Universidade de Aveiro

2010

Departamento de Biologia

Pedro Renato Soares Almeida

Microbiologia e procalcitonina no diagnóstico de sépsis no doente oncológico.

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Microbiologia, realizada sob a orientação científica do Dr. Carlos Cortes, Médico Especialista em Patologia Clínica no Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gentil, E.P.E. (IPOCFG, E.P.E.) e co-orientação da Doutora Ângela Cunha, Professora auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro.

““Wisdom begins with Questioning...The most difficult questions to answer are those left unasked, you can't confront ignorance unless you first confront the truth.”

O júri

Presidente

Profª Doutora Sónia Alexandra Leite Velho Mendo Barroso

Professora Auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Arguente

Profª Doutora Margarida Sâncio da Cruz Fardilha

Professora Auxiliar Convidada da Secção Autónoma de Ciências da Saúde da Universidade de Aveiro

Orientador

Dr. Carlos Faria Cortes

Médico Especialista na área da Patologia Clínica no Instituto Português de Oncologia de Coimbra, E.P.E. (IPOCFG, E.P.E.)

Co-orientador

Profª Doutora Ângela Cunha

Professora auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Agradecimentos

Pretendo aqui deixar uma palavra de sentida gratidão e inexcedível apreço a todos aqueles que, de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

O desenvolvimento deste trabalho em muito se fica a dever á prestimosa colaboração do Dr. Frederico Valido, Director do Serviço de Patologia Clínica do Instituto Português de Oncologia de Coimbra, E.P.E. (IPOCFG, E.P.E.), pela pronta disponibilização de recursos materiais e humanos.

Ao Dr. Carlos Cortes, Médico Especialista na área da Patologia Clínica, meu orientador, pelos ensinamentos transmitidos, pelo incentivo, disponibilidade e orientação que me prestou ao longo da dissertação.

À Professora Doutora Ângela Cunha, Professora auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro, minha co-orientadora, pela prestabilidade, orientação, pronta resposta e simpatia.

A todos os colegas, pela experiência e profissionalismo demonstrados no dia-a-dia e que muito contribuíram para enriquecer o trabalho aqui apresentado.

Um obrigado **muito especial** à Dr.ª Ana Catarina Oliveira (Aninha) pelo contributo imensurável, sem o qual, a conclusão actual desta dissertação não seria possível.

A todos, sem excepção, o meu MUITO OBRIGADO.

Palavras-chave *Sépsis, doente oncológico, procalcitonina, hemoculturas.*

Resumo

A sépsis é um síndrome clínico que resulta da resposta inflamatória sistémica do hospedeiro à infecção, podendo evoluir para choque séptico, e culminar em Falência Multi-Orgânica. Em todo o mundo, 13 milhões de pessoas são atingidas por este síndrome e, anualmente, cerca de 4 milhões morrem.

Cerca de um em cada seis doentes com sépsis grave têm uma doença oncológica subjacente, tendo um risco de morte mais elevado 30% comparado com doentes não oncológicos. Além duma elevada taxa de mortalidade, estima-se que a sépsis representa 10% de causa de morte nos doentes internados com neoplasias. Existe, no entanto, uma escassez de dados relacionados com a epidemiologia de sépsis grave em doentes oncológicos.

Em 1996 a investigação no campo dos parâmetros laboratoriais para o diagnóstico das patologias inflamatórias, conduziu à identificação de uma nova molécula útil para esse efeito, a procalcitonina (PCT), no entanto, os resultados disponíveis na literatura são contraditórios.

Com este trabalho pretendeu-se caracterizar microbiológicamente a sépsis em doentes oncológicos na tentativa de melhorar a compreensão deste síndrome. Foram analisadas hemoculturas que deram entrada no Sector de Microbiologia do Serviço de Patologia Clínica do Instituto Português de Oncologia de Coimbra, E.P.E. (IPOCFG, E.P.E.), tendo-se constatado que os cocos Gram positivos são os microrganismos predominantes nestes doentes; Foram ainda encontrados bacilos Gram negativos, bacilos Gram positivos e, por fim, os fungos.

Efectuou-se a comparação dos resultados das hemoculturas dos doentes com suspeita de sépsis com as respectivas concentrações séricas de procalcitonina, de forma a poder avaliar a utilidade deste último parâmetro descrito enquanto auxiliar no diagnóstico deste síndrome. Foram analisadas 132 amostras de sangue para determinação da concentração de procalcitonina. Verificou-se que esta apenas se revelou útil, enquanto auxiliar no diagnóstico de sépsis, para valores muito baixos ou muito elevados. Valores de PCT intermédios foram inconclusivos. Estes valores poderão, assim, ser úteis em alguns casos, mas deverão ser sempre utilizados em conjunção com outros exames laboratoriais, nomeadamente microbiológicos, e com um conhecimento aprofundado do estado clínico do doente.

Keywords *Sepsis, cancer patient, procalcitonin, blood cultures.*

Abstract Sepsis is a clinical syndrome resulting from a severe systemic inflammatory response to infection. It can progress to septic shock and multiple organ failure. Worldwide, 13 million people are afflicted with this syndrome and annually about 4 million die.

One out of six patients with severe sepsis has an underlying malignant disease, with a risk of death 30% higher than non-cancer patients. In addition to a high mortality rate, it is estimated that sepsis represents 10% of deaths in hospitalized cancer patients. However, data related to the epidemiology of severe sepsis in these patients are scarce.

In 1996, research in the field of laboratory parameters for the diagnosis of inflammatory diseases, led to the finding of a new molecule useful for these cases, procalcitonin (PCT), however, literature information on its diagnostic utility is contradictory.

This work aimed the microbiological characterization of sepsis in cancer patients, in the attempt to find information that could contribute to a better understanding of this syndrome. Blood cultures received at the Department of Microbiology at the Clinical Pathology Service of the Portuguese Oncology Institute of Coimbra, EPE (IPOCFG, EPE) were analyzed, and it was found that Gram-positive cocci were the predominant microorganisms in these patients, followed by Gram negative bacilli, Gram-positive bacilli and, finally, fungi.

Blood samples were analyzed for determination of procalcitonin.The results of blood cultures in patients with suspected sepsis were compared with their serum procalcitonina concentration in order to evaluate the usefulness in the diagnosis of this syndrome. It was found that this molecule only proved useful as aid in the diagnosis of sepsis when found in very low or very high concentrations. Intermediate values of PCT were inconclusive. These values may, therefore, be useful in some cases, but should always be used in conjunction with other laboratory tests, including microbiological analysis, and with the extensive knowledge of the patient's clinical condition.

Índice Geral

I. INTRODUÇÃO 1

1. A SÉPSIS E OUTROS TERMOS ASSOCIADOS 1
2. PATOFISIOLOGIA DA SÉPSIS 7
   - *2.1. Resposta do sistema imune inato 7*
   - *2.2. Resposta imunológica adquirida 8*
   - *2.3. Sistema do complemento, coagulação e inflamação 10*
   - *2.4. Endotélio e inflamação 12*
   - *2.5. Falência multi-orgânica 13*
3. INCIDÊNCIA E PREVALÊNCIA DE SÉPSIS 15
4. EPIDEMIOLOGIA DA SÉPSIS 18
5. ETIOLOGIA DA SÉPSIS 22
6. O DOENTE ONCOLÓGICO 24
7. INFECÇÕES SANGUÍNEAS EM DOENTES ONCOLÓGICOS 26
8. MARCADORES BIOLÓGICOS DA SÉPSIS (PCR E PROCALCITONINA) 28
   - *8.1. Proteína C-reactiva 29*
   - *8.2. Procalcitonina 31*
9. HEMOCULTURAS 39
   - *9.1. Utilizacção e eficiência de Hemoculturas 40*
   - *9.2. Incidência de Bacterémia 42*
   - *9.3. Métodos para aumentar a eficácia das hemoculturas 42*
   - *9.4. Sistemas de incubação de hemoculturas 48*
   - *9.5. Hemoculturas contaminadas: custos e consequências 49*
10. OBJECTIVOS 53

II. MATERIAL E MÉTODOS 54

1. HEMOCULTURAS 54
   - *1.1. Meios de Cultura 55*
     - 1.1.1. Meios BD BACTEC™ Plus Aerobic/F e BD BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F 56
     - 1.1.2. Meio BD BACTEC™ Mycosis-IC/F 56
   - *1.2. Sistema BACTEC™ 9050 ..... 56*
2. PROCALCITONINA 58
   - *2.1. Sistema Kryptor™ 58*

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO 61

IV. CONCLUSÕES 73

V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 74

Índice de Figuras

FIGURA I-1 REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA RESPOSTA IMUNOLÓGICA ADQUIRIDA. 9

FIGURA I-2 SISTEMA DO COMPLEMENTO.....10

FIGURA I-3 CASCATA DA COAGULAÇÃO.....12

FIGURA I-4 INCIDÊNCIA DE SÉPSIS GRAVE NA EUROPA EM COMPARAÇÃO COM AS PRINCIPAIS NEOPLASIAS E HIV.....16

FIGURA I-5 MORTALIDADE ANUAL DA SÉPSIS GRAVE COMPARADA COM A DOS TRÊS CANCROS MAIS MORTAIS NO REINO UNIDO. 16

FIGURA I-6 MORTALIDADE NA UCI DEVIDO A SÉPSIS.....20

FIGURA I-7 NÚMERO DE ÓRGÃOS EM FALHA RELATIVAMENTE À TAXA DE MORTALIDADE.....21

FIGURA I-8 INCIDÊNCIA DE SÉPSIS SEVERA (DEPENDENTE DA IDADE, EM 1000 HABITANTES) EM DOENTES COM E SEM CANCRO.....24

FIGURA I-9 MORTALIDADE HOSPITALAR DEVIDO A SÉPSIS GRAVE (DEPENDENTE DA IDADE) EM DOENTES COM E SEM CANCRO.....25

FIGURA I-10 REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA SEQUÊNCIA DE AMINOÁCIDOS DA PROCALCITONINA. 32

FIGURA I-11 AUMENTO NOS VALORES DE PCT REFLECTINDO O DESENVOLVIMENTO DE UMA SITUAÇÃO SAUDÁVEL ATÉ AOS ESTÁDIOS MAIS GRAVES DE DOENÇA.....35

FIGURA I-12 RELAÇÃO ENTRE O VOLUME DE SANGUE E A EFICÁCIA DAS HEMOCULTURAS. 46

FIGURA II-1 MEIOS DE CUTURA BD BACTEC™.....55

FIGURA II-2 SISTEMA BACTEC™ 9050.....57

FIGURA II-3 SISTEMA KRYPTOR™.....59

FIGURA II-4 ESQUEMA DE FUNCIONAMENTO DO SISTEMA KRYPTOR™.....59

FIGURA II-5 CORRECÇÃO INTERNA DE INFLUÊNCIAS INTERFERENTES.....60

FIGURA III-1 DISTRIBUIÇÃO DOS PEDIDOS DE HEMOCULTURA (N= 328) POR SERVIÇOS REQUISITANTES...62

FIGURA III-2 PERCENTAGEM DO NÚMERO DE DOENTES (N=328) COM PEDIDOS DE COLHEITA DE SANGUE PARA HEMOCULTURAS DO CTI VS. SEM COLHEITA DO CTI.....62

FIGURA III-3 PERCENTAGEM DO NÚMERO DE DOENTES (N= 328) EM RELAÇÃO AO NÚMERO DE HEMOCULTURAS REQUISITADAS.....63

FIGURA III-4 PERCENTAGEM DO NÚMERO DE DOENTES (N= 328) COM HEMOCULTURAS POSITIVAS E COM HEMOCULTURAS NEGATIVAS.....64

FIGURA III-5 DISTRIBUIÇÃO DOS MICRORGANISMOS SUBCULTIVADOS DAS HEMOCULTURAS POSITIVAS (N=106).....65

FIGURA III-6 DISTRIBUIÇÃO DOS MICRORGANISMOS PRESENTES NAS HEMOCULTURAS POSITIVAS (N=106) NOS PRINCIPAIS GRUPOS DE MICRORGANISMOS.....66

FIGURA III-7 DISTRIBUIÇÃO DOS MICRORGANISMOS PRESENTES NAS HEMOCULTURAS POSITIVAS (N=106) SEGUNDO CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E COMPORTAMENTO EM RELAÇÃO À COLORAÇÃO DE GRAM.....66

FIGURA III-8 PERCENTAGEM DE *STAPHYLOCOCCUS* MRSA (N=6) E MSSA (N=8) PRESENTES NAS HEMOCULTURAS POSITIVAS POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (N=14).....68

FIGURA III-9 PERCENTAGEM DE HEMOCULTURAS POSITIVAS (N=106) CUJA SUBCULTURA DESENVOLVEU: UM ÚNICO MICRORGANISMO (N=89) VS. MAIS QUE UM MICRORGANISMO (N=17). 69

FIGURA III-10 MICRORGANISMOS PRESENTES NAS HEMOCULTURAS POSITIVAS CUJA SUBCULTURA APRESENTOU MAIS QUE UM GERME (N=17).....70

FIGURA III-11 REPRESENTAÇÃO DO NÚMERO DE HEMOCULTURAS POSITIVAS (N= 44) E HEMOCULTURAS NEGATIVAS (N= 88) EM COMPARAÇÃO COM OS VALORES SÉRICOS DA PROCALCITONINA.....71

FIGURA III-12 PROBABILIDADE DA EXISTÊNCIA DE SÉPSIS EM RELAÇÃO AOS VALORES SÉRICOS DE PROCALCITONINA. 71

Índice de Tabelas

TABELA I-1 DEFINIÇÕES ESTABELECIDAS PELO *AMERICAN COLLEGE OF CHEST PHYSICIANS* E *SOCIETY OF CRITICAL CARE MEDICINE* 3

TABELA I-2 SINAIS E SINTOMAS ENCONTRADOS NA SIRS EM RESPOSTA À INFECÇÃO (LEVY MM 2003) 5

TABELA I-3 ESTUDO DA SOCIEDADE EUROPEIA DE CUIDADOS INTENSIVOS.....20

TABELA I-4 CONDIÇÕES CLÍNICAS NAS QUAIS OCORRE AUMENTO DOS NÍVEIS SÉRICOS DOS PRECURSORES DA PCT.....33

TABELA I-5 VALORES DE REFERÊNCIA DA PCT EM CASOS DE INFECÇÃO BACTERIANA SISTÉMICA. 36

TABELA I-6 LISTA DE CONDIÇÕES PASSÍVEIS DE INDUZIR FALSOS POSITIVOS E FALSOS NEGATIVOS NA DETERMINAÇÃO DA PCT. 37

TABELA I-7 CONDIÇÕES NÃO ASSOCIADAS A INFECÇÃO QUE PODEM LEVAR À PRODUÇÃO DE PCT.....38

TABELA I-8 FACTORES QUE INFLUENCIAM A EFICÁCIA DAS HEMOCULTURAS. 43

TABELA I-9 REGRAS PARA MELHORAR A EFICÁCIA DAS HEMOCULTURAS 44

TABELA I-10 VERDADEIRA BACTERÉMIA VS HEMOCULTURAS CONTAMINADAS.....51

TABELA II-1 REPRESENTAÇÃO DO ESQUEMA DE CULTURAS UTILIZADO.....54

Lista de Abreviaturas

CDC - *Center for Disease Control and Prevention*

CEC - Circulação extra-corpórea

CT - Calcitonina

CTI - Catéter totalmente implantado

CVC - Catéter venoso central

DIC - Coagulação intravascular disseminada

FMO - Falência multi-orgânica

IL-1 - Interleucina-1

IL-10 - Interleucina-10

IL-4 - Interleucina-4

IL-6 - Interleucina-6

MBL - Lectina ligadora de manose

MRSA - *Staphylococcus aureus* sensíveis à meticilina

NK - *Natural killer*

PAMPs - *Pathogen-associated molecular patterns*

PCR - Proteína C-reactiva

PCT - Procalcitonina

SDRA - Síndrome da dificuldade respiratória do adulto

SFMO - Síndrome da falência multi-orgânica

SIDA - Síndrome da imunodeficiência adquirida

SIRS - Síndrome da resposta inflamatória sistémica

SNC - Sistema nervoso central

SPS - Sulfato polietanol de sódio

TFPI - Inibidor da via do factor tissular

Th1 - Células T auxiliares do tipo 1

Th2 - Células T auxiliares do tipo 2

TLRs - Toll-like receptors

TNF-α - Factor de necrose tumoral Alfa

TRACE - *Time-resolved amplified cryptate emission*

TSA - Teste de sensibilidade aos antibióticos

UCI - Unidades de cuidados intensivos

UFC - Unidades formadoras de colónias

VEGF - *Vascular endothelial growth factor*

I. Introdução

"It is time to close the book on infectious diseases"

W. H. Stewart (1969)

Este nobre desejo manifestado pelo cirurgião William Stewart no final dos anos 60, aquando do aparecimento de novos e potentes antibióticos, não obteve, ainda, satisfação. Apesar de toda a investigação realizada, a sépsis continua a ser a principal causa de morte nas Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) de todo o mundo (Selberg, O., 2000).

1. A Sépsis e outros termos associados

O isolamento do mais importante mediador microbiano da sépsis, a endotoxina, remonta ao início do século XX, pelas mãos de Pfeiffer e Koch. Desde essa época, a investigação clínica e experimental revelou a natureza complexa da resposta à sépsis a qual, apesar de ser uma parte essencial e necessária da defesa inata, pode tornar-se nociva, levando à falência múltipla de órgãos e, por vezes, à morte. Desde o século passado até ao presente, a complexidade da patogénese molecular da sépsis grave e a amplitude dos processos fisiológicos que interagem para a sua expressão final têm vindo, lentamente, a ser desvendadas (Wenzel, R., 2002).

De facto, a sépsis pode ser considerada mais um síndrome, do que uma doença *per se*. O termo "sépsis" encontra-se associado a muitos processos patológicos, do mesmo modo que o termo "cancro" engloba várias patologias, como a leucemia, o melanoma maligno, ou o tumor cerebral. Todas elas são distintas e requerem diferentes abordagens terapêuticas (Vincent, J. et al., 2002).

A sépsis é, portanto, um síndrome clínico resultante da resposta inflamatória sistémica do hospedeiro à infecção, evoluindo nos casos desfavoráveis para choque séptico, e culminando com a Falência Multi-Orgânica (FMO)

(Rangel-Frausto, M., 1995; Wenzel, R., 2002). As definições actualmente usadas consideram que a sépsis, a sépsis grave e o choque séptico representam estágios evolutivos da mesma doença, o que não significa necessariamente um aumento da gravidade do processo infeccioso, mas sim da gravidade da resposta sistémica do paciente à infecção (Rangel-Frausto, M., 1995).

O Síndrome da Resposta Inflamatória Sistémica (*Systemic Inflammatory Response Syndrome* - SIRS) constitui uma outra entidade que deve ser diferenciada da sépsis. Trata-se de uma resposta do hospedeiro a uma agressão, infecciosa ou não, com libertação de mediadores inflamatórios. Muito embora possa ser desencadeada por inúmeros processos de origem não infecciosa, a infecção constitui a causa mais comum de SIRS (Rangel-Frausto, M., 1995). Processos inflamatórios sistémicos não associados à infecção podem ocorrer em pacientes com queimaduras graves, pancreatite, politraumatizados, transplantados, e em pacientes portadores de cardiopatias durante o pós-operatório de cirurgias cardíacas com circulação extra-corpórea (CEC) (Levy, M., 2003). Estes doentes desenvolvem uma resposta inflamatória sistémica que evolui com sinais e sintomas facilmente confundidos com os de sépsis (Levy, M., 2003; Selberg, O., 2000).

Em 1991, o *American College of Chest Physicians / Society of Critical Care Medicine*, propôs uma uniformização de terminologias, de modo que reflectissem o conhecimento fisiopatológico da sépsis, caracterizando diferentes graus de gravidade da doença (Bone, R., 1992) (Tabela I-1). Apesar de existir uma clara intenção de introduzir critérios sensíveis que permitam definir com clareza o que é sépsis e o que não é, verifica-se que mais de dois terços dos doentes internados em Unidades de Cuidados Intensivos e grande parte dos doentes internados noutras enfermarias preenchem os critérios diagnósticos de SIRS sem, no entanto, apresentarem quadro inflamatório ou infeccioso (Pittet, D., 1995; Fausto, M., 1995).

Tabela I-1 Definições estabelecidas pelo *American College of Chest Physicians* e *Society of Critical Care Medicine. Adaptado de* Bone, R., 1992.

Termo	Definição
Infecção	Fenómeno microbiológico caracterizado por uma resposta inflamatória à presença de microrganismos ou à invasão de um tecido normalmente estéril pelos mesmos.
Bacteremia	Presença de bactérias viáveis no sangue.
Síndrome da Resposta Inflamatória Sistémica (SIRS)	Resposta inflamatória a uma grande variedade de condições clínicas severas. Manifesta-se por dois ou mais dos seguintes sinais: 1) febre> 38 ^{o}C ou <36 ^{o}C; 2) frequência cardíaca> 90 bpm; 3) frequência respiratória> 20 ipm ou pCO2 <32 mmHg; 4) contagem de glóbulos brancos> 12.000/ mm^3 ou <4.000/mm^3 ou neutrófilos hiposegmentados> 10%
Sépsis	Resposta inflamatória à infecção, manifestada por duas ou mais das seguintes condições: 1) temperatura> 38 ^{o}C ou <36 ^{o}C; 2) frequência cardíaca> 90 bpm; 3) frequência respiratória> 20 ipm ou pCO2 <32 mmHg; 4) contagem de glóbulos brancos> 12.000/ mm^3 ou <4.000/mm^3 ou neutrófilos hiposegmentados> 10%
Sépsis Grave	Sépsis associada com disfunção orgânica, hipoperfusão ou hipotensão. Hipotensão e anormalidades da perfusão podem estar incluídas, mas não são limitadas por acidose láctica, oligúria ou uma alteração aguda no estado mental
Choque Séptico	Sépsis relacionada com hipotensão, apesar da adequada reposição volémica com a presença de anormalidades da perfusão que podem estar associadas à acidose metabólica, oligúria ou alteração aguda do estado mental. Pacientes que recebem agentes inotrópicos ou vasopressores podem não estar hipotensos no momento em que as anormalidades da perfusão são medidas
Hipotensão relacionada à sépsis	Pressão sistólica <90mmHg ou uma redução> 40mmHg da linha de base na ausência de outras causas de hipotensão.
Síndrome da Falência Multi-Orgânica (SFMO)	Presença de alteração da função orgânica num doente agudamente afectado de modo que a homeostase só possa ser mantida através de intervenção.

Por exemplo, um paciente com quadro gripal que apresente taquicardia e febre, não preenche, necessariamente, os critérios para SIRS ou sépsis. Doentes imunossuprimidos ou idosos podem apresentar infecções graves, sem apresentarem os sinais de SIRS/sépsis. Por outro lado, um doente da Unidade de Cuidados Intensivos com quadro de edema pulmonar agudo (taquipneia e taquicardia), ou no pós-operatório de grande cirurgia (febre, taquicardia e taquipneia) ou vítima de acidente de viação (taquipneia e taquicardia) enquadra-se perfeitamente nos referidos critérios. Em suma, os critérios de resposta inflamatória sistémica e sépsis são extremamente sensíveis e não permitem seleccionar adequadamente os pacientes em risco de FMO, que necessitam de uma abordagem diagnóstica e terapêutica imediata e, muitas vezes, precocemente invasiva. É de referir ainda que a magnitude da alteração dos sinais não se correlaciona com a gravidade do quadro séptico (Rangel-Frausto, M., 1995).

A conferência de Consenso de 1991 não contemplou na elaboração dos critérios, alguns itens muito importantes, tais como: a duração do processo infeccioso, o local da infecção, o agente agressor e o processo fisiopatológico subjacente. Tais dados são fundamentais para a seriação e estratificação dos pacientes de acordo com a doença de base e com a magnitude da resposta inflamatória desencadeada. Possibilitariam, ainda, a formulação de novos critérios para identificar pacientes que, com o conhecimento dos mecanismos inflamatórios e bioquímicos envolvidos, possivelmente responderiam melhor a uma dada terapêutica direccionada (Rangel-Frausto, M., 1995).

Em 2001 realizou-se outra conferência – a Conferência de Washington – com o objectivo de padronizar novos critérios para detecção precoce da resposta inflamatória e FMO (Tabela I-2). Apesar da argumentação baseada na fisiopatologia e das evidências primárias que sugerem o papel de indicadores bioquímicos no diagnóstico, ainda não havia evidência efectiva de que estes poderiam modificar a definição de sépsis e dos seus critérios diagnósticos (Levy, M., 2001).

Tabela I-2 Sinais e sintomas encontrados na SIRS em resposta à infecção. Adaptado de Levy, M., 2003.

Infecção documentada ou suspeita, com alguns dos seguintes achados clínicos:
Variáveis Gerais
Febre (temperatura central> 38,3 ºC) / Hipotermia (temperatura <36 ºC
Frequência cardíaca> 90 bpm ou> 2 DP acima do valor normal para a idade
Taquipneia / Alteração do nível de consciência
Edema significativo ou balanço hídrico positivo (> 20ml/kg em 24hs)
Hiperglicémia (glicémia> 120 mg/dl) na ausência de diabetes mellitus
Variáveis Inflamatórias
Leucocitose (> 12000/mm3), leucopenia (< 4000/mm3) ou> 10% células imaturas
Proteína C-Reactiva> 2 DP acima dos valores normais
Procalcitonina> 2 DP acima dos valores normais
Variáveis Hemodinâmicas
Hipotensão arterial (pressão sistólica <90 mmHg, pressão arterial média <70 ou diminuição da pressão sistólica> 40 em adultos ou <2DP para a idade)
Saturação venosa central> 70%/Índice cardíaca> 3,5L.min.M
Variáveis de disfunção orgânica
Hipoxémia arterial (PaO2/FiO2 <300) / Ileo paralítico
Oligúria aguda (débito urinário <0.5 ml/kg/h por 2 horas)
Elevação da creatinina sérica> 0,5 mg/dl
Alterações da coagulação (INR> 1,5 ou aPTT> 60 segundos)
Trombocitopenia (contagem de plaquetas <100.000/mm^3)
Hiperbilirubinémia (bilirubina total> 4 mg/dl)
Hiperlactémia (> 1mmol/L) / Diminuição da perfusão capilar periférica

Entretanto, novas tendências promissoras foram propostas com o sistema P.I.R.O. (do inglês P – "*predisposition*" predisposição; I – "*infection*" infecção; R – "*inflamatory response*" resposta inflamatória; O – "*organ disfunction*" disfunção orgânica), para estadiamento da sépsis. Este sistema inovador categoriza os pacientes quanto aos factores predisponentes, quanto à resposta à agressão e quanto ao grau de disfunção orgânica consequente, tornando a estratificação mais direccionada. Tal sistema é capaz de discriminar a morbilidade proveniente da infecção, daquela originada pela resposta gerada pelo próprio hospedeiro ao agente agressor (Pittet, D., 1995).

Apesar de toda a ambiguidade, os conceitos de sépsis, sépsis grave e choque séptico permanecem úteis na prática clínica. Actualmente, não há evidências consistentes disponíveis para que se altere esta forma de classificação. Acredita-se que as definições da Conferência de Consenso de 1991 são as mais adequadas, e desta forma devem ser seguidas na prática diária em Unidades de Cuidados Intensivos (Matos, G., 2008).

2. Patofisiologia da Sépsis

A patofisiologia da sépsis pode ser compreendida como um *continuum*. A resposta normal do hospedeiro à infecção compreende o reconhecimento do agente patogénico e a reparação dos tecidos lesados. A resposta imune compreende a imunidade inata e a imunidade adquirida. A resposta associada à imunidade inata incorpora uma reacção de primeira linha contra os agentes invasores. Esta inclui o reconhecimento de componentes microbianos, activação da fagocitose local (neutrófilos, eosinófilos, monócitos e macrófagos), activação do sistema do complemento e coagulação assim como a produção de proteínas de fase aguda. A imunidade adquirida engloba uma resposta mediada por células e imunidade humoral. Estas, juntas, dão início a uma resposta anti-inflamatória e pró-inflamatória (Rangel-Frausto, M., 1995). Se este *continuum* for perturbado, ocorre uma cadeia de eventos na qual a promoção e libertação de mediadores conduzem inevitavelmente à sépsis (Silva, E., 2008).

2.1. Resposta do sistema imune inato

As barreiras físicas inatas que protegem o organismo da invasão por microrganismos são formadas, externamente, pela pele e, internamente, pelas membranas das mucosas que revestem, por exemplo, o tracto gastrointestinal, genitourinário e respiratório. Estas formam uma barreira mecânica, protegendo contra a invasão por microrganismos patogénicos, em estreita cooperação com a flora comensal local. No ambiente hospitalar, catéteres subcutâneos, cânulas intravenosas e catéteres urinários são potenciais fontes de infecção. A sépsis pode ser causada por variados agentes patogénicos invasivos, incluindo bactérias, leveduras, fungos e parasitas (Lever, A., 2007).

Os componentes estruturais dos microrganismos responsáveis pelo desencadear do processo séptico são importantes pelo papel que desempenham no mecanismo de infecção e inflamação, bem como pelo facto de constituírem possíveis alvos terapêuticos. A endotoxina é um lipopolisacarídeo presente na membrana externa das bactérias Gram negativas. A exposição às endotoxinas e

exotoxinas produzidas por bactérias Gram positivas, desencadeia um conjunto de eventos intracelulares nas células imunológicas, do epitélio endotelial e do sistema neuro-endócrino através de padrões moleculares associados aos microrganismos (Astiz, M., 1998).

O início da resposta imune envolve receptores de reconhecimento que identificam estruturas específicas dos microrganismos. Parte desta família são os TLRs (*toll-like receptors*), os quais são proteínas transmembranares existentes nas células do sistema imune. Estas são capazes de detectar a invasão do organismo por germes. Os microrganismos possuem moléculas exclusivas na sua parede celular conhecidas como PAMPs (*pathogen-associated molecular patterns*). As PAMPs ligam-se aos TLRs na superfície das células imunológicas. Esta ligação activa, por seu turno, as vias de sinalização intracelular. No terminus desta via, são libertadas citocinas pró-inflamatórias. Os macrófagos e monócitos também participam na secreção destas citocinas. Os neutrófilos e as células endoteliais são activados e estimulados a produzir moléculas de adesão, as quais ajudam a destruir os patogénios, mas que podem também causar danos no endotélio (Cinel, I., 2007). Os macrófagos libertam mediadores do tipo VEGF (*vascular endothelial growth factor*), os quais aumentam a permeabilidade vascular e a proliferação vascular, contribuindo para a coagulação e para os processos inflamatórios (Kim, I., 2001).

2.2. Resposta imunológica adquirida

Após a interacção hospedeiro-patogénio existe uma activação global da resposta imune adquirida (Figura I-1), a qual coordena a defesa com uma resposta humoral e celular.

A resposta humoral é mediada por anticorpos (imunoglobulinas) segregados pelas células da linhagem dos linfócitos B. Estes anticorpos ligam-se aos antigénios na superfície dos agentes invasores, marcando-os para a destruição por componentes do sistema imune inato (Pier, G., 2004; Martins, P., 2006). Os patogénios são então destruídos por células fagocíticas (neutrófilos, macrófagos),

células NK (*natural killer*) ou com a ajuda da activação do complemento ou do reconhecimento por anticorpos (Delves, P., 2000).

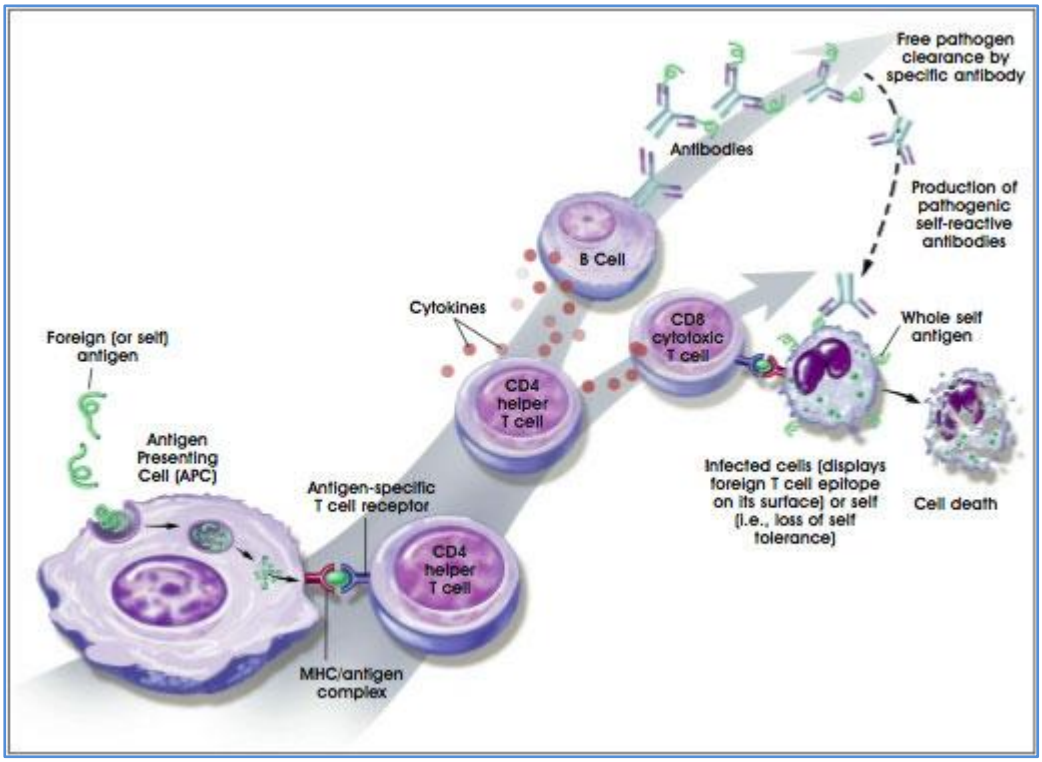

Figura I-1 Representação esquemática da resposta imunológica adquirida (www. stemcells.nih.gov/info/scireport/chapter6.asp, 08-12-2010).

A imunidade celular é uma resposta mediada por células T. Esta resposta envolve a activação de macrófagos, células NK, linfocitos-T citotóxicos específicos e a libertação de várias citocinas em resposta ao antigénio. Os linfócitos-T citotóxicos (CD8) são capazes de destruir células infectadas por vírus ou células com bactérias intracelulares. As células T auxiliares (CD4) expressam citocinas após a sua diferenciação em células T auxiliares do tipo 1 (Th1) e do tipo 2 (Th2) (ou outros subtipos). As Th1 secretam citocinas pró-inflamatórias e as Th2 expressam citocinas anti-inflamatórias. Os mediadores pró-inflamatórios [interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e o factor de necrose tumoral Alfa (TNF-α)] contribuem para a erradicação dos patogénios invasores. Os mediadores anti-inflamatórios (interleucina-4 (IL-4) e interleucina-10 (IL-10)) controlam a resposta imunológica (Opal, S., 2000; Abbas, A., 1996). Esta resposta pró-inflamatória conduz inevitavelmente a danos no tecido do hospedeiro, enquanto que a resposta anti-inflamatória leva à reprogramação dos leucócitos e altera o estado imunológico

(Annane, D., 2005). Durante esta sequência temporal, anomalias circulatórias (depleção do volume intravascular, vasodilatação periférica e depressão do miocárdio) conduzem a um desequilíbrio entre a demanda de oxigénio e o fornecimento do mesmo.

2.3. Sistema do complemento, coagulação e inflamação

O sistema do complemento e a coagulação são os principais constituintes das cascatas plasmáticas. Estes sistemas estão muito interligados e são activados por estímulos comuns (infecção, trauma). Ambos contribuem para a inflamação e interagem mutuamente em diversas etapas do processo (Markiewski, M., 2007; Castellheim, A., 2009).

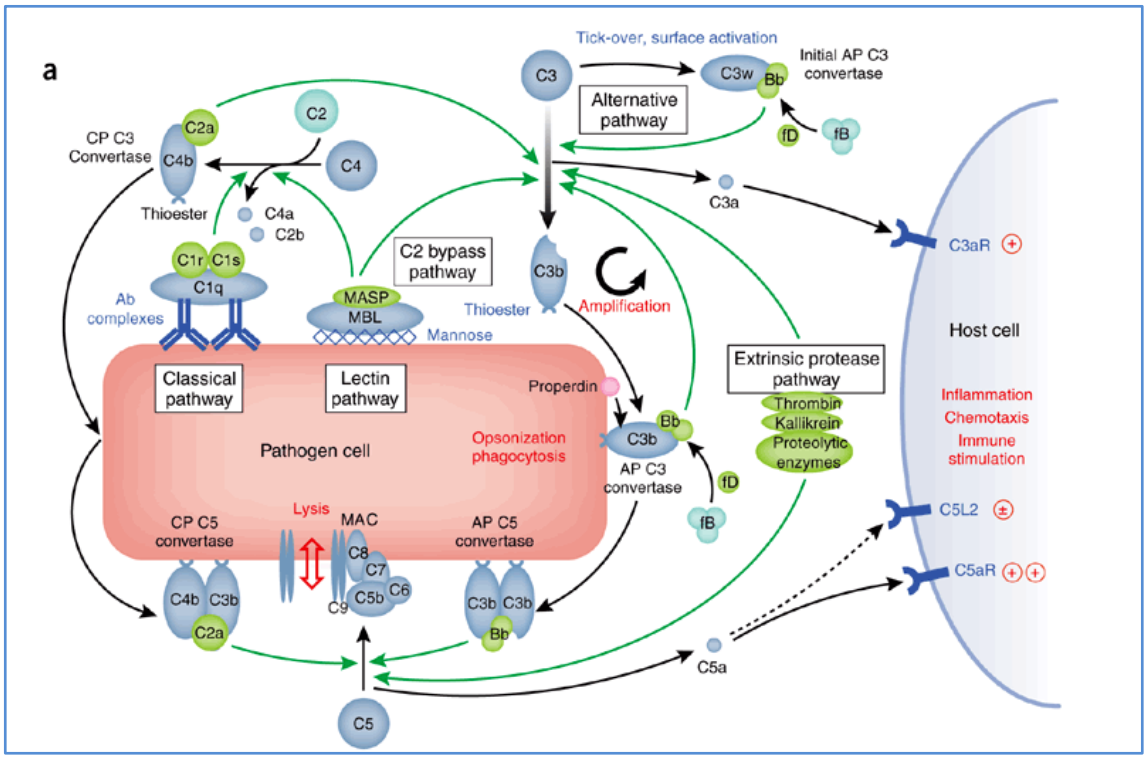

Figura I-2 Sistema do complemento (people.eku.edu/ ritchisong/301notes4b.html, 08-12-2010).

O complemento (Figura I-2) não é apenas uma parte do sistema imune inato. Pertence, também, à imunidade mediada por anticorpos. As suas funções principais englobam a defesa contra infecções causadas por bactérias piogénicas, o estabelecimento de um elo de ligação entre a imunidade inata e adquirida, e a remoção de complexos imunes e produtos resultantes da lesão inflamatória. Os

componentes do complemento em circulação são activados através de três vias: 1) a via clássica, que se inicia com a ligação do componente C1q ao complexo antigénio-anticorpo, 2) a via da lectina, iniciada pela ligação da lectina ligadora de manose (MBL) aos açúcares presentes na parede celular da bactéria, e 3) uma via alternativa, iniciada após a exposição às moléculas de superfície dos patogénios invasores. No final destas múltiplas vias, as convertases libertadas (C3, C5) promovem a fagocitose dos patogénios opsonizados por macrófagos e neutrófilos. Estas enzimas funcionam como mediadores inflamatórios e, além disso, participam na lise da membrana celular das bactérias. Os mecanismos reguladores do sistema do complemento encontram-se num equilíbrio muito delicado entre a activação do complemento na superfície dos patogénios invasores e a limitação simultânea da deposição deste nas células e tecidos normais (Walport, M., 2001; Markiewski, M., 2007).

Outro equilíbrio delicado entre factores pró-coagulantes e anticoagulantes é a base da hemostase (Figura I-3). Em condições normais, três proteínas inibidoras da coagulação previnem a sua activação descontrolada: antitrombina, proteína C activada e o inibidor da via do factor tissular (TFPI). Durante a coagulação induzida pela inflamação a função destas proteínas está comprometida. A IL-6 liberta factores que iniciam a cascata da coagulação, e o TNF-α medeia a supressão dos anticoagulantes naturais. Este último pode levar à coagulação intravascular disseminada (DIC), a qual se pensa ter um papel central na patogénese da FMO em doentes com sépsis. Por conseguinte, a sépsis é um ambiente caótico associado a uma coagulação descontrolada, uma anticoagulação deficitária e um comprometimento da remoção da fibrina (Dellinger, R., 2003; Cunneen, J., 2004; Castellheim, A., 2009).

Em condições normais, as cascatas do complemento e da coagulação possuem uma acção local. Caso sejam activadas sistemicamente como resultado da falha dos mecanismos de controlo, o efeito desta ampla reacção no organismo pode tornar-se irreversível.

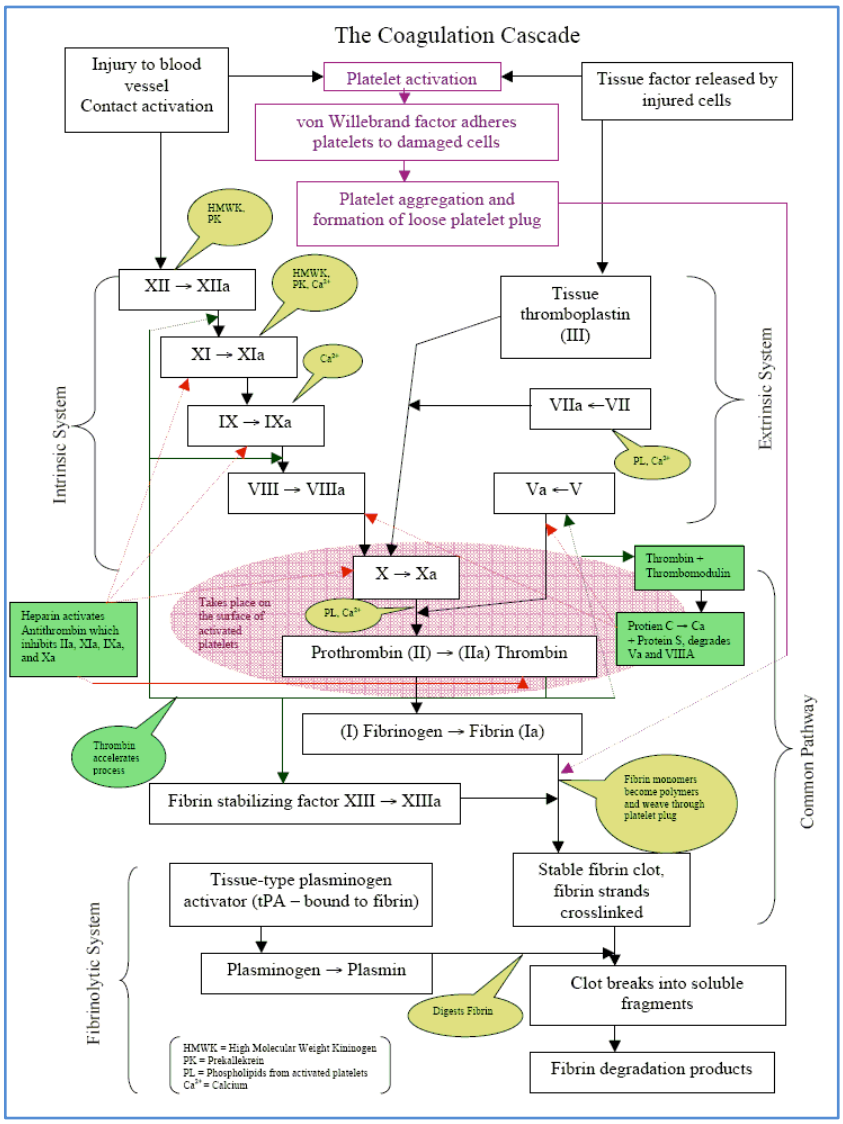

Figura I-3 Cascata da Coagulação (www. bigtomato.org/drugs/ bigcoagcascade.php, 08-12-2010).

2.4. *Endotélio e inflamação*

As células do endotélio vascular desempenham um papel activo na regulação do tónus e permeabilidade vascular, coagulação, angiogénese e activação dos leucócitos bem como das plaquetas. As células endoteliais sintetizam várias moléculas pró e anti-inflamatórias. Também sintetizam proteínas que aumentam a permeabilidade vascular aos fluidos e a moléculas de grandes dimensões (anticorpos e componentes do complemento) (Dellinger, R., 2003; Castellheim, A., 2009).

Vários microrganismos podem aderir ao endotélio, causando uma inflamação localizada e recrutamento de neutrófilos e monócitos. O incremento da permeabilidade vascular permite a migração leucocitária para os tecidos subjacentes como resposta aos factores quimiotáticos libertados no local da lesão. As endotoxinas bacterianas ou outros compostos estranhos induzem a activação dos neutrófilos e a libertação de citoqunas pró-inflamatórias. Uma forte adesão dos microrganismos activa a cascata da coagulação (Hack, C., 2001; Cunneen, J., 2004). O endotélio é um dos órgãos chave envolvidos na patogénese da sépsis. A lesão do endotélio pode originar numa hipoxia global dos tecidos ou conduzir ao choque (Hack, C., 2001). O agravamento da hipoxia tissular leva em última instância à FMO e à morte.

2.5. Falência multi-orgânica

A derradeira causa de morte nos pacientes com sépsis grave é a FMO. Os mecanismos exactos da FMO são desconhecidos. Alguns estudos indicam que o número de órgãos disfuncionais está directamente relacionado com a mortalidade, com um incremento de 20% por cada órgão em falência (Angus, D., 2001; Vincent, J., 2008). A mortalidade hospitalar devido à falência de pelo menos dois órgãos é quatro vezes superior comparada com pacientes com apenas um órgão disfuncional (Guidet, B., 2005).

Os mecanismos da FMO incluem a oclusão microvascular disseminada, o aumento de exsudatos tissulares que comprometem ainda mais a oxigenação dos tecidos e perturbações na homeostase microvascular que resultam da elaboração de substâncias vasoactivas (histamina) (Silva, E., 2008).

Os infiltrados celulares (principalmente de neutrófilos) danificam directamente os tecidos devido à libertação de enzimas lisossómicas. As citocinas pró-inflamatórias, particularmente o TNF-α, favorecem o aumento da produção de óxido nítrico, promovendo ainda mais a instabilidade vascular, o que pode contribuir também directamente para a depressão miocárdica que ocorre comummente na sépsis (Silva, E., 2008).

A hipoxia tissular em curso funciona como um indicador da progressão da FMO. A extensão da diferença entre as necessidades de oxigénio requeridas e o oxigénio fornecido está directamente relacionado com a evolução clínica da sépsis. Respostas endócrinas comprometidas devido à sépsis podem estar relacionadas com as citocinas e com distúrbios metabólicos e isquémicos no eixo hipotalâmico-pituitário e nas glândulas adrenais. Défices funcionais nas glândulas adrenais e a produção de vasopressina contribuem para a hipotensão e eventualmente à morte (Cavaillon, J., 2003; Singer, M., 2004).

3. Incidência e Prevalência de Sépsis

Actualmente, a sépsis grave constitui a principal causa de morte de origem não cardíaca em unidades de cuidados intensivos (UCI), e a décima causa de morte nos Estados Unidos. Dados do *Center for Disease Control and Prevention* (CDC, Atlanta, EUA) revelaram um aumento de 139% na prevalência de sépsis grave nos últimos dez anos, tendo este aumento sido atribuído a vários factores: maior esperança de vida da população mundial, aumento do número de procedimentos invasivos para diagnóstico e monitorização de pacientes em estado grave, emergência de microrganismos resistentes a antibióticos e, finalmente, o número crescente de pacientes imunodeprimidos tais como portadores de neoplasias, transplantados, pacientes com SIDA e com outras doenças debilitantes, como por exemplo, diabetes mellitus, alcoolismo e subnutrição, que aumentam a predisposição a infecções (Hoyert, D., 1999).

Outros factores contribuintes para a elevada mortalidade dos doentes com sépsis são a demora no diagnóstico e início tardio do tratamento (Enguix, A., 2001). Porém, quando a terapia antimicrobiana adequada é iniciada atempadamente, há redução em até 50% no desenvolvimento de choque séptico (Luzzani, A., 2003; Hotchkiss, R., 2003).

A elevada taxa de mortalidade associada a sépsis reflecte a gravidade e a complexidade desse síndrome, com apresentações clínicas heterogéneas e mecanismos fisiopatológicos ainda incompreendidos (Vincent, J., 2000; Angus, D., 2000). O seu peso nos cuidados de saúde é muito significativo. Em todo o mundo, 13 milhões de pessoas são atingidas por este síndrome e, em cada ano, cerca de 4 milhões morrem. Só nos Estados Unidos, existem cerca de 750.000 casos por ano, com 215.000 resultando em morte, e um custo anual na ordem de 16.7 biliões de dólares. No Reino Unido estima-se que esta incidência seja superior a 37.000 mortes anuais. A incidência de sépsis é superior à maioria dos principais cancros (Figura I-4), sendo mesmo superior ao cancro do pulmão, ou ao cancro da mama e intestino combinados (Figura I-5). A taxa de mortalidade para a sépsis grave é cerca de 30 a 50% e para o choque séptico, superior a 50%. Além disso, a incidência de sépsis está a crescer à medida que a esperança de vida vai

aumentando - a população idosa apresenta múltiplas co-morblidades, uma relativa imunossupressão e uma mudança no padrão dos microrganismos envolvidos (Davies, A., 2001).

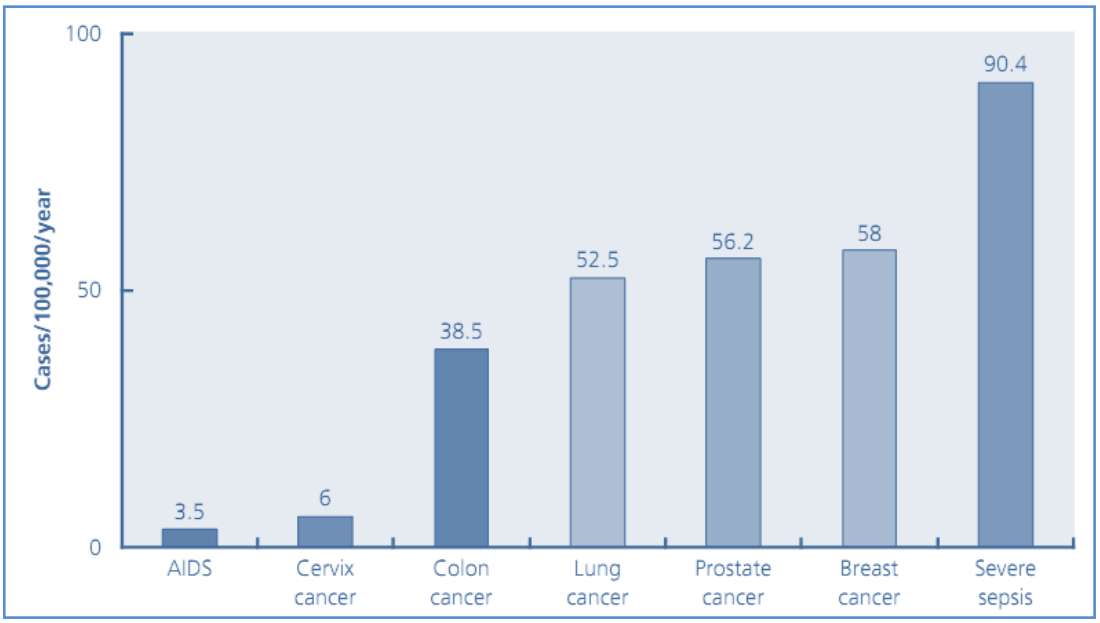

Figura I-4 Incidência de sépsis grave na Europa em comparação com as principais neoplasias e HIV (Davies, A., 2001).

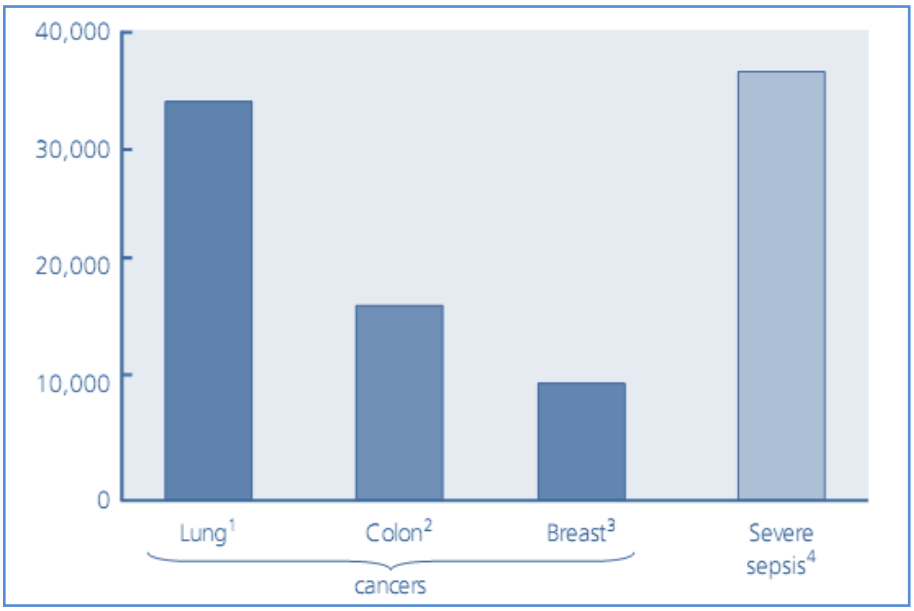

Figura I-5 Mortalidade anual da sépsis grave comparada com a dos três cancros mais mortais no Reino Unido (Davies, A., 2001).

A incidência crescente de sépsis e a elevada taxa de mortalidade a ela associada levaram a esforços globais para perceber a sua patofisiologia, melhorar o diagnóstico precoce e padronizar os procedimentos. A compreensão do espectro desta patologia é imperativa para a aferição da sua gravidade, para o estabelecimento de um prognóstico e para o desenvolvimento de novos métodos para uniformização do seu tratamento (Daniels, R., Nutbeam, T., 2009).

4. Epidemiologia da Sépsis

Apesar da introdução de novas abordagens terapêuticas, a sépsis continua a ser um desafio para a medicina clínica. A sépsis grave e o choque séptico são ambos relativamente comuns e representam uma importante causa de morbilidade e mortalidade. Nos últimos anos foram realizados vários estudos que forneceram dados epidemiológicos importantes para a determinação da frequência, factores de risco associados e até o custo relacionado com a patologia (Angus, D., 2001).

Nos Estados Unidos foram analisados os dados de mais de 6.000.000 de altas hospitalares de sete Estados, de onde se estimou a ocorrência de 751.000 casos anuais de sépsis, com uma taxa de mortalidade de 28,6%, o que conduziu a um custo por caso de 22.100 dólares (Angus, D., 2001). Utilizando a base de dados de altas do National Hospital, foram identificados 10.319.418 casos de sépsis em 750 milhões de hospitalizações num período de 22 anos. O aumento da frequência foi de 82,7 casos por 100.000 habitantes em 1979, para 240,4 casos por 100.000 habitantes no ano 2000 (Martin et al., 2000).

Nos países da União Europeia, tanto a incidência como a mortalidade da sépsis variam entre os vários estudos já efectuados. Na Escandinávia existem apenas alguns estudos a nível nacional, sendo o mais importante o estudo Norueguês realizado em 1999 e o estudo FINNSEPSIS em 2004-2005. A base de dados de saúde da Noruega foi analisada retrospectivamente para casos de sépsis grave. A incidência de sépsis grave foi de 1.5/1000 de habitantes. A sépsis severa foi diagnosticada em 31,8% dos doentes com sépsis e a mortalidade hospitalar foi de 27% (Flaatten, H., 2004). O estudo FINNSEPSIS foi um estudo prospectivo nas UCIs de 21 hospitais na Finlândia. A sépsis grave foi diagnosticada em 470 de 4.500 doentes (10,5%) admitidos nas UCIs. A incidência da sépsis severa tratada na UCI na Finlândia foi de 0,38/1000 da população adulta. A taxa de mortalidade foi de 15,5% e o número de órgãos em falência envolvidos na patologia afectaram directamente a taxa de mortalidade. Em doentes com apenas um órgão disfuncional a taxa de mortalidade foi de 11,5%. Nos doentes com três órgãos envolvidos a mortalidade subiu para os 34% (Karlsson, S., 2007).

No estudo EPISEPSIS, em França, a sépsis foi analisada prospectivamente em todas as admissões de 206 adultos nas UCIs (Unidades de Cuidados Intensivos) de hospitais públicos. (Brun-Buisson, C., 2004). A incidência de sépsis grave foi de 0.95/1000. Ao todo 14,6% dos pacientes tiveram sépsis grave ou choque séptico. A taxa de mortalidade hospitalar foi de 35% ao fim de 30 dias. Este estudo foi uma reavaliação de um estudo anterior no qual 8,4% dos pacientes tinham sépsis grave ou choque séptico e 56% faleceram no hospital. Apesar da taxa de admissão de casos de sépsis grave nas UCIs de França terem aumentado, a mortalidade hospitalar decresceu, o que sugere uma melhoria na abordagem clínica do tratamento da sépsis (Brun-Buisson, C., 1995). Num grande estudo retrospectivo realizado no Reino Unido, a incidência de sépsis grave foi de 0.46-0.66/1000 habitantes. Dos pacientes adultos admitidos à UCI, 27% tinham um quadro clínico de sépsis severa durante as primeiras 24 horas, com uma mortalidade hospitalar de 47%.

Num estudo multi-institucional, prospectivo e observacional a nível Europeu, aprovado pela Sociedade Europeia de Cuidados Intensivos, foram analisados doentes adultos, admitidos em 198 UCIs de 24 países Europeus (Tabela I-3), entre 1 e 15 Maio de 2002. Um total de 3.147 pacientes foram inscritos, com uma média de idades de 64 anos (60,5 ± 17,4). Destes 62% pertenciam ao sexo masculino. A mortalidade global da UCI e hospitalar foram, respectivamente, de 18,5 e 24,1%. A mortalidade na UCI variou entre 8% na Suiça e 35% em Portugal (Figura I-6) e a mortalidade hospitalar variou entre 14% (Suiça) e 41% (Portugal). A falência orgânica ocorreu em 2,244 pacientes (71%). Destes 1,809 (81%) já apresentavam falha orgânica aquando da admissão na UCI. Existe uma relação directa entre o número de órgãos em falência e a mortalidade. A Figura I-7 mostra a frequência da falha dos órgãos com a correspondente taxa de mortalidade; doentes sem nenhum órgão disfuncional aquando da admissão tiveram uma taxa de mortalidade de 6% enquanto aqueles com 4 ou mais órgãos envolvidos tiveram uma taxa de mortalidade de 65% (Figura I-7) (Vincent, J., 2006).

Tabela I-3 Estudo da Sociedade Europeia de Cuidados Intensivos (Vincent, J., 2006).

					Characteristics of Sepsis Patients (n = 1177)				
Country	No. of Centers	No. of Patients (%)	ICU Mortality, n (%)[a]	Hospital Mortality, n (%)[a]	Frequency, n (%)	SAPS II Score, Mean ± SD	ICU Mortality, n (%)[a]	Hospital Mortality, n (%)[a]	Severe Sepsis, n (%)
Austria	8	68 (2)	14 (21)	16 (24)[b]	26 (38)	42.5 ± 17.2	6 (23)	8 (31)	18 (27)
Belgium	19	703 (22)	86 (12)	120 (17)	188 (27)	38.7 ± 15.0	39 (21)	57 (31)[c]	125 (18)
Eastern Europe[d]	15	174 (6)	41 (24)	53 (31)[b]	83 (48)	40.2 ± 15.0	24 (29)	31 (37)	74 (43)
France	21	332 (11)	63 (19)	70 (21)	136 (41)	43.4 ± 18.0	37 (27)	44 (32)	99 (30)
Germany	21	329 (11)	39 (12)	51 (16)[e]	102 (31)	41.6 ± 15.8	16 (16)	20 (20)	78 (24)
Greece	10	109 (4)	18 (17)	23 (21)	47 (43)	47.1 ± 20.2	14 (30)	16 (34)	41 (38)
Italy	24	237 (8)	61 (26)	73 (31)[e]	89 (38)	43.4 ± 15.3	31 (35)	39 (45)[c]	75 (32)
Netherlands	7	144 (5)	33 (23)	43 (31)	56 (39)	43.8 ± 16.8	18 (32)	25 (47)[c]	49 (34)
Portugal	6	69 (2)	24 (35)	28 (41)	50 (73)	46.2 ± 14.8	16 (32)	19 (38)	44 (64)
Scandinavia[f]	16	209 (7)	29 (14)	51 (24)	74 (35)	41.1 ± 15.7	14 (19)	45 (39)	52 (25)
Spain	13	202 (6)	44 (22)[g]	49 (26)[h]	70 (35)	38.3 ± 17.0	21 (30)	26 (38)[b]	57 (28)
Switzerland	4	114 (4)	9 (8)	16 (14)	20 (18)	38.4 ± 15.4	2 (10)	4 (20)	11 (10)
UK and Ireland	34	457 (15)	122 (27)	154 (34)	236 (52)	42.6 ± 17.6	75 (32)	95 (41)	207 (45)
Total	198	3147	583 (19)[g]	747 (24)	1177 (37)	42.3 ± 16.6	313 (27)	413 (36)[i]	930 (30)

[a]Valid percentages are presented after exclusion of missing values; [b]2 values missing; [c]3 values missing; [d]Czech Republic, Poland, Romania, Slovenia, Slovakia, Hungary, Serbia and Montenegro, and Israel; [e]4 values missing; [f]Denmark, Finland, Sweden, and Norway; [g]1 value missing; [h]12 values missing; [i]13 values missing.

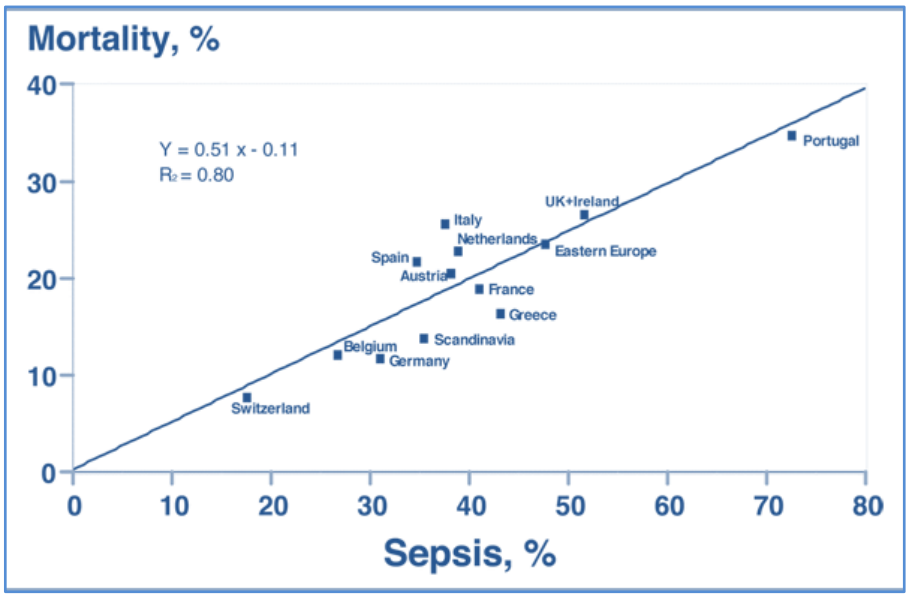

Figura I-6 Mortalidade na UCI de vários países da Europa devido a Sépsis (Vincent, J., 2006).

Com a excepção do Estudo FINNSEPSIS, a ocorrência e as taxas de mortalidade de sépsis grave tendem a ser semelhantes. A maior parte dos estudos são realizados nas UCIs e na população adulta, considerando todos os grupos admitidos nos cuidados intensivos (cirúrgicos e não cirúrgicos). A quantidade de doentes com neoplasias nestes estudos varia entre 4.6% e 11.6%, mas o número

de doentes hematológicos com neutropenia não foi mencionado (Cheng, B., 2007; Karlsson, S., 2007; Blanco, J., 2008).

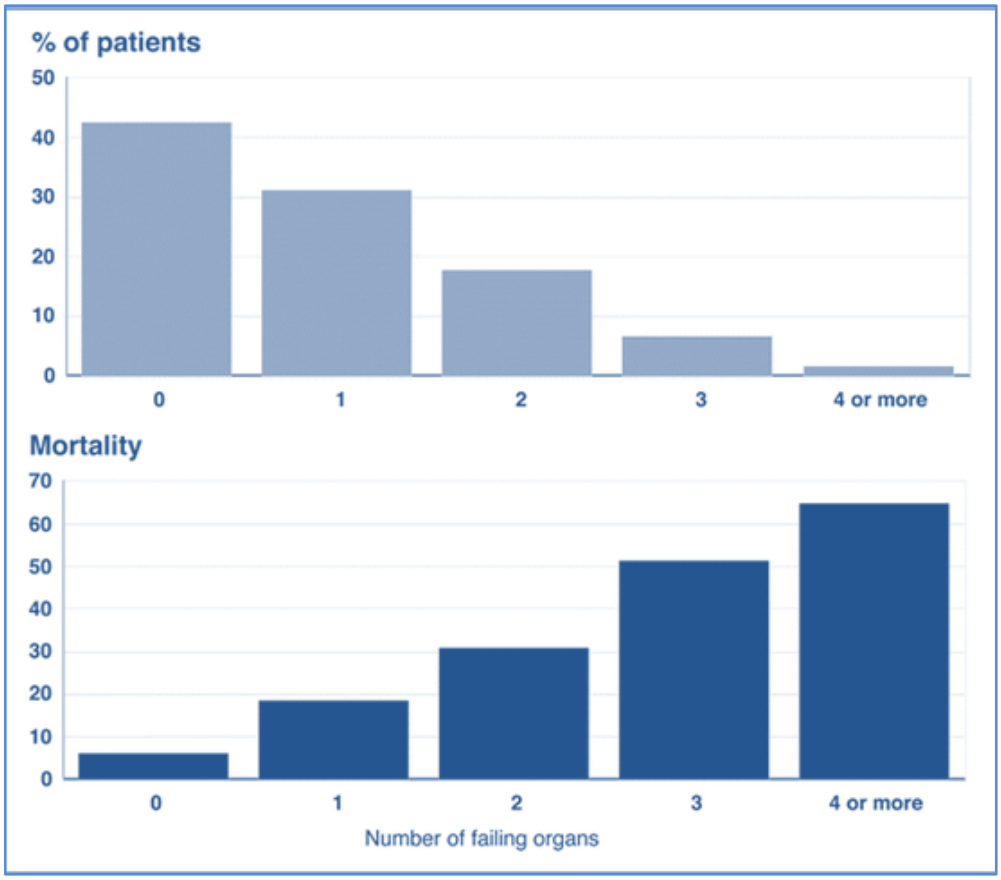

Figura I-7 Número de órgãos em falha relativamente à taxa de mortalidade (Vincent, J., 2006).

Um achado interessante no estudo FINNSEPSIS foi que apesar de existirem orientações para o tratamento da sépsis grave em adultos (Ruokonen, E., 2005) o cumprimento destas revelou-se muito deficiente. Este também é o cenário a nível internacional (Cabana, M., 1999; Kortgen, A., 2006), apesar de simples intervenções terapêuticas poderem salvar um número significativo de vidas (Dellinger, R., 2008).

Sabe-se que a janela interventiva na evolução da sépsis é curta. A transição de uma situação ligeira para uma situação grave ocorre durante as críticas "*golden hours*" quando o reconhecimento e um tratamento agressivo produzem um benefício máximo em termos da evolução clínica da patologia.

5. Etiologia da Sépsis

As culturas de sangue produzem resultados positivos em 30-60% dos pacientes nos estudos sobre a sépsis. Na maior parte dos estudos efectuados a percentagem de hemoculturas positivas era menos de 60%, o que vem evidenciar o facto de que a sépsis grave é, principalmente, um diagnóstico clínico (Flaatten, H., 2004; Vincent, J., 2006; Karlsson, S., 2007).

Nos estudos realizados nas UCIs, quer as infecções nosocomiais quer as infecções adquiridas na comunidade, o tracto respiratório tem sido o foco principal da infecção, seguido do abdómen, tracto urinário e pele ou tecidos moles (Angus, D., 2001; Brun-Buisson, C., 2004; Kumar, A., 2006; Nguyen, H., 2006; Vincent, J., 2006; Blanco, J., 2009;). No estudo recente FINNSEPSIS (Karlsson, S., 2007) as hemoculturas produziram resultados positivos em 40% dos pacientes com sépsis grave. Destas, 59% revelaram bactérias Gram positivas e 33% revelaram bactérias Gram negativas. O local de infecção mais comum foi o sistema respiratório (43%), seguido da cavidade abdominal (32%) e das infecções da pele ou tecidos moles (10%). Em doentes com idade superior a 65 anos verificou-se que o tracto urinário é um foco de infecção muito comum (Meyers, B., 1989).

Desde os anos 80, as bactérias Gram positivas têm vindo a substituir gradualmente as Gram negativas na origem de sépsis (Nguyen, H., 2006; Mackenzie, I., 2007). Este facto foi demonstrado, com algumas excepções, na maior parte dos estudos desta década (Brun-Buisson, C., 2004; Sundararajan, V., 2005; Vincent, J., 2006). Num estudo chinês alargado (Cheng, B., 2007), as bactérias Gram negativas foram o isolado mais comum nas culturas de sangue. Este facto foi também reportado noutro estudo (Valles, J., 2003) onde 339 pacientes foram admitidos com bacterémia adquirida na comunidade (25% com sépsis, 20% com sépsis severa e 55% com choque séptico). Os patogénios mais comuns foram *Escherichia coli* (25%), *Streptococcus pneumoniae* (16%) e *Staphilococcus aureus* (14%).

Foi demonstrado que, se a terapia antimicrobiana eficaz for iniciada durante a primeira hora após os primeiros sintomas de hipotensão, existe uma probabilidade

de sobrevivência de cerca de 80%. Cada hora adicional de atraso no início da antibioterapia reduz a taxa de sobrevivência em cerca de 7,6% (Kumar, A., 2006).

No inicio da patologia, tanto o foco de infecção como a natureza do agente microbiano são, geralmente, desconhecidos. A antibioterapia deve ser então guiada pelos sinais e sintomas apresentados, achados clínicos no leito do doente e conhecimento da resistência microbiana local. As alterações epidemiológicas das infecções sanguíneas nosocomiais podem ser insidiosas, tal como foi observado recentemente na Tailândia e na República da Coreia (Hsueh, P., 2005; Kang, C., 2005; Wu, C., 2006), onde se caracterizam pelo predomínio acentuado de bactérias Gram negativas com uma resistência muito elevada aos antimicrobianos.

6. O Doente Oncológico

A sépsis grave é uma complicação comum no paciente oncológico, com uma estimativa de 16,4 casos por 1.000 pessoas com neoplasias. A incidência de sépsis grave no doente oncológico pode ser de três a cinco vezes superior ao doente não oncológico, dependendo da faixa etária (Figura I-8) (Williams, M., 2004).

As infecções são uma complicação comum nos doentes com neoplasias, levando com frequência a hospitalizações ou ao seu prolongamento,e a uma disfunção orgânica aguda (sépsis grave). A imunossupressão como consequência das terapias oncológicas ou da própria neoplasia, pode conduzir a infecções graves, as quais são uma causa de morte frequente nesta população (Chanock, S., 1993; Allegretta, G., 2003). Contudo, são ainda escassos os dados relacionados com a epidemiologia de sépsis severa em doentes oncológicos.

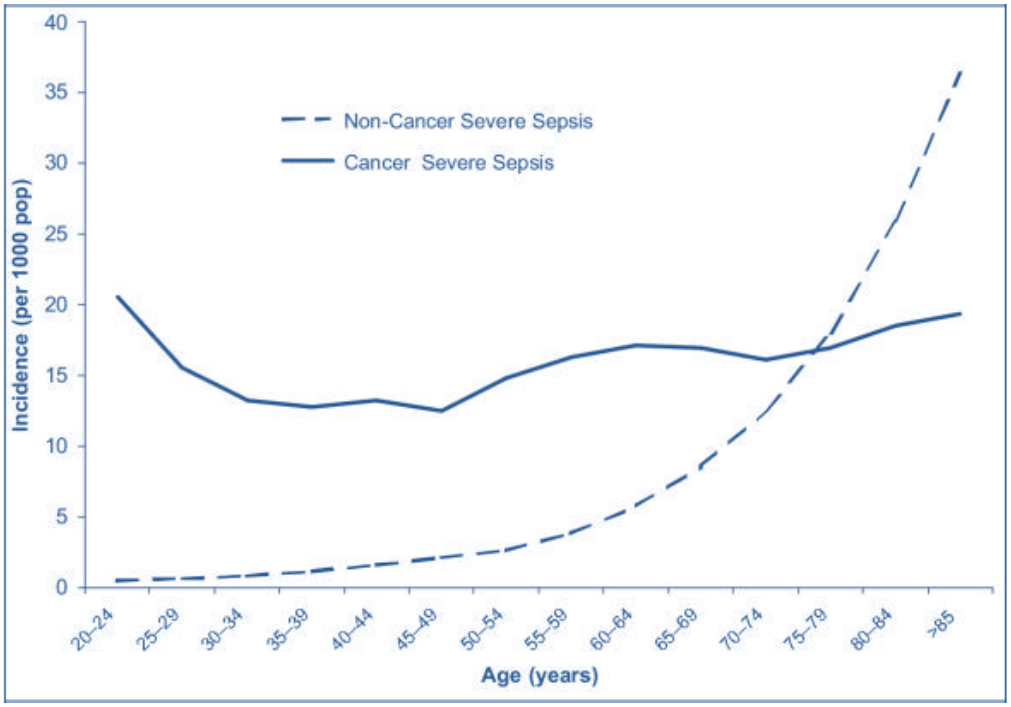

Figura I-8 Incidência de sépsis severa (dependente da idade, em 1000 habitantes) em doentes com e sem cancro (Williams, M., 2004).

Cerca de um em cada seis doentes com sépsis grave têm uma doença oncológica subjacente, tendo um risco de morte mais elevado 30% comparado com doentes não oncológicos (Angus, D., 2001). Este risco pode ser agravado por infecções oportunistas, pela produção tumoral de citocinas ou pelo exacerbar da disfunção

orgânica secundária devido a uma obstrução localizada causada pelo tumor. A população oncológica é muito heterogénea, com uma elevada variação no grau de imunossupressão e sobrevivência a longo prazo. Doentes com neoplasias do foro hematológico têm mais probabilidade de imunossupressão do que os doentes com tumores sólidos. Os tumores nos principais sistemas de órgãos, tais como o pulmão ou o rim, têm uma maior probabilidade para causar uma disfunção por acção directa (Angus, D., 2001).

A sépsis grave tem uma elevada taxa de mortalidade no doente oncológico, estimando-se que esta representa 10% de causa de morte nos doentes internados com neoplasias. Esta estimativa pode estar sub-avaliada pois muitos doentes oncológicos morrem em casa com cuidados ao domicílio (Christakis, N., 1996; Hunt, R., 1999). À semelhança da incidência, a mortalidade por sépsis grave aumenta significativamente com a idade em doentes não oncológicos. Contudo, os doentes oncológicos têm sempre uma taxa de mortalidade superior a um doente não oncológico independentemente da faixa etária (Figura I-9) (Williams, M., 2004).

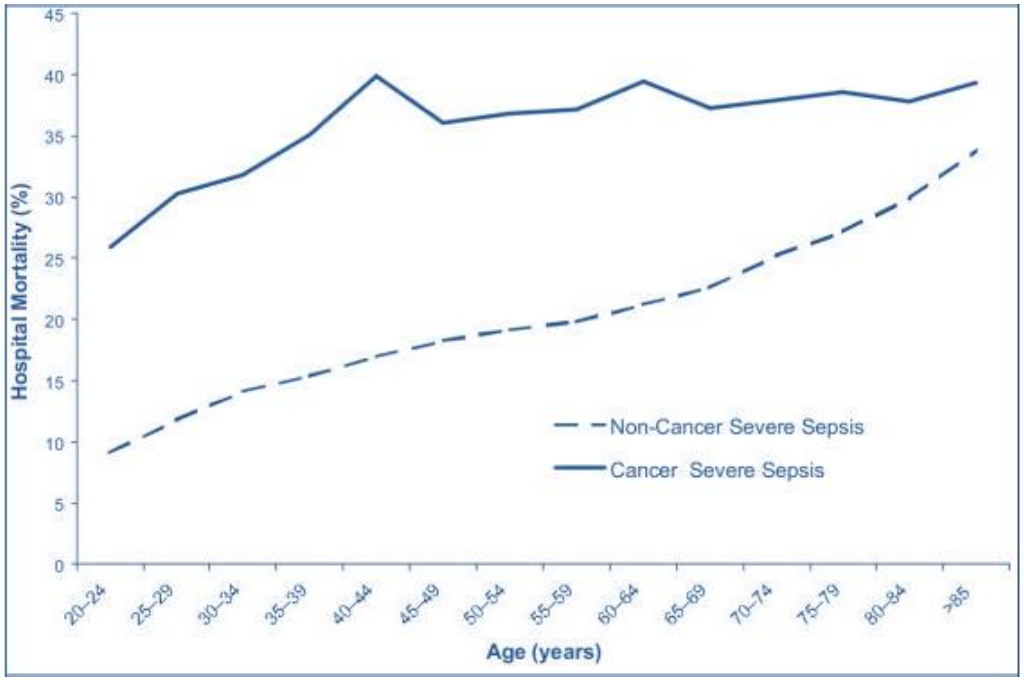

Figura I-9 Mortalidade hospitalar devido a sépsis grave (dependente da idade) em doentes com e sem cancro (Williams, M., 2004).

7. Infecções sanguíneas em doentes oncológicos

Durante as últimas três décadas, vários estudos demonstraram uma alteração na etiologia das infecções bacterianas em doentes oncológicos. Inicialmente observava-se um predomínio de bacilos Gram negativos que, aos poucos deu lugar aos cocos Gram positivos (Ramphal, R., 2004, Kanamaru, A., 2004). Antes da descoberta da meticilina, os *Staphylococcus aureus* resistentes à penicilina eram a principal ameaça para os doentes neutropénicos. A taxa de mortalidade derivada da infecção por *Staphylococcus aureus* excedia, então, os 50% (Bodey, G., 2009). A meticilina ficou disponível durante os anos 60, o que permitiu curar a maioria das infecções causadas por este agente infeccioso. Durante as duas décadas seguintes, as bactérias Gram negativas surgiram como o principal agente causador de infecção (Günther, G., 1991). Infecções por *Pseudomonas aeruginosa* eram comuns e estavam associadas com uma elevada taxa de mortalidade (Hersh, E., 1965).

Nos finais dos anos 80 e início dos anos 90, os microrganismos Gram positivos re-emergiram (Rubio, M., 1994, Viscoli, C., 1994). O agente infeccioso mais comum era *Staphylococcus* coagulase negativa, particularmente *Staphylococcus epidermidis*. Possíveis causas para este acontecimento incluem o uso generalizado de catéteres venosos centrais, uma incidência elevada de mucosite orofaríngea e danos intestinais devido ao uso de regimes de quimioterapia mais intensivos e a uma mais profunda e prolongada neutropenia. Alia-se a estes, o uso profilático de antibióticos baseados em quinolonas, que suprimirem os microrganismos aeróbios Gram negativos que colonizam o tracto intestinal mas não suprimem eficientemente a flora Gram positiva. Sabe-se que a administração de bloqueadores dos receptores da histamina H2 ou inibidores da bomba de protões também pode promover infecções devido à redução do pH gástrico, que favorece o desenvolvimento da flora Gram positiva da orofaringe (Costa, S., 2004; Picazo, J., 2004; Sharma, A., 2005).

A mucosite, uma consequência citotóxica muito comum da quimioterapia (Sonis, S., 2001), predispõe os doentes a infecções originárias da sua própria flora – principalmente com origem na orofaringe e tracto gastro-intestinal. Os

microrganismos Gram positivos clinicamente significativos incluem estreptococos do grupo viridans (*Streptococcus millieri* ou *Streptococcus mitis*), pertencentes à flora comensal da orofaringe e do tracto gastro-intestinal. (Hughes, W., 2002; Klastersky, J., 1998). Outros microrganismos pertencem aos grupos *Enterococci*, *Stomatococci*, *Leucoostoc*, *Lactobacillus*, *Corynebacterium e alguns Staphylococcus* coagulase negativa, são tradicionalmente considerados contaminantes nas hemoculturas.

Existem diferenças na frequência de bacterémias por Gram negativos entre países desenvolvidos e países em vias de desenvolvimento (Gaytan-Martinez, J., 2000; Baskaran, N., 2007; Kanafani, Z., 2007; Oliveira, A., 2007). Nos países desenvolvidos, a quantidade de bacterémias por Gram negativos continua elevada, provavelmente devido ao uso menos frequente de catéteres centrais e ao uso de antibioterapia profilática (Pizzo, P., 1999; Feld, R., 2008). Esta distribuição pode, contudo, estar a reverter devido ao facto de os microrganismos Gram-negativos estarem a ressurgir (Gaytan, M., 2000; Picazo, J., 2005; Feld, R., 2008). Apesar da incidência geral dos microrganismos Gram-negativos como causa de infecções bacterianas nos países desenvolvidos ter diminuído, estas continuam a ser um grave problema. Isto deve-se, principalmente, ao número crescente e alarmante de estirpes multi-resistentes (Oliveira, A., 2007; Tumbarello, M., 2009). Num estudo recente a distribuição das bacterémias em doentes oncológicos neutropénicos era de 57% para germes Gram positivos, 34% para germes Gram negativos e 10% para infecções poli-microbianas (Klastersky, J., 2007). As taxas de mortalidade eram de 5%, 18% e 13%, respectivamente. Os bacilos Gram negativos mais comuns são as espécies de *Klebsiella* e *Enterobacter,* assim como como as de *Stenotrophomonas maltophilia* e *Burkholderia cepacia* bem como *Pseudomonas* (Chatzinikolaou, I., 2000; Picazo, J., 2004).

8. Marcadores biológicos da Sépsis (PCR e Procalcitonina)

Na sépsis grave e outras infecções críticas, o nível de biomarcadores em circulação depende da origem e da amplitude da infecção (Schuetz, P., 2007). Os microrganismos podem, além disso, induzir respostas distintas nos vários órgãos, resultando numa diversidade variável de marcadores biológicos e de mediadores. É óbvio que qualquer infecção é demasiado complexa para ser reduzida à interpretação de um único valor de um qualquer marcador. Não obstante, a dinâmica dos níveis dos marcadores tem implicações prognósticas, e o aumento dos seus níveis está associado a um desfecho clínico desfavorável. Ao invés, o decréscimo do nível destes marcadores sugere uma evolução clínica favorável (Schuetz, P., 2007). A utilização dos biomarcadores pode ser uma ferramenta útil e valiosa no dilema do diagnóstico de sépsis grave, especialmente no que toca à distinção deste tipo de sépsis de outras formas menos severas nas primeiras fases da patologia.

Várias estratégias terapêuticas são eficientes nas infecções sépticas, mas a patologia deve ser diagnosticada atempadamente para poder ser convenientemente tratada. É preferível iniciar o mais rapidamente possível a abordagem terapêutica da sépsis, mesmo desconhecendo a sua etiologia, do que efectuar um tratamento mais específico mas iniciá-lo mais tarde (Meisner, M., 2005). Este facto torna-se muito evidente na sépsis neutropénica, onde os sintomas e sinais clínicos de infecção podem ser pouco claros ou mesmo ausentes. Por conseguinte, o uso de biomarcadores de prognóstico de infecções bacterianas está aconselhado na terapia de doentes neutropénicos (Meisner, M., 2005).

O uso e interpretação destes marcadores devem ser independentes da contagem de neutrófilos e da actividade da doença subjacente. Um marcador de prognóstico ideal deverá ter a capacidade de distinguir as infecções sépticas de outras causas graves de SIRS. Também deverá reflectir a gravidade da infecção, distinguindo períodos de elevado risco, das complicações de risco reduzido (Pfafflin, A., 2009).

A contagem leucocitária, com a correspondente fórmula, encontra-se entre os marcadores mais antigos de infecção. É, no entanto, inútil em doentes com neutropenia acentuada. A proteína C-reactiva (PCR), a procalcitonina (PCT) e as citocinas pro-inflamatórias (IL-6 e IL-8) são marcadores muito úteis de inflamação. Além destes, o doseamento de VEGF, peptídeos natriuréticos e lactatos tem sido um objecto de estudo persistente. Entre outros potenciais futuros candidatos encontram-se a lactoferrina, a neopterina e as prostaglandinas (Pfafflin, A., 2009).

8.1. Proteína C-reactiva

A PCR é uma das proteínas de fase aguda, uma vez que os seus níveis séricos sobem rapidamente em resposta a processos inflamatórios. A PCR é produzida nos hepatócitos, predominantemente sob o controlo transcripcional da (IL-6). Cerca de 90% da população saudável tem níveis de PCR <3mg/L (Shine, B., 1981). Após o estímulo inicial a síntese começa prontamente, e os níveis séricos de PCR elevam-se acima de 5 mg/L em cerca de 6 horas. O pico é atingido por volta das 48 horas. O único determinante da concentração circulante de PCR é a sua taxa de síntese, a qual reflecte directamente a intensidade do processo patológico que estimulou a sua produção. Quando o estímulo cessa, a concentração da PCR em circulação decai rapidamente (Vigushin, D., 1993).

A produção da PCR faz parte de uma resposta não-específica de fase aguda à maior parte das inflamações, infecções e lesões dos tecidos. O aumento persistente na PCR pode também ocorrer em doenças inflamatórias crónicas, incluindo doenças auto-imunes e neoplasias. Foi demonstrado que esta proteína desempenha um papel importante na defesa do hospedeiro, possuindo uma acção complementar na opsonização e na indução da fagocitose (Szalai, A. 2002; Foglar, C., 2003). O uso da PCR também tem sido alargado à monitorização das infecções e das doenças auto-imunes. A sua concentração tem maior utilidade clínica quando combinada com o conhecimento completo de todos os outros resultados clínicos e patológicos (Pepys, M., 2003; Pfafflin, A., 2009). De notar

que, em casos de patologia hepática grave, a PCR é produzida a um ritmo mais lento (Mackenzie, I., 2006).

O uso da determinação da PCR é comum em muitos países da Europa (Gabay, C., 1999), principalmente devido ao seu baixo custo e à fácil disponibilidade na prática clínica diária. Em muitos estudos, a PCR tem sido utilizada como factor de comparação com outros marcadores de inflamação, devido principalmente à sua cinética e ampla utilização em várias doenças infecciosas (Gabay, C., 1999).

O tempo que medeia entre a suspeita e o diagnóstico efectivo de sépsis é crítico. Em muitos estudos recentes relacionados com a sépsis concluiu-se que se a cinética inicial da PCR for lenta, a sua importância como marcador precoce de infecção séptica diminui. Verificou-se que a PCR atingia o seu pico 24 horas após a ocorrência do pico de procalcitonina (PCT) em pacientes com bacterémia (Rintala, E., 2001). Resultados semelhantes de outro estudo (Castelli, G., 2004), mostraram que as concentrações de PCT aumentavam mais rapidamente que as de PCR em doentes com sépsis grave (Kallio, R., 2000). A utilidade diagnóstica da PCR e de outros marcadores inflamatórios foi estudada em doentes com neoplasias com suspeita de infecção Apenas a PCT pareceu ser um bom marcador para descriminar pacientes bacterémicos de pacientes não bacterémicos (Kallio, R., 2000).

Os resultados dos estudos em doentes neutropénicos são semelhantes aos dos que foram efectuados em doentes sem neutropenia (Rose, P., 1981). A PCR pode identificar doentes com infecção no entanto, quando o intervalo de tempo é curto (< 12 horas), a capacidade predictiva da PCR decresce significativamente. Quando o estudo da cinética durante infecções em doentes com leucemia foi efectuado, chegou-se à conclusão que níveis de PCR superiores a 100 mg/L eram indicativos de infecção (Rose, P., 1981). O aumento dos níveis de PCR> 40 mg/L após 2 ou 3 dias pode ser sugestivo de infecção enquanto que níveis> 200 mg/L por mais de 5 dias durante estados neutropénicos, estava associado a uma taxa de mortalidade de 50% (Manian, F., 1995). Num outro estudo, observou-se que os níveis de PCR eram significativamente mais elevados em doentes do foro hematológico com bacterémia e nos doentes em que o foco de infecção estava

identificado, do que naqueles com febre de origem desconhecida. Durante as primeiras 10 horas, a sensibilidade da PCR é de 42% e a sua especificidade é de 76% para a bacterémia, com um valor de preditibilidade positiva de 33%. A PCR atinge a sua concentração máxima após 20 a 30 horas de febre neutropénica em doentes com bacterémia (Rintala, E., 1992). Noutro estudo não foram identificadas diferenças nas concentrações de PCR, numa fase mais precoce, entre doentes neutropénicos, com ou sem bacterémia (von Lilienfeld-Toal, M., 2004). Resultado semelhante foi ainda obtido num outro estudo que refere que a concentração de PCT aumenta na fase inicial nos doentes bacterémicos, atingindo o seu nível máximo 24 horas após a instalação da febre. A PCR também atinge o seu pico 24 horas após o início da febre, mas não permite distinguir doentes bacterémicos de doentes não bacterémicos (Sandri, M.; Passerini, R., 2008).

8.2. Procalcitonina

Em 1996 a investigação no campo dos parâmetros laboratoriais para o diagnóstico das patologias inflamatórias, conduziu à revelação de uma nova molécula útil para esses casos. A partir de estudos efectuados sobre a Calcitonina (CT), observou-se que esta é biosintetizada a partir de uma pró-hormona de maior tamanho, a Procalcitonina (PCT). A PCT encontra-se entre os mais recentes marcadores biológicos para o diagnóstico, monitorização terapêutica e avaliação do prognóstico de processos inflamatórios sistémicos de etiologia infecciosa, embora também tenha sido descrita a sua utilidade para outras etiologias que não as infecciosas (Woodhead, M., 2008).

Com uma sequência de 116 aminoácidos e com 13KDa de peso molecular, a PCT é constituída por três péptidos. A NProCT (sequência de 57 aminoácidos na terminação amina) a CT imatura na posição central, e uma sequência de 21 aminoácidos na terminação carboxil, o péptido CCP-I (Figura I-10) (Becker, K., 2008).

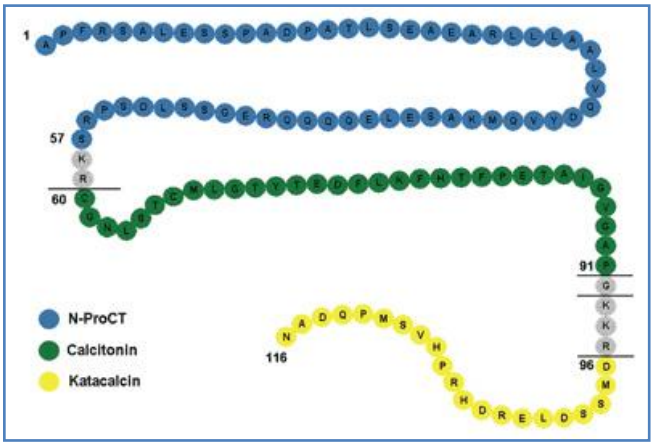

Figura I-10 Representação esquemática da sequência de aminoácidos da procalcitonina (www.aacc.org/publications/cln/2009/july/Pages/series0709.aspx, 08-12-2010)

A nível bioquímico a PCT é considerada uma *hormocina* (do inglês *hormokine*), podendo comportar-se como hormona ou, em caso de uma infecção ou inflamação como citocina (Becker, K., 2008). Como biomarcadores de infecção e mediadores da inflamação o seu papel nestes processos pode ser benéfico, ao participar na resposta imune contra os microrganismos invasores, ou prejudicial quando presente em elevadas concentrações. Em diversos modelos animais a neutralização das *hormocinas* durante os processos infecciosos, mostrou benefícios em termos da sobrevivência (Christ-Crain, M., 2007).

A CT e a PCT, foram inicialmente utilizadas como marcadores para detecção e seguimento da terapia de tumores neuroendócrinos. Mais tarde, demonstrou-se que os níveis de PCT estão aumentados em doentes com inflamação sistémica grave (trauma, infecções bacterianas sistémicas e sépsis). Os níveis de PCT são indetectáveis em indivíduos saudáveis.

As evidências científicas existentes indicam que sob determinados estímulos infecciosos ou inflamatórios graves, são detectados no sangue elevadas concentrações dos precursores da CT, dos quais a PCT é o principal e mais abundante, sem a correspondente elevação nos níveis séricos desta (Meisner, M., 2000). Sob condições fisiológicas e com estímulos hormonais e metabólicos adequados, a CT é produzida e secretada para a circulação pelas células C da glândula tiróide, após proteólise intracelular dos seus precursores no aparelho de Golgi, sendo os níveis de circulação da PCT muito baixos (0,05 ng/ml). Sob determinadas condições (Tabela I-4), o processo de clivagem supracitado não

ocorre, havendo libertação da PCT intacta na corrente sanguínea, podendo as suas concentrações ultrapassar os 1000 ng/ml (Meisner, M., 2002).

Tabela I-4 Condições clínicas nas quais ocorre aumento dos níveis séricos dos precursores da PCT. Adaptado de Meisner, M., 2002.

Sépsis, com ou sem infecção bacteriana documentada; condições relacionadas com a sépsis, tais como pancreatite, queimaduras severas, politrauma, enfarte do miocárdio; infecções bacterianas sistémicas decorrentes de pneumonia ou pielonefrite; virémia ou fungémia severas ocasionais; malária severa;
Carcinoma medular da tiróide;
Pneumonite por aspiração ou inalação;
Síndrome da Dificuldade Respiratória do Adulto (SDRA);
Hiperplasia pulmonar neuroendócrina decorrente de doença pulmonar obstructiva crónica ou bronquite crónica relacionada com o tabaco;
Carcinoma de células pequenas do pulmão;
Carcinoma de células não-pequenas do pulmão;
Tumor carcinóide;
Outros tumores neuroendócrinos (feocromocitoma, tumor dos ilhéus pancreáticos);
Outros carcinomas não neuroendócrinos, tais como o carcinoma da mama.

Estes dados, aliados à demonstração de níveis elevados de PCT nos pacientes tiroidectomizados (Becker, K., 2008), permitiram concluir pela existência de uma fonte extra-tiroideia de PCT representada pelos monócitos circulantes e aderentes às células dos parênquimas pulmonar, intestinal, renal, hepático, pancreático, cerebral e muscular (Meisner, M., 2002; Pugin, J., 2005; Becker, K., 2008). Nos estados inflamatórios ou infecciosos graves observa-se um aumento substancial na expressão do RNAm da CT numa grande variedade de tecidos extra-tiroideos (Becker, K., 2008). No entanto, são as infecções bacterianas o principal estímulo primário para o aumento da expressão do gene CALC-1, directamente através das endotoxinas e exotoxinas bacterianas libertadas no plasma, principalmente os lipopolissacarídeos (LPS) presentes na parede celular, ou indirectamente através

de factores humorais (pelos mediadores FNT-α, IL-6, IL-1b e IL-2) ou da imunidade celular. Quer as endotoxinas, quer as citocinas vão ter uma acção supressora a nível do aparelho de Golgi, não ocorrendo a clivagem proteolítica da PCT, o que justifica os níveis normalizados de CT. Adicionalmente, constata-se que uma vez iniciada esta via de síntese da PCT (comportamento como citocina), esta se revela estável à degradação enzimática, apresentando uma semi-vida de cerca de um dia, bastante superior à da CT que é de apenas alguns minutos (Meisner, M., 2002; Becker, K., 2008). Outra explicação para o aumento da PCT sem o correspondente aumento da CT, é que nos estados inflamatórios e infecciosos severos ocorrerá uma via constitutiva em células que carecem de grânulos secretores, o que permite ultrapassar grande parte do processamento enzimático (Meisner, M., 2002; Linscheid, P. et al, 2003).

Os níveis de PCT elevam-se rapidamente (2-4 horas) nas formas mais graves de inflamação sistémica ou de infecções bacterianas. Foi demonstrado, em muitos estudos, que as concentrações séricas de PCT se elevam mais rapidamente que as concentrações de PCR em doentes com sépsis (Rintala, E., 2001;von Lilienfeld-Toal, M., 2004).

As condições clínicas nas quais há envolvimento de endotoxinas bacterianas – sépsis, choque séptico, inflamação sistémica e SFMO – caracterizam-se por valores muito elevados de PCT (Meisner, M., 2002). Condições clínicas inflamatórias não associadas a estímulos infecciosos – após grandes cirurgias, politraumatismos ou recém-nascidos – também podem desencadear produção de PCT, mas nestes casos os valores raramente excedem os 5 ng/ml. Pequenas elevações também se podem observar eventualmente, embora nem sempre, em infecções bacterianas localizadas ou limitadas a um determinado órgão. Existe uma estreita associação entre a doença inflamatória subjacente, a extensão em que determinado órgão é afectado, a gravidade da doença e os níveis plasmáticos de PCT, havendo um rápido decréscimo desses níveis assim que o estímulo seja removido e aumento proporcional à gravidade da patologia (Figura I-11.) (Meisner, M., 2002).

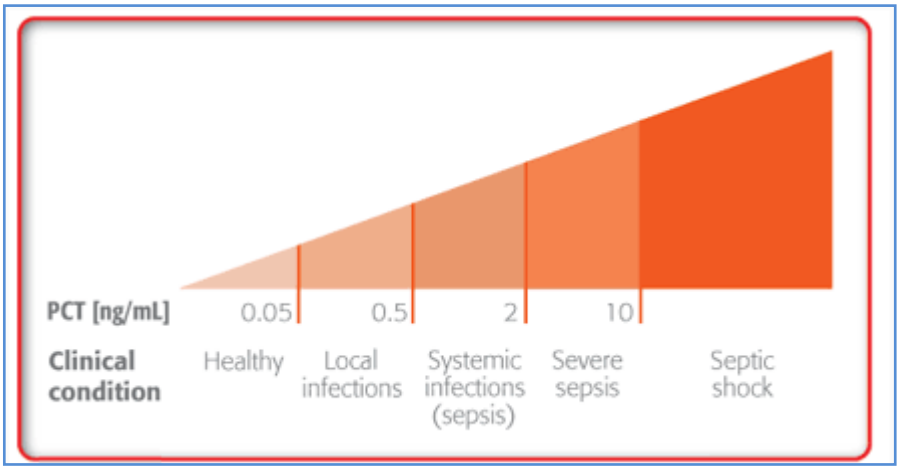

Figura I-11 Aumento nos valores de PCT reflectindo o desenvolvimento de uma situação saudável até aos estádios mais graves de doença (http://www.biomerieux-diagnostics.com, 08-12-2010)

O ponto de separação difere de acordo com o cenário clínico. As concentrações normais de PCT no plasma e no soro situam-se abaixo dos 0,05 ng/mL, considerando-se patológicos os valores acima deste limite (Meisner, M., 2000). As infecções bacterianas que desencadeiam uma resposta inflamatória sistémica mínima, cursam com valores entre 0,5 e 2 ng/mL; valores entre 2 e 10 ng/mlL são considerados moderadamente elevados, enquanto que acima dos 10 ng/mL são quase exclusivamente devidos a sépsis severa ou choque séptico – podendo atingir os 1000 ng/mL. Estes diferentes limites permitem o diagnóstico diferencial entre as várias condições indutoras de PCT e as infecções bacterianas graves (Meisner, M., 2000).

Os valores de referência anteriormente apresentados devem apenas ser considerados linhas orientadoras pois existem muitas variáveis que interferem neste resultado: contexto clínico em que o doente é abordado, local e extensão da infecção e co-morbilidades.O clínico deve usar estes valores em conjunto com as restantes informações clínicas e laboratoriais para uma correcta interpretação e tomada de decisão. Também se deve ter em conta os falsos positivos e os falsos negativos. Se por um lado valores elevados não são sinónimos de infecção bacteriana sistémica, por outro, valores baixos não devem ser usados isoladamente para excluir um processo infeccioso (Meisner, M., 2002) (Tabela I-5 e I-6).

Tabela I-5 Valores de referência da PCT em casos de infecção bacteriana sistémica. Adaptado de Meisner, M., 2002.

AMPLITUDES DE REFERÊNCIA E INTERPRETAÇÃO DOS VALORES DE PCT	
PCT ‹ 0,05 ng/ml – VALORES NORMAIS	
Indivíduos saudáveis (idade ≥ a 3 dias de vida)	Ausência de resposta inflamatória sistémica
PCT ‹ 0,5 ng/ml – RESULTADO MENSURÁVEL MAS CLINICAMENTE INSIGNIFICANTE	
Resposta inflamatória minor ou insignificante Possível inflamação/infecção localizada Baixa probabilidade de infecção sistémica (sépsis)	Não excluir infecção/inflamação; considerar infecção localizada ou determinação muito precoce Baixo risco de progressão para sépsis severa
PCT ≥ 0,5 ng/ml e ‹ 2 ng/ml – RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÉMICA MODERADA	
Probabilidade moderada de infecção Considerar outras situações indutoras da PCT (Tabela I-4)	Em caso de infecção – Diagnóstico de sépsis Risco moderado de progressão para sépsis severa Repetição da determinação 6 a 24 horas depois
PCT 2 ng/ml ‹ 10 ng/ml – RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÉMICA GRAVE	
Elevada probabilidade de sépsis, se excluídas outras patologias (Tabela I-4)	Risco elevado de progressão para disfunção orgânica - Sépsis severa Recomendada a medição diária dos níveis de PCT Caso persistam valores elevados mais de 4 dias – reconsiderar a terapêutica instituída
PCT ≥ 10 ng/ml – RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÉMICA MUITO GRAVE	
Resposta inflamatória sistémica grave quase sempre devida a Sépsis bacteriana severa ou Choque séptico	Frequentemente associada a disfunção orgânica Elevado risco de prognóstico fatal Recomendada a medição diária dos níveis de PCT

Apesar de os níveis de PCT subirem frequentemente em casos infecciosos, esta também pode elevar-se em muitas condições de origem não infecciosa. A

literatura existente sobre a biomarcadores descreve inúmeras patologias, independentes da sépsis e da infecção, indutoras da PCT. Nestas situações, o principal estímulo para a sua produção serão as citocinas pró-inflamatórias, mantendo-se na mesma a sua utilidade enquanto marcador diagnóstico, de monitorização terapêutica e prognóstico (Meisner, M., 2002).

Tabela I-6 Lista de condições passíveis de induzir falsos positivos e falsos negativos na determinação da PCT. Adaptado de Meisner, M., 2002.

FALSOS POSITIVOS – valores não relacionados com infecções bacterianas sistémicas
Recém-nascidos com menos de 48 horas de vida – elevação fisiológica;
Após grande cirurgia, traumatismo major, queimaduras severas;
Infecções fúngicas invasivas e malária por *Plasmodium falciparum*;
Choque cardiogénico prolongado, hipoperfusão prolongada;
Cancro de pequenas células do pulmão; Carcinoma medular da tiróide.
FALSOS NEGATIVOS – valores baixos nem sempre permitem excluir infecção bacteriana
Fase inicial dos processos infecciosos;
Infecções localizadas;
Endocardite infecciosa subaguda.

Os níveis de PCT alcançados nos casos não infecciosos, raramente excedem os 2 ng/ml, pelo que a sua determinação nestes casos assume particular interesse para a identificação de complicações infecciosas bacterianas severas ou mesmo de sépsis (Meisner, M., 2000). A Tabela I-7 apresenta as condições em que pode ocorrer a produção de PCT, sem haver um estado infeccioso.

Tabela I-7 Condições não associadas a infecção que podem levar à produção de PCT. Adaptado de Meisner, M., 2000.

Recém-nascidos com menos de 48 horas de vida – elevação fisiológica;
Pós-operatório de grande cirurgia, traumatismo major, queimaduras severas;
Infecções fúngicas invasivas e malária por *Plasmodium falciparum;*
Choque cardiogénico prolongado, hipoperfusão prolongada;
Carcinoma de células pequenas do pulmão e carcinoma medular da tiróide;

Foram, ainda, observados casos de doentes febris com sépsis em que os níveis séricos de PCT se encontravam dentro dos valores normais (Sakr, Y., 2008). Consequentemente, é alegado por muitos autores que a PCT não é um indicador específico de sépsis ou infecção e as publicações acerca da sua utilidade diagnóstica têm sido contraditórias (Blijlevens, N., 2000; Svaldi, M., 2001; Jimeno, A. 2004). Os autores salientam, ainda, que o ensaio clínico mais utilizado não é suficientemente sensível para detectar ligeiras elevações potencialmente importantes, sendo necessários estudos clínicos com análises mais sensíveis de PCT (Meisner, M., 2005; Christ-Crain, M., 2006).

9. Hemoculturas

A hemocultura é a análise clássica utilizada no diagnóstico de sépsis. Tal como o nome indica, trata-se de um exame que permite pesquisar a presença de microrganismos viáveis no sangue, através do uso de meios de cultura. As hemoculturas são frequentemente efectuadas com o objectivo de identificar o agente responsável pela sépsis em doentes suspeitos, e sobretudo, fornecer uma lista de sensibilidade aos antibióticos. A maioria das hemoculturas é negativa. No entanto, quando os resultados são positivos a sua interpretação é, por vezes, difícil e a distinção entre uma verdadeira bacterémia e um falso-positivo transforma-se num verdadeiro desafio. As culturas falsamente positivas resultam num custo acrescido pois, na maioria das vezes, conduzem à prescrição de exames complementares de diagnóstico adicionais, ao estabelecimento de antibioterapias desnecessárias, e ao inevitável prolongamento da estadia do doente no hospital (Bates, D., 1997).

A eficácia das hemoculturas pode ser influenciada por um grande número de factores: o uso prévio de antibióticos, o volume de sangue colhido, a frequência e o local da punção. Além destes, também são relevantes a técnica, a desinfecção da pele, o processamento das amostras no laboratório e o tipo de sistemas utilizados para a incubação e interpretação das hemoculturas (Schwenzer, K., 1994).

Num estudo prospectivo com doentes em estado grave, envolvendo vários centros clínicos, a sépsis com suspeita clínica ocorreu em aproximadamente 9% dos adultos admitidos à UCI, com uma taxa de mortalidade de até 60%. Contudo, a infecção microbiológica apenas foi documentada em 7% dos pacientes com suspeita de sépsis grave, e a bacterémia documentada em 53% (Brun-Buisson, C., 1995). A bacterémia e fungémia em doentes graves tem uma mortalidade média de 26% (Pittet, D., 1994) com a *Candida spp* (Wey, S., 1988) e enterococos (Landry, S., 1989) responsáveis por 38% e 31%, respectivamente (Edgeworth, J., 1999). O diagnóstico microbiológico da bacterémia adquirida após a admissão à UCI é, muitas vezes, difícil devido ao facto de muitos destes doentes receberem uma antibioterapia empírica. De facto, o consumo de

antibióticos na UCI é 10 vezes superior em comparação com o resto das enfermarias hospitalares (Bergmans, D., 1997). A detecção e tratamento precoce das infecções nosocomiais em pacientes graves têm um grande impacto quer a nível da saúde quer a nível económico.

As hemoculturas são o padrão para o diagnóstico de bacterémias. Doentes com patologias graves, nomeadamente os doentes oncológicos, como já foi referido, têm um risco acrescido de desenvolverem bacterémias nosocomiais devido à própria natureza da patologia que, muitas vezes, conduz à imunossupressão e à utilização de dispositivos invasivos, tais como, tubos endotraqueais, sondas vesicais ou catéteres totalmente implantados (CTI). Do estudo de 111 ocorrências consecutivas de bacterémia nosocomiais durante um período de 36 meses, demonstrou-se que a infecção dos catéteres intravenosos era o foco principal das bacterémias. O *Staphylococcus* coagulase negativa e o *Staphylococcus aureus* foram os microrganismos mais frequentemente isolados (Bensousan, T., 1995).

Infelizmente, de um modo geral, a eficácia das hemoculturas é baixa (Bates, D., 1991), o que levou a que alguns investigadores tentassem encontrar formas de predizer a bacterémia de forma a aumentar a eficiência com a qual as amostras de sangue são obtidas (Bates, D., 1990; Leibovici, L., 1991; Bates, D., 1992; Schwenzer, K., 1994; Bensousan, T., 1995; Ram, S., 1995; Bates, D., 1997; Bossink, A., 1999), apesar de não existir consenso sobre a aceitabilidade destes factores.

9.1. Utilizacção e eficiência de Hemoculturas

O pedido de hemoculturas varia de acordo com a experiência clínica do médico e com a estimativa da probabilidade da presença de bacterémia numa dada população de pacientes levando, muitas vezes, a que médicos mais experientes, especialmente em Hospitais com protocolos escolares, peçam hemoculturas em excesso (Darby, J., 1997). Num estudo (Gross, P., 1997), implementou-se um protocolo para limitar o número de amostras a serem colhidas durante um período de três semanas. A colheita de hemoculturas isoladas foi eliminada. Quatro

conjuntos de hemoculturas foram recomendados na suspeita clínica de endocardite, colhidas com um intervalo de tempo de 30 min a 1 hora. Para todos os outros casos de suspeita de bacterémia, até 3 conjuntos de hemoculturas eram permitidos. Em pacientes sem alteração no seu estado clínico e com resultados de hemoculturas inicialmente negativas, não eram colhidas mais hemoculturas apesar da persistência de febre. O resultado deste estudo foi comparado com um período igualmente de três semana mas anterior ao início deste protocolo. Durante o estudo, o número de hemoculturas pedidas aquando da suspeita de episódios sépticos decresceram de 3,0 para 2,2. O número de amostras de sangue foi reduzido de 1,2 para 0,3 por alta, sem efeitos indesejáveis no tratamento dos doentes (Gross, P., 1997). Uma pesquisa foi conduzida 2 meses mais tarde, numa altura em que novos médicos internos tinham entrado no serviço e não estavam familiarizados com o protocolo do estudo. Novamente, um acréscimo do número de hemoculturas pedidas por suspeita de episódios de sépticémia foi observado (Gross, P., 1997).

Apesar da tendência para pedir hemoculturas repetidamente, a eficácia geralmente é muito baixa. Num estudo efectuado em 645 admissões numa UCI ao longo de um ano, 32% dos doentes tinha tido pelo menos 1 pedido de hemoculturas. Destes, apenas 7,5% eram positivos e apenas 4% representavam uma bacterémia verdadeira. Todos os fungos, cocos Gram positivos e bacilos Gram negativos eram considerados patogénicos se crescessem em 2 ou mais hemoculturas ou se também tivessem sido isolados de outros focos adicionalmente ao sangue (urina, expectoração, pús). *Staphylococcus* coagulase negativa eram considerados patogénicos se existisse evidência de infecção urinária, do SNC (sistema nervoso central) ou infecção vascular causada por catéter dentro de 48 horas após a cultura de sangue. *Bacillus*, *Micrococcus* e *Propionibacterium spp* foram considerados contaminantes (Darby, JM 1997). O foco mais frequente de bacterémia foram os catéteres e os *Staphylococcus* coagulase negativa foram os isolados mais frequentes (Darby, J., 1997).

9.2. Incidência de Bacterémia

Os pacientes sujeitos a intervenções cirúrgicas têm entre duas a seis vezes mais probabilidades de desenvolver bacterémias em comparação com os doentes não cirúrgicos, mesmo apesar da incidência de doenças crónicas ser mais baixa nestes doentes. O aumento destas taxas de bacterémia pode dever-se principalmente ao aumento de procedimentos e dispositivos invasivos nos doentes cirúrgicos (Craven, D., 1988).

Num estudo de revisão sobre bacterémia nosocomial em doentes não cirúrgicos, a incidência de bacterémia, durante um período de tempo de 5 anos (1991 a 1995), foi de 3,7 por 100 admissões à UCI. *Pseudomonas spp*, *Enterococcus spp* e *Staphylococcus* coagulase negativa foram os microrganismos mais frequentemente isolados. Cerca de 75% das ocorrências de bacterémia foram atribuídas novamente a catéteres intravasculares colonizados (Edgeworth, J., 1999).

9.3. Métodos para aumentar a eficácia das hemoculturas

A eficácia global das hemoculturas pode se afectada por diversos factores (Tabela I-8). Colheita de apenas uma hemocultura, bacterémia intermitente, e um número baixo de unidades formadoras de colónias (UFC) detectáveis no sangue, propriedades antimicrobianas dos componentes sanguíneos e terapia concorrente com antibióticos pode baixar a eficácia das culturas de sangue (Chandrasekar, P., 1994).

Vários autores têm abordado a questão do número ideal de hemoculturas para detectar a bacterémia. Da análise de 500 ocorrências de septicémia observou-se que 91,5% de todas as ocorrências de bacterémia foram detectadas após a primeira hemocultura. Uma percentagem adicional de 7,8% era identificada utilizando uma segunda hemocultura. Para pacientes com uma bacterémia contínua (devido a endocardite) nos quais a primeira hemocultura era positiva, a probabilidade de uma cultura subsequente ser positiva era superior a 95%. Nos

casos de uma bacterémia intermitente, cerca de 85% das hemoculturas positivaram após uma hemocultura inicial positiva (Weinstein, M., 1983).

Tabela I-8 Factores que influenciam a eficácia das hemoculturas sangue. Adaptado de Chandrasekar, P., 1994.

Barreiras Sanguíneas
Baixo nº de UFCs
Bacterémia Intermitente
Propriedades bactericidas dos componentes sanguíneos (lisozima, factores do complemento, neutrófilos, anticorpos)
Barreiras clínicas e laboratoriais
Volume de sangue colhido
Uso concorrente de antibióticos
Número de amostras de sangue colhidas
"*Timing*" das hemoculturas
Tempo de incubação das hemoculturas
Atmosfera de incubação
Meio de cultura e sistema colector utilizado

De notar que, quando a cultura inicial era considerada contaminada (baseada em critérios clínicos), a probabilidade de uma segunda hemocultura ser positiva era <5% e as subsequentes <1%. Quando a segunda hemocultura era positiva, ela quase invariavelmente desenvolvia um microrganismo (contaminante) diferente. Com base neste estudo e noutros estudos semelhantes, para a maioria dos doentes, não existe evidência de que obter mais que dois ou três conjuntos de hemoculturas (colhidas de dois ou três locais diferentes) num período de 24 horas melhore a eficiência do diagnóstico. Além de aumentar a probabilidade de detectar uma bacterémia, o uso de mais que um conjunto de hemoculturas pode ajudar a distinguir uma verdadeira bacterémia de hemoculturas positivas por contaminação (Washington, J., 1986; Aronson, M., 1987; Chandrasekar, P., 1994; Washington, J., 1994).

Vários factores técnicos, incluindo métodos para a descontaminação da pele, tempo para a incubação das hemoculturas, tipo de meio de cultura e o tipo de

sistema utilizado na colheita de sangue, podem melhorar a eficiência das culturas (Tabela I-9) (Chandrasekar, P., 1994).

Tabela I-9 Regras para melhorar a eficácia das hemoculturas. Adaptado de Chandrasekar, P., 1994.

A pele deve ser adequadamente desinfectada antes da colheita de sangue.
Evitar colheitas de uma única amostra de sangue para cultura; Dois ou três conjuntos (incluindo amostras para aeróbios e anaeróbios) devem ser obtidos de locais de punção diferentes num período de 24h.
Pelo menos 10mL de sangue devem ser colhidos para cada frasco de hemocultura.
As amostras para hemocultura colhidas de catéter devem ser emparelhadas com uma amostra colhida numa veia periférica para ajudar a distinguir contaminantes de verdadeiros patogénios.
Vários meios de cultura e sistemas colectores devem ser usados em concordância com o cenário clínico e com os conselhos do laboratório de microbiologia.
Sempre que possível, o sangue deve ser colhido antes do início da terapêutica com antibióticos.

A flebotomia é o método ideal para a colheita das amostras de sangue. As amostras para hemocultura obtidas de catéteres intravasculares não são as ideais, pois estas podem ficar contaminadas com microrganismos que colonizam a conexão de plástico na parte terminal do catéter IV ou as paredes do catéter. Se for necessário obter sangue destes catéteres, técnicas rigorosas de assepsia devem ser utilizadas, enquanto que devem ser desenvolvidos todos os esforços para que uma segunda colheita seja obtida de uma veia periférica (Chandrasekar, P., 1994).

O uso de técnicas de assepsia correctas e o cuidado processamento das culturas no laboratório de microbiologia faz diminuir a taxa de ocorrência de contaminantes da pele (Schifman, R., 1993; Chandrasekar, P., 1994). A escolha de material usado na desinfecção da pele é também uma questão relevante. Nenhum dos produtos antisépticos disponíveis comercialmente funciona instantaneamente. É necessário algum tempo de exposição para que o produto actue. Apesar deste tempo variar consoante os vários produtos, é recomendado que seja permitido o agente actuar durante o tempo necessário antes de se proceder à obtenção da

amostra de sangue, facto que muitas vezes não se verifica (Stratton, C., 1994; Washington, J., 1994;). Os produtos geralmente utilizados incluem tintura de iodo, iodopovidona isolada ou em combinação álcool isopropílico e mais recentemente a Clorexidina. As escolhas do produto a utilizar para a desinfecção da pele variam com os estudos publicados e com as respectivas recomendações.

Num estudo de 1999, foram analisadas as taxas de contaminação de hemoculturas após a desinfecção do local de punção usando iodopovidona a 10% ou tintura de iodo a 2% e um período de actuação de 2 minutos, e após uma aplicação prévia de álcool isopropílico a 70% ao qual foi permitido actuar durante 1 minuto. De um total de 3.815 hemoculturas, 376 foram positivas, e destas 120 estavam contaminadas. Comparado com a iodopovidona, a tintura de iodo era responsável por uma redução superior da flora contaminante da pele. Esta diferença pode ser devida em parte ao início de acção mais rápido da tintura de iodo comparado com a iodopovidona sendo que o tempo de acção recomendado para que ambos os desinfectantes tenham um efeito anti-séptico máximo é de 2 a 3 minutos. Este tempo é, muitas vezes, desrespeitado o que leva a que a desinfecção da pele seja menos eficaz e que a probabilidade de contaminação das hemoculturas seja superior (Little, J., 1999).

O momento ideal para se proceder à colheita das hemoculturas tem sido outro factor de discussão ao longo dos tempos. Em casos clínicos com uma bacterémia contínua, tais como a endocardite ou a tromboflebite séptica, esta questão é, provavelmente, pouco relevante. Em caso de bacterémia intermitente, um relatório dos anos 50 que se tornou a base para o ensino actual sugere que a bacterémia precede o aparecimento da febre e calafrios de uma a 2 horas (Weinstein, M., 1983). De acordo com este relatório, as culturas de sangue são muitas vezes negativas na altura em que a febre ocorre. Devido à impossibilidade de se prever a instalação da febre no paciente, a colheita de sangue para cultura no intervalo de tempo de 1 hora antes torna-se impraticável. Contudo, a colheita de várias hemoculturas durante um período de 24 horas demonstrou ser suficiente para detectar as bacterémias intermitentes (Weinstein, M., 1983). O intervalo de tempo ideal entre a colheita de várias hemoculturas ainda não está

bem definido, mas o seu impacto para a eficácia da hemocultura parece ser inferior ao que inicialmente se julgava, pois eficácias semelhantes foram obtidas quando as diferentes amostras foram obtidas simultaneamente, num intervalo de tempo de 2 horas ou durante 24 horas (Li, P. 1994). Em pacientes hemodinamicamente instáveis, deve obter-se prontamente duas hemoculturas antes de iniciar o tratamento antibiótico empírico. Em casos menos urgentes, o sangue pode ser obtido durante um período de 24 horas. Em doentes a fazer antibioterapia, tem sido sugerido que as colheitas de sangue efectuadas quando a concentração sérica dos antibióticos atingirem os níveis mais baixos, podem fazer aumentar a eficácia das hemoculturas (Chandrasekar, P., 1994; Mylotte, J., 2000). Contudo, este facto não foi estudado objectivamente e pode não ser prático clinicamente.

O volume de sangue obtido é possivelmente o factor mais importante para aumentar a sensibilidade das hemoculturas. Doentes adultos com uma bacterémia clinicamente significativa geralmente têm um número baixo de UFCs por mililitro de sangue (1 a 10 UFC/mL). Existe uma relação directa entre o volume de sangue obtido para a cultura e a sua eficácia (Figura I-12) (Weinstein, M., 1996).

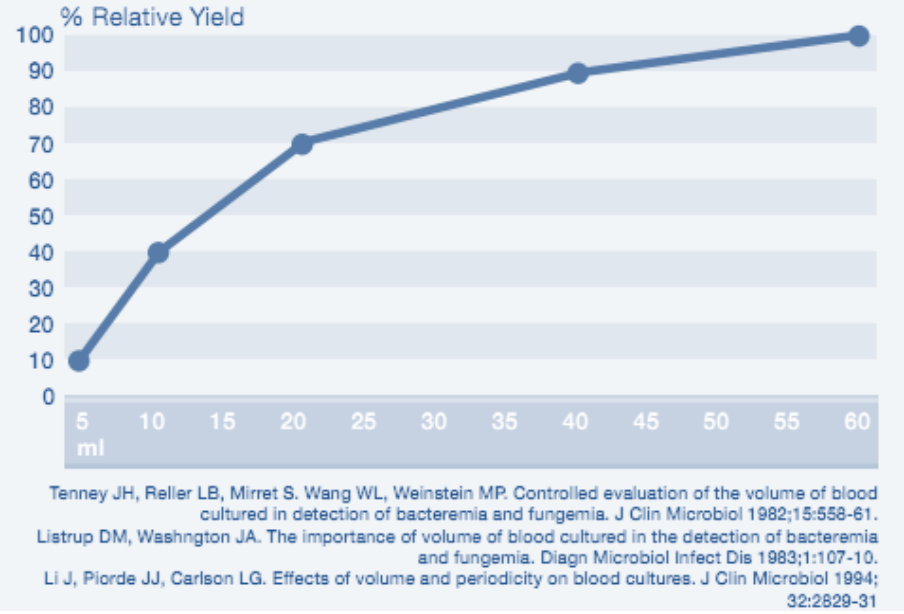

Figura I-12 Relação entre o volume de sangue e a eficácia das hemoculturas (Weinstein, M., 1996).

De forma a obter-se uma eficácia máxima e o menor número de culturas falsamente negativas, devem ser colhidos no mínimo 10mL de sangue, sendo o volume ideal de 20 a 30 mL. A colheita de quantidades superiores a 30 mL por cultura contribui pouco para melhorar a sensibilidade da hemocultura, e pode contribuir para causas iatrogénicas de anemia (Ilstrup, D., 1983; Henry, N., 1983; Washington, J., 1986; Mermel, L., 1993; Weinstein, M., 1996). Um estudo elaborado pela University of Winsconsin Hospital and Clinics sobre o modo como eram colhidas as hemoculturas, revelou que em 15% de todas as hemoculturas obtidas de adultos tinham sido utilizados frascos de hemocultura pediátricos (3,5 ml de sangue) e que 5% das amostras colhidas nos frascos apropriados para adultos (10 mL de sangue) continham amostras de sangue <5 mL. A sensibilidade para detectar bactérias Gram positivas em culturas contendo 10 mL de sangue era de 93% comparado com apenas 74% quando amostras inferiores a 10 mL eram obtidas. Visto ser corrente a prática de obter amostras de sangue com volume inferior ao recomendado, a educação dos profissionais de saúde, especialmente os Técnicos de Análises Clínicas e Enfermeiros, acerca do volume adequado necessário para a hemocultura, é uma medida simples mas que em muito pode contribuir para o aumento da eficácia das culturas (Mermel, L., 1993).

A eficácia das hemoculturas é, também, diminuída devido aos componentes sanguíneos, tais como os fagócitos, anticorpos e factores do complemento, que têm uma actividade bactericida, comprometendo o desenvolvimento dos microrganismos presentes na cultura de sangue (Weinstein, M., 1983), apesar do uso do anticoagulante Sulfato Polietanol de Sódio (SPS) a 0.025%, presente no meio de cultura, contrariar estes efeitos bactericidas inibindo a fagocitose e a actividade lisosomal, (Traub, W., 1977; Washington, J., 1986; Chandrasekar, P., 1994), além de inactivar os aminoglicosídeos. Apesar de contrariar a inibição do crescimento de organismos fastidiosos tais como a *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardenerella vaginalis* e *Neiserria meningitidis*, o aumento da concentração de SPS aumenta também a recuperação de bactérias Gram negativas (Eng, J., 1975; Chandrasekar, P., 1994; Wilson, M., 1994). Praticamente todos os meios de hemocultura actuais, disponíveis comercialmente, usam o SPS.

Muitos dos doentes em estado grave estão sob uma terapia empírica de antibióticos na altura em que foram efectuadas colheitas de sangue para hemoculturas. A maior parte das amostras de sangue para hemocultura são obtidas em pacientes a tomar antibióticos (Darby, J., 1997), podendo este factor ser determinante para a diminuição da eficácia das hemoculturas (Chandrasekar, P., 1994; McKenzie, R., 1987). O impacto do uso de antibióticos na eficácia das hemoculturas pode ser minimizado usando um volume de sangue adequado para a cultura. Cultivando 10 mL de sangue para um meio de cultura de 100 mL, dilui as concentrações de antibióticos e neutraliza a actividade bactericida do soro nas culturas (Washington, J., 1986). Actualmente vários fabricantes já comercializam meios contendo resinas adsorventes de antibióticos.

9.4. Sistemas de incubação de hemoculturas

A maioria dos laboratórios de Microbiologia usam sistemas automatizados para as hemoculturas e o sistema não radiométrico BACTEC™, da firma BD é o mais amplamente utilizado (Doern, G., 1994). Nenhum sistema actualmente disponível pode isolar todos os microrganismos que possam estar presentes em pacientes bacterémicos. As culturas de sangue em pacientes com infecções fúngicas ou por micobactérias merecem uma especial atenção. Os fungos são patogénios nosocomiais importantes, especialmente em doentes em estado grave. Os factores de risco para o desenvolver de fungémia incluem o uso prolongado de antibióticos de largo espectro, a presença de catéteres intra-vasculares, o uso de nutrição parentérica e vários estados de imunossupressão (Weinstein, M., 1996). A recuperação de fungos nas hemoculturas tem maior sucesso pelos sistemas de lise e centrifugação (DuPont Isolator™, da firma du Pont de Nemours and Company), em comparação com os sistemas de cultura de sangue convencionais. A lise dos glóbulos vermelhos, a centrifugação e inoculação em meios sólidos sem antibióticos, melhoram a recuperação de microrganismos tais como leveduras, micobactérias, fungos filamentosos e *Legionella*. O sistema DuPont Isolator™ também permite uma recuperação mais rápida destes microrganismos e a quantificação de organismos nas culturas de sangue (Doern, G., 1994).

O sistema BACTEC™ (e outros sistemas convencionais tais como o BacT/Alert™, da firma bioMérieux) é superior ao sistema DuPont Isolator™ para o isolamento de *Streptococcus pneumoniae* e outras espécies de *Sreptococcus*, *Pseudomonas aeruginosa* e bácterias anaeróbias. O uso combinado do sistema BACTECT™ e DuPont Isolator™ permite a detecção de uma ampla gama de infecções fúngicas e bacterianas. Contudo, o uso sistemático de ambos os sistemas para todos os pacientes não é indicado nem economicamente viável (Weinstein, M., 1996).

9.5. Hemoculturas contaminadas: Custos e consequências

Como já foi referido, a baixa eficácia aliada ao elevado número de resultados falso positivos das hemoculturas pode conduzir a um aumento de testes diagnósticos, ao uso excessivo de antibióticos e a uma hospitalização prolongada. Nalguns hospitais apenas entre 7,5% a 12,4% das hemoculturas eram positivas e destas cerca de 5% eram consideradas contaminadas (Roberts, F., 1991; Weinstein, M., 1996; Darby, J., 1997).

Existem poucos dados sobre a incidência e os custos relacionados com as contaminações das hemoculturas, difíceis de ser generalizados. As culturas de sangue contaminadas compõem uma proporção significativa de todos os resultados de culturas positivas de sangue, muitas vezes gerando custos que excedem em muito os custos iniciais (Bates, D., 1991).

Num período de cerca de 2 anos, foram analisadas 1.411 hemoculturas. Destas, 122 hemoculturas revelaram resultado positivo e 51 destas foram consideradas contaminadas. Os estafilococos coagulase negativa foram considerados verdadeiros patogénios se apenas fossem isolados de uma linha central e de colheita de sangue periférico, se positivassem em duas séries de hemoculturas periféricas ou de doentes que se encontravam clinicamente com sépsis e tinham apenas uma cultura positiva do catéter venoso central. A maior parte dos outros organismos pertencentes à flora da pele era considerada contaminante (Schwenzer, K., 1994). A diferenciação entre microrganismos contaminantes e verdadeiros patogénios é muitas vezes difícil. *Pneumococci*, *Streptococci* do

grupo A, *Enterobacteraceae*, *Bacteriodes*, *Candida* e *Haemophilus spp* são considerados verdadeiros patogénios. *Diphtheroids*, *Streptococci* não hemolíticos e *Bacillus spp* são geralmente considerados como contaminantes. As infecções polimicrobianas podem ocorrer em utilizadores de drogas injectáveis ou em pacientes com leucemia ou que fazem quimioterapia (Gregor, M., 1972).

Apesar de não existirem critérios padronizados, várias observações podem ajudar o médico a avaliar a relevância clínica do resultado das hemoculturas positivas (Tabela I-10.). As culturas falso-positivas tendem a requerer um período de incubação superior até à identificação do microrganismo (MacGregor, R., 1972; Aronson, M., 1987) e geralmente não se desenvolvem em culturas consecutivas, desenvolvendo-se apenas numa das hemoculturas. Esta contaminação deve-se geralmente à flora da pele tais como *Diphtheroids*. *Staphylococcus* coagulase negativa apresentam um único problema: apesar da maioria dos isolados ser contaminante, 6 a 15% são verdadeiramente patogénios, além de serem a causa mais comum de infecções com foco em catéteres intravenosos (Mermel, L., 2001). O isolamento de microrganismos diferentes nas hemoculturas do mesmo paciente, também sugere contaminação, excepto em doentes imunodeprimidos ou neutropénicos e em doentes em estado grave com catéteres intravasculares ou sinais clínicos sugestivos de infecção intra-abdominal (Rello, J., 1993).

Os catéteres venosos centrais apresentam um desafio particular ao médico na hora de distinguir entre uma verdadeira bacterémia e culturas de sangue contaminadas. Anualmente, cerca de 850,000 catéteres ficam colonizados, resultando em 50,000 casos de bacterémia relacionada com catéteres (Collin, G., 1999). A identificação de catéteres IV como o foco de bacterémia é geralmente um diagnóstico efectuado por exclusão visto que, geralmente, não existirem sinais no local de inserção do catéter que levem à suspeição de infecção. As hemoculturas positivas obtidas dos catéteres IV podem significar colonização, contaminação com flora da pele ou uma verdadeira bacterémia relaciona com o catéter (Collin, G., 1999).

Tabela I-10 Verdadeira Bacterémia vs Hemoculturas contaminadas. Adaptado de Collin, G., 1999.

Sugestivo de verdadeira bacterémia
Crescimento de organismos virulentos tais como *S pneumoniae*, *Klebsiella spp*, *Pseudomonas spp*, *S aureus*, *Enterobacteriaceae* e *Candida spp*.
Presença de factores de risco predisponentes, tais como estados de imunossupressão, prótese, catéteres endovenosos.
Recuperação do mesmo organismo de múltiplos locais de punção.
Sugestivo de Cultura Contaminada
Período de incubação prolongado antes do crescimento do microrganismo.
Falta de reprodutibilidade em culturas subsequentes.
Culturas de múltiplos organismos.*
O estado clínico do doente não é sugestivo de sépsis.
Crescimento de flora da pele, isto é, *Staphylococcus* coagulase negativa, *Diphtheroids*, e *Bacillus* species.†

* Excepto em doentes imunocomprometidos e neutropénicos ou na presença de infecções intra-abdominais.

†Até cerca de 15% dos *Staphylococcus* coagulase negativa são verdadeiros patogénios; isto é mais provável na presença de catéteres endovenosos.

Numa tentativa de evitar a remoção desnecessária do catéter, culturas de sangue quantitativas têm sido utilizadas para diagnosticar o catéter como o foco da infecção, sendo obtidas amostras em paralelo de sangue do catéter e de sangue periférico. Uma contagem superior de colónias de 5 a 10 vezes da amostra obtida no catéter em relação à obtida no sangue periférico é considerada indicativa de bacterémia com foco no catéter (Mermel, L., 2001; Reimer, L., 1994). Este tipo de análise quantitativa não está disponível na maioria dos hospitais, além disso, o seu uso não está, também, isento de controvérsia (Reimer, L., 1997).

Em alternativa, o uso de sistemas de monitorização contínua das hemoculturas (BacT/Alert™) tem sido utilizado para determinar a variação de tempo entre a positividade das hemoculturas com amostras de sangue obtidas de catéteres centrais e obtidas de veias periféricas. Uma positividade mais rápida de culturas obtidas do catéter venoso central em relação às obtidas de sangue periférico é sugestiva de uma infecção relacionada com o catéter (Blot, F., 1999). Numa

população de doentes oncológicos com catéteres a longo prazo (> 30 dias), este método é altamente sensível (96,4%) e específico (100%) quando a diferença de tempo é superior a 120 minutos. A validade deste método para doentes não neoplásicos e com catéteres a curto prazo requer mais estudos antes da sua recomendação como uso de rotina e alternativo às culturas de sangue quantitativas (Blot, F., 1999; Blot, F., 1998).

10. Objectivos

Este trabalho tem como objectivo principal estudar as características microbiológicas da sépsis no doente oncológico na tentativa de encontrar informações que permitam uma melhor compreensão deste síndrome e uma optimização dos procedimentos que conduzem ao seu rápido diagnóstico.

Pretende-se, também, obter informação relevante que possa ajudar a melhorar a eficácia das hemoculturas, de forma a minimizar custos e a maximizar a sua eficácia.

Outro objectivo, consiste em avaliar a utilidade da determinação dos valores séricos de procalcitonina, em doentes oncológicos, enquanto auxiliar no diagnóstico de sépsis.

Finalmente é, ainda, objectivo deste estudo fornecer dados para futuras referências ou estudos comparativos, numa tentativa de colmatar a falta de informação sobre a temática da sépsis em Portugal, em particular no doente oncológico.

II. Material e Métodos

No estudo da caracterização microbiológica da sépsis no doente oncológico foram analisadas todas as hemoculturas que deram entrada no Sector de Microbiologia do Serviço de Patologia Clínica do Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gentil, E.P.E. (IPOCFG, E.P.E.) nas datas compreendidas entre 31 de Agosto de 2009 e 1 de Setembro de 2010. No total, foram analisadas 328 hemoculturas.

1. Hemoculturas

Após uma rigorosa assepsia da pele com iodopovidona, foi colhido sangue (em veia periférica ou de catéter, consoante as instruções do clínico), tendo-se injectado 10 mL do mesmo em cada meio de cultura. Cada frasco de hemocultura foi invertido várias vezes para assegurar uma mistura eficaz. O sangue fica, deste modo, diluído numa proporção ideal de 1:10 (sangue:meio), que garante uma neutralização óptima da actividade bactericida do soro. O tipo de meio utilizado variou de acordo com o pedido (com ou sem exame micológico/micobacteriológico) e com o número de hemoculturas solicitadas para o doente (Tabela II-1).

Tabela II-1 Resumo do esquema de culturas utilizado.

	Sem pedido de exame micológico / micobacteriológico			**Com pedido de exame micológico / micobacteriológico**		
	Plus Aerobic/F	Plus Anaerobic /F	Myco / F Lytic	Plus Aerobic/F	Plus Anaerobic /F	Myco / F Lytic
1ª Hemocultura	✓	✓		✓		✓
2ª Hemocultura	✓			✓	✓	
3ª Hemocultura	✓			✓		
4ª Hemocultura	✓			✓		

1.1. Meios de Cultura

Os frascos com meio de cultura BACTEC™, aeróbio, anaeróbio e pediátrico, contêm resinas inibidoras de antibióticos (meios PLUS). O sistema também oferece frascos com meio de cultura diferenciado para recuperação de micobactérias e fungos em amostras de sangue e de outros líquidos biológicos estéreis (BD BACTEC™ Myco F Lytic). Além destes, estão disponíveis também frascos sem inibidores de antibióticos (BACTEC™ Standard).

Cada frasco contém um sensor químico que detecta o aumento da concentração de CO_2 produzido pelo crescimento e metabolismo dos microrganismos. Este sensor é monitorizado pelo sistema a cada dez minutos para verificar se existe aumento da fluorescência, o qual é proporcional à quantidade de CO_2 presente. Uma leitura positiva indica a presença presuntiva de microrganismos viáveis nos frascos de cultura. Esta detecção é limitada apenas aos microrganismos que crescem num determinado meio de cultura presente nestes frascos (manual do sistema BACTEC™ 9050).

Figura II-1 Meios de Cutura BD BACTEC™
(www.cardinal.com/us/en/distributedproducts/ASP/4402191.asp?cat=laboratory4402191.asp?cat=laboratory, 08-12-2010)

1.1.1. Meios BD BACTEC™ Plus Aerobic/F e BD BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F

Os meios BD BACTEC™ Plus Aerobic/F e BD BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F são utilizados para a cultura e recuperação de microrganismos (bactérias e fungos) aeróbios e anaeróbios, respectivamente, do sangue ou fluidos biológicos estéreis (manual do sistema BACTEC™ 9050).

1.1.2. Meio BD BACTEC™ Mycosis-IC/F

O BD BACTEC™ Mycosis-IC/F é um meio de cultura baseado na fórmula do meio Middlebrook 7H9 e do meio líquido "Coração-Cérebro". Este é um meio não selectivo, para uso em conjunção com meios de hemocultura para aeróbios e com o objectivo de recuperar micobactérias, fungos e leveduras do sangue. Pode também ser utilizado para a cultura de líquidos biológicos estéreis quando se suspeita da presença de fungos ou leveduras.

Foram efectuadas algumas alterações específicas na composiçaõ do meio para promover o crescimento e a recuperação de fungos e leveduras. Estas modificações incluem a adição de citrato férrico de amónia como fonte de ferro, essenciais a algumas estirpes de fungos, a adição de saponina como agente lítico do sangue e adição de algumas proteínas e açúcares específicos de forma a proporcionarem um suplemento nutricional (manual do sistema BACTEC™ 9050).

1.2. Sistema BACTEC™ 9050

Após a colheita, registo e introdução da amostra no sistema de dados do sector de Microbiologia, os frascos de hemocultura foram introduzidos no módulo de incubação do equipamento BACTEC™ 9050 durante o tempo pré-programado para cada tipo de cultura.

Este equipamento é um sistema totalmente automatizado para processamento de hemoculturas e líquidos biológicos estéreis, com as seguintes especificações:

1) Incubação, agitação e monitorização contínua até 50 frascos simultaneamente. As leituras são realizadas a cada 10 minutos, juntamente com o controle de qualidade. Possibilita a realização de aproximadamente 300-350 frascos/mês, num protocolo de 5 dias de incubação.

2) O sistema de detecção de fluorescência é não invasivo e capaz de detectar a produção de CO_2 de origem microbiana (bactérias aeróbias, anaeróbias e fungos).

3) Na presença de uma amostra positiva, o aparelho localiza, imediatamente, o frasco positivo através de alarmes visuais e sonoros.

4) São utilizados meios de cultura com resinas (exclusividade Becton Dickinson), cuja principal finalidade comprovada é a neutralização de antibióticos de até última geração, além de provocar a lise de leucócitos, libertando bactérias fagocitadas. As resinas são utilizadas também como superfície para crescimento de determinadas bactérias. A utilização das resinas proporciona um aumento na recuperação das bactérias em cerca de 33%(manual do sistema BACTEC™ 9050) .

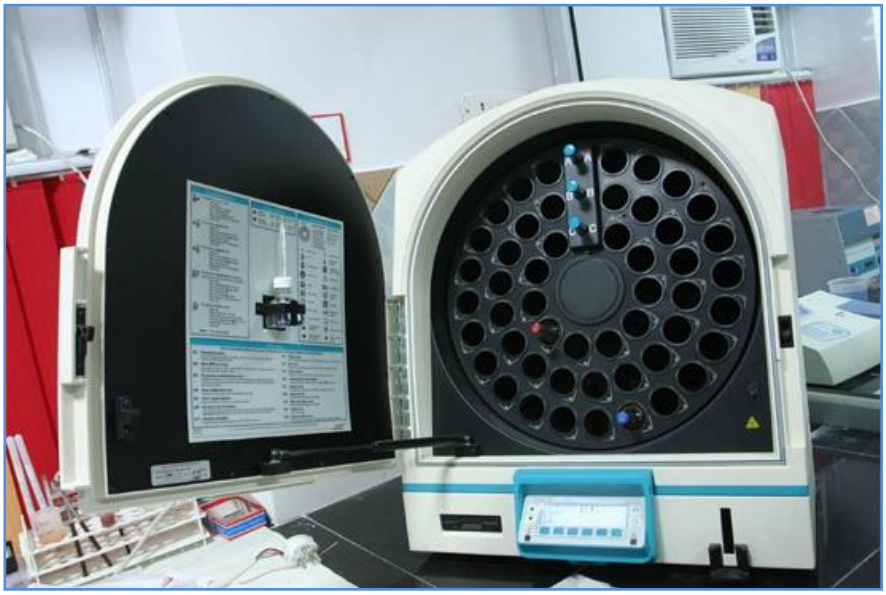

Figura II-2 Sistema BACTEC™ 9050 (www.aravalihospital.in/ aravalipathlab.htm., 08-12-2010).

2. Procalcitonina

Para o estudo da procalcitonina como auxiliar de diagnóstico de sépsis em doentes oncológicos, foram utilizadas amostras de sangue para determinação da procalcitonina emparelhadas com amostras para hemocultura. As amostras de sangue para a determinação da procalcitonina foram colhidas no decorrer da primeira colheita de sangue para hemocultura.

Após o registo e introdução das amostras no sistema de dados do Serviço de Imunologia/Hormonologia, 4 ml de sangue foram centrifugados, a 3000rpm, e do soro obido, 10µl foram utilizados para a determinação da concentração da PCT. Foi utilizando o sistema automático Kryptor™, com calibrações e controlo de qualidade já efectuadas. No total foram analisadas 132 amostras de soro.

2.1. Sistema Kryptor™

O princípio de medição dos B·R·A·H·M·S KRYPTOR™/ KRYPTOR™ Compact baseia-se na tecnologia TRACE (*Time-Resolved Amplified Cryptate Emission*), que mede o sinal com atraso emitido a partir de um imunocomplexo. A base da tecnologia TRACE é a transferência de energia não radioactiva de um dador (uma estrutura tipo gaiola com um ião de európio ao centro – criptato) para um receptor, que faz parte de uma proteína algácea colectora de luz quimicamente modificada (XL 665). A proximidade do dador (criptato) e do receptor (XL 665) quando fazem parte de um imunocomplexo e a sobreposição espectral entre a emissão do dador e o espectro de absorção do receptor por um lado, intensifica o sinal fluorescente do criptato e, por outro, aumenta a vida útil do sinal do receptor, permitindo a medição de fluorescência temporariamente atrasada (manual do sistema KRYPTOR™).

Quando a amostra é estimulada por laser de nitrogénio a 337 nm, o dador (criptato) emite um sinal fluorescente de longa vida útil na gama dos milisegundos a 620 nm, enquanto que o receptor (XL 665) produz um sinal de curta vida útil na gama dos nanosegundos a 665 nm.

Figura II-3 Sistema Kryptor™ (www.integratedsci.com.au/diagnostics/immunoassay.html, 08-12-2010)

Quando os dois componentes são ligados num imuno-complexo, a amplificação do sinal e o prolongamento do tempo de vida do sinal do receptor ocorrem a 665 nm, pelo que podem ser medidos em µ-segundos. Este sinal de longa vida útil é proporcional à concentração de analito a ser medido (Figura II-4). Os sinais não específicos, isto é, os sinais do curto tempo de vida de um receptor XL 665 não ligado e os sinais de interferência específicos do meio condicionais mediante a fluorescência natural da amostra, são eliminados pelo atraso temporal da medição de fluorescência.

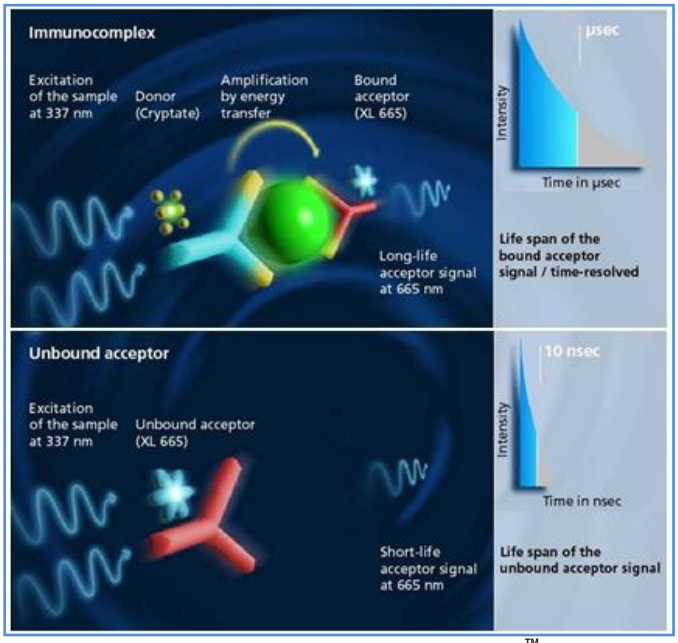

Figura II-4 Esquema de funcionamento do sistema Kryptor™ (www.Kryptor.com, 08-12-2010).

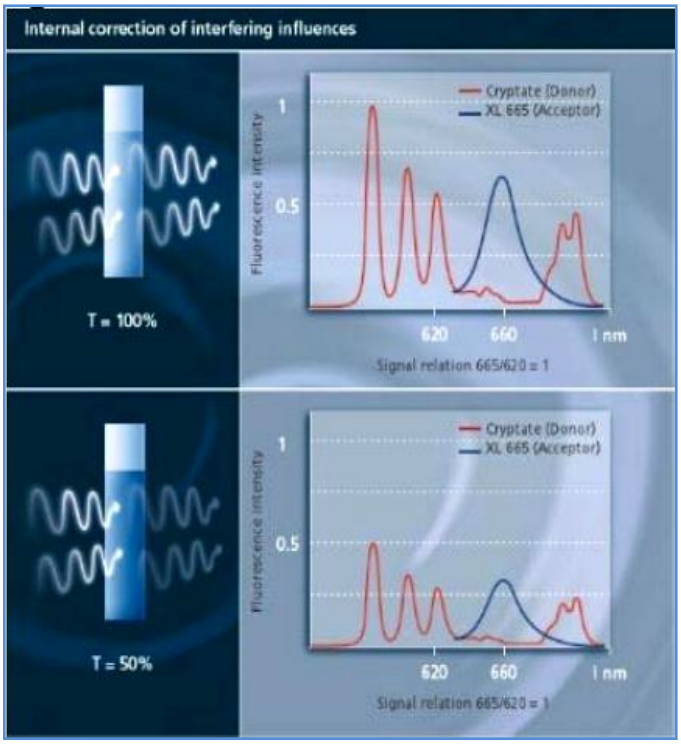

Figura II-5 Correcção interna de influências interferentes (www.Kryptor.com, 08-12-2010).

O sinal produzido pelo criptato a 620 nm serve de referência interna e é medido em simultâneo com o sinal de longa vida útil do receptor a 665 nm, que é o sinal específico. As influências que interferem (de soros turvos) são automaticamente corrigidas através da relação calculada internamente das intensidades a estes comprimentos de onda (Figura II-5) (manual do sistema KRYPTOR™).

III. Resultados e Discussão

Os resultados obtidos foram agrupados por doente e por data de entrada no Sector de Microbiologia. Analisaram-se, no total, 729 hemoculturas correspondentes a 328 doentes. O número de hemoculturas pedidas a cada doente foi variável (de 1 a 4 hemoculturas), com uma média de 2,28 hemoculturas por doente.

Considerou-se que o resultado era negativo quando todas as hemoculturas de um dado doente, colhidas no mesmo dia, se encontraram negativas após o tempo de incubação estipulado no protocolo para cada tipo de hemocultura.

Quando pelo menos uma hemocultura, pedida para o mesmo doente, no mesmo dia, se revelou positiva, esse resultado foi dado como positivo para o(s) microrganismos que se desenvolveram. Estes microrganismos foram, de seguida, identificados e testadas as sensibilidades aos antimicrobianos (TSA).

Nos resultados positivos não existiu distinção entre verdadeiros positivos ou possíveis contaminações. Apesar de poderem existir critérios para esta distinção, cabe ao clínico efectuá-la, à luz do conhecimento de outras análises laboratoriais e, também, do estado clínico do doente em questão. Quando se suspeitou de contaminação, tendo em conta o local de colheita da amostra, o número de hemoculturas positivas e o microrganismo em questão, informou-se o clínico dessa possibilidade.

A maioria das hemoculturas processadas, foi proveniente do Serviço de Oncologia Médica (Figura III-1). Os doentes deste serviço são submetidos a terapêuticas com citostáticos por via endovenosa (frequentemente através de catéter). Estes fármacos podem ser imunossupressores provocando, por vezes, hipoplasias medulares. Os doentes ficam, assim, mais susceptíveis a agentes infecciosos. Outra consequência destes tratamentos é a inflamação das mucosas (mucosite), o que promove a invasão dos tecidos adjacentes pelos microrganismos pertencentes à flora comensal da área afectada.

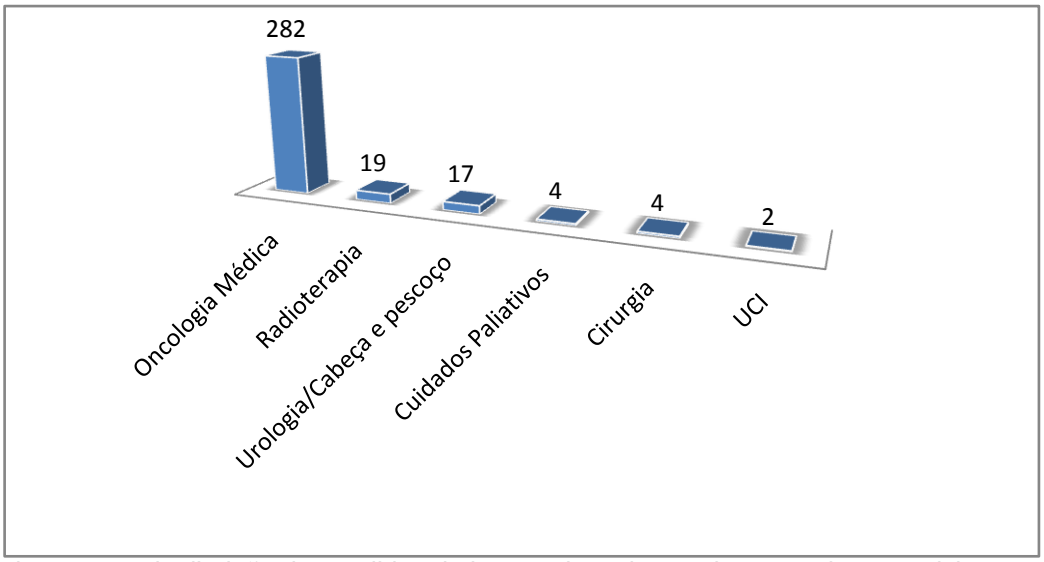

Figura III-1 Distribuição dos pedidos de hemocultura (n= 328) por serviços requisitantes.

Uma grande percentagem destes doentes possui catéter venoso central (CVC) de longa duração (Figura III-2), pois a frequência dos tratamentos e a falta de acessos venosos periféricos assim o exige. A manipulação destes catéteres pode conduzir à sua colonização, tendo os microrganismos um acesso facilitado à corrente sanguínea, onde podem proliferar e originar uma sépsis.

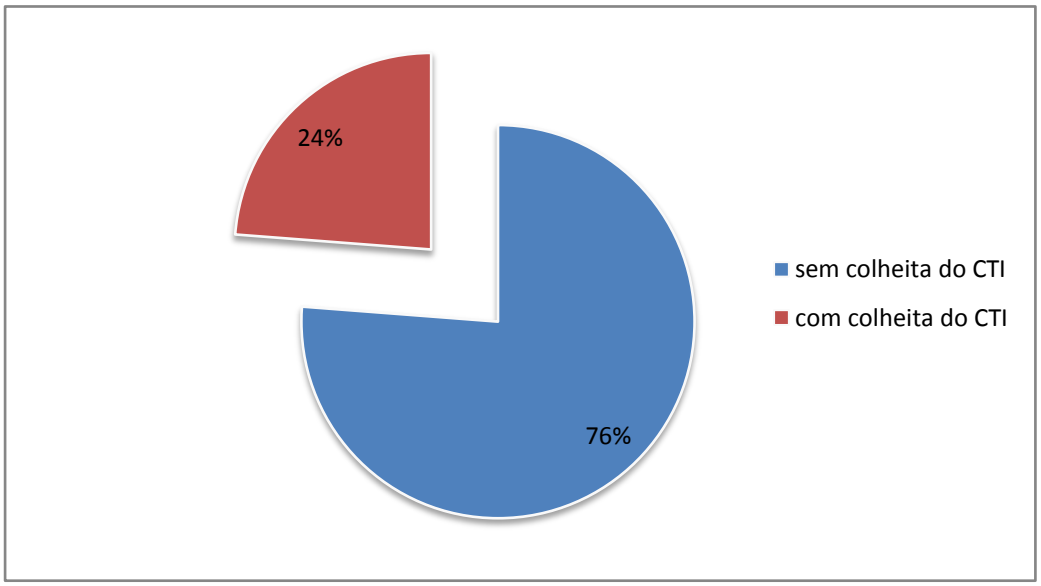

Figura III-2 Percentagem do número de doentes (n=328) com pedidos de colheita de sangue para hemoculturas do CTI vs. sem colheita do CTI.

Tendo em conta a informação clínica enviada ao laboratório, pelo menos 1 em cada 4 doentes com suspeita de sépsis tinha implantado um catéter para administração de tratamentos. Esta percentagem é muito expressiva e pode justificar, em parte, o aumento da incidência de sépsis no doente oncológico relativamente aos doentes não oncológicos, onde o uso do CTI não é tão generalizado.

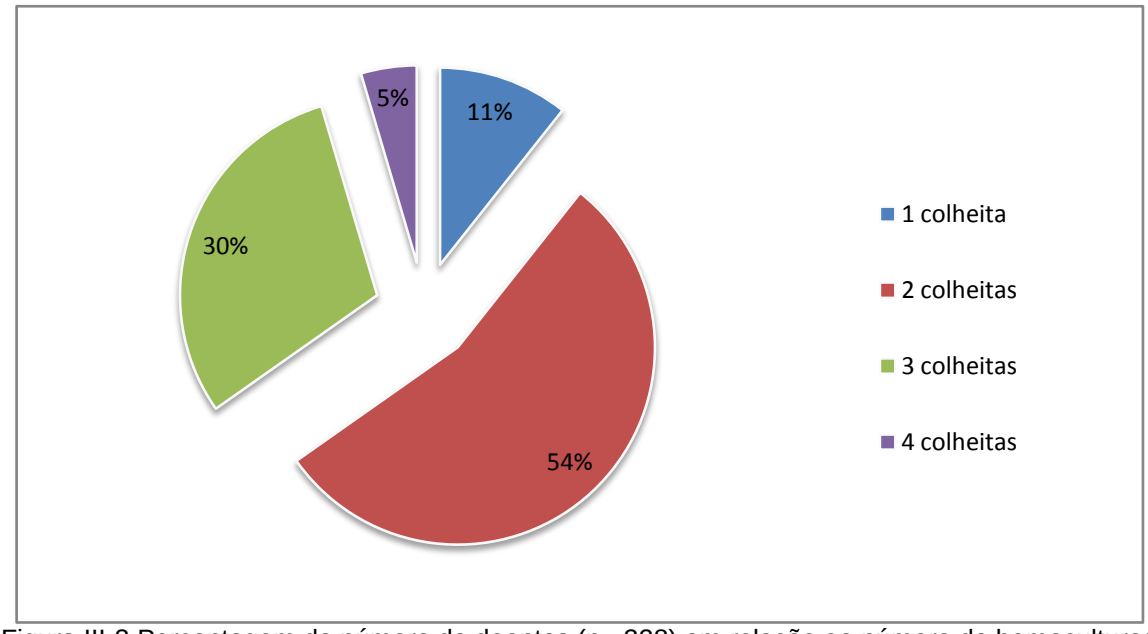

Figura III-3 Percentagem do número de doentes (n= 328) em relação ao número de hemoculturas requisitadas.

A maioria dos pedidos englobou a requisição de pelo menos dois conjuntos de hemoculturas (volume mínimo de amostra de 30ml). De acordo com a literatura, este volume corresponde a uma taxa de recuperação de cerca de 80% dos microrganismos (Figura I-12). Apesar de uma pequena percentagem dos serviços (11%) terem pedido apenas 1 conjunto de hemoculturas verificou-se que a grande maioria emprega uma boa prática clínica. Isto contribui, em muito, para a diminuição do número de resultados falso negativos.

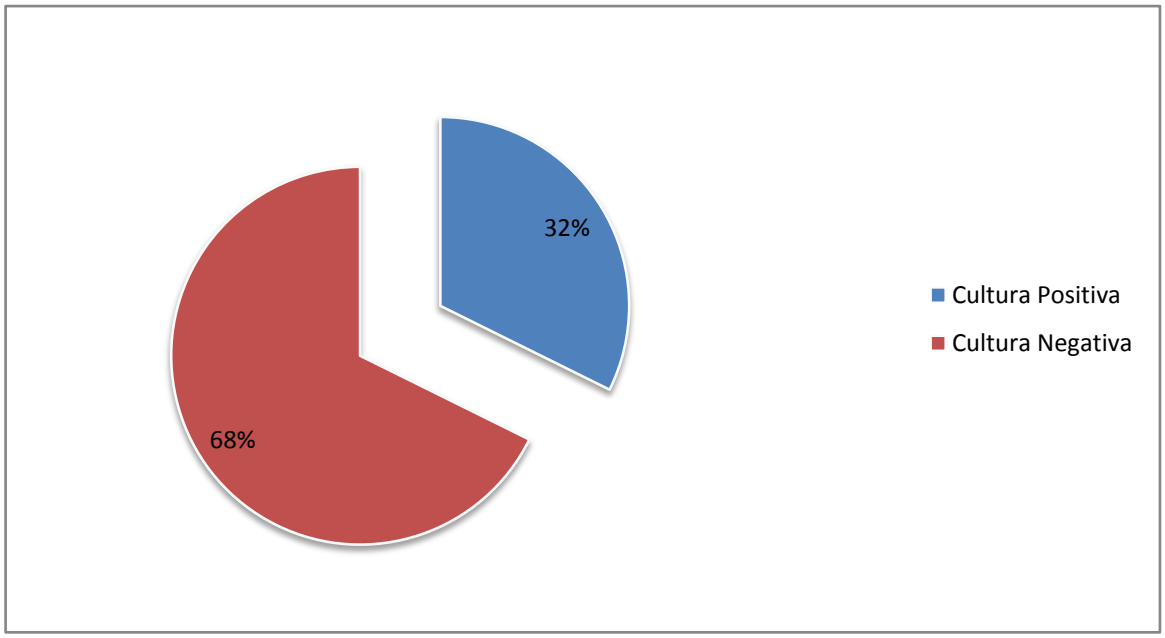

Figura III-4 Percentagem do número de doentes (n= 328) com hemoculturas positivas e com hemoculturas negativas.

De acordo com a Figura III-4, 32% dos doentes apresentaram hemoculturas positivas. Verifica-se, deste modo, que nas hemoculturas da grande maioria dos doentes não se desenvolveram quaisquer microrganismos. Apesar de, como foi referido anteriormente, se ter colhido um volume de sangue considerado ideal, não se pode excluir a ocorrência de falsos negativos e falsos positivos. Muitos dos doentes adultos com sépsis têm um baixo número de UFCs por mL de sangue, o que dificulta a recuperação dos microrganismos. Além disso, alguns doentes, possivelmente, já teriam iniciado a terapêutica com antibióticos, o que poderia ter condicionado o desenvolvimento dos mesmos. Alguns dos resultados positivos obtidos podem, na realidade, ser falsos positivos, resultantes de más práticas de assepsia ou, no caso da existência de CTI, de microrganismos que estejam a colonizar o catéter sem estarem, de facto, a causar infecção.

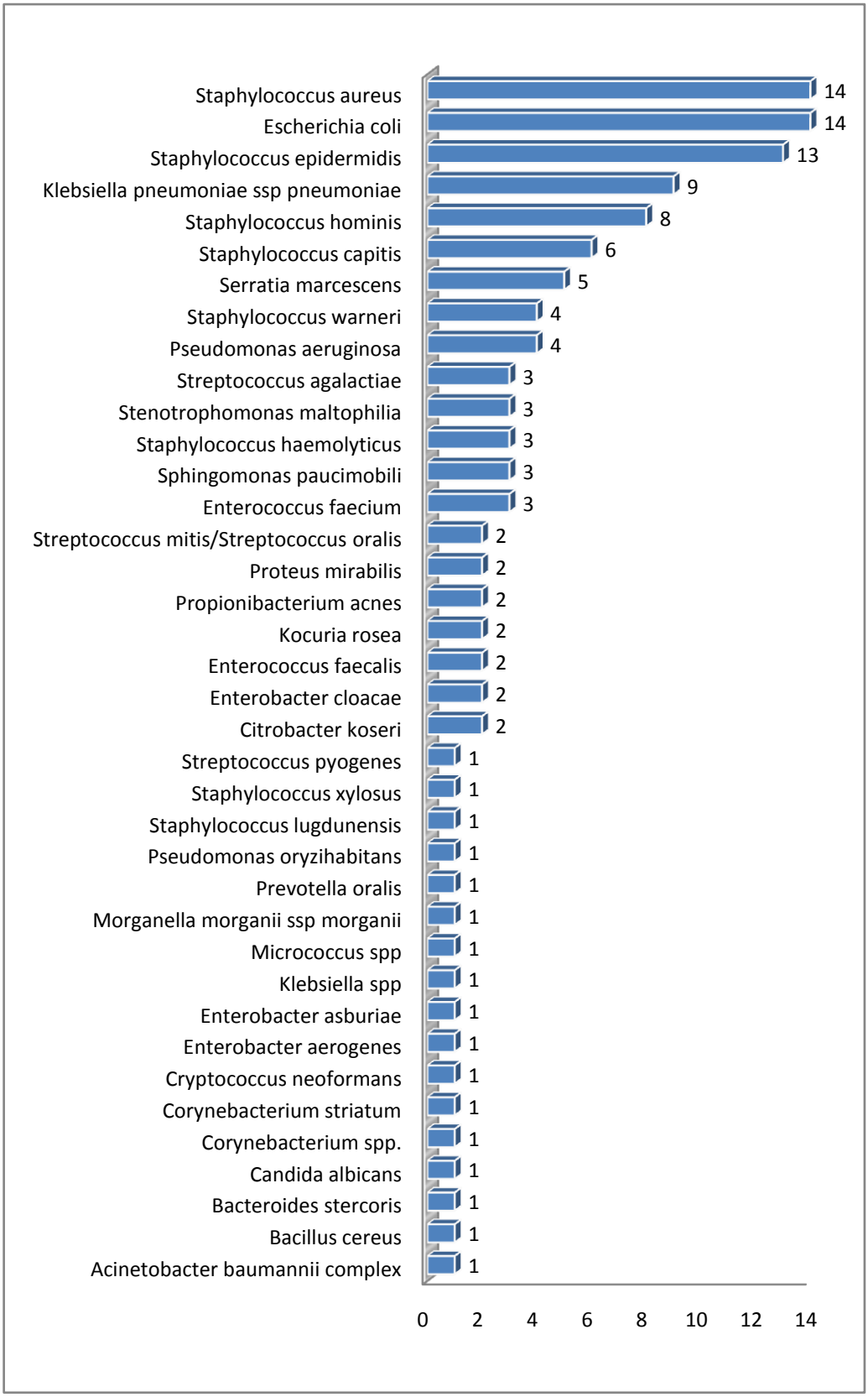

Figura III-5 Distribuição dos microrganismos subcultivados das hemoculturas positivas (n=106).

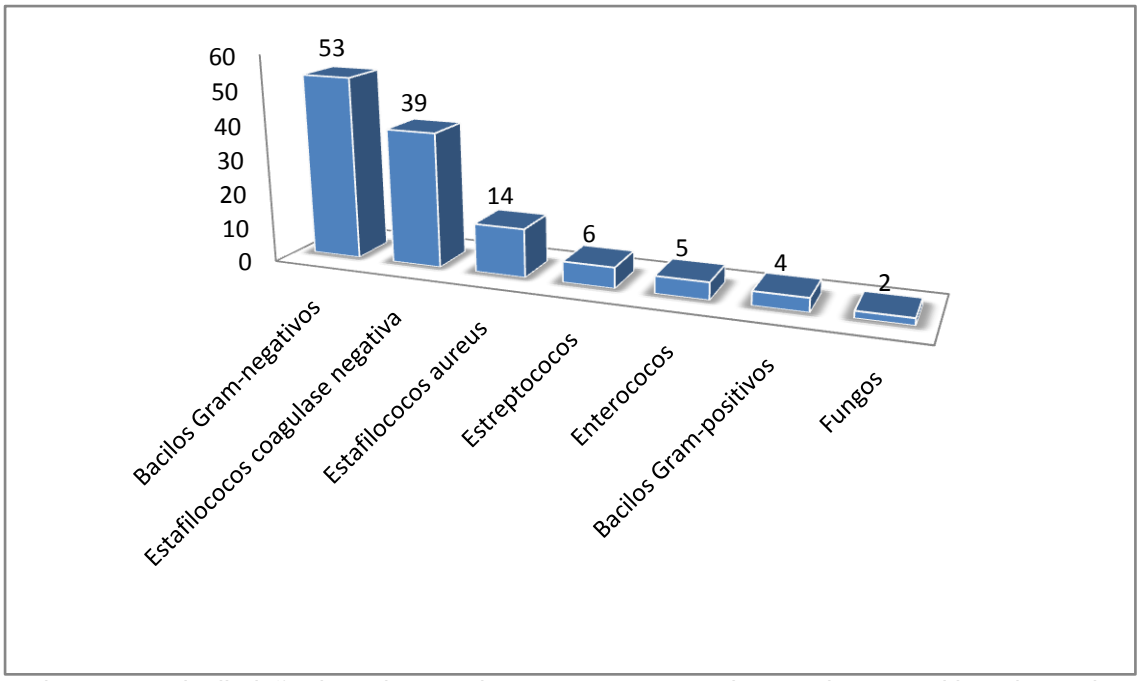

Figura III-6 Distribuição dos microrganismos presentes nas hemoculturas positivas (n=106) por principais grupos de microrganismos.

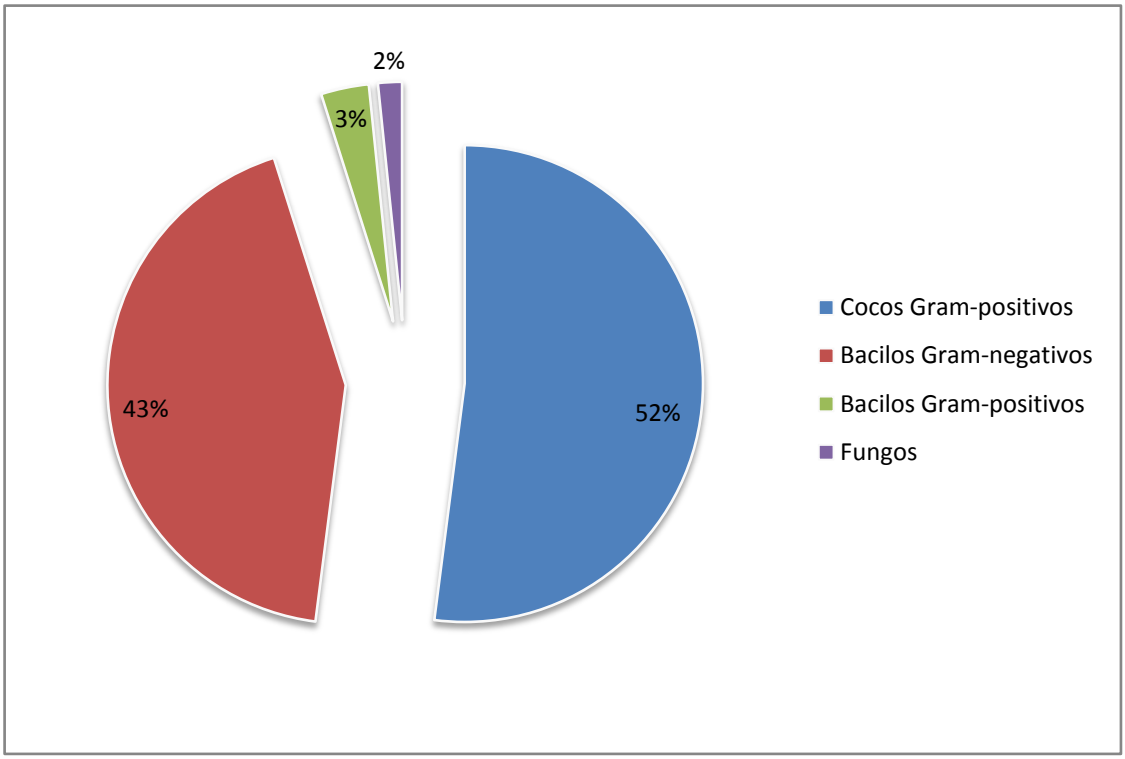

Figura III-7 Distribuição dos microrganismos presentes nas hemoculturas positivas (n=106) segundo características morfológicas e comportamento em relação à coloração de Gram.

Da análise da Figura III-5 pode-se constatar que foram recuperadas 38 tipos de microrganismos diferentes. Os microrganismos mais frequentemente recuperados foram *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus hominis*.

Os *Staphylococcus* coagulase-negativa continuam a ser um grupo com elevado predomínio nas hemoculturas positivas (Figura III-6), apesar de muitos destes serem, geralmente, colonizadores dos catéteres e não verdadeiros agentes causadores de sépsis. Esta distribuição, em doentes oncológicos, é muito semelhante à encontrada noutros estudos, quer em doentes oncológicos, quer em doentes não oncológicos, existido um grande predomínio de bacilos Gram negativos (especialmente *E. coli*), *Staphylococcus* coagulase negativa (em particular *Staphylococcus epidermidis*) um número relevante de *Staphylococcus aureus*. Dos microrganismos identificados, os cocos Gram positivos foram os mais frequentes (52%). Seguiram-se os bacilos Gram negativos (43%), os bacilos Gram positivos (3%) e os fungos (2%) (Figura III-7).

A presença de fungos como agentes causadores de infecções no doente oncológico assume cada vez mais um papel relevante, tendo-se esperado a ocorrência de um número mais elevado de hemoculturas positivas por estes microrganismos. Por último, é de referir que alguns destes microrganismos, em especial os *Staphylococcus* coagulase negativa e os *Propionobacter acnes*, podem aparecer apenas como contaminantes, com origem no CTI, ou como flora comensal da pele no local de punção, não constituindo, por isso, verdadeiros agentes infecciosos mas apenas contaminantes das hemoculturas.

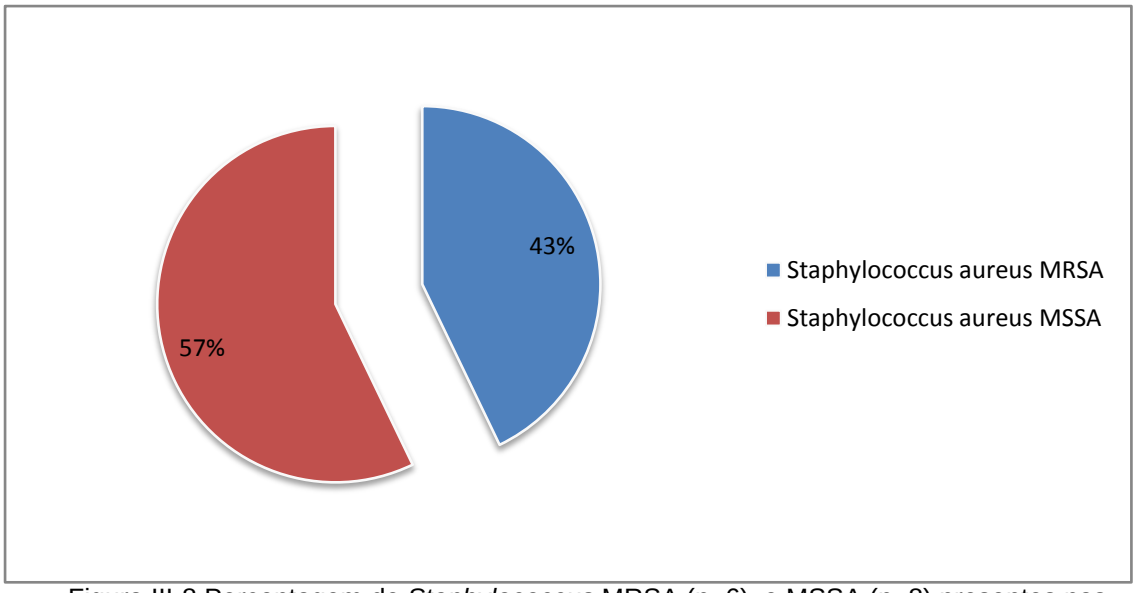

Figura III-8 Percentagem de *Staphylococcus* MRSA (n=6) e MSSA (n=8) presentes nas hemoculturas positivas por *Staphylococcus aureus* (n=14).

O MRSA é uma bactéria tipicamente hospitalar, mas também pode ocorrer na comunidade. Neste caso, costuma responder a um espectro mais amplo de antibióticos alternativos, sendo de mais fácil tratamento. O tratamento do MRSA hospitalar é feito com antibióticos potentes como a Vancomicina, Linezulide e Teicoplamina, sendo de salientar que já foram reportados casos de MRSA resistentes também à Vancomicina.

A percentagem de MRSA nas hemoculturas positivas por *Staphylococcus aureus* é de 43%, sendo esta uma percentagem muito elevada. A identificação de estirpes MRSA e o teste da sua sensibilidade aos antibióticos, pelo laboratório, são de vital importância para o ajuste da antibioterapia empírica instaurada ao doente com suspeita de sépsis, caso este microrganismo seja o responsável pela infecção sistémica.

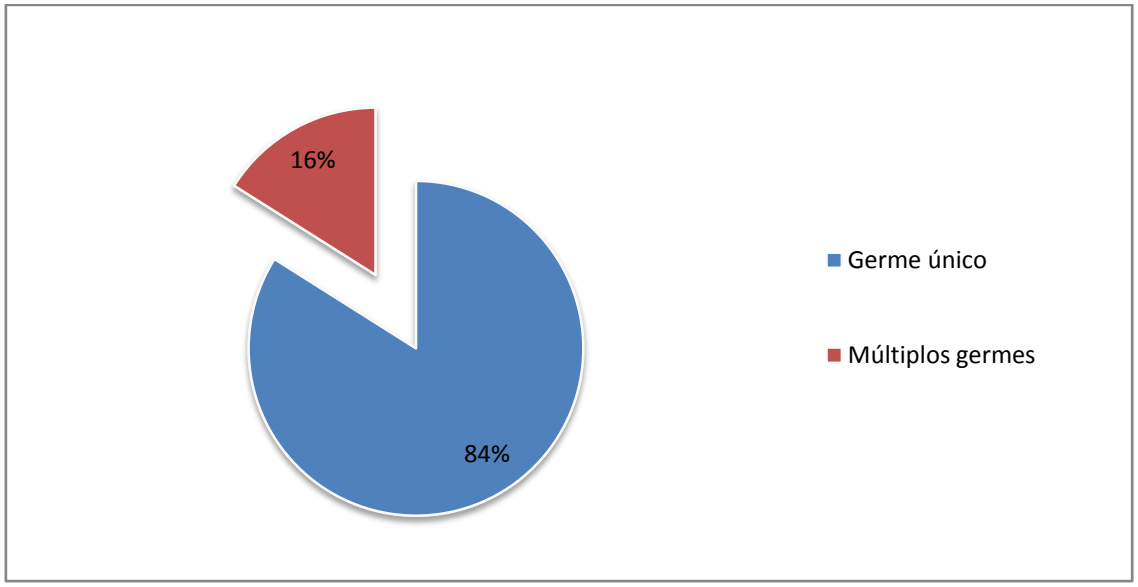

Figura III-9 Percentagem de hemoculturas positivas (n=106) cuja subcultura desenvolveu: um único microrganismo (n=89) vs. Mais que um microrganismo (n=17).

O isolamento de microrganismos diferentes nas hemoculturas do mesmo paciente, sugere contaminação, excepto em doentes imunodeprimidos ou neutropénicos e em doentes em estado grave com catéteres intravasculares ou sinais clínicos sugestivos de infecção intra-abdominal.

A partir da maioria das hemoculturas (84%) foi recuperado apenas um tipo de agente infeccioso. Porém, em 16% das culturas desenvolveu-se mais que um microrganismo, após subcultura (figura III-9). A análise da distribuição dos microrganismos presentes nas hemoculturas positivas, com presença de 1 ou mais microrganismos (Figura III-10), revela que não existe predomínio de nenhum microrganismo em particular. Aparentemente não existe nenhuma relação específica entre os germes que se desenvolveram simultaneamente nas hemoculturas.

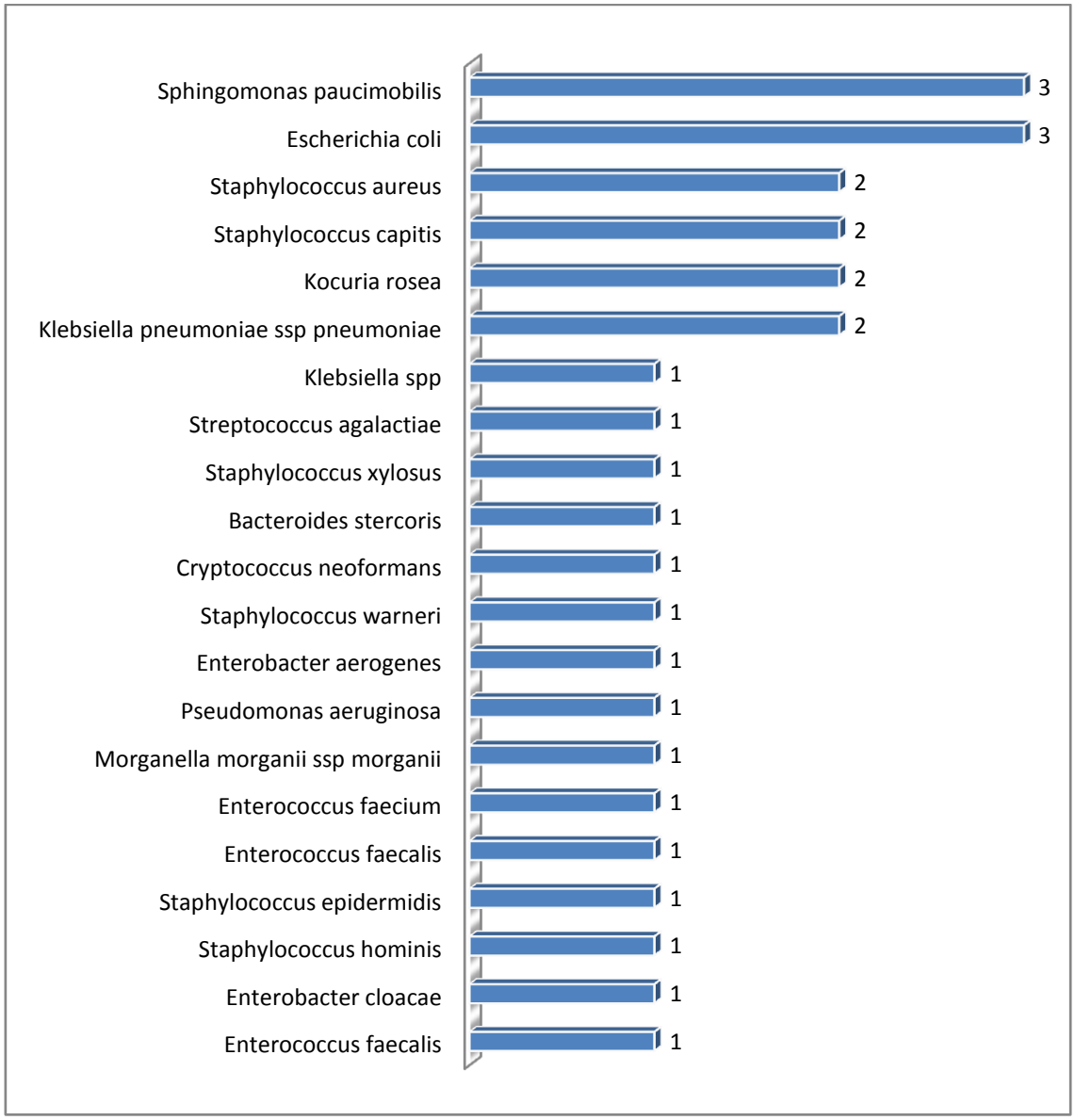

Figura III-10 Microrganismos presentes nas hemoculturas positivas cuja subcultura apresentou mais que um microrganismo (n=17).

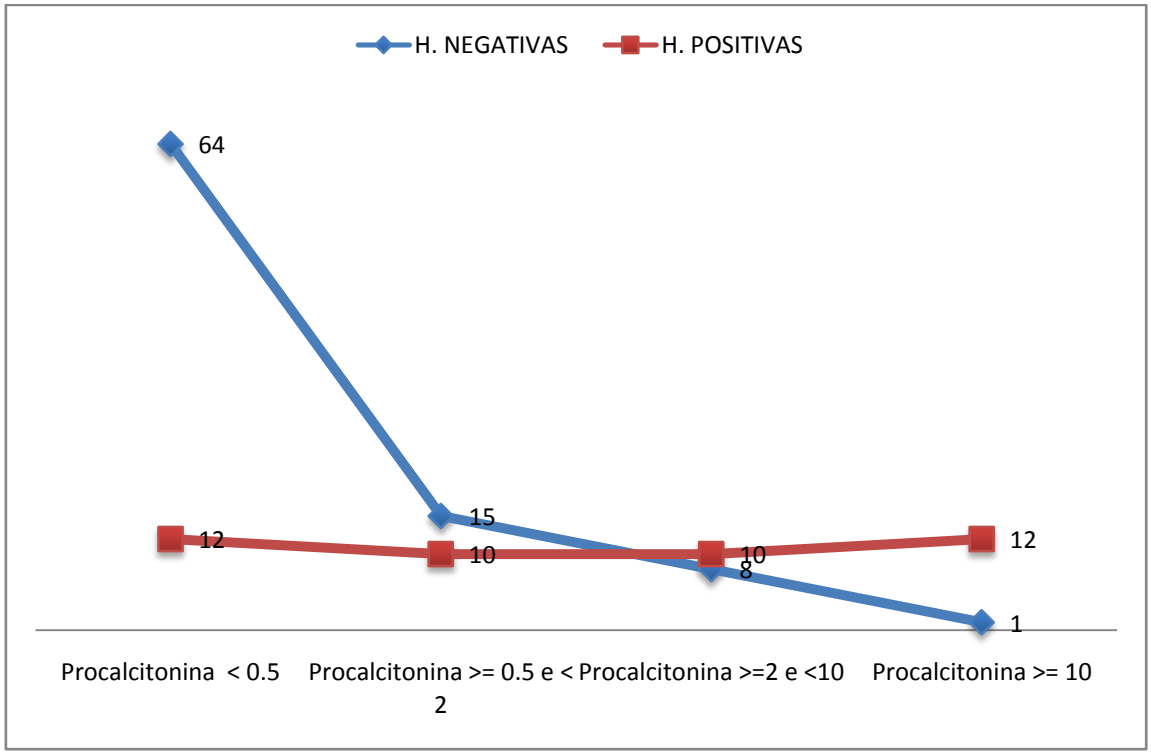

Figura III-11 Representação do número de hemoculturas positivas (n= 44) e hemoculturas negativas (n= 88) em comparação com os valores séricos da procalcitonina.

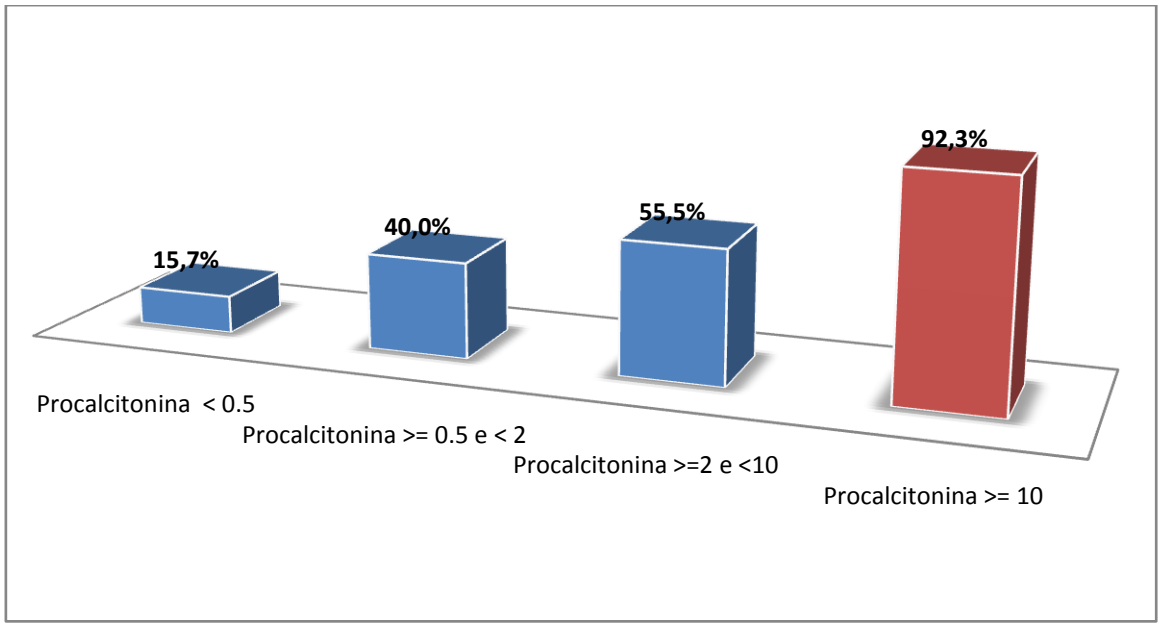

Figura III-12 Probabilidade da existência de sépsis em relação aos valores séricos de procalcitonina.

No que diz respeito ao papel que a PCT tem enquanto auxiliar no diagnóstico de sépsis, verificou-se que existe uma estreita relação entre os valores séricos desta proteína e o resultado das hemoculturas. De facto, verifica-se que à medida que o valor da PCT aumenta, o número de hemoculturas negativas diminuí (Figura III-11). Mais especificamente para valores superiores a 10 ng/mL de PCT, todas as hemoculturas resultaram em resultado positivo, com excepção de uma. Pode-se, assim, concluir que à medida que os valores séricos de PCT aumentam, mais provável é a existência de sépsis. Estes resultados estão de acordo com os dados encontrados na literatura.

Constatou-se, ainda, que quando a PCT é inferior a 0,5 ng/mL existe uma probabilidade de 15,7% de existir uma hemocultura positiva (Figura III-12). Contudo, verificou-se que mesmo com valores de PCT abaixo de 0,5 ng/mL não se pode excluir a possibilidade da existência de sépsis, pois obteve-se 12 hemoculturas positivas dentro desta gama de valores (Figura III-11). Por outro lado, quando os valores de PCT são superiores a 10 ng/mL, a probabilidade de existir uma hemocultura positiva, com a consequente possibilidade de existir sépsis, passa para 92,3%. Apenas uma hemocultura foi negativa quando o valor da PCT foi superior a 10 ng/mL (Figura III-11).

Para valores de PCT superiores a 0,5 ng/mL mas inferiores a 10 ng/mL, os resultados das hemoculturas são variáveis. Neste intervalo de valores as probabilidades de um doente desenvolver hemoculturas positivas, variam entre 40% (PCT≥ 0,5 ng/mL e <2 ng/mL) e 55,5% (≥2 ng/mL e <10 ng/mL), não sendo de forma alguma valores que possam ajudar a concluir ou a excluir a existência de sépsis.

Por último, é de reforçar que a existência de uma hemocultura positiva para um determinado doente, não implica necessariamente a existência de sépsis, pois este resultado pode dever-se a contaminação (falso positivo) e não necessariamente a um microrganismo associado a sépsis.

IV. Conclusões

A sépsis grave é uma complicação comum no doente oncológico com uma incidência três a cinco vezes superior ao doente não oncológico. Está, ainda, associada a uma elevada taxa de mortalidade dos doentes oncológicos internados. Existe, no entanto, uma escassez de dados no que diz respeito à epidemiologia da sépsis nestes doentes.

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo pode-se concluir que os doentes a efectuar quimioterapia são, de facto, os que requerem uma maior vigilância no que respeita à probabilidade de ocorrência de sépsis, visto que a grande proveniência de pedidos de hemoculturas foram do Serviço de Oncologia Médica.

Constatou-se que os cocos Gram positivos são os microrganismos predominantes nestes doentes, seguindo-se os bacilos Gram negativos, os bacilos Gram positivos e, por fim, os fungos. Esperava-se, contudo, uma maior incidência de infecções por fungos, que não foi observado.

Conclui-se, ainda, que a PCT apenas se revela útil, enquanto auxiliar no diagnóstico de sépsis, para valores muito baixos (<0,5 ng/mL) ou muito elevados (>10 ng/mL). Valores de PCT intermédios são inconclusivos em relação à existência ou não de sépsis, o que não permite utilizá-los para determinar se o doente tem, ou não, uma infecção sistémica. Deste modo, a PCT nunca deve utilizada sozinha para o diagnóstico de sépsis. Poderá ser útil em alguns casos, em particular os mais extremos, mas deverá ser sempre utilizada em conjunção com outros exames laboratoriais, nomeadamente microbiológicos, e com um conhecimento aprofundado do estado clínico do doente.

V. Referências Bibliográficas

Abbas, A., Murphy, K., Sher, A. (1996) Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature.* **383**(6603): 787-793.

Allegretta, G., Weisman, S., Altman, A. (2003): Oncologic emergencies II. Hematologic and infectious complications of cancer and cancer treatment. *Pediatr Clin North Am.* **32**: 613-624.

Angus, D. (2000) Study Design Issue in Sépsis Trials. *Sépsis.* **4**: 7-13.

Angus, D., Linde-Zwirble, W., Lidicker, J., Clermont, G., Carcillo, J., Pinsky, M. (2001) Epidemiology of severe sépsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. Crit Care Med. **29**(7): 1303-1310.

Annane, D., Bellissant, E., Cavaillon, J. (2005) Septic shock. *Lancet.* **365**(9453): 63-78.

Aronson, M., Bor, D. (1987) Blood cultures. *Ann Intern Med.* **106**: 246-253.

Astiz, M., Rackow, E. (1998) Septic shock. *Lancet.* **351**(9114): 1501-1505.

Baskaran, N., Gan, G., Adeeba, K., Sam, I. (2007) Bacteremia in patients with febrile neutropenia after chemotherapy at a university medical center in Malaysia. *Int J Infect Dis.* **11**(6): 513-517.

Bates, D., Cook, E., Goldman, L., et al. (1990) Predicting bacteremia in hospitalized patients: a prospectively validated model. *Ann Intern Med.* **113**: 495-500.

Bates, D., Goldman, L., Lee, T. (1991) Contaminant blood cultures and resource utilization: the true consequences of false-positive results. *JAMA.* **265**: 365-369.

Bates, D., Lee, T. (1992) Rapid classification of positive blood cultures: prospective validation of a multivariate algorithm. *JAMA.* **267**: 1962-1966.

Bates, D., Sands, K., Miller, E., et al. (1997) Predicting bacteremia in patients with sépsis syndrome: Academic Medical Center Consortium Sépsis Project Working Group. *J Infect Dis.* **176**: 1538-1551.

Becker, K., Nylén, E., White, J., Muller, B., Snider, R. (2004) "Procalcitonin and the Calcitonin Gene Family of Peptides in Inflammation, Infection, and Sepsis: A Journey from Calcitonin Back to Its Precursors". *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*. **89**: 1512- 1525.

Bensousan, T., Vincent, F., Damaj, G., et al. (1995) Predicting infection in critically ill surgical patients: usefulness of bacteriuria. *Intensive Care Med.* **21**: 621.

Bergmans, D., Bonten, M., Gaillard, C., et al. (1997) Indications for antibiotic use in ICU patients: a one-year prospective surveillance. *J Antimicrob Chemother.* **39**: 527-535.

Blanco, J., Muriel-Bombin, A., Sagredo, V., Taboada, F., Gandia, F., Tamayo, L., et al. (2008) Incidence, organ dysfunction and mortality in severe sépsis: a Spanish multicentre study. *Crit Care.* **12**(6): 158.

Blot, F., Nitenberg, G., Chachaty, E. et al. (1999) Diagnosis of catheter-related bacteraemia: a prospective comparison of the time to positivity of hub-blood vs peripheral-blood cultures. *Lancet.* **354**: 1071-1077.

Blot, F., Schmidt, E., Nitenberg, G. et al. (1998) Earlier positivity of central-venous- vs peripheral-blood cultures is highly predictive of catheter-related sépsis. *J Clin Microbiol.* **36**: 105-109.

Bodey, G. (2009) The changing face of febrile neutropenia - from monotherapy to moulds to mucositis. Fever and neutropenia: the early years. *J Antimicrob Chemother.* **63**: 3-13.

Bone, .RC., Sibbald, W., Sprung, C. (1992) The ACCP-SCCM consensus conference on sépsis and organ failure. *Chest.* **101**(6): 1481-1483.

Bossink, A., (1999) Groeneveld, A., Thijs, L. Prediction of microbial infection and mortality in medical patients with fever: plasma procalcitonin, neutrophilic elastase-α1-antitrypsin, and lactoferrin compared with clinical variables. *Clin Infect Dis.* **29**: 398-407.

Brun-Buisson, C., Doyon, F., Carlet, J., Dellamonica, P., Gouin, F., Lepoutre, A., et al. (1995) Incidence, risk factors, and outcome of severe sépsis and septic shock in adults. A multicenter prospective study in intensive care units. French ICU Group for Severe Sépsis*. JAMA.* **274**(12): 968-974.

Brun-Buisson, C., Meshaka, P., Pinton, P., Vallet, B. (2004) EPISÉPSIS: a reappraisal of the epidemiology andoutcome of severe sépsis in French intensive care units. *Intensive Care Med*. **30**(4): 580-588.

Brun-Buisson, C., Doyon, F., Carlet, J., et al. (1995) Incidence, risk factors, and outcome of severe sépsis and septic shock in adults: a multicenter prospective study in intensive care units; French ICU Group for Severe Sépsis. *JAMA.* **274**: 968-974.

Cabana, M., Rand, C., Powe, N., Wu, A., Wilson, M., Abboud, P., et al. (1999) Why don't physicians follow clinical practice guidelines? A framework for improvement. **282**(15): 1458-1465.

Castellheim, A., Brekke, O., Espevik, T., Harboe, M., Mollnes, T. (2009) Innate immune responses to dangersignals in systemic inflammatory response syndrome and sépsis. *Scand J Immunol.* **69**(6): 479-491.

Castelli, G., Pognani, C., Meisner, M., Stuani, A., Bellomi, D., Sgarbi, L. (2004) Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sépsis and organ dysfunction. *Crit Care.* **8**(4): 234-242.

Cavaillon, J.M, Adib-Conquy, M., Fitting, C., Adrie, C., Payen, D. (2003) Cytokine cascade in sépsis. *Scand J Infect Dis.* **35**(9): 535-544.

Chandrasekar, P., Brown, W. (1994) Clinical issues of blood cultures. *Arch Intern Med.* **154**: 841-849.

Chanock, S. (1993) Evolving risk factors for infectious complications of cancer therapy. *Hematol Oncol Clin North Am.* **7**: 771-793.

Chatzinikolaou, I., Abi-Said, D., Bodey, G., Rolston, K., Tarrand, J., Samonis, G. (2000) Recent experience with Pseudomonas aeruginosa bacteremia in patients with cancer. Retrospective analysis of 245 episodes. *Arch Intern Med.* **160**(4): 501-509.

Cheng, B., Xie, G., Yao, S., Wu, X., Guo, Q., Gu, M., et al. (2007) Epidemiology of severe sépsis in critically ill surgical patients in ten university hospitals in China. *Crit Care Med.* **35**(11): 2538-2546.

Christakis, N., Escarce, J. (1996) Survival of Medicare patients after enrollment in hospice programs. *N Engl J Med.* **335**: 172-178.

Christ-Crain, M., Stolz, D., Bingisser, R., Müller, C., Miedinger, D., Huber, P., et al. (2006) Procalcitonin guidance of antibiotic therapy in community-acquired pneumonia: a randomized trial. *Am J Respir Crit Care Med.* **174**(1): 84-93.

Christ Crain, M., Mueller, B. (2007). “Biomarkers in respiratory tract infections: diagnostic guides to antibiotic prescription, prognostic markers and mediators”. *European Respiratory Journal.* **30**: 556-573.

Cinel, I., Dellinger, R. (2007) Advances in pathogenesis and management of sépsis. *Curr Opin Infect Dis.* **20**(4): 345-352.

Collin, G. (1999) Decreasing catheter colonization through the use of an antiseptic-impregnated catheter: a continuous quality improvement project. *Chest*. **115**: 1632-1640.

Costa, S., Miceli, M., Anaissie, E. (2004) Mucosa or skin as source of coagulase-negative staphylococca bacteraemia? *Lancet Infect Dis.* **4**(5): 278-286.

Craven, D., Kunches, L., Lichtenberg, D., et al. (1988) Nosocomial infection and fatality in medical and surgical intensive care unit patients. *Arch Intern Med.* **148**: 1161-1168.

Cunneen, J., Cartwright, M. (2004) The puzzle of sépsis: fitting the pieces of the inflammatory response with treatment. *AACN Clin Issues.* **15**(1): 18-44.

Darby, J., Linden, P., Pasculle, W, et al. (1997) Utilization and diagnostic yield of blood cultures in a surgical intensive care unit. *Crit Care Med.* **25**: 989-994.

Davies, A. (2001) OECD health data 2001. *Intensive Care Medicine.* **27**: 581.

Dellinger, R., Levy, M., Carlet, J., Bion, J., Parker, M., Jaeschke, R. et al. (2008) Surviving Sépsis Campaign: international guidelines for management of severe sépsis and septic shock: 2008. *Intensive Care Med.* **34**(1): 17-60.

Dellinger, R. (2003) Inflammation and coagulation: implications for the septic patient. *Clin Infect Dis.* **36**(10): 1259-1265.

Delves, P., Roitt, I. (2000) The immune system. First of two parts. *N Engl J Med.* **343**(1): 37-49.

Delves, P., Roitt, I.. (2000) The immune system. Second of two parts. *N Engl J Med.* **343**(2): 108-117.

Doern, G. (1994) Manual blood culture systems and the antimicrobial removal device. *Clin Lab Med.* **14**: 133-147.

Edgeworth, J., Treacher, D., Eykyn, S. (1999) A 25-year study of nosocomial bacteremia in an adult intensive care unit. *Crit Care Med.* **27**: 1421-1428.

Eng, J. (1975) Effect of sodium polyanethol sulfonate in blood cultures. *J Clin Microbiol.* **1**: 119-123.

Enguix, A., Rey, C., Concha, A., Medina, A., Coto, D., Dieguez, M. (2001) Comparison of procalcitonin with C-reactive protein and serum amyloid for the early diagnosis of bacterial sépsis in critically ill neonates and children. *Intensive Care Med.* **27**(1): 211.

Feld, R. (2008) Bloodstream infections in cancer patients with febrile neutropenia. *Int J Antimicrob Agents.* **32**(1): 30-33.

Flaatten, H. (1999) Epidemiology of sépsis in Norway in 1999. *Crit Care 2004.* **8**(4): 180-184.

Foglar, C., Lindsey, R. (1998) C-reactive protein in orthopedics*. Orthopedics.* **21**(6): 687-691.

Gabay, C., Kushner, I. (1999) Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med.* **340**(6): 448-454.

Gaytan-Martinez, J., Mateos-Garcia, E., Sanchez-Cortes, E., Gonzalez-Llaven, J., Casanova-Cardiel, .LJ., Fuentes-Allen, J. (2000) Microbiological findings in febrile neutropenia. *Arch Med Res.* **31**(4): 388-392.

Gross, P.A, Van Antwerpen, C., Hess, W., et al. (1988) Use and abuse of blood cultures: program to limit use. *Am J Infect Control.* **16**: 114-117.

Guidet, B., Aegerter, P., Gauzit, R., Meshaka, P., Dreyfuss, D. (2005) Incidence and impact of organ dysfunctions associated with sépsis. *Chest.* **127**(3): 942-951.

Günther, G., Björkholm, M., Björklind, A., Engervall, P., Stiernstedt, G. (1991) Septicemia in patients with hematological disorders and neutropenia. A retrospective study of causative agents and their resistance profile. *Scand J Infect Dis.* **23**(5): 589-598.

Hack, C., Zeerleder, S. (2001) The endothelium in sépsis: source of and a target for inflammation. *Crit Care Med.* **29**(7): 21-27.

Henry, N., McLimans, C., Wright, A., et al. (1983) Microbiological and clinical evaluation of the isolator lysis-centrifugation blood culture tube. *J Clin Microbiol.* **17**: 864-869.

Hersh, E., Bodey, G., Nies, B., Freireich, E. (1965) Causes of death in acute leukemia: a ten-year studyof 414 patients from 1954-1963. **193**: 105-109.

Hotchkiss, R., Karl, I. (2003) The pathophysiology and treatment of sépsis. *N Engl J Med.* **348**(2): 138-150.

Hsueh, P., Chen, W., Luh, K. (2005) Relationships between antimicrobial use and antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria causing nosocomial infections from 1991-2003 at a university hospital in Taiwan. *Int J Antimicrob Agents.* **26**(6): 463-472.

Hughes, W., Armstrong, D., Bodey, G., Bow, E., Brown, A., Calandra, T. et al. (2002) guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. *Clin Infect Dis.* **34**(6): 730-751.

Hunt, R., Fazekas, B., Luke, C., Priest, K., Roden, D. (2002) The coverage of cancer patients by designated palliative services: a population-based study, South Australia,1999. *Palliat Med 2002*. **16**: 403-409.

Ilstrup, D., Washington, J. (1983) The importance of volume of blood cultured in the detection of bacteremia and fungemia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* **1**: 107-110.

Kallio, R., Surcel, H., Bloigu, A., Syrjälä, H. (2000) C-reactive protein, procalcitonin and interleukin-8 in the primary diagnosis of infections in cancer patients. *Eur J Cancer.* **36**(7): 889-894.

Kanafani, Z., Dakdouki, G., El-Chammas, K., Eid, S., Araj, G., Kanj, S. (2007) Bloodstream infections in febrile neutropenic patients at a tertiary care center in Lebanon: a view of the past decade. *Int J Infect Dis.* **11**(5): 450-453.

Kanamaru, A., Tatsumi, Y. (2004) Microbiological data for patients with febrile neutropenia. *Clin Infect Dis.* **3**(1): 7-10.

Kang, C., Kim, S., Park, W., Lee, K., Kim, H., Kim, E., et al. (2005) Bloodstream infections caused by antibiotic-resistant gram-negative bacilli: risk factors for mortality and impact of inappropriate initial antimicrobial therapy on outcome*. Antimicrob Agents Chemother.* **49**(2): 760-766.

Karlsson, S., Varpula, M., Ruokonen, E., Pettilä, V., Parviainen, I., Ala-Kokko, T., et al. (2007) Incidence, treatment, and outcome of severe sépsis in ICU-treated adults in Finland: the Finnsépsisstudy. *Intensive Care Med.* **33**(3): 435-443.

Kim, I., Moon, S., Kim, S., Kim. H., Koh, Y., Koh, G. (2001) Vascular endothelial growth factor expression of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1), and E-selectin through nuclear factor-kappa B activation in endothelial cells. *J Biol Chem.* **276**(10): 7614-7620.

Klastersky, J., Ameye, L., Maertens, J., Georgala, A., Muanza, F., Aoun, M. et al. (2007) Bacteraemia in febrile neutropenic cancer patients. *Int J Antimicrob Agents*. **30** (1): 51-59.

Klastersky, J. (1998) Science and pragmatism in the treatment and prevention of neutropenic infection. *J Antimicrob Chemother.* **41**(1): 13-24.

Kortgen, A., Niederprum, P., Bauer, M. (2006) Implementation of an evidence-based "standard operating procedure" and outcome in septic shock. *Crit Care Med.* **34**(4): 943-949.

Kumar, A., Roberts, D., Wood, K., Light, B., Parrillo, J., Sharma, S., et al. (2006) Duration of hypotension beforeinitiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med.* **34**(6): 1589-1596.

Landry, S., Kaiser, D., Wenzel, R. (1989) Hospital stay and mortality attributed to nosocomial enterococcal bacteremia: a controlled study*. Am J Infect Control.* **17**: 323-329.

Leibovici, L. (1991) Predicting bacteremia [letter]. *Ann Intern Med.* **114**: 703.

Leibovici, L., Greenshtain, S., Cohen, O., et al. (1991) Bacteremia in febrile patients: a clinical model for diagnosis. *Arch Intern Med.* **151**: 1801-1806.

Lever, A., Mackenzie, I. (2007) Sépsis: definition, epidemiology, and diagnosis. *BMJ.* **335**(7625): 879-883.

Levy, M., Fink, M., Marshall, J., Abraham, E., Angus, D., Cook, D., et al. (2001) SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sépsis Definitions Conference. *Crit Care Med.* **31**(4): 1250-1256.

Li, J., Plorde, J., Carlson, L. (1994) Effects of volume and periodicity on blood cultures. *J Clin Microbiol.* **32**: 2829-2831.

Luzzani, A., Polati, E., Dorizzi, R., Rungatscher, A., Pavan, R., Merlini, A. (2003) Comparison of procalcitonin and C-reactive protein as markers of sépsis. *Crit Care Med.* **31**(6): 1737-1741.

MacGregor, R., Beaty, H. (1972) Evaluation of positive blood cultures: guidelines for early differentiation of contaminated from valid positive cultures. *Arch Intern Med.* **130**: 84-87.

Mackenzie, I., Lever, A. (2007) Management of sépsis. *BMJ.* **335**(7626): 929-932.

Mackenzie, I., Woodhouse, J. (2006) C-reactive protein concentrations during bacteraemia: a comparison between patients with and without liver dysfunction. *Intensive Care Med.* **32**(9): 1344-1351.

Manian, F. (1995) A prospective study of daily measurement of C-reactive protein in serum of adults with neutropenia. *Clin Infect Dis.* **21**(1): 114-121.

Markiewski, M., Nilsson, B., Ekdahl, K., Mollnes, T., Lambris, J. (2007) Complement and coagulation: strangers or partners in crime*? Trends Immunol.* **28**(4): 184-192.

Martins, P., Brunialti, M., da Luz Fernandes, M., Martos, L., Gomes, N., Rigato, O. et al. (2006) Bacterial recognition and induced cell activation in sépsis. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* **6**(2): 183-191.

Meisner, M. (2002) “Pathobiochemistry and Clinical use of procalcitonin” *Clinical Chima Acta.* **323**: 17-29.

Meisner, M. (2005) Biomarkers of sépsis: clinically useful? *Curr Opin Crit Care.* **11**(5): 473-480.

Mermel, L., Farr, B., Sherertz, R. et al. (2001) Guidelines for the management of intravascular catheter-related infections. *Clin Infect Dis*. **32**: 1249-1272.

Mermel, L., Maki, D. (1993) Detection of bacteremia in adults: consequences of culturing an inadequate volume of blood. *Ann Intern Med.* **119**: 270-272.

Meyers, B., Sherman, E., Mendelson, M., Velasquez, G., Srulevitch-Chin, E., Hubbard, M., et al. (1989) Bloodstream infections in the elderly. *Am J Med.* **86**(4): 379-384.

Mylotte, J., Tayara, A. (2000) Blood cultures: clinical aspects and controversies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* **19**: 157-163.

Nguyen, H., Rivers, E., Abrahamian, F., Moran, G., Abraham, E,, Trzeciak, S., et al.(2006) Severe sépsis and septic shock: review of the literature and emergency department management guidelines. *Ann Emerg Med.* **48**(1): 28-54.

Oliveira, A., de Souza, M., Carvalho-Dias, V., Ruiz, M., Silla, L., Tanaka, P., et al. (2007) Epidemiology of bacteremia and factors associated with multi-drug-resistant gram-negative bacteremia in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant.* **39**(12): 775-781.

Opal, S., DePalo, V. (2000) Anti-inflammatory cytokines. *Chest.* **117**(4): 1162-1172.

Pepys, M., Hirschfield, G. (2003) C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*. **111**(12): 1805-1812.

Pfafflin, A., Schleicher, E. (2009) Inflammation markers in point-of-care testing (POCT). *Anal Bioanal Chem.* **393**(5): 1473-1480.

Picazo, J. (2004) Management of the febrile neutropenic patient: a consensus conference. *Clin Infect Dis.* **39**(1): 1-6.

Pittet, D., Rangel-Frausto, S., Li, N. et al. (1995) Systemic inflammatory response syn-drome, sépsis, severe sépsis and septic shock: Incidence, morbidities and out-comes in surgical ICU patients. *Intensive Care Med.* **21**: 302-309.

Pittet, D., Tarara, D., Wenzel, R. (1994) Nosocomial bloodstream infection in critically ill patients: excess length of stay, extra costs, and attributable mortality. **271**: 1598-1601.

Pizzo, P. (1999) Fever in immunocompromised patients. *N Engl J Med.* **341**(12): 893-900.

Ram, S., Mylotte, J., Pisano, M. (1995) Rapid classification of positive blood cultures: validation and modification of a prediction model. *J Gen Intern Med.* **10**: 82.

Ramphal, R. (2004) Changes in the etiology of bacteremia in febrile neutropenic patients and the susceptibilities of the currently isolated pathogens. *Clin Infect Dis.* **39**(1): 25-31.

Rangel-Frausto, M., Pittet, D., Costigan, M., Hwang, T., Davis, C., Wenzel, R. (1995) The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study. JAMA. **273**(2): 117-123.

Reimer, L. (1994) Catheter-related infections and blood cultures. *Clin Lab Med.* **14**: 51-58.

Reimer, L., Wilson, M., Weinstein, M. (1997) Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clin Microbiol Rev.* **10**: 444-465.

Rello, J., Quintana, .E, Mirelis, B., et al. (1993) Polymicrobial bacteremia in critically ill patients*. Intensive Care Med.* **19**: 22-25.

Rintala, E., Irjala, K., Nikoskelainen, J. (1992) Value of measurement of C-reactive protein in febrile patients with hematological malignancies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* **11**(11): 973-978.

Rintala, E., Aittoniemi, J., Laine, S., Nevalainen, T., Nikoskelainen, J. (2001) Early identification of bacteremia by biochemical markers of systemic inflammation. *Scand J Clin Lab Invest.* **61**(7): 523-530.

Roberts, F., Geere, I., Coldman, A. (1991) A three-year study of positive blood cultures, with emphasis on prognosis. *Rev Infect Dis.* **13**: 34-46.

Rose, P., Johnson, S., Meakin, M., Mackie, P., Stuart, J. (1981) Serial study of C-reactive protein during infection in leukaemia. *J Clin Pathol.* **34**(3): 263-266.

Rubio, M., Palau, L., Vivas, J., del Potro, E., Diaz-Mediavilla, J., Alvarez, A., et al. (1994) Predominance of gram-positive microorganisms as a cause of septicemia in patients with hematological malignancies.*Infect Control Hosp Epidemiol.* **15**(2): 101-104.

Ruokonen, E., Hovilehto, S., Kuoppala, J., Loisa, P., Malmivaara, A., Perttilä, J., et al. (2005) [Care of sépsis in adults]. *Aikuisten vaikean sepsiksen hoito. Duodecim.* **121**(15): 1662-1669.

Sakr, Y., Sponholz, C., Tuche, F., Brunkhorst, F., Reinhart, K. (2008) The role of procalcitonin in febrile neutropenic patients: review of the literature. Infection. **36**(5): 396-407.

Sandri, M., Passerini, R., Leon, M., Peccatori, F., Zorzino, L., Salvatici, M. et al. (2008) Procalcitonin as a useful marker of infection in hemato-oncological patients with fever. *Anticancer Res.* **28**(5): 3061-3065.

Schifman, R., Pindur, A. (1993) The effect of skin disinfection materials on reducing blood culture contamination. *Am J Clin Pathol.* **99**: 536-538.

Schuetz, P., Christ-Crain, M., Muller, B. (2007) Biomarkers to improve diagnostic and prognostic accuracy in systemic infections. *Curr Opin Crit Care.* **13**(5): 578-585.

Schwenzer, K., Gist, A., Durbin, C. (1994) Can bacteremia be predicted in surgical intensive care unit patients? *Intensive Care Med.* **20**: 425-430.

Selberg, O., Hecker, H., Martin, M., Klos, A., Bautsch, W., Kohl, J. (2000) Discrimination of sépsis and systemic inflammatory response syndrome by determination of circulating plasma concentrations of procalcitonin, protein complement 3a, and interleukin-6. *Crit Care Med.* **28**(8): 2793-2798.

Sharma, A., Lokeshwar, N. (2005) Febrile neutropenia in haematological malignancies. *J Postgrad Med.* **51**(1): 42-48.

Shine, B., de Beer, F., Pepys, M. (1981) Solid phase radioimmunoassays for human C-reactive protein. *Clin Chim Acta*. **117**(1): 13-23.

Silva, E., Passos Rda, H., Ferri, M., de Figueiredo, L. (2008) Sépsis: from bench to bedside. Clinics. **63**(1): 109-120.

Singer, M, De Santis, V., Vitale, D., Jeffcoate, W. (2004) Multiorgan failure is an adaptive, endocrine-mediated, metabolic response to overwhelming systemic inflammation. *Lancet.* **364**(9433): 545-548.

Sonis, S., Oster, G., Fuchs, H., Bellm, L., Bradford, W., Edelsberg, J., et al. (2001) Oral mucositis and the clinical and economic outcomes of hematopoietic stem-cell transplantation. *J. Clin. Oncol.* **19**(8): 2201-2205.

Stratton, C. (1994) Blood cultures and immunocompromised patients. *Clin. Lab. Med.* **14**: 31-49.

Sundararajan, V., MacIsaac, C., Presneill, J., Cade, J., Visvanathan, K. (2005) Epidemiology of sépsis in Victoria, Australia. *Crit. Care Med.* **33**(1): 71-80.

Szalai, A. (2002) The biological functions of C-reactive protein. *Vascul. Pharmacol.* **39**(3): 105-107.

Traub, W., Kleber, I. (1977) Inactivation of classical and alternative pathway-activated bactericidal activity of human serum by sodium polyanetholsulfonate. *J Clin Microbiol.* **5**: 278-284.

Valles, J., Rello, J., Ochagavia, A., Garnacho, J., Alcala, M. (2003) Community-acquired bloodstream infection in critically ill adult patients: impact of shock and inappropriate antibiotic therapy on survival. *Chest.* **123**(5): 1615-1624.

Van Gestel, A., Bakker, J., Veraart, C., van Hout, B. (2004) Prevalence and incidence of severe sépsis in Dutch intensive care units. *Crit Care.* **8**(4): 153-162.

Vigushin, D., Pepys, M., Hawkins, P. (1993) Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein in health and disease. *J Clin Invest.* **91**(4): 1351-1357.

Vincent, J., Byl, B. (2000) Defining a clinical syndrome of systemic inflammation. Sépsis. **4**:15-19.

Vincent, J., de Mendonca, A., Cantraine, F., Moreno, R., Takala, J., Suter, P. et al. (1998) Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on "sépsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine. *Crit Care Med.* **26**(11): 1793-1800.

Vincent, J., Sakr, Y., Sprung, C., Ranieri, V., Reinhart, K., Gerlach, H. et al. (2006) Sépsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med.* **34**(2): 344-353.

Viscoli, C., Bruzzi, P., Castagnola, E., Boni, L., Calandra, T, Gaya, H. et al. (1994) Factors associated withbacteraemia in febrile, granulocytopenic cancer patients. The International Antimicrobial Therapy Cooperative Group

(IATCG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer(EORTC). *Eur J Cancer.* **30**(4): 430-437.

Von Lilienfeld-Toal, M., Dietrich, M., Glasmacher, A., Lehmann, L., Breig, P., Hahn, C. et al. (2004) Markers of bacteremia in febrile neutropenic patients with hematological malignancies: procalcitonin and IL-6 are more reliable than C-reactive protein. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* **23**(7): 539-544.

Von Lilienfeld-Toal, M., Schneider, A., Orlopp, K., Hahn-Ast, C., Glasmacher, A., Stüber, F. (2006) Change of procalcitonin predicts clinical outcome of febrile episodes in patients with hematological malignancies. *Support Care Cancer.* **14**(12): 1241-1245.

Washington, J. (1994) Collection, transport, and processing of blood cultures. *Clin Lab Med.* **14**: 59-68.

Washington, J., Ilstrup, D. (1986) Blood cultures: issues and controversies. *Rev Infect Dis.* **8**: 792-802.

Weinstein, M. (1996) Current blood culture methods and systems: clinical concepts, technology, and interpretation of results. *Clin Infect Dis.* **23**: 40-46.

Weinstein, M., Reller, L., Murphy, J.,et al. (1983) The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults; I. Laboratory and epidemiologic observations. *Rev Infect Dis*. **5**: 35-53.

Wenzel, .RP. (2002) Treating sépsis. *N. Engl. J. Med.* **347**(13):966-967.

Wey, S., Mori, M., Pfaller, M. et al. (1988) Hospital-acquired candidemia: the attributable mortality and excess length of stay. *Arch Intern Med* **148**: 2642-2645.

Wilson, M., Weinstein, M. (1994) General principles in the laboratory detection of bacteremia and fungemia. *Clin Lab Med* **14**: 69-82.

Woodhead, M., Blasi, F., Ewig, S., Huchon, G., Leven, M., Ortqviste, A., Schaberg, T., TORRES, A., Van Der Heijden, G., Verheij, T. (2005). “ERS TASK FORCE IN COLLABORATION WITH ESCMID - Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections”. *European Respiratory Journal.* **26**: 1138–1180.

Wu, C., Lee, H., Lee, N., Shih, H., Ko, N., Wang, L. et al. (2006) Predominance of Gram-negative bacilli and increasing antimicrobial resistance in nosocomial bloodstream infections at a university hospital in southern Taiwan, 1996-2003. *J Microbiol Immunol Infect* **39**(2): 135-143.