

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**VALOR DIAGNÓSTICO E PROGNÓSTICO DO CD64 NA SEPSE**

SILVANA TEIXEIRA DAL PONTE

Porto Alegre

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**VALOR DIAGNÓSTICO E PROGNÓSTICO DO CD64 NA SEPSE**

SILVANA TEIXEIRA DAL PONTE

Orientador: Prof. Dr. Luciano Goldani  
Co-orientador: Prof. Dr. Renato Seligman

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Medicina: Ciências Médicas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós -Graduação em Medicina, Ciências Médicas.

Porto Alegre

2015

**BANCA EXAMINADORA**

*Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Beatriz Seligman*

*Prof. Dr. Gustavo Faulhaber*

*Prof. Dr. Paulo Teixeira*

*Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Tania Furlanetto*

Aos meus filhos, Martina e Davi, por me mostrarem o verdadeiro sentido da vida.

Ao meu marido, Daniel, pelo apoio constante e pela compreensão.

Aos meus pais, Gilberto e Maria Consuelo, pelos valores transmitidos.

Às minhas irmãs, Ana Carina e Giana, e ao meu cunhado, Conrado, pela amizade.

Aos meus sobrinhos, Júlia e Henrique, por me tornarem ainda mais feliz.

## **Agradecimentos**

Agradeço ao Prof. Dr. Luciano Goldani, pela confiança e por ter me proporcionado a oportunidade de estar aqui hoje, defendendo minha dissertação de Mestrado.

Ao Prof. Dr. Renato Seligman, por ter me incentivado na elaboração do projeto de pesquisa, pelos ensinamentos e pela confiança.

Aos meus filhos Martina e Davi, pela força do amor eterno e verdadeiro.

Aos meus pais Maria Consuelo e Gilberto, pela educação e pelo amor incondicional.

Ao meu marido Daniel, pelo apoio e equilíbrio, fundamentais para que eu chegasse até aqui.

Às minhas irmãs, Ana Carina e Giana, e ao meu cunhado Conrado, pelo carinho e aconchego de todas as horas.

Aos meus sobrinhos, Júlia e Henrique, por trazerem mais ternura e amor a minha vida.

Aos meus sogros, Marco e Miriam, pelo incentivo e pelos ensinamentos.

Ao meu cunhado Bruno e a minha concunhada Cristiane, por vibrarem com as minhas vitórias.

Aos meus avós, que são a minha base, as minhas raízes; À Vó Teresa, que no auge de seus 91 anos segue estudando, mostrando-me que a vida pode ter um recomeço diariamente.

À Dra. Luciane Ferreira, por me ajudar no crescimento como pessoa e na constante busca da realização pessoal.

À Débora Martins, pela ajuda, apoio e companheirismo para que eu pudesse dedicar algumas horas por dia ao mestrado.

À Dra. Ana Paula Alegretti e ao Dr. Diogo Pilger, por toda a assistência prestada.

À Dra. Alice Machado e ao Dr. Michael Andrades, pelo apoio e incentivo ao estudo.

À minha Tia Roselaine Dal ponte, pela ajuda com seu importante trabalho como Professora de língua Portuguesa.

Ao Colega e amigo Luciano Diogo, pela assistência oferecida na parte de estatística.

Às minhas primas Renata Dal Ponte e Clarissa Fração, e à minha amiga Greice Tramunt, pela ajuda e compartilhamento em todos os momentos difíceis e os alegres durante este período.

Às alunas de Iniciação Científica Pauline Simas, Gabriela Petitot e Helena Ludwig, e à Médica Residente Melina, por colaborarem na execução da pesquisa.

À Lourdes do Serviço de Medicina Interna do HCPA, por me receber sempre com seu carinhoso sorriso.

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas da Universidade Federal do rio Grande do Sul, por oportunizar meu crescimento científico.

À agência financiadora FIPE- HCPA, que possibilitou o desenvolvimento desse trabalho.

" [...] Contudo, os próximos anos e décadas serão incrivelmente excitantes. Fertilizada por essa nova capacidade de entender a vida, a saúde e a doença em seu nível mais fundamental, a medicina irá crescer e se desenvolver diante de nossos olhos em uma entidade radicalmente nova e diferente. Mas não importa quanto ela esteja fundamentalmente enraizada na ciência, não importa quanto seja profundo seu entendimento sobre a dinâmica genética e molecular das doenças- a aplicação do conhecimento médico a cada um dos seres humanos, como você e eu, vai permanecer, inevitavelmente, como uma das mais refinadas e mais difíceis artes da humanidade."

Robert E. Adler

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** A sepse é uma resposta inflamatória sistêmica causada por infecção suspeita ou confirmada. As avaliações clínicas são essenciais para a sua detecção e tratamento precoce. Hemoculturas podem demorar até dois dias para produzir um resultado, e nem sempre são confiáveis. No entanto, estudos recentes sugeriram que a expressão de CD64 de neutrófilos pode ser uma alternativa sensível e específica para o diagnóstico de uma infecção sistêmica.

**OBJETIVO:** Analisar a diferença de valores entre CD64 de indivíduos com síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SIRS), e sepse suspeita ou confirmada, que satisfazem os critérios de diagnóstico para SIRS ao chegar na unidade de emergência.

**MÉTODO:** Este foi um estudo de coorte prospectivo observacional. A amostra foi composta de 109 pacientes com idade de 18 anos ou mais, com critérios de SIRS na chegada ao serviço de emergência. Expressão CD64 foi medida no prazo de 6 horas de internação, e novamente após 48 h.

**RESULTADOS:** A análise da curva ROC sugeriu que um corte de 1.45 dos níveis de CD64 poderia diagnosticar sepse com uma sensibilidade de 0,85, especificidade de 0,75, uma precisão de 82,08%, um valor preditivo positivo de 0,964, um valor preditivo negativo de 0,375 e uma razão de verossimilhança de 3,3381. A área sob a curva foi de 0,832.

**CONCLUSÃO:** CD64 parece ser útil como biomarcador, sensível e específico para discriminar entre SRIS e sépsis.

**Palavras-chave:** SIRS, Sepse, Biomarcadores, CD64



## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Sepsis is a systemic inflammatory response to suspected or confirmed infection. Clinical evaluations are essential for its early detection and treatment. Blood cultures may take as long as two days to yield a result, and are not always reliable. However, recent studies have suggested that neutrophil CD64 expression may be a sensitive and specific alternative for the diagnosis of systemic infection.

**OBJECTIVE:** To analyze the difference in CD64 values between subjects with systemic inflammatory response syndrome (SIRS), suspected or confirmed sepsis, who meet diagnostic criteria for SIRS upon arriving at an emergency unit.

**METHOD:** This was a prospective observational cohort study. The sample consisted of 109 patients aged 18 years with criteria for SIRS on arrival to Emergency department. CD64 expression was measured within 6 hours of hospital admission, and once again after 48 h.

**RESULTS:** ROC curve analysis suggested that a cutoff of 1.45 for CD64 expression could diagnose sepsis with a sensitivity of 0.85, a specificity of 0.75, an accuracy of 82.08%, a positive predictive value of 0.964, a negative predictive value of 0.375 and a positive likelihood ratio of 3.3381. The area under the curve was 0.832.

**CONCLUSION:** CD64 appears to be a useful, sensitive and specific biomarker in discriminating between SIRS and sepsis.

**KEYWORDS:** SIRS, Sepsis, Biomarkers, CD64

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Os principais achados dos 6 artigos selecionados, referentes a estudos com cd64 na sepse em adultos publicados nos últimos 5 anos, estão dispostos na tabela a seguir.....	29
---	----

## LISTA DE TABELAS DO ARTIGO

Table 1 - General characteristics of the sample .....	54
Table 2 - Positive cultures in the confirmed sepsis group .....	55

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estratégia de busca de referências bibliográficas sobre as bases que fundamentam os objetivos deste estudo .....	18
Figura 2 - Interrelações dos conceitos de SIRS, Sepse e Infecção .....	20
Figura 3 - Fisiopatogenia da Sepse.....	24

## LISTA DE FIGURAS DO ARTIGO

Figure 1 - Baseline CD64 First Sample SIRS, Confirmed Sepsis and Suspected Sepsis.....	58
Figure 2 - Baseline CD64 Second Sample SIRS, Confirmed Sepsis and Suspected Sepsis.....	59
Figure 3 - Correlation between CD64 expression at baseline and after 48h (total sample) CD64 after 48h baseline CD64.....	62
Figure 4 - Correlation Between Cd64 Expression At Baseline And After 48 Hours (Total Sample) SIRS – Confirmed Sepsis – Suspected Sepsis.....	62
Figure 5 - The ROC curve .....	63

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CIVD	Coagulação intravascular disseminada
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EPCR	Receptor endotelial de proteína C
HMGB-1	Proteína do grupo de alta mobilidade
IL	Interleucina
LPS	Lipopolissacarídeo
MYD88	Proteína de diferenciação mielóide 88
NOD	Domínio de oligomerização ligante de nucleotídeo
PAI-1	Inibidor do ativador do plasminogênio
PAM	Pressão arterial média
PAS	Pressão arterial sistólica
PCR	Proteína C reativa
PMRP	Padrões moleculares relacionados aos patógenos
RNA	Ácido ribonucleico
RRP	Receptores de reconhecimento de padrão
SDMO	Síndrome da disfunção de múltiplos órgãos
SIRS	Síndrome da resposta inflamatória sistêmica
SSC	Campanha de sobrevivência à sepse
TFPI	Inibidor do caminho do fator tecidual
TLR	Receptores tipo Toll
TNF	Fator de necrose tumoral
TREM-1	Receptores de gatilho expressos em células mielóides
UTI	Unidade de terapia intensiva

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS DO ARTIGO EM INGLÊS

CARS	Compensatory anti-inflammatory response syndrome
CI	Confidence interval
CRP	C-reactive protein
CSF	Cerebrospinal fluid
DBP	Diastolic blood pressure
DIC	Disseminated intravascular coagulation
EPCR	Endothelial protein C receptor
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HMGB-1	High-mobility group protein B1
ICU	Intensive care unit
IL	Interleukin
LPS	Lipopolysaccharides
MAP	Median arterial pressure
MOFS	Multiple organ failure syndrome
MR	Mean rank
NLM	National Library of Medicine
NOD	Nucleotide-binding oligomerization domain
PAI-1	Plasminogen activator inhibitor-1
PAMPs	Pathogen-associated molecular patterns
PRRs	Pattern recognition receptors
RNA	Ribonucleic acid
SBP	Systolic blood pressure
SD	Standard deviation
SIRS	Systemic inflammatory response syndrome
SSC	Surviving Sepsis Campaign
TFPI	Tissue factor pathway inhibitor
TLRs	Toll-like receptors
TNF	Tumor necrosis factor
TREM-1	Triggering receptors expressed on myeloid cells

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>18</b>
2.1 ESTRATÉGIAS PARA LOCALIZAR E SELECIONAR AS INFORMAÇÕES .....	18
2.2 ASPECTOS CONCEITUAIS DE SÍNDROME DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA, SEPSE, SEPSE GRAVE E CHOQUE SÉPTICO.....	18
2.3 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA SÍNDROME DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA, DA SEPSE, DA SEPSE GRAVE E DO CHOQUE SÉPTICO.....	20
2.4 ASPECTOS DA FISIOPATOGENIA DA SÍNDROME DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA, DA SEPSE, DA SEPSE GRAVE E DO CHOQUE SÉPTICO.....	21
<b>2.4.1 Aspectos imunológicos e de coagulação na Sepsis .....</b>	<b>25</b>
2.5 DIAGNÓSTICO DE SEPSE .....	27
<b>2.5.1 Atual.....</b>	<b>27</b>
<b>2.5.2 Biomarcadores na Sepsis.....</b>	<b>28</b>
<b>3 MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>34</b>
<b>4 JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>35</b>
<b>5 OBJETIVOS .....</b>	<b>36</b>
5.1 OBJETIVO PRINCIPAL.....	36
5.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS .....	36
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO .....</b>	<b>37</b>
<b>7 ARTIGO.....</b>	<b>46</b>
<b>8 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>74</b>
<b>9 PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>75</b>
<b>ANEXO A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....</b>	<b>76</b>
<b>ANEXO B - Instrumento de coleta de dados.....</b>	<b>78</b>



## 1 INTRODUÇÃO

Sepse, sepse grave e choque séptico são algumas das condições mais comuns manejadas na Sala de Emergência e Unidades de Tratamento intensivo, sendo que a mortalidade permanece entre 30% e 60%, a despeito da antibioticoterapia e suporte cardiovascular e respiratório. A sepse é definida como a presença (provável ou documentada) de infecção junto com manifestações sistêmicas de infecção. A sepse grave é definida como sepse mais disfunção de órgãos ou hipoperfusão de tecido induzida por sepse. O choque séptico é a hipotensão induzida por sepse persistente apesar da ressuscitação hídrica adequada.<sup>1,2</sup>

O processo da sepse é complexo, uma síndrome dinamicamente controlada na qual vários processos imunológicos são ativados e regulados. De acordo com o último Guideline, publicado em 2013 pelo Surviving Sepsis Campaign (SSC), o reconhecimento precoce da sepse e a rápida e adequada terapia nas primeiras horas provavelmente influencia o desfecho de pacientes sépticos. Recentemente, o conceito de dissonância imunológica no processo de sepse, permite uma abordagem do aspecto terapêutico da imunoestimulação. O primeiro passo crítico, no entanto, é identificar quais os pacientes que verdadeiramente se beneficiariam com esta terapia.<sup>2,3,4</sup>

Alguns biomarcadores têm sido estudado para o diagnóstico de sepse. Recentemente, neutrófilo CD64 demonstrou ser um marcador sensível e específico para a infecção sistêmica e sepse. A membrana da molécula definida por anticorpo monoclonal de CD64 é um receptor de alta afinidade encontrada em monócitos normais e expresso apenas em baixos níveis de neutrófilos normais. A expressão do neutrófilo CD64 é regulada de uma forma gradual, em paralelo com o grau de resposta inflamatória a um processo clínico significativo de infecção ou lesão do tecido. A expressão de CD64 é estável à temperatura ambiente durante mais de 30 horas, em contraste com a expressão de outros antígenos de neutrófilos. Com isso, a expressão do neutrófilo CD64 mostrou ser um marcador altamente sensível (> 95

%) e específico para a infecção sistêmica e sepse em adultos, neonatos e crianças.<sup>5,6,7,8,9</sup>

A expressão quantitativa de CD64 em neutrófilos tem sido estudada como um indicador de infecção e SIRS, havendo evidências de que pode discriminar entre sepse e SIRS não-séptica. Estudos mostraram que a medida do CD64 pode permitir aos clínicos interromper o tratamento antimicrobiano se negativo dentro de 24 horas de suspeita de infecção, sem a necessidade de esperar pelos resultados microbiológicos definitivos. Um estudo mostrou diferença estatisticamente significativa entre infecção viral e bacteriana em pacientes com artrite reumatóide e infectadas. Outro estudo realizado em crianças mostrou níveis de CD64 significativamente mais altos em infecção bacteriana quando comparada com infecção viral.<sup>10,11,12,13,14,15</sup>

O teste para detecção de neutrófilos CD64 é um ensaio de quimioluminescência comercialmente disponível, com a sensibilidade analítica de 0,1 ng / ml e analisados com um luminômetro. Os resultados podem ser disponibilizados no prazo de 60 minutos, o que lhe confere importância por sua rapidez. Esse biomarcador pode ser comparado posteriormente com outros marcadores de infecção, como Proteína C reativa (PCR) já que estudos mostraram alta sensibilidade e especificidade deste para infecção, sabendo que algumas doenças não infecciosas também podem elevar os níveis de PCR no sangue. São necessários estudos para detecção de pontos de corte para avaliação de valores diagnósticos e prognósticos do CD64 na sepse.<sup>16,17,18,19,20,21</sup>

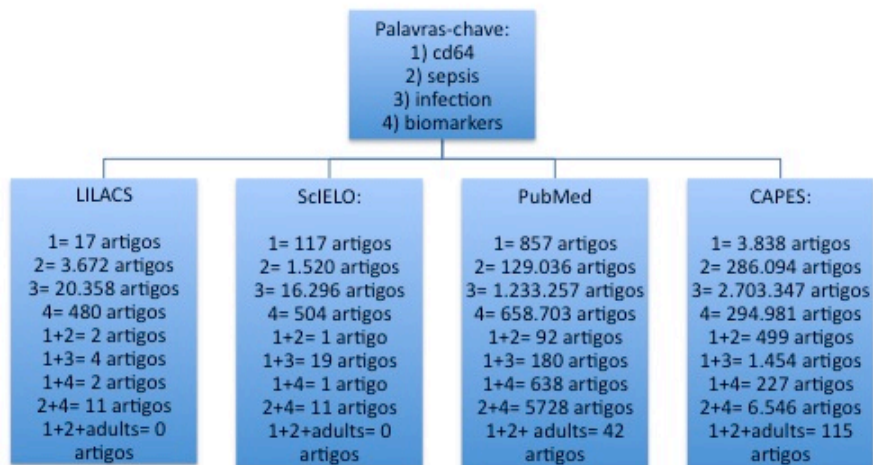
Este trabalho originou um artigo que está sendo elaborado de acordo com as normas técnicas da Revista Emergency Medicine Journal, para a qual será submetido para apreciação. A estrutura da apresentação desta dissertação segue as normas do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 ESTRATÉGIAS PARA LOCALIZAR E SELECIONAR AS INFORMAÇÕES

Na revisão da literatura apresenta-se os conceitos abordados durante a pesquisa do presente estudo, bem como explica-se a fisiopatologia da Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS) e a da sepse, relacionando o diagnóstico e prognóstico desta enfermidade com biomarcadores, em especial o CD64. A estratégia de busca envolveu as seguintes bases de dados: PubMed, LILACS, SciELO e o banco de teses da CAPES. Utilizaram-se artigos com datas de publicação entre 1992 e 2014. Os termos utilizados nas buscas foram "*Infection*", "*sepsis*", "*biomarkers*" e "*CD64*", e suas combinações (figura 1).

**Figura 1 - Estratégia de busca de referências bibliográficas sobre as bases que fundamentam os objetivos deste estudo**



Fonte: Elaborado pela autora, 2014

### 2.2 ASPECTOS CONCEITUAIS DE SÍNDROME DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA, SEPSE, SEPSE GRAVE E CHOQUE SÉPTICO

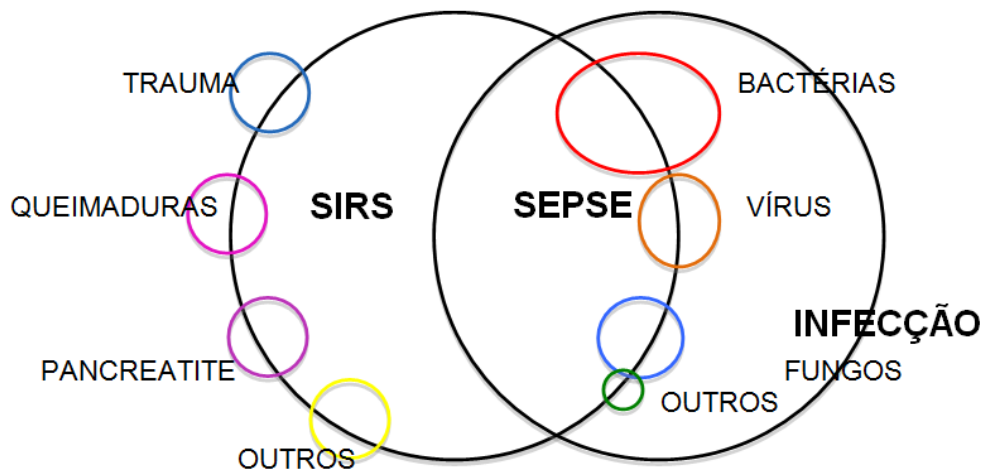
O processo inflamatório é uma reação normal do hospedeiro como forma de responder a agressões por trauma, infecções ou qualquer injúria. Pode ocorrer de forma localizada ou adquirir uma repercussão sistêmica. A resposta inflamatória sistêmica (SIRS) representa uma resposta fisiopatológica complexa para variadas

possibilidades de injúria. Sua principal complicação é a síndrome da disfunção de múltiplos órgãos (SDMO), que apresenta relevante mortalidade<sup>22</sup>.

O conceito de SIRS foi elaborado em uma conferência do American College of Chest Physicians e a Society of Critical Care Medicine, em agosto de 1992, em Chicago<sup>23</sup>, com objetivo de desenvolver parâmetros de fácil aplicação e ampla disponibilidade em ambiente clínico, assim possibilitando o diagnóstico precoce e identificação de candidatos em potencial para avaliação de novos tratamentos para a sepse<sup>2</sup>. Dessa forma, a definição de SIRS aborda alterações clínicas e laboratoriais básicas, sendo que a presença de 2 ou mais dos critérios seguintes configuram o quadro: febre ou hipotermia (Temperatura corporal  $>38^{\circ}\text{C}$  ou  $<36^{\circ}$ ); frequência respiratória  $>20\text{mrpm}$  (taquipneia) ou pressão parcial de  $\text{CO}_2$  no sangue arterial  $<32\text{mmHg}$ ; frequência cardíaca  $>90\text{bpm}$ ; aumento ou redução significativa do número de leucócitos no sangue periférico ( $>12.000$  ou  $<4.000$  células/ $\text{mm}^3$ ) ou presença de mais de 10% ( $>500$ ) leucócitos jovens (bastões)<sup>1</sup>. Apesar desses parâmetros que conceituam SIRS terem sido definidos em consenso, são criticados pela alta sensibilidade e baixa especificidade, que abrange condições clínicas com prognósticos variados<sup>24</sup>.

Para temas relacionados à infecção, adotam-se nomenclaturas e definições específicas para facilitar a comunicação. Sendo assim, infecção microbiana é caracterizada como resposta inflamatória desencadeada pela presença de micro-organismos ou invasão de um tecido previamente estéril; bacteremia, a presença de bactérias no sangue; e sepse, uma resposta inflamatória sistêmica contra infecção provável ou documentada, acompanhada das mesmas manifestações definidas para SIRS, mas não limitadas a elas<sup>25</sup>. Sepse grave é definida como sepse mais disfunção de órgãos ou hipoperfusão de tecidos. Hipotensão induzida por sepse, é caracterizado pela presença de PAS  $<90\text{mmHg}$  ou PAM  $<70\text{mmHg}$  ou queda na PAS  $>40\text{mmHg}$  ou menos de dois desvios padrão abaixo do normal para a idade na ausência de outras causas de hipotensão. Choque séptico é definido como hipotensão persistente induzida por sepse, apesar da ressuscitação fluida adequada. Hipoperfusão tecidual induzida por sepse está relacionada com hipotensão induzida por infecção, com aumento do lactato e com oligúria<sup>26</sup>.

Figura 2 - Interrelações dos conceitos de SIRS, Sepse e Infecção



Fonte: Adaptado de Bone, 1992.<sup>22</sup>

As críticas ao conceito de SIRS são devidas ao fato de que os critérios que definem SIRS são sensíveis a ponto de incluir doenças não infecciosas e que não apresentam processo inflamatório. Porém, um estudo mostrou que a taxa de mortalidade era maior quanto mais critérios de SIRS os pacientes apresentavam<sup>27</sup>, e por sua facilidade de utilização, a definição de SIRS parece ser apropriada para o diagnóstico e tratamento precoce desta afecção, bem como parece ter aumentado o número de pesquisas envolvendo SIRS e sepse<sup>24,28</sup>.

### 2.3 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA SÍNDROME DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA, DA SEPSE, DA SEPSE GRAVE E DO CHOQUE SÉPTICO

A epidemiologia da SIRS é pouco relatada. Entre alguns estudos, Horeczko T et al pesquisou durante 4 anos pacientes adultos que chegavam às emergências de hospitais dos EUA e constatou que 17,8% desses apresentaram SIRS<sup>29</sup>. Outro estudo analisou uma amostra de 3.708 pacientes e constatou taxa de mortalidade de 7% por SIRS sem sepse, ou seja, na ausência de causa infecciosa<sup>27</sup>.

Pesquisas envolvendo dados epidemiológicos da sepse são mais facilmente encontrados. De forma geral, a sepse ocorre em cerca de 2% de todas as internações nos países desenvolvidos. A sepse pode ocorrer entre 6 e 30% de todos os pacientes da unidade de terapia intensiva (UTI), sendo esta variação substancial

atribuída à grande heterogeneidade entre os tipos de UTIs, por exemplo, UTI para pacientes traumatizados ou UTI para pacientes cardiológicos, dentre outras.<sup>28,30</sup> Na maioria dos países desenvolvidos, a incidência de sepse grave foi identificada como sendo entre 50 e 100 casos por 100.000 pessoas da população em geral<sup>28,31</sup>. A incidência de sepse é 3-4 vezes maior, refletindo a percentagem relativa de pacientes que desenvolvem disfunção de órgãos e, portanto, atendem às definições mais graves (sepse grave ou choque séptico)<sup>28,31</sup>. Estudos mostram que a sepse está associada com estimativas anuais nos EUA de 750.000 internações, 570.000 consultas no Serviço de Emergência, 200.000 mortes e 16,7 bilhões em gastos médicos<sup>31,32,33,34</sup>.

A incidência de sepse é afetada por uma série de fatores específicos do paciente. É reconhecido que a idade é um importante componente de aumento do risco para desenvolver sepse, assim como uma variedade de comorbidades. Talvez as mais óbvias sejam condições como infecção pelo HIV, câncer e diabetes, cada um dos quais podem alterar o sistema imune<sup>35</sup>. As infecções respiratórias são, invariavelmente, a causa mais comum de sepse, sepse grave e choque séptico<sup>28,31,35,36</sup>. Muitos estudos epidemiológicos recentes revelam que as bactérias Gram-positivas se tornaram a causa mais comum de sepse nos últimos 25 anos<sup>28,31</sup>.

A incidência de sepse, sepse grave e choque séptico está aumentando. Os avanços no reconhecimento precoce e tratamento mostram diminuição das taxas de mortalidade dos pacientes que desenvolvem sepse, porém, como a incidência desta aumentou nos últimos anos, o número de pessoas que morrem todos os anos continua aumentando<sup>28,31,37</sup>. Com isso, esforços em busca de diagnóstico e tratamento precoce de sepse devem continuar sendo incentivados.

#### 2.4 ASPECTOS DA FISIOPATOGENIA DA SÍNDROME DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA, DA SEPSE, DA SEPSE GRAVE E DO CHOQUE SÉPTICO

A síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS) relaciona as alterações que ocorrem no organismo devido ao curso do processo inflamatório. Esse processo ocorre por reações aos estímulos excessivos de mediadores inflamatórios ou às injúrias por processos infecciosos ou não infecciosos<sup>38,39,40</sup>.

A resposta inflamatória, como componente central dos mecanismos de defesa e limpeza do organismo, atua através da liberação de mediadores químicos que vão orientar o processo inflamatório com objetivo de manter a homeostasia do sistema. Os mediadores químicos são recrutados para orientar as alterações do organismo na eliminação de agentes lesivos, como micro-organismos, endotoxinas ou outros processos de agressão. Esses são os verdadeiros responsáveis por desencadear as manifestações clínicas e patológicas da inflamação, sepse e choque<sup>38,39,40,41,42</sup>.

A resposta inflamatória inicia com o reconhecimento de uma agente lesivo e o recrutamento dos mediadores inflamatórios que irão atuar nos pequenos vasos, desencadeando os fenômenos de vasodilatação das arteríolas, aumento da capacidade do vaso, aumento da permeabilidade vascular e recrutamento de leucócitos<sup>43,44</sup>.

Apesar dessas reações visarem o benefício do organismo, uma resposta pró-inflamatória excessiva ocasiona a perda da homeostasia, uma falha circulatória grave acompanhada de alterações metabólicas e reações em cadeia que podem evoluir para uma disfunção de múltiplos órgãos<sup>42</sup>.

A vasodilatação diminui o retorno venoso, o débito cardíaco fica reduzido, diminuindo, portanto, a perfusão tissular. Na persistência do débito cardíaco reduzido ocorre uma vasoconstrição das arteríolas periféricas, na tentativa de manter a pressão sanguínea. A vasoconstrição e a estase sanguínea, com redução progressiva da perfusão tissular desencadeiam o metabolismo anaeróbio, produzindo acidose láctica que causa vasodilatação, reduzindo mais ainda o retorno venoso. Somando-se a isso ocorre hipertensão pulmonar, diminuição do débito do ventrículo direito e redução da oxigenação sanguínea<sup>44</sup>.

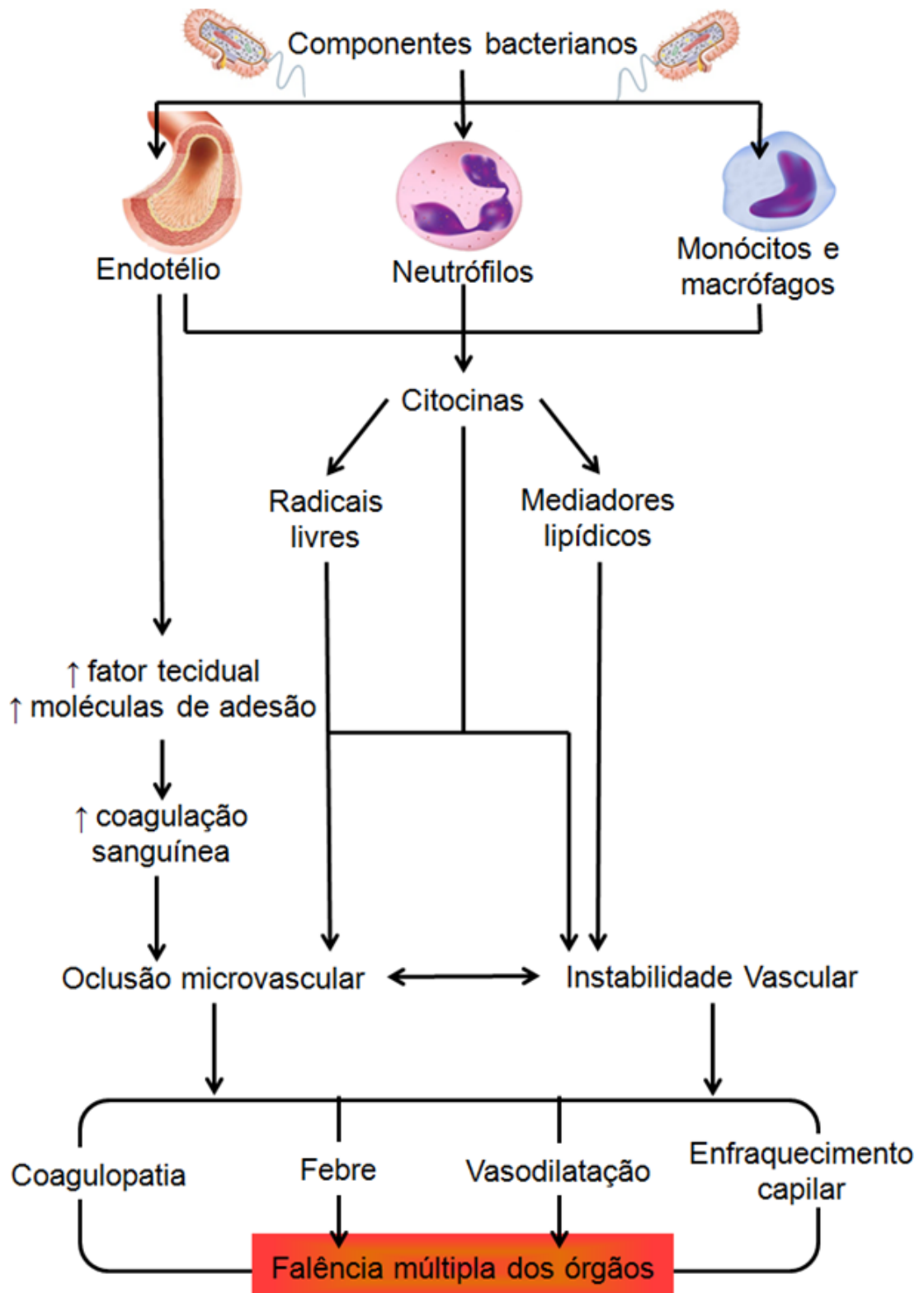
A permeabilidade vascular aumentada, através do espaçamento das junções das células interendoteliais, permite que proteínas plasmáticas deixem o vaso, resultando na perda de fluidos para o interstício, causando edema e hipotensão. A hipoproteinemia e hemoconcentração aumentam a viscosidade sanguínea e a estase nos capilares periféricos, resultando em calor, rubor e dor. Além disso, os leucócitos circulantes, predominantemente neutrófilos, por quimiotaxia atravessam o endotélio e migram para os tecidos em injúria. Quando ativados, podem liberar enzimas proteolíticas e metabólitos tóxicos que vão desencadear dano tecidual. O endotélio danificado atrai maior quantidade de leucócitos e plaquetas, as quais, aderidas à parede do vaso ocluem a microvasculatura, reduzindo o fluxo sanguíneo,

aumentando o desequilíbrio entre a oferta e demanda de oxigênio, que por sua vez já está aumentada pela demanda solicitada pelos mediadores<sup>40</sup>.

A partir desse contexto compreende-se que a síndrome da resposta inflamatória sistêmica, iniciada a partir de uma vasodilatação periférica com aumento da permeabilidade vascular pode diminuir volume sanguíneo e associar-se ao fator depressor do miocárdio, liberado pelo pâncreas em isquemia, e ter consequências que evoluem para redução da perfusão tecidual, hipóxia, isquemia e morte. Assim, a compreensão da fisiopatologia e critérios de SIRS são essenciais para o reconhecimento e tratamento precoce, na tentativa de restabelecer o equilíbrio e evitar a síndrome da disfunção de múltiplos órgãos (SDMO).



Figura 3 - Fisiopatogenia da Sepses



### 2.4.1 Aspectos imunológicos e de coagulação na Sepses

Na sepses ocorrem as mesmas manifestações clínicas definidas para SIRS, porém a resposta inflamatória está relacionada a um agente infeccioso provável ou documentado. O estabelecimento da infecção, e conseqüentemente o desenvolvimento de sepses, depende de uma complexa interação entre os mecanismos de defesa do hospedeiro e dos fatores de virulência e escape dos patógenos<sup>26</sup>.

A primeira linha de defesa contra as infecções é a resposta imune inata. Antes mesmo da interação direta entre células de defesa e agente infeccioso, há uma série de barreiras que constituem a defesa imune inata, tais como as anatômicas (pele, como barreira mecânica; mucosas, com cílios e produção de muco), fisiológicas (temperatura corporal; baixo pH em alguns sítios; e mediadores químicos, como lisozima, interferon, complemento), fagocíticas e inflamatórias. Uma vez que o patógeno entre em contato com as células imunes inatas, estas reconhecem os patógenos por padrões moleculares relacionados aos patógenos (PMRP), moléculas fixas expressas por grupos de patógenos, as quais geralmente são determinantes para a virulência e sobrevivência do agente. Por essas moléculas serem compartilhadas por muitos patógenos, o reconhecimento dos PMRP providencia uma defesa ampla, porém pouco específica, ou seja, a defesa é rápida, porém limitada. Os PMRP são identificados a partir da ligação aos receptores de reconhecimento de padrão (RRP), expressos na membrana das células imunes inatas<sup>46</sup>.

O exemplo mais bem estudado dessa interação PMRP-RRP são os receptores tipo Toll (TLR), como o TLR-4, que, expresso por macrófagos, células dendríticas e neutrófilos<sup>38</sup>, reconhece e se liga ao lipopolissacarídeo (LPS) das bactérias gram-negativas, além de possivelmente estar envolvido na identificação de proteínas virais. Da mesma forma, há um receptor tipo Toll para identificação de bactérias gram-positivas, o TLR-2, que se liga ao peptidoglicano destas<sup>39</sup>. Outras moléculas da família tipo Toll desempenham papel similar na resposta imune inata. Sabe-se que o TLR-3 está envolvido na identificação de RNA dupla hélice; o TLR-5 reconhece flagelina e o TLR-9 diferencia sequências CpG não metiladas do DNA bacteriano<sup>40</sup>.

A ligação dos TLR com seus padrões respectivos ativa uma cascata de sinalização intracelular que culmina com a secreção e liberação de citocinas, e com o desenvolvimento de inflamação e SIRS. A evolução do quadro para sepse grave e choque séptico é fortemente influenciada por certos fatores nessa rota, tanto por polimorfismos nos TLR<sup>47</sup> quanto pela liberação excessiva ou não de TNF-alfa e IL-1<sup>48</sup>.

Na sinalização intracelular após a ligação do receptor tipo Toll e do PMRP, participam as proteínas intracelulares NOD (nucleotid-binding oligomerization domain) e MyD88 (myeloid differentiation protein 88)<sup>42</sup>. Essa interação culmina na ativação do NF- $\kappa$ B, um fator nuclear para ativação de genes e transcrição de inúmeras citocinas relacionadas a SIRS<sup>43</sup>, tais como 1 (IL-1), 2 (IL-2), 6 (IL-6), 8 (IL-8), 12 (IL-12), TNF- $\alpha$  (fator de necrose tumoral alfa) e TNF- $\beta$  (fator de necrose tumoral beta)<sup>44</sup>. Na sepse, além das citocinas pró-inflamatórias citadas, também são produzidas citocinas anti-inflamatórias, tais como as interleucinas 4 (IL-4), 5 (IL-5), 10 (IL-10), 11 (IL-11) e 13 (IL-13), relacionadas à tolerância<sup>49</sup>.

Essa produção simultânea de mediadores pró e anti-inflamatórios é regulada principalmente pelos monócitos/macrófagos<sup>44</sup>, seja ativando mais linfócitos T helper 1 (o que estimula síntese de citocinas inflamatórias e acontece caso o macrófago fagocite bactérias ou células necróticas) ou mais linfócitos T helper 2 (que induz secreção geradora de tolerância, caso sejam fagocitadas células apoptóticas)<sup>50</sup>. Qualquer desequilíbrio destas duas condições, na sepse, está relacionado com mortalidade, seja pela evolução do quadro para sepse grave e choque séptico – influenciada por TNF-alfa e IL-1 – ou por uma indução excessiva da resposta anti-inflamatória. Essa energia leva a um estado de imunossupressão e susceptibilidade aos patógenos, o qual, na sepse, recebe diferentes denominações: imunoparalisia, janela de imunodeficiência ou síndrome da resposta antinflamatória compensatória<sup>44</sup>.

A ativação da cascata de coagulação também é um fator importante observado na sepse e principalmente no choque séptico<sup>51</sup>. Esse sistema é ativado pela expressão de fator tecidual e pela inibição dos fatores anticoagulantes endógenos - antitrombina III, proteína C, proteína S e o inibidor do caminho do fator tecidual (TFPI, tissue factor pathway inhibitor), os quais aceleram a fibrinólise<sup>44</sup>. Na sepse e no choque séptico, além da expressão de fator tecidual estar aumentada (o

que ocorre por dano endotelial mediado por citocinas pró-inflamatórias, LPS ou mesmo hipóxia), os anticoagulantes endógenos encontram-se em níveis reduzidos. Isso pode dever-se ao fato de que LPS e TNF- $\alpha$  reduzem os níveis de trombomodulina e do receptor endotelial de proteína C (EPCR, endothelial protein C receptor), dois mediadores da ativação da proteína C. Além disso, LPS e TNF- $\alpha$  também aumentam os níveis de inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1, plasminogen activator inhibitor-1)<sup>50</sup>, o que inibe a fibrinólise.

Níveis reduzidos de antitrombina também estão relacionados à sepse. Taxas de mortalidade de 90-100% estão descritas em pacientes cirúrgicos e sépticos após traumas que tenham níveis de antitrombina abaixo de 70% e 60%, respectivamente<sup>52</sup>. Os níveis séricos de antitrombina, quando reduzidos, também são um preditor de infecção ou de curso complicado em pacientes politraumatizados<sup>53</sup>. Ainda, níveis de antitrombina abaixo de 54% no primeiro dia de sepse grave é um preditor independente de morte<sup>54</sup>.

No contexto de sepse e choque séptico, a ativação da cascata de coagulação é preocupante quando ocasiona o desenvolvimento da coagulação intravascular disseminada (CIVD). Esse quadro caracteriza-se por ativação intravascular da coagulação, formação e deposição de fibrina na microvasculatura, consumo de plaquetas e alterações na fibrinólise<sup>44</sup>. Uma vez que gera obstrução disseminada do fluxo vascular para órgãos e tecidos, pode levar à disfunção múltipla de órgãos e a um risco aumentado de hemorragia grave (coagulopatia por consumo de fatores de coagulação), estando, conseqüentemente, associada a altas taxas de mortalidade.

## 2.5 DIAGNÓSTICO DE SEPSE

### 2.5.1 Atual

Atualmente utilizamos culturais para definirmos sepse provada, ou seja, dois ou mais critérios de SIRS e um ou mais germes identificados em meios de cultura caracterizam sepse. Porém, muitos testes para identificar germes demoram cerca de 48 horas para ter seu resultado liberado. Este tempo é considerado longo demais para o início do tratamento da sepse, sepse grave e choque séptico.

Além disso, muitas vezes a coleta de material para cultura é realizada de forma inadequada, tendo que ser repetida após tentativa de ser analisada em

laboratório, retardando ainda mais um resultado positivo, ou seja, um cultural com crescimento de germe. Esta é a principal limitação destes testes diagnósticos atuais, e a que mostra a maior necessidade de estudos que pesquisem exames com resultados mais rápidos na confirmação de sepse.

### **2.5.2 Biomarcadores na Sepse**

Um grande número de substâncias biológicas tem sido investigado como biomarcadores candidatos e/ou mediadores da sepse. Proteína C reativa (CRP), procalcitonina, interleucina 6 (IL-6) e interleucina 18 (IL-18) são consideradas úteis no diagnóstico, bem como na classificação de gravidade da sepse, embora com limitações<sup>9,12</sup>. Mais recentemente, as tentativas de demonstrar a utilidade clínica como biomarcadores de sepse foram documentadas para uma ampla variedade de moléculas, incluindo a proteína do grupo de alta mobilidade (HMGB-1) e receptores de gatilho expressos em células mielóides (TREM-1). Alguns biomarcadores de sepse, como as citocinas, também são considerados importantes mediadores da sepse e a modulação dessas substâncias é de importância terapêutica<sup>55</sup>. Além disso, aposta-se que a delimitação de um uso conjunto de múltiplos marcadores moleculares e/ou escores de prognósticos mais precisos da gravidade poderá permitir a previsão do desfecho da sepse<sup>56</sup>.

O CD64 é um biomarcador que está recebendo destaque em estudos recentes, como possível diagnóstico na sepse. Este antígeno de superfície é um receptor da família das imunoglobulinas normalmente expresso em monócitos e fracamente em neutrófilos maduros não ativados<sup>12</sup>. Quando sua expressão é forte nos neutrófilos, significa que eles foram ativados, indicando a presença de infecção bacteriana ou fúngica aguda<sup>56</sup>. Conclui-se que esse antígeno representa um processo fisiológico que desempenha um papel chave na resposta imune inata: neutrófilos que atuam como fagócitos<sup>58,59,60,61</sup>.

A expressão desse antígeno foi proposta como um marcador de diagnóstico para a avaliação de infecção<sup>62</sup>. A concentração do CD64 aumenta de cinco a dez vezes durante a resposta à infecção bacteriana em RN prematuros e em crianças<sup>63</sup>, o que sugere que ele pode ser um instrumento útil na identificação precoce da

doença<sup>12,64</sup>. Conclui-se que há um aumento dos níveis de expressão de CD64 em neutrófilos no início da sepse<sup>64</sup>.

O CD64 possui várias características que o tornam adequado para a aplicação clínica: em neutrófilos em repouso, sua expressão é baixa e, após a ativação, sua expressão aumenta significativamente. Uma vez que o estímulo de ativação desaparece, a expressão de CD64 retorna ao seu nível basal em poucos dias<sup>65</sup>. Além disso, o CD64 é relativamente estável após a coleta de sangue, o ensaio para sua detecção é simples, requerendo apenas pequenos volumes de amostra.

O PubMed é um base de dados da literatura internacional da área médica e biomédica, produzida pela NLM (National Library of Medicine, USA) e que contém referências bibliográficas e resumos de mais de 5.000 títulos de revistas publicadas nos Estados Unidos e em outros 70 países. A atualização da base de dados é mensal. Foi realizada uma pesquisa no PubMed, utilizando-se as palavras-chave "CD64 and sepsis", selecionando o filtro adicional de publicações dos últimos 5 anos ( de 2009 a 2014). Nessa pesquisa foram encontrados 43 artigos. Destes, foram escolhidos os artigos que continham as palavras-chave no título, restando 26 publicações. Destas, 20 eram estudos em crianças e/ou neonatos, e foram excluídos da pesquisa. Os principais achados dos 6 artigos que restaram, referentes a estudos com CD64 na sepse em adultos publicados nos últimos 5 anos, estão dispostos na tabela a seguir.

**Tabela 1 - Os principais achados dos 6 artigos selecionados, referentes a estudos com cd64 na sepse em adultos publicados nos últimos 5 anos, estão dispostos na tabela a seguir.**

Autor (es)	Amostra e Metodologia	Resultados	Conclusão
Icardi M, et al, 2009 <sup>9</sup>	Dosagem de CD64 de sangue periférico de 109 adultos, analisados em conjunto com hemoculturas dos mesmos, durante 2 meses. Avaliar também o impacto deste teste nas finanças do laboratório.	Índices de CD64 <ou = 1,19 foi preditivo de " não crescimento" em resultados da hemocultura. Um índice de > 1,19 foi preditiva de um diagnóstico clínico e / ou por cultura de infecção com uma sensibilidade e uma especificidade de 94,6 % e 88,7 % ,	O índice de CD64 é um teste útil e barato para melhorar o diagnóstico e tratamento de pacientes com infecção bacteriana. Ele pode ser facilmente realizados por laboratórios clínicos e poderia resultar em uma economia

		respectivamente . Os valores preditivos positivos e negativos foram de 89,8% e 94% , respectivamente.	considerável para a instituição.
Gámez-Díaz LY, at al 2011 <sup>66</sup>	Níveis de CD64 foram coletados e medidos durante as primeiras 24 horas após a primeira avaliação na Emergência de 631 pacientes adultos com qualquer um dos seguintes diagnósticos de internação: 1) suspeita de infecção , 2) febre, 3) delírio, ou 4) hipotensão aguda de origem inexplicável dentro de 24 horas de apresentação na Emergência, para medir a acurácia do CD64 e outros biomarcadores na sepse.	A sensibilidade do CD64 para o diagnóstico de sepse foi 65,8 % (IC 95% = 61,1% a 70,3 %) e a especificidade foi 64,6 % ( IC de 95 % = 57,8 % a 70,8 % ).	Neste grupo de pacientes com suspeita de qualquer infecção na Emergência, a precisão do CD64 , s-TREM- 1 , e HMGB - 1 não foi significativamente sensível ou específico para o diagnóstico de sepse.
Hoffmann JJ, 2011 <sup>12</sup>	Revisão da literatura sobre a aplicação do CD64 como um biomarcador da sepse.	Os dados disponíveis indicam que o CD64 parece ter alta sensibilidade (86%) e especificidade (87%) na sepse, mas a qualidade metodológica da maioria dos estudos é questionável.	CD64 parece ser um teste diagnóstico de sepse melhor do que testes hematológicos tradicionais, proteína C-reativa e, provavelmente, ainda procalcitonina.
Lewis SM, at al, 2008 <sup>55</sup>	Investigar o plasma de 22 pacientes com sepse, e analisar se alterou a expressão das moléculas de	A maioria das amostras de plasma de doentes com sepse aumentou a percentagem de neutrófilos que ostentam CD64 ( 69	As mudanças no fenótipo de neutrófilos por fatores circulantes podem facilitar a sua ligação ao endotélio , o que pode ser um fator

	adesão em neutrófilos de sangue normais.	% das amostras contra 17 % de amostras de plasma normal , $P < 0,001$ ). Este efeito não foi observado com plasma de pacientes com infecções adquiridas na comunidade que não desenvolveram sepse, nem com plasma de pacientes com inflamação aguda ou crônica que não tinham evidência de infecção.	importante na indução de disfunção orgânica na sepse grave.
Gerrits JH, et al, 2013 <sup>56</sup>	Observar se o índice CD64 poderia discriminar entre pacientes sépticos (n=25) e pacientes cirúrgicos no pós-operatório (SIRS; n= 19 ), ambos internados na terapia intensiva unidade (UTI), e comparar com um grupo controle de 24 pacientes ambulatoriais. E se o índice de CD64 foi um melhor diagnóstico em comparação com exames padrões utilizados para esse fim.	CD64 estava mais elevado em pacientes sépticos quando comparado tanto com o grupo de SIRS quanto com o grupo controle ( $p < 0,0001$ ). CD64 demonstrou maior sensibilidade e especificidade do que a PCR , contagem de leucócitos, neutrófilos e eosinófilos na sepse.	CD64 pode ser usado para diagnóstico de rotina na sepse de pacientes na UTI .
Dimoula A, et al, 2014 <sup>67</sup>	CD64 foi dosado na admissão e diariamente até a alta ou óbito de 468 pacientes admitidos nos leitos cirúrgicos	Pacientes sépticos apresentaram maior expressão de CD64 na admissão do que os pacientes não séptico ( $P < .001$ ), com uma	Medição de expressão CD64 na admissão na UTI, especialmente quando combinado com concentrações de PCR, é útil no



	<p>da UTI. Nível de Proteína C-reativa ( CPR) foi medido de forma rotineira nesses pacientes.</p>	<p>sensibilidade de 89 % ( 81 % -94 % ) e uma especificidade de 87 % ( 83 % -90 % ). Ao combinar a PCR e a expressão de CD64, um resultado anormal para ambos foi associado com uma probabilidade de 92% de sepse, enquanto a sepse foi descartada com uma probabilidade de 99% , se ambos eram normais. Pacientes sépticos que receberam antibióticos empíricos inadequados tinham CD64 persistentemente elevados, enquanto os valores diminuíram ao longo do tempo em pacientes que receberam antibióticos apropriados.</p>	<p>diagnóstico de sepse. Determinações em série de CD64 poderia ser utilizado para fins de controle.</p>
--	---	---	--

Fonte: Elaborado pela autora, 2014

Como pode-se observar na tabela acima, os principais dados obtidos dos estudos sobre CD64 e sepse foram os seguintes:

Icardi M et al, demonstrou sensibilidade e especificidade de 94,6% e 88,7%, respectivamente, para hemoculturas com crescimento bacteriano relacionados a valores de CD64 acima do ponto de corte. Valores preditivos positivos e negativos foram de 89,8% e 94%, respectivamente. Também demonstrou que o teste acarreta baixo custo para a instituição<sup>9</sup>.

Gámez Diaz et al, foram avaliadas sensibilidade e especificidade do teste em pacientes com suspeita de infecção, sendo de 65,8% e 64,6%. Estes índices não foram significativos para o diagnóstico de sepse<sup>66</sup>.

Em revisão de literatura sobre aplicação do CD64 na sepse, Hoffmann JJ demonstrou que este tem sensibilidade de 86% e especificidade de 87% na sepse, porém questiona a metodologia dos estudos<sup>12</sup>.

Ao avaliar a expressão de CD 64 no plasma de pacientes sépticos, Lewis SM et al. demonstrou aumento estatisticamente significativo do biomarcador nestes pacientes. Demonstrou ainda que pacientes com infecções crônicas ou agudas que não desenvolveram sepse não apresentaram a mesma expressão do CD64<sup>55</sup>.

Gerrits JH et al., comparou o índice de CD 64 entre pacientes sépticos, pacientes apresentando SIRS por pós-operatório e grupo de controle de pacientes ambulatoriais. Neste estudo, o CD 64 foi mais elevado nos pacientes sépticos quando comparado aos demais, sendo a diferença estatisticamente significativa. Demonstrou ainda que o CD 64 foi mais sensível e específico do que a PCR e contagem de leucócitos<sup>56</sup>.

Dimoula A et al., dosou diariamente CD64 e proteína C reativa em pacientes de UTI. A expressão de CD64 foi maior em pacientes sépticos ( $p < 0,001$ ), com sensibilidade e especificidade de 89% e 87%. Quando combinados resultados de PCR e CD64, o valor preditivo positivo para sepse foi de 92%, e o valor preditivo negativo de 99%. Também houve diminuição dos valores de CD64 quando os pacientes receberam antibióticos apropriados, enquanto pacientes com antibioterapia inadequada permaneceram com CD64 elevado<sup>67,68</sup>.

Esta Revisão originou o artigo de título Review of the Literature: Sepsis and Neutrophil Cd64 ", o qual foi publicado e pode ser encontrado no link abaixo:

[HTTP://JACOBSPUBLISHERS.COM/IMAGES/BIOMARKERS/J\\_J\\_BIOMARK\\_1\\_2\\_010.PDF](http://jacobspublishers.com/images/biomarkers/J_J_BIOMARK_1_2_010.pdf).

### **3 MARCO TEÓRICO**

Com base nesta revisão da Literatura, percebe-se que o diagnóstico preciso da sepse, sepse grave e choque séptico permanece atrasado com os exames diagnósticos utilizados de rotina na maioria dos Serviços de Emergências até o presente. Estudos estão sendo realizados com o intuito de buscar um diagnóstico precoce e, se possível, um prognóstico para estas enfermidades clínicas. Biomarcadores são o alvo destes estudos, porém numa grande esfera destes biomarcadores, buscam-se os mais específicos.

Pesquisas com o CD64 mostraram valor diagnóstico e prognóstico do mesmo com boa sensibilidade e especificidade na sepse, sendo um teste com rapidez no resultado, o que incentivou delinear o presente estudo.

#### 4 JUSTIFICATIVA

A partir desta base teórica, observa-se que sepse, sepse grave e choque séptico são comuns nas Salas de Emergência, tendo uma mortalidade consideravelmente alta. Os métodos de rotina para a detecção destas condições clínicas são inespecíficos e requerem certo tempo, o que posterga o início da antibioticoterapia. Alguns biomarcadores se mostraram específicos para tal enfermidade, como no caso do CD64, e com relativa rapidez no diagnóstico da mesma.

Há necessidade de estudos brasileiros sobre a CD64 em pacientes sépticos, para definição de pontos de corte deste marcador para sepse. Estudando o valor prognóstico de biomarcadores na sepse poderemos saber antecipadamente qual o paciente necessita uma intervenção mais agressiva, iniciando a mesma precocemente.

Um estudo com o CD64 será importante para o Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e outros hospitais, podendo agilizar e direcionar o tratamento de pacientes com suspeita de sepse no Serviço de Emergência destas instituições.

## 5 OBJETIVOS

### 5.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Estabelecer a acurácia do CD64 em pacientes com SIRS, sepse presumida e sepse definida.

### 5.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

1. Dosar os níveis de CD64 no sangue dos pacientes que chegam ao Serviço de Emergência do HCPA com SIRS, e após 48h da primeira coleta.
2. Descrever a característica geral da amostra;
3. Descrever os resultados dos exames coletados;
4. Descrever o tempo médio de internação, o tempo médio de antibioticoterapia e a mortalidade intra-hospitalar dos pacientes que preencherem os critérios de inclusão do presente estudo;
5. Correlacionar os níveis de CD64 com o tempo médio de internação, o tempo médio de antibioticoterapia e a mortalidade intra-hospitalar dos pacientes que preencherem os critérios de inclusão do presente estudo.
6. Comparar o resultado deste estudo com estudos publicados na literatura.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO

1. Ulla M, Pizzolato E, Lucchiari M, Laiacono M, Soardo F, Forno D, et al. Diagnostic and Prognostic Value of Presepsin in the Management of sepsis in the Emergency Department: A Multicentre Prospective Study: 2013. *Critical Care* 2013, 17: R168.
2. 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. *Crit Care Med* 2013 Feb; 41(2):580-637.
3. Sáenz JJ, Izura JJ, Manrique A, Sala F, Gaminde I: Early Prognosis in Severe Sepsis Via Analyzing the Monocyte Immunophenotype: 2001. *Intensive Care Med* (2001) 21: 970-977.
4. Monneret G, Venet F, Pachot A, Lepape A: Monitoring Immune Dysfunctions in the Septic Patient: A New Skin for the Old Ceremony. *Mol Med* 2008,14:64-78
5. Venet F, Lepape A, Monneret G. Clinical review: flow cytometry perspectives in the ICU - from diagnosis of infection to monitoring of injury-induced immune dysfunctions  
*Crit Care*. 2011; 15(5): 231. Published online 2011 October 7. doi: 10.1186/cc10333 PMID: PMC3334725
6. Kumar A, Ellis P, Arabi Y, Roberts D, Light B, Parrillo JE, Dodek P, Wood G, Simon D, Peters C, Ahsan M, Chateau D. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. *Chest*. 2009;136:1237–1248. doi: 10.1378/chest.09-0087. [PubMed] [[Cross Ref](#)]
7. Davis BH, Olsen SH, Ahmad E, Bigelow NC. Neutrophil CD64 is an improved indicator of infection or sepsis in emergency department patients. *Arch Pathol Lab Med*. 2006;130:654–661. [PubMed]

8. Bhandari V, Wang C, Rinder C, Rinder H. Hematologic profile of sepsis in neonates: neutrophil CD64 as a diagnostic marker. *Pediatrics*. 2008;121:129–134. doi: 10.1542/peds.2007-1308. [PubMed] [Cross Ref]
9. Icardi M, Erickson Y, Kilborn S, Stewart B, Grief B, Scharnweber G. CD64 index provides simple and predictive testing for detection and monitoring of sepsis and bacterial infection in hospital patients. *J Clin Microbiol*. 2009;47:3914–3919. doi: 10.1128/JCM.00628-09. [PMC free article][PubMed] [Cross Ref]
10. Hirsh M, Mahamid E, Bashenko Y, Hirsh I, Krausz MM. Overexpression of the highaffinity Fc gamma receptor (CD64) is associated with leukocyte dysfunction in sepsis shock. 2001; 16: 102-8
11. Groselj-Grenc M, Ihan A, Derganc M. Neutrophil and monocyte CD64 and CD163 expression in critically ill neonates and children with sepsis: comparison of fluorescence intensities and calculated indexes. *Mediators Inflammation*. 2008 (doi: 10.1155/2008/202646)
12. Hoffmann JJ. Neutrophil CD64: a diagnostic marker for infection and sepsis. *Clin Chem Lab Med*. 2009;47:903–916. doi: 10.1515/CCLM.2009.224.
13. Alvarez MC, Suassuna J, Alvarez Perez, Mario Castro. *Epidemiologia, diagnóstico, marcadores de imunocompetência e prognóstico da sepse*. 2009; xii, 106 f. : il
14. Mokuda S, Doi O, Takasugi K. Simultaneous quantitative analysis of the expression of CD64 and CD35 on neutrophils as markers to differentiate between bacterial and viral infections in patients with rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol*. 2012 Sep;22(5):750-7. doi: 10.1007/s10165-011-0587-4. Epub 2012 Jan 12.
15. Rudensky B, Sirota G, Erlichman M, Yinnon AM, Schlesinger Y. Neutrophil CD64 expression as a diagnostic marker of bacterial infection in febrile children presenting to a hospital emergency department. *Pediatr Emerg Care*. 2008 Nov;24(11):745-8. doi: 10.1097/PEC.0b013e31818c2679.

16. International Clinical Cytometry Society. Laboratory and Clinical Practice for Monitoring Sepsis with Neutrophil CD64 Index: Seven Year Experience at Cincinnati Children's Hospital Medical Center (CCHMC). VOL. II No. 2, SPRING 2011.
17. Terence Chan, Frank Gu. Early Diagnosis of Sepsis Using Serum Biomarkers. *Expert Rev Mol Diagn.* 2011;11(5):487-496.
18. Zecca E, Barone G, Corsello M et al. Reliability of two different bedside assays for C-reactive protein in newborn infants. *Clin. Chem. Lab. Med.* 47(9), 1081–1084 (2009).
19. Groselj-Grenc M, Ihan A, Pavcnik-Arnol M, Kopitar AN, Gmeiner-Stopar T, Derganc M. Neutrophil and monocyte CD64 indexes, lipopolysaccharide-binding protein, procalcitonin and C-reactive protein in sepsis of critically ill neonates and children. *Intensive Care Med.* 35(11), 1950–1958 (2009).
20. Cetinkaya M, Ozkan H, Koksall N, Celebi S, Hacimustafaoglu M. Comparison of serum amyloid A concentrations with those of C-reactive protein and procalcitonin in diagnosis and follow-up of neonatal sepsis in premature infants. *J. Perinatol.* 29(3), 225–231 (2009).
21. Nuutila J, Hohenthal U, Laitinen L et al. Simultaneous quantitative analysis of FcγRI (CD64) expression on neutrophils and monocytes: a new, improved way to detect infections. *J. Immunol. Methods* 328(1–2), 189–200 (2007).
22. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ, The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest.* 1992;101:1644–55. doi: 10.1378/chest.101.6.1644.
23. Balk R. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS). *Virulence,* 5(1), pp.20-26.



24. Brito M. Síndrome da resposta inflamatória sistêmica: denominação possivelmente aplicável a fenômenos dermatológicos. *An. Bras. Dermatol.*, Rio de Janeiro, v. 82, n. 4, Aug. 2007.

25. Bone R. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *CHEST*. 1992;101(6):1644.

26. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al; SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS: 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003; 31:1250–1256

27. Rangel-Frausto M. The epidemiology of bacterial sepsis. *Infect Dis Clinics N Am* 13:299, 1999. 7.

28. Martin, G. (2012). Sepsis, severe sepsis and septic shock: changes in incidence, pathogens and outcomes. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 10(6), pp.701-706. America. 1999;13(2):299-312.

29. Horeczko T, Green J, Panacek E. Epidemiology of the Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) in the Emergency Department. *WestJEM*. 2014;15(3):329-336.

30. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit. Care Med*. 2006;34(2):344–353.

31. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, et al. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003;348:1546–54.

32. Danai P, Martin GS. Epidemiology of sepsis: recent advances. *Curr. Infect. Dis. Rep*. 2005;7(5):329–334.

33. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001;29:1303–10.
34. Wang, H., Szychowski, J., Griffin, R., Safford, M., Shapiro, N. and Howard, G. (2014). Long-term mortality after community-acquired sepsis: a longitudinal population-based cohort study. *BMJ Open*, 4(1), pp.e004283-e004283.
35. Danai PA, Sinha S, Moss M, Haber MJ, Martin GS. Seasonal variation in the epidemiology of sepsis. *Crit. Care Med.* 2007;35(2):410–415.
36. Esper AM, Moss M, Lewis CA, Nisbet R, Mannino DM, Martin GS. The role of infection and comorbidity: factors that influence disparities in sepsis. *Crit. Care Med.* 2006;34(10):2576–2582.
37. Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J, Paz HL. Rapid increase in hospitalization and mortality rates for severe sepsis in the United States: a trend analysis from 1993 to 2003. *Crit. Care Med.*2007;35(5):1244–1250.
38. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2001;1(2):135-45.
39. Van Der Poll T, Opal SM. Host-pathogen interactions in sepsis. *Lancet Infect Dis.* 2008;8(1):32-43. Review
40. Flohé SB, Agrawal H, Schmitz D, Gertz M, Flohé S, Schade FU. Dendritic cells during polymicrobial sepsis rapidly mature but fail to initiate a protective Th1-type immune response. *J Leukoc Biol.* 2006;79(3):473-81.
41. Hubacek JA, Stüber F, Fröhlich D, Book M, Wetegrove S, Ritter M, et al. Gene variants of the bactericidal/permeability increasing protein and lipopolysaccharide binding protein in sepsis patients: gender-specific genetic predisposition to sepsis. *Crit Care Med.* 2001;29(3):557-61.

42. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature*. 2002;420(6917):885-91.
43. Carneiro MC, Siqueira-Batista R. O mosaico patogênico da pancreatite aguda grave. *Rev Col Bras Cir*. 2004;31(6):391-7
44. Siqueira-Batista, Rodrigo et al. Sepse: atualidades e perspectivas. *Rev. bras. ter. intensiva*, São Paulo, v. 23, n. 2, jun. 2011
45. LOLIS, E.; BUCALA R. Therapeutic approaches to innate immunity: severe sepsis and septic shock. *Nat. Rev. Drug Discov*. **2003**, 2, 635-645.
46. Goldsby, R.A.; Kindt, T.J. & Osborne, B.A. *Kuby Imunologia*. 4th edition. Rio de Janeiro, Revinter, 2002. 662 p.
47. Moura, H. V.; Pomerantzeff, P. M. A.; Gomes, W. J. Síndrome da resposta inflamatória sistêmica na circulação extracorpórea: papel das interleucinas. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 16(4): 376-87, 2001.
48. *BMJ Open* 2014;4:e004283 doi:10.1136/bmjopen-2013-004283; Infectious diseases; Long-term mortality after community-acquired sepsis: a longitudinal population-based cohort study; Henry E Wang, Jeff M Szychowski, Russell Griffin, Monika M Safford, Nathan I Shapiro, George Howard
49. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, Schmiegel RE JR, Hui JJ, Chang KC, et al. Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4+ T lymphocytes in humans. *J Immunol*. 2001;166(11):6952-63. 15
50. Goldman L, Ausiello D. *Cecil: Tratado de Medicina Interna*. 22th edition. Rio de Janeiro:ELSEVIER, 2005.
51. Lobo SM, Lobo FRM. Markers and mediators of inflammatory response in infection and sepsis. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2007;19(2):210-5.

52. Wilson RF, Mammen EF, Robson MC et al - Antithrombin, prekallikrein, and fibronectin levels in surgical patients. *Arch Surg*, 1986; 121:635-640.

53. Penner J - Antithrombin deficiency in special clinical syndromes-Part II: trauma/burns. *Semin Hematol*, 1995;32:(Suppl2):42-48.

54. Dhainaut JF, Shorr AF, Macias WL et al - Dynamic evolution of coagulopathy in the first day of severe sepsis: relationship with mortality and organ failure. *Crit Care Med*, 2005; 33:341-348.

55. Lewis SM, Treacher DF, Bergmeier L, Brain SD, Chambers DJ, Pearson JD, Brown KA. Plasma from patients with sepsis up-regulates the expression of CD49d and CD64 on blood neutrophils. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 162009 Jun;40(6):724-32. doi: 10.1165/rcmb.2008-0252OC. Epub 2008 Nov 14 PMID: 19011162

56. Gerrits JH, Mclaughlin PM, Nienhuis BN, Smit JW, Loef B. Polymorphic mononuclear neutrophils CD64 index for diagnosis of sepsis in postoperative surgical patients and critically ill patients. *Clin Chem Lab Med*. 2013 Apr;51(4):897-905. PMID: 23045384

57. Li S, Huang X, Chen Z, Zhong H, Peng Q, Deng Y, Qin X, Zhao J: Neutrophil CD64 expression as a biomarker in the early diagnosis of bacterial infection: a meta-analysis. *Int J Infect Dis* 2012. p. 12-23.

58. Jalava-Karvinen, P.U. Hohenthal, I. Laitinen et al., "Simultaneous quantitative analysis of FcγRI (CD64) and CR1 (CD35) on neutrophils in distinguishing between bacterial infections, viral infections, and inflammatory diseases," *Clinical Immunology*, 2009 p. 314–323

59. Song SH, Kim HK, Park MH, Cho HI. Neutrophil CD64 expression is associated with severity and prognosis of disseminated intravascular coagulation. *Thromb Res* 2008 p. 499-507.

60. Ng, P, Li G. Neutrophil CD64 is a sensitive diagnostic marker for early-onset neonatal infection, *Pediatric Research*, 2004 p. 796–803.

61. Streimish, I. M. Bizzarro, V. Northrup, et al., “Neutrophil CD64 as a diagnostic marker in neonatal sepsis,” *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 2012. p. 777–781.

62. Gros A, Roussel M, Sauvadet E, Gacouin A, Marqué S, Chimot L, Lavoué S, Camus C, Fest T, Le Tulzo Y. The sensitivity of neutrophil CD64 expression as a biomarker of bacterial infection is low in critically ill patients. *Intensive Care Med*. 2012. p. 445–452.

63. Joan Cid, Reyes Aguinaco, Rafael Sánchez, Graciano García-Pardo, Andreu Llorente J. Neutrophil CD64 expression as marker of bacterial infection: a systematic review and meta- analysis. *Infect*. 2010. p. 313–319.

64. Hsu KH, Chan MC, Wang JM, et al. Comparison of Fcg receptor expression on neutrophils with procalcitonin for the diagnosis of sepsis in critically ill patients. *Respirology* 2011. p.152–160.

65. Tillinger W, Jilch R, Jilma B, Brunner H, Koeller U, Lichtenberger C et. al. Expression of the high-affinity IgG receptor FcRI (CD64) in patients with inflammatory bowel disease: a new biomarker for gastroenterologic diagnostics. *Am J Gastroenterol* 2009 p. 102-104.

66. Gámez-Díaz LY, Enriquez LE, Matute JD, Velásquez S, Gómez ID, Toro F, Ospina S, Bedoya V, Arango CM, Valencia ML, De La Rosa G, Gómez CI, García A, Patiño PJ, Jaimes FA. Diagnostic accuracy of HMGB-1, sTREM-1, and CD64 as markers of sepsis in patients recently admitted to the emergency department. *Acad Emerg Med*. 2011 Aug;18(8):807-15. doi: 0.1111/j.1553-2712.2011.01113.x.

67. Dimoula A, Pradier O, Kassengera Z, Dalcomune D, Turkan H, Vincent JL. Serial Determinations of Neutrophil CD64 Expression for the Diagnosis and

Monitoring of Sepsis in Critically Ill Patients. *Clin Infect Dis*. 2014 Mar;58(6):820-9. doi: 10.1093/cid/cit936. Epub 2013 Dec 20 PMID: 24363321

68. Ponte S T D. Review of the Literature: Sepsis and Neutrophil Cd64. *J J Biomark*. 2015, 1(2): 010.

**7 ARTIGO****DIAGNOSTIC ACCURACY OF CD64 FOR SEPSIS IN EMERGENCY  
DEPARTMENT**

**Author: Silvana Teixeira Dal Ponte<sup>1</sup>**

**Coauthors: Ana Paula Alegretti<sup>2</sup>, Diogo André Pilger<sup>3</sup>, Gabriela Petitot Rezende<sup>4</sup>, Giordanna Andrioli<sup>1</sup>, Helena Cocolichio Ludwig<sup>4</sup>, Luciano Diogo<sup>1</sup>, Luciano Zubaran Goldani<sup>6</sup>, Melina Loreto<sup>7</sup>, Pauline Simas Machado<sup>3</sup>, Renato Seligman<sup>8</sup>**

**1. Emergency physician, Department of Emergency Services, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Brazil.**

**2. Biochemical pharmacist, Department of Clinical Pathology, HCPA, Porto Alegre, Brazil.**

**3. Professor of Pharmacy, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil.**

**4. Medical student, UFRGS, Porto Alegre, Brazil**

**5. Pharmacy student, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.**

**6. Infectologist, Head of Infectology, HCPA, Porto Alegre, Brazil.**

**7. Resident in internal medicine, HCPA, Porto Alegre, Brazil.**

**8. Pneumologist, Associate Professor of Internal Medicine Department UFRGS, Porto Alegre, Brazil.**

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Sepsis is a systemic inflammatory response to suspected or confirmed infection. Clinical evaluations are essential for its early detection and treatment. Blood cultures may take as long as two days to yield a result, and are not always reliable. However, recent studies have suggested that neutrophil CD64 expression may be a sensitive and specific alternative for the diagnosis of systemic infection.

**OBJECTIVE:** To analyze the difference in CD64 values between subjects with systemic inflammatory response syndrome (SIRS), suspected or confirmed sepsis, who meet diagnostic criteria for SIRS upon arriving at an emergency department.

**METHOD:** This was a prospective observational cohort study, an accuracy study of CD64 prospectively evaluated. The sample consisted of 109 patients aged 18 years with criteria for SIRS on arrival to emergency department. CD64 expression was measured within 6 hours of hospital admission, and once again after 48 h.

**RESULTS:** ROC curve analysis suggested that a cutoff of 1.45 for CD64 expression could diagnose sepsis with a sensitivity of 0.85, a specificity of 0.75, an accuracy of 82.08%, a positive predictive value of 0.96, a negative predictive value of 0.38 and a positive likelihood ratio of 3.33. The area under the curve was 0.83.

**CONCLUSION:** CD64 appears to be a useful, sensitive and specific biomarker in discriminating between SIRS and sepsis.



## 1 INTRODUCTION

Inflammation is a normal response to tissue damage caused by trauma, infection, or other types of injury, and may be either localized or systemic. In some cases, these factors may also trigger a complex physiopathological response known as the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). Its most frequent complication is multiple organ failure syndrome (MOFS), which is associated with significant mortality rates<sup>1</sup>.

The concept of SIRS was first introduced in a conference held by the American College of Chest Physicians and the Society of Critical Care Medicine in Chicago, in August 1992<sup>1</sup>, in an attempt to establish easily measurable parameters which could be widely used for the early diagnosis and identification of potential candidates for new sepsis treatments in clinical settings<sup>2</sup>. SIRS is diagnosed based on basic clinical and laboratory findings. It can be defined by the presence of at least two of the following symptoms: fever or hypothermia (body temperature  $> 38^{\circ}\text{C}$  or  $< 36^{\circ}$ ); respiratory rate  $> 20$  rpm (tachypnea) or partial arterial  $\text{CO}_2$  pressure  $< 32$  mmHg; heart rate  $> 90$  bpm; significantly increased or decreased peripheral leukocyte counts ( $> 12,000$  or  $< 4,000$  cells/ $\text{mm}^3$ ) or presence of more than 10% ( $> 500$ ) immature neutrophils (bands). Although these parameters were developed by consensus, they have been criticized for their high sensitivity and low specificity, which includes several clinical conditions which vary widely in their prognostic implications<sup>3</sup>.

The discussion of infection and related topics relies on the use of specific terms and definitions to facilitate communication. Microbial infections are defined as inflammatory responses triggered by the presence of microorganisms or by the contamination of healthy tissue, while bacteremia refers to the presence of bacteria in the blood<sup>4</sup>. Sepsis, on the other hand, is characterized by a systemic inflammatory response to suspected or confirmed infection. Its symptoms include, but are not limited to, those observed in patients with SIRS<sup>5</sup>. Severe sepsis is defined as sepsis associated with organ dysfunction or tissue hypoperfusion. Sepsis-induced hypotension is diagnosed if SBP  $< 90$ mmHg, MAP  $< 70$ mmHg or if SBP decreases by  $> 40$ mmHg or is less than two standard deviations below expected age levels, and no other causes of hypotension can be identified. Septic shock is defined as persistent sepsis-induced hypotension, despite adequate fluid resuscitation. Sepsis-

induced hypoperfusion is associated with infection-induced hypotension, elevated plasma lactate and oliguria<sup>6</sup>.

Sepsis, severe sepsis and septic shock are among the most common conditions in emergency departments and intensive care units (ICUs), and are associated with high mortality rates, despite antibiotic treatment and respiratory and cardiovascular support. Sepsis is estimated to occur in approximately 2% of all hospitalizations in developed countries. In ICUs, sepsis may occur in 6 to 30% of patients, depending on the type of unit surveyed (e.g. trauma, cardiology).<sup>7,8</sup> In most developed countries, the incidence of severe sepsis is estimated to range from 50 to 100 cases per 100,000 people<sup>7,9</sup>. The incidence of sepsis is 3-4 times higher, since only a percentage of patients develop organ dysfunction and, therefore, meet criteria for more severe conditions (severe sepsis or septic shock)<sup>7,10</sup>. In the United States, sepsis is responsible for approximately 750,000 hospitalizations, 570,000 emergency room visits, 200,000 deaths and US\$16.7 billion in medical expenditures every year<sup>9,10,11,12</sup>.

The incidence of sepsis is affected by a series of patient-specific factors. Age is known to be an important contributor to sepsis risk, as is the presence of certain clinical comorbidities. Conditions such as HIV infection, cancer and diabetes are especially relevant in this regard, not least due to their impact on the immune system<sup>13</sup>. The most common causes of sepsis, severe sepsis and septic shock are respiratory infections<sup>7,10,13,14</sup>. Recent epidemiological studies have found that most cases of sepsis over the past 25 years can be attributed to Gram-positive bacteria<sup>7,10</sup>.

The incidence of sepsis, severe sepsis and septic shock has been increasing steadily. As such, despite the decrease in sepsis-associated mortality rates due to advances in early diagnosis and treatment, the absolute number of deaths from these conditions continues to increase<sup>7,10,15</sup>. This situation underscores the importance of continued research into the early diagnosis and treatment of sepsis.

Sepsis is a complex and dynamic syndrome, which involves the activation and regulation of several immune functions. According to the latest guidelines published by the Surviving Sepsis Campaign (SSC) in 2013, early identification and adequate treatment in the first few hours after a diagnosis of sepsis are likely to have a significant influence on patient outcome.

Some studies have also focused on the search for diagnostic biomarkers for sepsis. Recent investigations have found neutrophil CD64 expression to be a sensitive and specific marker of systemic infection and sepsis. The CD64 monoclonal antibody is a high-affinity immunoglobulin receptor found in normal monocytes as well as some resting neutrophils. CD64 expression in neutrophils is regulated in a graded fashion which parallels the extent of the inflammatory response to infection or tissue damage. Additionally, unlike other neutrophil antigens, CD64 levels in anticoagulated blood samples can remain stable for more than 30 hours at room temperature. CD64 expression in neutrophils has therefore proved to be a highly sensitive (> 95 %) and specific marker for systemic infection and sepsis in adults, children and neonates.<sup>16,17,18,19,20</sup>

The quantitative expression of CD64 in neutrophils has also been studied as a potential marker of infection and SIRS, and has been found to discriminate between sepsis and non-septic SIRS. Some studies have also found that CD64 expression during the first 24 h of suspected clinical infection can allow clinicians to discontinue unnecessary antimicrobial treatments with no need to wait for confirmation by microbiological testing.<sup>21,22,23,24,25,26</sup> CD64 neutrophil expression can be measured using commercially-available chemiluminescence kits with an analytical sensitivity of 0.1 ng / ml, and analyzed with a luminometer. Results may be obtained in as little as 60 minutes, which has contributed to the wide usage of the test.<sup>27,28,29,30,31,32</sup>

The main goal of this study was to determine the diagnostic and prognostic value of CD64 levels in patients with sepsis, ie, establish the accuracy of CD64 in patients with SIRS, sepsis documented and presumed sepsis. Additional goals included the development of cutoffs for SIRS and sepsis, and the study of correlations between CD64 expression and the length of hospitalization, the duration of antibiotic treatment, as well as in-hospital mortality.

## 2 MATERIALS AND METHODS

### 2.1 STUDY DESIGN

This was a prospective observational cohort study.

The project of this study foi approved by the committee of ethics and of HCPA, number 130438.

### 2.2 SAMPLES

Inclusion criteria were: All patients with SIRS in the HCPA Emergency with 6 hours of admission. Of the patients who met the selection criteria, a free informed consent for all patients who agreed to participate was applied, or their families, if the patient was not able to sign. Blood for CD64 measurements was collected from all patients with SIRS seen at the emergency department of the HCPA within 6 h of hospital admission. An additional sample was collected after 48 h of hospitalization. According to the American College of Chest Physicians, SIRS is defined by the presence of at least two of the following: Body temperature  $> 38^{\circ}\text{C}$  (fever) or  $< 36^{\circ}$ (hypothermia); respiratory rate  $> 20$  breaths/minute (tachypnea) or partial arterial  $\text{CO}_2$  pressure  $< 32$  mmHg; heart rate  $> 90$  bpm; significantly increased or decreased peripheral leukocyte counts ( $> 12,000$  or  $< 4,000$  cells/ $\text{mm}^3$ ) or presence of more than 10% ( $> 500$ ) immature neutrophils (bands). Sepsis was diagnosed based on the presence of confirmed or suspected infection plus SIRS.

Blood cultures are not routinely collected in the emergency department of the HCPA.

Patients were divided into the following categories based on their clinical picture upon arrival and its evolution during the first 6 h of hospitalization: SIRS, or sepsis, which included patients with both severe sepsis and septic shock. The sepsis group was further divided into suspected vs. documented sepsis, with the latter combining all patients with positive cultures. Since the concept of sepsis encompasses both suspected and confirmed infection, we reviewed all medical

records with a group of 3 specialists to discuss the cases of patients with no positive cultures. We believe that cultures were not collected in these cases because, as it often happens, fluid resuscitation and antibiotic treatment were initiated, and blood cultures were only obtained if the clinical picture worsened or if no response was seen after 48 h, which hinders the study of sepsis in adults. The high sensitivity and low specificity of diagnostic criteria for SIRS have contributed to the increase in sepsis research, since the presence of two criteria alone in addition to infection are sufficient for a diagnosis of sepsis. Then, the suspected sepsis group included patients with no cultures performed or who produced contaminated samples, who met criteria for SIRS and were clinically suspected of infection due to fever and X-ray evidence of pneumonia, or leukocyte- and nitrite-positive urine, in the absence of vasculitis, pancreatitis, burns, trauma or surgery in the current hospitalization, all of which can trigger SIRS in the absence of infection.<sup>33</sup> In this group we have not included patients with positive cultural. Patients who met criteria for SIRS but not for suspected or confirmed sepsis were placed in the SIRS group.

Exclusion criteria were: under 18 years old; They declined to participate; discharge or death before 48 hours of admission.

### 2.3 Sample size calculation

Sample size was calculated based on a previous biomarker study of presepsin, whose goals were similar to those of the present investigation. In the study performed by Ulla et al., the median presepsin values were 517 pg / ml in control participants (SIRS), 875 pg / ml in patients with sepsis and 1460 pg / ml in patients with severe sepsis/septic shock.

At baseline, the study identified a significant difference in presepsin levels between control participants and the sepsis group ( $p = 0.002$ ), and between controls and those with severe sepsis/septic shock ( $p < 0.001$ ). No significant differences were identified between the sepsis and severe sepsis/septic shock groups ( $p = 0.07$ )<sup>34</sup>.

To detect a 50% difference in CD64 expression between all groups (SIRS no sepsis, sepsis, severe sepsis/septic shock) with a statistical power of 80% and a significance of  $< 0.05$ , a total sample of 109 patients would be required. Spearman/Pearson correlation coefficients were used to investigate associations

between CD64 levels and outcomes such as the length of hospitalization, the duration of antibiotic therapy and mortality rates.

## INSTRUMENTS AND DATA COLLECTION PROCEDURES

To evaluate the role of CD64 in monitoring sepsis, serial measurements of this biomarker were required. The first of these (T0) was obtained within 6 hours of hospital admission, while the second (T1) was taken after 48 hours of hospitalization.

Blood samples for CD64 assessment were drawn into tubes containing EDTA anticoagulant by adequately trained research assistants. All samples were immediately sent to the HCPA laboratory.

Neutrophil CD64 expression was analyzed by flow cytometric immunophenotyping using the Leuko64 assay (Trillium Diagnostics, LLC, USA). Samples were analyzed in a FACSCanto II cytometer (BD Biosciences) within 24h (when kept at room temperature) or 48h (2-8°C) of collection. As per manufacturer's instructions, 50uL of reagent A (mixture of murine monoclonal antibodies) were pipetted into a test tube, to which 50uL of the patient's blood was added (if the number of leukocytes/uL < 25,000). The contents were immediately vortexed and incubated for 10 min in the dark. Then, 1 mL of reagent B (red blood cell lysing solution) was added to each test tube, which was once again incubated for 15 min in the dark. Lastly, 5 uL of Leuko64 beads (reagent C) were added to the solution, and the contents of each tube were analyzed by cytometry using the software provided by the kit manufacturer. To ensure the quality of data analysis and quantification, CD64 expression in lymphocytes was used as a negative control (lymphocytes do not express CD64), while CD163 expression was used to exclude monocytes and also as a positive control (monocytes express both CD163 and CD64). A reference value of less than 1.00 was used in this study. Neutrophils CD64 index above 1.50 were classified as evidence of infection.

Secondary data were obtained from medical records. Patients were followed until hospital discharge or death, if occurring during hospitalization.

## 2.4 STATISTICAL ANALYSIS

### **Statistical analysis:**

Continuous and normally distributed variables were described by mean and standard deviation. Variables which did not show a normal distribution were described using medians and interquartile ranges. The comparison between mean values at baseline and after 48 hours was performed using **Wilcoxon paired-sample tests**. Comparisons between all three patient groups were performed using the Kruskal-Wallis H-tests, followed by Bonferroni-corrected Mann-Whitney U tests. Results were considered significant when  $p < 0.05$ . Dichotomous variables were compared using Chi-squared or Fischer's exact tests. Cut-offs to distinguish between SIRS and sepsis were determined using ROC curves.

## Results

From June to November 2014, 109 patients met inclusion criteria for the present study. Twelve (11%) had symptoms of SIRS, 45 (41.3%) had documented sepsis, and 52 (47.7%) were suspected of sepsis. The sample had a mean age of 60.5 years, with a SD of 16.27 years. Median age was 61 (interquartile range: 51 to 72 years). Male participants made up 52.5% (n=57) of the sample. Over the course of the study, 18 patients (16.5%) died and 15 (13.8%) required mechanical ventilation.

The mean length of hospitalization was 14.64 (SD = 21.72) days. The median duration was 9 days, with an interquartile range of 5 to 16. Patients in the SIRS group (n = 12) were hospitalized for a mean of 23.83 days (SD=54). The median length of hospitalization was 5.5 days, and the interquartile range, 3 to 17. The confirmed sepsis group (n = 45) was hospitalized for 14.13 days on average (SD=12.75 days). The median duration of hospitalization was 11 days, and the interquartile range, 5 to 17.5. Lastly, patients with suspected sepsis (n = 45) were in the hospital for a mean of 12.96 days (SD=13.83), and a median of 8 days (interquartile range: 5 to 15 days).

The patient groups did not differ in terms of their clinical and anthropometric characteristics, or their risk factors for infection, as shown in table 1.

Table 1. General characteristics of the sample

<b>Variable</b>	<b>SIRS</b>	<b>Sepsis</b>	<b>Suspected sepsis</b>	<b><math>\alpha</math></b>
Total	(12).	(45).	(52).	
Age *	57 (35/76)	61 (49/73)	62 (53/70)	0.837 <sup>1</sup>
Male (%)**	6 (50)	26 (57.8)	25 (48.1)	0.625 <sup>2</sup>
SIRS criteria *	2.5 (2/3)	3 (2/3)	3 (2/3)	0.247 <sup>1</sup>
Length of hospitalization*	5.5 (3/17)	11 (5/17)	8 (5/15)	0.219 <sup>1</sup>
Duration of antibiotic treatment*	5 (2.5/7.5)	7 (5.5/11)	7 (5/10)	0.463 <sup>1</sup>
Antibiotic use(%)**	7 (58.3)	42 (93.3)	51 (98.1)	0.001 <sup>2</sup>



Mechanical ventilation (%)**	2 (16.7)	9(20)	4(7.7)	0.204 <sup>2</sup>
Baseline creatinine*	0.85 (0.69/1)	1.0 (0.72/1.73)	1.08 (0.69/2.0)	0.465 <sup>1</sup>
Creatinine after 48 h	0.73 (0.53/0.92)	0.84 (0.60/1.96)	0.91 (0.54/1.58)	0.788 <sup>1</sup>

\* Median and interquartile range. \*\* Absolute value and percentage, <sup>1</sup> Kruskal-Wallis H-Test, <sup>2</sup> Chi-square test.

Table 2. Positive cultures in the confirmed sepsis group

	Blood	Urine	Sputum	Ascites	Surgical wound secretion	Fasciitis	Abdominal abscess	% of total germs isolates in cultural
1.BAAR			1					1,4%
2.Bacillus SP				1				1,4%
3.Gram-positive non-coryneform bacillus	1							1,4%
4.Candida albicans	1							1,4%
5.Candida dubliniensis				1				1,4%
6.Candida sp		1						1,4%
7.Citrobacter koseri		1						1,4%
8.Burkholderia cepacia complex			1					1,4%
9.Cryptococcus neoformans	1							1,4%
10.E coli	6	14	1	1			1	33,8%
11.Enterobacter		2						2,9%
12.Enterococcus faecalis (Group D)		1						1,4%
13.Enterococcus	1	2						4,4%

SP								
14.Haemophilus SP			1					1,4%
15.Klebsiela pneumoniae	1	3	1					7,3%
16.Proteus mirabilis	1	2						4,4%
17.Providencia rettgeri		1						1,4%
18.Pseudomonas aeruginosa	1	1	2					5,8%
19.Serratia SP	1							1,4%
20.Staphylococcus aureus	2		3					7,3%
21.Staphylococcus coagulase-negative	5				2			10,2%
22.Streptococcus pneumoniae	1							1,4%
23.Hemolytic Streptococcus sp						1	1	2,9%

Baseline CD64 expression differed significantly between groups. The mean rank (MR) in the SIRS group was 22.79, while the corresponding values in the confirmed and suspected sepsis groups were 54.27 and 63.07, respectively ( $p < 0.001$ ). Post-hoc analysis revealed a significant difference in CD64 expression between the confirmed sepsis group (MR=32.63) and the SIRS group (MR=15.38), ( $p$

= 0.001). These values also differed between the suspected sepsis group (MR=36.79) and the SIRS group (MR=13.92), ( $p < 0.001$ ). However, no such differences were identified between patients with suspected (MR=52.78) and confirmed sepsis (MR=44.63), ( $p=0.155$ ).

Differences in CD64 expression remained significant after 48 hours. The MR of the SIRS group was 30.83, while that of the confirmed sepsis group was 54.13, and that of the suspected sepsis group, 61.63 ( $p < 0.01$ ). The post-hoc comparison between the MR of the SIRS group (MR=19.83) and that of the confirmed sepsis group (MR=31.44) yielded a p value of 0.03, which meet the significance threshold of 0.05. However, the MR of the suspected sepsis group (35.96) did differ from that of the SIRS group (17.5) at  $p = 0.002$ . Patients with suspected (MR=51.87) and confirmed sepsis (MR=45.69) did not differ on this variable ( $p=0.281$ ).

Figure 1. Baseline CD64 (ng/mL) First Sample SIRS, Confirmed Sepsis and Suspected Sepsis

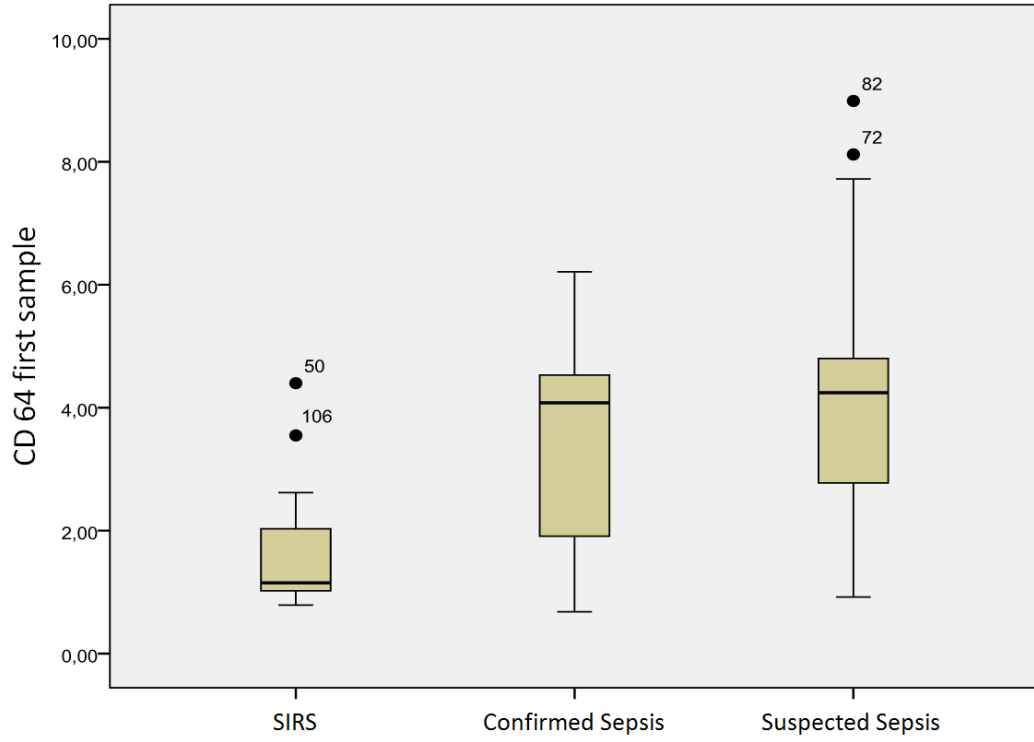
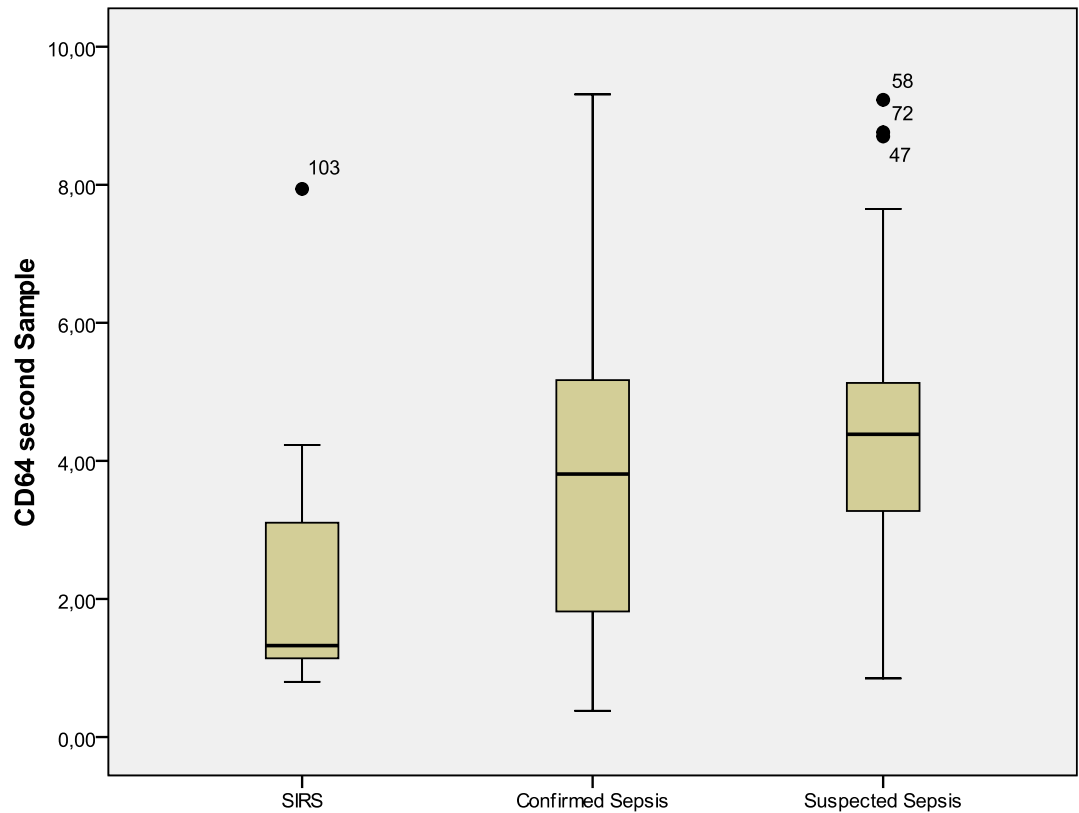


Figure 2. Baseline CD64 (ng/mL) Second Sample SIRS, Confirmed Sepsis and Suspected Sepsis



Neutrophil CD64 expression also changed significantly from baseline to 48 h after hospital admission. Mean expression at baseline was 3.52 ng/mL with a SD of 1.88, a median value of 4.01 ng/mL and an interquartile range of 1.5-4.6 . After 48 h, these

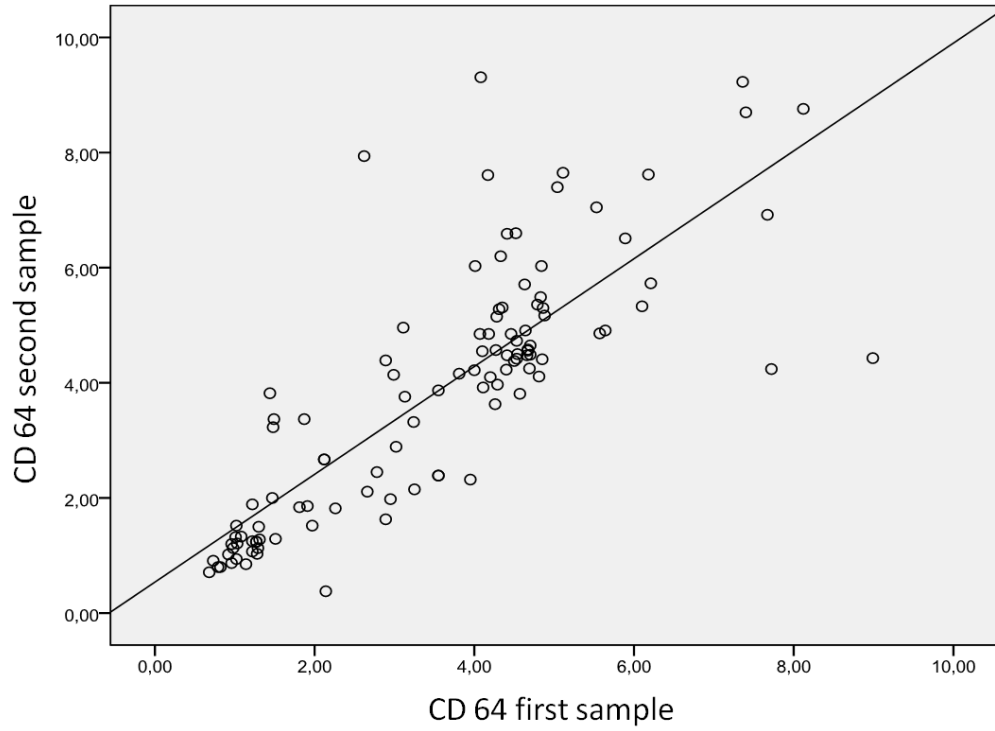
values increased to 3.83 ng/mL (SD=2.17) and 4.14 ng/mL (interquartile range: 1.83-5.05). The difference between these values was significant at  $p = 0.022$ .

At baseline, the confirmed and suspected sepsis groups combined ( $n=97$ ) had a mean CD64 index of 3.74 (SD=1.83) and a median of 4.17 ng/mL (interquartile range: 2.1-4.69). After 48h, the median increased to 4.25 ng/mL (2.05-5.22), while the mean rose to 4.02 ng/mL (SD=2.21). These values differed at  $p = 0.025$ .

In the SIRS group ( $n=12$ ), median CD64 expression at baseline was 1.5 ng/mL (interquartile range:1.02-2.32), while that observed at T1 was 1.32 ng/mL (interquartile range:1.10-3.46). The difference between these values was not significant ( $p=0.239$ ).

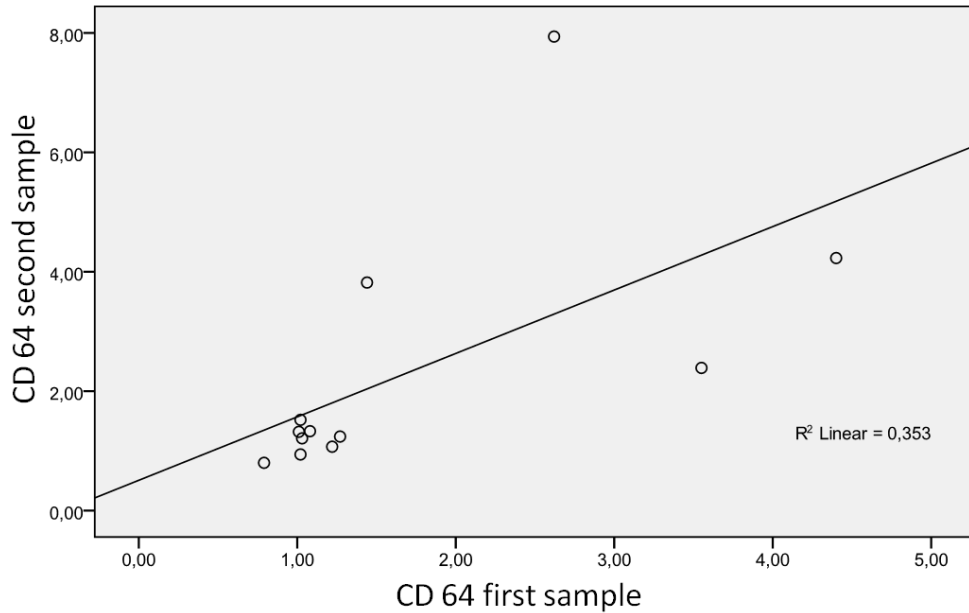
The Spearman correlation coefficient between CD64 expression at baseline and T1 was  $\rho = 0.85$ ,  $p < 0.001$ . These findings are illustrated in the dispersion graph below.

Figure 3. Correlation between CD64 expression (ng/mL) at baseline and after 48h (total sample)



Similar graphs were also produced for each participant group.

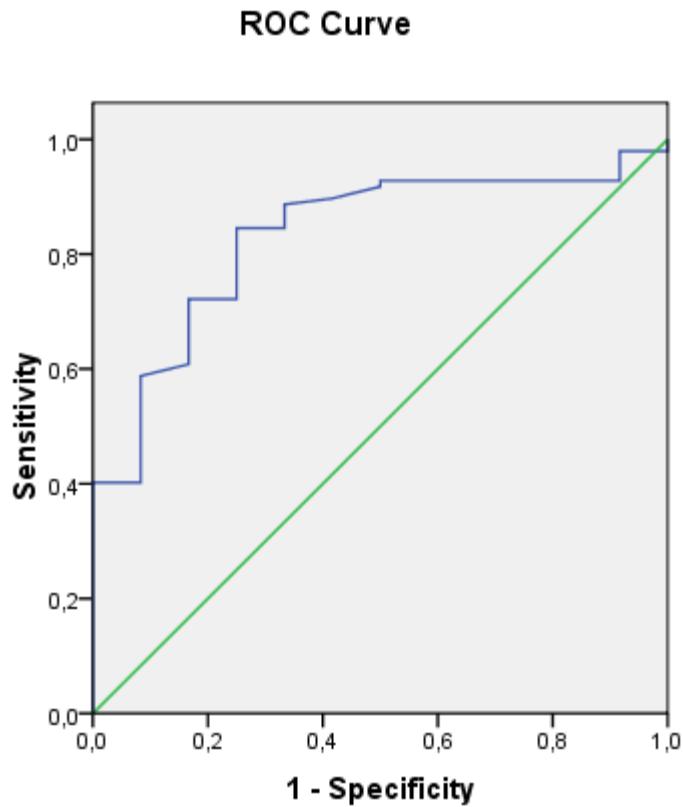
Figure 4. Correlation Between Cd64 Expression (ng/mL) at Baseline And After 48 Hours (Total Sample) Sirs – Confirmed Sepsis – Suspected Sepsis



Based on the results of the ROC curve analysis, the best cutoff for CD64 expression for sepsis diagnosis was 1.45 ng/mL. This value had a sensitivity of 0.85, a specificity of 0.75, an accuracy of 82.08%, a positive predictive value of 0.96, a negative predictive value of 0.38 and a positive likelihood ratio of 3.34. The area under the curve was 0.832.



Figure 5. The ROC curve



Diagonal segments are produced by ties.

No correlations were observed between the length of hospitalization and CD64 expression, either at baseline or after 48 h.

Similarly, no associations were observed between the duration of antibiotic treatment, patient mortality and CD64 expression

## 4 DISCUSSION

CD64 expression was able to differentiate Sepsis from SIRS with 82.1% accuracy early on admission to the emergency department. In another similar study of sepsis biomarkers, samples were collected during the first assessment (T0), as well as 24 (T1) and 72 (T2) hours after admission. These authors found significantly higher values of biomarkers at T0 as compared to T1 and T2.<sup>34</sup>

Fourteen other patients in the suspected sepsis group had no positive cultures and were highly suspected of infection. In these cases, antibiotic treatment was initiated before cultures were collected. Twelve of these patients had blood cultures, eight had urine cultures, one had a negative CSF culture, and another had a negative sputum smear. The contaminated samples included 17 sputum smears, six urine samples and only one blood culture. All patients in the severe sepsis and septic shock group had positive cultures. According to Carvalho et al., despite all efforts to isolate microorganisms from blood cultures, these tend to be positive in 34% of patients, with estimates ranging from 9 to 64%<sup>35</sup>.

It is possible to observe the importance of the CD64 in the diagnosis of sepsis in different studies. Gerdes et al. described blood cultures as the gold-standard for the diagnosis of sepsis. However, its positivity rates vary widely, and range from 30 to 87%. Therefore, to facilitate and possibly accelerate the diagnosis of sepsis, clinicians must complement their examination with additional diagnostic tests. Elevated C-reactive protein (CRP) levels have also been used as a marker for sepsis, although their negative predictive value and specificity fall short of the criteria expected for a definitive diagnostic test.<sup>36,37,38</sup>

The recent interest in using neutrophil CD64 expression as a biomarker for sepsis may be attributable to its high clinical applicability, and to the importance of early diagnosis and treatment for the prognosis of this condition. Our findings regarding the clinical utility of CD64 expression in sepsis patients corroborate those of Icardi et al., who collected blood cultures from 109 patients over the course of two months, and found that a CD64 index of 1.19 could predict a diagnosis of infection with a sensitivity of 94.6%, a specificity of 88.7%, a positive predictive value of 89.8%, and a negative predictive value of 94%. Based on these findings, the authors concluded that, in addition to being easily measured, CD64 levels may be a useful

and inexpensive tool to improve the diagnosis and treatment of patients with bacterial infection.<sup>20</sup>

Elevated levels of CD64 expression in patients with sepsis as compared to those with SIRS have also been found by other studies in the literature. In a review of the literature on the use of neutrophil CD64 expression as a biomarker for sepsis, Hoffmann analyzed eight studies with a combined sample of 907 patients. The author found that CD64 could detect infection in adult patients with a sensitivity of 88.3% (95% CI 78.1-94.1%) and a specificity of 87.6% (71.8-95.2%). The study also reviewed ten publications (n = 1323) on the diagnostic utility of neutrophil CD64 in neonates, infants and children with sepsis. In these populations, the marker had a sensitivity of 85.7% (95% CI = 77.5-91.2%) and a specificity of 87.4% (95% CI = 79.3-92.6%). All 17 studies reviewed in this investigation produced similar findings to those of the present study.<sup>23</sup>

Lewis et al. evaluated serum CD64 expression in patients with sepsis, and found a marked increase in the percentage of CD64-bearing neutrophils in these individuals (69%) as opposed to healthy subjects (17%), ( $p < 0.001$ ). Interestingly, this finding was specific to patients with sepsis, and was not observed in patients with community-acquired infections who did not develop the condition, or in those with acute or chronic inflammation with no evidence of infection. This finding reinforces the diagnostic value of CD64 in patients with sepsis.<sup>39</sup>

Gerrits et al. compared the CD64 index of patients with sepsis and SIRS admitted to an ICU with that of a control group of outpatients. The authors determined the CD64 index in residual EDTA blood samples from 25 patients with sepsis, 19 subjects with SIRS, and 24 outpatient controls. Neutrophil and eosinophil granulocyte counts were also performed, while CRP and erythrocyte sedimentation rates (ESR) were measured. The analysis revealed a higher CD64 index in patients with sepsis as compared to those with SIRS and outpatient controls ( $p < 0.0001$ ). The CD64 index had higher sensitivity and specificity than other routine tests, such as CRP and white blood cell counts.<sup>40</sup>

Dimoula et al. measured neutrophil CD64 expression in patients with sepsis upon hospital admission and daily until discharge or death. CRP levels were also measured on a routine basis. The authors found that CD64 expression could be used to detect sepsis with a sensitivity of 89% (81%-94%) and a specificity of 87% (83%-90%). The combination of CRP and CD64 levels could detect sepsis with a positive

predictive value of 92% and a negative predictive value of 99%. Additionally, the authors found that CD64 levels tended to decrease in patients receiving adequate antibiotic treatment, but remained persistently high in subjects receiving inadequate antibiotics. Based on these findings, the authors concluded that the combination of CRP and CD64 levels may contribute significantly to the diagnosis of sepsis.<sup>41,42</sup>

This study seems to have a good external validation. With the limitation of current diagnostic tests for sepsis, together with the clinical context severity of this disease, requiring early treatment for the best outcome for the patient, the great challenge studies with biomarkers in sepsis seems to be how to avoid selection bias in the definition of suspected sepsis. We observed that the allocation of patients in the suspected sepsis group was appropriate since this group behaved as documented sepsis group and differently SIRS group. This fact shows the importance of knowing that tests routinely used for diagnosis of sepsis when they are negative, overlook many patients with this clinical condition.

Although the fact our sample had a larger amount of suspected lower airways infections than urinary tract infections, our study found more germs isolated in urine culture than in sputum culture. However, in our department, asking for sputum culture is less frequent than urine culture. This limitation may be due to the fact that in case of strong suspicion of airways infection by chest radiography, with strongly suggestive of infectious cause consolidations complementing the clinical setting of the patient, sputum culture is not done routinely, in order to prioritize an early treatment.

The main limitation of the present study was the collection of patient data from medical records. In some cases, severe sepsis and septic shock were diagnosed based on blood pressure measurements after fluid administration, as registered on medical records. In a few records, this information was described in the section reserved for the doctor's diagnostic impression, which led us to combine patients with both of these conditions into a single "sepsis" group.

## **5 CONCLUSION**

The present findings are in agreement with the existing literature, and suggest that CD64 may be a useful biomarker for distinguishing between SIRS and sepsis, whether confirmed or suspected, with adequate sensitivity and specificity. CD64

measurements are comparable in speed to a hemogram, and may therefore contribute significantly to the early diagnosis and treatment of sepsis.

### Acknowledgements

We would like to thank the Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), the Emergency Department of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), FIPE HCPA, the Clinical Pathology Service of the HCPA and the Graduate Program in Medical Sciences, UFRGS.

**The authors and institutions involved in this study have no conflicts of interest.**

### 6 REFERENCES

1. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RM, Sibbald WJ, The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest*. 1992;101:1644–55. doi: 10.1378/chest.101.6.1644.
2. Balk R. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS). *Virulence*, 5(1), pp.20-26.
3. Brito M. Síndrome da resposta inflamatória sistêmica: denominação possivelmente aplicável a fenômenos dermatológicos. *An. Bras. Dermatol.*, Rio de Janeiro, v. 82, n. 4, Aug. 2007.
4. Bone R. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *CHEST*. 1992;101(6):1644.

5. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al; SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS: 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003; 31:1250–1256
6. Dellinger R, Levy M, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal S et al. Surviving Sepsis Campaign. *Critical Care Medicine*. 2013;41(2):580-637.
7. Martin, G. (2012). Sepsis, severe sepsis and septic shock: changes in incidence, pathogens and outcomes. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 10(6), pp.701-706.
8. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit. Care Med*. 2006;34(2):344-353.
9. Danai P, Martin GS. Epidemiology of sepsis: recent advances. *Curr. Infect. Dis. Rep*. 2005;7(5):329-334.
10. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, et al. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003;348:1546–54.
11. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001;29:1303–10.
12. Wang, H., Szychowski, J., Griffin, R., Safford, M., Shapiro, N. and Howard, G. (2014). Long-term mortality after community-acquired sepsis: a longitudinal population-based cohort study. *BMJ Open*, 4(1), pp.e004283-e004283.
13. Danai PA, Sinha S, Moss M, Haber MJ, Martin GS. Seasonal variation in the epidemiology of sepsis. *Crit. Care Med*. 2007;35(2):410-415.

14. Esper AM, Moss M, Lewis CA, Nisbet R, Mannino DM, Martin GS. The role of infection and comorbidity: factors that influence disparities in sepsis. *Crit. Care Med.* 2006;34(10):2576-2582.
15. Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J, Paz HL. Rapid increase in hospitalization and mortality rates for severe sepsis in the United States: a trend analysis from 1993 to 2003. *Crit.* 2003;35(5):1244-1250.
16. Venet F, Lepape A, Monneret G. Clinical review: flow cytometry perspectives in the ICU - from diagnosis of infection to monitoring of injury-induced immune dysfunctions *Crit Care.* 2011; 15(5): 231. Published online 2011 October 7. doi: 10.1186/cc10333 PMID: PMC3334725
17. Kumar A, Ellis P, Arabi Y, Roberts D, Light B, Parrillo JE, Dodek P, Wood G, Simon D, Peters C, Ahsan M, Chateau D. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. *Chest.* 2009;136:1237–1248. doi: 10.1378/chest.09-0087. [PubMed] [[Cross Ref](#)]
18. Davis BH, Olsen SH, Ahmad E, Bigelow NC. Neutrophil CD64 is an improved indicator of infection or sepsis in emergency department patients. *Arch Pathol Lab Med.* 2006;130:654–661. [PubMed]
19. Bhandari V, Wang C, Rinder C, Rinder H. Hematologic profile of sepsis in neonates: neutrophil CD64 as a diagnostic marker. *Pediatrics.* 2008;121:129-134. doi: 10.1542/peds.2007-1308. [PubMed] [[Cross Ref](#)]
20. Icardi M, Erickson Y, Kilborn S, Stewart B, Grief B, Scharnweber G. CD64 index provides simple and predictive testing for detection and monitoring of sepsis and bacterial infection in hospital patients. *J Clin Microbiol.* 2009;47:3914-3919. doi: 10.1128/JCM.00628-09. [PMC free article][PubMed] [[Cross Ref](#)]

21. Hirsh M, Mahamid E, Bashenko Y, Hirsh I, Krausz MM. Overexpression of the highaffinity Fc gamma receptor (CD64) is associated with leukocyte dysfunction in sepsis. *Shock*. 2001; 16: 102-8.

22. Groselj-Grenc M, Ihan A, Derganc M. Neutrophil and monocyte CD64 and CD163 expression in critically ill neonates and children with sepsis: comparison of fluorescence intensities and calculated indexes. *Mediators Inflammation*. 2008 (doi: 10.1155/2008/202646)

23. Hoffmann JJ. Neutrophil CD64: a diagnostic marker for infection and sepsis. *Clin Chem Lab Med*. 2009;47:903-916. doi: 10.1515/CCLM.2009.224.

24. Alvarez MC, Suassuna J, Alvarez Perez, Mario Castro. *Epidemiologia, diagnóstico, marcadores de imunocompetência e prognóstico da sepse*. 2009; xii, 106 f. : il

25. Mokuda S, Doi O, Takasugi K. Simultaneous quantitative analysis of the expression of CD64 and CD35 on neutrophils as markers to differentiate between bacterial and viral infections in patients with rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol*. 2012 Sep;22(5):750-7. doi: 10.1007/s10165-011-0587-4. Epub 2012 Jan 12.

26. Rudensky B, Sirota G, Erlichman M, Yinnon AM, Schlesinger Y. Neutrophil CD64 expression as a diagnostic marker of bacterial infection in febrile children presenting to a hospital emergency department. *Pediatr Emerg Care*. 2008 Nov;24(11):745-8. doi: 10.1097/PEC.0b013e31818c2679.

27. International Clinical Cytometry Society. Laboratory and Clinical Practice for Monitoring Sepsis with Neutrophil CD64 Index: Seven Year Experience at Cincinnati Children's Hospital Medical Center (CCHMC). VOL. II No. 2, SPRING 2011.

28. Terence Chan, Frank Gu. Early Diagnosis of Sepsis Using Serum Biomarkers. *Expert Rev Mol Diagn*. 2011;11(5):487-496.



29. Zecca E, Barone G, Corsello M et al. Reliability of two different bedside assays for C-reactive protein in newborn infants. *Clin. Chem. Lab. Med.* 47(9), 1081–1084 (2009).
30. Groselj-Grenc M, Ihan A, Pavcnik-Arnol M, Kopitar AN, Gmeiner-Stopar T, Derganc M. Neutrophil and monocyte CD64 indexes, lipopolysaccharide-binding protein, procalcitonin and C-reactive protein in sepsis of critically ill neonates and children. *Intensive Care Med.* 35(11), 1950-1958 (2009).
31. Cetinkaya M, Ozkan H, Koksak N, Celebi S, Hacimustafaoglu M. Comparison of serum amyloid A concentrations with those of C-reactive protein and procalcitonin in diagnosis and follow-up of neonatal sepsis in premature infants. *J. Perinatol.* 29(3), 225-231 (2009).
32. Nuutila J, Hohenthal U, Laitinen L et al. Simultaneous quantitative analysis of FcγRI (CD64) expression on neutrophils and monocytes: a new, improved way to detect infections. *J. Immunol. Methods* 328(1–2), 189–200 (2007).
33. Annane D, Bellissant E, Cavillon JM. Septic shock. *Lancet.* 2005;365 (9453):63–78.
34. Ulla M, Pizzolato E, Lucchiari M, Laiacomo M, Soardo F, Forno D, et al. Diagnostic and Prognostic Value of Presepsin in the Management of sepsis in the Emergency Department: A Multicentre Prospective Study: 2013. *Critical Care* 2013, 17: R168.
35. Carvalho PR, Trotta Ede A. Avanços no diagnóstico e tratamento da sepse. *J Pediatr (Rio J).* 2003;79 Suppl 2:S195-204. [ Links ]
36. Gerdes JS. Diagnosis and management of bacterial infections in the neonate. *Pediatr Clin North Am.* 2004;51:939-59, viii-ix. [ Links ]
37. Gerdes JS. Clinicopathologic approach to the diagnosis of neonatal sepsis. *Clin Perinatol.* 1991;18:361-81. [ Links ]

38. Caldas JP, Marba ST, Blotta MH, Calil R, Morais SS, Oliveira RT. Accuracy of white blood cell count, C-reactive protein, interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha for diagnosing late neonatal sepsis. *J Pediatr (Rio J)*. 2008;84:536-42.

[ Links ] [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0021-75572010000600011](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0021-75572010000600011) - <http://www.aafp.org/afp/2013/0701/p44.html>

39. Lewis SM, Treacher DF, Bergmeier L, Brain SD, Chambers DJ, Pearson JD, Brown KA. Plasma from patients with sepsis up-regulates the expression of CD49d and CD64 on blood neutrophils. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 162009 Sep;40(6):724-32. doi: 10.1165/rcmb.2008-0252OC. Epub 2008 Nov 14 PMID: 19011162

40. Gerrits JH, Mclaughlin PM, Nienhuis BN, Smit JW, Loeff B. Polymorphic mononuclear neutrophils CD64 index for diagnosis of sepsis in postoperative surgical patients and critically ill patients. *Clin Chem Lab Med*. 2013 Apr;51(4):897-905. PMID: 23045384

41. Dimoula A, Pradier O, Kassenger Z, Dalcomune D, Turkan H, Vincent JL. Serial Determinations of Neutrophil CD64 Expression for the Diagnosis and Monitoring of Sepsis in Critically Ill Patients. *Clin Infect Dis*. 2014 Mar;58(6):820-9. doi: 10.1093/cid/cit936. Epub 2013 Dec 20 PMID: 24363321

42. Ponte S T D. Review of the Literature: Sepsis and Neutrophil Cd64. *J J Biomark*. 2015, 1(2): 010.

## **8 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O presente estudo de coorte observacional prospectivo mostrou em seus resultados que o CD64 é um bom biomarcador para discriminar SIRS de sepse, tanto presumida quanto provada, com boa sensibilidade e especificidade para tal. Por trazer resultado rápido, em tempo similar ao de hemograma, este se mostra de grande importância, possibilitando a instituição de tratamento precoce na sepse.

## 9 PERSPECTIVAS FUTURAS

O presente estudo contempla resultados que corroboram os de pesquisas prévias sobre o CD64 na sepse, em países desenvolvidos, mostrando, principalmente, o valor diagnóstico deste biomarcador na sepse. Este estudo se insere na linha de pesquisa sobre biomarcadores na sepse que vem sendo desenvolvida no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

A presente dissertação e outros estudos que estão sendo desenvolvidos nesta mesma linha de pesquisa nos laboratórios do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, focam na importância de se obter um biomarcador com boa especificidade para infecção, distinguindo esta de SIRS. Os resultados deste estudo, obtidos no contexto ao qual se aplicam na clínica, geraram conhecimento para médicos que precisam da rápida tomada de decisão quanto ao início da antibioticoterapia em quadro clínico duvidoso no que diz respeito à infecção. A pesquisa que envolve grupos de diferentes áreas profissionais, como no caso do estudo em questão trazer equipe de farmacêuticos e médicos, facilita a integração do setor laboratorial com o setor onde a assistência médica está se dando, desenvolvendo assim uma equipe de saúde multidisciplinar, possibilitando a educação da equipe de saúde, e mantendo como prioridade o diagnóstico e tratamento aplicados. Dessa forma, pretende-se colaborar para a aplicação do conhecimento aos profissionais, auxiliando na elaboração de protocolos clínicos de diagnóstico rápido e de tratamento o mais precoce possível. Este conjunto de ações visa qualificar o sistema de saúde com terapêuticas eficazes, baseadas no processo fisiopatológico e suportadas por desfechos clínicos relevantes.

Pretende-se ainda incrementar o desenvolvimento dos grupos de pesquisa envolvidos, colaborando não só quantitativamente mas também qualitativamente para o desempenho científico, comprometendo-se com isso, no auxílio ao fortalecimento da pesquisa brasileira no cenário nacional e internacional.

## ANEXO A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado(a) Senhor(a)

Você/ seu familiar está convidado a participar do estudo cujo título é **Valor Diagnóstico e Prognóstico de CD 64 na sepse**. O objetivo deste estudo é Estabelecer o Valor Diagnóstico e Prognóstico dos níveis de CD64 na sepse/ sepse grave/choque séptico. Essa é uma infecção que atinge mais de um órgão do corpo humano, ou seja, espalha-se pelo sangue, necessitando de antibiótico o mais rápido possível. Por esse motivo, sua detecção deve ser feita o quanto antes, para que o tratamento seja iniciado rapidamente. O CD64 é um marcador que aparece através de um exame de sangue e pode detectar a presença dessa infecção chamada sepse.

Gostaríamos de convidá-lo/ ou autorizar seu familiar a colaborar de forma voluntária com esta pesquisa. Para este fim será feita uma coleta de sangue do paciente logo que se estabeleça a suspeita dessa infecção e após 48 horas da primeira coleta.

O risco deste estudo é o possível desconforto no local da coleta, podendo ocorrer manchas roxas na pele do paciente.

Sua participação não trará qualquer benefício direto ao senhor (a)/ seu familiar quanto ao tratamento realizado para sua doença, mas gera informações que poderão contribuir na melhoria da assistência hospitalar a pacientes com sepse.

Não existe outra forma de obter dados com relação ao conhecimento em questão e que possa ser mais vantajoso do que o usado nesta pesquisa.

Informo que o Sr(a)/ seu familiar tem a garantia de acesso, em qualquer etapa do estudo, sobre qualquer esclarecimento de eventuais dúvidas. Se tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Pesquisador Responsável deste trabalho que é o Dr. Renato Seligman, Médico Pneumologista do Serviço de Medicina Interna do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pelo telefone (51) 33598152, ou com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, fone : (51) 33597640, segunda a sexta das 8 as 17hrs.

Também é garantida a liberdade da retirada de seu consentimento a qualquer momento e o senhor (a)/ seu familiar pode deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo a qualquer atividade que possa estar ocorrendo ou vir a ocorrer em nossa instituição.

Garanto que as informações obtidas serão analisadas em conjunto com as de outros participantes, não sendo divulgado a identificação de nenhum dos participantes.

O Sr(a) tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais da pesquisa, e caso seja solicitado, darei todas as informações que o senhor(a) quiser saber.

Não existirão despesas ou compensações pessoais para nenhum participante em qualquer fase do estudo. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação.

O Sr/a. é livre para escolher participar ou não deste estudo, e a sua recusa não implicará em nenhum prejuízo do seu tratamento ( ou de seu familiar/dependente) neste hospital. As informações obtidas nos exames estarão à sua disposição ou ao seu médico se assim o desejar. Os resultados obtidos poderão ser utilizados pela equipe médica que presta a sua assistência ( ou a seu familiar). Será resguardada sua total confidencialidade. Coloco-me à disposição para esclarecer dúvidas.

Se estiver de acordo em autorizar a sua participação ( ou de seu familiar/dependente) , por favor assine na linha abaixo. Este termo será em duas vias, sendo que uma delas ficará com você e outra com o pesquisador.

\_\_\_\_\_  
Nome do paciente

\_\_\_\_\_  
Assinatura do paciente

\_\_\_\_\_  
Nome do familiar ou responsável

\_\_\_\_\_  
Assinatura do familiar ou responsável

\_\_\_\_\_  
Nome do pesquisador

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Pesquisador responsável  
Prof. Dr. Renato Seligman

Hospital de Clínicas de Porto Alegre  
Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação  
Comitê de Ética em Pesquisa, fone: 3359-8304

## ANEXO B - Instrumento de coleta de dados

Nome	.....			
Número de prontuário	.....			
Data de admissão no Departamento de Emergência	/ /			
Data de internação hospitalar/ setor de internação	/ /	.....		
Idade				
Sexo	masc ( )	fem ( )		
Crítérios de SIRS na admissão	( ) 38°C ou ( ) <36°C	( ) FR>20 ou ( ) uma pressão parcial de CO2 no sangue arterial < 32mmHg	( ) FC > 90bpm	leucócitos: ( ) >12.000 ou ( ) <4.000, ou ( ) B > 10%
Diagnóstico de internação	.....			
Sepse	( ) sim	( ) não		
Sepse grave	( ) sim	( ) não		
Choque séptico	( ) sim	( ) não		
Comorbidades	( ) sim	( ) não		
Quais?	( ) cardiopatias	( ) pneumopatias	( ) nefropatias	( ) Outras .....
Germe da infecção	.....			
Tratamento antimicrobiano empírico	( ) sim	( ) não	.....	início / / término / /
Modificação do ATB após antibiograma?	( ) sim	( ) não	.....	início / / término / /
Ventilação mecânica	( ) sim	( ) não	início / / término / /	
Data da alta da CTI	/ /			
Data da alta hospitalar	/ /			
óbito	/ /			
Níveis de CD64	1ª coleta .....	2ª coleta .....		
Níveis de PCR	1ª coleta .....	2ª coleta .....		
Níveis de lactato	1ª coleta .....	2ª coleta .....		
Observações				