longevidade da população e dos doentes crónicos, aumento de casos de imunossupressão por doença, crescente recurso a técnicas invasivas e aumento da prevalência da resistência bacteriana [55, 58].

O seu diagnóstico é desafiante, uma vez que os sintomas não são específicos. Os sinais clínicos convencionais de sépsis, tais como, febre, taquicardia, taquipneia e leucocitose não são específicos de infeção [30]. A sua gravidade e progressão irão depender de fatores tais como a virulência do agente agressor, o estado imunológico do paciente e a origem do local de infeção [12, 57].

A utilização de biomarcadores tradicionais quando existe suspeita de infeção tem limitações, o que poderá levar a uma utilização prolongada e/ou desnecessária de antibióticos. A utilização inadequada ou até mesmo exagerada de antibióticos aumenta a resistência bacteriana aos mesmos [59] o que pode ter repercussões na saúde pública geral [36]. A nível dos parâmetros microbacteriológicos, pode haver interferência de antibióticos no crescimento bacteriano das culturas, alguns produtos poderão ser de difícil obtenção e é necessário algum tempo para obter resultados daí poder atrasar o diagnóstico [7, 30, 59].

Um diagnóstico tardio dificulta um tratamento com antibióticos adequados, aumentando a morbidade e mortalidade. O doseamento de biomarcadores tais como a PCT e PCR, juntamente com sinais clínicos e história clínica poderá auxiliar e facilitar um diagnóstico precoce [46]. Devido à heterogeneidade de infeções e à complexa interação de mediadores pro e anti-inflamatórios da resposta do hospedeiro a um agente agressor, os leucócitos e neutrófilos são pouco específicos em infeções bacterianas [2, 57, 59].

À semelhança de vários estudos encontrados na literatura [7, 30, 39, 56], o nosso estudo também reportou uma maior percentagem de homens. De acordo com a literatura [4, 14, 17, 58, 60, 61], a sépsis é mais frequente nos homens e idosos, o que corrobora a média de idades do nosso estudo que foi acima dos 60 anos. A média de idades foi elevada ($64,5 \pm 14,4$) no subgrupo Septicémia, ($63,9 \pm 14,3$) no subgrupo Sépsis, ($63,0 \pm 14,7$) no subgrupo Sépsis grave e ($66,5 \pm 16,0$) no subgrupo Choque séptico, o que vai de encontro ao constatado na maioria dos internamentos hospitalares. A idade e a existência de comorbilidades são fatores de mau prognóstico nestes doentes [62].

A incidência de choque séptico é mais elevada em crianças e idosos, homens do que mulheres e na etnia negra do que a caucasiana [17]. No estudo de Jung *et al.* [63] a média de idades (66 ± 15) no choque séptico foi muito semelhante ao observado no nosso estudo ($66,5 \pm 16,0$), tal como a percentagem de homens (60%), comparativamente a 58,6% obtido no nosso estudo.

Os desenvolvimentos tecnológicos não só da medicina mas também dos cuidados de saúde, o aumento do recurso a procedimentos invasivos e o aumento da esperança média de vida auxiliaram este facto [64].

A introdução de um objeto estranho no organismo como um tubo de drenagem, uma sonda urinária ou um cateter endovenoso poderá causar septicémia. Quanto maior for o tempo que o objeto estranho permanecer colocado, maior será a probabilidade de desenvolver septicémia. Também dependerá da localização. As pessoas com o sistema imunológico debilitado são mais suscetíveis de desenvolver septicémia [25].

Pode ocorrer disfunção de vários órgãos tais como os pulmões (dificultando a respiração e diminuindo a oxigenação do sangue), os rins (provocando oligúria) e o coração (provocando a retenção de líquidos e edema) à medida que o choque séptico se agrava [25]. O local anatómico específico de infeção, ou seja, o foco de infeção deve ser identificado e controlado o mais rapidamente possível [12].

Parâmetros bioquímicos como os leucócitos estão aumentados na sépsis uma vez que estas células estão envolvidas no combate a infeções [22]. No nosso estudo verificamos que a contagem de leucócitos do grupo de controlo ($6,87 \pm 1,24 \times 10^3 \mu\text{L}$) foi claramente inferior às obtidas em qualquer subgrupo do grupo patológico (subgrupo Septicémia ($15,67 \pm 9,05 \times 10^3 \mu\text{L}$), subgrupo Sépsis ($13,04 \pm 7,86 \times 10^3 \mu\text{L}$), subgrupo Sépsis grave ($13,64 \pm 7,81 \times 10^3 \mu\text{L}$) subgrupo Choque séptico ($18,35 \pm 12,12 \times 10^3 \mu\text{L}$) sendo esta diferença estatisticamente significativa para todos os subgrupos ($p= 0,000$), como é possível verificar na Tabela 1 e 2. Quando há uma infeção, uma das primeiras

respostas do sistema imune consiste no recrutamento de leucócitos para o local para combatê-lo ^[55].

O comportamento dos neutrófilos foi o mesmo obtido pelos leucócitos (Tabela 1 e 2). Estes resultados estão de acordo com a literatura pois, os neutrófilos são células fagocíticas, ou seja, fagocitam patógenos para os eliminar, sendo como tal importantes na tentativa de conter a agressão pelo patógeno invasor ^[8].

Os neutrófilos ativados são conduzidos para os tecidos ou órgãos alvo, por quimiocinas e várias moléculas de adesão para combater a infecção ^[65]. O sistema imune adaptativo local é ativado quando moléculas coestimuladoras ativam neutrófilos, macrófagos e monócitos ^[54]. Habitualmente existe leucocitose e neutrofilia no choque séptico ^[18].

Por seu lado, a contagem de linfócitos dos subgrupos Septicémia ($0,98 \pm 0,76 \times 10^3 \mu\text{L}$), Sépsis ($0,86 \pm 0,62 \times 10^3 \mu\text{L}$), Sépsis grave ($0,84 \pm 0,60 \times 10^3 \mu\text{L}$) e Choque séptico ($1,09 \pm 0,89 \times 10^3 \mu\text{L}$) era mais baixa do que o grupo controlo ($2,13 \pm 0,45 \times 10^3 \mu\text{L}$). A IL - 1 estimula a maturação e ativação de linfócitos em condições normais, no entanto, em níveis elevados, como acontece no choque séptico, provoca danos através de hipermetabolismo, febre, alterações sanguíneas, proliferação de neutrófilos e linfócitos ^[18]. No decorrer da sépsis, pode acontecer uma fase de imunossupressão que se poderá dever a linfopenia, anergia, hipotermia e infeções nosocomiais. Há um aumento da apoptose dos linfócitos circulantes resultando na diminuição dos mesmos, o que torna os indivíduos com sépsis suscetíveis a novas infeções ^[8, 66].

Em relação à contagem de eritrócitos, verificou-se que o estava mais elevada no grupo controlo ($4,72 \pm 0,19 \times 10^6 \mu\text{L}$) do que os subgrupos Septicémia ($3,04 \pm 0,64 \times 10^6 \mu\text{L}$), Sépsis ($3,34 \pm 0,63 \times 10^6 \mu\text{L}$), Sépsis grave ($3,42 \pm 0,82 \times 10^6 \mu\text{L}$) e Choque séptico ($3,48 \pm 0,77 \times 10^6 \mu\text{L}$). A produção e a sobrevivência dos eritrócitos estão diminuídas em situações de sepsis prolongadas ^[18]. Pode haver perda sanguínea (por sangramentos) por procedimentos invasivos, perda oculta de sangue ou hemólise. A anemia pode ser causada por deficiências alimentares anteriores, pode-se dever a uma produção diminuída de eritropoetina, diminuição da eritropoiese ^[67]. Em indivíduos com sépsis pode ocorrer coagulação intravascular disseminada devido ao desequilíbrio da coagulação. Há formação de pequenos coágulos mais rapidamente do que podem ser destruídos, que se alojam no sistema microvascular de órgãos. As plaquetas são gastas a uma velocidade maior do que podem ser substituídas por isso em indivíduos com sépsis a contagem de plaquetas está baixa ^[8]. No nosso estudo, a contagem de plaquetas do

grupo controlo ($224,38 \pm 50,87 \times 10^3 \mu\text{L}$) foi mais elevada do que os subgrupos Sepsis ($177,15 \pm 119,10 \times 10^3 \mu\text{L}$), Sepsis grave ($175,54 \pm 155,15 \times 10^3 \mu\text{L}$) e Choque séptico ($189,28 \pm 125,60 \times 10^3 \mu\text{L}$). Essa diferença apenas foi estatisticamente significativa nos subgrupos Sepsis ($p= 0,000$), Sepsis grave ($p= 0,000$) e Choque séptico ($p= 0,001$).

O aumento dos níveis de bilirrubina e a interferência na regulação hemodinâmica do organismo expressam a diminuição da capacidade de desintoxicação hepática. A redução da função de síntese do fígado indica falência hepática [68]. Relativamente à concentração sérica de TBIL, verificou-se que o grupo de controlo apresentou uma concentração sérica de TBil ($0,60 \pm 0,16 \text{ mg/dL}$) significativamente mais baixa do que os subgrupos Septicémia ($1,49 \pm 2,00 \text{ mg/dL}$), Sepsis ($1,85 \pm 2,49 \text{ mg/dL}$), Sepsis grave ($2,95 \pm 7,64 \text{ mg/dL}$) e Choque séptico ($2,70 \pm 5,62 \text{ mg/dL}$).

Na lesão hepatocelular os níveis de TBil e DBil estão aumentados. A icterícia é um sinal clínico de várias patologias biliares e hepáticas. Este quadro clínico é comum em indivíduos com sepsis, o que pode ser confirmado com níveis aumentados de bilirrubina. Concentrações séricas superiores a $3,0 \text{ mg/dL}$ de TBIL torna-a evidente [18].

Em relação à concentração sérica de IBil, verificou-se que nos subgrupos Septicémia ($0,76 \pm 0,79 \text{ mg/dL}$), Sepsis ($0,80 \pm 0,70 \text{ mg/dL}$), Sepsis grave ($1,13 \pm 1,76 \text{ mg/dL}$) e Choque séptico ($0,94 \pm 1,35 \text{ mg/dL}$) foi mais elevada do que no grupo controlo ($0,48 \pm 0,13 \text{ mg/dL}$). Essa diferença foi estatisticamente significativa nos subgrupos Sepsis ($p= 0,008$), Sepsis grave ($p= 0,000$) e Choque séptico ($p= 0,015$).

A concentração sérica de DBil dos subgrupos Septicémia ($0,73 \pm 1,27 \text{ mg/dL}$), Sepsis ($1,05 \pm 2,17 \text{ mg/dL}$), Sepsis grave ($1,82 \pm 5,96 \text{ mg/dL}$) e Choque séptico ($1,77 \pm 4,52 \text{ mg/dL}$) foram mais elevadas do que o grupo controlo ($0,12 \pm 0,03 \text{ mg/dL}$). O aumento da bilirrubina, principalmente DBil pode ser devido a colestase, (é comum na sepsis), que se pode dever ao fluxo sanguíneo hepático diminuído, lesão inflamatória dos hepatócitos, alterando-os funcionalmente [69].

Os níveis de PCT em indivíduos saudáveis são muito baixos, todavia, existe um aumento considerável em indivíduos com sepsis, sepsis grave e choque séptico que apresentam níveis elevados de PCT [18, 41,70]. A PCT pode ser detetada de forma célere (entre 2 a 4 horas) após o estímulo bacteriano e uma semi-vida de 25 a 30 horas. Pode ser facilmente doseada a nível laboratorial. Está correlacionada com a severidade da sepsis [18, 41]. Tem sido observado um acréscimo dos níveis de PCT à medida que a severidade da sepsis aumenta (relação direta com a carga bacteriana e gravidade) o que faz com que tenha implicações prognósticas em indivíduos com sepsis [4, 36]. A PCT tem

sido proposta como um biomarcador específico de infecções bacterianas ^[70]. Os seus níveis diminuem quando a infeção é controlada pelo sistema imune do hospedeiro ou por antibióticos. A PCT está ainda fortemente correlacionada com a extensão e severidade de infecções bacterianas ^[2, 59]. A PCT está anormalmente elevada na sépsis ^[4], sendo inclusivamente considerada um bom biomarcador (de diagnóstico) de sépsis em indivíduos em estado crítico ^[4].

Jain *et al.* ^[4] verificaram uma concentração sérica de PCT mais elevada nos indivíduos com choque séptico comparativamente com indivíduos com sépsis grave e sépsis. No nosso estudo a concentração sérica de PCT foi mais elevada no subgrupo sépsis grave ($35,26 \pm 36,25$) do que no subgrupo choque séptico ($31,77 \pm 35,54$). Isto poderá ser devido à possibilidade dos indivíduos com choque séptico já estarem a ser medicados com antibióticos antes do internamento ou antes do diagnóstico ^[56]. Em alguns casos como reações inflamatórias restritas a um local, o nível de PCT poderá continuar baixo ^[71]. O aumento da PCT depende da resposta do hospedeiro a uma agressão bacteriana que pode ser atenuado pelos antibióticos ^[7].

Os níveis de PCT em indivíduos com septicémia estão aumentados ^[41]. No nosso estudo a concentração sérica de PCT do subgrupo Septicémia ($10,77 \pm 14,66$ ng/mL) foi mais elevada do que o grupo controlo ($0,03 \pm 0,02$ ng/mL) como é possível verificar na Tabela 1. Esta diferença foi estatisticamente significativa ($p= 0,000$) (Tabela 2).

Os níveis de PCT estão frequentemente correlacionados de forma positiva à severidade da sépsis ^[72]. Isto corrobora o que foi encontrado no nosso estudo visto que a concentração sérica do subgrupo Septicémia ($10,77 \pm 14,66$ ng/mL) foi mais baixa do que o subgrupo Sépsis ($31,38 \pm 37,58$ ng/mL) que por sua vez foi mais baixa do que o subgrupo Sépsis grave ($35,26 \pm 36,25$ ng/mL).

A PCR, na presença de cálcio, liga-se a polissacarídeos de bactérias formando complexos que ativam a via clássica do complemento, promovendo a fagocitose ^[72]. O aumento de proteínas de fase aguda, tal como a PCR, é útil para o diagnóstico e monitorização do processo infeccioso ^[18]. Os níveis séricos de PCR aumentam acentuadamente após ocorrer uma agressão ao organismo. Quanto mais intenso for a agressão, maior será a taxa síntese e conseqüentemente mais elevada será a concentração sérica de PCR ^[47]. Apesar da PCR ser a proteína de fase aguda que aumenta mais velozmente, atinge o seu pico mais tarde (entre 36 a 50 horas) em comparação com a PCT (entre 24 a 48 horas), o que pode atrasar o diagnóstico da fase inicial de choque séptico ^[18].

Existe uma diminuição dos níveis séricos de PCR após o agente agressor ser retirado, diminuição da virulência do agente agressor ou resolução da infecção [73, 74].

Dado que o doseamento da PCR tem um baixo custo, é reprodutível e acessível, poderá ser considerado um biomarcador interessante [46]. Póvoa *et al.* [75] verificaram uma boa correlação entre os níveis de PCR e a severidade da infecção. Os níveis de PCR eram mais elevados nos indivíduos com infecção do que naqueles sem infecção. Um único doseamento de PCR é útil no diagnóstico de infecção [30] mas, provavelmente não é suficiente para verificar a adequação e monitorização do tratamento com antibióticos [46].

À semelhança do que foi verificado com a concentração sérica de PCT, a concentração sérica do subgrupo Septicémia ($210,36 \pm 109,03$ mg/mL) foi mais baixa do que o subgrupo Sépsis ($214,80 \pm 117,15$ mg/mL) que por sua vez foi mais baixa do que o subgrupo Sépsis grave ($240,36 \pm 120,25$ mg/L). A concentração sérica de PCR também foi mais baixa no subgrupo de Choque séptico ($236,38 \pm 116,05$ mg/L) do que no subgrupo de Sépsis grave ($240,36 \pm 120,25$ mg/L).

Existem circunstâncias que podem alterar a cinética normal da PCR como um decréscimo nos seus níveis séricos em situações de insuficiência hepática aguda dado que a sua síntese ocorre neste órgão [47]. A disfunção orgânica na sépsis é caracterizada principalmente pela redução entre a oferta e o consumo de oxigénio. Desta forma, se os sinais de hipoperfusão forem detetados precocemente, o tratamento poderá ser adequado ao caso específico [76].

O parâmetro LACT aumenta muito rapidamente e é proporcional à gravidade da patologia [76]. Verificou-se que quanto mais grave era a sépsis, mais elevada era a concentração sérica de LACT, ou seja, no subgrupo Septicémia o LACT apresentou uma concentração sérica de ($1,81 \pm 1,18$ mmol/L), no subgrupo Sépsis ($3,68 \pm 3,10$ mmol/L), no subgrupo Sépsis grave ($3,74 \pm 3,09$ mmol/L) e no subgrupo Choque séptico, a forma mais grave ($5,11 \pm 4,95$ mmol/L). Apenas a concentração sérica de LACT do grupo controlo e do subgrupo Septicémia estavam dentro do intervalo de referência ($0,5 - 2,5$ mmol/L), nos restantes subgrupos eram mais elevadas.

Este aumento progressivo da concentração sérica de LACT deve-se ao facto dos tecidos terem uma oferta de oxigénio mais reduzido, ou seja, há um desequilíbrio entre a oferta e consumo de oxigénio, ocorrendo hipóxia devido à redução do débito cardíaco, hipotensão e redução do retorno venoso. A hipóxia vai desencadear o metabolismo anaeróbio que por sua vez eleva a produção de LACT [12, 76]. De acordo com Boechat,

A. L. e Boechat, N. O. ^[12], o LACT sérico pode ser usado como um marcador da gravidade da doença, visto que, os pacientes têm um melhor prognóstico quando são usadas medidas terapêuticas que visam diminuir esta concentração precocemente. Verificaram igualmente que o LACT tem características que o tornam um bom biomarcador para a hipóxia/hipoperfusão ^[26] tecidual, nomeadamente o seu baixo custo, facilidade de obtenção de amostras e rapidez de resultado ^[77].

A disfunção hepática também colabora para hiperlactatemia nos pacientes sépticos, por redução da depuração de lactato.

A mortalidade tem vindo a diminuir devido ao desenvolvimento da medicina intensiva ^[17] no entanto continua elevada devido ao atraso no diagnóstico e tratamento de sépsis ^[2]. Jain *et al.* ^[4] verificaram que a mortalidade aumentava com a severidade da sépsis, isto é, era mais elevada em indivíduos com choque séptico do que com sépsis grave, mais elevada em indivíduos com sépsis grave do que com sépsis ^[62]. O nosso estudo corrobora estes resultados. No subgrupo Septicemia 25% dos indivíduos faleceram, no subgrupo Sépsis 32,7% faleceram, no subgrupo Sépsis grave 41,5% e no subgrupo Choque séptico a percentagem de indivíduos que faleceram foi de 43,7%.

A nossa percentagem de mortalidade na Sépsis grave (41,5%) é um pouco mais elevada do que no estudo de Shiferaw *et al.* ^[2] (25 – 30%), no Choque séptico (43,7%), é semelhante (40 – 70%). Por seu turno, Jianfang Zhou e colegas verificaram uma mortalidade de 30,4% em indivíduos com sépsis grave e de 49,9% em indivíduos com choque séptico ^[78]. Apesar do desenvolvimento da medicina, a taxa de mortalidade continua elevada. A mortalidade é influenciada pela administração tardia de antibióticos e a hipotensão arterial ^[12].

Pela análise das curvas ROC para as variáveis que apresentaram diferença estatisticamente significativa entre o grupo controlo e todos os subgrupos do grupo patológico, foi possível constatar que a PCR foi a melhor para deteção de sépsis. A PCR apresentou a maior AUC (0,999), seguido pela PCT, (AUC 0,963) e do LACT (AUC 0,931). A DBil e TBil apresentaram uma precisão menor para a deteção de sépsis.

Relativamente aos marcadores hematológicos, apenas 3 foram utilizáveis, o RDW, NEU e LEU. Os restantes (ERIT, Hgb, Hct e LIN) tiveram uma curva ROC abaixo da linha de referência, daí não ser possível serem utilizados. O RDW apresentou a maior AUC (0,906), seguido pelos NEU (AUC 0,883) e pelos LEU (AUC 0,816). Contudo, não são tão boas como os marcadores bioquímicos, cujos AUC foram maiores.

Foram determinados os valores de *cut-off*, a sensibilidade e a especificidade para as variáveis utilizáveis para a detecção de sépsis. Foi possível verificar que, entre estas variáveis, a PCR, com uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 99,5%, foi a melhor para a detecção de sépsis. A PCT apresentou uma sensibilidade idêntica (100%), no entanto, a especificidade foi ligeiramente mais baixa (92,5%). O LACT apesar de apresentar uma sensibilidade de 100%, a sua especificidade foi de 75,0%. Quer a DBil como a TBil apresentaram uma sensibilidade de 100%, no entanto, a especificidade foi muito mais baixa (41,5% e 35% respetivamente).

Após a determinação do *cut-off* pelo *software*, os dados foram ordenados manualmente e observados com mais detalhe, o que permitiu obter novos valores de *cut-off* com menor taxa de erro. Foi possível verificar que os valores de *cut-off* “manual” foram mais baixos, à exceção da PCR. As falhas de ID também diminuíram. A PCR teve apenas uma falha de ID, que correspondeu a um falso positivo. No caso do LACT, as falhas de ID passaram para menos de metade (de 50 para 22), que correspondeu a um falso negativo e 21 falsos positivos (dados não apresentados). A TBil e DBil obtiveram o maior número de falhas de ID. Os valores de *cut-off* obtidos vão de encontro ao que é encontrado na literatura.

Entre os marcadores avaliados no nosso estudo, a PCR corresponde ao melhor marcador para a detecção de sépsis. Contudo, na literatura ainda existe controvérsia em qual o melhor marcador para detecção de sépsis, a PCT ou PCR.

Na comparação entre PCT e PCR para o diagnóstico de sépsis, de múltiplos estudos, foi possível verificar que em alguns ^[79, 80], a PCT obteve maior AUC e noutros ^[81, 82, 83] foi a PCR. O estudo de Chan *et al.* ^[83] demonstrou que a PCT é mais sensível e específica que a contagem de leucócitos, facto corroborado pelo nosso estudo. Sugeriram que a leucocitose poderá estar mais ligado à reação inflamatória do que com a presença de infeção bacteriana. A PCR é mais sensível e específica que a contagem de leucócitos ^[84], pois apresentou uma AUC maior do que a dos leucócitos ^[75]. Segundo Keçe *et al.* ^[85] a PCT é mais sensível e específico que o LACT, o que também é corroborado pelo nosso estudo.

Por outro lado, segundo László *et al.* ^[54] a PCT é mais sensível e específica do que a PCR. Segundo Shiferaw *et al.* ^[2] a PCT é mais sensível e específica para o diagnóstico de sépsis do que a PCR e LACT.

Diversos estudos ^[79, 81, 83, 86, 87] determinaram diferentes valores de sensibilidade e especificidade com diferentes valores de *cut-off* para a PCT, tendo sido um pouco mais baixos do que o nosso estudo.

Vários estudos ^[79, 81, 83, 88, 89] também avaliaram a sensibilidade e especificidade da PCR. A sensibilidade (100%) e especificidade (99,5%) do nosso estudo foram no entanto mais elevadas.

A PCR e a PCT são ambas sensíveis para ajudar no diagnóstico de sépsis ^[42]. A sensibilidade, especificidade e valor de *cut-off* em pacientes com sépsis variam, pela heterogeneidade dos desenhos dos estudos, o método utilizado e por terem sido avaliados em situações clínicas distintas ^[42]. Devido não haver consenso em qual o melhor marcador, tem sido sugerido a combinação dos dois marcadores, tendo a mesma eficácia no diagnóstico de sépsis ^[42].

6. CONCLUSÃO

O diagnóstico de sépsis continua a ser um desafio para os clínicos, apesar do desenvolvimento da medicina e dos avanços tecnológicos nesta área. Dado que o desenvolvimento de sépsis altera a atividade e expressão de milhares de mediadores endógenos de inflamação, coagulação e no metabolismo intermediário, têm-se desenvolvido diversos estudos para tentar encontrar um biomarcador que possa auxiliar no diagnóstico de sépsis.

Ao longo dos últimos anos, mais de uma centena biomarcadores têm sido alvo de estudos para avaliar as suas potencialidades e utilidade no diagnóstico, prognóstico e monitorização do tratamento de sépsis. Alguns são mais promissores que outros. O biomarcador ideal deveria reunir algumas características específicas, nomeadamente, poder ser doseado de forma rápida em amostras de obtenção fácil, ser facilmente utilizado e interpretado, ter baixo custo, ser reprodutível, ter elevada sensibilidade e especificidade e apresentar correlação com a gravidade e mortalidade. A PCT e PCR são dois exemplos dos biomarcadores mais estudados.

Com este trabalho, verificou-se que a faixa etária mais afetada pela sépsis foi acima dos 60 anos de idade. Verificou-se que tanto a PCR quanto a PCT são bons marcadores para a determinação de sépsis, todavia a PCR é melhor, visto que, apesar de apresentarem a mesma sensibilidade, a especificidade da PCT era ligeiramente inferior. O doseamento de PCR é de baixo custo, reprodutível e está disponível em todos ou quase todos os hospitais, o que o torna um marcador amplamente utilizado atualmente. O doseamento da PCT é mais dispendioso o que o torna menos acessível. Todavia, com a utilização de biomarcadores, a história clínica, o exame físico, os sinais e sintomas, isto é, o contexto clínico, não deve ser descurado.

Quanto à mortalidade, verificou-se que ainda é elevada apesar dos avanços realizados na medicina.

Em suma, devido à controvérsia em qual o melhor marcador para deteção de sépsis, ainda será necessário realizar mais estudos e investigação para melhor compreensão da complexidade da sépsis.

7. PERSPETIVAS FUTURAS

De seguida são apresentadas algumas considerações que poderão ser pertinentes e adequadas para o seguimento deste trabalho:

- Seria interessante realizar um doseamento seriado, em dias diferentes, a fim de verificar, não apenas, a evolução dos marcadores bioquímicos estudados nomeadamente a PCT, PCR e LACT, ao longo do desenvolvimento e evolução da sépsis, bem como a sua utilidade no prognóstico e na respetiva duração do tratamento com antibióticos.

- Também parece pertinente verificar se existe alguma relação entre os focos de infeção e os níveis séricos da PCT, PCR e LACT.

- Tendo em conta que atualmente inúmeros biomarcadores estão a ser alvo de estudos, seria interessante estudar alguns novos marcadores da sépsis para verificar a sua possível utilidade no diagnóstico de sépsis.

- Devido à controvérsia em qual o melhor marcador para a deteção de sépsis, seria interessante utilizar dois ou mais biomarcadores em conjunto para a sua deteção.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Chang HJ. Sepsis. JAMA 2010; 304:1856-1857.
2. Shiferaw B, Bekele E, Kumar K, Boutin A, Frieri M. The role of procalcitonin as a biomarker in sepsis. J Infect Dis Epidemiol 2016; 2:6-10.
3. Su L, Han B, Liu C, Liang L, Jiang Z, Deng J, *et al.* Value of soluble TREM-1, procalcitonin, and C-reactive protein serum levels as biomarkers for detecting bacteremia among sepsis patients with new fever in intensive care units: a prospective cohort study. BMC Infect Dis 2012; 12:157-167.
4. Jain S, Sinha S, Sharma SK, Samantaray JC, Aggrawal P, Vikram NK, *et al.* Procalcitonin as a prognostic marker for sepsis: a prospective observational study prospective observational study. BMC Res Notes 2014; 7:458- 465.
5. Liu D, Su L, Han G, Yan P, Xie L. Prognostic value of procalcitonin in adult patients with sepsis: a systematic review and meta-analysis. PLoS one 2015; 10:e0129450.
6. Hildreth CJ, Lynn C, Glass RM. Sepsis. JAMA 2009; 301:2516-2519.
7. Charles PE, Tinel C, Barbar S, Aho S, Prin S, Doise JM, *et al.* Procalcitonin kinetics within the first days of sepsis: relationship with the appropriateness of antibiotic therapy and the outcome. Crit Care 2009; 13:R38-R49.
8. Stearns-Kurosawa DJ, Osuchowski MF, Valentine C, Kurosawa S, Remick DG. The pathogenesis of sepsis. Annu Rev Pathol 2011; 6:19-48.
9. Júnior GAP, Marson F, Abeid M, Ostini FM, Souza SH, Basile-Filho A. Fisiopatologia da sepse e suas implicações terapêuticas. Medicina 1998; 31:349-362.
10. Reinhart K, Bauer M, Riedemann NC, Hartog CS. New approaches to sepsis: molecular diagnostics and biomarkers. Clin Microbiol Rev 2012; 25:609-634.
11. González Fariña V, Martín Lorenzo MC, Montón Giménez N. Actualización en las Indicaciones de Procalcitonina. AnestesiaR. 2014; 7:1-5.

12. Boechat AL, Boechat NO. Sepsis: diagnosis and treatment. *Rev Bras Clin Med* 2010; 8:420-427.
13. Arkader R, Troster EJ, Lopes MR, Júnior RR, Carcillo JA, Leone C, *et al.* Procalcitonin does discriminate between sepsis and systemic inflammatory response syndrome. *Arch Dis Child* 2006; 91:117-120.
14. Hochreiter M, Köhler T, Schweiger AM, Keck FS, Bein B, Spiegel T, *et al.* Procalcitonin to guide duration of antibiotic therapy in intensive care patients: a randomized prospective controlled trial. *Crit Care* 2009; 13:R83-R90.
15. Carvalho PRA, Trotta EA. Advances in sepsis diagnosis and treatment. *J Pediatr* 2003; 79:S195-S204.
16. Becker K., Snider R, Nylén ES. Procalcitonin in sepsis and systemic inflammation: a harmful biomarker and a therapeutic target. *Br J Pharmacol* 2010; 159:253-264.
17. Angus DC, Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2013; 369:840-851.
18. Zavariz SMR, Leite CE, Pires MGS, Oliveira JR, Nunes FB. Laboratory markers of the septic shock. *Sci Med* 2006; 16:29-37.
19. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, *et al.* Definitions for Sepsis and Organ Failure and Guidelines for the Use of Innovative Therapies in Sepsis. *Chest* 1992; 101:1644-1655.
20. Meynaar IA, Droog W, Batstra M, Vreede R, Herbrink P. In critically ill patients, serum procalcitonin is more useful in differentiating between sepsis and SIRS than CRP, IL-6, or LBP. *Crit Care Res Pract* 2011; 2011:594645.
21. Dunne WMJr. Laboratory diagnosis of sepsis? No SIRS, not just yet. *J Clin Microbiol* 2015; 53:2404-2409.
22. Vincent JL, Opal SM, Marshall JC, Tracey KJ. Sepsis definitions: time for change. *Lancet* 2015; 381:774-775.

23. Smyth MA, Brace-McDonnell SJ, Perkins GD. Identification of adults with sepsis in the prehospital environment: a systematic review. *BMJ Open* 2016; 6: e011218.
24. Elixhauser A, Friedman B, Stranges E. Septicemia in U.S. Hospitals, 2009. *HCUP Statistical Brief* 2011; 122:1-13.
25. <http://www.manuaismsd.pt/?id=202&cn=1038>. Acedido a 13 de fevereiro de 2017.
26. Andersen LW, Mackenhauer J, Roberts JC, Berg KM, Cocchi MN, Donnino MW. Etiology and therapeutic approach to elevated lactate levels. *Mayo Clin Proc* 2013; 88:1127-1140.
27. Cremers I. Sepsis in gastroenterology - an opportunity to improve our clinical practices. *J Port Gastroenterol* 2014; 21:129-130.
28. Pierrakos C, Vincent JL. Sepsis biomarkers: a review. *Crit Care* 2010; 14:R15-R33.
29. Limongi D, D'Agostini C, Ciotti M. New sepsis biomarkers. *Asian Pac J Trop Biomed* 2016; 6:516-519.
30. Póvoa P, Teixeira-Pinto AM, Carneiro AH. C-reactive protein, an early marker of community-acquired sepsis resolution: a multi-center prospective observational study. *Crit Care* 2011; 15:R169-R179.
31. Ingram N. Procalcitonin: does it have a role in the diagnosis, management and prognosis of patients with sepsis?. *The Intensive Care Society* 2013; 14:226-230.
32. Strimbu K, Tavel JA. What are Biomarkers?. *Curr Opin HIV AIDS* 2010 ; 5:463-466.
33. Găini S, Koldkjær OG, Pedersen C, Pedersen SS. Procalcitonin, lipopolysaccharide-binding protein, interleukin-6 and C-reactive protein in community-acquired infections and sepsis: a prospective study. *Crit Care* 2006; 10:R53-R63.

34. Kempell KE, Ball G, Szakmany T. Issues in biomarker identification, validation and development for disease diagnostics in Public Health. *Expert Rev Mol Diagn* 2016; 16:383-386.
35. Prieto B, Ruiz N, Buisán F, Rey C. Marcadores bioquímicos en la sepsis – aplicaciones clínicas. 1ª Edição. Sant Cugat del Vallès: Roche Diagnostics S.L.; 2010. Capítulo 2, Los biomarcadores de sepsis en pacientes adultos; p. 44-69.
36. Castro CM, Silva RM. Procalcitonin for diagnosis of infectious diseases. *Rev Bras Clin Med* 2012; 10:521-528.
37. Alzahrani AJ, Hassan MI, Obeid OE, Diab AE, Qutub HO, Gupta RK. Rapid detection of procalcitonin as an early marker of sepsis in intensive care unit in a tertiary hospital. *Int. J. Med. Med. Sci* 2009; 1:516-522.
38. Meisner, M. Procalcitonina - Diagnóstico bioquímico y clínico. 1ª Edição. Bremen: Uni- Med Science; 2011. Capítulo 1, Información básica; p.1-17.
39. Karlsson S, Heikkinen M, Pettilä V, Alila S, Väisänen S, Pulkki K, *et al.* Predictive value of procalcitonin decrease in patients with severe sepsis: a prospective observational study. *Crit Care* 2010; 14:R205-R215.
40. Póvoa P. Biomarkers in the diagnosis of infection and sepsis. *Rev Port Med Int* 2010; 17:31-41.
41. Meisner M. Update on procalcitonin measurements. *Ann Lab Med* 2014; 34:263-273.
42. Silva AVR, Machado FS. Procalcitonin and C-reactive protein as markers of sepsis. *Rev Bras Ter Intensiva* 2005; 17:212-216.
43. Jensen JU, Heslet L, Hartvig T, Espersen K, Steffensen P, Tvede M. Procalcitonin increase in early identification of critically ill patients at high risk of mortality. *Crit Care Med* 2006; 34:2596-2602.
44. Christ-Crain M, Jaccard-Stolz D, Bingisser R, Gencay M, Huber PR, Tamm M *et al.* Effect of procalcitonin-guided treatment on antibiotic use and outcome in lower

respiratory tract infections: cluster randomised, single-blinded intervention trial. *Lancet* 2004; 363:600-607.

45. Aguiar FJB, Ferreira-Júnior M, Sales MM, Cruz-Neto LM, Fonseca LAM, Sumita NM, *et al.* Proteína C reativa: aplicações clínicas e propostas para uma utilização racional. *Rev Assoc Med Bras* 2013; 59:85-92.

46. Lelubre C, Anselin S, Boudjeltia KZ, Biston P, Piagnerelli M. Interpretation of c-reactive protein concentrations in critically ill patients. *BioMed Res Int* 2013; 2013:124021.

47. Orati JA, Almeida P, Santos V, Ciorla G, Lobo SM. Serum c-reactive protein concentrations in early abdominal and pulmonary sepsis. *Rev Bras Ter Intensiva* 2013; 25:6-11.

48. Mitaka C. Clinical laboratory differentiation of infectious versus non-infectious systemic inflammatory response syndrome. *Clin Chim Acta* 2005; 351:17-29.

49. Lopes V. Interpretação dos níveis de lactato no sangue. *Mayo Clin Proc* 1999; 74:259-263.

50. Silva E, Garrido AG, Assunção MSC. Avaliação da perfusão tecidual no choque. *Medicina* 2001; 34:27-35.

51. Rojas PH, Tannous LA, Von Bahten LC, Villegas FC, Gasparetto J. Análise da gasometria e dos níveis de lactato na hipertensão intra-abdominal associada à sépsis abdominal: modelo experimental em ratos. *Panam J trauma, crit care & emerg surg* 2013; 2:49-51.

52. Oliveira RAG. Hemograma - como fazer e interpretar. 1ª Edição. Porto Alegre: LPM Editora; 2011. Capítulo 5, Automação em Hematologia: contadores multiparamétricos; p.48-89.

53. Koliski A, Cat I, Giraldo DJ, Cat ML. Lactato sérico como marcador prognóstico em crianças gravemente doentes. *J Pediatr* 2005; 81:287-292.

54. László I, Trásy D, Molnár Z, Fazakas J. Sepsis: from pathophysiology to individualized patient care. *J Immunol Res* 2015; 2015:510436.

55. Yuki K, Murakami N. Sepsis pathophysiology and anesthetic consideration. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 2015; 15:57-69.
56. Raoofi R, Salmani Z, Moradi F, Sotoodeh A, Sobhanian S. Procalcitonin as a marker for early diagnosis of sepsis. *Am J of Infect Dis* 2014; 10:15-20.
57. Yealy DM, Huang DT, Delaney A, Knight M, Randolph AG, Daniels R, *et al.* Recognizing and managing sepsis: what needs to be done?. *BMC Med* 2015; 13:98-108.
58. Saraiva DMRF. Approach to the patient with sepsis/septic shock: design and implementation of the sepsis “green way”. *Nursing* 2012; 272:1-16
59. Schuetz P, Albrich W, Mueller B. Procalcitonin for diagnosis of infection and guide to antibiotic decisions: past, present and future. *BMC Med* 2011; 9:107-116.
60. Henriksen DP, Pottegård A, Laursen CB, Jensen TG, Hallas J, Pedersen C, *et al.* Risk Factors for Hospitalization Due to Community-Acquired Sepsis – A Population-Based Case-Control Study. *PLos one* 2015; 10:e0124838.
61. Chang HJ, Lynn C, Glass RM. Sepsis. *JAMA* 2010; 303:804-807.
62. Eliseu L, Cardoso R, Almeida N, Amaro P, Sofia C. Sépsis em gastroenterologia: uma entidade subvalorizada?. *GE J Port Gastreterol* 2014; 21:131-137.
63. Jung B, Molinari N, Nasri M, Hajjej Z, Chanques G, Jean-Pierre H, *et al.* Procalcitonin biomarker kinetics fails to predict treatment response in perioperative abdominal infection with septic shock. *Crit Care* 2013; 17:R255-R264.
64. Júnior JALS, David CM, Hatum R, Souza PCSP, Japiassú A, Pinheiro CTS, *et al.* An Epidemiological Study of Sepsis in Intensive Care Units. *Sepsis Brazil Study. Rev. Bras. Ter. Intensiva* 2006; 18:9-17.
65. Aziz M, Jacob A, Yang WL, Matsuda A, Wang P. Current trends in inflammatory and immunomodulatory mediators in sepsis. *J Leukoc Biol.* 2013; 93:329-342.
66. Henkin CS, Coelho JC, Paganella MC, Siqueira RM, Dias FS. Sepsis: current aspects. *Sci Med* 2009; 19:135-145.

67. Salomão R, Machado FR, Lima CVTC. Sépsis um problema de saúde pública. 1ª Edição. Brasília: Instituto Latino-Americano para estudos da sépsis 2015; p.7-62.
68. Militão I, Carrola P, Presa J. Sépsis e disfunção múltipla de órgãos na cirrose hepática. GE J Port Gastrenterol 2013; 20:103-111.
69. Pereira GAJ, Marson F, Abeid M, Ostini FM, Souza SH, Basile-Filho A. Fisiopatologia da sépsis e suas implicações terapêuticas. Med 1998; 31:349-362.
70. Azevedo JRA, Torres OJM, Czczko NG, Tuon FF, Nassif PAN, Souza GD. Procalcitonin as a prognostic biomarker of severe sepsis and septic shock. Rev. Col. Bras. Cir. 2012; 39:456-461.
71. Wolff M, Bouadma L. What procalcitonin brings to management of sepsis in the ICU. Crit Care 2010; 14:1007-1009.
72. De La Rosa GD, Valencia ML, Arango CM, Gomez CI, Garcia A, Ospina S, *et al.* Toward an operative diagnosis in sepsis: a latent class approach. BMC Infect Dis 2008; 8:18-27.
73. Salluh JIF, Lisboa T. C-reactive protein in communityacquired sepsis: you can teach new tricks to an old dog. Crit Care 2011; 15:186-188.
74. Lisboa T, Seligman R, Diaz E, Rodriguez A, Teixeira PJ, Rello J. C-reactive protein correlates with bacterial load and appropriate antibiotic therapy in suspected ventilator-associated pneumonia. Crit Care Med 2008; 36:166-171.
75. Póvoa P, Coelho L, Almeida E, Fernandes A, Mealha R, Moreira P, *et al.* C-reactive protein as a marker of infection in critically ill patients. Clin Microbiol Infect 2005; 11:101-108.
76. Cicarelli DD, Vieira JE, Benseñor FEM. Lactate as a predictor of mortality and multiple organ failure in patients with the systemic inflammatory response syndrome. Rev Bras Anesthesiol 2007; 57:630-638.

77. Westphal GA, Gonçalves AR, Filho MC, Silva E, Salomão R, Bernardo W M, *et al.* Guidelines for treatment of severe sepsis/septic shock – tissue perfusion assessment. *Rev Bras Ter Intensiva* 2011 ; 23:6-12.
78. Zhou J, Qian C, Zhao M, Yu X, Kang Y, Ma X, *et al.* Epidemiology and outcome of severe sepsis and septic shock in intensive care units in mainland China. *PLoS one* 2014; 9:e107181.
79. Müller B, Becker KL, Schächinger H, Rickenbacher PR, Huber PR, Zimmerli W, *et al.* Calcitonin precursors are reliable markers of sepsis in a medical intensive care unit. *Crit Care Med* 2000; 28:977-983.
80. Luzzani A, Polati E, Dorizzi R, Rungatscher A, Pavan R, Merlini A. Comparison of procalcitonin and C-reactive protein as markers of sepsis. *Crit Care Med* 2003; 31:1737-1741.
81. Ugarte H, Silva E, Mercan D, De Mendonca A, Vincent, JL. Procalcitonin used as a marker of infection in the intensive care unit. *Crit Care Med* 1999; 27:498-504.
82. Castelli GP, Pognani C, Meisner M, Stuani A, Bellomi D, Sgarbi L. Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. *Crit Care* 2004; 8:R234-R242.
83. Chan YL, Tseng CP, Tsay PK, Chang SS, Chiu TF, Chen JC. Procalcitonin as a marker of bacterial infection in the emergency department: an observational study. *Crit Care* 2004; 8:R12-R20.
84. Póvoa P. C-reactive protein: a valuable marker of sepsis. *Intensive Care Med* 2002; 28:235-243.
85. Keçe E, Yaka E, Yılmaz S, Dogan NO, Alyesil C, Pekdemir M. Comparison of diagnostic and prognostic utility of lactate and procalcitonin for sepsis in adult cancer patients presenting to emergency department with systemic inflammatory response syndrome. *Turk J Emerg Med* 2016; 16:1-7.
86. Aouifi A, Piriou V, Bastien O, Blanc P, Bouvier H, Evans R, *et al.* Usefulness of procalcitonin for diagnosis of infection in cardiac surgical patients. *Crit Care Med* 2000; 28:3171-3176.

87. Clec'h C, Ferriere F, Karoubi P, Fosse JP, Cupa M, Hoang P, *et al.* Diagnostic and prognostic value of procalcitonin in patients with septic shock. *Crit Care Med* 2004; 32:1167-1169.
88. Mimoz O, Benoist JF, Edouard AR, Assicot M, Bohuon C, Samii K. Procalcitonin and C-reactive protein during early posttraumatic systemic inflammatory response syndrome 1998; 24:185-188.
89. Pova P, Almeida E, Moreira P, Fernandes A, Mealha R, Aragão A, *et al.* C-reactive protein as an indicator of sepsis. *Intensive Care Med* 1998; 24:1052-1056.

9. ANEXOS

ANEXO 1- Critérios de diagnóstico de sépsis.

Variáveis inespecíficas:

- Febre > 38,3 °C
- Hipotermia < 36 °C
- Frequência cardíaca > 90 bpm ou > 2DP acima do valor normal para a idade
- Taquipneia
- Edemas significativos (balanço hídrico positivo > 20 mL/Kg em 24h)
- Hiperglicémia (glicémia > 120 mg/dL, na ausência de diabetes)

Variáveis inflamatórias:

- Leucocitose > 12000 $10^3/\mu\text{L}$
- Leucopénia < 4000 $10^3/\mu\text{L}$.
- > 10% de leucócitos imaturos
- Proteína C reativa plasmática > 2DP acima do valor normal
- Procalcitonina plasmática > 2DP acima do valor normal

Variáveis hemodinâmicas:

- Hipotensão arterial sistémica (PA sistólica < 90 mmHg, PA média < 70 mmHg ou queda da PA sistólica > 40 mmHg ou < 2DP abaixo do valor normal para a idade)
- Saturação venosa central < 70%
- Índice cardíaco > 3,5 $\text{Lmin}^{-1}\text{m}^2$




Manifestações atribuíveis à disfunção de órgãos:

- Alterações do estado da consciência
- Hipóxia arterial – $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$
- Oligúria aguda: débito urinário < 0,5 mL/Kg/h
- Aumento da creatinina superior a 0,5 mg/dL
- Alterações da coagulação: INR > 1,5 e prolongamento do APTT > 60 seg
- Trombocitopénia < 100000 $10^3/\mu\text{L}$
- Ileo (ausência de sons intestinais)
- Hiperbilirrubinémia > 4 mg/dL

Indicadores de perfusão tecidual:

- Hiperlactacidémia > 1 mmol/L
- Atraso no preenchimento capilar e/ou pele marmórea

ANEXO 2 – Parcer da Comissão de Ética para a Saúde.

 Serviço de Saúde da RAM EPE		 REGIÃO AUTÓNOMA DA MADEIRA SECRETARIA REGIONAL DOS ASSUNTOS SOCIAIS	
<p>Exma. Senhora Irene Câmara Camacho Professor Auxiliar do Centro de Competência das Ciências da Vida Universidade da Madeira Campus Universitário da Penteadá 9020-105 FUNCHAL</p>			
Sua referência	Sua comunicação	N/Ofício	Serviço de Saúde da RAM, E.P.E.
			SAÍDA S.1318770 2013/10/31 Classificação: 18.56
Assunto: "Submissão de projecto de investigação"			
<p>Relativamente ao V/Ofício de 2013-07-16, sobre o assunto mencionado em epígrafe, informo V. Ex.^a que o mesmo foi autorizado pelo Conselho de Administração em 2013.10.29, após parecer da Comissão de Ética para a Saúde, do qual se junta fotocópia.</p> <p>Com os melhores cumprimentos,</p> <p style="text-align: center;">O Presidente do Conselho de Administração</p> <div style="text-align: center;"> (Miguel Ferreira)</div>			
DS			
<small>Av. Luís de Camões, n.º 57 – 9004-514 Funchal ☎291 709600 📠291 709603 E-mail: cadmin@srs.pt</small>			



REGIÃO AUTÓNOMA DA MADEIRA
SERVIÇO DE SAÚDE DA REGIÃO AUTÓNOMA DA MADEIRA, E.P.E.

Comissão de Ética para a Saúde do SESARAM,EPE
(CES/SESARAM,EPE)



PARECER Nº37/2013

Sobre os Estudos: *“Estudo da utilização de marcadores bioquímicos no diagnóstico de sépsis”* e *“Avaliação de novos marcadores bioquímicos no diagnóstico precoce de sépsis”*

A - RELATÓRIO

A.1. A Comissão de Ética para a Saúde (CES) do Serviço de Saúde da Região Autónoma da Madeira, EPE (SESARAM,EPE) iniciou a análise do Documento Nº 06 da reunião de 16 de Setembro de 2013, enviado pelo Conselho de Administração para parecer, relativo a pedido de autorização de **Irene Câmara Camacho**, Professor Auxiliar do Centro de Competência das Ciências da Vida, Universidade da Madeira, para a utilização de dados da Base de Dados Hospitalar, para elaboração das Teses de Mestrado em Bioquímica Aplicada *“Estudo da utilização de marcadores bioquímicos no diagnóstico de sépsis”*, pela mestranda **Annabella Farinha**, e *“Avaliação de novos marcadores bioquímicos no diagnóstico precoce de sépsis”* pela mestranda **Cláudia Patrícia Brazão Pita**, ambas sob a orientação da Professora Auxiliar Irene Gomes Câmara Camacho, e co-orientação de Ana Paula Gonçalves Cruz Aguiar (Licenciada em Enfermagem, Mestre em Infecção em Cuidados de Saúde; Enfermeira Especialista em Enfermagem Médico Cirúrgica, SESARAM,EPE) e Roberto Alexandre Pisa Camacho (Licenciado em Biologia, Mestre em Biodiversidade e Conservação; Docente; Investigador do Centro de Estudos da Macaronésia da UMA).

A.2. Fazem parte do documento em avaliação: ofício ao Presidente do Conselho de Administração do SESARAM,EPE, Proposta de Tema de Tese de Mestrado em Bioquímica Aplicada (Comissão Científica-UMa) com o título *“Estudo da utilização de marcadores bioquímicos no diagnóstico de sépsis”* e Proposta de Tema de Tese de Mestrado em Bioquímica Aplicada (tema 2) (Comissão Científica-UMa).



A.3. O “Estudo da utilização de marcadores bioquímicos no diagnóstico de sépsis” tem por objetivos: determinar se de entre o leque de marcadores bioquímicos comumente analisados no laboratório hospitalar existe algum que se adequa ao diagnóstico de sépsis; determinar o valor de *cut-off* e parâmetros de sensibilidade e especificidade para o marcador de diagnóstico de sépsis; permitir um diagnóstico precoce de sépsis com base na utilização de marcadores bioquímicos, permitindo um início mais rápido da terapia antibiótica, menor tempo de internamento e de terapia, menor mortalidade e morbidade, e ainda um menor grau de resistências bacterianas em ambiente hospitalar; análise da viabilidade dos biomarcadores como complemento ao diagnóstico clínico. No trabalho a desenvolver, a investigadora irá compilar os dados referentes a quantificações de marcadores bioquímicos (exemplo: Procalcitonina, Proteína C-reativa e bilirrubina) determinados no laboratório hospitalar e respetivos diagnósticos clínicos de severidade de sépsis, e fará a análise estatística dos dados apurados. O trabalho experimental será desenvolvido na íntegra no laboratório de análises clínicas do Hospital Dr. Nélio Mendonça. As amostras biológicas (sangue) derivadas de pacientes hospitalizados serão processadas naquele laboratório e analisados os parâmetros bioquímicos necessários ao estudo. O período de recolha de dados ocorrerá desde Setembro de 2013 até Maio de 2014, com utilização de dados referentes aos 5 anos anteriores (registados na Base de Dados Hospitalar). Os dados serão tratados e analisados pelos programas informáticos Microsoft Excel e SPSS.

O Estudo “ **Avaliação de novos marcadores bioquímicos no diagnóstico precoce de sépsis**” tem por objetivos: avaliar a utilidade da determinação de novos biomarcadores séricos enquanto auxiliares no diagnóstico de sépsis; determinar o valor de *cut-off* e parâmetros de sensibilidade e especificidade para cada novo marcador de diagnóstico de sépsis, nomeadamente hormonas adenocorticotróficas, hormona estimulante da tiróide, nível de ácido láctico e hemograma; permitir um diagnóstico precoce de sépsis com base na utilização destes novos marcadores bioquímicos, permitindo um



início mais rápido da terapia antibiótica, menor tempo de internamento e de terapia, menor mortalidade e morbidade, e ainda um menor grau de resistências bacterianas em ambiente hospitalar; análise da viabilidade dos novos biomarcadores como complemento ao diagnóstico clínico. No trabalho a desenvolver, a investigadora irá compilar os dados referentes a quantificações dos marcadores bioquímicos a determinar no laboratório hospitalar e respetivos diagnósticos clínicos de severidade de sépsis, e fará a análise estatística dos dados apurados. O trabalho experimental será desenvolvido na íntegra no laboratório de análises clínicas do Hospital Dr. Nélio Mendonça. As amostras biológicas (sangue) derivados de pacientes hospitalizados serão processadas naquele laboratório e desenvolvida a análise dos parâmetros bioquímicos a estudar.

O período de recolha de dados ocorrerá desde Setembro de 2013 até Maio de 2014, com utilização de dados referentes aos 5 anos anteriores (registados na Base de Dados Hospitalar). Os dados serão tratados e analisados pelos programas informáticos Microsoft Excel e SPSS.

B- IDENTIFICAÇÃO DAS QUESTÕES COM EVENTUAIS IMPLICAÇÕES ÉTICAS

B.1. Estão dadas garantias de confidencialidade e anonimato dos participantes.

B.2. Reconhece-se a pertinência dos estudos e o interesse prático nos resultados esperados, sendo que a metodologia utilizada salvaguarda os direitos dos participantes.

C - CONCLUSÃO

A CES deliberou dar **Parecer Favorável** aos dois Estudos, nos precisos termos em que os mesmos foram apresentados, por não se colocarem



REGIÃO AUTÓNOMA DA MADEIRA
SERVIÇO DE SAÚDE DA REGIÃO AUTÓNOMA DA MADEIRA, E.P.E.

quaisquer questões de ordem ética, **ressalvando a responsabilidade do Dr. Nuno Canhoto em fornecer os dados clínicos e laboratoriais de forma anónima. Não fica autorizada a recolha de análises extra.**

Aprovado em reunião do dia 16 de Setembro de 2013, por unanimidade.

O Presidente da **CE/S/S** SARAM, EPE



NOTA: Considerar apenas o texto referente ao “Estudo da utilização de marcadores bioquímicos no diagnóstico de sépsis”.

ANEXO 3 - Teste de Normalidade da distribuição dos dados das variáveis

Variáveis	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Leucócitos	,838	300	,000
Neutrófilos	,834	300	,000
Linfócitos	,880	300	,000
Monócitos	,706	300	,000
Eosinófilos	,046	300	,000
Eritrócitos	,867	300	,000
Hemoglobina	,961	300	,000
Hematócrito	,966	300	,000
Volume Corpuscular Médio	,948	300	,000
Hemoglobina Corpuscular Média	,918	300	,000
Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média	,904	300	,000
RDW	,796	300	,000
Plaquetas	,915	300	,000
Bilirrubina Total	,319	300	,000
Bilirrubina Indireta	,538	300	,000
Bilirrubina Direta	,264	300	,000
Proteína C reativa	,888	300	,000
Procalcitonina	,661	300	,000
Lactato	,719	300	,000
Idade	,978	300	,000

Os basófilos foram omitidos por serem constantes.

ANEXO 4 – Área sob a curva para a Tbil, DBil, PCR, PCT e LACT.

Variáveis	Área	Erro padrão	Sig. assintótica	Intervalo de Confiança 95%	
				Limite inferior	Limite superior
Tbil	0,666	0,030	0,00	0,606	0,726
DBil	0,708	0,029	0,00	0,651	0,764
PCR	0,999	0,001	0,00	0,996	1,000
PCT	0,963	0,011	0,00	0,941	0,984
LACT	0,931	0,014	0,00	0,905	0,958

ANEXO 5 – Área sob a curva para LEU, NEU, LIN, ERIT, Hgb, Hct e RDW.

Variáveis	Área	Erro padrão	Sig. assintótica	Intervalo de Confiança 95%	
				Limite inferior	Limite superior
LEU	0,816	0,025	0,00	0,766	0,865
NEU	0,883	0,021	0,00	0,842	0,924
LIN	0,102	0,019	0,00	0,065	0,139
ERIT	0,079	0,015	0,00	0,048	0,109
Hgb	0,077	0,015	0,00	0,047	0,106
Hct	0,061	0,013	0,00	0,034	0,087
RDW	0,906	0,016	0,00	0,874	0,938

