

Importância da PCT no Diagnóstico de Sepsis em Pacientes Oncológicos Internados na UCI

Instituto Universitário de Ciências da Saúde

Autor: João Pedro Montenegro Máximo Fonseca

Ano de 2016

Importância da PCT no Diagnóstico de Sepsis em Pacientes Oncológicos Internados na UCI

Dissertação apresentada ao Instituto Universitário de Ciências da Saúde, para obtenção do grau de Mestre em Análises Clínicas

Autor: João Pedro Montenegro Máximo Fonseca

Orientador: Professor Doutor Carlos Palmeira

Resumo

No presente estudo foi avaliado o comportamento de biomarcadores na condição de sépsis, numa série de doentes internados entre 2012 e 2013 na Unidade de Cuidados Intensivos (UCI) do Instituto Português de Oncologia do Porto Francisco Gentil (IPOPFG).

O objetivo principal do mesmo foi associar os valores séricos dos biomarcadores como a Procalcitonina (PCT), Proteína-C reativa (PCR) e contagem de Leucócitos (WBC) com o diagnóstico de sépsis. Para tal foi necessário alcançar outros objetivos: analisar os resultados de PCT, PCR e WBC na série de doentes em estudo; estudar a associação entre os valores destes biomarcadores com os resultados microbiológicos, nomeadamente com as hemoculturas; avaliar a sensibilidade e especificidade dos valores *cut off* de PCT, PCR e WBC, adotados pela Instituição, para a condição de sépsis.

Do total de 273 pacientes incluídos neste estudo, foram selecionados para análise estatística 225 com exame microbiológico realizado e não sujeitos a transplante de medula óssea.

Da análise dos resultados foi possível concluir que tanto a PCT como a PCR, estavam associadas com o diagnóstico precoce de sépsis. A contagem de WBC revelou não ser uma mais valia para este diagnóstico.

Nenhum biomarcador em estudo revelou uma associação estatisticamente significativa para os agentes microbiológicos, registando-se, no entanto, um ligeiro aumento das bactérias Gram-negativas nos casos com PCT alta. Verificou-se também que em relação aos produtos microbiológicos, particularmente para as hemoculturas, mais de metade dos casos com PCT alta revelaram hemoculturas negativas apesar do diagnóstico de sépsis.

A análise da sensibilidade e especificidade dos vários biomarcadores, revelou que apenas a PCT apresentou um comportamento estatisticamente satisfatório (AUC de 0,788) possibilitando, ao diagnóstico, a distinção entre sépsis e SIRS. Neste sentido, o valor *cut off* em uso nesta Instituição para esta variável, revelou para a PCT baixa uma sensibilidade e especificidade de 0,811 e 0,543 respetivamente, e para PCT alta uma sensibilidade e especificidade de 0,632 e

0,853, respetivamente. O *cut off* da PCT (19ng/mL), encontrado neste estudo, revelou ser um coadjuvante no diagnóstico de sépsis com capacidade de orientar de uma forma mais precisa qual o agente etiológico causador desta infeção, uma vez que: todos os pacientes com concentrações de PCT acima deste valor apresentaram o diagnóstico de sépsis e, na sua grande maioria (80,7%), estavam associados a infeções por bactérias Gram-negativas, especialmente, *Enterobacteriaceae*.

Palavras-chave: Biomarcadores, PCT, Sépsis, SIRS, UCI, Gram-negativas, *Enterobacteriaceae*

Abstract

In the present study we evaluated the behavior of biomarkers in sepsis condition in a series of patients admitted between 2012 and 2013 in the Intensive Care Unit (ICU) of the Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil (IPOPFG).

The main purpose of it was to associate values of serum biomarkers as Procalcitonin (PCT), C-reactive protein (CRP) and leukocyte count (WBC) with the diagnosis of sepsis. To do this it was necessary to achieve other objectives: to analyze the results of PCT, CRP and WBC in the number of patients in the study; study the association between the values of these biomarkers with the microbiological results, in particular the blood cultures; assess the sensitivity and specificity of the cut off values of PCT, CRP and WBC, adopted by the Organization for sepsis condition.

Of the total of 273 patients included in this study were selected for statistical analysis with 225 cases with microbiological examination and not subject to bone marrow transplantation.

Examining the results it was concluded that both PCT and CRP, were associated with early diagnosis of sepsis. WBC count showed not be an asset to this diagnosis.

None biomarker study revealed a statistically significant association for microbiological agents, registering, however, a slight increase of Gram-negative bacteria in cases of high PCT. It was also found that in respect of microbiological products, particularly for blood cultures, more than half of the cases with high PCT revealed negative blood cultures despite the diagnosis of sepsis.

The analysis of sensitivity and specificity of the various biomarkers revealed that only PCT showed a statistically satisfactory behavior (AUC 0.788) enabling at diagnosis, the distinction between sepsis and SIRS. Using the Institution's cut off, the low PCT group revealed a sensitivity and a specificity of 0.811 and 0.543 respectively, and high PCT sensitivity and specificity of 0.632 and 0.853, respectively. The cut off of PCT (19ng/ml) found in this study was analysed to

be an adjunct in the diagnosis of sepsis capable of directing a more precise way the causative etiologic agent of this infection, because: all patients with concentrations of PCT above this value were diagnosed with sepsis, and the vast majority (80.7%) were associated with infections by Gram-negative bacteria, particularly *Enterobacteriaceae*.

Keywords: Biomarkers, PCT, Sepsis, SIRS, ICU, Gram-negative *Enterobacteriaceae*

Agradecimentos

Em todos os momentos de realização desta tese de mestrado foi-me concedido o apoio de todos aqueles que desde sempre quiserem a minha felicidade e sucesso em toda a minha existência, referindo-me à minha família, aos meus pais, avós, padrinhos e tios, que direta ou indiretamente contribuíram para o meu crescimento como pessoa e com isso vencer todas as barreiras impostas, repercutindo-se na finalização deste grau académico.

Exprimo também um sentimento de gratidão à minha namorada Sara, a minha companheira de todas as horas, companheira para a vida e minha apoiante incondicional, pela seu carinho, sensibilidade, paciência e por tudo, nunca me deixou desistir dos meus objetivos dizendo sempre tudo o que eu necessitava de ouvir, nos momentos certos, sendo algo bom ou menos bom.

Não poderia deixar de mencionar os meus agradecimentos a toda a equipa do IPO do Porto, mais especificamente aos serviços da Química Clínica, que de uma forma ou de outra deram o seu contributo para que fosse possível a conclusão deste trabalho. Gostaria de citar algumas pessoas em particular, tais como: ao Dr. Luís Araújo, Diretor do Serviço de Química Clínica pelo seu apoio e interesse por este estudo; ao meu orientador de mestrado Professor Doutor Carlos Palmeira, pois desde o primeiro momento que se interessou, dedicou e batalhou lado a lado comigo neste projeto estando sempre disponível para me ajudar e aconselhar; ao Dr. Nuno Gonçalves que mesmo com o seu tempo limitado, disponibilizou sempre um momento para me orientar nas dúvidas que foram surgindo; agradeço também à Dra. Filomena Faria pela sua ajuda preciosa não só pelo fornecimento dos dados estatísticos mas pelo seu interesse e partilha do seu conhecimento, que tanto contribuíram para o desenvolvimento do tema em estudo.

Agradeço por último mas não menos importantes a todos os meus amigos pela amizade e força que sempre me transmitiram.

Por tudo isto deixo aqui os meus sinceros agradecimentos.

Índice Geral

Índice de Figuras	ix
Índice de Gráficos	x
Índice de Tabelas.....	xi
Abreviaturas e Siglas	xii
I. Introdução	1
1. SIRS, Sepsis, Sepsis grave e Choque Séptico.....	1
1.1. Critérios atualmente aceites para avaliação de Sepsis	3
2. Reação do sistema imunitário face à condição de Sepsis	5
3. Produtos bacterianos envolvidos na Sepsis	8
4. Etiologia bacteriana relacionada com Sepsis	9
5. Dados epidemiológicos da Sepsis	11
6. Principais Biomarcadores de Sepsis	12
6.1. Procalcitonina.....	13
6.1.1. Procalcitonina como biomarcador de diagnóstico de sepsis bacteriana	15
6.1.2. Limitações da PCT	17
6.2. Proteína-C Reativa	18
6.3. Leucócitos (WBC) e contagem diferencial	18
II. Objetivos	20
III. Métodos	21
1. Critérios de Diagnóstico	21
2. Critérios de Exclusão.....	22
3. Colheita das Amostras de Sangue	22
4. Determinação da PCT	22
5. Determinação da PCR.....	23
6. Determinação da Contagem de WBC.....	23
7. Análise Estatística	24
IV. Resultados	26
1. Doentes não transplantados com exame microbiológico	27
1.1. Biomarcadores: PCT, PCR e WBC	29
2. Pacientes transplantados.....	35
V. Discussão	38
VI. Conclusão	44
VII. Referências Bibliográficas	46

VIII. Anexos 53

Índice de Figuras

Figura 1: Relação entre infecção, sepsis, e SIRS	2
Figura 2: Potenciais fatores de risco que levam à sepsis. Interação complexa de fatores que podem influenciar a suscetibilidade e evolução clínica de sepsis	5
Figura 3: Fluxograma da resposta inflamatória	7
Figura 4: Diagrama de fragmentação da molécula da PCT	13
Figura 5: Princípio do ensaio de electroquimioluminescência da PCT	23
Figura 6: Determinação dos WBC pelo método de análise de Citometria de Fluxo	24

Índice de Gráficos

Gráfico 1: Curvas ROC relativas às concentrações de PCT, PCR e WBC para o diagnóstico Sepsis	33
Gráfico 2: Distribuição dos valores de concentração da PCT, nos casos com Sepsis e SIRS	33

Índice de Tabelas

Tabela 1: Características da população estudada referente aos 273 pacientes incluídos no estudo	27
Tabela 2: Produtos microbiológicos nos pacientes com Sepsis (n=190)	28
Tabela 3: Grupos microbiológicos identificados nos pacientes com Sepsis	29
Tabela 4: Concentrações de PCT, PCR e WBC em função do diagnóstico	29
Tabela 5: Associação da PCT, PCR e WBC e o diagnóstico de Sepsis	30
Tabela 6: Associação da PCT, PCR e WBC com os grupos microbiológicos (pacientes com Sepsis)	31
Tabela 7: Associação da PCT com os resultados das hemoculturas (pacientes com Sepsis)	32
Tabela 8: Associação da PCT e o diagnóstico, recorrendo a <i>cut off</i> 19	34
Tabela 9: Associação da PCT e grupos microbiológicos, em função do diagnóstico de Sepsis.....	34
Tabela 10: Características da população estudada (28 pacientes submetidos a TMO)	35
Tabela 11: Frequências dos biomarcadores dos pacientes transplantados (n=26).....	36
Tabela 12: Frequências dos biomarcadores de acordo com os grupos microbiológicos.....	37
Tabela 13: Frequências dos agentes microbiológicos que foram diagnosticados nas culturas de todos os pacientes.....	53
Tabela 14: Curvas ROC - Área abaixo da curva (AUC).....	54
Tabela 15: Coordenadas das Curvas ROC referentes à PCT	54

Índice de Abreviaturas e Siglas

ACCP/SCCM – *American College of Chest Physicians and Society of Critical Care Medicine*

aPTT – Prolongamento do tempo da atividade parcial de tromboplastina

AUC – *Area Under the Curve*

CD14 - *Cluster of Differentiation 14*

COOH – Ácido Carboxílico

CT – Calcitonina

CTLA-4 – *Cytotoxic T Lymphocyte-associated Antigen 4*

dL – Decilitro

DP – Desvio Padrão

E. coli - *Escherichia coli*

EDTA – Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético

EM – Exame Microbiológico

EPIC II – *European Prevalence of Infection in Intensive Care*

FiO₂ – Fração Inspirada de Oxigênio

h - Horas

Hg – Mercúrio

IL-1 – Interleucina 1

IL-6 – Interleucina 6

IDSA – *Infections Disease Society of America*

iNOS – Indução da Síntese de Óxido Nítrico

INR – Normalização Internacional de Rácio

IPOPFG – Instituto Português de Oncologia do Porto Francisco Gentil

Kg – Quilograma

L – Litro

LPS – Lipopolissacarídeos

µg - Micrograma

mg – Miligrama

min. – Minuto

mL – Mililitro

µL – Microlitro

mm – Milímetro

µmol - Micromole

mmol – Milimole

n – Frequência

ng – Nanograma

NH₂ – Grupo amino

p – Nível descritivo de probabilidade

PaO₂ – Pressão Parcial de Oxigênio

PAMP - *Pathogen-Associated Molecular Patterns*

PCR – Proteína-C reativa

PCT – Procalcitonina

PRR - *Pattern Recognition Receptors*

ROC – *Receiver Operating Characteristic Curve*

Ru – Rutênio

spp. – *Species*

SSC – *The Surviving Sepsis Campaign*

TGF-β - *Transforming Growth Factor beta*

TLR4 - *Toll Like Receptor 4*

TMO – Transplante de Medula Óssea

TNF-α - *Tumor Necrosis Factor alpha*

Importância da PCT no Diagnóstico de Sepsis em Pacientes Oncológicos Internados na UCI

UCI – Unidade de Cuidados Intensivos

WBC – *White Blood Cell* (Leucócitos)

I. Introdução

1. SIRS, Sepsis, Sepsis Grave e Choque Séptico

Desde há muito tempo que a comunidade científica reconhece que uma infecção pode levar ao colapso circulatório generalizado e conseqüentemente à morte do indivíduo (1, 2). Na década de 90 o “Síndrome de Resposta Inflamatória Sistêmica” (SIRS) foi proposto numa conferência internacional realizada pela “*American College of Chest Physicians and Society of Critical Care Medicine*” (ACCP/SCCM) (3-6), ficando definido que o SIRS traduz-se num processo inflamatório, não específico, que ocorre depois do indivíduo sofrer um trauma, infecção, pancreatite, queimadura, entre outras causas prováveis (Figura 1) (3-6).

Para que seja considerado um caso de SIRS é necessário que, no indivíduo, se verifique, em simultâneo, pelo menos dois dos seguintes parâmetros clínicos (1, 4-11):

- ✓ Febre $>38,3^{\circ}\text{C}$ ou hipotermia $<36^{\circ}\text{C}$;
- ✓ Frequência cardíaca >90 batimentos/min;
- ✓ Hipotensão (pressão sistólica) $<90\text{mmHg}$;
- ✓ Frequência respiratória (taquipneia) >20 respirações/min.;
- ✓ Contagem leucocitária >12000 células/ mm^3 , <4000 células/ mm^3 ou $>10\%$ de formas imaturas.

Por outro lado, sempre que a condição de SIRS evolua no sentido do desenvolvimento de uma infecção provocada por um agente patogénico (fungos, vírus, parasitas, bactérias) será considerado um diagnóstico de sepsis (Figura 1) (1, 8).

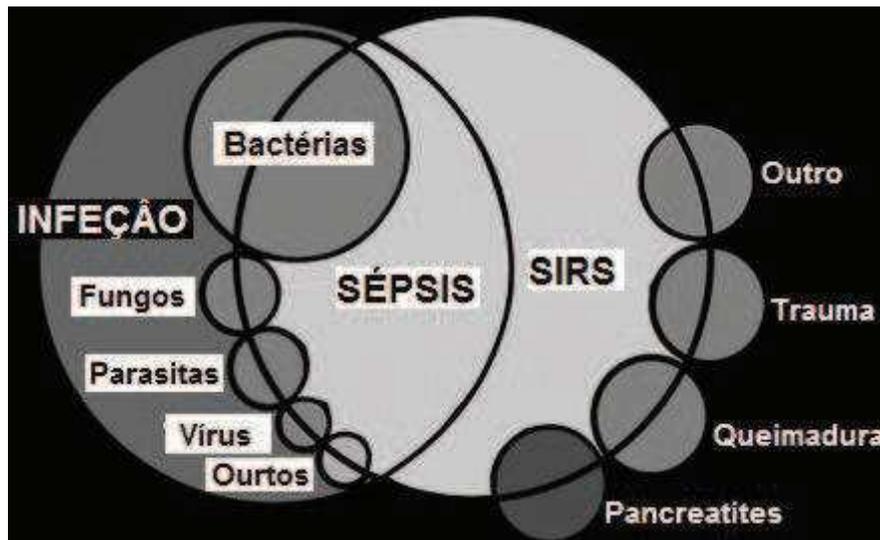


Figura 1: Relação entre infecção, sepsis e SIRS [adaptado de (12)].

De acordo com a ACCP/SCCM, o SIRS quando clinicamente associada a infecção designa-se por sepsis (infecção com uma resposta inflamatória sistémica causada por qualquer agente patogénico, diagnosticada pelos mesmos critérios utilizados para o SIRS e estando devidamente comprovada/documentada). O quadro de sepsis grave dá-se quando aliado à sepsis existe um quadro de disfunção de dois ou mais órgãos (a nível hepático, renal, neurológico, respiratório, hematológico). É considerado *choque séptico* quando aliado à sepsis há uma hipotensão, persistindo mesmo depois de ser repostos o volume vascular adequado no indivíduo (1, 4, 5, 7, 10, 11, 13, 14).

Dez anos depois da implantação das definições supramencionadas, em 2001, as sociedades que tinham promovido o consenso da década de 90 e outras que se lhes associaram, organizaram uma nova conferência designando-se: “*International Sepsis Definitions Conference*” (11). Na mesma, reconheceu-se que a definição de SIRS era muito sensível (permitia identificar precocemente vários doentes), mas demonstrava pouca especificidade (havia várias situações que se apresentavam como SIRS e que não se verificavam nem evoluíam para sepsis) (11). Também foi reconhecida a necessidade de alargar as manifestações que se consideram reveladoras de um estado SIRS/Sepsis, na medida em que estas são mais abrangentes do que as inicialmente descritas (11).

1.1. Critérios atualmente aceites para avaliação de Sepsis

Mais recentemente, em 2012, realizou-se um comité, “*The Surviving Sepsis Campaign (SSC) Guidelines Committee*”, que procedeu à revisão das diretrizes para a prática clínica no tratamento de *Sepsis*, *Sepsis Grave* e *Choque Séptico* (14). Este comité teve por base os mesmos critérios e definições propostos pela conferência de 2001. Nesse sentido e tendo em conta as limitações dos critérios iniciais de SIRS, foi proposta uma lista de manifestações habituais na resposta à infeção, que incluem os seguintes parâmetros (1, 11, 14):

a) Parâmetros clínicos/gerais:

- ✓ Febre $>38,3^{\circ}\text{C}$;
- ✓ Hipotermia $<36^{\circ}\text{C}$;
- ✓ Frequência cardíaca 90 batimentos/min.;
- ✓ Taquipneia;
- ✓ Alterações do estado da consciência;
- ✓ Edemas significativos (balanço positivo $>20\text{mL/Kg}$ em 24 horas);
- ✓ Hiperglicemia (glicemia $>140\text{mg/dL}$ ou $7,7\text{mmol/L}$, na ausência de diabetes).

b) Parâmetros inflamatórias:

- ✓ Leucocitose (contagem de leucócitos totais [WBC]) >12000 células μL^{-1} ;
- ✓ Leucopenia (contagem de leucócitos totais [WBC]) <4000 células μL^{-1} ;
- ✓ Contagem normal de leucócitos com mais de 10% de formas imaturas;
- ✓ Elevação da proteína C reativa;
- ✓ Elevação da procalcitonina.

c) Parâmetros hemodinâmicos:

- ✓ Hipotensão arterial sistêmica (sistólica <90mmHg, pressão arterial média <70mmHg ou queda sistólica >40mmHg);
- ✓ Saturação de oxigênio venoso (SVO₂) <70%;
- ✓ Índice cardíaco elevado (>3,5Lmin⁻¹m⁻²).

d) Parâmetros de disfunção de órgãos:

- ✓ Hipóxia arterial – PaO₂/FiO₂ <300;
- ✓ Oligúria aguda: débito urinário <0,5mL/Kg/h há pelo menos duas horas;
- ✓ Aumento da creatinina superior a 0,5mg/dL ou 44,2μmol/L;
- ✓ Alterações da coagulação: Normalização internacional de rácio (INR) >1,5 ou prolongamento do tempo da atividade parcial de tromboplastina (aPTT) >60 seg.;
- ✓ Trombocitopenia (contagem de plaquetas <100 000μL⁻¹);
- ✓ Íleo (ausência de sons intestinais);
- ✓ Hiperbilirrubinemia (bilirrubina total no plasma >4mg/dL ou 70μmol/L).

e) Parâmetros de perturbação da perfusão tecidual:

- ✓ Hiperlactidemia >1mmol/L;
- ✓ Atraso no preenchimento capilar e/ou pele marmórea.

Nenhuns dos parâmetros acima descritos, na opinião dos autores da bibliografia, têm prioridade sobre os iniciais (1, 11). A lista de manifestações propostas vale pelo seu todo, constituindo um guia de revisão sistemática das manifestações mais frequentes e precoces na instalação dos quadros de sepsis (1, 11). Face a uma suspeita de sepsis, são estudados primariamente os parâmetros clínicos. Caso estes últimos confirmem a condição de sepsis, encontra-se protocolada pelo comité “*The Surviving Sepsis Campaign (SSC) Guideline Committee*” (14), a execução de uma revisão dos parâmetros mencionados anteriormente - a), b),

c), d), e) -, com o propósito de verificar a presença de uma infecção com expressão sistêmica (11, 14).

As bactérias são os agentes patogênicos mais comuns em pacientes com sepsis de origem nosocomial e de origem comunitária (contacto, exposição específica, viagens e surtos) (Figura 2) (1). Por outro lado, alterações a nível imunitário do indivíduo/hospedeiro também poderão influenciar a natureza dos organismos patogênicos para o caso de sepsis (1).

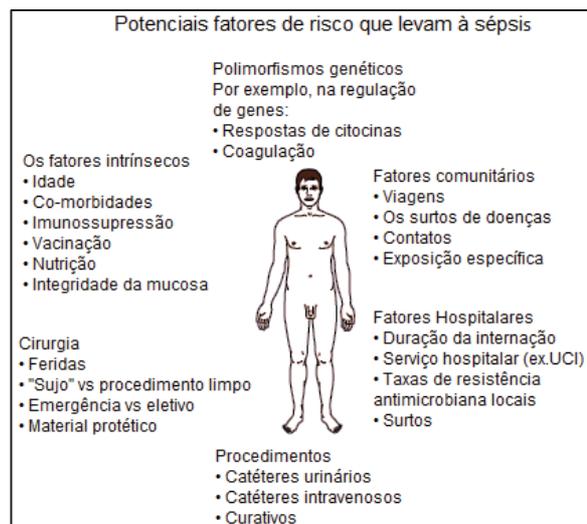


Figura 2: Potenciais fatores de risco que levam à sepsis. Interação complexa de fatores que podem influenciar a suscetibilidade e evolução clínica de sepsis [adaptado de (1)].

A infecção originada por qualquer agente patológico poderá, para a definição de sepsis, corresponder a uma suspeita de infecção ou a uma infecção efetivamente comprovada, através de culturas celulares positivas; colorações teciduais ou através da técnica de "Polymerase Chain Reaction" ou, alternativamente, deverá corresponder a uma síndrome clínica relacionada a uma elevada probabilidade de infecção. A evidência de infecção inclui resultados positivos no exame clínico de imagiologia ou em exames laboratoriais (bioquímicos, hemoculturas e outras culturas microbiológicas) (13, 15).

2. Reação do sistema imunitário face à condição de Sepsis

O sistema imunitário tem como função principal proteger o hospedeiro das infecções microbianas, sendo composto por células isoladas ou organizadas em estruturas que se distribuem por todo o corpo humano (16, 17). Este sistema

defende o hospedeiro contra microrganismos e moléculas estranhas, como as toxinas produzidas por microrganismos invasores, envolvendo uma série de interações entre o hospedeiro e os microrganismos infetantes (16, 17). Os primeiros obstáculos enfrentados pelos microrganismos são as barreiras físicas como a pele ou as mucosas, impedindo os mesmos de entrarem no hospedeiro (17). Ultrapassadas estas barreiras físicas, os microrganismos têm a possibilidade de invadir e colonizar os tecidos do hospedeiro (17). Assim, a primeira linha de defesa é constituída por mecanismos que por um lado podem ser rapidamente desencadeados por antígenos dos microrganismos invasores ou encontrarem-se já operante e, no seu conjunto, são habitualmente denominados como “imunidade inata” (17, 18). Desta via do sistema imune fazem parte fatores presentes na circulação, designados humorais, tais como: proteínas do sistema complemento, anticorpos pré-formados ou proteínas de fase aguda (17). Por outro lado, a imunidade inata também apresenta atividade celular na qual são responsáveis os fagócitos, que reconhecem padrões moleculares característicos de microrganismos ou *Pathogen-Associated Molecular Patterns* (PAMP) através de recetores de superfície, denominados por *Pattern Recognition Receptors* (PRR) (13, 17, 19). O sistema imune também dispõe de mecanismos de defesa que envolvem moléculas de região variável, distribuídos à superfície de células linfocitárias T e B, conferindo assim um caráter específico à resposta imunitária (17, 20). Estes mecanismos são designados, em todo o seu conjunto, como “imunidade adaptativa”, tendo a capacidade de distinguir especificidades antigénicas particulares de cada microrganismo (17). Todos estes mecanismos imunes estão sujeitos a um controlo rigoroso para evitar que os agentes microbicidas acabem por se tornar lesivos para as células ou tecidos do hospedeiro (17, 18). Neste controlo estão envolvidas moléculas que são expressas na superfície das células imunes, como a molécula CTLA-4, fatores solúveis (por exemplo TGF- β) que também contribuem para a desativação dos mecanismos inflamatórios e ainda um subgrupo de células T, designadas como células T reguladoras ou Treg. Estas células, devido às suas propriedades imunossupressoras possuem capacidade de controlar negativamente os fenómenos inflamatórios, características estas que são fundamentais para evitar patologias associadas a respostas imunes exacerbadas (17). Por outro lado, como as Treg possuem na superfície PRR,

respondem diretamente a PAMP, como o lipopolissacarídeo (LPS) existente nas paredes das bactérias Gram-negativas, sendo deste modo ativadas pelos próprios agentes infecciosos (16-18). Assim, devido à capacidade de alguns microrganismos resistirem aos mecanismos efetores da imunidade, os mesmos são desencadeados de modo diferenciado perante infeções por diferentes microrganismos patogénicos como bactérias, vírus, fungos e parasitas (17, 18).

As bactérias são microrganismos capazes de desencadear respostas deste tipo, podendo, de forma provocar inflamação, sépsis e choque séptico no organismo (17). Esta resposta inflamatória do hospedeiro causa inevitavelmente danos tecidulares e em algumas infeções bacterianas, este dano tem um papel essencial nos sintomas e no processo patológico da doença (17). A resposta inflamatória sistémica possui os mesmos sintomas que a infeção local mas com resultados mais acentuados (18). Esta quando estendida a outros órgãos pode ter consequências graves, uma vez que incita uma ativação descontrolada do sistema imune com predomínio de efeitos tóxicos das citocinas pró-inflamatórias, ou seja, dá-se o desenvolvimento excessivo de microtrombos, obstruindo o fluxo sanguíneo, levando à disfunção de órgãos (Figura 3) (18).



Figura 3: Fluxograma da resposta inflamatória [adaptado de (19)].

A resposta inflamatória sistêmica dá-se quando os mediadores da inflamação passam para a corrente sanguínea atingindo, seguidamente, locais distantes à sua origem (18). O aumento da temperatura vai estimular a atividade do sistema imunitário, inibindo o crescimento de bactérias (18). Por último, a permeabilidade vascular aumenta, havendo a transferência de líquido do espaço vascular para o interstício dos tecidos, levando a uma diminuição do volume intravascular, que poderá culminar em choque distributivo ou, mesmo, na morte do paciente em casos extremos (18).

No caso de um choque séptico, são as citocinas produzidas pelo hospedeiro, como TNF- α e IL-1, as responsáveis pela patologia (17). Um choque séptico pode ser iniciado quando os LPS das bactérias Gram-negativas se ligam ao CD14 e ao TLR4 estimulando os macrófagos ou monócitos a segregarem estas citocinas pró-inflamatórias (17). Por outro lado, existem certas citocinas microbianas, designados por superantígenos, que devido à sua capacidade de ativação de células T específicas, podem originar níveis tão elevados de citocinas que levam a uma patologia semelhante à que é característica do choque séptico (17).

Apesar dos efeitos indesejáveis da inflamação acima referidos, serem por vezes a causa de morbidade e mortalidade, esta resposta das células imunológicas é um importante mecanismo de proteção do hospedeiro contra as infeções bacterianas (17).

3. Produtos bacterianos envolvidos na Sepsis

As bactérias produzem uma variedade de exotoxinas e produtos endógenos, provenientes da parede celular, induzindo respostas pró-inflamatórias que podem culminar com sepsis (1, 21). Tais produtos são libertados por bactérias durante a infeção local ou sistêmica e, por sua vez, tal pode ter efeitos pró-inflamatórios locais ou sistêmicos (1). O sistema imunitário inato consiste na primeira linha de defesa contra a invasão de microrganismos e por esta razão a ativação do mesmo é primordial para a patogénese da sepsis (1). As endotoxinas são complexos LPS que fazem parte da membrana externa da parede celular

das bactérias Gram-negativas que, em certas circunstâncias, são tóxicos para hospedeiros específicos (1, 21). Os LPS que estão ligados à bactéria são libertados, não só, quando ocorre a lise do microrganismo mas também durante a multiplicação bacteriana (1, 21). A membrana externa é constituída por um domínio de polissacarídeos covalentemente ligados a uma única base de fosfolípidos-di-glucosamina, o lípido A, que é a chave da toxicidade dos LPS e o grande responsável pela ocorrência de febre, inflamação e choque séptico (1, 10, 21).

As exotoxinas são proteínas solúveis libertadas por bactérias e por outros agentes patogénicos enquanto ocorre, na maioria das vezes, o crescimento bacteriano. Frequentemente estas podem viajar do local de infeção para outros tecidos ou células-alvo, onde exercem os seus efeitos podendo causar danos substanciais ao hospedeiro através de efeitos tóxicos diretos e por provocar respostas inflamatórias (1, 21).

Neste âmbito, existem exotoxinas do tipo 1 e 2. As do tipo 1 (superantígenos) não entram diretamente nas células mas podem ligar-se aos recetores de superfície das mesmas, desencadeando respostas específicas. As exotoxinas do tipo 2 causam danos diretamente nas células, atuando ao nível da membrana plasmática, perturbando a integridade da mesma, o que causará a lise das células hospedeiras (1, 21). Ainda existe um terceiro tipo de exotoxina bacteriana, sendo a mesma composta por duas subunidades: uma subunidade enzimática ou fragmento A, que é responsável pelo efeito tóxico quando dentro da célula hospedeira, e uma subunidade de ligação ou fragmento B. As subunidades A, isoladamente, são enzimaticamente ativas, mas não detêm a capacidade de se ligarem às células e entrarem nas mesmas, enquanto as subunidades B isoladas ligam-se às células-alvo, mas não são tóxicas nem biologicamente ativas (1, 21).

4. Etiologia bacteriana relacionada com sepsis

As bactérias Gram-positivas, como causa de sepsis, têm vindo frequentemente a aumentar ao longo do tempo e neste momento são quase tão comuns como

as infecções provocadas por bactérias Gram-negativas (11). Esta constatação deve-se, provavelmente, ao aumento da utilização de procedimentos invasivos e a um proporcional aumento de infecções hospitalares (11). Em contrapartida, de acordo com Lynn (1) e Annane, *et al* (22), as bactérias Gram-positivas estão envolvidas em 30-50% dos casos e as bactérias Gram-negativas em 25-38%, com algumas variações regionais. Encontrando-se 17% dos casos relacionados com fungos (principalmente *Candida spp.*). As bactérias Gram-negativas foram mais associadas ao choque séptico, ocorrendo uma mudança etiológica durante a década de 90, com o aumento de infecções por bactérias Gram-positivas e fungos patogénicos, particularmente em Unidades de Cuidados Intensivos (UCI). Foi também verificado, que a causa microbiológica só foi identificada em 60% dos pacientes com sepsis (1).

No entanto, embora os estudos mais recentes sugiram um aumento na incidência de bactérias Gram-positivas, como referido anteriormente, no último “*European Prevalence of Infection in Intensive Care*” (EPIC II) os estudos relataram um maior número de casos de bactérias Gram-negativas (62,2%) do que bactérias Gram-positivas (46,8%) (11). No mesmo estudo, os padrões de organismos infecciosos foram semelhantes aos estudos feitos anteriormente, demonstrando como organismos predominantes os seguintes: *Staphylococcus aureus* (20,5%), *Pseudomonas spp.* (19,9%), *Enterobacteriaceae* (principalmente *E. coli*, 16,0%) e fungos (19%) (11).

Numa grande meta-análise de 510 estudos, foi verificado que as bactérias Gram-negativas estão associadas a uma mortalidade mais elevada, em comparação com as bactérias Gram-positivas (11). As infecções na corrente sanguínea (bacteriémias) são causadas, principalmente, por *Staphylococcus* e por *E. coli*, no entanto, estas em relação à sua mortalidade apresentaram uma associação relativamente baixa (20% e 19% respetivamente) em comparação com *Candida spp.* (43%) e *Acinetobacter spp.* (40%) (11).

5. Dados epidemiológicos da sépsis

Hoje em dia, a sépsis é uma das causas mais comuns de morte em pacientes hospitalizados, aumentando com a idade e com as comorbidades (2, 10, 23-29). Uma das populações de doentes mais afetada pela mesma são os doentes internados nas UCI, apresentando uma percentagem alta de morbidade e mortalidade como consequência de infeções graves, cujos critérios de diagnóstico clínico são de baixa sensibilidade e especificidade (2, 10, 23-28). De acordo com Vincent (28), num estudo realizado na Europa referente a um período de duas semanas em 2002, foram estudados 3147 pacientes admitidos em UCI, tendo-se verificado o seguinte: 30% contraíram sépsis grave durante o seu internamento na UCI; destes, 25% estavam infetados no momento da sua admissão e os restantes adquiriram sépsis durante a sua permanência na UCI. Segundo o mesmo estudo, em Portugal, a frequência de sépsis nestes doentes admitidos nas UCI rondava os 63%, o que provavelmente estaria relacionado com a disponibilidade de vagas nas unidades e também com os critérios de admissão/alta nas mesmas (28, 29). Curiosamente, neste estudo, houve uma clara associação entre a frequência de sépsis e a taxa de mortalidade geral em vários países, que não indica necessariamente uma relação de causa e efeito, mas simplesmente ilustra as maiores taxas de mortalidade nestes pacientes com sépsis (28). No âmbito da mortalidade provocada pela sépsis em internamentos hospitalares, segundo Bloos & Reinhart (30), a mesma varia entre 28,3% e 41,1% tanto nos Estados Unidos como na Europa. De acordo com a “*Statistical Federal Office*” na Alemanha, em 2011, cerca de 88.000 pacientes foram diagnosticados, tanto com sépsis grave como com choque séptico nos hospitais alemães, associados a uma percentagem de mortalidade hospitalar compreendida entre os 43% para sépsis grave e 60% para choque séptico (31).

Por outro lado, há a possibilidade da mortalidade da sépsis poder variar, devido aos seguintes fatores: variações na prevalência da infeção; heterogeneidade dos pacientes e condições das instalações da própria UCI (1, 10). No mesmo sentido, os fatores que estão associados à mortalidade precoce incluem o número de sistemas de órgãos envolvidos, a acidose e o choque. Assim como, no

surgimento de óbitos tardios estão associadas comorbidades médicas, doenças subjacentes e múltiplas fontes de infecção (1, 10, 27).

6. Principais Biomarcadores de Sepsis

Como foi supramencionado, os parâmetros clínicos e/ou microbiológicos confiáveis são insuficientes na maior parte das vezes. As principais desvantagens dos vários e atuais métodos microbiológicos recaem sobre a demora no diagnóstico (culturas microbiológicas); o facto da sensibilidade apresentar-se abaixo do ideal (hemoculturas) e a baixa especificidade como consequência de contaminação (culturas de expetoração). Por outro lado, outros exames não são passíveis para o diagnóstico de rotina devido à sua natureza invasiva (biópsia pulmonar) (26, 32, 33). Na necessidade de acelerar o diagnóstico e de otimizar a duração da terapia antibiótica, a implementação bem sucedida de biomarcadores no diagnóstico de patologias, nomeadamente de sepsis, têm contribuído para um diagnóstico preciso e precoce da mesma (32, 34, 35).

Um biomarcador ideal pode ser medido objetivamente, refletindo, não só, os processos biológicos normais mas também os patogénicos, bem como as respostas às intervenções terapêuticas aplicadas (3). Vários biomarcadores têm sido identificados nos últimos anos, tendo demonstrado potencial para ajudar no diagnóstico de infeções locais e sistémicas; diferenciar infeções bacterianas de síndromes virais ou de condições não infecciosas; conceber um prognóstico e, por último, auxiliar na monitorização dos pacientes, em particular na terapia antibiótica (23, 36).

Mais de 170 biomarcadores já foram estudados para uso em avaliações de SIRS e sepsis (3). Alguns desses, como a proteína-C reativa (PCR) e a procalcitonina (PCT), estão a ser utilizados em estudos com pacientes internados nas UCI, sendo este último o biomarcador mais estudado, com o objetivo de ser investigado o potencial das suas funções a nível do diagnóstico precoce e da monitorização de infeções locais e sistémicas (2, 23, 25, 36-41).

6.1. Procalcitonina

Em 1993 surgiram evidências do aumento da PCT em pacientes com sépsis, sendo descortinada a relação dos seus níveis com a gravidade da doença e com a resposta à terapia antibiótica, este biomarcador apresenta ainda a capacidade de diferenciar infeções bacterianas de condições inflamatórias não bacterianas (2, 32, 34, 42-44). A função e a regulação da produção da PCT são bem diferentes de outros biomarcadores e tem sido utilizada como marcador de diagnóstico de sépsis e de infeções bacterianas graves. A mesma representa um tipo diferente de proteína imunologicamente ativa, comparada com outros grupos de moléculas inflamatórias ativas, tais como: citocinas; marcadores de superfície leucocitários e proteínas de fase aguda (42). De facto, a PCT tem uma dupla função no organismo: possui o papel de *precursora da calcitonina*, assim como a de *mediadora de citocinas*, apresentando-se estas últimas em número elevado face a infeções bacterianas sistémicas (45).

Bioquimicamente, a PCT é uma proteína composta por 116 aminoácidos e com peso molecular de 13 kdaltons, que passa por várias clivagens originando a calcitonina, com 32 aminoácidos; catacalcina com 21 aminoácidos, e um fragmento N-terminal, a que se deu o nome de aminoprocacitonina com 57 aminoácidos (Figura 4) (42, 43, 46-51). Apresenta-se como pró-hormona da hormona calcitonina (CT) sendo a sua indução e função biológica diferentes desta última (42, 46, 47, 49, 50, 52).



Figura 4: Diagrama de fragmentação da molécula da PCT [adaptado de (53)]

A calcitonina é produzida exclusivamente pelas células C da glândula tiroide em resposta a um estímulo hormonal, enquanto que a PCT é produzida não só, em condições fisiológicas, pelas células C da glândula tiroide, mas também por diversos tipos de células e tecidos (macrófagos; células do parênquima; fígado; rins; pulmões; adipócitos e células musculares) em resposta a estímulos pró-

inamatórios, em particular por produtos bacterianos (endotoxinas/exotoxinas) originando uma elevação da PCT no sangue (1, 7, 8, 37, 41, 49, 52).

As particularidades farmacocinéticas, após uma estimulação imunológica da PCT causada pela sépsis, possibilitam o seu uso precoce devido ao seu aumento significativo entre as 2-4 horas, atingindo um pico máximo em aproximadamente 24 horas como marcador de infecção e inflamação (8, 49). A mesma possui um tempo biológico de semivida entre 25 a 30 horas, havendo uma rápida normalização da sua concentração em pacientes recuperados (8, 37, 42, 49, 54). Todas estas características traduzem-se numa vantagem comparado com a PCR e outros marcadores de fase aguda, uma vez que a PCT apresenta uma ampla faixa biológica, necessitando de pouco tempo de indução após estímulo bacteriano. Notando ainda que a sua normalização é mais rápida que a da PCR, traduzindo-se numa potencial vantagem para o diagnóstico precoce da doença e uma melhor monitorização da progressão da mesma (6, 43, 55, 56).

Poderá ainda ser mencionado que embora a PCT produzida fisiologicamente no organismo tenha origem diferente da PCT libertada no plasma durante processos inflamatórios - estando comprovada a libertação desta por outros tecidos sem associação com a função da tiroide -, ambas apresentam estruturas idênticas, conforme já foi demonstrado em pacientes tireoidectomizados (25, 32, 34).

A PCT, a nível biológico, funciona como um mediador da resposta inflamatória, de forma semelhante à IL-6, ou seja, estimula a multiplicação dos linfócitos B maduros e posterior evolução para plasmócitos (9, 20). A PCT possui efeitos nocivos quando presente em grandes quantidades no organismo, podendo causar danos nos órgãos e levar à morte celular dos tecidos, embora exista ainda várias opiniões acerca da sua função no organismo (8, 44, 51). Quando presente em pequenas quantidades possui propriedades benéficas, não só, em termos biológicos mas também porque permite diagnosticar situações de sépsis de origem bacteriana e iniciar de uma forma mais rápida a terapêutica antimicrobiana (8, 44, 51).

Várias funções biológicas da PCT têm sido descritas, não estando completamente definida e de forma clara quais são essas funções e como se processam. Na bibliografia existente, pensa-se, ainda, que nessas funções estão incluídas a modulação de funções imunológicas e a vasomotilidade (contração das metarteríolas e dos esfíncteres pré-capilares) (42). Alguns efeitos são diferentes e dependentes do tempo decorrido em células normais e pré-estimuladas (42). A título de exemplo, a resposta migratória dos monócitos é aumentada pela PCT. Em contra partida, essa mesma resposta fica inibida após algumas horas de incubação com a PCT (42). Do mesmo modo, a expressão de indução da síntese de óxido nítrico (iNOS) em células do músculo liso vascular é inibida pela PCT em células nativas, mas aumentada em células pré-estimuladas (42).

Em modelos animais experimentais, a neutralização ou a injeção de PCT mostrou ter um impacto sobre a sobrevivência e a disfunção dos órgãos em pequenos roedores e suínos, mas a injeção de PCT em animais controle revelou não ter qualquer efeito (42). De forma hipotética, os efeitos da PCT supramencionados, podem contribuir para as diferentes respostas, a nível local e sistémico, da perfusão e inflamação dos tecidos observados em pacientes com sepsis (42).

6.1.1. Procalcitonina como biomarcador de diagnóstico de sepsis bacteriana

A PCT tem sido usada principalmente para o diagnóstico de reações inflamatórias sistémicas desencadeadas por infeções bacterianas. Em condições fisiológicas normais, ou seja, em indivíduos saudáveis, os níveis de PCT presentes no soro/plasma, apresentam-se geralmente baixos (menor que 0,1 µg/L) (3, 25, 31), podendo ainda aumentar até 1000 µg/L em doentes com sepsis, sepsis grave ou choque séptico (7).

Geralmente as concentrações de PCT que suplantem o valor de 0,5 µg/L, são interpretados como sendo valores anormais sugerindo um diagnóstico de sepsis (7, 42). Os valores de *cut-off* podem variar de estudo para estudo, oscilando

normalmente entre 0,2 a 5 µg/L (57). Porém, segundo a maioria dos estudos incluindo o da “*Thermo Fisher Scientific*” uma concentração inferior a 0,5 µg/L representa um reduzido risco de sepsis severa e/ou choque séptico (6, 7). No entanto, as concentrações inferiores a 0,5 µg/L não podem permitir excluir infecção, devido a algumas infecções localizadas que podem estar associadas a fracas concentrações ou devido a uma infecção sistémica recente (menos de 6 horas) (7). Em valores de PCT compreendidos entre 0,5 µg/L e 2 µg/L representam uma zona denominada “zona cinzenta” de incerteza no que diz respeito ao diagnóstico de sepsis, devendo ser interpretado tendo em conta sempre o contexto clínico do doente (7, 42). Nestes casos, é recomendado fazer a repetição da medição após as 6 e as 24 horas, até que se obtenha um diagnóstico mais específico (7). Perante níveis de PCT superiores a 2 µg/L, são altamente sugestivos a presença de processos infecciosos com consequências sistémicas (7, 42). Em relação a concentrações superiores a 10 µg/L, são predominantemente registadas em doentes com sepsis grave ou choque séptico (7).

A indução da PCT pode ser causada por diferentes estímulos, como já foi referido, tanto *in vitro* como *in vivo*. As endotoxinas bacterianas e as citocinas pró-inflamatórias são estímulos poderosos para a produção da PCT (7). Está documentado que em amostras de sangue a PCT demonstra ser estável, notando que à temperatura ambiente, mais de 80% das concentrações iniciais podem ser recuperadas após 24 horas de armazenamento e mais de 90% são recuperadas quando as mesmas são mantidas a uma temperatura de 4°C (7). A PCT no plasma tem um tempo de semivida normal à volta das 24 horas, em contra partida em doentes que sofrem de disfunção renal grave esse tempo aumenta para as 30-45 horas (7, 42).

É registado um aumento expressivo da PCT no plasma durante os casos de sepsis, mas há um maior significado durante os primeiros dias no caso de sepsis grave e choque séptico (7). Em doentes com sepsis não bacteriana, verifica-se níveis de PCT geralmente mais baixos (menor que 0,1 µg/L) (7). Porém, logo após um trauma múltiplo ou uma intervenção cirúrgica importante, em casos de

queimaduras graves ou em neonatos, pode ser verificado níveis de PCT aumentados, independentemente de um processo infeccioso (7).

O regresso aos valores iniciais, de um modo geral, é rápido e, nestes casos, um segundo aumento dos níveis de PCT pode ser interpretado como um desenvolvimento de um episódio de sepsis (7). No entanto, a presença de infeções virais; infeções localizadas; colonizações bacterianas; doenças alérgicas; doenças autoimunes e rejeição de transplantes não induzem normalmente uma resposta expressiva da PCT (concentrações menores que 0,5 µg/L) (7).

6.1.2. Limitações da PCT

Embora diversos estudos bibliográficos mencionem que a PCT é considerada, na atualidade, o biomarcador mais específico para o diagnóstico precoce de infeções bacterianas sistémicas, com utilidade para monitorizar o tratamento antibiótico (58), existem estudos que afirmam a existência de evidências que sugerem que as medições seriadas da PCT apresentam uma utilidade limitada, variando com o resultado e os *cut-off* utilizados para a sua interpretação. Assim como outros estudos sugerem a sua sensibilidade relativamente baixa para infeção sistémica e o seu papel como marcador incerto na avaliação diagnóstica dos pacientes (10, 58).

Estão ainda incluídas nas limitações da PCT resultados de falsos-positivos e falsos-negativos. Notando que a elevação inespecífica dos níveis de PCT, na ausência de uma infeção bacteriana, pode tipicamente ser visto em situações de elevado *stress* após trauma grave ou cirurgia (33, 57). Nessas situações, os valores de PCT são geralmente moderados e mostram um rápido declínio nas medições de monitorização posteriores (33, 57). Por outro lado, quando se verifica falsos-negativos, tipicamente vistos durante o início de infeções ou em infeções localizadas (por exemplo, empiema), muitas vezes evidenciam um aumento nas medições de monitorização posteriores. Nestes casos, os aumentos subtis de PCT podem apontar para uma infeção implícita.

Está também descrito na literatura o desaconselhamento do uso sistemático e rotineiro das medições da PCT para a avaliação e decisão da conduta a tomar para a terapia antibiótica inicial ou modificações da mesma, devendo ser complementada pelos testes laboratoriais apropriados e de referência (26, 58).

6.2. Proteína-C Reativa

A PCR é uma proteína de fase aguda sintetizada no fígado, depois de uma estimulação feita predominantemente pela citocina interleucina 6 (IL-6) entre outras citocinas (30), cuja concentração sérica demonstra um aumento significativo como consequência de uma resposta a uma infeção, após a ocorrência de uma agressão ao organismo (37, 56, 59). A PCR é frequentemente utilizada como elemento coadjuvante no diagnóstico de infeções e monitorização de doentes com sepsis (30, 37, 56). A sua concentração plasmática verifica-se, normalmente, com níveis abaixo dos 10mg/L (60). Com o decorrer da infeção, a PCR revela ter efeitos pró-inflamatórios e anti-inflamatórios, pois a mesma não só intervém na eliminação dos microrganismos patogénicos, mas também inibe a interação entre as células endoteliais e os leucócitos (30).

A sua secreção é iniciada entre as 4-6 horas após a estimulação, até se verificar o pico aproximadamente às 48 horas, após este período de tempo ocorre um decréscimo no nível de PCR no caso de se verificar o sucesso da terapia antibiótica aplicada, tendo um tempo de semivida pelas 19 horas, aproximadamente (30, 54). Cirurgias; queimaduras; enfartes agudos do miocárdio; doenças reumáticas; traumas; inflamações e infeções bacterianas também podem contribuir para um rápido aumento, em horas, dos níveis de PCR (3). Uma vez que a IL-6 é o principal mediador de resposta da fase aguda, muitas das condições clínicas para além da inflamação podem causar uma elevação da PCR (9).

6.3. Leucócitos (WBC) e contagem diferencial

Segundo Barbosa, *et al* (61), um aumento da contagem de WBC ($>11,0 \times 10^9$ cél./L) é, frequentemente, interpretada como uma evidência de infeção. Contudo,

a leucocitose não é um indicador específico ou sensível da mesma. O número de WBC pode aumentar após hemorragia gastrointestinal; transfusão sanguínea; cirurgia ou uso de corticosteroides (61). Além disso, algumas doenças infecciosas evoluem sem leucocitose tal como tuberculose; febre tifoide e outras (61). Neste sentido, o valor diagnóstico da leucocitose para sepsis é limitado. Contudo, assim como as alterações na temperatura corporal, estes parâmetros são facilmente mensuráveis e continuam fundamentais na monitorização da sepsis (61).

Pelo que foi exposto anteriormente constata-se que o papel dos vários biomarcadores no diagnóstico precoce de sepsis não está ainda completamente esclarecido, existindo resultados, na bibliografia existente, que levantam contradições. A PCT é sem dúvida uns dos mais estudados, mas a necessidade de haver mais estudos é fundamental para se ter cada vez mais informações acerca da mesma, nomeadamente, saber qual a sua função, quais os seus efeitos e como intervém no organismo na presença de sepsis.

Neste sentido, a PCT ao ser objeto de diversas investigações, na maioria favoráveis para o diagnóstico precoce de sepsis, surgiu o interesse de realizar este estudo, contribuindo também para responder e verificar, numa dada amostra, os benefícios do uso da PCT como biomarcador de sepsis.

II. Objetivos

O presente estudo teve como principal objetivo a associação entre os valores dos biomarcadores PCT, PCR, WBC e o diagnóstico de Sepsis, numa série de doentes internados entre 2012 e 2013 na UCI do Instituto Português de Oncologia do Porto Francisco Gentil. Para tal, foi necessário realizar os seguintes objetivos:

- ✓ Analisar os resultados de PCT, PCR e WBC na série de doentes em estudo;
- ✓ Estudar a associação entre os valores destes biomarcadores com os resultados microbiológicos, nomeadamente com as hemoculturas;
- ✓ Avaliar a sensibilidade e especificidade dos valores *cut off* de PCT, PCR e WBC, adotados pela Instituição, para a condição de sepsis;

III. Métodos

Trata-se de um estudo retrospectivo, em que a recolha dos dados (género; idade; diagnóstico; TMO; internamentos médico e cirúrgico) teve origem na base de dados disponibilizada pelo Serviço de UCI do Instituto Português de Oncologia do Porto Francisco Gentil (IPOPFG), referente a doentes internados no período entre Janeiro de 2012 e Dezembro de 2013. Por outro lado, todos os dados bioquímicos e microbiológicos foram pesquisados e recolhidos através da consulta do processo clínico de cada paciente fazendo uso da plataforma informática da Instituição, adotada para esse efeito.

Foram incluídos 273 pacientes oncológicos com idades entre os 11 e 89 anos, internados na UCI, com diagnóstico de sepsis ou SIRS. Destes, 28 pacientes tinham sido submetidos a transplante de medula óssea (TMO), constituindo um grupo com características particulares, pelo que a sua análise foi realizada separadamente da restante amostra.

Para a realização deste trabalho, foram recolhidas concentrações de PCT, PCR e WBC avaliadas em amostras de sangue dos pacientes e os resultados das culturas microbiológicas dos seguintes produtos: hemoculturas; líquidos; zaragatoas; urinas; expetorações; secreções brônquicas. Os resultados de cada paciente foram recolhidos tendo em conta o primeiro dia de admissão na UCI, ou seja, tanto as concentrações dos biomarcadores como os resultados microbiológicos pertencem ao mesmo dia.

1. Critérios de Diagnóstico

Os pacientes incluídos neste estudo apresentaram como diagnóstico de sepsis ou SIRS, de acordo com os critérios e definições do “*The Surviving Sepsis Campaign (SSC) Guidelines Committee*”(14).

2. Critérios de Exclusão

Após a pesquisa e análise dos processos clínicos dos pacientes, verificou-se que nem todos apresentavam registos dos exames bioquímicos para a PCT. Como tal, todos os pacientes sem registo de análises de PCT foram excluídos da amostra.

3. Colheita das Amostras

No decorrer do processo de internamento os pacientes admitidos na UCI, foram colhidas amostras em sangue total com EDTA, no caso de hemograma para contagem dos WBC; bem como em soro para fins bioquímicos e serológicos no caso da PCT e PCR. Posteriormente estas amostras foram analisadas pelos Serviços de Química Clínica e de Hematologia Laboratorial, de acordo com os protocolos da Instituição. No mesmo dia, foram colhidas amostras dos produtos microbiológicos com importância clínica para o diagnóstico, seguindo os protocolos para cada tipo de produto.

4. Determinação da PCT

As medições quantitativas de PCT foram determinadas por um imunoensaio de eletroquimioluminescência (*Elecsys BRAHMS PCT*, Roche Diagnósticos) que utiliza 30 μ L de soro. Além das amostras dos pacientes, os calibradores e controlos são tratados de acordo com o protocolo do fabricante. O limite inferior de deteção deste teste é de 0,02ng/mL e o seu valor de limite superior de deteção é de 100ng/mL.

Este teste tem como princípio a técnica de *sandwich* com uma duração total de 18 minutos (Figura 5) (62). Neste âmbito, a cuvette com a amostra de soro, passa por duas incubações: a primeira é constituída pelo antigénio presente na amostra, um anticorpo monoclonal biotilado específico de PCT e um anticorpo monoclonal específico de PCT marcado com um complexo de ruténio, que reagem entre si e formam um complexo *sandwich* (62). Em relação à segunda incubação o complexo formado liga-se à fase sólida, após a adição prévia de

micropartículas revestidas com streptavidina, pela interação da biotina e da streptavidina (62). Posteriormente, a mistura da reação é aspirada para a célula de leitura onde as micropartículas são afixadas magneticamente à superfície do eletrodo (62). Os elementos não ligados são então removidos com ProCell/ProCell M. A aplicação de uma corrente elétrica no eletrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador (62).



Figura 5 – Princípio do ensaio de electroquimioluminescência da PCT [adaptado de (62)].

Os resultados são determinados com base numa curva de calibração gerada especificamente pelo analisador, através de uma calibração de dois pontos, e uma curva principal incluída no código de barras do reagente.

5. Determinação da PCR

As medições quantitativas de PCR foram determinadas por um ensaio imunoturbidimétrico (*Beckman Coulter*). Este teste apresenta uma linearidade dentro das faixas de concentração de 0,2-480mg/L para uma aplicação normal. A sua sensibilidade, dependendo do modelo do aparelho, varia entre 0,09-0,14mg/L. O princípio do teste é composto pela mistura da amostra com dois reagentes, em que a PCR reage especificamente com anticorpos PCR anti-humano revestidos nas partículas de látex para produzir agregados insolúveis. A absorvância destes agregados é proporcional à concentração da PCR na amostra.

6. Determinação da contagem de WBC

A contagem absoluta de leucócitos presentes no sangue periférico foi realizada através do método de citometria de fluxo (*Sysmex XN-9000*)(63). Este é utilizado para analisar todas as células e partículas que passem pela câmara de fluxo,

com orifício extremamente pequeno. O sangue é aspirado e medido, diluído à razão especificada e por fim corado (63).

Neste sentido, um laser semiconductor (diodo laser), de comprimento de onda de 633nm, é emitido para as células do sangue que atravessam a célula de fluxo (63). A luz emitida tanto por um feixe frontal (fotodiodo Avalanche) como por um feixe lateral (fotodiodo) é convertida seguidamente em impulsos elétricos, o que torna possível obter informações das células sanguíneas (Figura 6) (63).

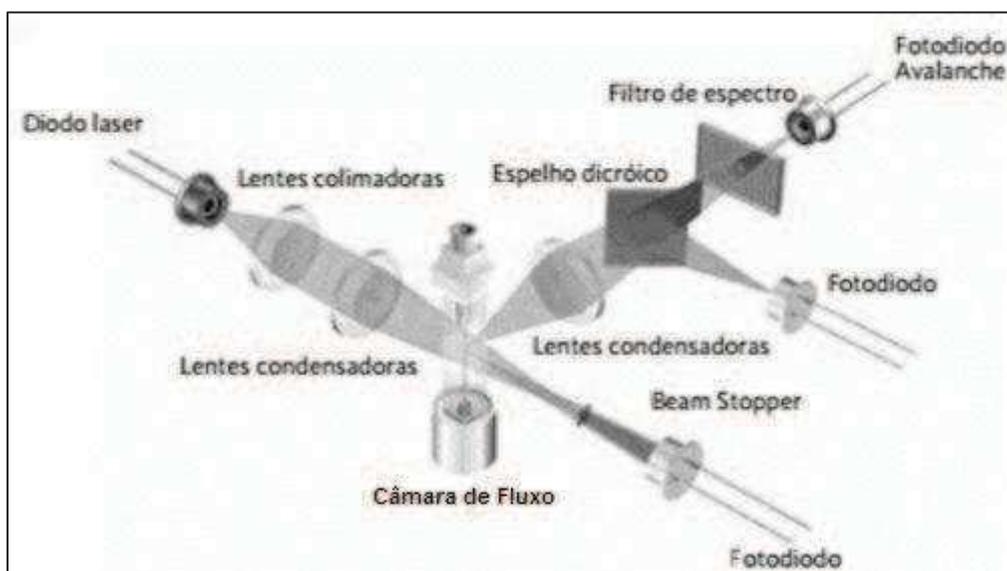


Figura 6: Determinação dos WBC pelo método de análise de Citometria de Fluxo [adaptado de (63)].

Com interesse particular neste estudo e falando propriamente no canal específico para a contagem dos WBC, a fluorescência lateral avalia o conteúdo de material nucleico para identificação e quantificação dos leucócitos, sendo também medido o tamanho da célula pelo desvio frontal da luz.

7. Análise Estatística

Todos os resultados dos diversos parâmetros em estudo foram obtidos da base de dados armazenada em *Excel* (versão de 2013) e posteriormente analisados estatisticamente recorrendo ao programa da *IBM SPSS Statistics* versão 21.

Na análise das variáveis contínuas em estudo, a idade foi apresentada não só com a mediana (mínimo e máximo) mas também com a média \pm desvio padrão. Em relação aos valores de PCT, PCR e WBC, foram apresentados apenas com a mediana (mínimo e máximo) pelo facto de não revelarem uma distribuição normal.

Relativamente às variáveis categorizadas, a sua associação foi avaliada recorrendo ao teste de Qui-Quadrado.

Com o objetivo de avaliar a sensibilidade e especificidade dos diferentes valores *cut off* de PCT, PCR e WBC para a condição de sepsis, recorreu-se ao estudo das curvas ROC e teste de *Mann-Whitney* para as amostras independentes.

Para cada um dos testes o valor de $p < 0,05$ foi considerado indicador de significância estatística.

IV. Resultados

Como se verifica pela Tabela 1, no total de 273 casos estudados, a idade variou entre 11 e 89 anos (média 56,76 anos, com desvio padrão de 17,15 anos e mediana de 61 anos). Cento e sessenta e oito (61,5%) pacientes eram do género masculino, em contrapartida, 105 (38,5%) pacientes pertenciam ao género feminino.

Em relação ao tipo de diagnóstico, 224 (82,1%) foram diagnosticados com sepsis e os restantes 49 (17,9%) com SIRS. Por outro lado, do total da amostra, 179 (65,6%) pacientes eram provenientes do internamento médico e 94 (34,4%) por internamento cirúrgico. Dos 179 pacientes com internamento médico, 165 (92,2%) apresentaram diagnóstico de sepsis e 14 (7,8%) diagnóstico de SIRS. Em relação ao internamento cirúrgico, dos 94 pacientes, 59 (62,8%) estavam indicados como tendo um diagnóstico de sepsis e 35 (37,2%), diagnóstico de SIRS.

Em relação à realização de transplante de células progenitoras hematopoiéticas, dos 273 pacientes apenas 28 (10,3%) foram submetidos a transplante de medula óssea (TMO).

Relativamente aos exames microbiológicos, foram realizadas análises durante o período de internamento em 91,9% (n=251) dos casos.

Tabela 1 – Características da população estudada (273 pacientes incluídos no estudo)

Variáveis	n	%	Média/DP	Mediana/Min-Max
Idade (anos)	-	-	58,76/17,15	61/11-89
Género (n=273)				
-Masculino	168	61,5	-	-
-Feminino	105	38,5	-	-
Diagnóstico (n=273)				
-Sepsis	224	82,1	-	-
-SIRS	49	17,9	-	-
Internamento Médico (n=179)*				
Diagnóstico - Sepsis	165	92,2	-	-
- SIRS	14	7,8	-	-
Internamento Cirúrgico (n=94)*				
Diagnóstico - Sepsis	59	62,8	-	-
- SIRS	35	37,2	-	-
EM (n=251)**				
-Positivo	151	60,2	-	-
-Negativo	100	39,8	-	-
TMO (n=273)				
-Sim	28	10,3	-	-
-Não	245	89,7	-	-

DP = Desvio Padrão; EM = Exame Microbiológico; SIRS = Síndrome de Resposta Inflamatória Sistêmica; TMO = Transplante de medula óssea; * Cada paciente está relacionado apenas com um tipo de internamento; ** Nem todos os pacientes apresentavam exames microbiológicos.

1. Doentes não transplantados com exame microbiológico

Conforme referido anteriormente, todo o tratamento estatístico seguinte não inclui os 28 pacientes submetidos a TMO nem os pacientes que não apresentavam exames microbiológicos, indicados na Tabela 1, ou seja, serão analisados 225 pacientes.

Relativamente a este grupo de 225 pacientes, são apresentadas na Tabela 2 os resultados dos exames microbiológicos realizados nos 190 casos com Sepsis. Em relação às hemoculturas, exame de sangue de referência em casos de infeção, verifica-se que, apesar deste diagnóstico, mais de metade dos casos (60,1%) apresentaram um resultado negativo.

Tabela 2 – Produtos microbiológicos nos pacientes com Sepsis (n=190)

	n	%
Hemoculturas (n=168)		
-Positivo	67	39,9
-Negativo	101	60,1
Expetorações (n=23)		
-Positivo	11	47,8
-Negativo	12	52,2
Urina (n=132)		
-Positivo	18	13,6
-Negativo	114	86,4
Zaragatoas (n=39)		
-Positivo	21	53,8
-Negativo	18	46,2
Secreções Brônquicas (n=110)		
-Positivo	62	56,4
-Negativo	48	43,6
Líquidos (n=61)		
-Positivo	28	45,9
-Negativo	33	54,1

Considerando o conjunto dos diferentes produtos microbiológicos nos pacientes com Sepsis, foram observados resultados positivos em 138 (61,3%). A Tabela 3 apresenta os diversos agentes microbiológicos isolados nestes 138 casos, agrupados tendo em conta a classificação de Gram e a espécie e/ou família de cada microrganismo. Pode-se observar que o grupo com maior incidência foi o das bactérias Gram-negativas, sendo que, 48,6% dos casos estão relacionados com *Enterobacteriaceae spp.* e 19,6% casos indicativos de bactérias não *Enterobacteriaceae*. Das bactérias Gram-positivas as *Staphylococcus spp.* demonstraram predominância com 20,3% de casos registados. Em relação aos fungos, foram registados 5,1% de casos com cultura microbiológica positiva.

Tabela 3 – Grupos microbiológicos identificados nos pacientes com Sepsis

	n	%
Grupos Microbiológicos		
GN <i>Enterobacteriaceae spp.</i>	67	48,6
GN Não <i>Enterobacteriaceae spp.</i>	27	19,6
GP <i>Staphylococcus spp.</i>	28	20,3
GP <i>Streptococcus spp.</i>	5	3,6
GP <i>Enterococcus spp.</i>	4	2,9
Fungos	7	5,1
Total	138*	100

GN – Gram negativo; GP – Gram positivo; * Número total de casos com Sepsis e exame microbiológico positivo.

1.1. Biomarcadores: PCT, PCR e WBC

Foram avaliadas as concentrações dos biomarcadores (PCT, PCR e WBC) de acordo com cada diagnóstico presente na Tabela 4. Perante o diagnóstico de sepsis verificou-se um aumento das concentrações de todos os biomarcadores, no entanto essa diferença foi mais notória no caso da PCT.

Tabela 4 – Concentrações de PCT, PCR e WBC em função do diagnóstico

	SIRS (n=35)	Sepsis (n=190)
	Mediana (min-máx)	
PCT (ng/mL)	0,35 (0,04-18,70)	3,85 (0,02-100)
PCR (mg/L)	140,80 (4,60-259,70)	181,05 (10,00-494)
WBC (células/L)	8,25 (0,25-143,15)	10,47 (0,01-56,33)

SIRS = Síndrome de Resposta Inflamatória Sistémica; PCT = Procalcitonina; PCR = Proteína-C reativa; WBC = *White blood cells* (Leucócitos).

De forma a avaliar se estas variações das medianas, em função do diagnóstico, tiveram significado estatístico, categorizou-se cada um dos biomarcadores de acordo com os *cut off* adotados nesta Instituição (Tabela 5). No caso da PCT observou-se uma associação estatisticamente muito significativa ($p < 0,001$) entre esta variável e o diagnóstico de sepsis: 96,0% dos casos com PCT alta apresentavam sepsis.

Em relação à PCR, apesar das diferenças serem menores, os resultados foram igualmente significativos ($p = 0,020$): todos os casos com PCR baixa apresentaram SIRS.

Relativamente à contagem dos WBC, apesar do seu valor de p , não foi valorizada esta associação estatística, uma vez que ambas as contagens de WBC baixos e altos registaram valores superiores a 90,0%.

Tabela 5 – Associação da PCT, PCR e WBC e o diagnóstico de Sepsis

	<i>Cut off</i> *	Diagnóstico (n=225)		p
		SIRS (n=35)	Sepsis (n=190)	
PCT (ng/mL)	Baixa (<0,5)	35,7%	64,3%	<0,001
	Indeterminada (0,5-2,0)	23,3%	76,7%	
	Alta (>2,0)	4,0%	96,0%	
PCR (mg/L)	Baixa (<5,0)	100%	0,0%	0,020
	Alta (>5,0)	15,2%	84,8%	
WBC (células/L)	Baixa (<4,0x10 ⁹)	4,8%	95,2%	<0,001
	Indeterminada (4,0x10 ⁹ -11,0x10 ⁹)	27,7%	72,3%	
	Alta (>11,0x10 ⁹)	10,0%	90,0%	

PCT = Procalcitonina; PCR = Proteína-C reativa, WBC = *White blood cells* (Leucócitos); SIRS = Síndrome de Resposta Inflamatória Sistémica; * *Cut off* adotado pela própria instituição.

De seguida procurou-se estudar a relação entre estes biomarcadores e o tipo de agente microbiológico encontrado nos casos com sepsis (Tabela 6). Não se observaram diferenças estatisticamente significativas no caso da PCT ($p = 0,450$)

e WBC ($p=0,621$). No entanto, foi possível aferir, que 68,7% dos pacientes com PCT alta corresponderam a casos com infeções por bactérias Gram negativas. Em relação à PCR, não foi possível estudar esta associação pelo facto de não se terem observado casos de sepsis com valores baixos de PCR.

Tabela 6 – Associação da PCT, PCR e WBC com os grupos microbiológicos (pacientes com Sepsis)

	<i>Cut off</i> *	Grupo Microbiológico (n=138)*					Fung (n=4)	p
		GN Entero (n=67)	GN NEntero (n=27)	GP Staphy (n=28)	GP Strep (n=5)	GP Enteroc (n=4)		
PCT (ng/mL)	Baixa ($<0,5$)	46,4%	28,6%	21,4%	3,6%	0,0%	0,0%	0,450
	Ind. ($0,5-2,0$)	41,7%	25,0%	25,0%	0,0%	8,3%	0,0%	
	Alta ($>2,0$)	53,0%	15,7%	19,3%	4,8%	2,4%	4,8%	
PCR (mg/L)	Baixa ($<5,0$)	-	-	-	-	-	-	-
	Alta ($>5,0$)	49,6%	20,0%	20,7%	3,7%	3,0%	3,0%	
WBC (Células /L)	Baixa ($<4,0 \times 10^9$)	60,7%	17,9%	21,4%	0,0%	0,0%	0,0%	0,621
	Ind. ($4,0 \times 10^9 - 11,0 \times 10^9$)	47,5%	17,5%	20,0%	5,0%	2,5%	7,5%	
	Alta ($>11,0 \times 10^9$)	46,3%	22,4%	20,9%	4,5%	4,5%	1,5%	

PCT = Procalcitonina; PCR = Proteína-C reativa, WBC = *White blood cells* (Leucócitos); Ind. = Indeterminada; * *Cut off* adotado pela própria instituição; GN Entero = Gram negativo *Enterobacteriaceae*; GN NEntero = Gram negativo não *Enterobacteriaceae*; GP Staphy = Gram positivo *Staphylococcus*; GP Strep = Gram positivo *Streptococcus*; GP Enteroc = Gram positivo *Enterococcus*; Fung = Fungos; * Número total de casos provenientes dos pacientes com exame microbiológico positivo e diagnóstico de sepsis.

De acordo com a Tabela 7, fez-se a associação entre a PCT e os resultados das hemoculturas (n=168) para o diagnóstico de sepsis. Constatou-se que os dois testes discordam em cerca de metade dos casos. De realçar que, nos casos com PCT alta, 57,3% revelaram hemoculturas negativas apesar do diagnóstico de sepsis.

Tabela 7 – Associação da PCT com os resultados das hemoculturas (pacientes com Sepsis)

	<i>Cut off</i> *	Hemoculturas (n=168)**		p
		N (n=101)	P (n=67)	
PCT (ng/mL)	Baixa (<0,5)	58,6%	41,4%	0,328
	Indeterminada (0,5-2,0)	72,4%	27,6%	
	Alta (>2,0)	57,3%	42,7%	

PCT = Procalcitonina; N = Negativo; P = Positivo; * *Cut off* adotado pela própria instituição; ** Número total de casos provenientes dos pacientes resultados de hemoculturas relacionadas com o diagnóstico de sepsis.

A necessidade de estudar a sensibilidade e especificidade dos *cut off* adotados pela Instituição e procurar outro que reunisse e perspetivasse melhores valores de sensibilidade/especificidade, para esta população específica (doentes oncológicos) e na condição de sepsis, fez-se a análise das curvas ROC utilizando como grupo controlo os pacientes com diagnóstico de SIRS. Assim, a partir do Gráfico 1, fez-se a análise da sensibilidade e especificidade de cada um dos biomarcadores em estudo, considerando um resultado significativo para uma área abaixo da curva (AUC) superior a 0,70. Neste sentido, com uma AUC significativa de 0,788, a PCT baixa apresentou uma sensibilidade e especificidade de 0,811 e 0,543 respetivamente, para PCT alta uma sensibilidade de 0,632 e uma especificidade de 0,853 (Anexos). Por outro lado, relativamente à PCR, foi registado um desempenho não satisfatório com uma AUC=0,644, tendo uma sensibilidade de 1,0 e uma especificidade de 0,029 para a PCR baixa (Anexos). Em relação à PCR alta foi obtida uma sensibilidade de 1,0 e uma especificidade de 0,057 (Anexos). Na análise dos WBC obteve-se um desempenho insatisfatório, com uma AUC=0,542, verificando-se que para a contagem de WBC baixa correspondia uma sensibilidade de 0,789 e uma especificidade de 0,057, por outro lado em relação à contagem de WBC alta obteve-se uma sensibilidade de 0,474 e uma especificidade de 0,714 (Anexos).

Relativamente à PCT, da análise da distribuição dos seus valores, entre os casos de sepsis e SIRS (Gráfico 2), observou-se resultados estatisticamente significativos ($p < 0.001$), sendo demonstrado que todos os resultados com valores de PCT acima de 19ng/mL correspondiam ao diagnóstico de sepsis, ou seja, uma especificidade de 1,0. De referir, no entanto, que para este valor correspondeu um valor de sensibilidade de 0,226 (Anexos).

Gráfico 1 – Curvas ROC relativas às concentrações de PCT, PCR e WBC para o diagnóstico Sepsis

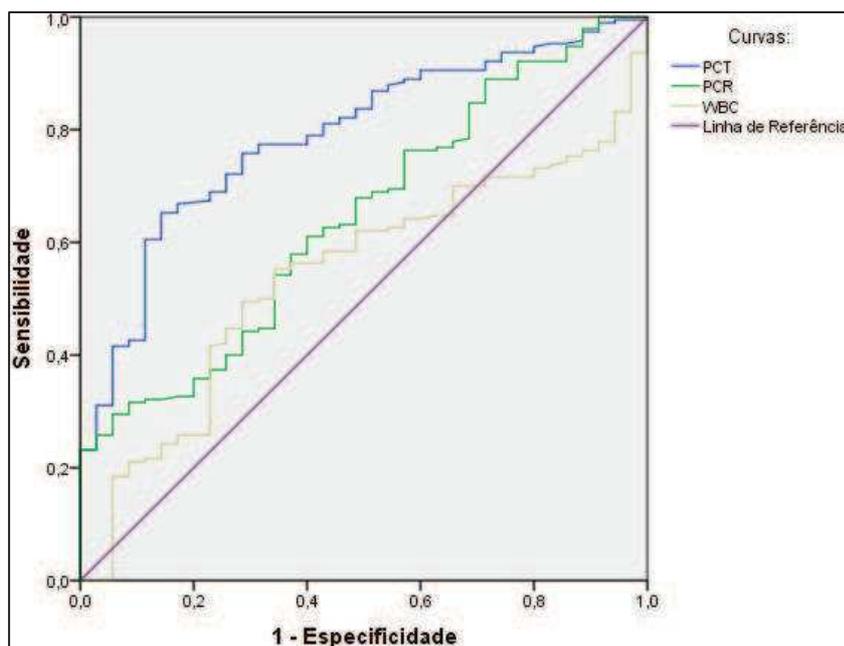
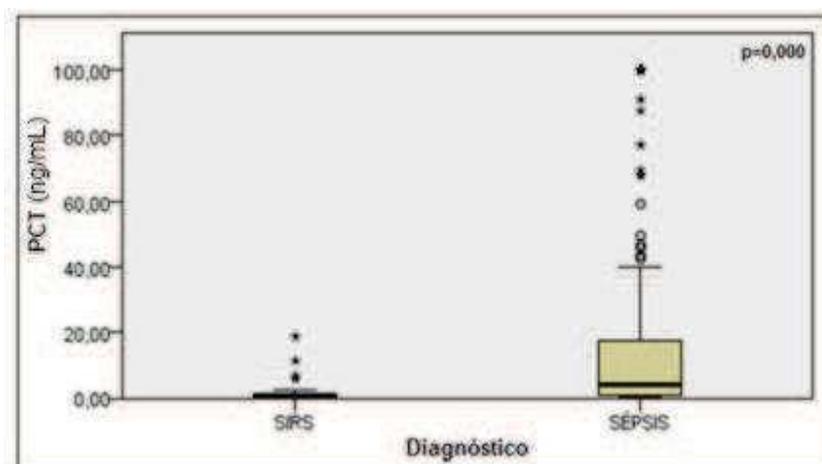


Gráfico 1 – PCT = Procalcitonina (AUC = 0,788); PCR = Proteína-C reativa (AUC = 0,644); WBC = *White blood cells* (Leucócitos) (AUC = 0,542).

Gráfico 2 – Distribuição dos valores de concentração da PCT, nos casos com Sepsis e SIRS



PCT = Procalcitonina; SIRS = Síndrome de Resposta Inflamatória Sistémica; p = nível descritivo de probabilidade do teste não paramétrico de Mann-Whitney.

Categorizando a PCT com este valor de 19ng/mL (Tabela 8), verificou-se, efectivamente, um valor máximo de especificidade para sepsis, ou seja, todos os pacientes com PCT alta tinham sepsis ($p=0,002$). No entanto, pelo valor muito baixo de sensibilidade associado, este valor *cut off* apenas permite afirmar ou confirmar que se está perante um evento de sepsis.

Tabela 8 – Associação da PCT e o diagnóstico, recorrendo a *cut off* 19

	<i>Cut off</i> 19*	Diagnóstico (n=225)		P
		SIRS (n=35)	Sepsis (n=190)	
PCT (ng/mL)	Baixa (<19)	19,2%	80,8%	0,002
	Alta (>19)	0,0%	100%	

PCT = Procalcitonina; SIRS = Síndrome de Resposta Inflamatória Sistémica; * *Cut off* encontrado após estudo estatístico das curvas ROC.

Em seguida procurou-se avaliar a associação da PCT, utilizando este *cut off* 19, com os vários grupos microbiológicos (Tabela 9). Foi possível observar que, apesar da associação continuar a não ser estatisticamente significativa ($p=0,069$), a frequência de bactérias Gram-negativa nos casos de PCT alta aumentou: 80,7% dos casos estavam infetados com bactérias Gram-negativas e 71% corresponderam a *Enterobacteriaceae*, sugerindo uma predominância das mesmas em casos de sepsis.

Tabela 9 – Associação da PCT com os grupos microbiológicos, em função do diagnóstico de Sepsis

	<i>Cut off</i> 19*	Grupo Microbiológico (n=138)**						p
		GN Entero (n=67)	GN NEntero (n=27)	GP Staphy (n=28)	GP Strep (n=5)	GP Enteroc (n=4)	Fung. (n=4)	
PCT (ng/mL)	Baixa (<19)	43,3%	23,1%	23,1%	2,9%	3,8%	3,8%	0,069
	Alta (>19)	71,0%	9,7%	12,9%	6,5%	0,0%	0,0%	

PCT = Procalcitonina; * *Cut off* utilizado após estudo estatístico das curvas ROC; GN Entero = Gram negativo *Enterobacteriaceae*; GN NEntero = Gram negativo não *Enterobacteriaceae*; GP Staphy = Gram positivo *Staphylococcus*; GP Strep = Gram positivo *Streptococcus*; GP Enteroc = Gram positivo *Enterococcus*; Fung. = Fungos; ** Número total de casos provenientes dos pacientes com exame microbiológico positivo e diagnóstico de sepsis.

2. Pacientes transplantados

Como se verifica na Tabela 10, num total de 28 pacientes sujeitos a TMO admitidos na UCI, a idade variou entre 13 e 66 anos (média 42,93 anos, com desvio padrão de 12,37 anos e mediana de 44 anos). Catorze (50,0%) pacientes eram do género masculino. Em relação ao tipo de diagnóstico, todos os casos apresentavam sépsis.

Relativamente aos exames microbiológicos, 26 (92,86%) pacientes apresentaram registos de culturas microbiológicas durante o período de internamento na UCI. Destes, 13 (50%) obtiveram resultados positivos.

Tabela 10 – Características da população estudada (28 pacientes submetidos a TMO)

Variáveis	n	%	Média/DP	Mediana/Min-Máx
Idade (anos)	-	-	42,93/12,37	44/13-66
Género (n=28)				
-Masculino	14	50,0	-	-
-Feminino	14	50,0	-	-
Diagnóstico (n=28)				
-Sépsis	28	100,0	-	-
-SIRS	0	0,0	-	-
EM (n=26)**				
-Positivo	13	50,0	-	-
-Negativo	13	50,0	-	-
Internamento Médico (n=28)*				
Diagnóstico -Sépsis	28	100,0	-	-
-SIRS	0	0,0	-	-

DP = Desvio Padrão; EM = Exame Microbiológico; n = Frequências; SIRS = Síndrome de Resposta Inflamatória Sistémica; * Cada paciente está relacionado apenas com um tipo de internamento; ** Nem todos os pacientes apresentavam exames microbiológicos.

Atendendo ao reduzido número de casos sujeitos a TMO, não se avaliou a associação estatística entre as diferentes variáveis. Na Tabela 11 são apresentados os resultados das frequências dos biomarcadores relativamente aos 26 casos de transplantados com exames microbiológicos positivos e diagnóstico de sepsis. Poderá ser verificado que 57,7% dos pacientes revelaram uma PCT alta, todos os pacientes apresentaram PCR alta e 57,7% dos pacientes revelaram valores baixos de WBC.

Tabela 11 – Frequências dos biomarcadores dos pacientes transplantados
(n=26)

	Cut off *	n	%
PCT (ng/mL)	Baixa (<0,5)	4	15,4
	Indeterminada (0,5-2,0)	7	26,9
	Alta (>2,0)	15	57,7
PCR (mg/L)	Baixa (<5,0)	- **	- **
	Alta (>5,0)	26	100%
WBC (Células/L)	Baixo (<4,0x10 ⁹)	15	57,7
	Indeterminado (4,0x10 ⁹ -11,0x10 ⁹)	7	26,9
	Alto (>11,0x10 ⁹)	4	15,4

PCT = Procalcitonina; PCR = Proteína-C reativa, WBC = *White blood cells* (Leucócitos); * *Cut off* adotado pela própria instituição; ** Ausência de valores devido à inexistência de pacientes com PCR baixa.

Na Tabela 12, apresenta-se as frequências dos biomarcadores associadas a cada um dos grupos microbiológicos identificados, verificando-se uma distribuição muito heterogênea.

Tabela 12 – Frequências dos biomarcadores de acordo com os grupos microbiológicos

Cut off*	Grupo Microbiológico (n=13)**										
	GN Entero (n=3)		GN NEntero (n=2)		GP Staphy (n=6)		GP Enteroc (n=1)		Fung. (n=1)		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
PCT (ng/mL)	Baixa (<0,5)	1	33,3	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ind. (0,5-2,0)	1	33,3	0	0	1	16,7	0	0	1	100
	Alta (>2,0)	1	33,3	2	100	5	83,3	1	100	0	0
PCR (mg/L)	Baixa (<5,0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Alta (>5,0)	3	100	2	100	6	100	1	100	1	100
WBC (L)	Baixo (<4,0x10⁹)	2	66,7	1	50,0	3	50,0	1	100	1	100
	Ind. (4,0x10⁹-11,0x10⁹)	1	33,3	0	0	1	16,7	0	0	0	0
	Alto (>11,0x10⁹)	0	0	1	50,0	2	33,3	0	0	0	0

PCT = Procalcitonina; PCR = Proteína-C reativa, WBC = *White blood cells* (Leucócitos); Ind. = indeterminada * *Cut off* adotado pela própria instituição; ** Número total de pacientes transplantados com exame microbiológico positivo e diagnóstico de sepsis; GN Entero = Gram-negativa *Enterobacteriaceae*; GN NEntero = Gram-negativa não *Enterobacteriaceae*; GP Staphy = Gram-positiva *Staphylococcus*; GP Enteroc = Gram-positiva; *Enterococcus*; Fung. = Fungos.

V. Discussão

A sepsis é uma condição de risco de vida que surge quando, na consequência da resposta do próprio corpo a uma infeção, o mesmo agride os seus próprios tecidos e órgãos (29). Embora, ao longo dos anos, tenha havido avanços nos suportes de vida e na terapia antibiótica, a taxa de mortalidade dos pacientes com sepsis tem permanecido elevada a nível mundial (29, 41). O tratamento de pacientes em condição de sepsis requer um diagnóstico adequado e precoce. Marcadores laboratoriais sensíveis e específicos para diferenciar causas infecciosas de causas não infecciosas podem auxiliar não só num diagnóstico atempado e preciso mas também num uso apropriado de antibióticos e consequentemente levar à redução de custos (29). Por outro lado, o último guia da “*Infections Disease Society of America*” (IDSA), menciona que o potencial dos biomarcadores para o diagnóstico de infeções em pacientes com sepsis grave permanece indefinido (14). A utilidade dos níveis de PCT, e outros biomarcadores como a PCR, para discriminar o padrão inflamatório agudo de sepsis de outras causas de inflamação generalizada (por exemplo, pós-operatória, outras formas de choque) não foi ainda demonstrada (14). Decisões terapêuticas ainda são fundamentalmente baseadas na combinação de anamnese, exame físico e testes microbiológicos (14). Um marcador ideal é aquele que pode ser obtido facilmente através de espécimes clínicos antes do desenvolvimento de sepsis e não deve ser influenciado por citopenias ou estados inflamatórios associados à doença de base (64). No entanto, uma avaliação precisa dos pacientes com sintomas clínicos não evidentes é um desafio para os médicos (29).

O presente estudo avaliou os valores da PCT, PCR e WBC de pacientes oncológicos com diagnóstico de sepsis e SIRS, correlacionando-os com os resultados microbiológicos, nomeadamente hemoculturas. Por último, avalia ainda a sensibilidade e especificidade destes biomarcadores para a condição de sepsis. Apesar da população estudada ser heterogénea (internamentos médicos e cirúrgicos, transplantados e não transplantados), podemos inferir algumas observações a partir dos resultados, levando em consideração o número de pacientes (n=273) e o facto de o estudo ser retrospectivo com análise de dados

clínicos e laboratoriais retirados, em conjunto, de uma base de dados pré-existente.

A casuística avaliou 225 pacientes com exames microbiológicos, diagnóstico de sepsis e não transplantados. Destes, apenas 39,9% dos casos obtiveram hemoculturas positivas. Este resultado está de acordo com a literatura, onde esta afirma que em pacientes com sepsis só 30% a 50% apresentam hemoculturas positivas (65), podendo ser justificado pelos exames de hemoculturas estarem sujeitos a alterações devidas a diversos fatores, destacando-se a possibilidade de contaminação das amostras examinadas, acidentes operacionais durante o processamento e a utilização de antibióticos proporcionando o surgimento de novas estirpes bacterianas (65, 66). Será de referir também que a sensibilidade das hemoculturas pode ser afetada pela técnica de colheita, originando falsos-positivos ou falsos-negativos (47, 65, 66). Por outro lado, os agentes microbiológicos prevalentes nesta população foram bactérias Gram-negativas constituídas por *Enterobacteriaceae spp.* (48,6%) e não *Enterobacteriaceae spp.* (19,6%). Este resultado é coincidente com grande parte da bibliografia estudada, nomeadamente com o estudo EPIC II (28). Entre as causas de sepsis bacteriana os diagnósticos positivos confirmam, na maioria das vezes, bactérias Gram-negativas (60% dos casos) (11). O mecanismo para o facto de haver uma predominância de bactérias Gram-negativas responsáveis pela sepsis ainda não está definido, sabendo-se apenas que estas induzem uma maior resposta inflamatória do organismo comparando com a das bactérias Gram-positivas (41).

No estudo de Ratzinger, *et al* (67), foi demonstrado que tanto a PCR como a contagem de WBC apresentam uma fraca capacidade de identificar bacteriemias, ao contrário da PCT que tem provado ser um biomarcador promissor com capacidade de prever este tipo de infeções. No presente estudo, foi avaliado o contributo destes biomarcadores no diagnóstico da sepsis bacteriana utilizando os *cut off* da Instituição para os mesmos, obtendo-se resultados concordantes com os do autor mencionado anteriormente. A PCT foi capaz de identificar e distinguir precocemente sepsis de SIRS, apresentando valores estatisticamente bastante significativos ($p < 0,001$). Será importante salientar que, 96% dos pacientes com PCT alta ($> 2,0 \text{ ng/mL}$) correspondiam a

diagnóstico de sepsis. Em relação à PCR, apesar dos resultados não serem tão significativos, 84,8% dos pacientes com PCR alta (>5,0mg/L) apresentavam sepsis. No caso dos WBC, apesar do valor de p, a frequência de casos com sepsis demonstrou ser semelhante em ambas as categorias de WBC baixo e alto, ou seja, não permitiu diferenciar os diagnósticos. Este resultado poderá ser explicado pela amostra estudada ser constituída integralmente por doentes oncológicos que, devido à sua condição de clínica e aos tratamentos impostos, se apresentarem imunocomprometidos fazendo com que a contagem de leucócitos não corresponda ao esperado (3). Sung-Yeon, refere ainda que a imunossupressão é considerada como uma patogénese chave associada à mortalidade da sepsis e poderá levar a infeções secundárias causadas por patogénicos nosocomiais (3). A condição de imunossupressão na sepsis foi também identificada em estudos *post-mortem* de pacientes que faleceram com este quadro clínico (3).

Os três biomarcadores estudados não foram capazes de identificar precocemente qual o grupo microbiológico responsável pela sepsis, o que seria o ideal numa população de alto risco, quando decisões terapêuticas devem ser tomadas o mais rapidamente possível e estão dependentes dos resultados morosos das hemoculturas. Tal resultado está concordante com a literatura, onde esta afirma que os biomarcadores em estudo, principalmente a PCT, não detêm uma boa capacidade de diagnóstico para infeções locais, explicando o facto dos mesmos não identificarem os diferentes grupos microbiológicos (47). No entanto, apesar de neste estudo se ter observado valores estatisticamente não significativos, foi possível verificar que 68,7% dos pacientes com PCT alta (>2,0ng/mL) tiveram um diagnóstico microbiológico indicativo de bactérias Gram-negativas. Num estudo feito por Nakajima, *et al* (47), todos os valores elevados da PCT correspondiam a diagnósticos de bactérias Gram-negativas, demonstrando assim que a ascensão dos níveis de PCT está mais associado a infeções originadas por bactérias Gram-negativas do que bactérias Gram-positivas em pacientes com sepsis. A correlação entre os níveis altos de PCT e as bactérias Gram-negativas deve-se às estruturas que as mesmas têm, os lipopolissacarídeos, afetando a homeostasia da PCT (47), embora, como atrás referido, o mecanismo deste processo não seja totalmente conhecido.

De acordo com Sousa, *et al* (65), as hemoculturas têm um papel primordial no diagnóstico de sepsis, pois neste quadro clínico pode haver microrganismos a circular na corrente sanguínea de forma contínua ou intermitente. Por este motivo procurou-se associar o biomarcador de mais interesse para o estudo (PCT) com as hemoculturas dos pacientes com diagnóstico de sepsis, tendo como objetivo verificar se os valores da PCT eram coincidentes com os resultados das hemoculturas. Assim, constatou-se que os dois testes discordam em cerca de metade dos casos, salientando os casos com PCT alta, onde 57,3% dos pacientes revelaram hemoculturas negativas apesar do diagnóstico de sepsis. Os resultados obtidos neste estudo poderão estar relacionados com a baixa sensibilidade das hemoculturas, já supramencionado, devido a fatores inerentes à própria técnica de colheita das mesmas originarem falsos-positivos ou falsos-negativos repercutindo-se na correlação com os resultados da PCT (47, 65, 66). Ratzinger, *et al* (67) e Qu, *et al* (68), afirmam que a verdadeira taxa de resultados positivos em hemoculturas está classificada entre 5-10%, por outro lado, nas hemoculturas com resultados negativos não se exclui a possibilidade de infeções graves.

Na necessidade de avaliar a sensibilidade e especificidade dos *cut off* adotados pela Instituição para esta população específica (doentes oncológicos), na condição de sepsis, fez-se a análise das curvas ROC utilizando como grupo controlo os pacientes com diagnóstico de SIRS. A utilização deste grupo controlo deve-se ao facto da impossibilidade de estudar um grupo de indivíduos saudáveis, sendo uma das limitações deste estudo. Os dados adquiridos da análise das curvas ROC, revelam que a PCT foi a única que apresentou uma AUC superior a 0,70. Este resultado demonstrou uma boa sensibilidade e especificidade, tanto na PCT baixa como alta, levando a sugerir que este biomarcador é capaz de diferenciar sepsis de SIRS em pacientes oncológicos, possibilitando o diagnóstico precoce das patologias em estudo. De acordo com as afirmações de Lee (33), a PCT é útil não só para monitorizar infeções bacterianas mas também é de muita importância para diferenciar quadros clínicos de sepsis e SIRS. Relativamente à PCR, neste estudo demonstrou ter uma AUC não satisfatória, apesar de apresentar uma sensibilidade de 1,0, tanto

para a PCR baixa como para a PCR alta. No entanto, a sua especificidade demonstrou ser muito baixa para o diagnóstico de sepsis com valores de 0,028 e 0,058 para PCR baixa e alta respetivamente. Meidani, *et al* (69), afirma que a PCT é mais específica em comparação com a PCR, indo ao encontro dos resultados deste estudo. Num outro estudo, é mencionado que devido à cinética lenta por parte da PCR após o começo da infeção, a baixa sensibilidade descrita em algumas análises poderá ser a justificação para nestas se verificar uma menor sensibilidade, comparativamente com a sensibilidade da PCT (3). Após a análise dos WBC estes não mostraram ser de grande utilidade para o diagnóstico de sepsis, sendo obtida uma AUC de 0,542, ou seja, um resultado praticamente insatisfatório. Como causas destes resultados correspondentes à contagem de WBC sugere-se, devido à inexistência de suporte bibliográfico, o facto do grupo de pacientes envolvidos neste estudo serem doentes oncológicos provenientes da UCI, tal como já foi referido anteriormente, em condições bastante debilitantes cujos mecanismos normais de defesa contra infeções estão comprometidos, pacientes neutropénicos, tendo uma elevada carga antibiótica.

No presente estudo, procurou-se também encontrar um valor *cut off* de PCT, para o diagnóstico de sepsis, que perspetivasse uma melhor sensibilidade e especificidade em comparação com o da Instituição. Após a análise das curvas ROC, surgiu o interesse por um novo *cut off* baseado na concentração de 19ng/mL. Com este valor, verificou-se uma especificidade de 1,0, ou seja, todos os pacientes com a concentração de PCT acima de 19ng/mL tinham diagnóstico de sepsis. Ainda com este *cut off* a associação com as bactérias Gram-negativas aumentou, especialmente nas *Enterobacteriaceae*. Este resultado sugere mais uma vez o facto das bactérias Gram-negativas serem as principais responsáveis pelo aumento das concentrações de PCT no organismo, sustentado pela literatura já mencionada anteriormente. Destes resultados, foi possível concluir que este *cut off* 19 não só tem interesse na confirmação/afirmação dos casos de sepsis (todos os pacientes com PCT alta demonstraram ter sepsis) mas também na orientação para um resultado microbiológico, uma vez que 80,7% dos pacientes com PCT alta revelaram como causa de sepsis agentes microbiológicos Gram-negativos. No entanto, dado o valor baixo de sensibilidade associado, este valor *cut off* não tem valor clínico, servirá apenas como um

complemento no diagnóstico de sepsis. Em termos de sensibilidade/especificidade o *cut off* utilizado na Instituição revelou ser mais adequado para o diagnóstico de sepsis.

O grupo dos pacientes transplantados de medula óssea (n=28), com diagnóstico de sepsis, foi estatisticamente tratado isoladamente dos restantes pacientes pelas suas características particulares, sendo pacientes que estão numa condição pós-transplante, como consequência imunodeprimidos e com doses elevadas de antibióticos. Estes fatores podem alterar o comportamento dos biomarcadores, principalmente da PCT. Num estudo feito por Lee (33), estas limitações da PCT são descritas, afirmando que as elevações inespecíficas dos níveis da mesma, na ausência de infeção bacteriana, podem ocorrer em situações de elevado *stress*, assim como em traumas severos e cirurgias ou até mesmo em pacientes que sofreram choques cardíacos. Também está descrito na literatura que algumas doenças autoimunes estão igualmente associadas com níveis elevados de PCT (33). Por outro lado, devido à existência de um número reduzido de indivíduos transplantados, fez-se apenas o estudo das frequências dos biomarcadores e das mesmas para os grupos microbiológicos. Assim, após essa análise nos 26 pacientes transplantados, com exame microbiológico e diagnóstico de sepsis, verificou-se que 57,7% dos pacientes revelaram uma PCT alta, todos os pacientes apresentaram PCR alta e 57,7% dos pacientes revelaram valores baixos de WBC. Em relação à análise das frequências dos biomarcadores relacionadas com os grupos microbiológicos, o grupo de pacientes (n=13) demonstrou ser muito reduzido para ter valor estatístico.

VI. Conclusão

A análise dos resultados observados no presente estudo permitem tirar as seguintes conclusões:

- ✓ Utilizando os valores *cut off* da Instituição, a PCT e a PCR revelaram uma associação com o diagnóstico precoce de sepsis na série estudada de pacientes oncológicos e não sujeitos a TMO. A contagem de WBC revelou não ser uma mais valia para este diagnóstico.
- ✓ Nos doentes com sepsis, não se observou uma associação estatisticamente significativa entre os biomarcadores e o agente microbiológico. No entanto, e no caso da PCT, registou-se um ligeiro aumento das bactérias Gram-negativas nos casos com PCT alta.
- ✓ Relativamente aos produtos microbiológicos e em particular às hemoculturas, verificou-se que mais de metade dos casos com PCT alta revelaram hemoculturas negativas apesar do diagnóstico de sepsis.
- ✓ A análise da sensibilidade e especificidade pelas curvas ROC revelou que a PCT foi o único biomarcador com um desempenho satisfatório (AUC de 0,788). O valor *cut off* em uso nesta Instituição para esta variável, revelou para a PCT baixa uma sensibilidade e especificidade de 0,811 e 0,543 respetivamente, e para PCT alta uma sensibilidade e especificidade de 0,632 e 0,853, respetivamente.
- ✓ A tentativa de encontrar um *cut off* com uma melhor sensibilidade e especificidade, comparativamente com o da Instituição, não se verificou possível. No entanto, o *cut off* da PCT (19ng/mL), encontrado neste estudo, revelou ser um coadjuvante no diagnóstico de sepsis e orientar de uma forma mais precisa qual o agente etiológico causador desta infeção: todos os pacientes com concentrações de PCT acima deste valor apresentaram o diagnóstico de sepsis e, na sua grande maioria (80,7%),

estavam associados a infecções por bactérias Gram-negativas, especialmente, *Enterobacteriaceae*.

- ✓ Será importante mencionar que mais estudos, sobretudo prospectivos, são de grande necessidade para melhor definir a utilidade da PCT na identificação precoce de sepsis, repercutindo-se posteriormente numa melhor orientação do uso racional de antibióticos.

VII. Referências Bibliográficas

1. Cohen J, Opal SM, Powderly WG. Sepsis. In: Elsevier, editor. Infectious Diseases. 3 ed2010. p. 478-91.
2. Hur M, Kim H, Lee S, Cristofano F, Magrini L, Marino R, et al. Diagnostic and prognostic utilities of multimarkers approach using procalcitonin, B-type natriuretic peptide, and neutrophil gelatinase-associated lipocalin in critically ill patients with suspected sepsis. BMC infectious diseases. 2014;14:224.
3. Cho SY, Choi JH. Biomarkers of sepsis. Infection & chemotherapy. 2014;46(1):1-12.
4. Sun D, Aikawa N. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome and the evaluation of SIRS criteria as a predictor of severity in patients hospitalized through emergency services. The Keio journal of medicine. 1999;48(1):28-37.
5. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook of Diagnostic Microbiology. 5 ed2015. 1098 p.
6. Kaur K, Mahajan R, Tanwar A. A novel marker procalcitonin may help stem the antibiotic overuse in emergency setting. International journal of applied & basic medical research. 2013;3(2):77-83.
7. Scientific TF. Guia para Utilização Clínica da Procalcitonina (PCT) 2012.
8. Nargis W, Ibrahim M, Ahamed BU. Procalcitonin versus C-reactive protein: Usefulness as biomarker of sepsis in ICU patient. International journal of critical illness and injury science. 2014;4(3):195-9.
9. Faix JD. Biomarkers of sepsis. Critical reviews in clinical laboratory sciences. 2013;50(1):23-36.
10. Slaven EM, Stone SC, Lopez FA. Doenças Infeciosas: Diagnóstico e Tratamento no Setor de Emergência. In: McGrawHill, editor. 1 ed2007. p. 217-27.
11. Mayr FB, Yende S, Angus DC. Epidemiology of severe sepsis. Virulence. 2014;5(1):4-11.
12. Davis MG, Hagen PO. Systemic inflammatory response syndrome. British Journal of surgery. 1997;86:920-935.
13. Goldstein B, Giroir B, Randolph A, International Consensus Conference on Pediatric S. International pediatric sepsis consensus conference: definitions

- for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatric critical care medicine : a journal of the Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies*. 2005;6(1):2-8.
14. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive care medicine*. 2013;39(2):165-228.
 15. Arabestani MR, Fazzeli H, Nasr Esfahani B. Identification of the most common pathogenic bacteria in patients with suspected sepsis by multiplex PCR. *Journal of infection in developing countries*. 2014;8(4):461-8.
 16. Junqueira LC, Carneiro J. *Histologia Básica*. In: Koogan G, editor. 10 ed2004. p. 254-84.
 17. Arosa FA, Cardoso Em, Pacheco FC. *Fundamentos de Imunologia*. In: Lidel, editor. 2007. p. 193-4.
 18. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System*. In: Elsevier, editor. 4 ed2012. p. 40-8.
 19. Seeley RR, Stephens TD, Tate P. *Anatomia & Fisiologia*. In: 6, editor. Lusociência ed2005. p. 784-822.
 20. de Pablo R, Monserrat J, Prieto A, Alvarez-Mon M. Role of Circulating Lymphocytes in Patients with Sepsis. *BioMed research international*. 2014;2014:671087.
 21. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. *Microbial Mechanisms of Pathogenicity*. In: Pearson, editor. *Microbiology*2010. p. 435-9.
 22. Annane D, Maxime V, Faller JP, Mezher C, Clec'h C, Martel P, et al. Procalcitonin levels to guide antibiotic therapy in adults with non-microbiologically proven apparent severe sepsis: a randomised controlled trial. *BMJ open*. 2013;3(2).
 23. Noorani HZ, Adams E, Pitrak D, Belinson S, Aronson N. AHRQ Future Research Needs on Procalcitonin - Guided Antibiotic Therapy. *Future Research Needs on Procalcitonin-Guided Antibiotic Therapy: Identification of Future Research Needs From Comparative Effectiveness Review No 78*. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2013.
 24. Kenzaka T, Okayama M, Kuroki S, Fukui M, Yahata S, Hayashi H, et al. Use of a semiquantitative procalcitonin kit for evaluating severity and predicting

- mortality in patients with sepsis. *International journal of general medicine*. 2012;5:483-8.
25. Kibe S, Adams K, Barlow G. Diagnostic and prognostic biomarkers of sepsis in critical care. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2011;66 Suppl 2:ii33-40.
 26. Jaimes FA, De La Rosa GD, Valencia ML, Arango CM, Gomez CI, Garcia A, et al. A latent class approach for sepsis diagnosis supports use of procalcitonin in the emergency room for diagnosis of severe sepsis. *BMC anesthesiology*. 2013;13(1):23.
 27. 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. *BMC research notes*. 2014;7:458.
 28. Vincent JL. EPIC II: sepsis around the world. *Minerva anesthesiologica*. 2008;74(6):293-6.
 29. 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(6):e0129450.
 30. Bloos F, Reinhart K. Rapid diagnosis of sepsis. *Virulence*. 2014;5(1):154-60.
 31. Prkno A, Wacker C, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin-guided therapy in intensive care unit patients with severe sepsis and septic shock - a systematic review and meta-analysis. *Critical care (London, England)*. 2013;17(6):R291.
 32. Castro CMD, Silva RMD. Procalcitonina no diagnóstico de doenças infecciosas. 2011;10(6):521-8.
 33. Lee H. Procalcitonin as a biomarker of infectious diseases. *The Korean journal of internal medicine*. 2013;28(3):285-91.
 34. Mehanic S, Baljic R. The importance of serum procalcitonin in diagnosis and treatment of serious bacterial infections and sepsis. *Materia socio-medica*. 2013;25(4):277-81.
 35. Schuetz P, Chiappa V, Briel M, Greenwald JL. Procalcitonin algorithms for antibiotic therapy decisions: a systematic review of randomized controlled trials and recommendations for clinical algorithms. *Archives of internal medicine*. 2011;171(15):1322-31.

36. Pupelis G, Drozdova N, Mukans M, Malbrain ML. Serum procalcitonin is a sensitive marker for septic shock and mortality in secondary peritonitis. *Anaesthesiology intensive therapy*. 2014;46(4):262-73.
37. Henriquez-Camacho C, Losa J. Biomarkers for sepsis. *BioMed research international*. 2014;2014:547818.
38. Holub M, Lawrence DA, Andersen N, Davidova A, Beran O, Maresova V, et al. Cytokines and chemokines as biomarkers of community-acquired bacterial infection. *Mediators of inflammation*. 2013;2013:190145.
39. Battistelli S, Fortina M, Carta S, Guerranti R, Nobile F, Ferrata P. Serum C-reactive protein and procalcitonin kinetics in patients undergoing elective total hip arthroplasty. *BioMed research international*. 2014;2014:565080.
40. Huang TS, Huang SS, Shyu YC, Lee CH, Jwo SC, Chen PJ, et al. A procalcitonin-based algorithm to guide antibiotic therapy in secondary peritonitis following emergency surgery: a prospective study with propensity score matching analysis. *PloS one*. 2014;9(3):e90539.
41. Guo SY, Zhou Y, Hu QF, Yao J, Wang H. Procalcitonin is a marker of gram-negative bacteremia in patients with sepsis. *The American journal of the medical sciences*. 2015;349(6):499-504.
42. Meisner M. Update on procalcitonin measurements. *Annals of laboratory medicine*. 2014;34(4):263-73.
43. Quiroga B, Villaverde M, Vega A, Abad S, Reque J, Lopez-Gomez JM. Procalcitonin as an early predictor of acute infection in hemodialysis patients. *Nefrologia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola Nefrologia*. 2014;34(3):341-6.
44. Pfister R, Kochanek M, Leygeber T, Brun-Buisson C, Cuquemelle E, Machado MB, et al. Procalcitonin for diagnosis of bacterial pneumonia in critically ill patients during 2009 H1N1 influenza pandemic: a prospective cohort study, systematic review and individual patient data meta-analysis. *Critical care (London, England)*. 2014;18(2):R44.
45. Schuetz P, Albrich W, Mueller B. Procalcitonin for diagnosis of infection and guide to antibiotic decisions: past, present and future. *BMC medicine*. 2011;9:107.

46. Maruna P, Nedelnikova K, Gurlich R. Physiology and genetics of procalcitonin. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*. 2000;49 Suppl 1:S57-61.
47. Nakajima A, Yazawa J, Sugiki D, Mizuguchi M, Sagara H, Fujisiro M, et al. Clinical utility of procalcitonin as a marker of sepsis: a potential predictor of causative pathogens. *Internal medicine (Tokyo, Japan)*. 2014;53(14):1497-503.
48. Meisner M. Pathobiochemistry and clinical use of procalcitonin. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2002;323(1-2):17-29.
49. Singh M, Anand L. Bedside procalcitonin and acute care. *International journal of critical illness and injury science*. 2014;4(3):233-7.
50. Becker KL, Nysten ES, White JC, Muller B, Snider RH, Jr. Clinical review 167: Procalcitonin and the calcitonin gene family of peptides in inflammation, infection, and sepsis: a journey from calcitonin back to its precursors. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004;89(4):1512-25.
51. Xu RY, Liu HW, Liu JL, Dong JH. Procalcitonin and C-reactive protein in urinary tract infection diagnosis. *BMC urology*. 2014;14:45.
52. Davidson J, Tong S, Hauck A, Lawson DS, da Cruz E, Kaufman J. Kinetics of procalcitonin and C-reactive protein and the relationship to postoperative infection in young infants undergoing cardiovascular surgery. *Pediatric research*. 2013;74(4):413-9.
53. Carrol ED, Thomson AP, Hart CA. Procalcitonin as a marker of sepsis. *International journal of antimicrobial agents*. 2002;20(1):1-9.
54. Soltysiak J, Bartkowska-Sniatkowska A, Rosada-Kurasinska J, Lipkowska K, Zachwieja J. Efficacy of plasma exchange in septic shock: a case report. *Anaesthesiology intensive therapy*. 2014;46(2):92-5.
55. Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious diseases*. 2013;13(5):426-35.
56. Hoeboer SH, Groeneveld AB. Changes in circulating procalcitonin versus C-reactive protein in predicting evolution of infectious disease in febrile, critically ill patients. *PloS one*. 2013;8(6):e65564.
57. Shuetz P, Leykum LK. Procalcitonin. 2012.

58. Bonilla DA, Cuervo SI, Gomez JC. Utilidad de la procalcitonina en pacientes adultos con neoplasias hematológicas y neutropenia febril posquimioterapia. 2012;16(4): 223-229.
59. Morales Casado MI, Moreno Alonso F, Juarez Belaunde AL, Heredero Galvez E, Talavera Encinas O, Julian-Jimenez A. Ability of procalcitonin to predict bacterial meningitis in the emergency department. Neurologia (Barcelona, Spain). 2014.
60. Pepys MB, Baltz ML. Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein. Advances in immunology. 1983;34:141-212.
61. Barbosa AP, Pinheiro C, Rigato O, Lobo S, Friedman G. Critérios para Diagnóstico e Monitorização da Resposta Inflamatória. 2004;16:105-8.
62. Roche. Elecsys Brahms PCT - Electro-chemiluminescence immunoassay (ECLIA) for the in vitro quantitative determination of procalcitonin (PCT) in serum and plasma. 2013.
63. Sysmex. Sysmex - Analisadores Hematológicos Automatizados Série - XN. 2012.
64. Massaro KSR. Comparação entre os biomarcadores inflamatórios procalcitonina (PCT), interleucina-6 (IL-6) e proteína-C reativa (PCR) para diagnóstico infeccioso e evolução de febre em pacientes neutropênicos submetidos a transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH): Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2013.
65. Sousa MAd, Medeiros NM, Carneiro JR, Cardoso AM. Hemoculturas Positivas de Pacientes da Unidade de Terapia Intensiva de um Hospital Escola de Goiânia, entre 2010-2013. 2014;41:627-35.
66. Alves LNS, Oliveira CRd, Silva LAPd, Gervásio SMD, Alves SR, Sgavioli GM. Hemoculturas: estudo da prevalência dos microrganismos e o perfil de sensibilidade dos antibióticos em Unidade de Terapia Intensiva. 2012;30:44-7.
67. Ratzinger F, Schuardt M, Eichbichler K, Tsirkinidou I, Bauer M, Haslacher H, et al. Utility of sepsis biomarkers and the infection probability score to discriminate sepsis and systemic inflammatory response syndrome in standard care patients. PloS one. 2013;8(12):e82946.

68. Qu J, L X, Liu Y, Wang X. Evaluation of procalcitonin, C-reactive protein, interleukin-6 & serum amyloid A as diagnostic biomarkers of bacterial infection in febrile patients. *The Indian journal of medical research*. 2015;141(3):315-21.
69. Meidani M, Khorvash F, Abolghasemi H, Jamali B. Procalcitonin and quantitative C-reactive protein role in the early diagnosis of sepsis in patients with febrile neutropenia. *South Asian journal of cancer*. 2013;2(4):216-9.

VIII. Anexos

Tabela 13 – Frequências dos agentes microbiológicos que foram diagnosticados nas culturas de todos os pacientes

Agentes Microbiológicos	n
Bactérias	
<i>E. coli</i>	40
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	18
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	17
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12
<i>Staphylococcus aureus</i>	9
<i>Enterobacter cloacae</i>	8
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	7
<i>Staphylococcus hominis</i>	6
<i>Proteus mirabilis</i>	5
<i>Enterococcus faecium</i>	5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	5
<i>Acinetobacter baumannii</i>	4
<i>Enterococcus aerogenes</i>	3
<i>Serratia marcescens</i>	3
<i>Enterococcus faecalis</i>	3
<i>Escherichia fergusonii</i>	2
<i>Haemophilus influenzae</i>	2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2
<i>Citrobacter freundii</i>	1
<i>Morganella morganii</i>	1
<i>Enterobacter freundii</i>	1
<i>Pseudomona putida</i>	1
<i>Stenotrophonas maltophilia</i>	1
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	1
<i>Streptococcus gordonii</i>	1
<i>Streptococcus mitis</i>	1
<i>Streptococcus anginosus</i>	1
Fungos	
<i>Candida albicans</i>	28
<i>Candida Kruzei</i>	5
<i>Candida glabrata</i>	2
<i>Candida pseudotropicalis</i>	2
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2
<i>Candida tropicalis</i>	1
<i>Candida guilliermondii</i>	1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1

Tabela 14 – Curvas ROC - Área abaixo da curva (AUC)

Variáveis	AUC	Erro Padrão	p	Intervalo de Confiança de 95%	
				Limite Inferior	Limite superior
PCT	0,788	0,038	0,000	0,715	0,862
PCR	0,644	0,048	0,007	0,551	0,737
WBC	0,542	0,047	0,433	0,450	0,633

PCT= Procalcitonina; PCR = Proteína-C reativa; WBC = *White blood cells* (Leucócitos); AUC = Área abaixo da curva.

Tabela 15 – Coordenadas das Curvas ROC referentes à PCT

Positivo se maior ou igual a:	Sensibilidade	1 - Especificidade
-,9770	1,000	1,000
,0310	,995	1,000
,0440	,995	,971
,0495	,995	,943
,0535	,989	,943
,0630	,989	,914
,0735	,984	,914
,0805	,979	,914
,0955	,974	,914
,1090	,974	,886
,1140	,968	,886
,1190	,963	,886
,1250	,958	,886
,1350	,953	,857
,1500	,953	,829
,1610	,947	,800
,1630	,942	,800
,1665	,937	,800
,1695	,937	,771
,1715	,937	,743
,1765	,932	,743
,1805	,921	,743
,1855	,921	,714
,1950	,916	,714
,2055	,911	,714
,2120	,905	,714
,2165	,905	,686
,2215	,905	,657
,2235	,905	,629
,2270	,905	,600

Importância da PCT no Diagnóstico de Sepsis em Pacientes Oncológicos Internados na UCI

,2325	,900	,600
,2400	,895	,600
,2530	,889	,600
,2620	,889	,571
,2690	,884	,571
,2775	,879	,543
,2835	,874	,543
,2880	,868	,543
,2910	,868	,514
,2965	,863	,514
,3020	,858	,514
,3095	,853	,514
,3160	,847	,514
,3185	,842	,514
,3360	,837	,514
,3550	,837	,486
,3750	,832	,486
,3935	,826	,486
,4075	,821	,486
,4280	,821	,457
,4380	,816	,457
,4660	,811	,457
,5110	,811	,429
,5370	,805	,429
,5620	,800	,429
,5830	,789	,429
,5875	,789	,400
,6045	,784	,400
,6330	,779	,400
,6530	,774	,400
,6660	,774	,371
,6860	,774	,343
,7235	,774	,314
,7595	,763	,314
,7780	,758	,314
,8115	,758	,286
,8630	,753	,286
,8945	,747	,286
,9160	,742	,286
,9385	,737	,286
,9620	,732	,286
,9820	,726	,286
,9915	,721	,286

Importância da PCT no Diagnóstico de Sepsis em Pacientes Oncológicos Internados na UCI

1,0080	,721	,257
1,0300	,716	,257
1,0450	,711	,257
1,0900	,705	,257
1,2350	,695	,257
1,3600	,689	,257
1,4000	,689	,229
1,4300	,684	,229
1,4550	,679	,229
1,4800	,674	,229
1,5050	,668	,171
1,5400	,663	,171
1,5700	,658	,171
1,6150	,653	,171
1,6550	,653	,143
1,7450	,647	,143
1,8450	,642	,143
1,9350	,637	,143
2,0200	,632	,143
2,0500	,626	,143
2,0750	,621	,143
2,1400	,616	,143
2,2050	,611	,143
2,2150	,605	,143
2,2550	,605	,114
2,3300	,600	,114
2,3950	,595	,114
2,4350	,589	,114
2,5000	,584	,114
2,5850	,579	,114
2,6900	,574	,114
2,7850	,568	,114
2,8250	,563	,114
2,8500	,558	,114
2,8700	,553	,114
2,9750	,547	,114
3,0800	,542	,114
3,1750	,537	,114
3,3700	,532	,114
3,5000	,526	,114
3,5350	,521	,114
3,5800	,516	,114
3,6550	,511	,114

Importância da PCT no Diagnóstico de Sepsis em Pacientes Oncológicos Internados na UCI

3,7600	,505	,114
3,8550	,500	,114
3,9100	,495	,114
3,9950	,489	,114
4,1750	,484	,114
4,3650	,479	,114
4,5250	,474	,114
4,8800	,468	,114
5,1600	,463	,114
5,1750	,458	,114
5,2550	,453	,114
5,4400	,447	,114
5,5700	,442	,114
5,5950	,437	,114
5,6450	,432	,114
5,7350	,426	,114
6,0800	,426	,086
6,5200	,421	,086
6,7000	,416	,086
6,7750	,416	,057
7,1700	,411	,057
7,5800	,405	,057
7,6450	,400	,057
7,7050	,395	,057
7,7950	,389	,057
7,8450	,384	,057
7,9650	,379	,057
8,2450	,374	,057
8,5750	,368	,057
8,9300	,363	,057
9,2650	,353	,057
9,7300	,347	,057
10,2500	,342	,057
10,5250	,337	,057
10,6700	,332	,057
10,7850	,326	,057
10,8400	,321	,057
10,9600	,316	,057
11,2250	,311	,057
11,6750	,311	,029
12,0500	,305	,029
12,3800	,300	,029
12,7450	,295	,029

Importância da PCT no Diagnóstico de Sepsis em Pacientes Oncológicos Internados na UCI

13,1850	,289	,029
13,5750	,284	,029
13,6700	,279	,029
14,0550	,274	,029
14,4150	,268	,029
15,3700	,263	,029
16,4250	,258	,029
16,9200	,253	,029
17,3900	,247	,029
17,6150	,242	,029
17,8000	,237	,029
18,2700	,232	,029
18,8050	,232	,000
19,2550	,226	,000
19,6400	,221	,000
19,9850	,216	,000
21,1550	,211	,000
22,2000	,205	,000
22,5600	,200	,000
24,5000	,195	,000
26,4850	,189	,000
26,9650	,184	,000
27,8050	,179	,000
29,2300	,174	,000
30,5650	,168	,000
33,8850	,163	,000
37,5700	,158	,000
39,0350	,153	,000
39,7000	,147	,000
41,0650	,142	,000
42,9300	,137	,000
44,6150	,132	,000
46,2950	,126	,000
48,2050	,121	,000
54,3650	,116	,000
63,4850	,111	,000
67,9500	,105	,000
68,8000	,100	,000
73,3200	,095	,000
82,3850	,089	,000
89,3200	,084	,000
95,5050	,079	,000
101,0000	,000	,000

