

SEPSE – A IMPORTÂNCIA DO LABORATÓRIO CLÍNICO NO DIAGNÓSTICO

SEPSIS – THE IMPORTANCE OF CLINICAL LABORATORY THE DIAGNOSIS

Waléria Araujo Mello¹, Jadson Oliveira Silva²

1 Bióloga – Graduada pela Universidade Metodista de Piracicaba - UNIMEP. Pós-graduanda em Análises Clínicas pela Universidade Metodista de Piracicaba - UNIMEP.

2 Prof. Ms. do curso de Farmácia, Faculdade das Ciências da Saúde, Universidade Metodista de Piracicaba – UNIMEP.

Autor para correspondência: waleria.mello@ig.com.br

Palavras-chave: choque séptico, sepse, lactato, citocinas.

Keywords: septic shock, sepsis, lactate, cytokines.

RESUMO

A sepse representa um dos maiores desafios dos médicos devido à expressão de uma complexa rede de mediadores, falência de múltiplos órgãos e choque séptico. São as principais causas de óbito nas unidades de terapia intensiva em todo o mundo. Indicadores biológicos como as citocinas, bem como centenas de outros indicadores celulares, moléculas bioativas circulantes ou produtos da coagulação são potenciais marcadores biológicos que poderão ser de grande utilidade no reconhecimento e tratamento da sepse. O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão sobre a sepse e os aspectos diagnósticos em ensaios e pesquisa laboratorial por meio de um levantamento bibliográfico e pesquisa em periódicos.

ABSTRACT

Sepsis represents a major challenge for physicians due to the expression of a complex network of mediators, multiple organ failure and septic shock. They are the main causes of death in intensive care units around the world. Biological indicators such as cytokines, as well as hundreds of other cellular markers, circulating bioactive molecules or coagulation products are potential biological markers that may be useful in the recognition and treatment of sepsis. The aim of this study was to review sepsis and diagnostic aspects in clinical and laboratory research through literature survey and research journals.

INTRODUÇÃO

Sepse ou síndrome séptica é a tradução clínica da existência de manifestações acompanhadas de foco infeccioso, sendo caracterizada pelas reações desenvolvidas pelo ser humano em resposta à invasão de microorganismos patogênicos onde ocorre comprometimento disseminado e relativamente contínuo da circulação sanguínea e que pode determinar disfunção ou falência de um ou mais órgãos ou mesmo a sua morte (Ravel, 1997; Goldman e Ausiello, 2005; Veronesi, 1999). Estas alterações constituem a síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS), que foi definida por duas sociedades americanas, a *American College of Chest Physician* e a *Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Committee* (Bone et al, 1992), adotando-se como ponto de corte para a caracterização do envolvimento sistêmico, a presença de alterações de pelo menos duas ou mais das seguintes condições: temperatura corporal $>38^{\circ}\text{C}$ ou $<36^{\circ}\text{C}$; taquicardia; taquipnéia; leucocitose ou leucopenia.

Considerando o rápido progresso nos cuidados de saúde nas últimas décadas, a incidência de sepsis tem aumentado ao longo dos últimos anos e, juntamente com suas seqüelas, continua como a maior ameaça à vida de pacientes em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) (Osuchowski et al, 2006). São mais de 20 anos de extensas pesquisas e desenvolvimento de numerosas terapêuticas usadas em ensaios clínicos, porém os índices epidemiológicos continuam piorando (Rittirsch et al, 2007).

Estes índices são obtidos através da realização de vigilância epidemiológica, estipulando metas gerais e específicas para cada unidade de internação, bem como para todo o hospital. Essas metas devem ser monitoradas de forma rigorosa. As unidades selecionadas devem ser aquelas que compreendem doentes mais susceptíveis às infecções, como pacientes oncológicos, transplantados, submetidos a procedimento dialítico, recém-nascidos e admitidos em UTIs. A detecção de surto de infecção hospitalar em determinada unidade, demanda a atenção imediata do pessoal do Serviço de Controle de Infecção Hospitalar (SCIH) (Hugonnet et al, 2002).

Os índices prognósticos são ferramentas utilizadas para avaliar a condição clínica e a evolução dos pacientes, juntamente com a qualidade da Unidade de Terapia Intensiva (UTI), podendo utilizar-se de comparações para o tratamento dos pacientes por meio de estudos. Estes valores matemáticos ou estatísticos quantificam, por meio de escores numéricos, a gravidade das lesões resultantes do traumatismo, incluindo risco de óbito (Abdulkader, 2003; Chang et al., 1988).

O APACHE II (*Acute Physiology And Chronic Health Evaluation*) e o SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*) (Knaus et al., 1985; Vincent et al., 1998) são dois destes índices prognósticos usados nos pacientes com sepse. Para o APACHE II, é utilizada uma contagem de pontos baseada em valores de 12 medidas fisiológicas rotineiras, idade e estado de saúde prévio, para prover uma medida geral de severidade da doença, podendo ser combinadas com uma descrição precisa da doença a fim de estratificar prognosticamente os pacientes gravemente doentes e ajudar os investigadores que comparam o sucesso de novas e diferentes formas de terapia. O índice SOFA é a medida do tipo e severidade do desarranjo da função fisiológica, somando os pontos de disfunção de seis sistemas orgânicos: cardiovascular, respiratório, neurológico, renal, hepático e da coagulação (Knaus et al., 1985; Vincent et al., 1998).

A presença de infecção em qualquer sítio anatômico pode resultar em sepse e quando associada à hipotensão leva ao choque séptico, que é a sepse com hipotensão e anormalidades de perfusão. As principais fontes de choque séptico são os pulmões (cerca de 35%), abdômen (cerca de 30%), as vias urinárias (cada vez menos freqüentes devido à diminuição de manobras urológicas invasivas) e a pele (escaras e feridas) (Barreto et al, 2001).

Os fatores de risco mais comuns ao desenvolvimento da sepse são:

- Procedimentos invasivos (cateteres, monitorização, diagnóstico);
- Terapias imunossupressoras (corticóides, quimioterapia);
- Incidência aumentada de infecção por germes multirresistentes;
- Doenças imunossupressoras (câncer e transplantes);
- Aumento da longevidade (particularmente de pacientes com doença crônica, como diabetes e câncer).

A sepse grave é uma condição médica definida pela evidência clínica de infecção e pela ocorrência de uma cascata de eventos como a alteração da temperatura (febre ou hipotermia) e alterações funcionais em diversos órgãos e sistemas, como alterações no nível de consciência, oligúria, taquipnéia, taquicardia, coagulopatia acompanhada de hipotensão persistente com sinais e sintomas de hipoperfusão tecidual, levando à hipóxia, à acidose láctica e à disfunção orgânica (Veronesi, 1999; Bone et al., 1992).

Os sintomas da sepse e do choque séptico têm em comum a inflamação sistêmica que atinge principalmente a microcirculação, que é o principal sítio de ataque durante o choque, podendo se tornar uma área fértil para o crescimento bacteriano descontrolado, ocasionando alterações nas dimensões dos pequenos vasos. Estas alterações patológicas observadas na

sepsis são resultados da ação de mediadores endógenos secretados por células inflamatórias ativadas pelas bactérias e suas toxinas. (McCuskey et al., 1996; Veronesi, 1999).

As células endoteliais possuem um papel importante na homeostasia, regulação do tônus vascular e fibrinólise pela secreção de vasodilatadores e vasoconstritores, ativação da enzima conversora de angiotensina em sua superfície (que degrada a bradicinina e converte a angiotensina I inativa em angiotensina II), difosfatase adenosina (que inibe a agregação plaquetária) e pela produção do ativador tecidual do plasminogênio, sendo visto como uma barreira ativa que aumenta ou limita a entrada e saída de substância no vaso pela secreção ou metabolização de muitas moléculas ativas na regulação do tônus vascular, coagulação e permeabilidade (renina, endotelina, prostaciclina, óxido nítrico, prostaglandinas e aminas ativas) (Guyton e Hall, 2002; Cotran et al, 2000).

Estudos recentes têm demonstrado a importância da ação do óxido nítrico (NO) nas funções fisiológicas do organismo, principalmente a sua atuação sobre as plaquetas por meio de uma forma de intervenção na formação de trombos, promovendo assim a dilatação vascular, inibindo a agregação plaquetária e a adesão de leucócitos na parede dos vasos. O NO é uma molécula polivalente e de importante reconhecimento no organismo humano por suas variadas funções fisiológicas que abrangem os sistemas cardiovascular, imunológico, reprodutivo e nervoso (Freedman et al., 2003; Marjanovic, 2005).

O NO está envolvido numa variedade de vias biológicas, o que indica a sua importância na homeostase do organismo. Em pacientes com choque séptico, o NO pode expressar um papel bifásico, no qual, em baixa concentração desse, há um estímulo da ativação plaquetária, mas em alta concentração ocorre inibição dessa ativação podendo levar à falência circulatória, à disfunção miocárdica, à lesão orgânica e ultimar o desenvolvimento da insuficiência de múltiplos órgãos e sistemas (IMOS) (Vanni et al., 2007; Carvalho et al., 1999).

De acordo com Roitt (1999), quando ocorre a infecção, a primeira linha de defesa do hospedeiro é realizada por células fagocitárias (macrófagos, monócitos e granulócitos polimorfonucleares) e pela via alternativa do complemento, agindo de maneira não específica. Logo após, as imunoglobulinas e as células imunocompetentes iniciam uma resposta imune específica. Os principais ativadores desta resposta do hospedeiro são os componentes da parede bacteriana, sendo as endotoxinas dos microorganismos Gram-negativos e Gram-positivos responsáveis por desencadear a resposta inflamatória. A seqüência clássica é a liberação do fator de necrose tumoral (TNF α), seguida das interleucinas 1 (IL-1), 6 (IL-6) e 8

(IL-8), que são chamadas citocinas pró-inflamatórias e estimulam uma intensa resposta celular, com liberação de mediadores secundários, quimiotaxia e ativação de granulócitos.

Os mediadores secundários são responsáveis pela reativação das células fagocitárias e da cascata inflamatória, formando um ciclo vicioso inflamatório (Rea Neto, 1996). Estas células adquirem uma função pró-coagulante e pro-trombótica, pela liberação de tromboplastina, inibidor do ativador do plasminogênio e do fator ativador plaquetário, passando de uma condição normal anticoagulante para uma condição pró-coagulante, com aumento na adesividade dos leucócitos e plaquetas, levando a um aumento da permeabilidade e edema tecidual, que contribui para a ampliação da reação inflamatória (McCuskey et al., 1996; Veronesi, 1999).

Esta inflamação é uma resposta normal do hospedeiro contra agentes infecciosos sendo caracterizada pela produção de mediadores inflamatórios e pela ativação de células inflamatórias, resultando numa anarquia metabólica, na qual “o próprio organismo não consegue controlar o que ele próprio criou”. A principal consequência desta resposta inflamatória é o comprometimento dos órgãos e o quadro de choque com evolução para a IMOS, que é acompanhada de alta mortalidade (Roitt, 1999; Cotran et al, 2000; Bone, 1991).

Por se tratar de uma síndrome complexa e descontrolada, a sepse é uma das causas mais importantes de hospitalização e a principal causa de morte em unidades de terapia intensiva (UTI) (Engel et al., 2007; Alberti et al., 2005), e está diretamente relacionada aos avanços médicos, pelos quais cada vez mais são tratados pacientes gravemente doentes e em estágios de doença mais avançados (Carvalho e Trotta, 2003).

Devido às múltiplas manifestações infecciosas nos indivíduos, ocorreram também muitos avanços no entendimento da fisiopatologia desta síndrome, que resultaram em exames laboratoriais no manejo da sepse e na classificação de biomarcadores auxiliando no diagnóstico precoce e no benefício das alternativas terapêuticas (Hotchkiss e Karl, 2003; Zeni et al., 1997).

MANEJO DA SEPSE POR MEIO DE EXAMES LABORATORIAIS

O laboratório desempenha importante papel na monitoração e no diagnóstico do paciente séptico, pois esta condição clínica caracteriza-se por inúmeras alterações metabólicas decorrentes de produtos liberados pelas bactérias ou de substâncias sintetizadas pelo organismo para combater o agente agressor.

Dado o avanço tecnológico em busca da detecção dos estágios iniciais da sepse, muitos marcadores vêm sendo pesquisados e sugeridos para o diagnóstico precoce desta síndrome (Bone et al., 1992; Silva et al., 2004).

A análise das proteínas do soro/plasma para a pesquisa de novos biomarcadores em doenças está sendo estudada através das ferramentas proteômicas, termo cunhado em 1995, para definir o complemento protéico total do genoma presente na células-tecido-organismo, e as revelações do projeto do genoma humano, utilizando técnicas de separação e quantificação das proteínas de uma amostra (célula, tecido ou fluido) por eletroforese bidimensional e a identificação de cada uma das proteínas empregando a espectrometria de massa com o objetivo de verificar a expressão diferencial de proteínas em soro de pacientes com sepse, comparando com controles saudáveis, obtendo assim o perfil de espectro típico e a construção de painel de proteínas diagnóstico e novos alvos para intervenção terapêutica nas alterações em pacientes sépticos (Wilkins et al., 1996; Petricoin et al. e Gorg et al., 2004; Mann et al., 2001; Soares et al., 2007).

Marcadores Metabólicos da Sepse

O desequilíbrio entre a oferta e o consumo de oxigênio pelos tecidos proporciona uma falha ao suprir as necessidades metabólicas, ocasionando alto risco de múltiplas disfunções orgânicas. Estas medidas são realizadas no sangue, através da gasometria e do lactato arterial, os quais fornecem informações importantes e decisivas para a evolução da gravidade do processo e para a melhor indicação terapêutica (Meregalli et al., 2004; Bogossian, 1992).

O exame de gasometria ou análise dos gases sanguíneos no sangue arterial é útil no tratamento de pacientes críticos e na monitoração respiratória, fornecendo informação acerca do grau de oxigenação e ventilação, além de avaliar o estado do equilíbrio ácido-básico (Bruns et al., 2006; Goldman e Bennett, 2001).

O comprometimento do fluxo sanguíneo na microcirculação ocorre devido o aumento da resistência hidráulica levando a diminuição da extração de oxigênio, causando hipóxia tecidual, que favorece a glicólise anaeróbica aumentando o metabolismo anaeróbico e produção de lactato. A hiperlactatemia é um marcador da resposta ao estresse metabólico, sendo sua intensidade e duração relacionadas com a mortalidade em muitas situações (Nguyen et al., 2004 e Revelly et al., 2005).

A dosagem de lactato tem demonstrado em diversos estudos como um bom indicador de detecção precoce de hipóxia tecidual e prognóstico, representando uma ferramenta útil e de

fácil obtenção na prática clínica diária (Nguyen et al., 2004; Cicarelli et al., 2007; Almeida et al., 2006; Prado e Silva, 2009).

A realização de exames bioquímicos como as dosagens de glicemia, uréia e creatinina, também são necessárias no acompanhamento da síndrome (Silbernagl e Despopoulos, 2003). Os níveis séricos de glicose estão aumentados em pacientes com choque séptico, devido à gliconeogênese hepática, a qual ocorre em função da insuficiência de oxigênio. Os pacientes não diabéticos também podem apresentar níveis de glicemia elevados associados à resistência insulínica durante quadros de sepse grave. Entretanto, recentes trabalhos demonstram que a incidência de hipoglicemia não é desprezível nesses pacientes e que a implementação desses protocolos requer treinamento adequado e presença de vigilância constante, bem como monitoração horária da glicemia sanguínea, não apenas a capilar (Van den Berghe, 2003).

As dosagens de uréia e creatinina são marcadores de função renal e ao curso da infecção os rins sofrem intensa isquemia e redução do débito urinário, evidenciando assim o sofrimento renal em pacientes com choque séptico. Entretanto, em alguns pacientes ocorre à disfunção tubular, levando à deficiência na capacidade de concentração da urina e distúrbios ácido-básicos. A uremia no paciente grave é importante fator complicante da homeostase, levando a distúrbios hemostáticos e exacerbação da inflamação. A creatinina é o produto catabólico da fosfocreatina, do músculo esquelético sendo excretada pelos rins, principalmente por filtração glomerular devendo fazer parte da rotina diária laboratorial a realização desses marcadores e que auxiliam no acompanhamento de sinais clínicos de oligúria. Considerando as alterações, em geral, uma duplicação dos valores da creatinina indica perda de 50% da função renal (Dias, 2002; Silbernagl e Despopoulos, 2003; Tietz, 1990).

Os eletrólitos desempenham uma função bastante variada no organismo, dentre elas, destaca-se a regulação da pressão osmótica e a distribuição de água nos vários compartimentos do corpo com o intuito de manter o pH fisiológico e regular a função apropriada do coração e dos músculos.

O sódio é o cátion que está em maior concentração no meio extracelular e o potássio é o que está em maior concentração no meio intracelular, suas funções são bem estabelecidas, mas no choque séptico a partir do momento em que a célula deixa de receber seu suprimento normal de oxigênio, ocorre alteração no metabolismo aeróbico normal da célula para a forma anaeróbica, causando a redução do número de moléculas de ATP (Adenosina Trifosfato) necessárias ao acionamento normal da bomba de sódio, o não funcionamento faz com que ele

fique dentro da célula, levando a séria alteração do potencial de membrana e ao ingresso de água para o interior da célula ocasionando edema celular (Bogossian, 1992; Dias, 2002).

O baixo teor de líquido extracelular se deve a atividade da bomba de sódio, localizada na membrana celular, que expulsa o sódio das células, enquanto promove a captação ativa do potássio (Veronesi, 1999). O aumento da concentração de potássio devido à acidose metabólica é resultante do movimento do potássio intracelular para o extracelular e este descontrole deve ser acompanhado com muita atenção devido aos riscos de arritmias cardíacas letais (Xavier et al., 2005).

O cálcio está presente no plasma sob três formas distintas: cálcio livre e ionizado (forma fisiologicamente ativa) e ligado a proteínas plasmáticas (principalmente a albumina), dentre as inúmeras funções, destaca-se os processos de coagulação sanguínea, excitabilidade do músculo esquelético e cardíaco e permeabilidade da membrana no intercâmbio de sódio e potássio. No choque séptico, observa-se uma diminuição nos níveis de cálcio, e a baixa concentração causa impulsos espontâneos nos nervos periféricos, resultando em contração tetânica dos músculos por todo o corpo com conseqüente morte por paralisia respiratória (Guyton e Hall, 2002; Dias, 2002).

A hipomagnesemia, geralmente por perdas intestinais ou renais, pode causar fraqueza muscular, convulsões, vasodilatação periférica e arritmias cardíacas. As diminuições do magnésio raramente ocorrem como um fenômeno isolado, normalmente é acompanhado por desordens no metabolismo do potássio, cálcio e fósforo (Veronesi, 1999; Goldman e Bennett 2001).

Marcadores Hematológicos da Sepses

A leucocitose, neutrofilia com desvio à esquerda e a presença de formas jovens granulocíticas, e inclusões neutrofílicas como as granulações tóxicas finas ou grosseiras, quando presentes em grande quantidade são marcadores de gravidade da infecção. Na série vermelha, a evidência de anemia e a presença de hipocromia também podem ocorrer devido ao choque pela acidose e hipotermia (Veronesi, 1999; Bick, 2003).

Os distúrbios da coagulação sanguínea também são observados em pacientes sépticos, e nas fases iniciais, através dos exames de Tempo de Protrombina (TP) e o Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPA) verifica-se um aumento da coagulabilidade e, nas fases mais tardias, podendo ser observado a incoagulabilidade sanguínea. Estes testes avaliam

respectivamente a via extrínseca e a via intrínseca do sistema de coagulação (Veronesi, 1999; Bick, 2003; Dias, 2002).

A contagem de plaquetas encontra-se diminuída na maioria dos pacientes com sepse. A trombocitopenia pode ocorrer por causa de diluição durante a reposição de volume ou por destruição imunológica das plaquetas, especialmente comum durante o choque séptico. A ativação da cascata de coagulação pode levar à coagulação intravascular disseminada (CIVD), a qual resulta em trombocitopenia, diminuição de fibrinogênio, elevação dos produtos de degradação da fibrina e anemia hemolítica microangiopática (Goldman e Ausiello, 2005; Dias, 2002).

O fibrinogênio é o fator de coagulação mais abundante e que forma o coágulo de fibrina, seus níveis encontram-se elevados com os outros reagentes de fase aguda, e estão diminuídos na coagulação intravascular disseminada (CIVD) devido à depleção dos fatores de coagulação (Veronesi, 1999; Dias 2002).

O d-Dímero é um dos produtos de degradação da fibrina, ou seja, o teste é específico para a detecção da fibrinólise decorrente de fenômenos trombóticos e encontra-se alterados no organismo na CIVD (Dias, 2002).

Marcadores Inflamatórios da Sepse

Alguns marcadores como a pró-calcitonina (PCT) e a proteína C reativa (PCR), são importantes na avaliação da resposta inflamatória. Elas são necessárias para a obtenção de evidências objetivas da existência de processos infecciosos. A pró-calcitonina (PCT) foi proposta como marcador mais específico, mas seu valor prognóstico ainda não está bem estabelecido, é uma proteína, produzida pelas células C da glândula tireóide e em condições normais, essa proteína está presente em concentrações muito baixas na circulação, permanecendo no interior das células como principal peptídeo precursor da calcitonina (Becker et al., 1996). Nas infecções bacterianas limitadas a um órgão, em geral não se observa elevação significativa na concentração de PCT, mas nos processos bacterianos graves, como a sepse, níveis elevados de pró-calcitonina intacta podem ser encontrados na circulação (Oberhoffer et al., 1999; Andriolo et al., 2004).

A proteína C reativa (PCR) tem sido utilizada para essa finalidade, com baixa especificidade, no entanto, é uma das proteínas de fase aguda de comportamento positivo, e sua concentração sérica se eleva marcadamente logo após a ocorrência de uma agressão ao

organismo, e tem sido utilizada como marcador precoce e sensível da resposta aos processos infecciosos ou inflamatórios (Johnson et al., 1999; Andriolo et al., 2004).

Os biomarcadores fazem parte da nova geração de testes e suas aplicações clínicas estão baseadas nos processos reacionais e regenerativos do sistema imune, permitindo detectar precocemente mudanças nos sinais fisiológicos e a utilização no diagnóstico e monitoramento dos processos infecciosos. Estes estudam as características fenotípicas das células do sangue e do endotélio e permitem detectar e acompanhar precocemente a seqüência dos eventos celulares gerada na resposta imune e na lesão tecidual, como nos casos de SIRS e sepse (Diagnóstico Laboratorial da Sepse).

Através da citometria de fluxo é realizada a imunofenotipagem das doenças, utilizando marcadores de membrana e de citoplasma, podendo assim determinar a linhagem celular envolvida na doença, definindo quadros onde a citomorfologia e a citoquímica convencionais apresentam limitações.

A citometria de fluxo avalia as propriedades das células em suspensão, direcionadas num fluxo laminar e interceptadas uma a uma por um feixe de laser. As modificações ocasionadas nesse feixe de luz devida à presença da célula serão então detectadas e interpretadas por sensores. A luz dispersa é coletada por um sistema óptico que permite identificar as células através do seu tamanho e granularidade interna. Hemácias, plaquetas, linfócitos, monócitos e granulócitos podem ser assim identificados e quantificados. Os diferentes fluorocromos que marcam cada antígeno absorvem a luz e emitem-na num comprimento de onda maior e específico. Cada fluorocromo possui um padrão espectral distinto de absorção e emissão, de tal maneira que até três cores de luz podem ser opticamente separadas com os filtros seletivos encontrados nos citômetros comuns. Os antígenos são então detectados por diferentes detectores de fluorescência permitindo o estudo simultâneo de dois a três antígenos, utilizando-se anticorpos monoclonais específicos marcados com diferentes substâncias fluorescentes, em geral através da técnica de imunofluorescência direta (Jaroszeski e Radcliff, 1999; Imunofenotipagem das neoplasias hematológicas, www.fleury.com.br).

Entre os biomarcadores que existem hoje, destacam-se aumentados na sepse os marcadores de superfície celular (CD64 em neutrófilos; CD11b em monócitos; CD40 em monócitos; CD63 em monócitos; CD69 em Natural Killer; E-Selectina), os receptores solúveis (sCD25; sE-Selectina; sELAM-1; sTNF-R1; s TNF-RII; sCD14; molécula de adesão intracelular tipo 1 solúvel; TREM-1) as citocinas (IL-1; receptor de IL-1; IL-6; IL-8; IL-10;

IL-18; TNF; TGF; MIP-1; proteína de alta mobilidade do grupo Box-1; fator de crescimento hepático; leptina; hormônio estimulador de melanócito) os marcadores de fase aguda (Proteína C reativa; fibrinogênio; α 1 Antitripsina) os mediadores de coagulação (produto da degradação da fibrina; Fator de Von Willebrand; fibrinopeptídeo A; inibidor do ativador de plasminogênio; ativador do plasminogênio tecidual; fragmento 1+2 da protrombina; d-Dímero; trombomodulina; trombomodulina plaquetária; atividade procoagulante) e ciclo celular (estudo de apoptose linfocitária). Os biomarcadores diminuídos na sepse são: HLA-DR em monócitos, receptor de TNF em monócitos e estudo de apoptose nos neutrófilos. (Diagnóstico Laboratorial da Sepse; Osuchowski et al., 2006).

Os principais mediadores endógenos da resposta inflamatória são determinados através das dosagens de citocinas inflamatórias como as interleucinas 1, 6 e 8 (IL-1, IL-6 e IL-8), a pró-calcitonina, a proteína C reativa e a determinação do CD64 na superfície dos neutrófilos possibilitando uma compreensão melhor da resposta imunológica nos processos infecciosos.

Alguns marcadores, como a expressão do CD64 em neutrófilos representa o indicador mais específico e precoce de SIRS/sepse. Em situação normal, o CD64 é expresso constitucionalmente em monócitos, porém, no caso de sepse bacteriana, este receptor passa a ser detectado na superfície de neutrófilos nas primeiras 4 horas do início da infecção sistêmica. Esta expressão é induzida através de citocinas inflamatórias, como o fator estimulador de colônias granulocíticas (GCSF), que ativa a diferenciação de precursores na medula óssea e do Interferon-Gama (IFN- γ) que age ativando neutrófilos no sangue periférico. O CD64 está diretamente relacionado com o grau de resposta inflamatória, sendo, portanto, um marcador imunológico de alta sensibilidade e especificidade para identificar pacientes com SIRS/sepse (Diagnóstico Laboratorial da Sepse).

Detecção do Agente Infeccioso

A coleta de hemoculturas à qual é considerada padrão-ouro, o isolamento de microrganismos em líquidos orgânicos normalmente estéreis é considerado o teste mais apropriado e fundamental para o diagnóstico da sepse, mas a ausência de crescimento bacteriano não exclui o diagnóstico, por outro lado, a positividade no crescimento bacteriano enriquece o diagnóstico e permite uma conduta terapêutica mais eficaz através do agente etiológico e antibiograma (Veronesi, 1999; Gonzales et al., 2003).

Este procedimento deve ser realizado antes do início da antibioticoterapia, adotando boas práticas de coleta, realizando a limpeza da pele com soluções anti-sépticas para que não ocorra crescimento de germes contaminantes de pele, é importante que duas amostras ou mais sejam coletadas a fim de que resultados positivos concordantes indiquem uma maior probabilidade de sepse, já que o isolamento de um agente em apenas uma amostra pode ser sugestivo de contaminação por flora cutânea no momento da coleta (Silva et al., 2004; Gonzales et al, 2003).

O sangue coletado é inoculado em frasco específico, e com a utilização de métodos automatizados ocorreu um aumento na positividade e na rapidez da identificação dos microrganismos. Estes equipamentos utilizam um avançado sistema de detecção colorimétrico ou por fluorescência para a leitura da variação da produção de CO₂ no interior dos frascos de hemocultura. As amostras são agitadas continuamente numa temperatura de 35-37º C e cada frasco é monitorado 144 vezes ao dia, em intervalos de 10 minutos, para a detecção de microrganismos. Até o momento que o equipamento emite alertas visuais e sonoros avisando sobre a positividade de crescimento bacteriano. Mesmo nos sistemas modernos de culturas, o tempo para o isolamento da maioria dos patógenos é de aproximadamente 48 horas (Bochud et al., 2001; Silva et al., 2004; Gonzales et al, 2003).

O quadro abaixo resume as principais alterações laboratoriais esperadas na sepse que juntamente com a identificação do agente microbiano causador desta condição clínica pode ser útil para indicar a presença deste quadro, bem como definir sua gravidade.

Quadro I: Alterações laboratoriais características da sepse

Marcadores Metabólicos	Marcadores Hematológicos	Marcadores da Inflamação
Hiperlactatemia	Leucopenia	Proteína C reativa ↑
Acidose (pH ↓)	Leucocitose	Pró-calcitonina ↑
Hiperventilação (pCO ₂ ↓)	Anemia	TNF α ↑
Hipoxemia (pO ₂ ↓)	Plaquetopenia	IL-1, IL-6 e IL-8 ↑
Hiperglicemia	TP/TTPA ↑	CD64 em neutrófilos
Hipoglicemia		HLA-DR ↓
Uréia/Creatinina ↑		
Na ⁺ ↓ / K ⁺ ↑ Ca ⁺⁺ ↓		
Hipomagnesemia		

↓ resultado abaixo da normalidade ↑ resultado acima da normalidade

CONCLUSÃO

O diagnóstico precoce da infecção, que é acompanhado por um bom exame físico e juntamente com os resultados dos exames laboratoriais estabelecidos, avalia a presença de sepse e auxilia na realização da medida terapêutica mais eficaz e no controle do foco infeccioso, proporcionando assim um melhor prognóstico para os pacientes, evitando a disfunção orgânica grave que pode levar a morte.

O laboratório clínico desempenha um importante papel no acompanhamento desta síndrome e na definição do diagnóstico através dos exames verificando a sua evolução. Dentre os exames, destacam-se os de fácil acesso, a avaliação dos gases sanguíneos através da gasometria, as dosagens de lactato, a proteína C reativa, o hemograma que verifica a presença de leucocitose, neutrofilia e granulações tóxicas finas ou grosseiras e a identificação do agente microbiano através da hemocultura.

No entanto alguns biomarcadores para a monitoração da resposta inflamatória são destacados no acompanhamento da sepse. As dosagens séricas de pró-calcitonina, interleucinas e marcadores de expressão celular através da citometria de fluxo são recomendados e indicam, com boa acurácia, o prognóstico de pacientes sépticos. Mas estes marcadores reúnem uma relação custo/benefício e nem sempre é acessível a todos os serviços da saúde, deixando assim de facilitar o diagnóstico com mais rapidez.

É importante ressaltar que os profissionais da saúde estejam sempre atentos a suspeita clínica, realizando suas atividades com qualidade e que tenham consciência da gravidade deste problema, pois quanto mais rápido for o diagnóstico, maiores serão as chances de sobrevivência a sepse.

REFERÊNCIAS

- Abdulkader R.C.R.M. Utilizando bem os índices prognósticos. Rev Assoc Med Bras, v.49, n.1, p.2-2, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/ramb/v49n1/15349.pdf>. [2009 set.07].
- Alberti C.; Brun-Buisson C.; Chevret S.; Antonelli M.; Goodman S.V.; Martin C.; Moreno R.; Ochagavia A.R.; Palazzo M.; Werdan K. and Gall J.R.L. Systemic Inflammatory Response and Progression to Severe Sepsis in Critically Ill Infected Patients. Am. J. Respir. Crit. Care Med, v.171, n.5, p.461-468, 2005.
- Almeida L.S.S.; Amendola C.P.; Horta V.M.; Sousa E.; Gusmão C.A.B.; Silva Júnior J.M.; Rezende E. Hiperlactatemia à admissão na UTI é um determinante de morbimortalidade em intervenções cirúrgicas não cardíacas de alto risco. Rev. Bras. Ter. Intensiva, v.18, n.4, p 360-365, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbti/v18n4/07.pdf>. [2009 set. 07].

- Andriolo A.; Costa R.P.; Novo N.F. Pró-calcitonina e proteína C reativa em processos infecciosos graves. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* v.40, n.3, p.169-174, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br>. [2009 jul. 05].
- Barreto S.S.M.; Vieira S.R.R.; Pinheiro C.T.S. Rotinas em terapia intensiva. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 694 p. cap.28, 2001.
- Becker K. L.; Nylen E. S.; Snider R. H. La procalcitonine circule chez les sujets normaux. *Annales Endocrinologie*, suppl. 1, p.59, 1996.
- Bick R.L. Disseminated intravascular coagulation. Current concepts of etiology, pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Hematol Oncol Clin N Am*, v.17, p.149-176, 2003.
- Bochud P.Y.; Glauser M.P.; Calandra T. Antibiotics in sepsis. *Intens Care Med*, v.27, n.14, p.33-48, 2001. Disponível em: <http://www.springerlink.com/content/wnm29y3qdq192n2b/>. [2009 ago.30].
- Bogossian L. Choque séptico: recentes aquisições de fisiopatologia e do tratamento. São Paulo: Editora Atheneu; 1992.
- Bone R.C. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med*, v.115(6), p.457-469, 1991. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1872494>. [2009 mar. 03].
- Bone R.C.; Balk R.A; Cerra F.B.; Dellinger R.P.; Fein A.M.; et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*. v.101(6), p.1644-1655, 1992. Disponível em: <http://chestjournal.chestpubs.org/content/101/6/1644.full.pdf>. [2009 jun. 20].
- Bruns D.E.; Ashwood E.R.; Burtis C.A. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostic. 4th ed. St. Louis: Elsevier Saunders, p.485-529, 2006.
- Carvalho P.R.A.; Trotta E.A. Avanços no diagnóstico e tratamento da sepse. *J de Ped.* v.79, p.S195-S204, 2003.
- Carvalho W.B.; Kopelman B.I.; Branchini O.G. Choque séptico em pediatria. Rio de Janeiro: Médica e Científica, 1999.
- Cicarelli D.D.; Vieira J.E.; Benseñor F.E.M. Lactato como prognóstico de mortalidade e falência orgânica em pacientes com síndrome da resposta inflamatória sistêmica. *Rev Bras Anestesiologia*, v.57, p.630-638, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rba/v57n6/04.pdf>. [2009 set. 07].
- Chang R.W.; Jacobs S.; Lee B. Predicting outcome among intensive care unit patients using computerized trend analysis of daily Apache II scores corrected for organ system failure. *Intensive Care Med*, v.14, p.558-66, 1988. Disponível em: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3221009?log\\$=activity](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3221009?log$=activity). [2009 set. 13].
- Cotran R.S.; Kumar V.E.; Robbins S.L. Patologia Estrutural e Funcional. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, cap.5, 2000.

- Dias F.S. Choque. Porto Alegre: Ed. EDIPUCRS, p.97-387, 2002.
- Diagnóstico Laboratorial da Sepse. Disponível em: <http://www.diagnosticosdaamerica.com.br/pdf/BookMedicoSEPSE.pdf> [2009 set.27].
- Engel C.; Brunkhorst F.M.; Bone H.G.; Brunkhorst R.; Gerlach H.; Grond S.; Gruendling M.; Huhle G.; Jaschinski U.; John S.; Mayer K.; Oppert M.; Olthoff D.; Quintel M.; Ragaller M.; Rossaint R.; Stuber F.; Weiler N.; Welte T.; Bogatsch H.; Hartog C.; Loeffler M. and Reinhart K. Epidemiology of sepsis Germany: results from a national prospective multicenter study. *Intensive Care Med*, v.33, p.606-618, 2007.
- Freedman J.E.; Loscalzo J. Nitric oxide and its relationship to thrombotic disorders. *J Thromb Haemost*, v.I, p.1183-8, 2003.
- Goldman L.; Ausiello D.A.; Cecil – Tratado de Medicina Interna. 22ª Ed. São Paulo: Editora Elsevier, p.715-722, 2005.
- Goldman L.; Bennett J.C. Cecil Tratado de Medicina Interna. 21ª ed., v.1, Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, p.419-428; p.1265-1266, 2001.
- Gonzales B.E.; Mercado C.K.; Johnson, L.; Brodsky N.L.; Bhandari V. Early markers of late-onset sepsis in premature neonates: clinical, hematological and cytokine profile. *J Perinat. Med*, v.31, p.60-68, 2003. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12661146>. [2009 set. 19].
- Gorg A.; Weiss W.; Dunn M.J. Current two-dimensional electrophoresis technology for proteomics. *Proteomics*, v.4:(12), p.3665-3685, 2004.
- Guyton A.C. & Hall J.E. Tratado de Fisiologia Médica. 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 632p. cap.36, 2002.
- Hotchkiss R.S.; Karl I.E. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Eng J Med*, v.348; p.138-150, 2003. Disponível em: <http://nejm.highwire.org>. [2009 jun.25].
- Hugonnet S.; Eggimann P.; Sax H.; Touveneau S.; Chevrolet J.C.; Pittet D. Intensive care unit-acquired infections: Is postdischarge surveillance useful? *Crit Care Med*, v.30(12), p.2636-2638, 2002. Disponível em: <http://journals.lww.com/ccmjournal/Abstract/2002/12000>. [2009 set. 10].
- Imunofenotipagem das neoplasias hematológicas; 2007. Disponível em: <http://www.fleury.com.br>. [2009 set. 27].
- Jaroszeski M.J. and Radcliff G. Fundamentals of flow cytometry. *Mol Biotech*, v.11, n.1, p.37-53, 1999. Disponível em: <http://www.springerlink.com/content/q803643gq03xw171/>. [2009 set. 17].
- Johnson A. M.; Rohlf's E. M.; Silverman L. M. Proteins. In: Tietz textbook of clinical chemistry. 3. ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, p.477-540, 1999.

- Knaus W.A.; Draper E.A.; Wagner D.P.; Zimmermann J.E. APACHE II: a severity of disease classifications system. *Crit Care Med*, v.13, p.818-829, 1985. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3928249>. [2009 set. 13].
- Mann M.; Hendrickson R.C.; Pandey A. Analysis of proteins and proteomes by mass spectrometry. *Annu Rev Biochem*, v.70, p.437-473, 2001. Disponível em: <http://arjournals.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.biochem.70.1.437>. [2009 set. 07].
- Marjanovic J.A. et al. Stimulatory roles of nitric oxide synthase 3' and guanylyl cyclase in platelet activation. *J Biol Chem*, v.280, n.45, p.37430-8, 2005.
- McCuskey R.S.; Urbaschek R.; Urbaschek B. The microcirculation during endotoxemia. *Cardiovasc Res*, 32: p.752-763, 1996. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> . [2009 jun. 19].
- Meregalli A.; Oliveira R.P.; Friedman G. Occult hypoperfusion is associated with increased mortality in hemodynamically stable, high-risk, surgical patients. *Crit Care*, v.8, R60-R65, 2004. Disponível em: <http://ccforum.com/content/8/2/R60>. [2009 set. 07].
- Nguyen H.B.; Rivers E.P.; Knoblich B.P.; Jacobsen G.; Muzzin A.; Ressler J.A.; Tomlanovich M.C. Early lactate clearance is associated with improved outcome in severe sepsis and shock. *Crit Care Med*, v.32, p.1637-1642, 2004. Disponível em: <http://journals.lww.com/ccmjournal/toc/2004/08000>. [2009 set. 07].
- Oberhoffer M. et al. Katalcalcin and calcitonin immunoreactivity in different types of leucocytes indicates intracellular procalcitonin content. *J Crit Care*, n.14, p.29-33, 1999.
- Osuchowski M.F.; Welch K.; Siddiqui J.; Remick D.G. Circulating Cytokine/Inhibitor Profiles Reshape the Understanding of the SIRS/CARS Continuum in Sepsis and Predict Mortality. *J Immunol*, v.177, p.1967-1974, 2006. Disponível em: <http://www.jimmunol.org/cgi/reprint/177/3/1967>. [2009 set. 13].
- Petricoin E.F.; Ornstein D.K.; Liotta L.A. Clinical proteomics: Applications for prostate cancer biomarker discovery and detection. *Urol Oncol*, v.22, p.322-328, 2004. Disponível em: [http://www.urologiconcology.org/article/S1078-1439\(04\)00084-5/abstract](http://www.urologiconcology.org/article/S1078-1439(04)00084-5/abstract). [2009 ago. 09].
- Prado M.de O.; Silva Jr.A.V.S. Avaliação da dosagem de lactato e gasometria em pacientes com choque séptico internados nas UTIs. *LAES&HAES*, v.2, n.178, p.134-140, 2009.
- Ravel R. Doenças Infecciosas Bacterianas. In: *Laboratório Clínico*. 6º Ed, Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, p.157-197, 1997.
- Rea Neto A. Fisiopatologia e manifestações clínicas da sepse. *Clín Bras Med Intensiva*, v.1, p.1-9, 1996.
- Revelly J.P.; Tappy L.; Martinez A.; Bollmann M.; Cayeux M.C.; Berger M.M.; Chioléro R.L. Lactate and glucose metabolism in severe sepsis and cardiogenic shock. *Crit Care Med*, v.33, p.2235-2240, 2005. Disponível em: <http://journals.lww.com/ccmjournal/toc/2005/10000>. [2009 set. 07].

- Rittirsch D.; Hoesel L.M.; Ward P.A. The disconnect between animal models of sepsis and human sepsis. *J. Leuk Biol*, v.81, p.137-143, 2007. Disponível em: <http://www.jleukbio.org/cgi/content/full/81/1/137>. [2009 set.10].
- Roitt I.M. *Imunologia*. São Paulo: Atheneu, p.41-46, 1999.
- Silbernagl S.; Despopoulos A. *Fisiologia: texto e atlas*. 5º ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 436p. 2003.
- Silva E.; Pedro M.A.; Sogayar A.C.B; Mohovic T.; Silva C.L.O.; Janiszewski M.; Cal R.G.R.; Souza E.F. et al. Brazilian Sepsis Epidemiological Study. *Crit Care*, 8:R251-R260, 2004. Disponível em: <http://ccforum.com/content/8/4/R251> . [2009 jun.02].
- Soares J.C.A.; Santos M.F.; Chung J.; David C.M.N.; Domont G.B. Proteômica e Sepse. *Novas Perspectivas para o Diagnóstico*. *Rev. Bras. Ter. Intensiva*, v.19, n.1, p.14-22, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbti/v19n1/a02v19n1.pdf> . [2009 set. 07].
- Tietz N.W. *Clinical guide to laboratory tests*. 2ª ed. Philadelphia: Saunders, p.380-385, 1990.
- Van den Berghe G. Endocrine evaluation of patients with critical illness. *Endocrinol and Metab Clinics*, v.32(2), p.385-410, 2003. Disponível em: <http://www.endo.theclinics.com>. [2009 set. 27].
- Vanni D.S.; Horstmann B.; Benjo A.M.; Dahmer J.P.L.; Kanaan S.; Sleiman M. Óxido nítrico: inibição das plaquetas e participação na formação do trombo. *J Bras Patol Med Lab*, v.43, n.3, p.181-189, 2007.
- Veronesi R. Sepse. In: *Tratado de Infectologia*. 2ª Ed. São Paulo: Editora Atheneu, p.864-878, 1999.
- Vincent J.L.; Mendonça A.; Cantraine F.; Moreno R.; Takala J.; Suter P.M.; Sprung C.L.; Colardyn F.; Blecher S. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: Results of a multicenter, prospective study. *Crit Care Med*, v.26, p.1793-1800, 1998. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9824069>. [2009 set. 13].
- Wilkins R.M.; Pasquali C.; Appel R.D.; Ou K.; Golaz O.; Sanchez J.C.; Yan J.X.; Gooley A.A.; Hughes G.; Humphery-Smith I.; Williams K.L. & Hochstrasser D.F. From proteins to proteomes: large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis. *Biotechnology*, v.14, p.61-65, 1996. Disponível em: <http://www.nature.com/nbt/journal/v14/n1/abs/nbt0196-61.html> . [2009 ago.09].
- Xavier R.M.; Albuquerque G.C.; Barros E. *Laboratório na prática clínica*. 1ºed. Porto Alegre: Artmed, p.599-621, 2005.
- Zeni F.; Freeman B.; Natanson C. Anti-inflammatory therapies to treat sepsis and septic shock: a reassessment. *Crit Care Med*, v.25, p.1095-1100, 1997. Disponível em: <http://journals.lww.com/ccmjournal>. [2009 jun. 25].