



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da saúde

Sépsis bacteriana no contexto Angolano

Joaquim Paulo Felisberto

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Ciências Biomédicas
2º ciclo de estudos

Orientador: Professora Doutora Maria de Lurdes Paiva Monteiro
Co-orientador: Mestre André Ferreira Moreira
Mestre Sónia Alexandra Pereira Miguel

Covilhã outubro de 2018

Dedicatória

“Jamais desista das pessoas que ama. Jamais desista de ser feliz. Lute sempre pelos seus sonhos. Seja profundamente apaixonado pela vida. Pois a vida é um espetáculo imperdível.”

Augusto Cury

Agradecimentos

Primeiramente a Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades, ele é o maior mestre que alguém pode ter.

A esta universidade, ao seu corpo docente, direção e administração que permitiram a janela de oportunidade que hoje vislumbra um horizonte superior, suportado na confiança, no mérito e ética a que transmitido.

A minha orientadora Prof^a. Dr.^a Maria de Lurdes Monteiro, pelo paciente trabalho de revisão da redação, pelo suporte durante o pouco tempo que lhe coube, pelas suas correções e incentivos.

Aos coorientadores André Moreira e Sónia Miguel, pela orientação apoio e confiança

A todos os professores por me proporcionarem o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e efetividade da educação no processo de formação profissional, por tanto que se dedicaram a mim, não somente por terem me ensinado, mas por terem me feito aprender. A palavra mestre nunca fará justiça aos professores dedicados aos quais sem nominar terão os meus eternos agradecimentos.

Um agradecimento especial a minha família em particular a minha esposa Josefa Gouveia Nunes Felisberto, por serem modelos de coragem, pelo seu apoio incondicional, incentivo, amizade, paciência demonstrado e toda ajuda na superação dos obstáculos que ao longo desta caminhada foram surgindo. A eles dedico este trabalho.

Por último a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação o meu muito obrigado.

Resumo

Sépsis é uma palavra derivada do grego [σηψις], a qual significa a decomposição de materiais orgânicos que pode ocorrer por animais, plantas ou bactérias. A sépsis é responsável por 15 a 20% de todas as mortes nos países em vias de desenvolvimento e por mais de 1,5 milhões mortes de recém-nascidos e crianças a cada ano. Como condição médica, a sépsis é mais letal que um acidente vascular cerebral, apresentando taxas de mortalidade e morbidade próximas a 80% em países em vias de desenvolvimento. Além disso, quando comparado com a incidência de outras principais causas de morte, a incidência da sépsis tem vindo a aumentar. De facto, a incidência da sépsis aumentou de 1 672 casos por 100 000 habitantes em 2008 para 2 618 casos em 2012.

A sépsis é uma doença infecciosa de etiologia variada (bacteriana, viral, fúngica ou até mesmo por protozoários), sendo que a etiologia mais frequente é a bacteriana. A transmissão da sépsis pode ocorrer por via endógena (infecção a partir de microrganismos colonizadores, microrganismos da flora normal); e/ou exógena (infecção a partir de um agente infeccioso externo tendo penetrado no hospedeiro). A manifestação da sépsis está associada aos sinais e sintomas da infecção primária. O diagnóstico desta cultura é normalmente realizado recorrendo a hemocultura. O tratamento proposto, que deve ocorrer nas primeiras 6 a 8 horas após a identificação do doente com sépsis, inclui a reposição volumétrica vigorosa a cada 30 minutos conjugada com a administração de antibióticos. Os antimicrobianos são os agentes mais específicos e acessíveis para o tratamento do doente com sépsis, embora apenas representem uma abordagem parcial do problema. Uma das alternativas exploradas para aumentar a eficiência dos antibióticos é a estimulação da imunidade inata do doente, pelo aumento do número de leucócitos. Os dados descritos na literatura indicam que melhores taxas de sobrevivência em doentes com sépsis poderão ser atingidas com tratamentos adicionais aos convencionais agentes antimicrobianos.

A sépsis é uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo, particularmente em Angola. Em Angola, poucos hospitais públicos estão preparados para a realização de hemoculturas automatizadas, sendo a técnica manual a mais utilizada, o que torna o diagnóstico demorado e pouco fidedigno pelo índice de contaminação do material. Devido a este facto, é essencial o desenvolvimento de um conjunto de medidas para o reconhecimento e gestão precoce da sépsis refletindo o nível primário, secundário e terciário de cuidados.

Palavras-chave

Sépsis, Bactérias, Infecção, Diagnostico.

Abstract

Sepsis is a word derived from the Greek [σηψις], which means the decomposition of organic materials that can occur by animals, plants or bacteria. Sepsis accounts for 15 to 20 percent of all deaths in developing countries and more than 1.5 million deaths of newborns and children each year. As a medical condition, sepsis is more lethal than a stroke, with morbidity and mortality rates nearing 80% in developing countries. In addition, when compared to the incidence of other major causes of death, the incidence of sepsis has been increasing. In fact, the sepsis incidence increased from 1 672 cases per 100 000 inhabitants in 2008 to 2 618 cases in 2012.

Sepsis is an infectious disease of varied etiology (i.e. bacterial, viral, fungal or even protozoan), and the most frequent etiology is bacterial. The transmission of sepsis can occur through endogenous route (i.e. infection from colonizing microorganisms, normal flora microorganisms); and/or exogenous (i.e. infection from an external infecting agent having penetrated the host). The manifestation of sepsis is associated with signs and symptoms of primary infection and its diagnosis is commonly performed by using blood cultures. The proposed treatment, which should occur within the first 6 to 8 hours after identification of the patient with sepsis, includes vigorous volume replacement every 30 minutes in conjunction with the administration of antibiotics. Antimicrobials are the most specific and accessible agents for the treatment of patients with sepsis, although they represent only a partial approach to the problem since bacteria can develop resistance to these molecules. One of the alternatives explored to increase the efficiency of antibiotics is the stimulation of the innate immunity of the patient by the increase of the leukocytes levels. Data reported in the literature indicate that improved survival rates in patients with sepsis may be reached with additional treatments to conventional antimicrobial agents.

Sepsis is one of the leading causes of morbidity and mortality worldwide, particularly in Angola. In Angola, few public hospitals are prepared to perform automated blood cultures, the manual technique being the most used, which makes the diagnosis time-consuming and unreliable by the high index of the material contamination. Due to this fact, it is essential to develop a set of measures for the early recognition and management of sepsis reflecting the primary, secondary and tertiary level of care.

Keywords

Sepsis, Bacteria, Infection, Diagnosis.

Índice

1.	<i>Enquadramento do tema</i>	1
1.1	Definição	1
1.1.1	Antiga definição de sépsis	1
1.1.2	Nova definição da sépsis	2
2	<i>Introdução</i>	4
2.1	Impacto em saúde	4
2.2	Incidência e prevalência	5
2.3	Mortalidade e morbilidade	6
2.4	Etiologia Bacteriana	7
3	<i>Transmissão</i>	12
4	<i>Fatores de virulência das bactérias</i>	15
5	<i>Mecanismo patogénico das bactérias</i>	17
6	<i>Etiologia bacteriana da sépsis</i>	19
7	<i>Fisiopatologia da sépsis</i>	24
7.1	Febre e hipotermia	24
7.2	Manifestações neurológicas	24
7.3	Manifestações pulmonares	24
7.4	Manifestações renais	25
7.5	Manifestações hematológicas	26
7.6	Manifestações hepáticas	26
7.7	Manifestações cardio-circulatórias	26
7.8	Manifestações cutâneas	26
8	<i>Diagnóstico da sépsis</i>	28
8.1	Clínico	28
8.2	Diagnóstico Microbiológico	29
8.2.1	Colheita:	29
8.2.2	Cultura:	32
8.3	Método de lise-centrifugação	34
8.4	Métodos semi-automatizados	34
8.5	Métodos automatizados (monitorização contínua)	35

8.6	Interpretação de resultados -----	37
8.7	Marcadores de diagnóstico e prognóstico da sépsis. -----	38
9	<i>Diagnóstico molecular da sépsis</i> -----	41
9.1	Deteção de ADN-----	41
9.1.1	Reação de polimerização em cadeia (PCR)-----	41
9.2	Deteção após hemocultura -----	43
9.2.1	FilmArray -----	43
9.2.2	Verigene -----	44
9.3	Prognóstico da sépsis -----	44
10	<i>Abordagem do doente com sépsis</i> -----	45
10.1	Abordagem clínica-----	45
10.2	Abordagem terapêutica -----	46
10.2.1	Tratamento precoce orientado por metas -----	46
10.2.2	Tratamento contra o agente agressor-----	47
10.2.3	Tratamento para a melhoria da imunidade -----	48
10.2.4	Tratamento contra a resposta inflamatória sistémica -----	49
11	<i>Sépsis no contexto Angolano</i> -----	51
11.1	História/evolução de Angola -----	51
11.2	Medição de lactato:-----	53
11.3	Hemoculturas: -----	53
11.4	Administração de antibióticos:-----	53
11.5	Recomendações-----	54
12	<i>Conclusão</i> -----	55
13	<i>Referências bibliográficas</i> -----	56

Lista de Figuras

Figura 1: Representação da antiga definição de sépsis, contendo os conceitos de infecção e SRIS. Adaptada de (Bone et al. 1992). -----	2
Figura 2: Representação do número de casos / 100 000 habitantes relativos às síndromes mais frequentes nos EUA relatados em 1995. -----	6
Figura 3: Ilustração das diferentes estruturas que constituem uma célula bacteriana. Adaptado de (Gerald J. et al. 2012). -----	8
Figura 4: Imagem microscópica de bactérias após a coloração de Gram. Adaptado de (Gerald J. et al. 2012). -----	9
Figura 5: Ilustração das diferentes estruturas da parede celular bacteriana, que podem ser identificadas pela coloração de Gram. De acordo com a constituição da sua parede, e conseqüentemente a sua coloração, as bactérias podem ser classificadas como bactérias de coloração Gram positiva ou negativa. Adaptado de (Patrick R. et al. 2000). -----	10
Figura 6: Representação das diferentes bactérias da flora normal e seus locais de colonização. Adaptado de (Kumar V. et al. 2010). -----	11
Figura 7: Ilustração das diferentes vias de transmissão por bactérias. Adaptado de (Gonzalo B. et al 2017). -----	14
Figura 8- Ilustração dos diferentes fatores de virulência apresentados pelas bactérias. Adaptado de (http://www.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/MicrobiologiaeImunologia/11_aula_patogenicidade.pdf). -----	15
Figura 9: Distribuição de doentes (n=100) segundo a origem da sépsis durante o período de Jan 2010 - Dez 2011 num hospital no Brasil. Adaptado de (Fabiano P. et al. 2014) -----	19
Figura 10: Ilustração dos principais passos a efetuar durante a colheita de uma hemocultura. Adaptado de (https://kasvi.com.br/coleta-de-sangue-boas-praticas/). -----	32
Figura 11: Imagem representativa de sistema de hemocultura realizada pelo método manual (A) e baseado nos frascos Signal® (Oxoid) (B). Adaptado de (https://www.fishersci.es/shop/products/thermo-scientific-oxoid-signal-blood-culture-system/11933192). -----	33
Figura 12: Imagem representativa do método de lise centrifugação. Adaptado de (http://www.diagsys.com.br/produtos/hemocultura.html). -----	34
Figura 13: Imagem representativa de sistema hemobac trifásico (probac) (A) e um sistema Septi-Check (BD BBL sistema de diagnóstico) (B) usado no método semiautomático. Adaptado de (http://www.tiraojaleco.com.br/2018/03/hemocultura-sistema-hemobac-trifasico.html e https://www.krackeler.com/catalog/product/4794/BD-BBL-Septi-Chek-Blood-Culture-System). -----	35
Figura 14: Representação do sistema de cultura Bact/Alert (A) e Bacttec (B) com os seus respectivos frascos. Adaptado de (https://www.biomerieux-industry.com/food/microbial-detection-bactalert (A) e (http://astra77.ru/catalog/77/?ID=77 (B) -----	36

Figura 15: Representação do sistema PCR em tempo real (A) e de um sistema Magicplex (B). Adaptado de (https://pt.made-in-china.com/co_biobase/product_Biobase-Fast-Gradient-Thermal-Cycler-PCR-Bk-Gr300_hrehoiyuu.html) e

(<http://www.seegene.com/neo/en/products/instruments/cfx96.php>) ----- 43

Figura 16: Ilustração do sistema FilmArray (A) e verigene (B). Adaptado de

(<https://www.biofire.com/products/filmarray>) (A) e

(<https://www.luminexcorp.com/eu/verigene-nanogrid-technology/>) (B)). ----- 44

Lista de Tabelas

<i>Tabela 1: Diferentes definições de sépsis e respectivas síndromes. Adaptado de (Vincent JL et al. 1998)</i> -----	3
<i>Tabela 2: Principais causas de internamento hospitalar nos Estados Unidos da América durante os anos de 2000 - 2007. Adaptado de (Angus DC. et al. 2007)</i> -----	5
<i>Tabela 3: Resumo das diferentes estruturas bacterianas e suas respectivas funções. Adaptado de (Gerald J. et al. 2012)</i> -----	8
<i>Tabela 4: Resumo das diferentes formas de transmissão bacteriana no ser humano.</i> -----	12
<i>Tabela 5: Microrganismo comumente associados a invasão na corrente sanguínea.</i> -----	21
<i>Tabela 6: Microrganismos com necessidades específicas para o seu crescimento e isolamento em hemocultura.</i> -----	23
<i>Tabela 7: Sinais e sintomas sugestivos para o diagnóstico clínico da sépsis.</i> -----	28
<i>Tabela 8: Descrição das diferentes bactérias isoladas em hemocultura de acordo com o seu valor preditivo.</i> -----	37
<i>Tabela 9: Parâmetros da escala de SOFA para o diagnóstico de sépsis. Adaptado de (CSS guidelines 2016)</i> -----	40
<i>Tabela 10: Descrição dos diferentes focos de infecção, com os respetivos tratamentos antimicrobianos para a sépsis de origem bacteriana. Adaptado de (guidlines da CSS publicadas em 2016).</i> -----	48

Lista de Acrónimos

ACCP- American College of Chest Physicians
ARN- Ácido Ribonucleico
ADN- Ácido Desoxirribonucleico
AVC- Acidente Vascular Cerebral
AC- Antes de Cristo
CID- Coagulação Intravascular Disseminada
CDC- Centro de Controlo e Prevenção de Doenças
EI- Endocardite Infeciosa
ESICM- European Society of Intensive Care Medicine
EUA- Estados Unidos de América
INR- Razão Normalizada Internacional
KTTP- Tromboplastina parcial ativada
LPA- Lesão Pulmonar Aguda
LPS- Lipo-polissacárido
MHC- Complexo Major de histocompatibilidade
OMS- Organização Mundial da Saúde
PAM- Pressão arterial média
PAS- Pressão arterial sistólica
PCT- Procalcitonina
PCr- Proteína C Reativa
PVC- Pressão Venosa Central
PaCO₂- Pressão Parcial de Dióxido de Carbono.
PMN- Polimorfo nucleares
PCR- Reação de Polimerase em Cadeia
qSOFA- Escala Rápida de Avaliação de Falência Orgânica
SCCM- Society of Critical Care Medicine
SOFA- Escala de Avaliação de Falência Orgânica
SRIS- Síndrome de Resposta Inflamatória Sistémica
SNC- Sistema Nervoso Central
SDRA- Síndrome de Desconforto Respiratório Agudo
SPS- Sulfonato de Polianeto de Sódio.
TLR- Toll Like Receptors
TNF alfa- Fator de Necrose Tumoral alfa
UCI- Unidade de Cuidados Intensivos
US\$- Dólar Americano

1. Enquadramento do tema

1.1 Definição

1.1.1 Antiga definição de sépsis

Sépsis é uma palavra derivada do grego [σηψις], a qual significa a decomposição de materiais orgânicos que pode ocorrer por animais, plantas ou bactérias. A palavra "sépsis" foi usada em poemas homéricos como "sepo" [σηπω], que significa "eu apodrecia". Hipócrates representava o termo sépsis como a palavra "sepidon", o que significava "distorção, dissolução de uma rede de estruturas" isto entre 460-370 AC. O termo foi usado por Aristóteles, Plutarco e Galão com o mesmo significado, e tem sido utilizado sem mudança de significado por mais de 2 700 anos (1,2).

Em 1991, a American College of Chest Physicians (ACCP) e a Society of Critical Care Medicine (SCCM) realizaram uma conferência de consenso, da qual resultou o desenvolvimento de um conjunto de termos e definições como: Síndrome de Resposta Inflamatória Sistémica (SRIS), sépsis, sépsis grave, e choque séptico (Figura 1). Estas definições são baseadas em parâmetros clínicos e laboratoriais, tendo sido adotadas amplamente pela comunidade científica internacional. Neste sentido, a SRIS foi definida como um processo inflamatório, independentemente da causa e da presença ou não de infeção. A manifestação de dois ou mais dos seguintes critérios, foi também considerada como essencial na definição de SRIS: temperatura superior a 38°C ou inferior a 36°C; frequência cardíaca superior a 90 b/min; frequência respiratória superior a 20 c/min ou PaCO₂ inferior a 32mmHg; contagem anormal de glóbulos brancos (superior a 12x10³/mm³, inferior a 4.0 x10³/mm³, ou com mais de 10% de formas imaturas) (3). Por outro lado, sépsis foi definida como SRIS em resposta a um processo infeccioso e sépsis grave como sépsis associada a uma disfunção orgânica, como por exemplo hipoperfusão ou hipotensão (incluindo acidose láctica, oligúria e alteração aguda do estado mental). Neste sentido, valores de pressão arterial sistólica inferiores a 90mmHg ou uma redução de 40mmHg da linha de base, na ausência de outra causa de hipotensão, são condições para definir hipotensão causada por sépsis. Por último, o choque séptico foi definido como uma hipotensão causada por sépsis persistente apesar da adequada reposição de fluídos intravenosos (3). Em 2001, as definições de sépsis foram revistas pelas sociedades de cuidados intensivos europeias e norte-americanas, tendo sido expandida a lista de critérios de diagnóstico. No entanto, os conceitos de sépsis, sépsis grave e choque séptico apenas apresentaram ligeiras revisões continuando a ser a base para a prática clínica e o trabalho de investigação em sépsis até 2014(4). As diferentes definições de sépsis, bem como as suas principais síndromes estão descritas na Tabela 1.

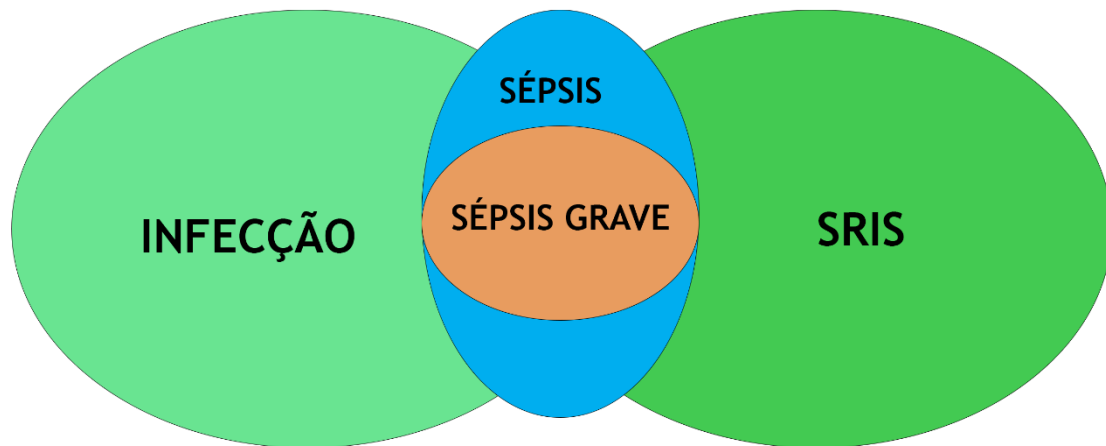


Figura 1: Representação da antiga definição de sépsis, contendo os conceitos de infecção e SRIS. Adaptada de (Bone *at al.* 1992).

1.1.2 Nova definição da sépsis

Em 2014, a European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) e a SCCM convocaram um novo painel de 19 especialistas para atualizar as definições de sépsis e choque séptico, que eram caracterizadas por uma baixa especificidade e sensibilidade inadequada. As alterações mais relevantes foram a eliminação do termo sépsis grave, considerado como redundante, e a supressão do conceito de SRIS, que pode simplesmente refletir uma resposta inapropriada do hospedeiro a várias doenças não infecciosas, como por exemplo a pancreatite e a síndrome de reperfusão isquêmica (5).

De facto, resultados publicados em 2016 permitiram definir sépsis como uma disfunção orgânica que pode constituir uma ameaça à vida, causada por uma resposta desregulada do hospedeiro à infecção; enquanto que o choque séptico foi definido como um subconjunto de sépsis em que anomalias circulatórias, celulares ou metabólicas estão associadas ao aumento do risco da mortalidade. Os parâmetros clínicos para identificar doentes com choque séptico são a necessidade de vasossuppressores para manter uma pressão arterial média superior a 65mmHg e um nível sérico de lactato superior a 2mmol/l na ausência de hipovolémia (5,6). Estas novas definições de sépsis e choque séptico podem ser consultadas na tabela 1.

O mesmo grupo de especialistas elaborou uma versão simplificada da escala de avaliação de falência orgânica (SOFA), a escala rápida de avaliação de falência orgânica (qSOFA ou SOFA rápido), incorporando parâmetros como a pressão arterial sistólica inferior a 100mmHg, frequência respiratória superior a 22 c/min e alteração do estado mental (i.e. escala de Glasgow qualquer pontuação diferente de 15). A escala qSOFA, fornece uma avaliação simples e rápida do doente com suspeita de infecção, refletindo a propensão para obter alterações devastadoras (5). Na literatura, estudos recentes apoiam o uso das classificações de SOFA e qSOFA, tendo demonstrado que estas escalas têm uma maior certeza na determinação do

prognóstico do que os critérios SRIS, no que diz respeito à identificação de doentes com elevado risco de mortalidade (7,8). A escala qSOFA não faz parte da nova definição, mas foi desenvolvida para permitir uma avaliação rápida (1 min) de um doente com sépsis, no caso de preencherem dois ou mais dos três critérios de referência (8,9).

Tabela 1: Diferentes definições de sépsis e respetivas síndromes. Adaptado de (Vincent JL *at al.* 1998)

Termos	Conceitos
Definições antigas	
Síndrome de Resposta Inflamatória Sistémica (SRIS)	Caraterizada por ser uma resposta não específica do organismo a uma variedade de situações como: inflamação, infeção, queimadura, pancreatite aguda, trauma e outros. Para a sua deteção são necessárias duas das seguintes condições: temperatura acima de 38 °C ou abaixo de 36 °C, frequência cardíaca superior a 90 b/min, frequência respiratória superior a 20 c/min ou PaCO ₂ inferior a 32mmHg, leucócitos acima de 12.000/mm ³ ou abaixo de 4.000/mm ³ .
Sépsis	SRIS mais infeção provada ou suspeita.
Sépsis grave	Sépsis mais evidências de disfunção orgânica (hipotensão, acidose láctica, aumento da creatinina e bilirrubina, trombocitopenia, redução na diurese)
Choque séptico	Sépsis acompanhada de hipotensão persistente apesar da reposição adequada de fluidos.
Definições revistas	
Sépsis	Disfunção orgânica com ameaça de vida, causada por uma resposta desregulada do hospedeiro à infeção.
Choque Séptico	Sépsis e a necessidade do tratamento com vasossuppressores para aumentar a pressão arterial média a níveis superiores a 65mmHg e o lactato acima de 2mmol/l, apesar da adequada ressuscitação com fluidos.

2 Introdução

2.1 Impacto em saúde

Sépsis é uma condição devastadora para os doentes, suas famílias e sociedade em geral (10,11). Os doentes que sobrevivem a sépsis, acabam por apresentar sequelas físicas e psicológicas(3,12), com comprometimento cognitivo e limitação funcional (13,14). A sépsis é responsável por 15-20% de todas as mortes nos países em via de desenvolvimento, afetando mais de 1,5 milhões de recém-nascidos e crianças a cada ano (13,14). É ainda importante salientar que a sépsis é mais letal que um acidente vascular cerebral, apresentando uma taxa de mortalidade superior a 30% (13,15). Além disso, esta patologia está associada a um aumento do consumo de recursos nos serviços de saúde, promovendo o aumento do tempo de internamento, tanto em Unidade de Cuidados Intensivos (UCI), como na enfermaria. De facto, sépsis é a segunda maior causa de internamento hospitalar (tabela 2) (16). A avaliação da incidência, da prevalência e do fim histórico do doente é de elevada importância, pois permite o cálculo dos recursos necessários para abordagem dos doentes com sépsis, bem como implementar estratégias que visem diminuir o impacto da sépsis (17).

Com base em dados administrativos de 1995, Angus *et al.* estimaram que a incidência, a mortalidade e o consumo de recursos para sépsis aumentariam cerca de 1,5% ao ano (13). Para controlar estas alterações é necessário que o país tenha um sistema de saúde organizado e bem articulado, sendo necessárias políticas mais direcionadas para os serviços preventivos, do que para os serviços curativos (18).

Dados recolhidos nos Estados Unidos da América (EUA) estimam que, anualmente a sépsis é responsável por mais de 750 000 internamentos hospitalares, 570 000 doentes recorreram ao serviço de urgência, e cerca de 200 000 mortes hospitalares, traduzindo-se em gastos na ordem dos 16 mil milhões de dólares americanos (US\$) (13,19). Em Espanha, estima-se um custo médio por doente de 10 000 euros/ano (20), sendo este superior noutros países europeus (23 000 a 29 000 euros) (21). Contudo, Iñigo *et al.* demonstraram que em Madrid os custos associados a doentes com sépsis eram muito mais elevados, quando comparados com os custos associados a doentes que tenham sofrido um enfarte agudo do miocárdio (EAM) (20). Por outro lado, um estudo realizado no Brasil estimou que o internamento na UCI de um doente com sépsis pode custar cerca de 9 630 US\$ (22).

Tabela 2: Principais causas de internamento hospitalar nos Estados Unidos da América durante os anos de 2000 - 2007. Adaptado de (Angus DC. *et al.* 2007)

Principais causas de internamento	Número de casos	% de internamento
Insuficiência coronária	64	18,29
Sépsis	60	17,14
Pós-operatório gastroenterologia	57	16,28
Acidente vascular cerebral (AVC)	27	7,71
Pós-operatório de urologia	14	4
Pós-operatório de ortopedia	13	3,71
Distúrbio metabólico	12	3,43
Insuficiência respiratória	12	3,43
Pós-operatório de neurologia	12	3,43
Insuficiência cardíaca congestiva	11	3,14
Trauma	7	2
Arritmia cardíaca	6	1,71
Outros	55	15,71

2.2 Incidência e prevalência

Após a primeira Conferência de Consenso em 1991, a padronização dos critérios de diagnóstico para sépsis e condições relacionadas permitiu a análise epidemiológica da sua incidência e prevalência (13). De facto, tem-se verificado que a incidência da sépsis está a aumentar em comparação com a incidência de outras principais causas de morte, como o EAM, o Acidente Vascular Cerebral (AVC) isquémico, etc (23,24). Em França, um estudo realizado em 1993, revelou que a incidência de sépsis e choque séptico apresentou uma taxa média de 14,6% entre os doentes internados na UCI (25). Mais recentemente, Annane *et al.* reportaram um aumento significativo na Frequência do choque séptico, de 7 para 9,7 casos por 100 internamentos em UCIs francesas durante o período de 1993 a 2000. Nos EUA, durante o período de 1993-1994, a incidência hospitalar de sépsis, foi de 2 casos por 100 admissões em oito centros hospitalares de nível terciário (26). No ano seguinte, em 1995, Angus *et al.* realizaram um estudo coorte observacional com o objetivo de determinar a incidência da sépsis em sete estados dos EUA. Tal como se pode observar no gráfico da figura 2, nos EUA, o número de casos de sépsis /100 000 habitantes era bastante superior em relação ao número de casos afetados por síndromes como a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), cancro do colon, da mama e Insuficiência Cardíaca Congestiva (ICC). Neste estudo, os autores relataram ainda uma incidência de 300 por 100 000 habitantes, correspondendo a 2,1 - 4,3% dos internamentos hospitalares (13,27).

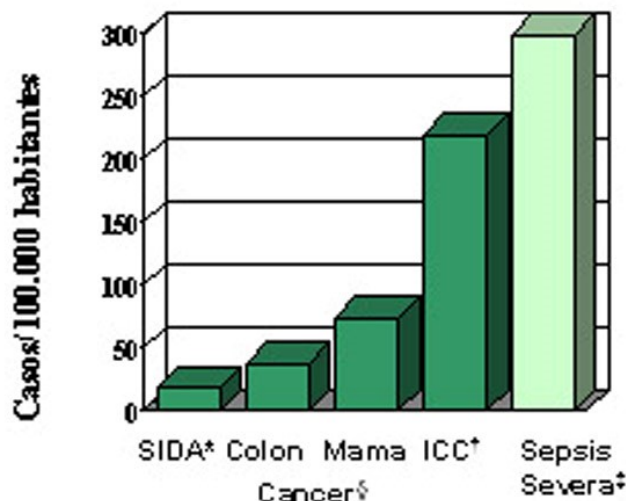


Figura 2: Representação do número de casos /100 000 habitantes relativos às síndromes mais frequentes nos EUA relatados em 1995.

Estudos mais recentes, realizados em 2003 por Padkin *et al.* constataram que 27,1% dos doentes adultos admitidos na UCI do Reino Unido cumpriam com os critérios de sépsis durante as primeiras 24 horas após a admissão (28).

A incidência de choque séptico nas UCIs Australianas e Neozelandesas foi estimada em cerca de 11,8 casos para cada 100 internamentos, em 2004 (29). No mesmo ano, na Holanda o número de casos de sépsis foi estimado em cerca de 8643, o que representa 0,054% da população e 11% dos internamentos (29). Segundo Finfer S *et al.* em 2004 a incidência e prevalência global estimada da sépsis entre os doentes internados, variou de 11,8% a 16,6% (29). Durante o período 2008-2012, uma análise retrospectiva conduzida na Catalunha estimou um aumento anual na incidência de sépsis de 7,3%, em que 1 672 casos em 2008, aumentaram para 2 618 por 100 000 habitantes no ano 2012 (30).

Uma revisão recente destinada a estimar a incidência e prevalência mundial de sépsis concluiu que, embora os dados epidemiológicos ainda sejam escassos, particularmente em países em vias de desenvolvimento, a taxa geral de incidência de sépsis é de 288 e de o choque séptico de 148 por 100 000 pessoas por ano respetivamente (31). A incidência e prevalência da sépsis tem aumentado constantemente nas últimas décadas. As razões deste aumento podem dever-se ao envelhecimento progressivo da população, em que existe um maior número de doentes idosos apresentando mais co-morbilidades, o diagnóstico frequente e o uso de códigos de sépsis após alta hospitalar como por exemplo: A Classificação Internacional de Doenças (CID) (32).

2.3 Mortalidade e morbidade

A sépsis é uma causa comum de hospitalização e internamento na UCI, com grande taxa de morbidade e mortalidade. Um doente hospitalizado com sépsis tem maior probabilidade de

morrer do que um doente com ataque cardíaco ou AVC. Ainda assim a sépsis não é avaliada com a mesma urgência que outras condições críticas (15). Vários estudos demonstraram que a mortalidade e morbidade relacionada com a sépsis diminuiu ao longo dos anos. Uma meta-análise recente, estimou uma redução das taxas de mortalidade e morbidade em 28 dias, de 46,9% durante o período de 1991-1995 para 29% em 2006-2009 (15). Nos EUA, a mortalidade por sépsis diminuiu à 51% de 1988 a 2012 (33). Nas UCIs Francesas, caiu de 56% para 35% entre 1993 e 2001 (34). Na Austrália e na Nova Zelândia, uma redução geral de 16,7% na mortalidade por sépsis hospitalar foi relatada entre 2000 e 2012 (de 35% para 18,4%) (35). Uma redução de 16,9% na mortalidade hospitalar foi também observada em Espanha, de 23,7% em 2008 para 6,8% em 2012 (35).

Contudo, em países em via de desenvolvimento ainda são relatadas, elevadas taxas de mortalidade e morbidade (até 80%) (35). Estudos epidemiológicos demonstram que nos países desenvolvidos a sépsis tornou-se mais frequente, mas menos mortal, nas últimas décadas embora a morbidade e a mortalidade relacionadas a esta síndrome permaneçam alarmantes. Esta queda na mortalidade e morbidade pode ser justificada pelas melhorias nos métodos de deteção e por uma abordagem terapêutica mais agressiva, incluindo tratamento antimicrobiano precoce e medidas de suporte mais eficazes (15,35).

2.4 Etiologia Bacteriana

A sépsis é uma doença infecciosa de etiologia variada (bacteriana, viral, fúngica ou até mesmo por protozoários), resultando numa resposta inflamatória e metabólica de diversos graus. Das diferentes etiologias a mais frequente é a bacteriana, com 80% dos casos registados (36).

As bactérias são organismos que apresentam uma estrutura relativamente simples e um tamanho variável entre 1 e 20 micrómetros. Estes microrganismos são procariotas, unicelulares e não apresentam membrana nuclear, mitocôndria, complexo de Golgi ou retículo endoplasmático (como representado na figura 3). Na tabela 3 estão descritas as diferentes estruturas que constituem das bactérias bem como as suas respetivas funções.

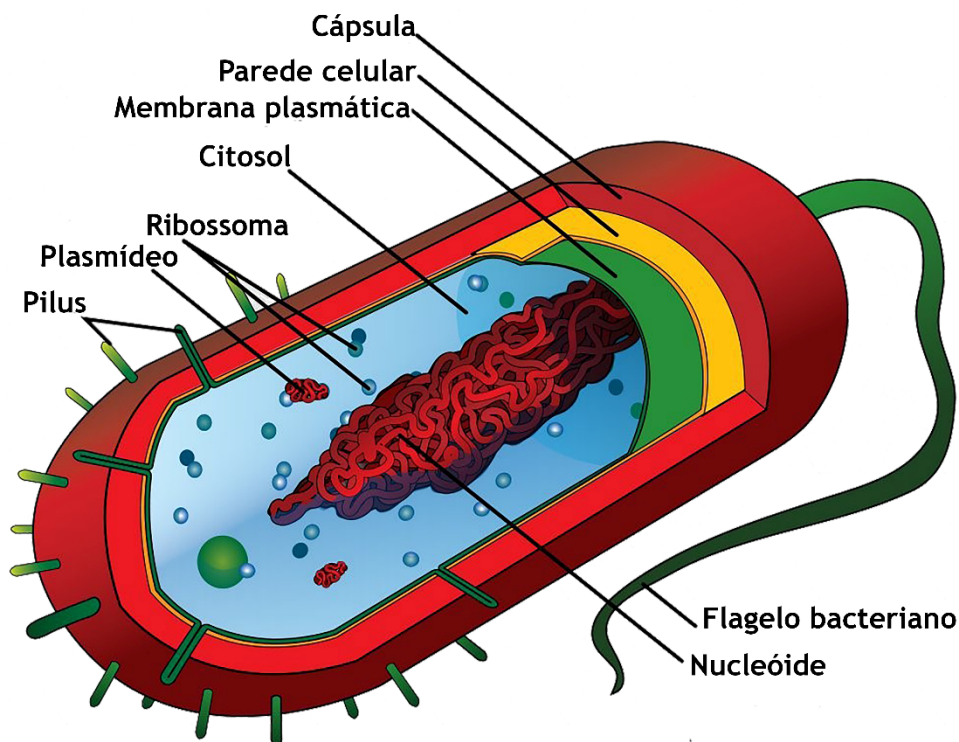


Figura 3: Ilustração das diferentes estruturas que constituem uma célula bacteriana. Adaptado de (Gerald J. et al. 2012).

A reprodução das bactérias ocorre por fissão binária (divisão assexuada), que consiste na divisão da célula “mãe” em duas células. Em termos morfológicos, as bactérias podem apresentar uma forma esférica, bastonete, espiralada, entre outras. Além disso, dependendo da sua necessidade de oxigênio, as bactérias podem ser também classificadas como: aeróbias, anaeróbias, aero-anaeróbias facultativas e aero-anaeróbias tolerantes. Similarmente, as bactérias podem ser classificadas de acordo com o seu arranjo espacial: células únicas, formação de cadeias ou aglomerados. Contudo, a classificação definitiva de uma bactéria é baseada nas suas características genotípicas e fenotípicas (37).

Tabela 3: Resumo das diferentes estruturas bacterianas e suas respectivas funções. Adaptado de (Gerald J. et al. 2012)

Estrutura	Função
Envelope celular	
Cápsula, glicocálice, camada S	Promove virulência
Parede celular (exceto micoplasma)	Confere forma e resistência
Membrana citoplasmática	Controla a saída e entrada de moléculas
Citoplasma	
Nucleóide	ADN livre
Plasmídeo	ADN não cromossomal que confere propriedades específicas (resistência aos antibióticos por exemplo)
Esporo	Confere resistência extrema aos fatores ambientais
Ribossoma	Síntese proteica
Cromossoma	Determinantes genéticos

Apêndices	
Flagelos	Mobilidade
Pilis	Adesão a superfícies, ponte de transferência de ADN

A coloração de Gram é um dos métodos mais comuns para distinguir diferentes tipos de bactérias. Esta coloração permite a distinção das bactérias, tendo em conta as propriedades da sua parede e membrana citoplasmática, através da retenção ou não dos diferentes corantes (Figura 4).

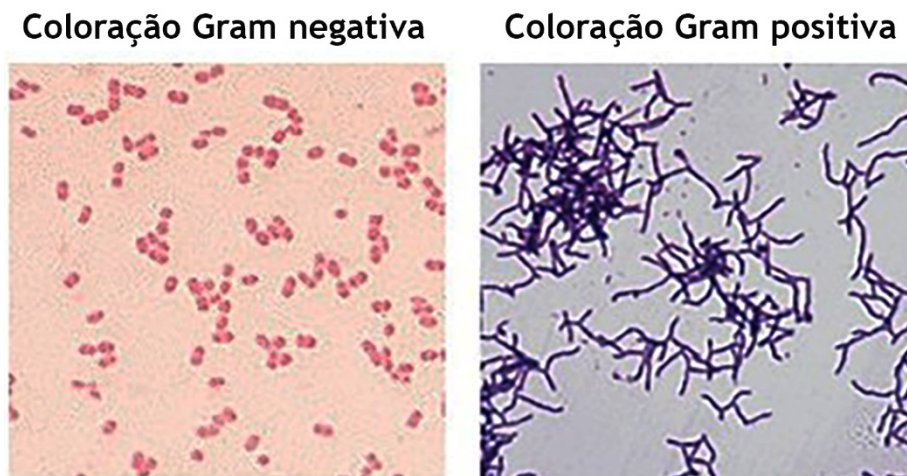


Figura 4: Imagem microscópica de bactérias após a coloração de Gram. Adaptado de (Gerald J. *et al.* 2012).

Neste sentido, as bactérias que apresentam uma parede espessa circundando a membrana citoplasmática permitindo a retenção do corante cristal de violeta, são definidas como bactérias de coloração Gram positiva (figura 4). A parede celular destas bactérias é constituída maioritariamente por peptidoglicano, que rodeia a membrana citoplasmática e é suficientemente porosa para permitir a difusão de metabolitos para a membrana citoplasmática. Durante a infeção, o peptidoglicano interfere com a fagocitose e estimula a resposta do sistema imunitário inato, incluindo a atividade pirogénica (causando febre) (38,39). As bactérias de coloração Gram positiva possuem também na sua estrutura componentes como o ácido teicoico e lipoteicoico. Estas moléculas são antigénios comuns da superfície, que permitem a distinção de diferentes serotipos bacterianos (38).

Por outro lado, a parede celular das bactérias de coloração Gram negativa apresenta uma estrutura mais complexa, sendo constituída por uma bicamada de peptidoglicano e uma membrana externa (figura 5). Estas membranas dão origem ao espaço peri plasmático, onde podemos encontrar uma variedade de enzimas hidrolíticas, importantes na degradação de macromoléculas para o metabolismo bacteriano. É neste espaço que se encontram os fatores de virulência como as: colagenases, hialuronidasas, proteases e b-lactamases. As bactérias de coloração Gram negativa possuem ainda lipo-polissacáridos (LPS) denominados endotoxinas, um

poderoso estimulador de resposta do sistema imunitário inato. Os LPS podem causar febre como também choque (38,39).

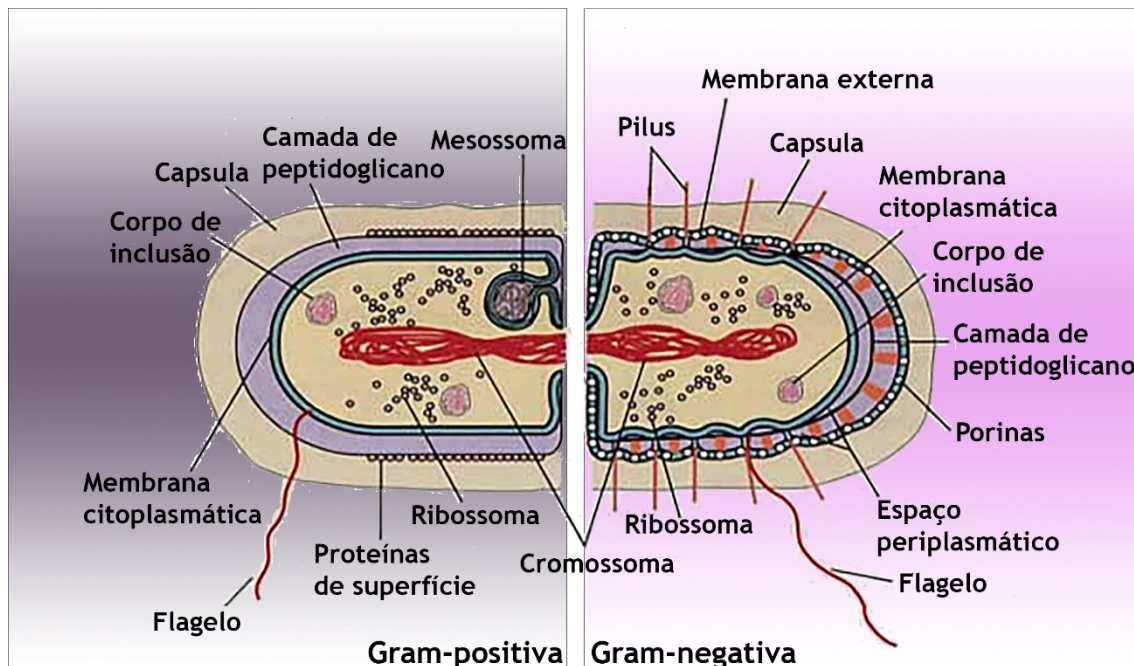


Figura 5: Ilustração das diferentes estruturas da parede celular bacteriana, que podem ser identificadas pela coloração de Gram. De acordo com a constituição da sua parede, e conseqüentemente a sua coloração, as bactérias podem ser classificadas como bactérias de coloração Gram positiva ou negativa. Adaptado de (Patrick R. *et al.* 2000).

O corpo humano é habitado por milhares de espécie bacterianas, algumas vivendo de forma transitória outras numa relação simbiose permanente (flora normal) (figura 6). Do mesmo modo as bactérias estão presentes no ambiente incluindo no ar, na água e nos alimentos que se consomem. Estas bactérias são consideradas não patogênicas, mas existem outras que são capazes de causar doenças com risco de vida, como é o exemplo da sépsis. (37,38)

As bactérias da flora normal são as que residem normalmente na pele e mucosas sem interferência na saúde humana. Este tipo de bactérias desempenha um papel importante na vida do ser humano. Elas participam no metabolismo de produtos alimentares, fornecem fatores essenciais de crescimento, protegem contra infecções por microrganismos patogênicos e estimulam a resposta do sistema imunitário inato. Na ausência destas bactérias, a vida como a conhecemos seria impossível. A flora microbiana presente no interior e na superfície do corpo está num estado de fluxo contínuo e pode variar de acordo com a idade, dieta, estado hormonal, saúde e higiene pessoal (37,39).

Embora a maioria destas bactérias tenham o potencial para causarem uma doença, elas normalmente encontram-se localizadas em locais considerados externos ao corpo (boca, sistema gastrointestinal, pele, sistema respiratório superior). Sendo assim, as bactérias da flora normal apenas podem causar complicações de saúde se entrarem em contacto com os locais estéreis do corpo (locais onde não há colonização bacteriana). As bactérias oportunistas tiram

partido de situações que deixam o doente mais suscetível ao desenvolvimento de uma doença como por exemplo a imunodepressão (37,39).

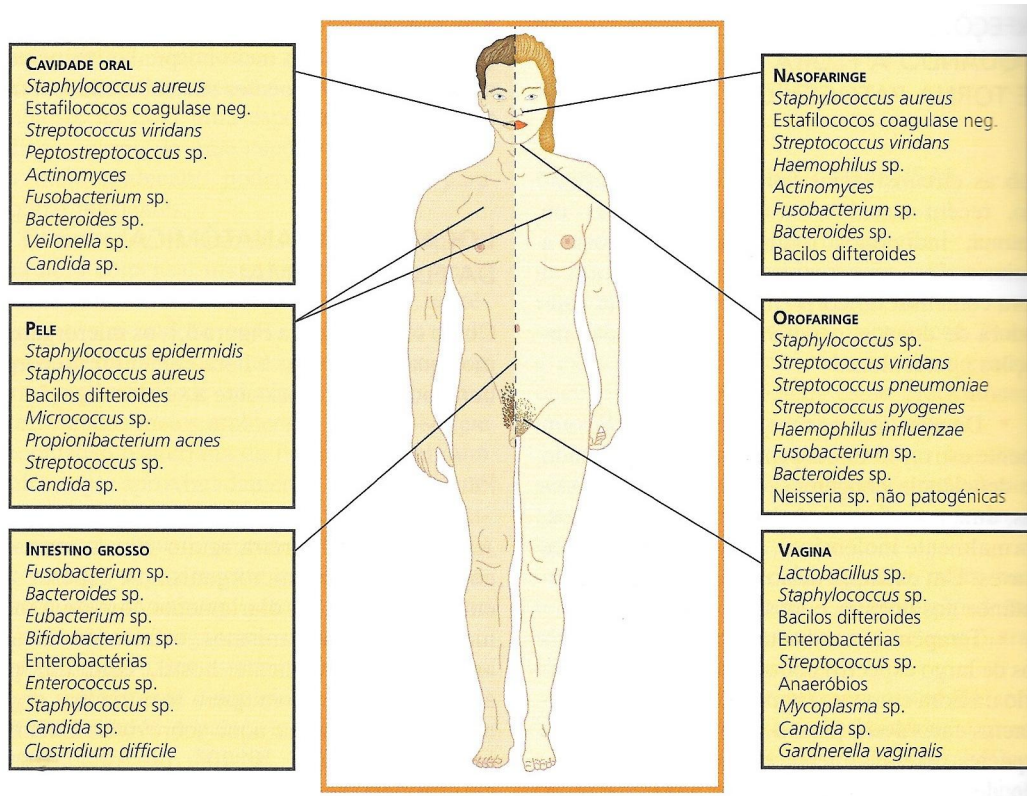


Figura 6: Representação das diferentes bactérias da flora normal e seus locais de colonização. Adaptado de (Kumar V. et al. 2010).

3 Transmissão

A infecção é o resultado da agressão do hospedeiro por um microrganismo. As suas manifestações clínicas e/ou biológicas resultam de um desequilíbrio entre a resistência do hospedeiro e o poder agressivo do microrganismo. Esta infecção pode evoluir para uma infecção local ou generalizada (i.e. bacteriemia, septicemia)(38).

A transmissão pode ocorrer por via endógena (infecção a partir de microrganismos colonizadores, microrganismos da flora normal) e/ou exógena (infecção a partir de um agente infeccioso externo que penetrou no hospedeiro) (38).

A transmissão de bactérias para a corrente sanguínea pode ser classificada como:

- **Transitória:** ocorrer, por exemplo, espontaneamente aquando da lavagem dos dentes e manipulação de tecidos infetados.
- **Contínua:** ocorre, por exemplo, em patologias como o choque séptico por endocardite bacteriana, febre tifoide, brucelose e leptospirose.
- **Intermitente:** frequente nas situações de abscessos não drenáveis.

As primeiras defesas do ser humano contra a infecção são a pele e as superfícies mucosas, as quais atuam como uma barreira física podendo também produzir substâncias antimicrobianas. Em geral, as infecções dos sistemas respiratório, gastrointestinal e genitourinário que ocorrem em pessoas saudáveis são causadas por microrganismos, que são capazes de danificar ou penetrar as barreiras epiteliais intactas. Em contraste, a maioria das infecções cutâneas em pessoas saudáveis é causada por microrganismos, que penetram na pele através de locais danificados (tabela 4) (38,39).

Tabela 4: Resumo das diferentes formas de transmissão bacteriana no ser humano.

Transmissão direta	Transmissão indireta
Transmissão fecal-oral	Transmissão por alimentos e/ou água contaminada
Transmissão aérea	Transmissão por objetos contaminados
Transmissão genital	Transmissão por vetores
Transmissão pela pele	
Transmissão vertical	

Pele. A epiderme, camada externa queratinizada e densa da pele, é uma barreira natural à entrada de microrganismos (i.e., infecção). Além disso, o baixo pH da pele e a presença de ácidos gordos inibem o crescimento de bactérias com exceção da flora normal residente. A flora normal é constituída por uma variedade de bactérias incluindo algumas oportunistas com potencial patogénico. As bactérias podem penetrar a pele quando a sua estrutura é comprometida, nomeadamente quando ocorre feridas, queimaduras, feridas diabéticas (imunodeprimidos), cateteres intravenosos, injeções expondo o hospedeiro a sangue potencialmente infetado e mordeduras e/ou picadas de animais. Estas por sua vez atingem a corrente sanguínea causando uma resposta sistémica (37,39).

Sistema gastrointestinal. As infecções bacterianas gastrointestinais ocorrem majoritariamente devido ao consumo de alimentos e/ou água contaminada, podem conduzir à sépsis. As infecções neste sistema ocorrem quando existe um enfraquecimento das defesas locais e/ou as bactérias desenvolvem mecanismos de as superar. Estas situações podem ocorrer por alterações na acidez gástrica, administração de antibióticos que alteram a flora bacteriana normal e pela redução do peristaltismo (39).

Sistema respiratório. O ser humano, diariamente, inala um grande número de bactérias. A colonização por estes microrganismos é controlada pelos mecanismos de defesa do sistema respiratório (i.e. os cílios, e/ou muco). Contudo as bactérias que invadem o sistema respiratório podem desenvolver mecanismos para superar as defesas deste sistema. O tabagismo é um dos principais fatores de enfraquecimento das defesas deste sistema. Além disso, a entubação oro-traqueal, naso-traqueal muito usado em cuidados intensivos, também constituem fatores de risco para a transmissão de bactérias, podendo resultar em septicémia (39,40).

Sistema urogenital. A colonização bacteriana deste sistema ocorre majoritariamente pela via externa através da uretra (urina é estéril). Os microrganismos patogénicos têm a capacidade de aderir ao epitélio urinário e desta forma iniciar a sua colonização. Neste caso a anatomia desempenha um papel crucial na suscetibilidade aos microrganismos, tendo em conta a maior predisposição das mulheres quando comparadas com os homens devido ao menor comprimento da uretra feminina. A infeção urinária é ascendente, podendo causar uma pielonefrite e também septicémia. Uma das mas importantes defesas do sistema urogenital é o pH baixo. Os antibióticos podem alterar este sistema de defesa e tornar o sistema mais suscetível à infeção. A transmissão pode acontecer por algiação em doentes internados e/ou cistectomizados, na retenção urinária e a partir da flora colonizadora do sistema (figura 7) (39,40).

Contaminação de humanos por microorganismos

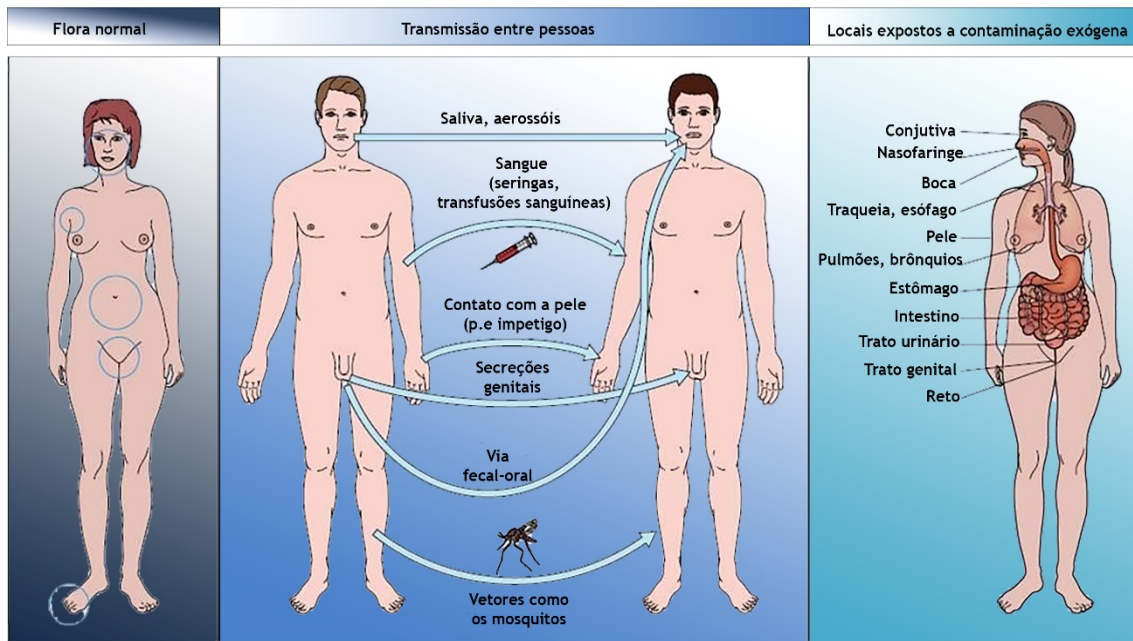


Figura 7: Ilustração das diferentes vias de transmissão por bactérias. Adaptado de (Gonzalo B. *et al* 2017).

4 Fatores de virulência das bactérias

As bactérias usam mecanismos específicos para aderir, invadir e colonizar diferentes superfícies, bem como para promover a sua disseminação sistêmica. Estes mecanismos são chamados fatores de virulência, que tornam o processo de remoção da bactéria, mais difícil. Os fatores de virulência são dirigidos contra os meios de defesa, complexos e diversificados do hospedeiro. (39).

Como exemplos de fatores de virulência das bactérias (os quais estão representados na figura 8), temos:

- Adesinas (fimbria, glicocálice)
- Cápsula;
- Fatores de invasão (proteínas de superfície que alteram o citoesqueleto da célula);
- Enzimas como hialuronidase, coagulase, colagenase, hemolisinas, proteases, estreptoquinases, DNAases, elastase etc.
- Produção de sideróforos (Quelantes de Ferro);
- Toxinas bacterianas; produtos que causam lesão direta aos tecidos ou comprometem atividades biológicas.
- Formação de biofilmes que favorecem a proliferação bacteriana e protegem da ação de agentes antimicrobiano como os antibióticos, geralmente observados em dispositivos cirúrgicos tais como válvulas artificiais ou cateteres (39).

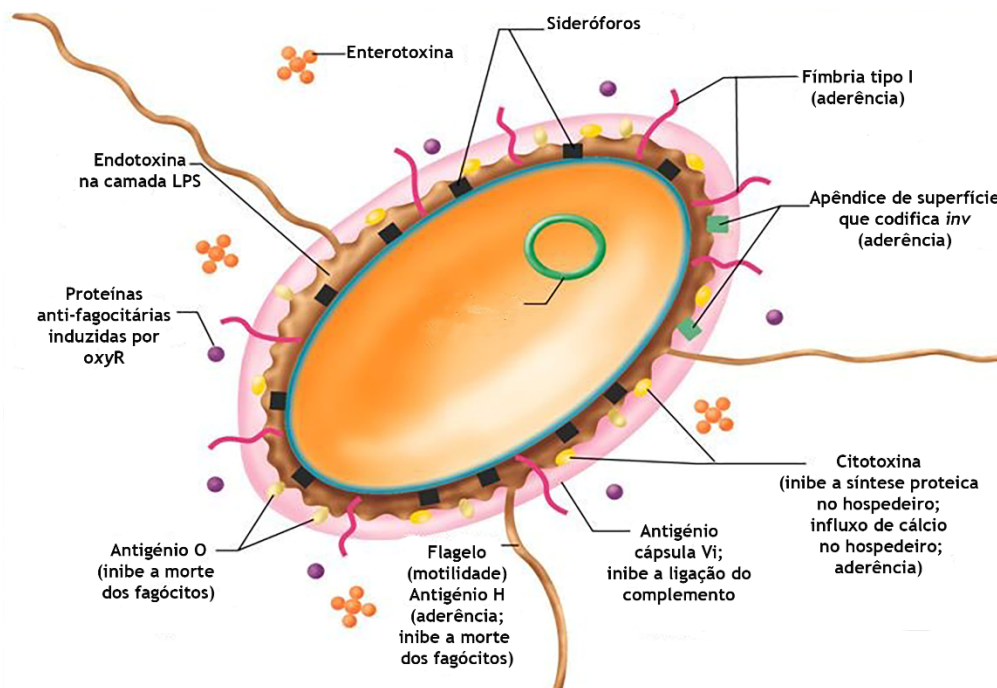


Figura 8- Ilustração dos diferentes fatores de virulência apresentados pelas bactérias. Adaptado de (http://www.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/MicrobiologiaeImunologia/11_aula_patogenicidade.pdf).

Tendo em conta o desenvolvimento da doença, os fatores de virulência são responsáveis pela classificação das bactérias em:

- Bactérias que se multiplicam localmente e sintetizam as toxinas responsáveis pelos sintomas da doença;
- Bactérias capazes de invadir as mucosas;
- Bactérias que atravessam a mucosa, atingem a circulação e disseminam-se pelo organismo (37,39).

5 Mecanismo patogénico das bactérias

O crescimento bacteriano, resulta na produção de ácidos, gases, e outras substâncias tóxicas para os tecidos o que pode promover o desenvolvimento de uma doença. Na maioria dos casos, a toxina é a principal causa das manifestações sintomáticas da doença. Na presença das toxinas, os componentes da parede celular desencadeiam um alerta, como sinal de infeção para ativar o sistema de proteção do hospedeiro. Neste caso o padrão molecular nessa estrutura liga-se aos Toll-Like Receptors (TLR) nas células mieloides para estimular a produção de citocinas. Em alguns casos a resposta do hospedeiro é excessiva, podendo tornar-se uma ameaça para vida (39).

Na infeção por bactérias de coloração Gram positiva, o peptidoglicano, os produtos de degradação, assim como ácidos teicoico e lipoteicoico são libertados, estimulando a libertação de exotoxinas de resposta à fase aguda. Nas bactérias de coloração Gram negativa, os lipopolissacáridos produzidos são um ativador potente da fase aguda e da reação inflamatória na sépsis. As exotoxinas ligam-se a recetores específicos no macrófago, linfócitos B e outras células, estimulando a produção e libertação na fase aguda de citocinas e prostaglandinas (39), causando:

- Febre;
- Vasodilatação;
- Ativação do sistema imunitário;
- Resposta inflamatória;
- Coagulação intravascular disseminada.

Contudo, os níveis de exotoxinas no sangue de um doente com sépsis, podem ser muito altos, influenciando a resposta do corpo humano podendo mesmo resultar em choque e consequentemente na morte do doente (37).

As exotoxinas são proteínas produzidas por bactérias de coloração Gram positiva e negativa, incluindo enzimas citolíticas, e proteínas de recetores de ligação que alteram a função ou matam a célula. Em muitos casos, o gene da toxina está incorporado num plasmídeo ou num fago lisogénico. A maioria das toxinas são diméricas com uma subunidade A e B. O alvo bioquímico das subunidades de toxinas A e B, inclui ribossomas, mecanismos de transporte, e sinalização intracelular. Os superantígenos são grupos especiais de toxinas, que ativam os linfócitos T ligando-se simultaneamente aos recetores destas e às moléculas MHC-II de outra célula sem necessitar de antígenos. Esta estimulação de linfócitos T pode também levar à morte de linfócitos T ativados, resultando na perda específica de linfócitos T clonados e perda da resposta imunitária (37).

Quanto mais longa for a infeção bacteriana no hospedeiro, maior é o tempo que a bactéria tem para crescer e causar danos. Por isso, a bactéria que pode invadir ou causar incapacidade no

sistema defensor do hospedeiro tem maior probabilidade de causar doença. Os mecanismos de escape à defesa antibacteriana são por exemplo a invasão ou inativação do sistema de complemento e anticorpos, a variação antigénica, a inibição da fagocitose, a produção de enzimas com capacidade de lise das células fagocíticas e o crescimento dentro de células hospedeiras (37).

A cápsula é um dos mais importantes fatores de virulência. Esta camada fina polissacarídea funciona como elemento de escape ao sistema imunitário, nomeadamente a fagocitose. Esta e outras propriedades prolongam o tempo de estadia da bactéria no corpo antes desta ser removida pela resposta do hospedeiro (37).

6 Etiologia bacteriana da sépsis

As bactérias mais comumente detetadas em caso de sépsis, são as de coloração Gram negativa. Destas as mais frequentes são *Escherichia coli* (*E. coli*) e as espécies do genero *Pseudomonas* (41,42). O género *Klebsiella* apresenta uma maior prevalência em países em vias de desenvolvimento (43,44). No caso das bactérias de coloração Gram positiva, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) é a bactéria com maior prevalência seguida por *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*) (41,42). De salientar a espécie *S. aureus* resistente à meticilina foi identificada em 10% das infeções por bactérias de coloração Gram-positiva (45). Porém, dependendo da etiologia, as bactérias de coloração Gram positiva podem apresentar maior percentagem (46)

A colonização e posterior surgimento da sépsis pode ocorrer como consequência de diferentes processos infecciosos (focos) (47). Os locais mais frequentes de infeção primaria são os pulmões (40%), abdómen (30%), sistema urinário (10%), tecidos moles (5%) e outras (15%) (figura 9) (25,48).

Uma vez presente no organismo, o agente infeccioso pode provocar diferentes respostas no hospedeiro como a febre, passando por alterações hemodinâmicas e hemorrágicas, ou mesmo a falência de múltiplos órgãos. Todas estas alterações são respostas à libertação de mediadores pelos macrófagos e outras células do sistema imunitário do hospedeiro, quando estimuladas pelas bactérias (49).

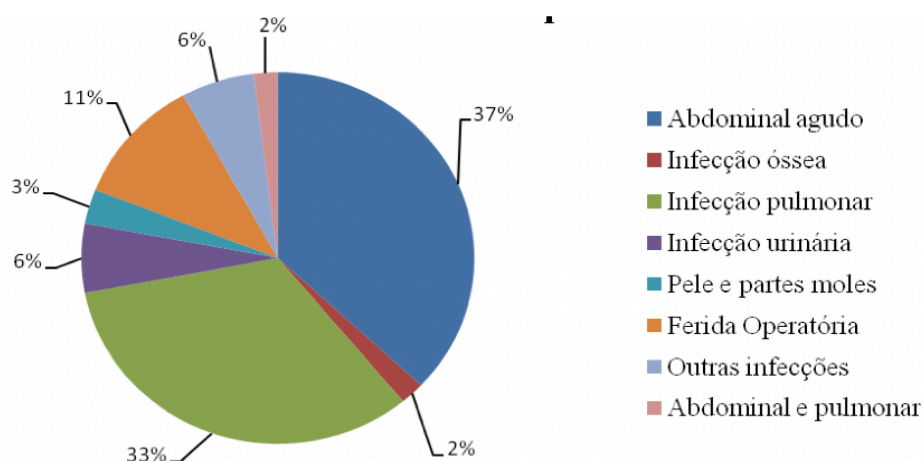


Figura 9: Distribuição de doentes (n=100) segundo a origem da sépsis durante o período de Jan 2010 - Dez 2011 num hospital no Brasil. Adaptado de (Fabiano P. *et al.* 2014)

Tendo em conta a alta prevalência e etiologia bacteriana variada de sépsis, é crucial a realização de estudos mais profundos no que diz respeito à origem da infeção, patologia e patogénese, de forma a melhorar a intervenção médica. O conhecimento da realidade local, dos aspetos epidemiológicos e dos agentes causais são fatores importantes para a prevenção e o tratamento desta patologia (50).

As bactérias comumente isoladas em hemocultura de doentes com sépsis e clinicamente significativas estão descritas na tabela 5, assim como a origem da infecção, as principais doenças e a patogénese das mesmas (42).

Tabela 5: Microrganismo comumente associados a invasão na corrente sanguínea.

Organismo	Origem da infecção	Patologia	Patogênese
<i>E. coli</i>	Extravascular (sistema geniturinário, SNC)	Sépsis, infecções gastrointestinais, meningite, infecção urinária.	É atribuída à ação das adesinas, que permite a adesão das bactérias às células epiteliais. Além disso, as adesinas juntamente com as exotoxinas estimulam a hipersecreção de fluidos e eletrólitos; e por outro lado, a ação da hemolisina HlyA destrói eritrócitos e outras células.
<i>S. aureus</i>	Extravascular e Intravascular (feridas, tecidos moles e meninges)	Choque séptico, Intoxicação alimentar, foliculite, endocardite.	Cápsula polissacarídica: inibe a fagocitose; Peptidoglicano: ativa o sistema do complemento (IL-1), fator quimiotático para os fagócitos polimorfo nucleares (PMNs); Exotoxinas: Citotoxinas (alfa, beta, delta e gama) Leucocidinas, Toxinas esfoliativas; Enzimas: Coagulase, fator de agregação catalase, hialuronidase; Fibrinolisinase estafiloquinases, lipases, nucleases, penicilinases.
<i>S. pneumoniae</i>	Extravascular (meninges, sistema respiratório)	Sépsis, Pneumonia, meningite e otite média.	A colonização é feita com auxílio das adesinas (proteínas de superfície). A migração acontece, impedindo que o fator protetor do hospedeiro produza a protéase IgA e pneumolisina. Ocorre a destruição de tecidos, o ácido teicoico e os fragmentos do peptidoglicano ativam a via alternativa do complemento, produzindo C5a que vai mediar o processo inflamatório.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Extravascular e Intravascular (feridas, tecidos moles, SNC)	Sépsis, Endocardite, Infecções respiratórias, urinárias, pele e tecidos moles.	A exotoxina A, endotoxinas, enzimas proteolíticas, alginato e pilus conferem a resistência intrínseca à bactéria. Desta forma, muitos agentes antimicrobianos facilitam a destruição dos tecidos, causando assim a infecção, invasão e propagação bacteriana no hospedeiro.
<i>S. epidermidis</i>	Intravascular (pele, válvula já danificada)	Endocardite	Exotoxinas e biofilme são os fatores mais importantes para a patogenicidade desta bactéria. A infecção tem origem no local de sutura ao tecido cardíaco, provocando a separação e a insuficiência cardíaca mecânica.
<i>Clostridium perfringens</i>	Extravascular (ferida, tecidos moles)	Sépsis, intoxicação alimentar, enterite necrotizante, infecções de tecidos moles.	Produz várias exotoxinas; a alfa-toxina, a mais importante, medeia a destruição de membrana da célula hospedeira; a enterotoxina insere-se e rompe as membranas das células da mucosa, Beta-toxina - citotoxina.
<i>Corynebacterium spp</i>	Intravascular	Endocardite, infecções respiratórias, infecções urinárias.	Microrganismo oportunista que tem como principal fator patogénico a produção de exotoxina que destrói as células do hospedeiro, inibindo a síntese proteica.
<i>Neisseria meningitidis</i>	Extravascular (meninges)	Sépsis, choque, Meningites, Pneumonia.	Estruturas superficiais, como pilus, facilitam a fixação às células epiteliais da mucosa e a invasão à submucosa. Uma vez na corrente sanguínea, a sobrevivência é mediada pela produção de uma cápsula polisacarídica. A libertação de exotoxina medeia muitas das manifestações sistémicas da infecção, como o choque séptico.
<i>Klebsiella spp.</i>	Extravascular (doença granulomatosa)	Sépsis, infecções nosocomiais	Vários fatores, incluindo endotoxinas, cápsula, proteínas de adesão e resistência a múltiplos agentes antimicrobianos são fundamentais para a colonização, invasão e aparecimento dos sintomas nas infecções causadas por <i>Klebsiella</i> .

		respiratórias e urinárias.	
<i>Proteus spp</i>	Extravascular (infecções do sistema urinário)	Cistite, pielonefrite.	Produz urease que quebra a ureia em dióxido de carbono e amônio. Este processo leva ao aumento do pH da urina, precipitando o magnésio e o cálcio, resultando na formação de cálculos renais. O aumento da alcalinidade da urina também é tóxico para o epitélio do sistema urinário.
<i>Haemophilus influenzae</i>	Extravascular e Intravascular (meninges, região peri-orbitária, sistema respiratório)	Sépsis, pneumonia, endocardite, meningite, otite.	Pili e adesinas medeiam a colonização. Componentes da parede celular comprometem a função celular conduzindo a danos, permitindo que esta atinja a circulação sanguínea. Anticorpos contra a cápsula que contem fosfato polirribitol (PRP) estimulam a fagocitose mediada pela atividade bactericida do complemento.
<i>Salmonella typhi</i>	Extravascular (sistema gastrointestinal)	Sépsis, febre tifoide e gastroenterite.	Fatores como a cápsula e a produção de urease ajudam a proteger os microrganismos do ácido no estômago; promovem a fixação e a fagocitose pelas células da mucosa intestinal; permitem a sobrevivência e a destruição das células fagocitárias e facilitam a disseminação para outros tecidos e corrente sanguínea.
<i>Listeria monocytogenes</i>	Extravascular (meninges)	Sépsis, meningite, infecções neonatais e em gestantes.	Listeriolisina O: uma toxina hemolítica e citotóxica que permite a sobrevivência dentro das células fagocitárias; Internalina: Proteína da superfície celular que induz a fagocitose; Actina A: induz a polimerização da actina na superfície das células hospedeiras, produzindo extensões celulares e facilitando a disseminação célula a célula; Sideróforos: organismos capazes de eliminar o ferro da transferrina humana e aumentar o crescimento do microrganismo.
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Extravascular (feridas e tecidos moles)	Choque séptico, febre reumática	Evitam a opsonização e a fagocitose; aderem e invadem as células hospedeiras e produzem verdadeiras toxinas e enzimas que agem como superantígenos, interagindo com macrófagos e linfócitos T, aumentando assim a liberação de citocinas pró-inflamatórias.

Para além dos microrganismos referenciados na tabela 5 existem outros microrganismos cuja o isolamento e/ou identificação em cultura requer condições especiais (tabela 6).

Tabela 6: Microrganismos com necessidades específicas para o seu crescimento e isolamento em hemocultura.

Microrganismo	Origem da infeção	Patologia	Patogénese
<i>Brucella spp</i>	Ingestão de produtos lácteos não pasteurizados infetados; Inalação de partículas infetadas.	bacteriemia, febre ondulante, conjuntivite dolorosa, pneumonia.	Após a exposição, as bactérias são fagocitadas por macrófagos e monócitos. As espécies de <i>Brucella</i> sobrevivem e replicam-se em células fagocitárias pela inibição da fusão do fagossoma-lisossoma impedindo, assim, a libertação de enzimas tóxicas dos grânulos intracelulares, inibindo a produção do fator de necrose tumoral alfa, inativando o peróxido de hidrogénio e superóxido pela produção de catalase e superóxido desmutase. As bactérias fagocitadas conseguem chegar ao baço, ao fígado, à medula óssea, aos nódulos linfáticos e aos rins. As bactérias libertam proteínas que induzem a formação de granulomas nesses órgãos e ações destrutivas.
<i>Bartonella spp</i>	Gatos e cães domésticos; mordeduras ou arranhões, pulgas.	bacteriemia, endocardite.	As espécies de <i>Bartonella</i> multiplicam-se e persistem no interior dos glóbulos vermelhos do hospedeiro. Além da angioproliferação, dados recentes indicam que as espécies de <i>Bartonella</i> pode inibir a apoptose de células endoteliais (morte celular programada), bem como ativar monócitos e macrófagos capazes de produzir potentes fatores angiogénicos.
<i>Mycobacterium spp</i>	Extravasular (infeção pulmonar, ferimentos, infeções intestinais etc)	Septicémia, tuberculose, tétano.	Ao contrário do que acontece com a maioria das bactérias fagocitárias, as espécies do género <i>Mycobacterium</i> evitam a fusão do fagossoma e lisossoma. Ao mesmo tempo o fagossoma é capaz de fundir-se com outras vesículas intracelulares, permitindo o acesso a nutrientes e facilitando a replicação dentro do vacúolo.
<i>Borrelia spp</i>	Extravasular (picada de insetos, camundongos, carrapatos etc)	Septicémia, doença d Lyme	O conhecimento da sequência completa do genoma dos vetores não resultou na compreensão clara de como estes microrganismos causam doença.
<i>Leptospira spp</i>	Extravasular (membranas mucosas intactas, cortes na pele e abrasões cutâneas)	Septicémia, meningite, miocardite, insuficiência renal e hepática.	Microrganismos que depois de penetrarem a pele ou as mucosas disseminam-se no sangue para todos os tecidos, inclusive para o sistema nervoso. Multiplicam-se rapidamente danificando o endotélio de pequenos vasos sanguíneos, resultando nas principais manifestações clínicas da doença.

7 Fisiopatologia da sépsis

A manifestação da sépsis está associada aos sinais e sintomas da infecção primária. Existem variações individuais específicas na apresentação ou manifestação da sépsis. Por exemplo, alguns doentes com sépsis apresentam-se com febre (aumento da temperatura corporal). Contudo em doentes idosos, pessoas anémicas, ou alcoólicas pode ser verificada a ausência de febre. É muito importante que o clínico reconheça co-morbilidades associadas, especialmente as doenças que podem afetar a capacidade imunológica do hospedeiro, como diabetes, insuficiência renal, insuficiência hepática, desnutrição, tumores malignos, SIDA e tratamento com drogas imunossupressoras e corticosteroides (46).

7.1 Febre e hipotermia

A febre ocorre devido ao efeito das citocinas interleucina-1 (IL-1) e TNF α libertadas por macrófagos ativados (51,52). Embora a febre e calafrios sejam típicos, alguns doentes que desenvolvem infeções bacterianas sistémicas têm o sistema imunológico suprimido e não apresentam alterações perceptíveis (por exemplo, calafrios) no início da patologia (48,53). A causa da hipotermia é menos conhecida e a sua manifestação está associada a um mau prognóstico para o doente (53). Em relação à frequência destas manifestações, Le Gall *et al* reportou que em 1 130 doentes, 55% apresentaram sintomas febris (temperatura corporal acima de 38°C), 15% hipotermia (temperatura a baixo de 36°C), e 30% uma temperatura corporal normal (46).

7.2 Manifestações neurológicas

Doentes com sépsis podem apresentar distúrbios do nível de consciência, que podem variar de confusão a delírio, obnubilação e coma (46,48,53). Estas alterações mentais podem ser atribuídas à hipotensão arterial ou hipoxemia. A disfunção cerebral persistente, na ausência de outras causas, é denominada encefalopatia secundária a septicémia. A encefalopatia séptica, é geralmente reversível, no entanto a sua patogénese não é totalmente clara, sendo provavelmente multifatorial. Segundo Young e Bolton, a encefalopatia séptica é a manifestação mais comum da sépsis grave, com uma incidência anual de 200 000 casos (54,55).

7.3 Manifestações pulmonares

A taquipneia é manifestação comum no início da sépsis (48). A monitorização contínua nas unidades de cuidados intensivos indicou que o primeiro sinal clínico é a apreensão e a hiperventilação sendo a alcalose respiratória a alteração metabólica mais precoce da síndrome séptica causada por bactérias de coloração Gram-negativa. Assim, em doentes graves, a presença de hiperventilação deve ser considerada como um indicador para a realização de hemoculturas e de uma avaliação cuidadosa da possibilidade de infeção (53). No início da

sépsis, estas manifestações podem ser menos evidentes, mas os doentes que evoluem para choque séptico são mais propensos a desenvolver lesão pulmonar aguda (LPA) e apresentar síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) (56).

A reunião de consenso americana-europeia de 1992 (57) propôs os seguintes critérios para definir a LPA e a SDRA:

LPA:

- Violações pulmonares de início agudo;
- PaO_2/FiO_2 inferior a 300mmHg (independente da pressão inspiratório);
- Infiltrados bilaterais na radiografia do tórax;
- Pressão de oclusão da artéria pulmonar inferior a 18mmHg ou estimulação da síntese de endotelina I.

SDRA:

Mesmos parâmetros da LPA mas:

- PaO_2/FiO_2 inferior a 200mmHg.

O $TNF\alpha$ e IL-1 parecem ser fundamentais nos diferentes processos que levam à lesão endotelial. Os lipopolissacáridos e a trombina induzem a produção de IL-1 na superfície endotelial, que por sua vez induz a síntese endotelial de metabolitos do ácido araquidônico e fator ativador de plaquetas (FAP). Por outro lado, os lipopolissacáridos ativam a cascata do complemento, e os seus produtos de degradação induzem a formação de $TNF\alpha$, que também estimula a produção de metabolitos do ácido araquidônico e de FAP, os quais condicionam a lesão inicial do pulmão (53). O $TNF\alpha$ também estimula a angiogénese e a neovascularização, enquanto que a IL-1 aumenta a libertação de aniões superóxido das células endoteliais (53). Como o $TNF\alpha$ pode induzir hipotensão, a lesão pulmonar aguda pode contribuir para a hipotensão e danos adicionais às células pulmonares. Esses danos, que resulta em hipotensão sustentada, bem como diminuição da resistência vascular sistémica, podem levar ao aumento da pressão hidrostática no pulmão e conseqüentemente edema pulmonar (46).

7.4 Manifestações renais

A oligúria (débito urinário inferior a 0,5ml/kg/h ou 20cc/h) é comum na sépsis. Esta complicação clínica está correlacionada com a diminuição do volume sanguíneo circulante e com perfusão renal inadequada (53). Com a progressão do quadro clínico, os doentes podem apresentar insuficiência renal aguda, necrose tubular aguda sendo manifestada através de uma diurese conservada e/ou oligúria ou anúria (54,55). As causas desta necrose tubular aguda e da redução de volume circulante, estão associadas com o aumento de citocinas pró-inflamatórias, tais como $TNF\alpha$, IL-1, tromboxano A_2 e o fator leucotrieno, que produzem ativadores de plaquetas causando a vasoconstrição renal e isquemia (58). Num estudo realizado por Hoste *et al.* numa UCI cirúrgica, na Bélgica, em 185 doentes verificou-se que 16,2% destes possuíam

insuficiência renal aguda e em 70% houve a necessidade de tratamento de substituição renal. Estes doentes apresentaram um quadro clínico grave e uma taxa de mortalidade superior, tendo sido necessário a realização de tratamento vasoativo, ventilação mecânica e tratamento de substituição renal (59).

7.5 Manifestações hematológicas

A leucocitose (níveis de glóbulos brancos entre 12 000 a 30 000/mm³) é uma das manifestações mais comuns na sépsis. A presença de neutropenia (diminuição do nível de neutrófilos) é um marcador muitas vezes associado a um mau prognóstico, pois indica a impossibilidade da medula óssea em responder a estímulos inflamatórios (48). A anemia também é frequente em doentes com sépsis, mas a sua causa é multifatorial. A trombocitopenia (plaquetas abaixo ou igual a 100 000/mm³) geralmente desenvolve-se de forma secundária devido ao aumento da sua destruição e à formação de micro agregados. Em casos graves, os doentes podem desenvolver coagulação intravascular disseminada (CIVD) (46,48,54,60).

7.6 Manifestações hepáticas

Na sépsis é frequente a observação de distúrbios da função hepática, que se manifestam por um aumento leve ou moderado das enzimas hepáticas e da bilirrubina. Em casos graves, os doentes podem evoluir para insuficiência hepática com diminuição dos níveis de protrombina, icterícia e hipoglicemia (54,60).

7.7 Manifestações cardio-circulatórias

A hipotensão e coagulação intravascular disseminada (CID) predispõe para a acrocianose e necrose isquémica de tecidos periféricos, mais comumente os tecidos digitais (46).

7.8 Manifestações cutâneas

Nas infeções bacterianas por *Staphylococcus* e *Streptococcus* o doente pode apresentar uma pele metastática, permitindo a possibilidade do diagnóstico e iniciação de um tratamento antibiótico específico. Dentro destas manifestações, pode mencionar-se a eritroderma difusa, que é devido à ação das toxinas piogénicas ou eritrogénicas (53).

As manifestações cutâneas causadas por bactérias de coloração Gram negativa recebem o nome de eritema gangrenoso. Esta lesão é caracterizada por uma lesão arredondada ou oval de tamanho variável (1 a 5 cm), com um halo ou borda de eritema em torno de uma área central que pode começar como uma vesícula, e que geralmente evolui para uma úlcera necrótica, razão pela qual também é denominada de "lesões em vigia" (53). Acredita-se que estas lesões sejam produzidas pelos produtos extracelulares das bactérias, tais como proteases ou exotoxinas. Alguns estudos atribuem estas alterações dérmicas ao fenómeno de Shwartzman

(que é uma reação rara do corpo a exotoxinas, que causam trombose no tecido afetado). Para além de *P. aeruginosa* existem outras bactérias que também podem causar lesões dérmicas tais como: *E. coli*, *Klebsiella sp*, *Enterobacter sp* e *Serratia sp* (53).

8 Diagnóstico da sépsis

8.1 Clínico

O diagnóstico da sépsis tem por base uma anamnese cuidadosa e a realização de um exame físico. Durante o exame físico, a pele e as mucosas devem ser inspecionadas cuidadosamente e várias vezes de forma a identificar lesões que possam ajudar o diagnóstico da patologia. Contudo, o diagnóstico de sépsis não é específico, mas existem sinais e sintomas que podem indicar a sua presença (tabela 7) (61,62).

Tabela 7: Sinais e sintomas sugestivos para o diagnóstico clínico da sépsis.

Sinais	Manifestações
Gerais	<ul style="list-style-type: none">✓ Febre (temperatura corporal superior a 38,3° C)✓ Hipotermia (temperatura corporal inferior a 36° C)✓ Frequência cardíaca superior a 90bpm ou superior a 2 desvios padrão (DP) acima do valor normal.✓ Taquipneia (respiração rápida e superficial, sinal de gravidade).✓ Alteração sensorial.✓ Edema significativo ou balanço hídrico positivo (superior a 20 ml/kg/24horas).✓ Hiperglicemia na ausência de diabetes (glicemia superior a 120 mg/dl).
Inflamatórios	<ul style="list-style-type: none">✓ Leucocitose (contagem leucócitos totais superior a 12.000/mm³).✓ Leucopenia (contagem leucócitos totais inferior a 4.000/mm³).✓ Contagem de leucócitos totais normal com mais de 10% de formas imaturas.✓ Proteína C-reativa no plasma superior a 2 DP acima do valor normal (valor normal 0,8 mg/dl).✓ Procalcitonina plasmática superior a 2 DP acima do valor normal (níveis normais 0,05 ng/ml)
Hemodinâmicos	<ul style="list-style-type: none">✓ Hipotensão arterial (pressão arterial sistólica (PAS) inferior a 90mmHg, Pressão Arterial Média (PAM) inferior a 70mmHg e/ou redução da PAS acima de 40mmHg.✓ Saturação de oxigénio venoso misto superior a 70%.✓ Índice cardíaco superior a 4 l/min.
Disfunção de órgãos	<ul style="list-style-type: none">✓ Hipoxemia arterial (PaO₂/FiO₂ abaixo de 300).✓ Oligúria (diurese inferior a 0,5 ml/kg/h).✓ Creatinina acima de 0,5 mg/dl.✓ Alterações da coagulação (razão normalizada internacional (INR) superior a 1,5 ou tempo de tromboplastina parcial ativada (KTTP) superior a 60s).✓ Íleo paralítico (ausência de ruídos hidroaéreos).✓ Trombocitopenia (contagem de plaquetas inferior a 100.000 / mm³).✓ Hiperbilirrubinemia (Bilirrubina total superior a 4 mg/dl).✓ Alteração aguda do estado de consciência (sonolência e/ou agitação).

Perfusão tecidual	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Aumento nos níveis de lactato (superior a 2 mmol/l) ✓ Diminuição do preenchimento capilar.
-------------------	---

Por outro lado, é também importante realçar que a resposta do doente a uma infeção que pode progredir para um quadro clínico de sépsis, varia de indivíduo para indivíduo. Estudos recentes têm descrito doentes com quadro clínico de sépsis que apresentavam a contagem de glóbulos brancos e a frequência cardíaca e respiratória inalteradas (63).

8.2 Diagnóstico Microbiológico

A hemocultura é considerada um dos testes laboratoriais mais importantes para o diagnóstico de infeções graves, sendo considerada o teste padrão para o diagnóstico da sépsis(64,65). Geralmente, uma hemocultura é pedida quando existe suspeita de uma infeção sistémica/sépsis ou quando existe suspeita de:

- Endocardite;
- Infeção hospitalar;
- Meningite;
- Pneumonia;
- Bacteriemia.

8.2.1 Colheita:

A precisão dos resultados obtidos a partir da hemocultura está diretamente relacionada com o método usado para colheita da amostra (sangue), o número de amostras recolhidas, o volume de amostra, a hora da colheita, o local da colheita e o intervalo entre a colheita e sua análise (11). Em diferentes estudos, foi demonstrado que o número de amostras recolhidas tem um grande impacto na positividade cumulativa das hemoculturas durante episódios sépticos comprovados. De facto, a realização de apenas uma hemocultura apresenta uma probabilidade de deteção do microrganismo entre 80 a 90%, enquanto que este valor é superior a 88% quando duas amostras são analisadas e cerca de 99% com a recolha e análise de três amostras (11,65). Similarmente, estudos adicionais mostram que a possibilidade de deteção do microrganismo com apenas uma amostra é de 70%, duas amostras de 80-90%, três amostras entre 96-98 % e quatro amostras superior a 99%. Atualmente, é recomendada a recolha de no mínimo duas até quatro amostras por episódio infeccioso (66,67).

O número de hemoculturas positivas em função do número total de amostras colhidas (punções em diferentes locais) é também uma ferramenta muito útil para a interpretação do significado clínico dos resultados. Contrariamente aos casos de doentes com verdadeiras bacteriemias, o crescimento dos microrganismos contaminantes geralmente ocorre somente numa amostra (quando duas ou mais são obtidas). Assim sendo, a colheita de uma única amostra é desaconselhada uma vez que pode impossibilitar a identificação de possíveis contaminantes (66-68). Por outro lado, o aumento do número de hemoculturas para 4 amostras por episódio

pode ser pouco benéfico, estando associado a um aumento dos custos, trabalho e risco para o doente, sem resultar num aumento significativo da probabilidade de identificação do microrganismo (68).

A colheita da amostra deve ser realizada antes do início da antibioterapia, no caso de tal não acontecer, as hemoculturas devem ser obtidas imediatamente antes da administração da próxima dose. A colheita é realizada preferencialmente por punção venosa, uma vez que não existe ganhos ao nível da sensibilidade quando realizada uma colheita por punção arterial. Atualmente, é aconselhável que a colheita de cada amostra seja realizada em punções separadas, com origem em locais anatómicos diferentes (68).

A hora e o intervalo ótimo para a colheita de amostras sucessivas não têm sido alvo de investigação (69). Alguns autores recomendam a colheita de amostras em intervalos arbitrários de 30 a 60 minutos (70). Por outro lado, Li *et al.* demonstraram que não existe diferenças nos resultados de hemoculturas quando obtidas simultaneamente ou em intervalos separados (71). Tendo em conta estes dados, o principal fator determinante para o intervalo entre as colheitas de amostra é o estado clínico do doente. Em geral, nas infeções agudas, recomenda-se a colheita de duas a três amostras (dois frascos por punção/amostra) num curto espaço de tempo, ou seja, sequenciais. Similarmente, em recém-nascidos e bebés, as hemoculturas podem ser colhidas com frequência mesmo quando estes não apresentam os sinais e sintomas típicos de sépsis (68). Por outro lado, a colheita de hemoculturas em intervalos maiores de 1 a 2 horas entre as amostras pode ser recomendada para monitorizar ou documentar uma bacteriemia contínua em doentes com suspeita de endocardite ou infeção vascular associada a dispositivos invasivos (exemplo cateter vascular) (72).

As hemoculturas sempre que possível não devem ser colhidas a partir de cateter, exceto para diagnóstico de infeção relacionada ao dispositivo. Neste caso, a amostra obtida através do cateter deve ser sempre acompanhada por uma ou duas amostras de veia periférica, de forma sequencial ou concomitante (73).

O volume da amostra é uma das variáveis mais críticas para a positividade do exame, pois quanto maior o volume, maior será a probabilidade de positividade. De facto, estudos realizados demonstram que a probabilidade de positividade de amostras de sangue com volume maior ou igual a 1mL é superior à de amostras com volumes inferiores (72). Contudo, aquando da colheita deve ser respeitado o volume recomendado a recolher de acordo com a idade do doente (i.e. adulto ou criança) e o volume recomendado pelo fabricante dos frascos de hemocultura utilizados mantendo assim a proporção sangue/meio de cultura indicada (68). Para os adultos é recomendada a colheita de 5 a 10mL de sangue por frasco em cada punção. Além disso é recomendada a colheita de um par de frascos por punção/amostra, um para realização de cultura em aerobiose e outra para cultura em anaerobiose (67).

Outro fator importante para a eficácia do diagnóstico utilizando a hemocultura é a assepsia adequada da pele durante o processo de colheita. Este fator é determinante para que hemocultura não origine um resultado positivo devido a uma contaminação externa. Em estudos realizados com diferentes antissépticos, a tintura de iodo 1-2% (álcool iodado) ou preparações com clorohexidina alcoólica 0,5% apresentam as menores taxas de contaminação, principalmente quando comparadas com as preparações de iodopovidona (74).

Na figura 10, estão representados os principais passos a efetuar na colheita de amostra para análise por hemocultura, os quais consistem em:

- 1) Preparar o material, identificar os frascos de amostras com o nome do doente, cama, data, hora e local de colheita (local anatómico), imediatamente antes do procedimento.
- 2) Limpar a tampa de borracha de cada frasco com algodão embebido numa solução de álcool (70% v/v). Manter o algodão sobre o frasco até o momento da punção ou proceder conforme as instruções do fabricante.
- 3) Escolher o local de punção mais indicado para a colheita de sangue, de acordo com o estado clínico do doente.
- 4) Fazer a assepsia com álcool-iodado, no local a ser puncionado da região mais interior para a exterior. Deixar secar por 30 segundos.
- 5) Colocar o garrote e puncionar a veia com agulha e seringa ou dispositivo para colheita de vácuo, sem tocar diretamente no local de punção.
- 6) Colher 5 a 10ml de sangue (adultos) ou de 1 a 4ml de sangue (crianças) para cada frasco.
- 7) Ao retirar a agulha, fazer compressão no local com algodão seco, sem fletir o braço.
- 8) Transferir a amostra para os frascos de hemocultura.
- 9) Descartar o material de punção em local apropriado (contentor de corto-perfurantes).

Observações: Se a amostra for obtida a partir de cateter vascular, deve ser realizada a assepsia do local a ser puncionado com uma solução de álcool (70% v/v). Não é necessário descartar o volume inicial de sangue ou lavar o acesso com solução salina para eliminar heparina ou outros anticoagulantes, pois a alta concentração proteica dos meios de cultura, normalmente, neutraliza o efeito antimicrobiano eventual do anticoagulante (72,75,76). Dwivedi *et al.* em 2009 demonstrou que o desprezar do volume inicial não diminui a possibilidade de contaminação da amostra, tornando esta prática desnecessária (77).



Figura 10: Ilustração dos principais passos a efetuar durante a colheita de uma hemocultura. Adaptado de (<https://kasvi.com.br/coleta-de-sangue-boas-praticas/>).

Após colheita da amostra estas devem ser transportadas para o laboratório de forma a se realizar a sua análise. Durante o transporte do material biológico deve-se ter em atenção as seguintes considerações:

1. As amostras não devem ser refrigeradas. As amostras devem ser mantidas à temperatura ambiente até o processamento, não excedendo um período máximo de 4 horas.
2. Devem ser seguidas as instruções do fabricante para o método de armazenamento das amostras antes da incubação em sistemas de cultura.
3. Os frascos devem ser armazenados de forma a que seja permitido o seu transporte de forma segura (por exemplo evitar a quebra dos mesmos).
4. Certificar-se de que os utilizadores seguirem as instruções recomendadas para o envio de frascos de hemocultura (78).

8.2.2 Cultura:

Atualmente, os laboratórios que ainda utilizam métodos manuais, na grande maioria, utilizam meios de cultura comerciais, aeróbios e/ou anaeróbios, para a realização das hemoculturas (68). O método manual mais utilizado inclui o sistema bifásico, o qual associa no mesmo frasco o meio sólido e líquido permitindo a observação do crescimento do microrganismo na superfície do agar. A maioria destes meios tem na sua composição o anticoagulante polianetol sulfonato de sódio (SPS) (0,025 a 0,05%), o qual tem a capacidade de inibir a ação das lisozimas. No entanto, este anticoagulante pode apresentar uma ação inibitória para o isolamento de determinados microrganismos, como por exemplo, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Peptostreptococcus* spp, *Moraxella catarrhalis* e outros. Nestas situações, quando há a suspeita de um dos microrganismos acima citados, geralmente é sugerida a adição de gelatina na concentração de 1,2% (w/v) ao meio de cultura de forma a inibir parcialmente o efeito nocivo do SPS (68). Durante o processo de cultura manual, os

frascos são incubados por um período de sete dias e agitados periodicamente. A subcultura destas amostras deve também ser realizada durante este período de tempo. Os frascos de hemocultura bem como as placas de subcultura devem ser mantidos à temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$. A primeira subcultura (denominada de cultura cega) pode ser realizada após 12-18 horas em placas de gelose de chocolate, gelose de sangue, gelose de Sabouraud e de MacConkey com incubação em atmosfera de CO_2 , no mínimo por 48 horas e observada diariamente para verificar a presença de colónias. Além das subculturas, a partir das 6-12 horas iniciais deve-se realizar diariamente a inspeção visual dos frascos, à procura de sinais de hemólise, turbidez, produção de gás, bolhas, película de crescimento, grumos etc. A observação destes sinais pode indicar positividade até ao sétimo dia. Nestes casos, a colónia deve ser subcultivada imediatamente e preparada uma lâmina para análise por microscopia (p.ex. coloração de Gram) (79). Neste ensaio o possível crescimento bacteriano é incrementado com a agitação do frasco sendo a inspeção visual e a subcultura fundamentais para o diagnóstico (79). Mediante a observação microscópica da morfologia suspeita e sem existência de crescimento na subcultura em aerobiose ou no caso de existir crescimento somente no frasco anaeróbio, suspeita-se da presença de microrganismos anaeróbios. Neste caso, uma parte da amostra deve ser subcultivada em placa de gelose de sangue (preferencialmente enriquecido com hemina e vitamina K), e incubada em atmosfera de anaerobiose por 48-72 horas (figura 11A) (70).

O frasco *Signal*[®] (Oxoid) pode ser utilizado para promover o crescimento de microrganismos aeróbios ou anaeróbios. Este dispositivo permite a deteção do seu crescimento através do aumento da pressão no interior do frasco (produção de CO_2), não sendo necessário a subcultura periódica (cultura cega) (figura 11B). Este frasco apresenta um custo relativamente elevado, semelhante aos equipamentos automatizados, e é utilizado normalmente em instituições que processam um pequeno número de amostras, não se justificando a automatização de hemoculturas (70).

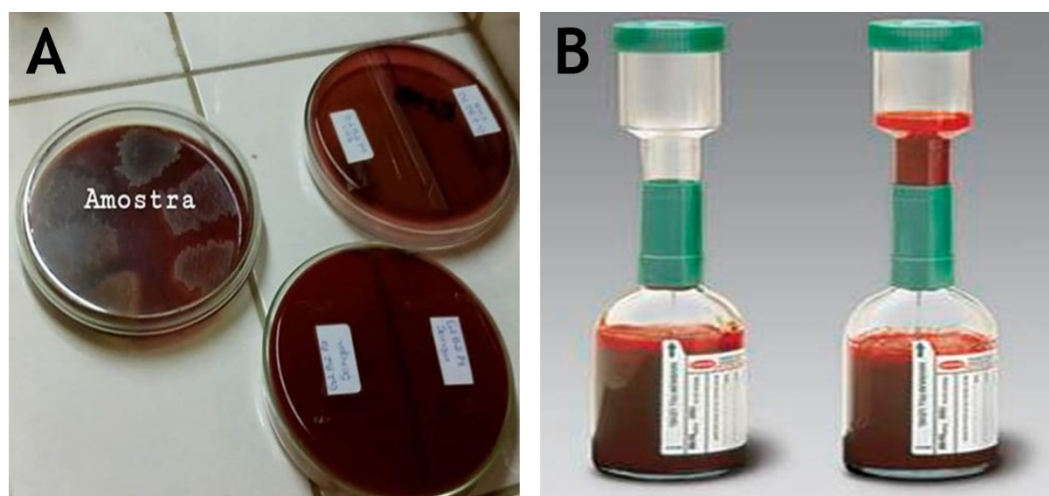


Figura 11: Imagem representativa de sistema de hemocultura realizada pelo método manual (A) e baseado nos frascos *Signal*[®] (Oxoid) (B). Adaptado de (<https://www.fishersci.es/shop/products/thermo-scientific-oxoid-signal-blood-culture-system/11933192>).

O método manual apesar de ainda utilizado, apresenta várias desvantagens como o custo, a baixa sensibilidade (quando comparado com métodos automatizados), ser trabalhoso, maior probabilidade de contaminação das amostras e a possibilidade de ocorrerem acidentes com o material corto-perfurante durante o processamento e as sucessivas repicagens (79).

8.3 Método de lise-centrifugação

O método de lise-centrifugação foi durante muitos anos considerado o protocolo padrão para a realização de hemoculturas. Este método baseia-se na utilização do sistema *Isolator* que pode ser utilizado para análise de amostras provenientes de adultos e crianças. Para se realizar a análise das amostras, estas são colocadas num tubo de vácuo (adulto ou pediátrico) contendo uma solução de lise para as células sanguíneas, libertando assim os microrganismos intracelulares. Os tubos são centrifugados e, após descartar o sobrenadante (contendo detritos celulares, agentes antimicrobianos e plasma), o sedimento contendo o suposto agente etiológico é então semeado em diferentes tipos de meios de cultura de forma a promover o crescimento de microrganismos (incluindo alguns mais raros como *Legionella* e *Mycobacterium spp*). Este método também permite a realização da contagem de colónias por ml de sangue (cultura quantitativa). Contudo, apresenta um custo elevado e é trabalhoso, o que inviabiliza o processamento de um grande número de amostras (70). (Figura 12).



Figura 12: Imagem representativa do método de lise centrifugação. Adaptado de (<http://www.diagsys.com.br/produtos/hemocultura.html>).

8.4 Métodos semi-automatizados

O Hemobac Trifásico® (Probac) é um sistema que permite a detecção de bactérias e fungos, apresentando vantagens ao nível do tempo e custos quando comparado com os métodos manuais tradicionais e automatizados. Este sistema é composto por um meio enriquecido para inoculação do sangue, que permite o crescimento das bactérias e fungos mais frequentemente isolados nos quadros de bacteriemia e septicemia. O sistema Hemobac Trifásico é também

composto por uma lâmina de meios de cultura com duas faces acopladas à parte superior de um recipiente plástico contendo meio líquido suplementado com extrato de levedura e SPS. As faces da lâmina de cultura contêm gelose de chocolate, gelose de Sabouraud e de MacConkey. Os frascos acoplados são incubados numa estufa própria que faz a inversão periódica do meio sobre a lâmina de cultura. A positividade da amostra é detetada através de um indicador colorimétrico de CO₂ (figura 13A) (70).

O sistema Septi-Check™ (BBL BD Diagnostic Systems) é semelhante ao sistema Hemobac Trifásico (Probac), contudo neste a inversão tem que ser realizada manualmente (figura 13B) (70). Após este processo, o exame microscópico, a identificação e o antibiograma são processados diretamente a partir de colónias que se desenvolveram na lâmina de cultura, não havendo assim necessidade de realizar subculturas e acelerando a obtenção dos resultados (70).

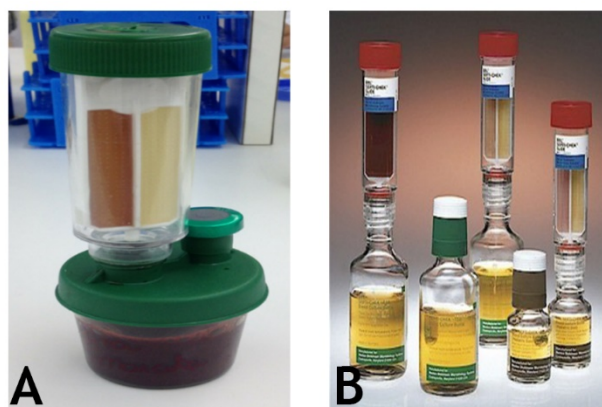


Figura 13: Imagem representativa de sistema hemobac trifásico (probac) (A) e um sistema Septi-Check (BD BBL sistema de diagnóstico) (B) usado no método semiautomático. Adaptado de (<http://www.tiraojaleco.com.br/2018/03/hemocultura-sistema-hemobac-trifasico.html>) e (<https://www.krackeler.com/catalog/product/4794/BD-BBL-Septi-Chek-Blood-Culture-System>).

8.5 Métodos automatizados (monitorização contínua)

Atualmente existem diversos equipamentos automatizados que permitem a realização de hemoculturas, como o BacT/ALERT e o BacTec (figura 14A e B respetivamente). Estes sistemas apresentam grandes vantagens em relação ao método manual, principalmente no que se refere à rapidez dos resultados e à diminuição do trabalho técnico. Contudo, estes equipamentos apresentam um elevado custo associado, do próprio equipamento e seus consumíveis (80).

Geralmente os protocolos automatizados têm uma duração de cinco dias de incubação, mas a grande maioria dos resultados positivos ocorre nas primeiras 48 horas (80). Os frascos aeróbios devem manter um volume de ar que permita o crescimento de bactérias aeróbias estritas como *P. aeruginosa* e leveduras, enquanto que os frascos para anaeróbios devem ter uma mistura de gases pobres em oxigénio, evitando a introdução de ar durante a colheita. A agitação do meio é um fator importante para facilitar a multiplicação bacteriana, principalmente dos aeróbios

estritos e facultativos (80). Para os laboratórios que dispõem de métodos automatizados, existe a possibilidade da utilização de meios de cultura com resinas ou carvão. Estes componentes apresentam ação inibitória para os agentes antimicrobianos, sendo útil para doentes que receberam previamente antibioterapia pois aumentam a recuperação de microrganismos incluindo *Staphylococcus* spp. e *Enterobacteriaceae* (80). Assim sendo, a probabilidade de positividade da amostra nestes doentes vai ser aumentada, em contrapartida também pode ocorrer uma maior recuperação de contaminantes, como *Staphylococcus* coagulase negativa. A maioria dos meios disponibilizados para os sistemas automatizados tem um desempenho semelhante para os microrganismos mais comuns (68).

Em situações rotineiras, utilizando-se o método automatizado de monitorização contínua, recomenda-se que os frascos de hemocultura sejam incubados por cinco dias para bactérias aeróbias, anaeróbias e a grande maioria das leveduras (72), e 42 dias para frascos especiais para outros fungos e micobactérias ou conforme instruções do fabricante (80,81). Este método apresenta inúmeras vantagens:

- Maior rapidez para positividade da amostra;
- Monitorização contínua da amostra pelos sistemas totalmente automatizados;
- Menor risco de contaminação laboratorial;
- Economia de tempo, material (agulha e seringa) e trabalho;
- Maior sensibilidade e rapidez para deteção de positividade;
- Não é necessário repicar amostra negativa;

Por outro lado, estes sistemas também apresentam algumas desvantagens como:

- Elevado custo dos equipamentos e seus frascos.
- Equipamentos de grande dimensão não adequados a laboratórios com espaço reduzido.

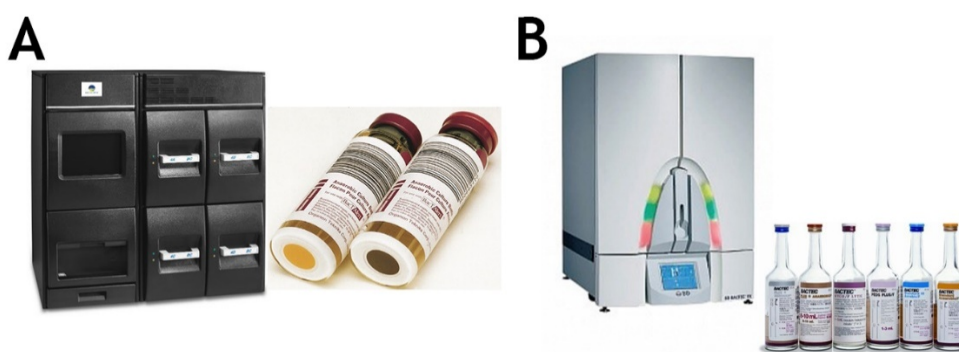


Figura 14: Representação do sistema de cultura Bact/Alert (A) e Bacttec (B) com os seus respetivos frascos. Adaptado de (<https://www.biomerieux-industry.com/food/microbial-detection-bactalert>) (A) e (<http://astra77.ru/catalog/77/?ID=77>) (B)

8.6 Interpretação de resultados

As hemoculturas positivas podem significar a presença de bactérias na corrente sanguínea e a necessidade de tratamento imediato. A sépsis pode ser fatal, especialmente em doentes imunocomprometidos. O médico pode iniciar o tratamento intravenoso com antibióticos de largo espectro, eficazes contra um grande número de bactérias, enquanto aguarda um resultado mais específico das hemoculturas. Após a identificação do microrganismo, o tratamento deve ser alterado para antibióticos mais específicos contra o patógeno identificado, de acordo com os testes de suscetibilidade aos antibióticos (68). Por outro lado, existe a possibilidade de uma hemocultura positiva representar um resultado falso positivo, por contaminação da cultura com bactérias da pele ou outras. Assim sendo é recomendado avaliar o conjunto dos resultados das diversas hemoculturas realizadas e o estado clínico do doente. Se os resultados das diferentes hemoculturas forem negativos é improvável que haja sépsis (82). Entretanto, se os sintomas persistirem, devem ser consideradas outras possibilidades, como:

- Dificuldade de crescimento de alguns microrganismos em hemoculturas comuns, sendo necessários meios de cultura específicos para crescimento e identificação.
- A não deteção de vírus nas hemoculturas.

Os resultados de outros testes correlacionados com os das hemoculturas podem indicar sépsis apesar das hemoculturas estarem negativas. Alguns desses testes incluem:

- Hemograma- Leucocitose pode indicar infeção;
- Níveis da componente C3 do sistema complemento podem estar aumentados;
- Culturas de urina, expetoração ou líquido cefalorraquidiano podem ser positivos, indicando uma possível origem da infeção disseminada pelo sangue.

Alguns microrganismos têm um alto valor preditivo positivo para verdadeiras bacteriemia (superior a 90%), mesmo quando isolado em apenas numa única amostra, outros estão associados a contaminação em quanto que outros estão associados a imunossupressão (tabela 8) (82,84).

Tabela 8: Descrição das diferentes bactérias isoladas em hemocultura de acordo com o seu valor preditivo.

Bactérias associadas a infeção verdadeira	Bactérias associadas a contaminação	Bactérias associadas a imunossupressão
<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>N. meningitidis</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> ,	<i>Corynebacterium</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp, <i>Bacillus</i> spp. <i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aeromonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Capnocytophaga</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Listeria</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Rhodococcus</i> ,

<i>Brucella</i> spp., <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Candida</i> spp. <i>Cryptococcus</i> spp		<i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Streptococcus gallolyticus</i> (grupo <i>Streptococcus bovis</i>)
---	--	---

Quando uma hemocultura é inesperadamente positiva (na ausência de sinais ou sintomas) ou quando somente uma das várias amostras é positiva para um determinado microrganismo, esta pode eventualmente ser considerada uma contaminação. Os índices de contaminação aceitáveis ficam em torno de 1 a 3%, sendo considerado um valor tolerável até 5%. Em unidades de emergência estes valores podem ser superiores (85).

Nos últimos anos, tornou-se evidente que microrganismos considerados quase sempre contaminantes, como por exemplo, *Staphylococcus* coagulase negativa (principalmente associados a cateter vascular e em doentes de alto risco), passaram a ser cada vez mais comumente isolados e algumas vezes associados a infecções verdadeiras dificultando a avaliação clínica (60,82). Além disso, hemoculturas com resultados falso-positivos representam um trabalho extra no laboratório, exames adicionais, uso desnecessário de antibióticos, maior tempo de internamento, e conseqüentemente um aumento dos custos. Toda a hemocultura positiva, com microrganismos potencialmente contaminantes deve ser criteriosamente avaliada (86). Encontrar mais do que uma hemocultura positiva para bactérias normalmente consideradas contaminantes como *Corynebacterium* spp. e *Bacillus* spp, pode ter significado clínico (59,82).

8.7 Marcadores de diagnóstico e prognóstico da sépsis.

Um biomarcador com alta sensibilidade, especificidade, velocidade e precisão seria revolucionário para diferenciar a sépsis de SIRS não infecciosas, dadas as limitações e o tempo necessário para a verificação microbiana. Contudo, existem parâmetros bioquímicos que podem ser monitorizados e são indicativos da sépsis bem como do seu prognóstico (5).

Procalcitonina (PCT) - A PCT é o precursor da hormona calcitonina e encontra-se elevada em doentes com infecções bacterianas invasivas. Esta molécula é produzida em muitos tecidos, não apenas pelas células no local da infeção, fazendo assim parte da resposta sistémica na sépsis. Pensa-se que a PCT tem efeitos pró-inflamatórios semelhantes à proteína C reativa (PCr) (5). Recentemente, Wacker *et al.* realizaram uma meta análise incluindo 30 estudos com um total de 3244 doentes e concluíram que a PCT pode diferenciar entre sépsis verdadeira e SIRS de

origem não infecciosa. A PCT também pode ser utilizada para ajustar a terapêutica a administrar. Os valores séricos normais para a PCT são inferiores a 0,05 ng/ml, valores superiores a 2,0 ng/ml representam um risco aumentado de sépsis e/ou choque séptico (87).

Lactato - Os níveis de lactato têm sido um marcador útil para avaliar o grau da disfunção orgânica e podem também servir de guia para a ressuscitação em doentes com sépsis e choque séptico (88,89). Em doentes sépticos, o lactato é considerado um marcador importante de diagnóstico e prognóstico nas unidades de urgência e cuidados intensivos. Valores elevados de lactato estão fortemente correlacionados a um mau prognóstico e uma elevada taxa de mortalidade (90). Num estudo envolvendo doentes admitidos por infeção (n = 1278), valores alterados do nível de lactato estavam correlacionados com a elevada taxa de mortalidade dos doentes (90). As orientações internacionais de 2013 da Campanha de Sobrevivência à sépsis indicam como um dos critérios para a sépsis níveis de lactato superiores a 2mmol/L, enquanto valores superiores a 4 definem choque séptico (91). As medições de lactato em série podem ser úteis para monitorizar a eficácia do tratamento em várias intervenções terapêuticas, sendo recomendado no choque séptico, especialmente quando o nível inicial é muito elevado (91). Os doentes que nas primeiras 24 horas apresentem uma diminuição no nível de lactato, que inicialmente se encontrava elevado, têm resultados significativamente melhores do que os doentes cujo lactato permanece elevado (89).

Proteína C reativa (PCr) - A PCr é uma proteína sintetizada no fígado em resposta a uma infeção ou inflamação. Esta proteína é frequentemente quantificada para monitorizar a resposta dos doentes, com condições inflamatórias crónicas, ao tratamento. Ugarte *et al.* (92) mediram as concentrações de PCr em doentes com (n = 111) e sem (n = 79) infeção. A mediana foi significativamente maior em doentes infetados (12,1 versus 5,6 mg /dL), com um valor ótimo de discriminação de 7,9 mg/dl. No entanto, 33% dos doentes não infetados apresentaram uma PCr superior a 7,9 mg/dL na admissão, o que torna difícil discriminar doentes com e sem infeção tendo apenas por base a medição da PCr. Contudo, quando o doente apresenta temperatura superior a 38,2°C, combinada com valores elevados de PCr, a especificidade de diagnóstico de infeção aumenta para 100%. Medições de PCr em série podem ser utilizadas para confirmar a adequação da antibioterapia. Um aumento da concentração de PCr acima de 2,2 mg/dl durante o período de 48 horas é preditivo de uma antibioterapia inadequada (93).

Citocinas - Citocinas são reguladores produzidos por células em resposta a uma infeção ou lesão e por isso têm um papel importante na fisiopatologia da sépsis. Os níveis de citocinas em doentes sépticos fornecem uma avaliação quantitativa da gravidade da sépsis, que consequentemente pode estar relacionada com o prognóstico. A IL-6, IL-8 e IL-10 são as citocinas mais estudadas para diagnosticar sépsis, avaliar o nível de resposta inflamatória e ajudar a determinar o prognóstico do doente (94). Na literatura foi observado que os níveis de IL-6 estão aumentados em doentes com complicações infecciosas, tendo sido utilizados para

diferenciar SIRS da sépsis (95). Também se observou que os níveis de IL-6 e IL-10 estão diretamente correlacionados com a taxa de mortalidade em doentes sépticos (96).

D-Dímero - a sépsis está associada a defeitos na hemostasia e desenvolvimento da coagulação intravascular disseminada. D-dímero é um produto da degradação da fibrina após a fibrinólise. Já em 1990, o D-dímero mostrou ser útil na suspeita da presença de bacteriemia em doentes sépticos, correlacionando-se com a gravidade da sépsis (97). O aumento marcado de D dímero em doentes com sépsis foi demonstrado pelo estudo PROWESS (98).

Biomarcadores do miocárdio - Os biomarcadores do miocárdio, como a troponina, péptidos natriuréticos e mioglobina, também podem ser utilizados como marcadores uma vez que a disfunção do miocárdio é uma complicação frequente em doentes com sépsis (94). Yao *et al.* estudaram a correlação da mioglobina, juntamente com a PCr e a PCT, em 70 doentes sépticos (99). Os dados indicaram que a mioglobina aumentou gradualmente nas 24 horas após a admissão do doente, estando este aumento correlacionado com a gravidade da sépsis. Desta forma, os autores concluíram que a mioglobina elevada poderia prever sépsis mas com uma baixa fiabilidade (94).

Escala SOFA - Os doentes sépticos podem desenvolver insuficiência orgânica diretamente relacionada ao processo séptico, incluindo a disfunção pulmonar, hepática, cardiovascular, do sistema nervoso central, renal e coagulação. Essas mudanças podem ser quantificadas calculando a escala SOFA (5), (tabela 9).

Tabela 9: Parâmetros da escala de SOFA para o diagnóstico de sépsis. Adaptado de (CSS guidelines 2016).

Parâmetros	SOFA Score
PaO ₂ :FiO ₂ , 295 mmHg	2
Plaquetas, 180 x10 ³ /mm ³	0
Bilirrubina, 1.1 mg/dl	0
PAM 66 mmHg	1
Escala de Coma de Glasgow 14	1
Creatinina 1.4 mg/dl	1

9 Diagnóstico molecular da sépsis

A taxa de mortalidade está diretamente associada ao tempo de administração da terapia antimicrobiana. Atualmente as novas orientações recomendam um tratamento antimicrobiano empírico e/ou direcionado. No entanto, o tempo e a natureza intensiva de como são realizados os testes tradicionais baseados na cultura marginalizam o laboratório de microbiologia durante o estadio agudo do reconhecimento e tratamento da sépsis (101-105). Além disso, 30% a 50% das hemoculturas podem ser negativas em doentes com diagnóstico clínico de sépsis ou em casos suspeitos de bacteriemia. Assim, têm sido desenvolvidos novos mecanismos de diagnósticos baseados em tecnologias limitadas por cultura ou independentes de cultura. A detecção significativa rápida do patógeno para o diagnóstico de sépsis implica uma redução na intervenção do técnico de modo a economizar tempo (106-108).

9.1 Detecção de ADN

9.1.1 Reação de polimerização em cadeia (PCR)

A PCR é um método de amplificação de ADN sem o uso de um organismo vivo. A técnica é usada explorando a função natural da enzima taq-polimerase. A PCR pode amplificar qualquer sequência específica de ADN com origem em várias matérias biológicas. Inicialmente para se realizar uma PCR é necessário efetuar três passos: (i) colheita do material biológico; (ii) extração do ADN do material coletado; (iii) preparação da mistura da reação do PCR, que contem os reagentes necessários para a amplificação da cadeia de ADN de interesse (116). Esta técnica revolucionou o mundo científico e as suas aplicações são imensas, tais como: investigação médica e biológica, na detecção de doenças hereditárias, no teste de paternidade, no exame para detecção de agentes patogénicos, etc. A versatilidade e a rapidez da PCR revolucionaram os diagnósticos moleculares, permitindo a realização de uma série de aplicações que eram impossíveis na era pré-PCR. Esta tecnologia trouxe para o diagnóstico molecular, a possibilidade de diagnóstico de inúmeras doenças genéticas com elevada simplicidade, rigor, sensibilidade e especificidade, bem como segurança, rapidez e diminuição dos custos de diagnóstico (100).

9.1.1.1 Multiplex PCR em tempo real

Na década passada, houve um grande desenvolvimento de plataformas de fácil utilização, mas que obrigavam a necessidade de um conhecimento especializado, ao mesmo tempo em que minimizavam o tempo de uso e o risco de contaminação do produto pela combinação de várias etapas em um único tubo reacional. Os ensaios baseados em plataformas comerciais são realizados com base em meios de culturas positivas (figura 15A) (109,110).

LightCycler SeptiFast

É um ensaio de pesquisa de ADN na PCR em tempo real capaz de detetar material genético pertencente a vários patogénios bacterianos e não só, representando aproximadamente 90% das espécies responsáveis por bacteriemia nosocomial (100). O painel de deteção LightCycler SeptiFast inclui *S. aureus*, *Staphylococcus* coagulase-negativos, *S. pneumoniae*, várias outras espécies de *Streptococcus*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. coli*, *E. aerogenes*, *E. cloacae*, *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *A. baumannii*, *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *A. fumigatus*. O ensaio utiliza duas sondas lubridil com emissão de energia para transferência entre ambas, visando as regiões do espaçador interno transcrito específico da espécie (ITS). O ADN é extraído por lise mecânica com esferas de cerâmica num instrumento Magnalyzer, e após a purificação, é processado em três ensaios de PCR em tempo real multiplex paralelos (bactérias de coloração Gram positiva, bactérias de coloração Gram negativa e fungos). O perfil dos produtos amplificados é então calculado utilizando um software específico permitindo assim a deteção do agente patogénico e a sua identificação ao nível do género ou da espécie (100). O limite de deteção varia de 3 a 30 UFC/mL, dependendo dos patógenos isolados, enquanto o tempo de resposta é de aproximadamente 6h (100)(101-105)(106-108)(109,110)(111). Em conclusão, a principal vantagem técnica deste ensaio é a ausência de processamento pós PCR o que reduz acentuadamente o risco de contaminação. As limitações atuais do ensaio incluem seu elevado custo (US \$ 215 a US \$ 290) por teste e o facto de não fornecer qualquer informação sobre a suscetibilidade antimicrobiana (112).

PCR multiplexed-tandem

A PCR multiplexed-tandem é uma PCR em tempo real que consiste na amplificação de mais de um segmento genómico numa única reação, cada um com seu par de primers específico, e tem sido usada para detetar os principais patogénios bacterianos causadores de sépsis (113) (figura 15A). O ensaio tem o processamento inicial da amostra (inferior a 5 min) e o tempo total de trabalho do técnico é inferior a 10 min com resultados disponíveis em 2,5h (limite de deteção de 10 - 100 UFC/ml). Ensaio de PCR multiplex-tandem também estão disponíveis para a deteção direta e identificação de mais de 11 patogénios fúngicos usando sangue total. Os ensaios mostraram 100% de correlação (n = 44) com hemoculturas positivas (114), e também são capazes de identificar *Candida spp.* (115). A utilidade do teste de PCR pode ser aumentada pela determinação da carga bacteriana durante o teste, mas requer ensaios adicionais para a deteção sensível de patogenos no sangue total. Contudo, são necessários dois ensaios para a cobertura de patogenos bacterianos e fúngicos que custam cerca de 15 US\$/amostra (116).

Magicplex

O Magicplex é uma PCR multiplex em sangue total que permite a amplificação simultânea de ácidos nucleicos de mais de 90 patogenos, pode detetar 73 bactérias de coloração Gram positiva

e 12 bactérias de coloração Gram negativa, seis fungos e três genes de resistência a antibióticos (*van A*, *van B* e *mec A*) com um tempo de resposta de 4-5h (117). As avaliações em ensaios observaram sensibilidade e especificidade de baixa a moderada (47% e 66% respectivamente) (118), limitando assim a sua utilidade como substituto da hemocultura, mas tem a vantagem de possibilitar a detecção de patógenos clinicamente relevantes (119). Existem poucos dados que avaliem o impacto deste teste na tomada de decisão clínica. No entanto, um estudo comparando este ensaio com a hemocultura concluiu que aproximadamente um terço dos resultados positivos (21/58) são discordantes com o diagnóstico clínico (figura 15B) (119).

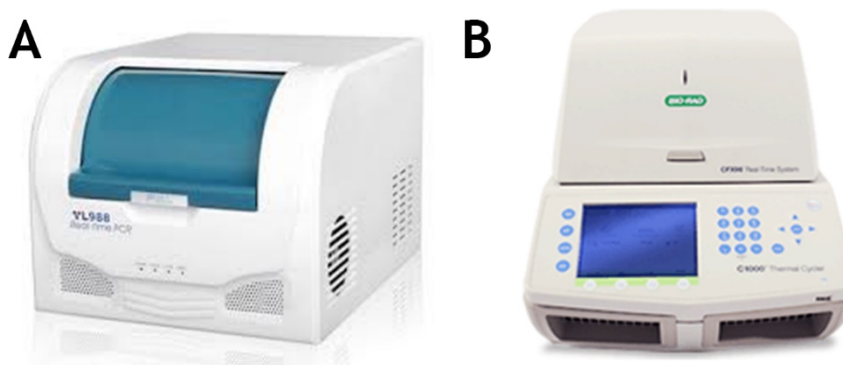


Figura 15: Representação do sistema PCR em tempo real (A) e de um sistema Magicplex (B). Adaptado de (https://pt.made-in-china.com/co_biobase/product_Biobase-Fast-Gradient-Thermal-Cycler-PCR-Bk-Gr300_hrehoiyuu.html) e (<http://www.seegene.com/neo/en/products/instruments/cfx96.php>)

9.2 Detecção após hemocultura

9.2.1 FilmArray

O FilmArray atua como um painel de identificação a partir de uma hemocultura positiva. FilmArray é um sistema multiplex, que pode identificar 90% dos agentes causadores de sépsis (19 bacterianos e cinco do género *Candida spp.*) e três genes de resistência a antibióticos (*mecA*, *vanA/B* e *blaK PC*). O ensaio é realizado em amostras de hemocultura positiva passando pela extração de ADN, amplificação por PCR, detecção e análise. Requer 2 minutos de intervenção de um técnico, fornece resultados em 1h (após a hemocultura) e tem a capacidade de identificar amostras polimicrobianas. Um estudo recente controlado e randomizado com mais de 2200 hemoculturas positivas (120), comprovou a sensibilidade e especificidade elevada para patógenos de coloração Gram positiva, Gram negativa e fúngicos. A maioria das culturas positivas não identificadas por este dispositivo envolveu patógenos não visados pelo ensaio (11,9% de culturas positivas). Resultados falsos negativos (121), e falsos positivos, foram observados particularmente para detecção de *mec A* em *Staphylococcus coagulase negativa*, *S. aureus* (122), *P. aeruginosa* e *Enterococcus spp.* (o último dos quais foi possível de resolver por atualizações de software) (123). Contudo, é necessário ter em atenção que este teste pode ter os resultados alterados se for usado em doentes que tenham iniciado o tratamento antimicrobiano e é relativamente caro (129 US\$ / teste em 2016 (figura 16A) (121,124).

9.2.2 Verigene

O Sistema Verigene é um método de microArray que tem como base a deteção de ácidos nucleicos úteis para uma série de aplicações, possui um painel para cada um dos patogénios de coloração Gram negativa e de coloração Gram positiva, sendo realizado após a hemocultura. O tempo de trabalho do técnico é de 5 a 10 minutos e os resultados estão disponíveis dentro de 2,5 horas, com sensibilidade moderada e maior especificidade (0,50-1,00 e 0,98-1,00, respetivamente) (125). Falsos negativos têm sido observados particularmente para *Klebsiella variicola*, *Klebsiella oxytoca* e *P. aeruginosa* (126); a utilidade é limitada para deteção de patogénios na sépsis devido ao alto custo (US \$ 50 / painel) (116).

Uma abordagem molecular é muito prática para o diagnóstico de sépsis, porque aproximadamente 90% das infeções da corrente sanguínea são causadas pelos mesmos 20 a 25 patogénios e a investigação simultânea dos diversos patogénios é eficaz em termos de custo, tempo, e útil no diagnóstico de infeções polimicrobianas (125). A concordância geral com os métodos fenotípicos tradicionais é relatada como muito boa a excelente (superior ou igual a 95% de sensibilidade/especificidade) hemoculturas de doentes e similares para culturas pediátricas (figura 16B) (126).

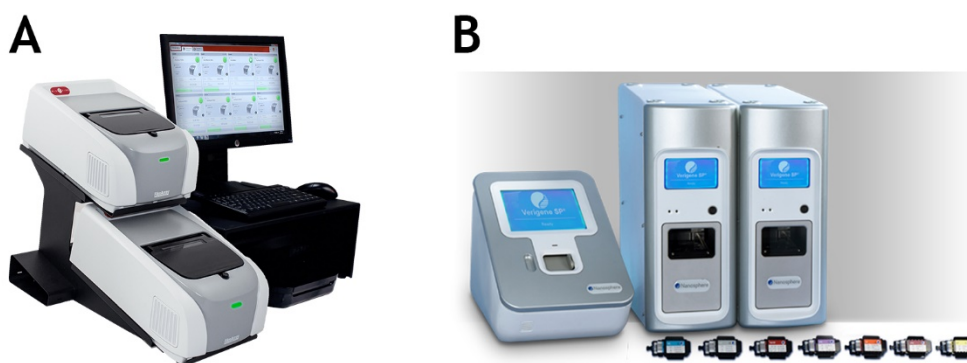


Figura 16: Ilustração do sistema FilmArray (A) e Verigene (B). Adaptado de (<https://www.biofire.com/products/filmarray> (A) e <https://www.luminexcorp.com/eu/verigene-nanogrid-technology/>(B)).

9.3 Prognóstico da sépsis

A probabilidade de um doente com sépsis morrer é superior a um doente com ataque cardíaco ou um doente com acidente vascular cerebral. Existem sinais e sintomas de alerta de gravidade da sépsis como: os níveis aumentados de lactato, a contagem de plaquetas abaixo de 50%, alteração do estado mental, hipotermia, hipotensão arterial, coagulação intravascular disseminada (CID) e a hiperventilação que ao serem reconhecidos precocemente podem conduzir a uma melhor abordagem do doente e assim melhorar o seu prognóstico (46).

10 Abordagem do doente com sépsis

10.1 Abordagem clínica

A abordagem clínica inicial do doente deve começar com a elaboração de uma história clínica de forma detalhada e cuidadosa, com atenção especial à avaliação de qualquer evento subjacente ou predisponente (cirurgias, transplante, quimioterapia ou trauma), bem como os tratamentos aplicados para estes eventos e a sua fase clínica. Deve ser dada ênfase aos antecedentes infecciosos e à antibioterapia utilizada, juntamente com quaisquer dados de estudos microbiológicos anteriores, que possam estar disponíveis. Além disso, os sintomas e sinais como dor, eritema, edema ou cefaleia podem ser importantes indicações da origem e da magnitude do processo infeccioso. Um histórico preciso de alimentos, viagens e exposições, com atenção especial ao contato com agentes infecciosos presentes no ambiente, pode ser muito valioso para o médico identificar um processo infeccioso (53).

Um processo infeccioso sistémico, como a bacteriemia e/ou sépsis, geralmente apresentam um foco primário. No entanto, existem infeções bacterianas que não tem fonte conhecida ou facilmente identificável, tendo sido classificadas pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) como bactérias primárias. Em doentes imunocomprometidos, muitas destas bactérias primárias têm como origem o sistema gastrointestinal. A administração da terapia antimicrobiana pode exacerbar a febre paradoxalmente, como consequência de um efeito bacteriolítico que produz libertação de endotoxinas ou pirogénios (54).

A abordagem clínica do doente envolve uma integração dos dados recolhidos na anamnese com os resultados de um exame físico completo. Os doentes neutropénicos imunodeprimidos podem ter uma resposta inflamatória diminuída e os sinais típicos de infeção como rubor, flutuações, calor local, linfadenopatia reativa e produção de pus, menos evidentes. O mecanismo de tosse pode ser suprimido e não produzir expectoração purulenta ou outros exsudados. Mesmo na infeção do sistema urinário, estes indivíduos podem não apresentar os sintomas clássicos de localização ou piúria. Da mesma forma, o sinal de rigidez da nuca pode estar ausente em doentes imunodeprimidos com meningite, mas dois sintomas importantes geralmente permanecem a dor de cabeça e a deterioração do estado mental. O eritema associado à dor pode ser mais útil para a deteção de um processo infeccioso localizado do que o edema e o calor em doentes imunodeprimidos (53).

A escolha da pesquisa laboratorial deve ser baseada em resultados físicos e manifestações clínicas gerais. Todos os esforços devem ser feitos para obter secreções ou fluidos corporais infetados ou aspirar uma área suspeita de abrigar uma infeção, os rebordos de uma celulite. Se o doente apresentar leucócitos fecais numa coprocultura pode ser apropriada, bem como estudos para detetar a toxina de *Clostridium difficile* (54).

A presença de sépsis com possibilidade de choque séptico e outras complicações graves geralmente requer tratamento imediato. É claro que o nível dos mecanismos de defesa do hospedeiro e a capacidade de manter a função dos órgãos vitais são os fatores que determinam o resultado de qualquer infecção. Embora as hemoculturas quantitativas raramente sejam realizadas, vários estudos indicam que a mortalidade é maior com bacteriemia de alto grau e bacteriemia polimicrobiana. A ausência de um foco identificado também pode estar associada a um mau prognóstico. A seleção do tratamento antimicrobiano e a velocidade com que é administrado pode afetar os resultados (54).

10.2 Abordagem terapêutica

A resposta inflamatória sistêmica da sépsis, em função de circunstâncias ainda não estabelecidas, pode restringir-se a um fenômeno autolimitado ou pode progredir para quadros de maior gravidade, como choque séptico e disfunção ou falência de um ou mais órgãos. Apesar da grande quantidade de investigações realizadas nos últimos anos sobre SRIS, sépsis e choque séptico, que contribuíram indiscutível para o melhor entendimento sobre as suas respectivas patogêneses, a abordagem inicial da sépsis continua a ser predominantemente de suporte. Na suspeita de SRIS, sem outro evento não infeccioso detectado, a conduta deve ser orientada para a sépsis. Ou seja, além das medidas de suporte de vida, quando indicada, outras medidas devem ser tomadas de acordo com a gravidade de apresentação da respectiva síndrome (127).

10.2.1 Tratamento precoce orientado por metas

Os limites que separam a sépsis da sépsis grave, e esta do choque séptico ou da disfunção de múltiplos órgãos não são claramente detectados na prática clínica (128,129). No processo de evolução da resposta inflamatória da sépsis ocorrem fenômenos cardiovasculares, como hipovolêmia, vasodilatação periférica, depressão miocárdica, aumento da permeabilidade capilar e o aumento do metabolismo. Assim, em geral, o médico é levado a corrigir a pré-carga, a pós-carga e a contratilidade cardíaca para manter uma adequada perfusão celular e prevenir a disfunção de órgãos (130). Da mesma forma, como a primeira hora é de extrema importância na avaliação e no primeiro atendimento do doente vítima de um trauma, também na sépsis, a evolução para uma condição mais crítica do doente ocorre, em geral, durante as primeiras horas. É nestas horas que antecedem a admissão do doente nos serviços de Urgência que o reconhecimento precoce da sépsis, bem como a utilização de uma terapia mais agressiva, poderão trazer os benefícios necessários para mudar o prognóstico do doente (131). De acordo com Rivers *et al.*, a avaliação hemodinâmica precoce com base no exame físico, nos sinais vitais, na pressão venosa central e no débito urinário não é suficiente para detectar a hipoxia tecidual global persistente. Eles recomendam uma estratégia de ressuscitação mais definitiva, como o tratamento orientado por metas, que inclui a manipulação da pré-carga (pressão venosa central (PVC) entre 8 e 12mmHg), da pós-carga (PAM superior a 65mmHg e inferior a 90mmHg) e da contratilidade cardíaca (saturação de oxigênio do sangue venoso misto[SvO₂] superior a 70%) para atingir um equilíbrio entre a oferta e a necessidade de oxigênio sistêmico (132). O

tratamento proposto, que deve ocorrer nas primeiras 6 a 8 horas após a identificação do doente com sépsis, inclui a reposição volumétrica vigorosa a cada 30 minutos (130,131,133). Na reposição inicial devem ser administrados cristaloides (30mL/kg) a todos os doentes com hipoperfusão induzida por sépsis, nas primeiras 3 horas (134). Para uma infusão contínua use-se o mesmo fluido, desde que os fatores hemodinâmicos continuem a melhorar (135). As soluções cristaloides podem ser usadas de forma isolada, porque as soluções coloides sintéticas causam comprometimento renal e coagulação intravascular (136,137). A administração de albumina é provavelmente segura na sépsis, mas não tem benefícios óbvios para a patologia e é um recurso caro e limitado (138). A reposição volumétrica tem como objetivo atingir uma PVC entre 8 e 12mmHg, para tal devem ser administrados vasossuppressores se a PAM for inferior a 65mmHg. As diretrizes da prática clínica recomendam a norepinefrina como vasossupressor de primeira linha em doentes com choque séptico (134,139). De facto, é desaconselhada a utilização de dopamina devido à sua correlação com lesões que podem ser irreversíveis (140). Naqueles que têm uma maior pressão arterial média (PAM) e/ou perda documentada de líquido, os bolus de líquido IV podem ser administrados antes do início da norepinefrina (141). Por outro lado, a utilização de vasodilatadores é recomendada se a PAM for superior a 90mmHg e se SvO₂ for inferior a 70%. Adicionalmente, também é recomendada a transfusão de alta concentração de hemácias para atingir hematócrito de pelo menos 30%, se clinicamente existirem sinais de anemia. Após a estabilização da PVC, PAM e hematócrito, se a SvO₂ persistir em valores inferior a 70%, usa-se a dobutamina em infusão contínua em doses crescentes, até a SvO₂ se tornar superior a 70%, ou até que a dose de dobutamina atinja o limite de 20µg/kg/min. Os parâmetros para confirmação da meta proposta incluem a normalização da SvO₂, da concentração do lactato arterial, do défice de base e do pH. Esta estratégia de tratamento precoce da sépsis orientada por metas, quando comparada com estratégia padrão, resulta em menos disfunções orgânicas graves e menor mortalidade (130,132,133).

10.2.2 Tratamento contra o agente agressor

O tratamento com antibióticos de largo espectro deve ser administrado o mais rapidamente possível a doentes com sépsis. Os antimicrobianos são os agentes mais específicos e acessíveis para o tratamento do doente com sépsis, embora representem uma abordagem somente parcial do problema. Nas últimas quatro décadas, os estudos sobre efeito do uso de antimicrobianos nas infeções graves por bactérias de coloração Gram positiva ou Gram negativa têm demonstrado uma considerável redução da morbilidade e da mortalidade dos doentes afetados (142).

Os antimicrobianos podem ser mais úteis no tratamento de estadios clínicos precoces da sépsis, antes que a produção sequencial dos mediadores de respostas do hospedeiro determine estadios mais avançados na cascata inflamatória, com eventuais lesões tecidulares graves (142). Alguns autores sustentam a ideia de que os agentes antimicrobianos podem exacerbar a resposta inflamatória devido à lise dos microrganismos, promovendo a libertação de material da sua

parede celular e consequente produção de mediadores inflamatórios endógenos (143). O tratamento empírico com antimicrobianos tem sido recomendado, especialmente em doentes com sépsis e choque séptico. Os carbapenemes (imipenem e meropenem), e as cefalosporinas de 3ª e 4ª geração têm sido propostos como monoterapia de substituição da associação de aminoglicosídeo com β-lactâmico no tratamento da sépsis(142).

No caso de antimicrobianos do grupo das penicilinas de largo espectro (associações com ticarcilina ou piperacilina), dos monobactâmicos (aztreonam) ou das quinolonas, as recomendações apontam para a sua utilização como terapia empírica combinada (142). Também a remoção ou drenagem do foco infeccioso (por exemplo a peritonite, empiema, osteoartrite séptica, tecido necrosado), bem como a retirada de corpo estranho infetado (inclusive dispositivos invasivos), são de relevante importância para interromper o estímulo infeccioso. Tal medida tenderá a diminuir ou a descontinuar a produção dos mediadores endógenos da sépsis, com eventual redução do potencial de auto - sustentação da resposta inflamatória sistêmica. A duração adequada do tratamento antimicrobiano é de 7 a 10 dias (127). O período adequado do tratamento para cada doente também pode ser decidido com base no estado clínico e condições específicas (144). A administração de antibióticos deve ser reduzida logo que o microrganismo patogénico tenha sido identificado ou na eventualidade do doente mostrar alguma melhoria (134). Na tabela 10 estão descritos os principais focos de infeção, bem como os respetivos tratamentos antimicrobianos aplicados numa situação de sépsis bacteriana.

Tabela 10: Descrição dos diferentes focos de infeção, com os respetivos tratamentos antimicrobianos para a sépsis de origem bacteriana. Adaptado de (guidelines da CSS publicadas em 2016).

ORIGEM	TRATAMENTO DE ELEIÇÃO	ALTERNATIVAS
Foco desconhecido Extra-hospitalar	Ceftriaxone 1g/12h intravenoso (IV) ou Cefotaxime 1-2g / 6-8h IV + Amicacina 15-20 mg/kg/24h IV Imipenem 1g/6h IV	Vancomicina 1g/12h IV Teicoplanina 600mg/24h IV ou Linezolid 600mg/12h IV + Aztreonam 2 g/8h IV Ciprofloxacina 400mg/8 -12h IV + Amicacina 15-20 mg/kg/24h
Foco desconhecido intra-hospitalar	Cefepima 2g/8h IV Ceftazidima 2g/8h IV Imipenem 1g/6h IV + Amicacina 15-20 mg/kg /24h IV + Vancomicina 1g/ 12h IV	
Foco conhecido	Ver doença/ síndrome correspondente	Ver doença/síndrome correspondente

10.2.3 Tratamento para a melhoria da imunidade

Uma das tentativas de melhorar a eficiência dos antibióticos é o aumento da imunidade inata, pelo aumento do número de leucócitos. No estudo de Rott *et al.* o uso precoce de filgrastim (fator estimulador de granulócitos) em doentes com sépsis, apesar de ter obtido o efeito esperado (aumento de leucócitos até 75×10^9 cel/L), não modificou a mortalidade dos doentes em 28 dias (145). A estimulação da resposta imune e a substituição de fatores imunológicos

podem representar uma estratégia terapêutica útil, embora diretrizes ainda não recomendem a administração de imunoglobulinas intravenosas em doentes sépticos (146).

10.2.4 Tratamento contra a resposta inflamatória sistêmica

A maioria dos investigadores concorda que as melhores taxas de sobrevivência em doentes com sépsis só poderão ser atingidas com tratamentos adicionais aos convencionais agentes antimicrobianos. Quanto mais se conhece a complexidade e a interdependência dos mecanismos fisiopatológicos da sépsis, mais se procuram estratégias terapêuticas com base em substâncias que modulem ou interrompam os efeitos dos mediadores endógenos e exógenos da sépsis (127).

A intervenção em qualquer passo da sequência dos eventos fisiopatológicos que caracterizam a resposta inflamatória sistêmica da sépsis, no sentido de modificar a reação do hospedeiro, parece ser a estratégia terapêutica com maiores perspectivas de mudar os resultados desencorajadores do tratamento da sépsis (147). Um estudo realizado com 847 doentes de 53 hospitais dos EUA, utilizando duas doses de anticorpo monoclonal E5 contra endotoxina, demonstrou que não houve redução da mortalidade em doentes com sépsis por bactérias de coloração Gram negativa, mas diminuiu os níveis de falência de órgãos nesses doentes (148).

Ainda que, em teoria, os corticosteroides tenham alguma ação de bloqueio na síntese de citocinas, o seu uso e eficácia na sépsis ou no choque séptico não foi comprovado (149). Recentemente, a utilização de baixas doses de corticosteroides tem sido estudada uma vez que a sépsis grave pode estar associada à insuficiência renal e/ou à resistência aos recetores glucocorticoides induzida pela inflamação sistêmica (150). Num estudo realizado por Annane *et al* foi demonstrado que a administração de doses fisiológicas de corticosteroides por 7 dias a doentes com sépsis e com choque persistente, necessitando de vasossupressores e ventilação mecânica, levou à redução do tempo de uso de vasossupressores e da taxa de mortalidade, quando comparados com os controlos (150). Os agentes que neutralizam ou previnem a ação das citocinas inflamatórias nos respetivos recetores, tais como os anticorpos monoclonais anti-TNF- α tenderiam a reduzir a produção dos mediadores seguintes da cascata inflamatória IL 1 e IL 6, e hipoteticamente preveniriam os danos fisiopatológicos, melhorando a taxa de sobrevivência (151). O processo de ativação e de granulação de leucócitos polimorfonucleares (PMN) causado pelos mediadores inflamatórios determina uma grande produção de radicais livres. Acredita-se que os antioxidantes endógenos (vitaminas C e E, β -caroteno, catalase e superóxido-dismutase) seriam insuficientes para neutralizar essa explosão de radicais livres e evitar a lesão celular na SRIS. Estudos de sépsis em modelos animais já mostraram efeitos benéficos de tratamento com depuradores de radicais livres de oxigénio (superóxido-dismutase e catalase) (131,143). Outros tratamentos com agentes antioxidantes (α -tocoferol, dimetil-sulfoxido, coenzima Q 10, N-acetilcisteína, glutatião, alopurinol, entre outras) estão em avaliação através de estudos em animais, com resultados ainda inconclusivos (127). Os produtos

resultantes do metabolismo do ácido araquidónico, pelas duas vias (ciclooxigenase e lipoxigenase), tais como prostaglandinas e tromboxanos, parecem desempenhar um papel considerável nos órgãos alvos aquando da evolução da resposta inflamatória e da disfunção de órgãos. Vários inibidores da ciclooxigenase (endometacina, ibuprofeno) parecem ter efeito benéfico em pontos específicos da cascata inflamatória e na sobrevivência de animais. Um estudo com 455 doentes com sépsis mostrou que a administração de ibuprofeno levou a uma redução nos níveis de prostaciclina e tromboxano, redução na febre, taquicardia, acidose láctica e consumo de oxigénio. Contudo, não preveniu o desenvolvimento de choque ou de síndrome da angústia respiratória, nem melhorou a sobrevivência dos doentes (152). O estudo de Arons *et al.* em doentes com sépsis e hipotermia, comparativamente aos doentes febris, demonstrou uma redução da mortalidade em doentes tratados com ibuprofeno (153).

Um dos tratamentos que se tem mostrado promissor no controlo da sépsis é a proteína C reativa humana recombinante ou drotrecogina- α . A proteína C reativa é uma proteína endógena, que promove fibrinólise e inibe a trombose e a inflamação. Na sépsis, pela ação das citocinas inflamatórias, existe uma diminuição da conversão de proteína C inativa em proteína C ativa. O efeito anti-inflamatório da drotrecogina pode dar-se de forma direta, pela inibição da ativação dos neutrófilos, da produção de citocinas induzida pelo lipopolissacárido, e da adesão das células ativadas ao endotélio. Por outro lado, a proteína C ativa pode ter um efeito indireto, através da inibição da geração de trombina, o que leva à diminuição da ativação das plaquetas, recrutamento de neutrófilos e desgranulação dos mastócitos (154). De facto, foi demonstrado que o uso contínuo de drotrecogina- α por 96 horas em doentes com sépsis grave, levou a uma diminuição da mortalidade geral aos 28 dias, representando uma redução no risco absoluto de morte de 6,1% (154). O medicamento encontra-se aprovado para utilização no tratamento da sépsis. Contudo, a sua utilização deve ser criteriosa devido ao seu alto custo e capacidade para provocar hemorragias graves (155,156).

Muitos doentes com sépsis, mesmo não diabéticos, apresentam hiperglicémia e têm diminuição de resposta à insulina endógena, possivelmente pelo aumento da proteína de ligação do fator de crescimento semelhante à insulina. O uso de insulina exógena para manter a glicemia dentro de parâmetros normais mostrou-se benéfico, em relação ao prognóstico, em doentes com enfarte do miocárdio. Na sépsis, existe a hipótese de que a normoglicemia restaure a capacidade fagocítica dos neutrófilos, prejudicados pela hiperglicemia. Um outro mecanismo potencial é o efeito anti-apoptótico da insulina via ativação da via 3-quinase-fosfatidil-inositol (130,133). Baseado nestes princípios, foi realizado um estudo prospetivo, randomizado, controlado, em 1 548 doentes adultos em ventilação mecânica após-cirurgia cardíaca. O grupo controlo recebeu infusão de insulina, quando necessário, para manter glicemias entre 180 e 220mg/dL, enquanto o grupo de tratamento recebeu insulina de forma sistemática para manter a normoglicemia (glicose entre 80 e 110 mg/dL). O grupo tratado teve redução de 32% na mortalidade em 5 dias, assim como menor mortalidade durante a hospitalização, menor mortalidade por disfunção múltipla de órgãos e menos episódios de sépsis (157).

11 Sépsis no contexto Angolano

11.1 História/evolução de Angola

A república de Angola está localizada no sudoeste do continente africano e obteve a sua independência em 1975. Angola é um dos maiores países africanos com cerca de 27 milhões de habitantes (dados de 2018) e um território de 1 246 700 milhões de km² (158). De 1975 a 2002, o país atravessou uma das mais longas guerras civis conhecidas na história, que levou à destruição de mais de 70% das suas infraestruturas incluindo o sistema de saúde. Contudo, esforços continuados do governo angolano e seus parceiros permitiram o avanço e melhoria do acesso aos serviços de saúde e a redução da disseminação de doenças transmissíveis. Atualmente, devido ao colapso global dos preços de petróleo (com maior impacto entre 2014 e 2016) voltaram a ser colocados em risco os avanços nos programas de saúde, tendo sido verificado em alguns casos uma escassez de medicamentos e material hospitalar (158).

A sépsis é uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo, particularmente em Angola, onde a consciencialização em torno desta doença é baixa e os recursos são limitados(160). “E, *embora o gasto estatal em saúde tenha aumentado ao longo dos anos, de 1 a 7% do produto interno bruto do país em 2009 para 2, 7% até 2014, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a redução no crescimento econômico do país e a desvalorização da moeda angolana agora está subestimando esses aumentos. Hoje o país gasta mais para comprar o mesmo número de medicamentos e matérias do mercado internacional - mesmo que o orçamento geral do estado aumente*” (Diário da República de Angola série Nº 222, pág. 3643, 2010).

As infeções, anualmente, são responsáveis por cerca de 300 milhões de mortes no mundo, sendo que a maior parte destas ocorre em países em vias de desenvolvimento. No caso da Sépsis, doença que pode ser desencadeada por qualquer tipo de infeção, estima-se que esta seja responsável por cerca de 8 milhões de mortes anuais em todo o mundo (161).

Os estudos existentes sobre a sépsis em Angola são limitados. Contudo, dada a alta incidência do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) e outras infeções em Angola, é provável que o número de casos de sépsis sejam superiores às estimativas das organizações internacionais. De salientar que esta escassez de dados sobre a sépsis em Angola deve-se a vários fatores tais como a falha no diagnóstico, e a não inclusão da sépsis no Relatório Global de Carga de Doenças (GBDR) da OMS. Embora as mortes por infeções ocorram mais comumente como resultado de sépsis, o GBDR regista apenas as patologias que provocam a sépsis como causa de morte. Por outro lado, as orientações para o diagnóstico da sépsis são muitas vezes difíceis de usar, especialmente em países em vias de desenvolvimento com menos recursos e baixo número de profissionais qualificados (162).

A abordagem terapêutica da sépsis é universal e tem como base as diretrizes da Campanha de Sobrevivência à Sépsis (CSS). A CSS tem vindo a publicar diretrizes para a abordagem da sépsis, nomeadamente a medição dos níveis séricos de lactato, a obtenção de hemoculturas antes da administração de antibióticos, a administração de antibióticos de largo espectro e a administração de 30 mL / kg de cristaloides para hipotensão ou lactato sérico > 4 mmol / L (36 mg / dL). Estas medidas devem ser realizadas num intervalo até três horas após a apresentação do doente na urgência. Além disso, nas 6 horas seguintes, a CSS recomenda a manutenção do doente na unidade de cuidados intensivos sendo sujeito a monitorização intensiva dos parâmetros fisiológicos, como por exemplo a pressão venosa central e se necessário o uso de vasopressores para manter os valores normais da pressão arterial média (159).

No entanto, Baelani *et al.* em 2011 indicaram a existência de dificuldades na implementação destas medidas na maior parte dos países Africanos, incluindo a Angola, devido à escassez de recursos humanos qualificados, equipamentos e medicamentos (159,162) *“O numero de profissionais da saúde em Angola, têm vindo a aumentar progressivamente no sentido de satisfazer as necessidades existente no sector. Porém existe uma desigualdade na distribuição de RNS no país, em detrimento das áreas rurais, principalmente, a falta de médicos. A cobertura médica média no país é de 1 médico para 20.000 habitantes. Em relação aos profissionais de enfermagem temos 1.75 enfermeiros por cada 1.000 habitantes. Em relação aos TDT, a média nacional é de 3 técnicos por 10.000 habitantes. O fornecimento de medicamentos essenciais para a rede de assistência primária é centralizado. No entanto, não se cumpre com um programa regular de compras, o que origina frequentes ruturas de stock e estas compras, de forma geral, não vão de encontro às necessidades e prioridades identificadas pelo sector da saúde.”* (Diário da República de Angola série Nº 222, pág. 3641-3642, 2010).

Portanto, é imperativo a realização de esforços que permitam melhorar a consciencialização para sépsis entre os médicos e o desenvolvimento de diretrizes de abordagem à sépsis que sejam viáveis no contexto socioeconómico Angolano. Curiosamente, as medidas básicas de ressuscitação num caso de sépsis estão descritas no documento da Gestão Integrada de Doenças de Adultos e Adolescentes da Organização Mundial da Saúde (OMS). Esse conjunto de diretrizes destina-se a profissionais de saúde de primeiro nível e a prestadores de cuidados leigos em ambientes com poucos recursos disponíveis. Embora o documento não refira diretamente a sépsis, as suas diretrizes apontam para uma ressuscitação imediata com fluidos intravenosos (IV) e a administração de antibióticos a doentes que apresentem uma sintomatologia infecciosa (159). Visto existirem muitas insuficiências no que diz respeito ao acesso a laboratórios para o diagnóstico microbiológico da sépsis, o diagnóstico pode ser facilitado pelo uso da escala de avaliação de falência orgânica (SOFA) de forma a auxiliar a identificação da síndrome de resposta inflamatória sistémica (SIRS) e desta permitir a pronta intervenção do profissional de saúde. A SOFA baseia-se no princípio de que a deterioração fisiológica precede a doença crítica. Esta escala avalia parâmetros fisiológicos, como a pressão arterial sistólica, a frequência de pulso, a frequência respiratória, a temperatura e a saturação de oxigénio (159).

Em Angola, a falta de laboratórios equipados, técnicos capacitados e de conhecimento sobre a infeção conjugada com a preferência do doente por médicos tradicionais (curandeiros tradicionais, curandeiros religiosos), e a inacessibilidade aos serviços de saúde e ao tratamento são as principais razões para que uma doença possa evoluir para um estadio clínico de sépsis (161,162). A abordagem clínica ao doente com sépsis em Angola necessita de mais investimento quer ao nível material e/ou no conhecimento técnico a fim de diminuir a elevada taxa de mortalidade da sépsis. Atualmente, estas melhorias podem passar pela implementação de técnicas de diagnóstico como a medição de lactato e hemoculturas, bem como a melhoria ao nível da antibioticoterapia (163).

11.2 Medição de lactato:

O lactato sérico é um marcador de hipoperfusão tecidular e aumenta em doentes com choque séptico. Este marcador está associado à gravidade e à mortalidade da doença. O teste *point of care* (POCT) de lactato apresenta um custo reduzido e pode ser realizado em ambientes com poucos recursos disponíveis, o que tem permitido o seu uso nos serviços de emergência nos países desenvolvidos. De facto, o dispositivo portátil POCT demonstrou ser preciso e permitiu economizar tempo quando comparado com os testes laboratoriais de referência utilizados nos Estados Unidos da América (164). *“A distribuição dos medicamentos e outros produtos farmacêuticos é dificultada pelas más condições das vias de comunicação. A liberalização dos preços de medicamentos contribui também para a reduzida acessibilidade aos medicamentos”* (Diário da República de Angola série Nº 222, pág. 3640-41, 2010).

11.3 Hemoculturas:

Em Angola, apesar de existirem algumas instituições de saúde com laboratórios equipados e para a realização de hemoculturas, na rede de saúde pública verifica-se uma falta de equipamentos e infraestruturas que permitam a realização destes ensaios. Em Angola, poucos hospitais públicos estão preparados para a realização de hemoculturas automatizadas, sendo a técnica manual a mais utilizada, o que torna o diagnóstico demorado e pouco fidedigno pelo índice de contaminação do material. Os dados da CSS sugerem que um sistema eficiente de hemocultura capaz de dar resposta às necessidades clínicas requer profissionais especializados e instalações laboratoriais competentes para a realização de culturas aeróbicas e anaeróbicas padronizadas. Desta forma, a disponibilidade e acessibilidade aos ensaios por culturas de sangue são um problema em Angola. No entanto, o desenvolvimento das técnicas moleculares (exemplo Verigene, FilmArray e LightCycler SeptiFast) e seus equipamentos são uma alternativa viável que pode melhorar a capacidade e sensibilidade de deteção de doentes com bacteriemia em contextos com recursos limitados (163).

11.4 Administração de antibióticos:

A administração imediata de antibióticos em casos de doentes com sépsis e choque séptico demonstrou reduzir a mortalidade associada a esta doença. É preconizado que após a colheita de hemoculturas, o doente seja sujeito a um tratamento com antibióticos de uma forma empírica. Após os resultados da hemocultura, o regime terapêutico do doente pode ser ajustado de acordo com o microrganismo identificado. No entanto, um estudo realizado em 2009 na Uganda mostrou que a terapia antibacteriana empírica em doentes com sépsis, raramente, era concordante com os dados obtidos nos testes de sensibilidade aos antibióticos realizados a partir das hemoculturas (161). Assim sendo, os regimes antibióticos empíricos precisam de ser atualizados regularmente com base nas tendências locais de resistência antimicrobiana. Desta forma, é essencial o desenvolvimento de pautas terapêuticas baseadas em dados locais dos testes de sensibilidade aos antibióticos de forma a se poder adequar o tratamento antibiótico empírico. Isto poderia ser conseguido através da colheita rotineira de dados ou pesquisas anuais de vigilância (163).

11.5 Recomendações

Tendo em conta os pontos apresentados anteriormente, os seguintes passos devem ser priorizados para enfrentar o desafio da sépsis em Angola. Deve ser promovida a consciencialização e capacitação dos profissionais de saúde sobre a sépsis bem como a melhoria dos laboratórios e seus equipamentos em unidades hospitalares da rede pública. Além disso, deve ser também ponderado o investimento em infraestruturas do serviço nacional de saúde, por exemplo aumentando o número de centros de saúde, o que permitirá melhorar a assistência às necessidades das populações (166). *“O rácio atual de centro de saúde é de 1 para 20.000 habitantes, o que sugere existir uma enorme carência de serviços básicos de saúde para atender às necessidades da população”* (Diário da República de Angola série Nº 222, pág. 3644, 2010).

Devem ser desenvolvidas um conjunto de medidas para o reconhecimento e gestão precoce da sépsis refletindo o nível primário, secundário e terciário de cuidados. Estas medidas deverão ter em conta a utilização dos critérios de SIRS validados para identificar os doentes com sépsis; a administração rápida de oxigénio, fluidos intravenosos e antibióticos; a medição do balanço hídrico; a medição de lactato e ainda a colheita de amostras para realização de hemoculturas, quando possível. Este conjunto de medidas para abordagem da sépsis deve estar focado em diretrizes de fácil compreensão que reflitam ações viáveis nos vários níveis de atenção à saúde. As diretrizes poderão ser amplamente divulgadas com notas de orientação e formação regular de forma a reforçar as mensagens principais e promover a conformidade. As equipas de garantia de qualidade devem ser instaladas nas unidades de saúde para melhorar a manutenção de registos e o diagnóstico clínico da sépsis (165).

12 Conclusão

O estudo do impacto, patogénese e tratamento da sépsis gerou novos conhecimentos em todos os níveis de análise. A sépsis continua a ser um problema comum, caro e mortal em todo o mundo. É uma condição complicada e dinâmica, resistente a quase todas as abordagens clínicas. No entanto, apesar do fracasso de muitos tratamentos em ensaios clínicos, têm vindo a observar-se grandes melhorias nos cuidados de suporte, incluindo o rápido reconhecimento de sépsis e administração eficaz de antibióticos. Apesar do expressivo aumento no conhecimento sobre a fisiopatologia e o tratamento, a sépsis continua a ser uma entidade de difícil abordagem clínica. As possíveis intervenções na resposta inflamatória com o objetivo de reduzir a morbidade e a mortalidade, bem como melhorar o prognóstico da sépsis têm sido extensamente investigadas.

O aumento na incidência está parcialmente relacionado a mudanças na deteção e diferentes definições. Dados internacionais demonstram que as taxas relatadas de sépsis estão a aumentar. Além disso, apesar da redução contínua na mortalidade de casos associados, a sépsis continua a representar uma grande causa de morte. À medida que a população continua a envelhecer, e a complexidade do doente e a carga de múltiplas co-morbidades aumentam, o impacto da sépsis nos indivíduos e no sistema de saúde permanecerá elevado. Em países em via de desenvolvimento, há uma clara falta de recursos relacionados ao número insuficiente de profissionais da saúde, falta de financiamento e equipamento médico. O setor de cuidados intensivos está subdesenvolvido ou não existe, especialmente nas áreas suburbanas e precisa de melhorias com treinamento médico adequado e constante. Um órgão de supervisão que monitorize e garanta o tratamento adequado por avaliação constante está criticamente ausente e deve ser estabelecido. A meta é projetar uma abordagem de gerenciamento da sépsis abrangente em âmbito nacional que forneça não apenas o plano mais atualizado de atendimento, mas também a equidade de atendimento à população.

13 Referências bibliográficas

1. Geroulanos S, Douka ET. Historical perspective of the word “sepsis.” *Intensive Care Med.* 2006;32(12):2077.
2. Johnson GB, Brunn GJ, Samstein B, Platt JL. New insight into the pathogenesis of sepsis and the sepsis syndrome. *Surgery.* 2005;137(4):393-5.
3. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. 1992. *Chest.* 2009;136(5 Suppl).
4. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 sccm/esicm/accp/ats/sis international sepsis definitions conference. *Intensive Care Med.* 2003;29(4):530-8.
5. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *Jama.* 2016;315(8):801-10.
6. Gotts JE, Matthay MA. Sepsis: pathophysiology and clinical management. *bmj.* 2016;353(i1585).
7. Donnelly JP, Safford MM, Shapiro NI, Baddley JW, Wang HE. Application of the Third International Consensus Definitions for Sepsis (Sepsis-3) Classification: a retrospective population-based cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2017;17(6):661-70.
8. Freund Y, Lemachatti N, Krastinova E, Van Laer M, Claessens Y-E, Avondo A, et al. Prognostic accuracy of Sepsis-3 criteria for in-hospital mortality among patients with suspected infection presenting to the emergency department. *Jama.* 2017;317(3):301-8.
9. Wang J-Y, Chen Y-X, Guo S-B, Mei X, Yang P. Predictive performance of quick Sepsis-related Organ Failure Assessment for mortality and ICU admission in patients with infection at the ED. *Am J Emerg Med.* 2016;34(9):1788-93.
10. Bryce J, Boschi-Pinto C, Shibuya K, Black RE, Group WHOCHER, others. WHO estimates of the causes of death in children. *Lancet.* 2005;365(9465):1147-52.
11. Morgan MP, Szakmany T, Power SG, Olaniyi P, Hall JE, Rowan K, et al. Sepsis patients with first and second-hit infections show different outcomes depending on the causative organism. *Front Microbiol.* 2016;7:207.
12. Schmid A, Burchardi H, Schneider H, Clouth J. PIN12: BURDEN OF ILLNESS IMPOSED BY SEVERE SEPSIS IN GERMANY. *Value Heal.* 2001;4(6):443.
13. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* 2001;29(7):1303-10.
14. Wang HE, Devereaux RS, Yealy DM, Safford MM, Howard G. National variation in United States sepsis mortality: a descriptive study. *Int J Health Geogr.* 2010;9(1):9.

15. Stevenson EK, Rubenstein AR, Radin GT, Wiener RS, Walkey AJ. Two decades of mortality trends among patients with severe sepsis: a comparative meta-analysis. *Crit Care Med.* 2014;42(3):625.
16. Jaimes F. A literature review of the epidemiology of sepsis in Latin America. *Rev Panam Salud Pública.* 2005;18(3):163-71.
17. Ortíz G, Dueñas C, Rodríguez F, Barrera L, de La Rosa G, Dennis R, et al. Epidemiology of sepsis in Colombian intensive care units. *Biomedica.* 2014;34(1):40-7.
18. Dellinger RP. International Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee; American Association of Critical-Care Nurses; American College of Chest Physicians et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2. *Crit Care Med.* 2008;36:296-327.
19. Wang HE, Shapiro NI, Angus DC, Yealy DM. National estimates of severe sepsis in United States emergency departments. *Crit Care Med.* 2007;35(8):1928-36.
20. Iñigo J, Sendra JM, Díaz R, Bouza C, Sarría-Santamera A. Epidemiología y costes de la sepsis grave en Madrid: Estudio de altas hospitalarias. *Med intensiva.* 2006;30(5):197-203.
21. Burchardi H, Schneider H. Economic aspects of severe sepsis. *Pharmacoeconomics.* 2004;22(12):793-813.
22. Machado FR, Mazza BF. Improving mortality in sepsis: analysis of clinical trials. *Shock.* 2010;34(7):54-8.
23. Dégano IR, Elosua R, Marrugat J. Epidemiology of acute coronary syndromes in Spain: estimation of the number of cases and trends from 2005 to 2049. *Rev Española Cardiol (English Ed.)* 2013;66(6):472-81.
24. Colls C, Abillera S, Garcia ALtes A, Gallofre M. Beneficis de l'organització de l'atenció sanitària a les persones amb ictus: mortalitat evitada i impacte econòmic. Ed AQUAS, 1st ed Barcelona Obs del Sist Salut Catalunya. 2013;
25. Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J, Dellamonica P, Gouin F, Lepoutre A, et al. Incidence, risk factors, and outcome of severe sepsis and septic shock in adults: a multicenter prospective study in intensive care units. *Jama.* 1995;274(12):968-74.
26. Sands KE, Bates DW, Lanken PN, Graman PS, Hibberd PL, Kahn KL, et al. Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers. *Jama.* 1997;278(3):234-40.
27. Annane D, Aegerter P, Jars-Guinestre MC, Guidet B. Current epidemiology of septic shock: the CUB-Rea Network. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;168(2):165-72.
28. Padkin A, Goldfrad C, Brady AR, Young D, Black N, Rowan K. Epidemiology of severe sepsis occurring in the first 24 hrs in intensive care units in England, Wales, and Northern Ireland. *Crit Care Med.* 2003;31(9):2332-8.
29. Finfer S, Bellomo R, Lipman J, French C, Dobb G, Myburgh J. Adult-population incidence of severe sepsis in Australian and New Zealand intensive care units. *Intensive Care Med.* 2004;30(4):589-96.

30. Yébenes JC, Ruiz-Rodriguez JC, Ferrer R, Clèries M, Bosch A, Lorencio C, et al. Epidemiology of sepsis in Catalonia: analysis of incidence and outcomes in a European setting. *Ann Intensive Care*. 2017;7(1):19.
31. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NKJ, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, et al. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. Current estimates and limitations. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016;193(3):259-72.
32. De La Rica AS, Gilsanz F, Maseda E. Epidemiologic trends of sepsis in western countries. *Ann Transl Med*. 2016;4(17).
33. Zimmerman JE, Kramer AA, Knaus WA. Changes in hospital mortality for United States intensive care unit admissions from 1988 to 2012. *Crit care*. 2013;17(2):R81.
34. Group ES, others. EPISEPSIS: a reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units. *Intensive Care Med*. 2004;30(4):580-8.
35. Kaukonen K-M, Bailey M, Suzuki S, Pilcher D, Bellomo R. Mortality related to severe sepsis and septic shock among critically ill patients in Australia and New Zealand, 2000-2012. *Jama*. 2014;311(13):1308-16.
36. Granja C, do Algarve CH. PIRO na estratificação da sepse: realidade ou miragem? Vol. 27, *Rev Bras Ter Intensiva*. SciELO Brasil; 2015. 196-198 p.
37. Betty AF, Daniel FS, Alice SW, William RB. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. International edition, ed12. 2007. 22-36 p.
38. Kumar V, others. Robbins & Cotran bases patológicas das doenças. Robbins & Cotran bases patológicas das doenças. 2010. 75,129-130, 429-434, 466-469.
39. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical microbiology. Elsevier Health Sciences; 2015. 18-22, 39-58 p.
40. Hall JE. Guyton E Hall Tratado De Fisiologia Médica. Elsevier Brasil; 2017. 282-287 p.
41. Beale R, Reinhart K, Brunkhorst FM, Dobb G, Levy M, Martin G, et al. Promoting Global Research Excellence in Severe Sepsis (PROGRESS): lessons from an international sepsis registry. *Infection*. 2009;37(3):222-32.
42. Blanco J, Muriel-Bombalín A, Sagredo V, Taboada F, Gandía F, Tamayo L, et al. Incidence, organ dysfunction and mortality in severe sepsis: a Spanish multicentre study. *Crit care*. 2008;12(6):R158.
43. Tanriover MD, Guven GS, Sen D, Unal S, Uzun O. Epidemiology and outcome of sepsis in a tertiary-care hospital in a developing country. *Epidemiol Infect*. 2006;134(2):315-22.
44. Dagher GA, Chehade AEH, Chebl RB, Majzoub I. Assessment of Sepsis in a Developing Country: Where do We Stand? *Heal Care Curr Rev*. 2015;1-4.
45. Vincent J-L, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *Jama*. 2009;302(21):2323-9.
46. Briceño I. Sepsis: etiología, manifestaciones clínicas y diagnóstico. *Medicrit*. 2005;2(9):203-13.

47. Gomes AP, Siqueira-Batista R. Neisseria meningitidis com sensibilidade intermediária à penicilina: um problema emergente. *Rev Assoc Med Bras.* 2002;48(2):114.
48. Parsons PE, Wiener-Kronish J, Blengo JR. *Secretos de los cuidados intensivos.* 2000.
49. Piva JP, Carvalho PRA, Garcia PCR. Terapia intensiva em pediatria. In: *Terapia intensiva em pediatria.* 1990.
50. Ribeiro AM, Moreira JLB. Epidemiologia e etiologia da sepse na infância. *J Pediatr (Rio J).* 1999;75(1):39-44.
51. Dougnac A. Sepsis y shock séptico. *Apunt Med Intensiva Pontif Univ Católica Chile.* 2000;1-7.
52. Briceño I. Sepsis: Definiciones y aspectos fisiopatológicos. *Medicrit.* 2005;2(8):164-78.
53. Young L. Síndrome de sepsis. *Mand Tratado Infectología Capitulo.* 2000;63:973-87.
54. Marshall JC, Cook DJ, Christou N V, Bernard GR, Sprung CL, Sibbald WJ. Multiple organ dysfunction score: a reliable descriptor of a complex clinical outcome. *Crit Care Med.* 1995;23(10):1638-52.
55. Le Gall J-R, Klar J, Lemeshow S, Saulnier F, Alberti C, Artigas A, et al. The Logistic Organ Dysfunction system: a new way to assess organ dysfunction in the intensive care unit. *Jama.* 1996;276(10):802-10.
56. Beal AL, Cerra FB. Multiple organ failure syndrome in the 1990s: systemic inflammatory response and organ dysfunction. *Jama.* 1994;271(3):226-33.
57. Doyle RL, Szaflarski N, Modin GW, Wiener-Kronish JP, Matthay MA. Identification of patients with acute lung injury. Predictors of mortality. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;152(6):1818-24.
58. van der Poll T, van Deventer SJH. Cytokines and anticytokines in the pathogenesis of sepsis. *Infect Dis Clin North Am.* 1999;13(2):413-26.
59. Weinstein MP. Blood culture contamination: persisting problems and partial progress. *J Clin Microbiol.* 2003;41(6):2275-8.
60. Vincent J-L, De Mendonça A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, et al. 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.* 1998;26(11):1793-800.
61. Tschoeke SK, Oberholzer A, Moldawer LL. Interleukin-18: a novel prognostic cytokine in bacteria-induced sepsis. *Crit Care Med.* 2006;34(4):1225-33.
62. Westphal GA, Feijó J, Andrade PS de, Trindade L, Suchard C, Monteiro MAG, et al. Estratégia de detecção precoce e redução de mortalidade na sepse grave. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2010;21(2):113-23.
63. Bozza FA, Salluh JI, Japiassu AM, Soares M, Assis EF, Gomes RN, et al. Cytokine profiles as markers of disease severity in sepsis: a multiplex analysis. *Crit care.* 2007;11(2):R49.
64. Washington 2nd JA. Blood cultures: principles and techniques. In: *Mayo Clinic Proceedings.* 1975. p. 91.

65. Weinstein MP, Reller LB, Murphy JR, Lichtenstein KA. 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.* 1983;5(1):35-53.
66. Cockerill III FR, Wilson JW, Vetter EA, Goodman KM, Torgerson CA, Harmsen WS, et al. Optimal testing parameters for blood cultures. *Clin Infect Dis.* 2004;38(12):1724-30.
67. Lee A, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP. Detection of bloodstream infections in adults: how many blood cultures are needed? *J Clin Microbiol.* 2007;45(11):3546-8.
68. Baron EJ, Weinstein MP, Dunne WM, Yagupsky P, Welch DF, Wilson DM. *Cumitech 1C, blood cultures IV.* Baron EJ, Co-ord Ed ASM Press Washington, DC. 2005;
69. Bennett Jr IL, Beeson PB. Bacteremia. *Yale J Biol Med.* 1954;26(4):241.
70. de Araujo MRE. Hemocultura: recomendações de coleta, processamento e interpretação dos resultados. 2012;
71. Li J, Plorde JJ, Carlson LG. Effects of volume and periodicity on blood cultures. *J Clin Microbiol.* 1994;32(11):2829-31.
72. Towns ML, Jarvis WR, Hsueh P-R. Guidelines on blood cultures. *J Microbiol Immunol Infect.* 2010;43(4):347-9.
73. Blot F, Schmidt E, Nitenberg G, Tancrède C, Leclercq B, Laplanche A, et al. Earlier positivity of central-venous-versus peripheral-blood cultures is highly predictive of catheter-related sepsis. *J Clin Microbiol.* 1998;36(1):105-9.
74. Mimos O, Karim A, Mercat A, Cosseron M, Falissard B, Parker F, et al. Chlorhexidine compared with povidone-iodine as skin preparation before blood culture: a randomized, controlled trial. *Ann Intern Med.* 1999;131(11):834-7.
75. Warren JR, Graham F. The effect of heparin on the growth of bacteria and yeasts. *J Bacteriol.* 1950;60(2):171.
76. Christman JF, Doherty DG. The antimicrobial action of heparin. *J Bacteriol.* 1956;72(4):433.
77. Dwivedi S, Bhalla R, Hoover DR, Weinstein MP. Discarding the initial aliquot of blood does not reduce contamination rates in intravenous-catheter-drawn blood cultures. *J Clin Microbiol.* 2009;47(9):2950-1.
78. Leber AL, others. *Clinical microbiology procedures handbook.* Vol. 3. ASM Press Washington, DC, USA.; 2016.
79. Akan ÖA, Yıldız E. Comparison of the effect of delayed entry into 2 different blood culture systems (BACTEC 9240 and BacT/ALERT 3D) on culture positivity. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2006;54(3):193-6.
80. Flayhart D, Borek AP, Wakefield T, Dick J, Carroll KC. Comparison of BACTEC PLUS blood culture media to BacT/Alert FA blood culture media for detection of bacterial pathogens in samples containing therapeutic levels of antibiotics. *J Clin Microbiol.* 2007;45(3):816-21.
81. Crump JA, Tanner DC, Mirrett S, McKnight CM, Reller LB. Controlled comparison of BACTEC 13A, MYCO/F LYTIC, BacT/ALERT MB, and ISOLATOR 10 systems for detection of mycobacteremia. *J Clin Microbiol.* 2003;41(5):1987-90.

82. Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, Mirrett S, Reimer LG, Parmigiani G, et al. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis*. 1997;24(4):584-602.
83. Weinstein MP, Doern G V. A critical appraisal of the role of the clinical microbiology laboratory in the diagnosis of bloodstream infections. *J Clin Microbiol*. 2011;49(9 Supplement):S26--S29.
84. Beebe JL, Koneman EW. Recovery of uncommon bacteria from blood: association with neoplastic disease. *Clin Microbiol Rev*. 1995;8(3):336-56.
85. Souvenir D, Anderson DE, Palpant S, Mroch H, Askin S, Anderson J, et al. Blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci: antisepsis, pseudobacteremia, and therapy of patients. *J Clin Microbiol*. 1998;36(7):1923-6.
86. Richter SS, Beekmann SE, Croco JL, Diekema DJ, Koontz FP, Pfaller MA, et al. Minimizing the workup of blood culture contaminants: implementation and evaluation of a laboratory-based algorithm. *J Clin Microbiol*. 2002;40(7):2437-44.
87. Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2013;13(5):426-35.
88. Levy MM, Rhodes A, Phillips GS, Townsend SR, Schorr CA, Beale R, et al. Surviving Sepsis Campaign: association between performance metrics and outcomes in a 7.5-year study. *Intensive Care Med*. 2014;40(11):1623-33.
89. Andersen LW, Mackenhauer J, Roberts JC, Berg KM, Cocchi MN, Donnino MW. Etiology and therapeutic approach to elevated lactate levels. In: *Mayo Clinic Proceedings*. 2013. p. 1127-40.
90. Shapiro NI, Howell MD, Talmor D, Nathanson LA, Lisbon A, Wolfe RE, et al. Serum lactate as a predictor of mortality in emergency department patients with infection. *Ann Emerg Med*. 2005;45(5):524-8.
91. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med*. 2013;39(2):165-228.
92. Ugarte H, Silva E, Mercan D, De Mendonca A, Vincent J-L. Procalcitonin used as a marker of infection in the intensive care unit. *Crit Care Med*. 1999;27(3):498-504.
93. Póvoa P, Coelho L, Almeida E, Fernandes A, Mealha R, Moreira P, et al. Early identification of intensive care unit-acquired infections with daily monitoring of C-reactive protein: a prospective observational study. *Crit Care*. 2006;10(2):R63.
94. Fan S-L, Miller NS, Lee J, Remick DG. Diagnosing sepsis--The role of laboratory medicine. *Clin Chim Acta*. 2016;460:203-10.
95. Du B, Pan J, Chen D, Li Y. Serum procalcitonin and interleukin-6 levels may help to differentiate systemic inflammatory response of infectious and non-infectious origin. *Chin Med J (Engl)*. 2003;116(4):538-42.

96. Kellum JA, Kong L, Fink MP, Weissfeld LA, Yealy DM, Pinsky MR, et al. Understanding the inflammatory cytokine response in pneumonia and sepsis: results of the Genetic and Inflammatory Markers of Sepsis (GenIMS) Study. *Arch Intern Med.* 2007;167(15):1655-63.
97. Prucha M, Bellingan G, Zazula R. Sepsis biomarkers. *Clin Chim acta.* 2015;440:97-103.
98. Kinasewitz GT, Yan SB, Basson B, Russell JA, Cariou A, Um SL, et al. Universal changes in biomarkers of coagulation and inflammation occur in patients with severe sepsis, regardless of causative micro-organism [ISRCTN74215569]. *Crit Care.* 2004;8(2):R82.
99. Yao L, Liu Z, Zhu J, Li B, Chai C, Tian Y. Higher serum level of myoglobin could predict more severity and poor outcome for patients with sepsis. *Am J Emerg Med.* 2016;34(6):948-52.
100. Lehmann LE, Hunfeld K-P, Emrich T, Haberhausen G, Wissing H, Hoeft A, et al. A multiplex real-time PCR assay for rapid detection and differentiation of 25 bacterial and fungal pathogens from whole blood samples. *Med Microbiol Immunol.* 2008;197(3):313-24.
101. Mancini N, Carletti S, Ghidoli N, Cichero P, Ossi CM, Ieri R, et al. Molecular diagnosis of polymicrobial sepsis. *J Clin Microbiol.* 2009;47(4):1274-5.
102. Mancini N, Clerici D, Diotti R, Perotti M, Ghidoli N, De Marco D, et al. Molecular diagnosis of sepsis in neutropenic patients with haematological malignancies. *J Med Microbiol.* 2008;57(5):601-4.
103. Steinmann J, Buer J, Rath P-M, Paul A, Saner F. Invasive aspergillosis in two liver transplant recipients: diagnosis by SeptiFast. *Transpl Infect Dis.* 2009;11(2):175-8.
104. Varani S, Stanzani M, Paolucci M, Melchionda F, Castellani G, Nardi L, et al. Diagnosis of bloodstream infections in immunocompromised patients by real-time PCR. *J Infect.* 2009;58(5):346-51.
105. von Lilienfeld-Toal M, Lehmann LE, Raadts AD, Hahn-Ast C, Orlopp KS, Marklein G, et al. Utility of a commercially available multiplex real-time PCR assay to detect bacterial and fungal pathogens in febrile neutropenia. *J Clin Microbiol.* 2009;47(8):2405-10.
106. Mussap M, Molinari MP, Senno E, Gritti P, Soro B, Mannelli S, et al. New diagnostic tools for neonatal sepsis: the role of a real-time polymerase chain reaction for the early detection and identification of bacterial and fungal species in blood samples. *J Chemother.* 2007;19(sup2):31-4.
107. Paolucci M, Capretti MG, Monte P dal, Corvaglia L, Landini MP, Varani S, et al. Laboratory diagnosis of late-onset sepsis in newborns by multiplex real-time PCR. *J Med Microbiol.* 2009;58(4):533-4.
108. Vince A, Lepej Š, Baršić B, Dušek D, Mitrović Z, Serventi-Seiwerth R, et al. LightCycler SeptiFast assay as a tool for the rapid diagnosis of sepsis in patients during antimicrobial therapy. *J Med Microbiol.* 2008;57(10):1306-7.
109. Louie RF, Tang Z, Albertson TE, Cohen S, Tran NK, Kost GJ. Multiplex polymerase chain reaction detection enhancement of bacteremia and fungemia. *Crit Care Med.* 2008;36(5):1487-92.

110. Westh H, Lisby G, Breysse F, Böddinghaus B, Chomarat M, Gant V, et al. Multiplex real-time PCR and blood culture for identification of bloodstream pathogens in patients with suspected sepsis. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15(6):544-51.
111. Casalta JP, Gouriet F, Roux V, Thuny F, Habib G, Raoult D. Evaluation of the LightCycler®SeptiFast test in the rapid etiologic diagnostic of infectious endocarditis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2009;28(6):569-73.
112. Mancini N, Carletti S, Ghidoli N, Cichero P, Burioni R, Clementi M. The era of molecular and other non-culture-based methods in diagnosis of sepsis. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23(1):235-51.
113. Ginn AN, Hazelton B, Shoma S, Cullen M, Solano T, Iredell JR. Quantitative multiplexed-tandem PCR for direct detection of bacteraemia in critically ill patients. *Pathology.* 2017;49(3):304-8.
114. Lau A, Sorrell TC, Chen S, Stanley K, Iredell J, Halliday C. Multiplex tandem PCR: a novel platform for rapid detection and identification of fungal pathogens from blood culture specimens. *J Clin Microbiol.* 2008;46(9):3021-7.
115. Lau A, Halliday C, Chen SC-A, Playford EG, Stanley K, Sorrell TC. Comparison of whole blood, serum, and plasma for early detection of candidemia by multiplex-tandem PCR. *J Clin Microbiol.* 2010;48(3):811-6.
116. Ginn AN, Halliday CL, Douglas AP, Chen SCA. PCR-based tests for the early diagnosis of sepsis. Where do we stand? *Curr Opin Infect Dis.* 2017;30(6):565-72.
117. Loonen AJM, de Jager CPC, Tossierams J, Kusters R, Hilbink M, Wever PC, et al. Biomarkers and molecular analysis to improve bloodstream infection diagnostics in an emergency care unit. *PLoS One.* 2014;9(1):e87315.
118. Ziegler I, Fagerström A, Strålin K, Mölling P. Evaluation of a commercial multiplex PCR assay for detection of pathogen DNA in blood from patients with suspected sepsis. *PLoS One.* 2016;11(12):e0167883.
119. Ljungström L, Enroth H, Claesson BEB, Ovemyr I, Karlsson J, Fröberg B, et al. Clinical evaluation of commercial nucleic acid amplification tests in patients with suspected sepsis. *BMC Infect Dis.* 2015;15(1):199.
120. Salimnia H, Fairfax MR, Lephart PR, Schreckenberger P, DesJarlais SM, Johnson JK, et al. Evaluation of the FilmArray®Blood Culture Identification Panel: Results of a Multi-Center Controlled Trial. *J Clin Microbiol.* 2016;JCM--01679.
121. Southern TR, VanSchooneveld TC, Bannister DL, Brown TL, Crismon AS, Buss SN, et al. Implementation and performance of the BioFire FilmArray®Blood Culture Identification panel with antimicrobial treatment recommendations for bloodstream infections at a midwestern academic tertiary hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2015;81(2):96-101.
122. Altun O, Almuhayawi M, Ullberg M, Özenci V. Clinical evaluation of FilmArray®Blood Culture ID panel in identification of bacteria and yeast from positive blood culture bottles. *J Clin Microbiol.* 2013;JCM--01835.

123. Altun O, Özenci V. FilmArray: correction of previously false-positive results by improved software. *J Clin Microbiol.* 2015;53(2):750.
124. Pardo J, Klinker KP, Borgert SJ, Butler BM, Giglio PG, Rand KH. Clinical and economic impact of antimicrobial stewardship interventions with the FilmArray blood culture identification panel. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2016;84(2):159-64.
125. Ward C, Stocker K, Begum J, Wade P, Ebrahimsa U, Goldenberg SD. Performance evaluation of the Verigene®(Nanosphere) and FilmArray®(BioFire®) molecular assays for identification of causative organisms in bacterial bloodstream infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2015;34(3):487-96.
126. Siu GKH, Chen JHK, Ng TK, Lee RA, Fung KSC, To SWC, et al. Performance evaluation of the verigene gram-positive and gram-negative blood culture test for direct identification of bacteria and their resistance determinants from positive blood cultures in Hong Kong. *PLoS One.* 2015;10(10):e0139728.
127. Carvalho PRA, Trotta E de A. Avanços no diagnóstico e tratamento da sepse. *J Pediatr Rio Janeiro Vol 79, supl 2 (nov 2003), p S195-S204.* 2003;
128. Bone RC. Sir isaac newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med.* 1996;24(7):1125-8.
129. Proulx F, Fayon M, Farrell CA, Lacroix J, Gauthier M. Epidemiology of sepsis and multiple organ dysfunction syndrome in children. *Chest.* 1996;109(4):1033-7.
130. Vincent J-L, Abraham E, Annane D, Bernard G, Rivers E, den Berghe G. Reducing mortality in sepsis: new directions. *Crit Care.* 2002;6(3):S1.
131. Carcillo JA, Fields AI. Clinical practice parameters for hemodynamic support of pediatric and neonatal patients in septic shock. *J Pediatr (Rio J).* 2002;78(6):449-66.
132. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med.* 2001;345(19):1368-77.
133. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med.* 2003;348(2):138-50.
134. Levy MM, Evans LE, Rhodes A. The surviving sepsis campaign bundle: 2018 update. *Intensive Care Med.* 2018;44(6):925-8.
135. Pearse RM, Harrison DA, MacDonald N, Gillies MA, Blunt M, Ackland G, et al. Effect of a perioperative, cardiac output--guided hemodynamic therapy algorithm on outcomes following major gastrointestinal surgery: A randomized clinical trial and systematic review. *Jama.* 2014;311(21):2181-90.
136. Rochweg B, Alhazzani W, Gibson A, Ribic CM, Sindi A, Heels-Ansdell D, et al. Fluid type and the use of renal replacement therapy in sepsis: a systematic review and network meta-analysis. *Intensive Care Med.* 2015;41(9):1561-71.
137. Mittermayr M, Streif W, Haas T, Fries D, Velik-Salchner C, Klingler A, et al. Hemostatic changes after crystalloid or colloid fluid administration during major orthopedic surgery: the role of fibrinogen administration. *Anesth Analg.* 2007;105(4):905-17.

138. Perner A, Juntila E, Haney M, Hreinsson K, Kvåle R, Vandvik PO, et al. Scandinavian clinical practice guideline on choice of fluid in resuscitation of critically ill patients with acute circulatory failure. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2015;59(3):274-85.
139. Møller MH, Claudius C, Juntila E, Haney M, Oscarsson-Tibblin A, Haavind A, et al. Scandinavian SSAI clinical practice guideline on choice of first-line vasopressor for patients with acute circulatory failure. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2016;60(10):1347-66.
140. De Backer D, Biston P, Devriendt J, Madl C, Chochrad D, Aldecoa C, et al. Comparison of dopamine and norepinephrine in the treatment of shock. *N Engl J Med.* 2010;362(9):779-89.
141. Perner A, Holst LB, Haase N, Hjortrup PB, Møller MH. *Common Sense Approach to Managing Sepsis.* Crit Care Clin. 2017;
142. Bochud P-Y, Glauser MP, Calandra T. Antibiotics in sepsis. *Intensive Care Med.* 2001;27(14):S33--S48.
143. Sáez-Llorens X, McCracken Jr GH. Sepsis syndrome and septic shock in pediatrics: current concepts of terminology, pathophysiology, and management. *J Pediatr.* 1993;123(4):497-508.
144. Asfar P, Meziani F, Hamel J-F, Grelon F, Megarbane B, Anguel N, et al. High versus low blood-pressure target in patients with septic shock. *N Engl J Med.* 2014;370(17):1583-93.
145. Root RK, Lodato RF, Patrick W, Cade JF, Fotheringham N, Milwee S, et al. Multicenter, double-blind, placebo-controlled study of the use of filgrastim in patients hospitalized with pneumonia and severe sepsis. *Crit Care Med.* 2003;31(2):367-73.
146. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016. *Intensive Care Med.* 2017;43(3):304-77.
147. Glauser MP. Pathophysiologic basis of sepsis: considerations for future strategies of intervention. *Crit Care Med.* 2000;28(9):S4--S8.
148. Bone RC, Balk RA, Fein AM, Perl TM, Wenzel RP, Reines HD, et al. A second large controlled clinical study of E5, a monoclonal antibody to endotoxin: results of a prospective, multicenter, randomized, controlled trial. *Crit Care Med.* 1995;23(6):994-1006.
149. Cronin L, Cook DJ, Carlet J, Heyland DK, King DBM, Lansang MAD, et al. Corticosteroid treatment for sepsis: a critical appraisal and meta-analysis of the literature. *Crit Care Med.* 1995;23(8):1430-9.
150. Annane D, Sébille V, Charpentier C, Bollaert P-E, François B, Korach J-M, et al. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *Jama.* 2002;288(7):862-71.
151. Dhainaut J-FA, Tenaillon A, Hemmer M, Damas P, Le Tulzo Y, Radermacher P, et al. Confirmatory platelet-activating factor receptor antagonist trial in patients with severe Gram-negative bacterial sepsis: A phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. *Crit Care Med.* 1998;26(12):1963-71.

152. Bernard GR, Wheeler AP, Russell JA, Schein R, Summer WR, Steinberg KP, et al. The effects of ibuprofen on the physiology and survival of patients with sepsis. *N Engl J Med.* 1997;336(13):912-8.
153. Arons MM, Wheeler AP, Bernard GR, Christman BW, Russell JA, Schein R, et al. Effects of ibuprofen on the physiology and survival of hypothermic sepsis. *Crit Care Med.* 1999;27(4):699-707.
154. Vincent JL, Angus DC, Artigas A, Kalil A, Basson BR, Jamal HH, et al. Recombinant Human Activated Protein C Worldwide Evaluation in Severe Sepsis (PROWESS) Study Group: Effects of drotrecogin alfa (activated) on organ dysfunction in the PROWESS trial. *Crit Care Med.* 2003;31(3):834-40.
155. Sollet J-P, Garber GE. Selecting patients with severe sepsis for drotrecogin alfa (activated) therapy. *Am J Surg.* 2002;184(6):S11--S18.
156. Cohen H, Welage LS. Strategies to optimize drotrecogin alfa (activated) use: guidelines and therapeutic controversies. *Pharmacother J Hum Pharmacol Drug Ther.* 2002;22(12P2):223S-235S.
157. Wang LC, Lei S, Wu YC, Wu JN, Wang LF, Guan TR, et al. Intensive insulin therapy in critically ill patients. *Zhongguo wei zhong bing ji jiu yi xue= Chinese Crit care Med Zhongguo weizhongbing jijiu yixue.* 2006;18(12):748-50.
158. de Freitas AF, de Castro Amaral I, Braga MJ. A influência dos riscos de liquidez e de crédito no processo de conversão das cooperativas de crédito rural em cooperativas de crédito de livre admissão: um estudo de caso. *Rev Contab e Organ.* 2008;2(4):126-47.
159. Queza AJ. Sistema de Saúde em Angola: Uma Proposta à luz da reforma do serviço Nacional de Saúde. 2011;
160. Jacob ST, Moore CC, Banura P, Pinkerton R, Meya D, Opendi P, et al. Severe sepsis in two Ugandan hospitals: a prospective observational study of management and outcomes in a predominantly HIV-1 infected population. *PLoS One.* 2009;4(11):e7782.
161. Baelani I, Jochberger S, Laimer T, Otieno D, Kabutu J, Wilson I, et al. Availability of critical care resources to treat patients with severe sepsis or septic shock in Africa: a self-reported, continent-wide survey of anaesthesia providers. *Crit Care.* 2011;15(1):R10.
162. Otu A, Elston J, Nsutebu E. Sepsis in Africa: practical steps to stem the tide. *Pan Afr Med J.* 2015;21(1).
163. Maitland K, Kiguli S, Opoka RO, Engoru C, Olupot-Olupot P, Akech SO, et al. Mortality after fluid bolus in African children with severe infection. *N Engl J Med.* 2011;364(26):2483-95.
164. Gaiieski DF, Drumheller BC, Goyal M, Fuchs BD, Shofer FS, Zogby K. Accuracy of handheld point-of-care fingertip lactate measurement in the emergency department. *West J Emerg Med.* 2013;14(1):58.
165. Oliveira M dos S de. Processo de descentralização do Serviço Nacional de Saúde de Angola. 2010.