



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO
DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Hong Si Nga

O papel do NGAL urinário como preditor diagnóstico e prognóstico da
lesão renal aguda associada à sepse em pacientes admitidos na emergência
clínica

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina, Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestra em
Fisiopatologia em Clínica Médica

Orientador(a): Profa. Dra. Daniela Ponce

Coorientador: Prof. Dr. André Luis Balbi

**Botucatu
2015**

Hong Si Nga

O papel do NGAL urinário como preditor diagnóstico e prognóstico da lesão renal aguda associada à sepse em pacientes admitidos na emergência clínica

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Fisiopatologia em Clínica Médica

Orientadora: Profa.Dra. Daniela Ponce

Coorientador: Prof.Dr. André Luis Balbi

Botucatu

2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Nga, Hong Si.

O papel do NGAL urinário como preditor diagnóstico e prognóstico da lesão renal aguda associada à sepse em pacientes admitidos na emergência clínica / Hong Si Nga. - Botucatu, 2015

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Daniela Ponce

Coorientador: André Balbi

Capes: 40101002

1. Septicemia. 2. Rins - Doenças. 3. Infecções urinárias. 4. Marcadores biológicos.

Palavras-chave: NGAL urinário; emergência clínica; lesão renal aguda; mortalidade; sepse.

Epigrafe

"Agir, eis a inteligência verdadeira. Serei o que quiser. Mas tenho que querer o que for. O êxito está em ter êxito, e não em ter condições de êxito. Condições de palácio tem qualquer terra larga, mas onde estará o palácio se não o fizerem ali?"

(Fernando Pessoa)

Dedicatória

A quem mais amamos, menos sabemos falar...

Aos meus pais, Sio Mao e Ia Peng,

Obrigada por serem minha história, a base de tudo que sou, meus exemplos de superação.

Ao meu irmão William,

Por ser a fortaleza. Pela cumplicidade de irmãos e amor incondicional.

Ao meu marido Lucas,

"entre as folhas de um livro-de-reza, um amor-perfeito cai"

(Guimarães Rosa)

Você é meu amor perfeito.

Obrigada por ser quem você é, admirável. Meu exemplo notável de amor ao próximo, de atitude e caráter.

Agradecimentos especiais

À orientadora Profa. Dra. Daniela Ponce,

Por todo aprendizado. Pela premissa de fazer melhor, pelo cientificismo e também pela rigidez aliada a paciência.

Obrigada por ser um símbolo, exemplo de profissional e de ética.

Obrigada por guiar meu caminho...

Ao Prof. Dr. André Luis Balbi,

Pela experiência e orientação, por todo apoio na minha carreira profissional.

Ao Prof. Dr. Pasqual Barretti,

A quem gostaria de demonstrar minha tamanha admiração.

A Profa. Dra. Paula Azevedo Schmidt Gaiolla,

Por ter guiado meus primeiros passos na clínica médica.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer minha família, por ser o porto seguro para quem voltar.

À Pamela Medeiros, Precil Menezes, Romaine Bridi e Ana Paula Giralde pela colaboração e esforço conjunto para coleta de dados. Sem o companheirismo e dedicação de vocês, esse trabalho não seria possível!

À todos os professores da Nefrologia, Dr. Luis Cuadrado, Dra. Jaqueline Caramori, Dra. Vanessa Silva, Dra. Maria Fernanda Cordeiro Carvalho, Dr. Luis Gustavo Mondelli e Dr. João Henrique Castro por contribuírem com a construção da minha carreira profissional.

À Cassiana Goes, por sempre compartilhar seu saber. Por ser uma pessoa iluminada, desprovida das mesquinharias da vida.

À Patrícia Xavier, companheira de pós graduação, por dividir angústias e pela amizade.

Resumo:

Introdução: A mortalidade de pacientes com sepse e lesão renal aguda (LRA) é inaceitavelmente elevada, com necessidade de medidas de prevenção. Faltam estudos brasileiros que mostrem esta incidência em salas de emergências clínicas (SEC) e identifiquem fatores de risco para o seu desenvolvimento, além de marcadores precoces de diagnóstico e prognóstico. Dentre eles, encontra-se o NGAL, que é um biomarcador sérico e urinário (u) promissor de detecção precoce de LRA. **Objetivos:** Este trabalho teve como objetivo principal avaliar a eficácia do NGALu como preditor diagnóstico e prognóstico da LRA associada à sepse em pacientes admitidos em SEC. **Metodologia:** Estudo prospectivo de pacientes admitidos na SEC com diagnóstico de sepse durante o período de 01 de fevereiro de 2013 a 31 de maio de 2014. Para cada paciente foi aplicado um protocolo com dados clínicos e laboratoriais. A avaliação da função renal foi realizada por dosagem de creatinina sérica e verificação de débito urinário desde a admissão até o desfecho do quadro (resolução ou óbito). O NGALu foi dosado nas primeiras 24h de admissão (1), entre 24-48h (2) e no momento do diagnóstico de LRA (3). Os resultados foram apresentados por regressão logística e área sob a curva roc para determinar a capacidade do NGALu discriminar o diagnóstico e prognóstico da LRA. **Resultados:** Foram incluídos 168 pacientes, sendo que 72% tiveram diagnóstico de LRA. Na regressão logística, a idade >65 anos, choque séptico, necessidade de ventilação mecânica (VM) e o NGALu 2 foram identificados como fatores associados à LRA. Quanto à precisão, NGALu 1 e 2, assim como a relação NGAL/Cru 1 e 2 apresentaram área sob a curva ROC para LRA >0,7, com sensibilidade entre 0,63 e 0,75. Os fatores de risco identificados para o óbito foram choque séptico, presença de LRA AKIN 3 e APACHE II > 20. Como preditores de óbito, NGALu 1 e 2 e a relação NGALu/Cru 1 e 2, tiveram precisão de 0,66; 0,70; 0,68 e 0,81, respectivamente, com sensibilidade entre 0,71 a 0,95. **Conclusão:** O NGALu encontrou-se elevado em pacientes sépticos, porém estatisticamente superior naqueles com sepse e LRA. O NGAL u das primeiras 24 e 48 horas mostrou-se preditor sensível de LRA em pacientes sépticos admitidos em SEC, enquanto o NGAL após 48 horas, assim como sua relação com a Cru apresentaram-se como melhores preditores de óbito.

Palavras-chave: sepse, emergência clínica, lesão renal aguda, mortalidade, NGAL urinário, preditor

Abstract

Background: The mortality of septic patients and AKI is unacceptable high, showing the need for preventive measures. There are few Brazilian studies showing the incidence of AKI in clinical emergencies rooms (ER) and identify risk factors for its development, and early markers of diagnosis of AKI and prognosis of patients. NGAL is a serum and urinary (u) promising biomarker for early detection of AKI. **Objectives:** This study aimed to evaluate the efficacy of uNGAL as a diagnostic and prognostic predictor of AKI associated with sepsis in patients admitted to the ER. **Methodology:** We prospectively studied patients admitted to the ER diagnosed with sepsis during the period of February 1, 2013 to May 31, 2014. For each patient, a protocol was developed containing clinical and laboratory data from the patients admission to the discharge of the hospital (resolution or death). The assessment of renal function was performed daily by serum creatinine, urine output, and dosage of uNGAL within the first 24 hours after admission (1), between 24-48 h (2) and at moment of AKI diagnosis (3). The results were presented using descriptive statistics of the study population and different statistical tests according to the study objectives. Logistic regression and ROC area under curve was used to determine the ability of uNGAL to discriminate the AKI diagnosis and prognosis of septic patients. **Results:** One hundred eight patients were included, of which 72% were diagnosed with AKI. In logistic regression, age > 65 years, septic shock, need for mechanical ventilation (MV) and the uNGAL 2 were identified as factors associated with AKI. Regarding the accuracy, uNGAL 1 and 2, as well as uNGAL / uCr 1 and 2 showed an area under the ROC curve for AKI > 0.7, with sensibility between 0.63 and 0.75. The risk factors identified in the logistic regression for death were septic shock, presence of AKI AKIN 3 and APACHE II > 20. As predictors of death, the precision of uNGAL1, uNGAL2, uNGAL / uCr1, uNGAL / uCr2 were 0.66; 0.70; 0.68 and 0.81, respectively, with sensibility between 0.71 and 0.95. **Conclusion:** The uNGAL is high in septic patients, but statistically higher in those with sepsis and AKI. uNGAL in the first 48 hours after admission of septic patients in ER was a sensible predictor of AKI, while uNGAL collected between 24-48 h after admission and its ratio with uCr were the best predictors of septic patients death.

Key words: sepsis, emergency room, acute kidney injury, mortality, urinary NGAL, predictor

SUMÁRIO

PARTE I: DISSERTAÇÃO.....	10
1 INTRODUÇÃO.....	10
2 OBJETIVOS.....	15
3 PACIENTES E MÉTODOS.....	15
3.1 PACIENTES.....	15
3.2 MÉTODOS	16
4 RESULTADOS:	25
4.1 ANÁLISE DA POPULAÇÃO GERAL:.....	25
4.2 PACIENTES COM E SEM LRA :	29
4.3 EVOLUÇÃO DOS PACIENTES:.....	32
4.4 PACIENTES SEM LRA E COM LRA À ADMISSÃO:	36
4.5 PACIENTES SEM LRA E COM LRA NA EVOLUÇÃO	36
4.6 PACIENTES COM LRA À ADMISSÃO E NA EVOLUÇÃO.....	37
4.7 NGAL URINÁRIO COMO PREDITOR DIAGNÓSTICO DE LRA E PROGNÓSTICO DOS PACIENTES SÉPTICOS:	38
5 DISCUSSÃO:	43
6 CONCLUSÃO.....	50
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
ANEXO 1- PROTOCOLO	55
ANEXO 2- APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA	57
PARTE II: ARTIGOS CIENTÍFICOS.....	58
ACUTE KIDNEY INJURY IN SEPTIC PATIENTS ADMITTED IN EMERGENCY CLINICAL ROOM: RISK FACTORS AND OUTCOME	58
SEPSIS AND AKI IN CLINICAL EMERGENCY ROOM PATIENTS: THE ROLE OF URINARY NGAL	75

Parte I: Dissertação

1 Introdução

A sepse é a principal causa de morbidade e mortalidade de pacientes internados em serviços de emergência clínica (SEC) e em unidades de terapia intensiva (UTI). As taxas de mortalidade variam de 30 a 60%, dependendo da gravidade do quadro (1,2).

A sepse grave e o choque séptico permanecem um grande desafio em cuidados intensivos devido à sua ocorrência comum, aos altos custos do tratamento e à mortalidade significativa (3,4).

Angus e cols (5) estimaram a incidência de sepse severa em 750.000 casos por ano nos Estados Unidos (EUA), o que corresponde a 3 casos por 1000 habitantes e a 2,3% dos pacientes internados, com uma mortalidade de 28,6%. Na Europa, Alberti e cols(6) estimaram que 21,1% dos pacientes internados em UTI apresentam quadros infecciosos. Em 45 % dos casos, a sepse foi a causa da internação hospitalar e 54% deles evoluíram com sepse grave ou choque séptico, com uma mortalidade de 50,1%.

São poucos os dados consistentes a respeito da incidência e evolução de pacientes com sepse em SEC e UTI no Brasil e na América Latina. Geralmente, os registros incluem apenas aqueles pacientes que tiveram o diagnóstico de sepse à admissão ou durante a permanência em UTI, havendo poucos relatos da incidência e evolução do quadro séptico presente à admissão em SEC (7,8).

O Estudo Brasileiro de Epidemiologia da Sepse (BASES) realizado por Silva e cols (7) acompanhou 1383 pacientes admitidos em cinco UTIs localizadas em duas diferentes regiões do Brasil e mostrou incidência de sepse, sepse grave e choque séptico de 61,4, 35,6 e 30 episódios por 1000 pacientes-dia, respectivamente. A mortalidade destes pacientes foi progressivamente maior para sepse, sepse grave e choque séptico (34,7%, 47,3% e 52,2% respectivamente).

Outro estudo brasileiro analisou dados de 75 UTIs em regiões diferentes e de maneira semelhante encontrou taxas de mortalidade inaceitavelmente altas (16,7% para sepse, 34% para sepse grave e 65,3% para choque séptico) (3).

A sepse é um fator de risco bem conhecido para o desenvolvimento de lesão renal aguda (LRA) (8,9), que ocorre em aproximadamente 19% dos pacientes com sepse, em 23% dos pacientes com sepse grave e em 51% dos pacientes com choque séptico e culturas

positivas (9). A ocorrência de LRA, além do significativo impacto na morbidade e aumento do tempo de internação e custos hospitalares, representa fator de risco independente para a mortalidade dos pacientes acometidos (5,10,11). As taxas de mortalidade geral intra-hospitalar em pacientes críticos são elevadas, com valores que excedem 50% e chegam a 80%, respectivamente, dependendo das condições clínicas, comorbidades e necessidade de terapia renal substitutiva (TRS)(5,8,10,11).

A LRA é caracterizada por deterioração da função renal que ocorre num período de horas a dias, resultando em diminuição ou cessação temporária da capacidade renal de promover a excreção de produtos nitrogenados e a homeostase hidroeletrolítica do organismo, conforme proposto pelos critérios de *RIFLE* (12) e do *KDIGO* 2012 (13).

Há evidências de que sepse grave e choque séptico são as causas mais frequentes de LRA em pacientes críticos, correspondendo a 50% ou mais dos casos de LRA em UTI. Sabe-se ainda que pacientes infectados em estado menos grave, ou seja, sem sepse grave ou choque séptico, também apresentam alta incidência de LRA(14–16).

A fisiopatologia da LRA associada à sepse é multifatorial e composta por alteração na hemodinâmica renal, num primeiro momento causado por hipovolemia e, posteriormente, por aumento da permeabilidade vascular com aumento de líquidos nos tecidos intersticiais e hipotensão resultante de vasoplegia. Além disso, pode haver congestão venosa renal que resulta em descompensação cardíaca e diminuição da ultrafiltração (17). Há ainda outros inúmeros mecanismos envolvidos nesta fisiopatologia, como alterações da microvasculatura endotelial levando à hipóxia renal e a inflamação desempenhando papel central. Há excesso de liberação de citocinas inflamatórias, sendo o $\text{TNF-}\alpha$ uma das citocinas que pode causar lesão direta nas células tubulares. Essa complexa síndrome envolve ativação de vias pró e anti-inflamatórias, desregulação imunológica, ativação endotelial e consumo dos fatores de coagulação, levando à disfunção múltipla de órgãos (17,18).

Apesar de todos os conhecimentos a respeito da fisiopatologia e tratamento da LRA associada à sepse, a mortalidade destes pacientes permanece elevada, mostrando a necessidade de medidas de prevenção, que impeçam ou amenizem a ocorrência de lesão ou falência renal nos pacientes com infecções graves. Faltam, no entanto, estudos brasileiros que mostrem a incidência da LRA associada à sepse, identifiquem os fatores de risco para o desenvolvimento dessa síndrome nos pacientes sépticos e determinem marcadores mais precoces do diagnóstico e prognóstico da lesão renal (19,20).

A dosagem de creatinina (Cr) é a forma mais utilizada para o diagnóstico de LRA, por ser um exame de baixo custo e por se tratar de uma substância liberada no plasma em ritmo constante, filtrada livremente pelos glomérulos, não sendo reabsorvida ou metabolizada pelos rins. Entretanto, sabe-se que não é o marcador ideal de lesão renal, pois sofre influência de fatores não renais como sexo, idade, medicamentos e volume de distribuição. Além disso, seu aumento sérico não é proporcional à diminuição da taxa de filtração glomerular e pode haver aumento da excreção tubular desta substância, resultando não só em atraso do diagnóstico e intervenção, mas também em subestimação da gravidade da lesão (12). A dificuldade em identificar a LRA não se restringe ao diagnóstico, mas também à dificuldade em prever a evolução desses pacientes, que podem recuperar-se totalmente da lesão, evoluir para cronicidade ou óbito.

Devido a isso novos biomarcadores fizeram-se necessários para identificar a injúria das células epiteliais renais antes da necrose e sua morte celular, com a proposta de realizar diagnóstico mais precoce, diferenciar sub-tipos de lesão (pré-renal, renal e pós renal), identificar etiologias (isquemia, toxinas e sepse), diferenciar LRA de outras lesões renais (Glomerulopatias, NTI), prever severidade e monitorizar a evolução e resposta terapêutica. Dentre os novos biomarcadores estudados, podemos citar: KIM-1(Kidney Injury Molecule-1), IL-18, β 2 microglobulina, Cistatina-C e NGAL (*Neutrophil gelatinase-associated lipocalin*) (21,22).

O NGAL é um biomarcador sérico e urinário promissor de detecção precoce de LRA. Trata-se de uma 25-kDa proteína composta de lipocaína covalentemente ligada à gelatinase de neutrófilos e expresso em baixas concentrações em rim normal (produzido pelos túbulos distais), traquéia, estômago e cólon, sendo liberado após ativação de neutrófilos. Em situações de normalidade da função renal, o NGAL circulante é filtrado pelo glomérulo e reabsorvido pelos túbulos proximais, e consequentemente níveis baixos séricos e urinários são detectados. Quando há injúria tubular existe um aumento da expressão e secreção do NGAL no néfron distal e uma diminuição da sua reabsorção no túbulo proximal, resultando em elevação de concentração sérica e urinária. Propõe-se ainda a diferenciar a LRA de outras disfunções, porém pode ser influenciado por doenças sistêmicas (23,24).

Há vários estudos sobre o desempenho do NGAL como preditor diagnóstico e prognóstico de LRA na insuficiência cardíaca (ICC), no pós operatório de cirurgia cardíaca tanto na população adulta como na pediátrica, em UTIs e na sepse (18,23,25).

Collins e cols (23), ao avaliar a incidência de LRA e prognóstico em 399 pacientes com ICC admitidos em SEC, observaram associação entre valores elevados de NGAL urinário (NGALu) obtidos 12 a 24h após início de terapia e piora da função renal dentro de 72 a 96h ($107 \times 25\text{ng} / \text{mg uCr}$, $p < 0.001$) e eventos cardiovasculares após 30 dias ($42 \times 25\text{ng} / \text{mg uCr}$, $p = 0.04$). Assim, os autores concluem que NGALu é preditor de LRA, mesmo após ajuste de modelo multivariado (OR=1.02, 95% IC 1.01-1.04, $p=0.012$) e de eventos cardiovasculares ($p=0,02$), além de possível estratificador de riscos.

Alguns estudos mostraram que níveis de NGALu e plasmáticos (NGALp) colhidos na admissão dos pacientes na UTI são capazes de predizer a LRA de diferentes etiologias e a necessidade de TRS antes do critério de *RIFLE* (25,26).

Geus e col(25) realizaram estudo de coorte prospectivo com 632 pacientes adultos internados em UTI, com objetivo de avaliar o NGALp e o NGALu como preditores de gravidade da LRA. LRA ocorreu em 171 pacientes (27%) e valores do NGALp e NGALu no momento da admissão na UTI, mostraram associação significativa com a gravidade da LRA classificada pelos critérios de *RIFLE* ($p < 0.0001$). Os resultados mostraram correlação entre NGALp e estágio de LRA, com área sobre a curva de 0.77 ± 0.05 para *RIFLE* R, 0.80 ± 0.06 para *RIFLE* I e 0.86 ± 0.06 para *RIFLE* F. Para NGALu, foi observada área sobre a curva de 0.80 ± 0.04 para *RIFLE* R, 0.85 ± 0.04 para *RIFLE* I e 0.88 ± 0.04 para *RIFLE* F. Não foi observado diferença significativa na acurácia entre NGALp e NGALu.

Dent e col(26) avaliaram o NGAL como preditor de LRA em pacientes submetidos à cirurgia cardíaca e circulação extra corpórea (CEC). Foram incluídas 120 crianças, sendo o desfecho primário o desenvolvimento de LRA. O diagnóstico de LRA ocorreu em 45 pacientes (37%), baseado no aumento de Cr, 2 a 3 dias após procedimento cirúrgico. Já os níveis de NGALp encontraram-se 3 vezes aumentados após 2 horas de CEC e mantiveram-se elevados durante o acompanhamento. À análise multivariada, NGALp obtido 2h após a CEC foi preditor independente de LRA ($\beta=0.004$, $p < 0.001$) e apresentou correlação positiva com aumento de Cr ($p < 0.0001$), duração da LRA ($p < 0.001$) e tempo de internação hospitalar ($p < 0.001$). Os valores de NGALp 12h após cirurgia apresentou associação com mortalidade ($p=0.004$).

Hirsch e col (27) , em estudo com 91 crianças (0-18 anos) com doença cardíaca congênita submetidas à angiografia cardíaca eletiva, avaliaram o NGAL como preditor de nefropatia induzida por contraste (NIC). NIC ocorreu em 11 crianças (12%), com detecção do aumento da Cr apenas 6-24h após administração do contraste, enquanto elevação dos níveis

de NGALu e NGALp foram observados após 2h do procedimento. À análise multivariada, os valores de NGALu ($p < 0.0001$) e NGALp ($p < 0.0001$) 2 horas após procedimento foram considerados preditores independentes e precoces de NIC.

Na população pediátrica, estudo de Wheeler e cols (28) avaliou o NGAL sérico medido nas primeiras 24 horas de admissão em UTI como biomarcador precoce de LRA em pacientes com choque séptico. Foram avaliadas 143 crianças com SIRS (Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica) ou choque séptico e 25 crianças saudáveis. O NGALp foi medido nas primeiras 24h de admissão na UTI pediátrica e obteve-se uma diferença significativa entre NGALp das crianças saudáveis, das crianças com SIRS e daquelas com choque séptico ($80 (55,5-85,5) \times 107,5 (89-178,5) \times 302 (151-570) \text{ ng/ml}$, respectivamente, $p < 0.001$). LRA foi encontrada em 22 das 143 crianças (15,4%), e o NGALp apresentou-se significativamente aumentado nas crianças críticas com LRA comparado às sem LRA ($355 (166-1322) \times 186 (98-365) \text{ ng/ml}$, $p = 0.009$).

Outros estudos na população adulta têm sugerido que o NGALu é preditor mais específico e sensível de LRA que o NGALp (23,24,29).

Bagshaw e cols (29) ao estudarem níveis de NGAL em 83 pacientes com LRA associadas ou não à sepse, observaram maiores níveis de NGALu na população séptica com LRA. Esta relação não foi observada com NGALp.

Também Martesson e cols (18) ao avaliarem 65 pacientes com sepse admitidos em UTI, dos quais 18 (40%) evoluíram com LRA, observaram que o NGALp não foi preditor específico de LRA associada à sepse, pois valor elevado foi encontrado na grande maioria dos pacientes sépticos (90%), independente da presença de LRA (área sob a curva 0,67). Já o NGALu foi bom preditor de LRA associada à sepse (área sob a curva de 0.86), pois valores do NGALu encontraram-se dentro da normalidade para a maioria dos pacientes com sepse e sem LRA e aumentados nos pacientes com LRA.

Muitos estudos têm validado o NGAL como preditor específico, sensível e precoce de LRA após cirurgia cardíaca, administração de contraste e em UTI, porém pouco se sabe sobre essa associação no paciente séptico admitido em sala de emergência clínica (SEC). Como a própria sepse ativa e aumenta a liberação de NGAL pelos neutrófilos, questiona-se se ela pode prejudicar as propriedades preditivas do NGAL como um biomarcador da LRA.

Desta forma, o propósito deste estudo é avaliar o papel do NGALu como preditor diagnóstico e prognóstico da LRA associada à sepse em pacientes admitidos em SEC.

2 Objetivos

- Avaliar a eficácia do NGALu como preditor diagnóstico e prognóstico da LRA associada à sepse
- Avaliar a incidência e identificar os fatores de risco para a LRA associada à sepse.
- Comparar a evolução de pacientes sépticos que desenvolveram LRA com os que não desenvolveram LRA e identificar fatores de risco para o óbito.

3 Pacientes e Métodos

3.1 Pacientes

Foi realizado estudo prospectivo observacional do tipo coorte de pacientes admitidos na SEC do HC – FMB com diagnóstico de sepse durante o período de 01 de fevereiro de 2013 a 31 de maio de 2014, ininterruptamente. Foram excluídos pacientes:

- com idade menor que 18 anos
- portadores de doença renal avançada (*Clearance* de Cr < 30 ml/min)
- submetidos à terapia renal substitutiva (TRS) crônica (transplante renal ou diálise crônica)
- que não tiveram urina coletada nas primeiras 24h da admissão hospitalar

Foi calculado tamanho amostral inicial, considerando poder do estudo de 70%, erro beta de 20% e erro alfa de 10%, sendo necessários 189 pacientes.

3.2 Métodos

3.2.1 Coleta de dados e elaboração de protocolo de estudo:

Os dados foram obtidos por meio de consulta ao paciente e ao seu prontuário médico, desde sua admissão na SEC até o seu desfecho do quadro séptico (resolução ou óbito).

A partir das informações clínicas e laboratoriais obtidas no registro de atendimento durante a internação foi elaborado um protocolo (anexo 1), que constava de:

Dados de identificação dos pacientes: sexo, idade, peso, comorbidades, foco infeccioso, sinais vitais, presença de diurese, escore prognóstico geral (APACHE) e específico para LRA por NTA (ATN-ISS) nos casos de LRA.

Avaliação de função renal por meio da:

- dosagem da creatinina sérica e verificação de débito urinário realizados diariamente até o desfecho (resolução da sepse ou óbito)
- dosagem do NGALu realizada nos seguintes momentos: nas primeiras 24 horas (1) e entre 24-48 horas (2) da admissão dos pacientes sépticos na SEC e no dia do diagnóstico de LRA (3) pelos critérios do KDIGO 2012 (13)
- Necessidade de diálise (indicação e tipo)
- Desfecho do paciente: Alta ou óbito

Este protocolo foi aprovado pela análise do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu e sua aplicação foi iniciada somente após sua aprovação (anexo 2).

3.2.2 Dosagem do NGAL

O NGALu foi dosado utilizando kit de *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) pelo próprio fornecedor do kit no Brasil. Após a coleta de urina, as amostras foram centrifugadas a 2000 rpm por 5 minutos e armazenadas a -80° C.

3.2.3 Definições:

Todas as definições das variáveis estudadas foram estabelecidas antes do início do estudo e foram uniformemente aplicadas.

Sepse: Infecção documentada ou suspeita, e alguns dos seguintes critérios (30):

Variáveis gerais:

-Febre $\geq 38,3^{\circ}\text{C}$

-Hipotermia (temperatura basal $<36^{\circ}\text{C}$)

-Frequência cardíaca > 90 bpm ou mais do que dois desvios padrões acima do valor normal para a idade

-Taquipnéia

-Estado mental alterado

-Edema significativo ou balanço hídrico positivo ($> 20\text{ mL/kg}$ acima de 24 h)

-Hiperglicemia (glicose no plasma $> 140\text{ mg/dL}$ ou $7,7\text{ mmol/L}$) na ausência de diabetes

Variáveis inflamatórias:

-Leucocitose (contagem de glóbulos brancos $> 12.000\text{ mm}^3$)

-Leucopenia (contagem de glóbulos brancos $< 4000\text{ mm}^3$)

-Contagem de glóbulos brancos normal com mais do que 10% de formas imaturas

-Proteína C-reativa no plasma mais do que dois desvios padrões acima do valor normal

- Procalcitonina no plasma mais do que dois desvios padrões acima do valor normal

Variáveis hemodinâmicas:

- Hipotensão arterial (PAS $< 90\text{ mm Hg}$, PAM $< 70\text{ mm Hg}$ ou redução de PAS $> 40\text{ mm Hg}$ em adultos ou menos de dois desvios padrões abaixo do normal para a idade)

Variáveis de disfunção de órgãos:

- Hipoxemia arterial ($\text{Pao}_2/\text{FIO}_2 < 300$)

- Oligúria aguda (diurese $< 0,5 \text{ mL/kg/h}$ por pelo menos 2 h apesar de ressuscitação fluida adequada)

- Aumento de creatinina $> 0,5 \text{ mg/dL}$ ou $44,2 \text{ } \mu\text{mol/L}$

- Anormalidades de coagulação (RNI $> 1,5$ ou TTPA $> 60 \text{ s}$)

- Íleo (ausência de sons intestinais)

- Trombocitopenia (contagem de plaquetas $< 100.000 \text{ mm}^3$)

- Hiperbilirrubinemia (bilirrubina total no plasma $> 4 \text{ mg/dL}$ ou $70 \text{ } \mu\text{mol/L}$)

Variáveis de perfusão tissular:

- Hiperlactatemia ($> 1 \text{ mmol/L}$)

- Diminuição do enchimento capilar ou mosqueamento

Sepse grave: disfunção de órgão ou hipoperfusão tissular induzida por sepse (qualquer dos seguintes supostamente devidos à infecção) (30):

- Hipotensão induzida por sepse

- Lactato acima dos limites máximos normais laboratoriais

- Diurese $< 0.5 \text{ mL/kg/h}$ por mais de 2 h apesar da ressuscitação fluida adequada

- Lesão pulmonar aguda com $\text{PaO}_2/\text{FIO}_2 < 250$ na ausência de pneumonia como da fonte de infecção

- Lesão pulmonar aguda com $\text{PaO}_2/\text{FIO}_2 < 200$ na presença de pneumonia como da fonte de infecção

- Creatinina $> 2.0 \text{ mg/dl}$ ($176.8 \text{ } \mu\text{mol/L}$)

- Bilirrubina $> 2 \text{ mg/dl}$ ($34.2 \text{ } \mu\text{mol/L}$)

- Contagem de plaquetas $< 100,000 \text{ mm}^3$

- Coagulopatia (razão normalizada internacional > 1.5)

Choque séptico: hipotensão ou hipoperfusão induzidas por sepse e refratárias à ressuscitação volêmica adequada, com necessidade de agentes vasopressores (30)

Distúrbio de Múltiplos Órgãos e Sistemas (DMOS): falência ou insuficiência de três ou mais dos órgãos ou sistemas (pulmonar, cardiovascular, renal, hepático, neurológico, gastrointestinal, coagulação)(31) , onde:

- insuficiência pulmonar: PaO_2/FiO_2 entre 250 a 300
- falência pulmonar: PaO_2/FiO_2 menor que 250
- insuficiência renal: LRA sem necessidade de diálise
- falência renal: LRA com necessidade de diálise
- insuficiência hepática: bilirrubinas totais entre 2,0 e 5,0 mg/dl e/ou enzimas hepáticas menores que 3 vezes os valores normais
- falência hepática: bilirrubinas totais maiores que 5,0 mg/dl e/ou enzimas hepáticas maiores que 3 vezes os valores normais
- insuficiência hematológica: diminuição dos trombócitos maior ou igual a 25% e/ou alteração do coagulograma com ou sem sangramento
- falência hematológica: diátese hemorrágica e/ou necessidade de transfusão sanguínea maciça de 5 concentrados de derivados sanguíneos por hora e/ou mais que 10 transfusões de derivados sanguíneos em 24 horas
- insuficiência cardiovascular: necessidade reposição volêmica 50% maior que a necessária normalmente e/ou necessidade de dopamina em dose maior que 5 mcg/Kg/min ou dobutamina em dose menor que 10 mcg/Kg/min
- falência cardiovascular: necessidade de dobutamina em dose maior que 10 mcg/Kg/min, vasopressina, drogas vasoativas ou bomba de balão intra-aórtico
- insuficiência gastrointestinal: íleo adinâmico por tempo maior que 7 dias ou sangramento requerendo transfusão de ao menos 6 concentrados de derivados sanguíneos em 24 horas;
- falência gastrointestinal: sangramento maciço com necessidade de mais de 6 concentrados de derivados sanguíneos em 24 horas;
- insuficiência do sistema nervoso central: escala de coma de Glasgow (31) entre 9 e 11;
- falência do sistema nervoso central: escala de coma de Glasgow (31) menor ou igual a 8;

LRA: A LRA é uma síndrome resultante da perda abrupta e significativa da função renal, com retenção de uréia e outros catabólitos, podendo haver queda de diurese (13).

Caracterizada nos critérios do KDIGO de 2012 (13) por:

- Aumento da Cr sérica $\geq 0,3$ mg/dl ($\geq 26,5$ μ mol/l) em 48h ou
- Aumento da Cr sérica $\geq 1,5$ x da Cr basal, conhecida previamente ou presumida dos 7 dias anteriores e/ou
- Débito urinário $< 0,5$ ml/kg/h por 6 horas

Estádios da LRA de acordo com os critérios abaixo:

- Estádio I: $1,5$ - $1,9$ x Cr basal ou aumento $\geq 0,3$ mg/dl ($\geq 26,5$ μ mol/l) e/ou débito urinário $< 0,5$ ml/kg/h por 6-12h
- Estádio II: $2,0$ - $2,9$ x Cr basal e/ou débito urinário $< 0,5$ ml/kg/h por ≥ 12 h
- Estádio III: $3,0$ x Cr basal ou aumento da Cr $\geq 4,0$ mg/dl ($\geq 353,6$ μ mol/l) ou início de terapia substitutiva renal e/ou débito urinário $< 0,3$ ml/kg/h por ≥ 24 h ou anúria por mais de 12h

3.2.4 Cálculos:

ATN-ISS: *Escore de severidade individual de necrose tubular aguda* (32) é um índice prognóstico específico para pacientes que desenvolvem LRA, na qual são dados pesos diferentes para as seguintes variáveis: idade, sexo, nefrotoxicidade, oligúria, hipotensão, coma, consciência e necessidade ventilação mecânica. O valor obtido corresponde ao risco de morte do paciente em questão. Este valor é obtido através da seguinte equação:

$$\text{ATN-ISS} = (0,032 \times \text{idade}) - (0,086 \times \text{sexo}) - (0,109 \times \text{nefrotoxicidade}) + (0,109 \times \text{oligúria}) + (0,116 \times \text{hipotensão}) + (0,122 \times \text{icterícia}) + (0,150 \times \text{coma}) - (0,154 \times \text{consciência}) + (0,182 \times \text{respiração assistida}) + 021.$$

Na qual:

- . idade: contada em décadas (ex: paciente de 74 anos tem 8 décadas de vida);
- . sexo: contabilizado um ponto para masculino e nenhum ponto para feminino;

. nefrotoxicidade: contabilizado um ponto para presença de nefrotoxicidade como causa primária da NTA e nenhum ponto para NTA isquêmica ou mista;

. oligúria: contabilizado um ponto para pacientes com débito urinário menor que 400ml em 24 horas e nenhum ponto para ausência desta característica;

. hipotensão: contabilizado um ponto para paciente com pressão sistólica menor que 100mmHg por mais de 10 horas, independentemente do uso de drogas vasoativas, e nenhum ponto para pacientes sem estas características;

. icterícia: contabilizado um ponto para bilirrubina total maior que 2,0 mg/dl e nenhum ponto para bilirrubina total normal;

. coma: contabilizado um ponto para paciente orientado e responsivo a estímulos verbais e nenhum ponto para paciente não responsivo ou sob sedação;

. respiração assistida: contabilizado um ponto para pacientes em ventilação mecânica e nenhum ponto para paciente em ventilação espontânea;

APACHE II- A escala denominada "*Acute Physiology And Chronic Health Evaluation - APACHE*" foi desenvolvida por Knaus (33,34) em 1981 e revisada e simplificada em 1985. É um escore utilizado em pacientes nas primeiras 24 horas de admissão e usado principalmente em unidades de terapia intensiva, que utiliza informações como comorbidades prévias, idade e alterações laboratoriais para avaliação de gravidade e pontuação de risco de mortalidade.

Tabela abaixo mostra forma de cálculo e correlação com mortalidade:

Escore (pontos)	Risco de mortalidade
0-4	Aproximadamente 4%
5-9	8%
10-14	15%
15-19	25%
20-24	40%
25-29	55%
30-34	75%
>34	85%

Variáveis	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
Temperatura (C)	≥ 41	39-40,9		38,5-38,9	36-38,4	34-35,9	32-33,9	30-31,9	≤29,9
PAM (mmHg)	≥160	130-159	110-129		70-109		50-60		≤49
FC (bpm)	≥180	140-179	110-139		70-109		55-69	40-54	≤39
FR (sem Ventilação Mecânica)	≥50	35-49		25-34	12-24	10-11	6-9		≤5
PaO ₂ /FiO ₂ : se FiO ₂ ≥0,5 se FiO ₂ ≤0,5, PaO ₂ :	≥500	350-499	200-349		>70	61-70		55-60	≤55
pH arterial	≥7,7	7,6-7,69		7,5-7,59	7,33-7,49		7,25-7,32	7,15-7,24	<7,15
Bicarbonato sérico	≥52	41-51,9		32-40,9	22-31,9		18-21,9	15-17,9	<15
Sódio sérico(mEq/l)	≥180	160-179	155-159	150-154	130-149		120-129	111-119	≤110
K sérico(mEq/l)	≥7	6-6,9		5,5-5,9	3,5-5,4	3-3,4	2,5-2,9		<2,5
Cr sérica(mg/dl) Dobro pontos se LRA	≥3,5	2-3,4	1,5-1,9		0,6-1,4		<0,6		
Hematócrito(%)	≥60		50-59,9	46-49,9	30-45,9		20-29,9		<20
Glóbulos brancos (mm ³)(em 1000)	≥40		20-39,9	15-19,9	3-14,9		1-2,9		<1
Escala de Coma de Glasgow (ECG): Score = 15-ECG atual									

PAM- Pressão Arterial Média, FC- Frequência cardíaca, FR- Frequência respiratória, K- Potássio, Cr- Creatinina

A. Total de pontos somados acima:12
B. Pontos por idade(anos): $\leq 44=0$; 45-54=2; 55-64=3; 65-74=5; $\geq 75=6$
C. Pontos por doença crônica
Total Escore de APACHE II (somar total de pontos A + B + C)

C) Pontos por doença crônica:
Se o paciente tem uma história de insuficiência grave de órgãos ou é imunocomprometido; assinale como se segue:
Para pacientes não- cirúrgicos ou pós-operatórios de emergência: 5 pontos
Para pacientes de pós-operatórios eletivos: 2 pontos

3.2.5 Análise estatística:

A partir do protocolo de estudo, os dados foram digitados em planilha eletrônica e verificados possíveis erros de digitação e sua análise foi feita com auxílio do programa estatístico STATA 8.0 (Statacorp,2004). Os dados foram apresentados como média e desvio-padrão ou mediana com variação interquartílica e a significância foi de 5% ($p<0.05$).

Inicialmente foi feita análise descritiva de todos os pacientes acompanhados no período, sendo calculadas medidas de tendência central e dispersão para as variáveis contínuas e de frequência para as variáveis categóricas. Os pacientes foram divididos em dois grupos de acordo com a presença ou ausência de LRA e comparados utilizando o *Teste do Qui-Quadrado* para variáveis categóricas e o *Teste t* ou *Kruskal Wallis* para variáveis contínuas de acordo com sua distribuição paramétrica ou não paramétrica. Após, foi realizada análise multivariada, através da construção de modelo de regressão logística, com cálculos dos *Odds Ratio* (OR), tanto pelo método “*backward stepwise*” como pelo método de *Collett*, identificando a colinearidade das variáveis. A “*backward selection*” das variáveis foi utilizada seriadamente para remover as variáveis não significantes. As variáveis que quando retiradas

provocavam alteração no parâmetro maior do que 10% foram reintroduzidas no modelo para controlar possíveis fatores de confusão. Foi incluído no modelo inicial as variáveis clinicamente relevantes ou aquelas que obtiveram $p < 0,1$ na análise univariada. Procedimento semelhante foi realizado para a comparação dos grupos sobreviventes e não sobreviventes. Para determinar a capacidade do NGALu e da sua relação com a Cru discriminar o diagnóstico de LRA e prognóstico dos pacientes sépticos foi construída área sob a curva ROC e determinados os valores de *cutoff* de acordo com a melhor sensibilidade e especificidade.

4 Resultados:

No período de 01 de fevereiro de 2013 até 31 de março de 2014 foram avaliados 296 pacientes sépticos admitidos na SEC do HC-FMB. Destes, 128 pacientes foram excluídos por apresentarem idade inferior a 18 anos (17 pacientes), doença renal crônica (DRC) avançada (57 pacientes), serem transplantados renais (22 pacientes), por não terem a urina coletada ou por apresentarem amostras urinárias com lise (32 pacientes), resultando em ausência de valor de NGAL urinário. Um total de 168 pacientes foram incluídos no trabalho. A figura 1 mostra essa distribuição.

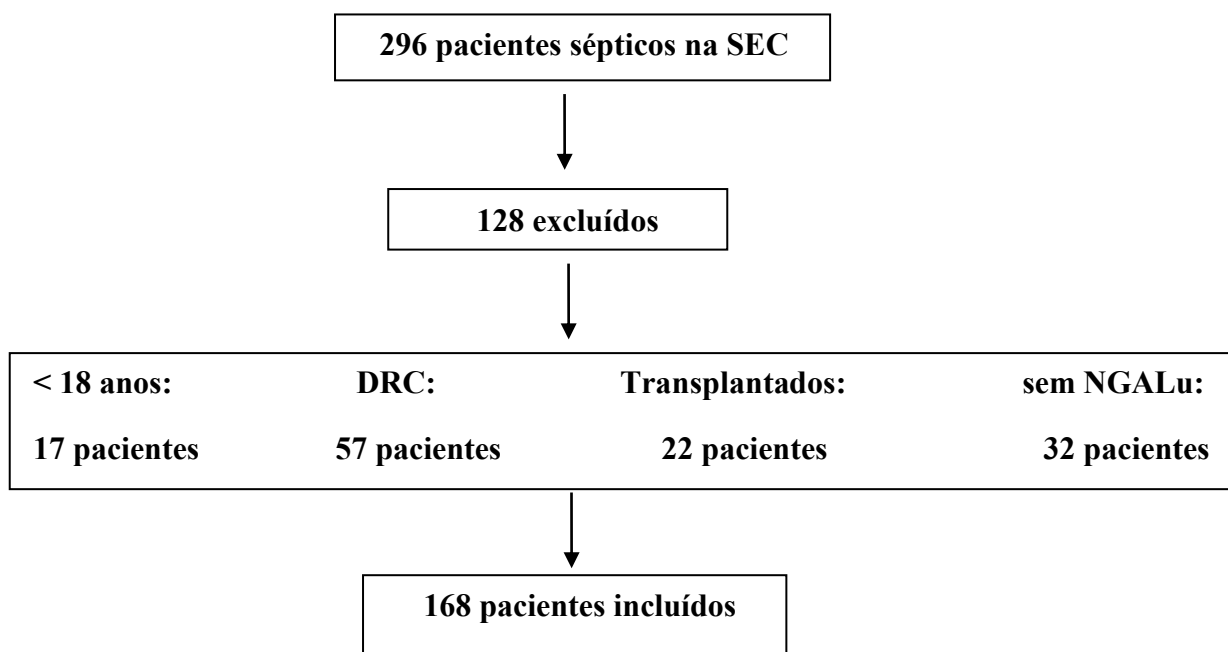


Figura 1: Distribuição dos pacientes incluídos no estudo

4.1 Análise da população geral:

As características da população estudada são mostradas na tabela 1.

Houve predomínio do sexo masculino (57,7%), com média de idade de $68,0 \pm 15,4$ anos, pressão arterial média (PAM) à admissão de $73,3 \pm 23,08$ mmHg e creatinina basal de $0,82 \pm 0,34$. Possuíam inúmeras comorbidades, sendo a predominante hipertensão arterial sistêmica (HAS) em 50,6% dos casos, doença cardiovascular (DCV) em 29,7% e diabetes mellitus (DM) em 26,1%. Choque séptico foi a principal classificação do estado séptico

(55,4%), sendo o pulmão o principal foco infeccioso (48,8%). A necessidade de ventilação mecânica ocorreu em 21,4% dos pacientes, a transfusão de concentrados de hemácias em 7,7% e o uso de corticóide em 17,3%.

O tempo para a administração de antibióticos foi inferior a uma hora a partir do diagnóstico em 83 pacientes, ou seja, metade deles (50,9%). As classes de antibióticos utilizadas foram agrupadas da seguinte forma: Amoxicilina-clavulonato/Quinolonas (26,8%), Cefalosporinas de 3ª e 4ª geração (11,9%), Piperacilina-Tazobactam (13,1%), Carbapenêmicos (3%), associação de Cefalosporina com Metronidazol (4,2%), associação de Carbapenêmico + Vancomicina (14,3%) e associação de Cefalosporina com Claritromicina (25%).

O volume médio de fluídos administrado à admissão foi de $1,25 \pm 0,74$ l e o débito urinário em 24h foi de 900 ml (450-1425), sendo 0,7ml/kg/h (0,4-1,05). A mediana do balanço hídrico nas primeiras 24h da admissão foi de 500 ml (-224,2-1131,5).

Um total de 125 pacientes (74,4%) apresentou disfunção de órgãos, sendo o rim o principal órgão acometido, seguido do pulmão.

Os pacientes após a primeira avaliação na SEC foram encaminhados aos seguintes locais: 8 (4,82%) permaneceram no mesmo local, 52 (31,3%) tiveram como destino as enfermarias, 49 (29,5%) foram transferidos às UTIs e 57 (34,3%) para as unidades semi-intensivas localizadas nas dependências do pronto-socorro, denominadas alas. O APACHE II foi de $19,67 \pm 7,11$.

O diagnóstico de LRA foi realizado em 121 pacientes (72%), sendo que a maioria deles (71,9%) foi realizado à admissão e 28,1% durante a evolução. Dentre aqueles com LRA, houve predomínio de LRA-AKIN 3 (43%) e ATN-ISS foi de $0,51 \pm 0,23$. A necessidade de suporte renal agudo (SRA) ocorreu em 15 pacientes (8,9%), com predomínio da modalidade hemodialítica (66,7%). A mortalidade ocorreu em 73 pacientes (44,3%).

Quanto aos exames à admissão, proteína C reativa (PCR) média foi de 8,65mg/dL (3,92-11,9), glóbulos brancos (GB) de 11.300 mm^3 (6700- 15.930), hemoglobina (Hb) 11,4 g/dL $\pm 2,7$ e Cr de entrada de 1,2 mg/dL (0,9 – 1,9).

O NGALu apresentou-se elevado na população geral desde a admissão. Nas primeiras 24h(1) foi de 3,78 (2,14-7,06), entre 24 e 48h(2) de 2,89 ng/ml (1,14-6,9). A relação NGALu/Cru nas primeiras 24h(1) foi de 64,13 (34-130) e entre 24 e 48h de 69,58 (32,48-117,75). Naqueles que desenvolveram LRA foi colhida uma terceira amostra no

momento do diagnóstico, sendo o NGAL(3) de 6,6 (2,86-11,05) e a relação NGALu/Cru 165,53 (100,28-262,55).

Tabela 1- Características gerais dos pacientes sépticos admitidos na sala de emergências clínicas

Características:	Pacientes sépticos (N=168)
Sexo masculino	97 (57,7)
Idade (anos)	68,04 ± 15,43
FC	101,49 ± 21,83
Temperatura (°C)	37,41 ± 1,43
PAM	73,33 ± 23,08
FR	24,22 ± 7,43
Creatinina basal	0,82 ± 0,34
Comorbidades n(%):	
HAS	85(50,6)
DM	44(26,19)
DLP	18(10,71)
DPOC	16(9,52)
DCV	50(29,76)
Hepatopatia	6(3,57)
Nefropatias	12(7,14)
Outras	92(54,76)
Uso de DVA n(%)	93 (55,36)
Classificação sepse n(%):	
Sepse	26 (15,48)
Sepse grave	49 (29,17)
Choque séptico	93 (55,36)
Focos n(%):	
Urinário	30(18,07)
Pulmonar	81(48,8)
Abdominal	15(9,04)
Ventilação Mecânica n(%)	36 (21,43)
Transfusão concentrado hemácias n(%)	13 (7,74)
Uso de corticoide N(%)	29 (17,26)
Tempo de administração de ATB* n(%):	
<1h	83 (50,92)
>1h	80 (49,08)
Tipo de antibiótico:	
Amoxicilina + Clavulanato/Quinolona	45(26,74)
Cefalosporina + Claritromicina	42(25)

Carbapenêmico + Vancomicina	24(14,29)
Volume administrado à admissão	1,25L $\pm$ 0,74
Débito urinário 24h(ml)	900 (450-1425)
DU (ml/kg/h)	0,70 (0,4-1,05)
Balanço hídrico (ml)	500 (-224,2-1131,5)
PCR(mg/dL)	8,65 (3,92-11,9)
GB(mm³)	11.300 (6.700-15.930)
Cr à admissão(mg/dL)	1,2 (0,9-1,9)
Hb à admissão(g/dL)	11,4 $\pm$ 2,7
Disfunção de órgãos n(%)	125 (74,4)
Destino* n(%):	
Enfermaria	52 (31,33)
UTI	49 (29,52)
ALA	57(34,34)
SEC	8 (4,82)
LRA n(%):	121 (72,02)
à admissão	87(71,9)
à evolução	34 (28,1)
AKIN n(%):	
I	35 (28,93)
II	34 (28,1)
III	52 (42,98)
ATN- ISS	0,51 $\pm$ 0,23
APACHE II	19,67 $\pm$ 7,11
Diálise n(%):	15 (8,93)
HD	10 (66,67)
DP	5 (33,33)
Evolução n(%):	
alta	92 (55,76)
óbito	73 (44,24)
NGALu1(ng/ml)	3,78 (2,14-7,06)
NGALu2 (ng/ml)	2,89 (1,14-6,9)
NGALu3(ng/ml)	6,6 (2,86-11,05)
NGALu/Cru1 (ng/mg)	64,13 (34-130)
NGALu/Cru2 (ng/mg)	69,58 (32,48-117,75)
NGALu/Cru3 (ng/mg)	165,53 (100,28-262,55)

Valores apresentados em média e desvio padrão, mediana e intervalo interquartilico

LRA- Lesão renal aguda, PAM- Pressão Arterial Média, FC- Frequência Cardíaca, FR- Frequência respiratória, HAS- Hipertensão arterial sistêmica, DM- diabetes mellitus, PCR-Proteína C Reativa, GB- Glóbulos brancos, Cr- Creatinina, Hb- Hemoglobina, ATN-ISS- Escore de Severidade Individual na Necrose Tubular Aguda, APACHEII-Acute Physiology and Chronic Health disease Classification system II, HD- Hemodiálise, DP- Diálise Peritoneal, Cru- Creatinina urinária

4.2 Pacientes com e sem LRA :

Os pacientes foram subdivididos nos grupos com e sem LRA, conforme mostra a tabela 2.

Como descrito anteriormente, 121 pacientes constituíram a população com LRA e 47 pacientes a sem LRA.

O grupo com LRA apresentou maior idade $69,87 \pm 13,7$ anos x $63,3 \pm 18,5$ ($p=0,012$), além de creatinina basal maior, $0,86 \pm 0,30$ x $0,72 \pm 0,26$ ($p=0,02$).

Houve predomínio de choque séptico, ou seja, necessidade de uso de DVA no grupo com LRA ($63,8\%$ x 34% , $p=0,0002$), assim como necessidade de ventilação mecânica, que correspondeu a $26,4\%$ desta população, comparado a $8,5\%$ na sem LRA ($p=0,01$).

O débito urinário em 24h(ml/kg/h) da admissão foi menor no grupo LRA: $0,64(0,33-0,97)$ x $1,02(0,75-1,35)$, ($p=0,049$) e o APACHE II significativamente maior neste grupo, com uma média de $21,04 \pm 7,17$ x $15,82 \pm 5,4$ ($p<0,0001$).

O destino daqueles com LRA foi predominantemente a unidade semi-intensiva do pronto-socorro (ala) e UTI, enquanto os sem LRA foram para as enfermarias ($p=0,007$). A mortalidade foi maior nos com LRA ($51,4\%$ x $25,0\%$, $p=0,02$).

Quanto ao NGALu 1, o grupo LRA mostrou valores mais elevados com diferença estatisticamente significativa: $3,86 (2,6-9,5)$ x $3,5 (0,8-5)$; $p=0,003$. Na relação NGALu/ Cru, o grupo com LRA apresentou valores maiores tanto nas primeiras 24h: $75,08 (37-165)$ x $53,31 (17,79-102,2)$; $p< 0,0001$, como nas 48h após admissão: $77,2 (29,4-160,6)$ x $60,29 (17,56-85,64)$; $p=0,02$.

Os grupos foram semelhantes quanto às comorbidades: HAS ($p=0,67$), DM ($p=0,29$), DCV ($p=0,70$) e nefropatia ($p=0,12$), necessidade de transfusão ($p=0,68$), uso de corticóide ($p=0,61$) e tempo de administração de antibiótico ($p=0,36$). Aos exames de admissão, Hb de $11,3 \pm 2,5$ x $11,4$ g/dL $\pm 2,8$ ($p=0,71$); GB de $11.250 (6,375-15725)$ x $11.800\text{mm}^3 (7.375-19.250)$, $p=0,57$ e Cr à admissão de $0,7 (0,6-1,0)$ x $1,5$ mg/dL ($1,0-2,2$), $p=0,02$ para o grupo sem LRA e com LRA respectivamente.

Tabela 2- Características dos pacientes sépticos admitidos na sala de emergências clínicas com e sem LRA

Características	LRA (N=121)	Sem LRA (N=47)	p
Sexo Masculino n(%)	73(60,3)	24(51,6)	0,27
Idade	69,87 ± 13,7	63,3 ± 18,5	0,01
PAM	72,19 ± 21,56	76,29 ± 26,68	0,31
Comorbidades n(%)			
HAS	60(49,59)	25(53,19)	0,67
DM	29(23,97)	15(31,91)	0,29
DLP	10(8,26)	8(17,6)	0,09
DPOC	14(11,57)	2(4,26)	0,14
DCV	35(28,93)	15(31,91)	0,70
Hepatopatia	6(4,96)	0	0,12
Nefropatia	10(8,26)	2(4,26)	0,36
Outras	67(55,37)	25(53,19)	0,79
Creatinina basal	0,86 ± 0,30	0,72 ± 0,26	0,02
Uso de DVA n(%)	77(63,64)	16(34,04)	0,0005
Classificação da sepse n(%):			0,0002
Sepse	11(9,09)	15(31,91)	
Sepse grave	33(27,27)	16(34,04)	
Choque séptico	77(63,64)	16(34,04)	
Foco n(%):			0,33
Urinário	20(16,67)	10(21,74)	
pulmonar	54(45)	27(58,7)	
VM n(%)	32(26,45)	4(8,51)	0,01
Necessidade de Transfusão n(%)	10(8,26)	3(6,38)	0,68
Uso de corticoide n(%)	22(18,18)	7(14,89)	0,61
Tempo de administração do ATB n(%) :*			0,36
<1h	57(48,72)	26(56,52)	
>1h	60(51,28)	20(43,48)	
Tipo de Antibiótico:			0,01
Amoxicilina-clavulanato/	31(33,7)	13(17,8)	
Quinolona			
Cefalosporina + Claritromicina	22(23,9)	20(12,12)	
Carbapenêmico + Vancomicina	15(16,3)	9(12,33)	
Volume admissão (L)	1,22 ± 0,74	1,33 ± 0,76	0,32
DU em 24h (ml/kg/h)	0,64 (0,33-0,97)	1,02 (0,75-1,35)	0,049
Balanco Hídrico (ml)	500 (-200-1200)	545 (-500-1130)	0,52

GB (mm³)	11.800 (7375-19205)	11.250 (6.375-15725)	0,57
Cr à admissão (mg/dL)	1,5 (1,0-2,2)	0,7 (0,6-1,0)	0,02
Hb à admissão (g/dL)	11,4 ± 2,8	11,3 ± 2,5	0,71
APACHE II	21,04 ± 7,17	15,82 ± 5,40	<0,0001
Destino n(%):			0,007
Enfermaria	29(24,17)	23(50)	
UTI	41(34,17)	8(17,39)	
Ala	45(37,5)	12(26,09)	
SEC	5(4,17)	3(6,52)	
Evolução n(%):			0,002
Alta	57(48,31)	35(74,47)	
Óbito	61(51,69)	12(25,53)	
NGALu(ng/mL):	3,86(2,6-9,54)	3,56(0,82-5,2)	0,003
1	3,03(0,65-4,33)	2,76(2,3-7,83)	0,009
2			
NGALu/Cru(ng/mg):			
1	75,08 (37-165)	53,31 (17,79-102,2)	<0,0001
2	77,2 (29,49-160,6)	60,29 (17,56-85,64)	0,002

Valores apresentados em média e desvio padrão, mediana e intervalo interquartilico

LRA- Lesão renal aguda, PAM- Pressão Arterial Média, FC Frequência Cardíaca, FR- Frequência respiratória, HAS- Hipertensão arterial sistêmica, DM- diabetes mellitus, PCR-Proteína C Reativa, GB- Glóbulos brancos, Cr- Creatinina, Hb- Hemoglobina, ATN-ISS- Escore de Severidade Individual na Necrose Tubular Aguda, APACHEII-Acute Physiology and Chronic Health disease Classification system II, HD- Hemodiálise, DP- Diálise Peritoneal, Cru- Creatinina urinária

Na regressão logística, foram identificados como fatores associados à LRA a idade > 65 anos (OR=1,28, IC=1,12-1,89, p=0,04), a presença do choque séptico à admissão (OR=1,89, IC=1,43-2,64, p=0,003), a necessidade de VM (OR=1,85 IC 1,49-1,82, p=0,03), o NGALu 2 (OR=1,49, IC 1,05-2,13, p=0,02) e o óbito (OR=1,96, IC 1,74-3,15, p =0,001) e, como mostrado na tabela abaixo.

Tabela 3. Análise Multivariada dos fatores associados à LRA

LRA			
Variáveis	OR	IC (95%)	P
Idade > 65 anos	1,28	1,12-1,89	0,04
Dislipidemia	1,18	0,94-1,36	0,17
Diabetes	1,16	0,98-1,98	0,12
Cr basal	1,24	0,98-1,46	0,08
Choque séptico	1,89	1,43-2,64	0,003
Débito urinário em 24h	1,15	0,94-1,09	0,09
Necessidade de VM	1,85	1,49-1,82	0,03
NGAL u 1	1,21	0,91-2,11	0,11
NGAL u 2	1,49	1,05-2,13	0,02

4.3 Evolução dos pacientes:

A tabela 4 mostra as características clínicas e laboratoriais da população de acordo com o desfecho clínico.

Os grupos foram estatisticamente diferentes quanto a PAM à admissão na SEC, a qual foi significativamente menor naqueles que foram a óbito ($69,34 \pm 25,6$ x $76,54 \pm 20,73$; $p=0,05$); quanto à necessidade de DVA e diagnóstico de choque séptico, sendo maiores no grupo não sobrevivente (41 x 73% , $p=0,001$). A necessidade de ventilação mecânica e a disfunção de órgãos também foram estatisticamente maiores no grupo de pacientes que evoluíram a óbito ($5,4$ x $42,5\%$, $p<0,0001$ e $66,3$ x $86,5$, $p=0,01$, respectivamente).

Aqueles que evoluíram a óbito tiveram como principal destino a UTI, enquanto os sobreviventes foram encaminhados principalmente à enfermaria ($p<0,0001$). A presença de LRA foi maior no grupo não sobrevivente ($83,2\%$ x $61,9\%$; $p=0,002$), assim como os valores de ATN-ISS, APACHE II ($0,59 \pm 0,25$ x $0,42 \pm 0,18$; $p<0,0001$ e $23,31 \pm 7,34$ x $16,85 \pm 5,4$; $p<0,0001$ respectivamente), LRA-AKIN 3 ($50,6$ x $34,2\%$, $p=0,04$) e necessidade de diálise

(3,6 x 15,7%, $p=0,04$). Já a recuperação da função renal no momento do desfecho hospitalar foi menor no grupo com evolução para óbito (93,7 x 41,6, $p<0,0001$).

Quanto aos exames de admissão, Hb à admissão de $11,2 \pm 5,5$ x $11,5$ g/dL $\pm 5,5$ ($p=0,72$), GB de 10.800 (6.825-23.225) x 11.700mm³ (7.275-15925), $p=0,51$; Cr de 1,35 (0,7-2,07) x 1,0 mg/dL (0,8-1,7), $p=0,04$ e PCR de 17,3 (5,3-29,4) x 8,85 mg/dL (3,85-26,35), $p=0,02$ para os grupos óbito e alta respectivamente.

O grupo óbito apresentou diferença significativa quanto ao NGAL 1: 4,88 (2,19-9,51) x 3,30 (1,76-6,18), $p=0,01$.

Os grupos foram semelhantes quanto à Cr basal ($p=0,52$), comorbidades: HAS ($p=0,07$), DM ($p=0,71$) e nefropatia ($p=0,85$), necessidade de transfusão ($p=0,66$), uso de corticóide ($p=0,08$), tempo de administração de antibiótico ($p=0,32$), volume administrado à admissão ($p=0,75$) e balanço hídrico ($p=0,47$).

Não houve diferença significativa entre os dois grupos quanto ao NGAL 2 ($p=0,16$) e as relações NGALu/Cru 1 ($p=0,82$) e NGALu/Cru2 ($p=0,63$).

Tabela 4- Características clínicas dos pacientes sépticos admitidos na sala de emergências clínicas de acordo com a evolução

	Alta (N=94)	Óbito (N=74)	p
Características			
Sexo Masculino n(%)	49(56,23)	46(63,01)	0,20
Idade	66,5 $\pm$ 16,7	70,57 $\pm$ 13,01	0,08
PAM	76,54 $\pm$ 20,73	69,34 $\pm$ 25,6	0,05
Comorbidades n(%):			
HAS	52(56,52)	31(42,47)	0,07
DM	25(27,17)	18(24,66)	0,71
DLP	13(14,13)	5(6,85)	0,13
DPOC	12(13,04)	4(5,48)	0,10
DCV	33(35,87)	15(20,55)	0,03
Hepatopatia	2(2,17)	4(5,48)	0,25
Nefropatia	7(7,61)	5(6,85)	0,85
Outras	51(55,43)	39(53,42)	0,79
Creatinina basal	0,84 $\pm$ 0,38	0,81 $\pm$ 0,29	0,52
Uso de DVA n(%)	48(41,30)	54(73,9)	<0,0001
Classificação sepse n(%):			0,0001
Sepse	18(19,57)	7(9,59)	
Sepse grave	37(39,13)	12(16,44)	

Choque séptico	39(41,3)	55(73,97)	
Foco n(%):			0,028
Urinário	22(24,18)	8(11,11)	
pulmonar	38(41,76)	43(59,72)	
VM n(%)	5(5,43)	31(42,47)	<0,0001
Transfusão n(%)	8(8,70)	5(6,85)	0,66
Corticóide n(%)	12(13,04)	17(23,29)	0,08
Tempo de administração ATB n(%):			0,32
<1h	44(47,25)	39(55,07)	
>1h	49(52,75)	31(44,93)	
Tipo de ATB n(%)			0,01
Clavulin/Quinolona	31(33,70)	13(17,81)	
Cefalosporina + Claritromicina	22(23,91)	20(27,40)	
Carbapenêmico + Vancomicina	20(27,4)	22(23,91)	
Volume admissão(L)	1,25 ± 070	1,25 ± 0,81	0,75
Débito urinário em 24h(ml/kg/h)	0,8 (0,44-1,07)	0,62 (0,33-1,06)	0,22
Balço Hídrico (ml)	500 (-299-1136)	545 (-200-1130)	0,47
PCR (mg/dL)	8,85 (3,85-26,35)	17,3 (5,3-29,4)	0,02
GB (mm³)	11.700 (7.275-15925)	10.800 (6.825-23.225)	0,51
Cr à admissão (mg/dL)	1,0 (0,8-1,7)	1,35 (0,7-2,0)	0,04
Hb à admissão (g/dL)	11,5 ± 5,5	11,2 ± 5,5	0,72
Disfunção de órgãos n(%)	61(66,30)	61(83,56)	0,01
Destino n(%):			<0,0001
Enfermaria	39(41,76)	12(16,67)	
UTI	14(15,38)	35(47,22)	
Ala	37(39,56)	21(29,17)	
SEC	3(3,30)	5(6,94)	
LRA n(%)	57(61,96)	61(83,56)	0,002
Admissão	43(75,44)	43(70,49)	0,54
Evolução	14(24,56)	18(29,51)	0,75
AKIN n(%):			0,09
I	21(36,84)	13(21,31)	
II	17(29,82)	17(27,87)	
III	19(33,33)	31(50,82)	
ATN-ISS	0,42 ± 0,18	0,59 ± 0,25	<0,0001
APACHE	16,85 ± 5,40	23,31 ± 7,34	<0,0001
Recuperação função renal n(%):	55(93,22)	25(41,67)	<0,0001
Evolução Diálise n(%)	5(3,6)	8(15,7)	0,04
Tipo n(%):			
HD	1(20)	8(100)	0,002
DP	4(80)	0	

NGALu(ng/mL):			
1	3,30 (1,76-6,18)	4,88 (2,19-9,51)	0,01
2	2,18 (0,89-6,36)	3,93 (1,89-7,19)	0,05
3	6,60 (1,66-6,97)	12,42 (2,63-19,02)	0,15
NGAL/Cru(ng/mg):			
1	56,91 (27,55-113,92)	75,08 (40-154)	0,82
2	46,30 (20,81-137,49)	93,35 (57,45-115,81)	0,63
3	134,41 (35,99-259,43)	263,6 (99,28-984,15)	0,056

Valores apresentados em média e desvio padrão, mediana e intervalo interquartilico

LRA- Lesão renal aguda, PAM- Pressão Arterial Média, FC- Frequência Cardíaca, FR- Frequência respiratória, HAS- Hipertensão arterial sistêmica, DM- diabetes mellitus, PCR-Proteína C Reativa, GB- Glóbulos brancos, Cr- Creatinina, Hb- Hemoglobina, ATN-ISS- Escore de Severidade Individual na Necrose Tubular Aguda, APACHEII-Acute Physiology and Chronic Health disease Classification system II, HD- Hemodiálise, DP- Diálise Peritoneal, Cru- Creatinina urinária

Na regressão logística, foram identificados como fatores associados ao óbito a presença do choque séptico (OR=1,83, IC=1,23-2,74, p=0,007), a presença de LRA AKIN 3 (OR=1,64, IC=1,19-1,89, p=0,02) e o APACHE II > 20 (OR=1,92, IC=1,34-2,02, p=0,009) como mostrado na tabela 5.

Tabela 5. Análise Multivariada dos fatores associados ao óbito

Óbito	OR	IC (95%)	p
Dislipidemia	1,22	0,97-1,33	0,19
Hipertensão	1,18	0,94-1,35	0,11
Choque séptico	1,83	1,23-2,74	0,007
Foco pulmonar	1,11	0,91-1,76	0,23
Uso de esteroides	1,23	0,93-1,67	0,32
LRA-AKIN 3	1,64	1,19-1,89	0,02
Apache II >20	1,92	1,34-2,02	0,009
Diálise	1,26	1,13-1,75	0,03
NGALu1	1,19	0,98-1,98	0,08
NGALu2	1,29	0,99-2,13	0,06

A seguir foi realizada análise mais detalhada do biomarcador NGALu. Foi realizado um grupo controle com total de 20 pacientes, funcionários do HC- FMB, de ambos os sexos, faixa etária dos 20 a 60 anos, sem comorbidades e sem história de infecção aguda. Foi coletada urina destes pacientes e dosado NGALu, que teve valor médio de $0,2 \text{ ng/ml} \pm 0,08$.

Abaixo, foi comparado o grupo sem LRA com os subgrupos LRA à admissão e durante evolução.

4.4 Pacientes sem LRA e com LRA à admissão:

Seguem abaixo, na tabela 6, os valores de NGALu nos pacientes sem LRA e com diagnóstico de LRA à admissão. Nota-se diferença significativa entre os dois grupos para o valor de NGALu colhido nas primeiras 24 h de admissão, sendo mais elevado naqueles que apresentaram LRA à admissão. Já para o NGALu colhido entre 24 e 48h após a admissão não houve diferença estatisticamente significante.

Tabela 6- Valores de NGAL urinário (mediana e intervalo interquartilico) no grupo sem LRA e com LRA à admissão

	Sem LRA (n=47)	LRA à admissão (n=87)	p
NGALu1	3,65(0,82-5,81)	4,31(2,35-10,87)	0,015
NGALu2	2,76(0,65-5,08)	3,69(1,82-7,81)	0,12

4.5 Pacientes sem LRA e com LRA na evolução

Na tabela 7 foram comparados os valores de NGALu entre as populações sem LRA e que desenvolveram LRA durante a evolução do quadro séptico. Houve diferença significativa entre as duas populações para o NGALu tanto das primeiras 24 horas da admissão quanto para o NGALu colhido entre 24 e 48 h, sendo maior no grupo LRA durante a evolução.

Tabela 7- Valores de NGAL urinário (mediana e intervalo interquartílico) nos grupos sem LRA e com LRA durante a evolução

	Sem LRA (n=47)	LRA na evolução (n=34)	p
NGALu1	3,65(0,82-5,71)	4,45(2,89-7,95)	0,034
NGALu2	2,76(0,65-5,08)	3,7(3,14-7,83)	0,043

4.6 Pacientes com LRA à admissão e na evolução

No subgrupo LRA, dividido naqueles que apresentaram o diagnóstico logo à admissão e naqueles que a desenvolveram durante a internação, o NGALu tanto das primeiras 24h, quanto das 48h, não mostrou diferença significativa, como apresentado na tabela 8.

Tabela 8- Valores de NGAL (mediana e intervalo interquartílico) no grupo com LRA à admissão e evolução

	LRA à admissão (n=87)	LRA na evolução (n=34)	p
NGALu 1	4,31(2,35-10,87)	4,45(2,89-7,95)	0,12
NGALu 2	3,69(1,82-7,81)	3,7(3,14-7,83)	0,17

A figura 2 mostra os três momentos de coleta do NGALu no subgrupo LRA durante a evolução, com comportamento bimodal, ou seja, mostrando um pico no primeiro momento de coleta à admissão e um segundo pico no momento do diagnóstico de LRA.

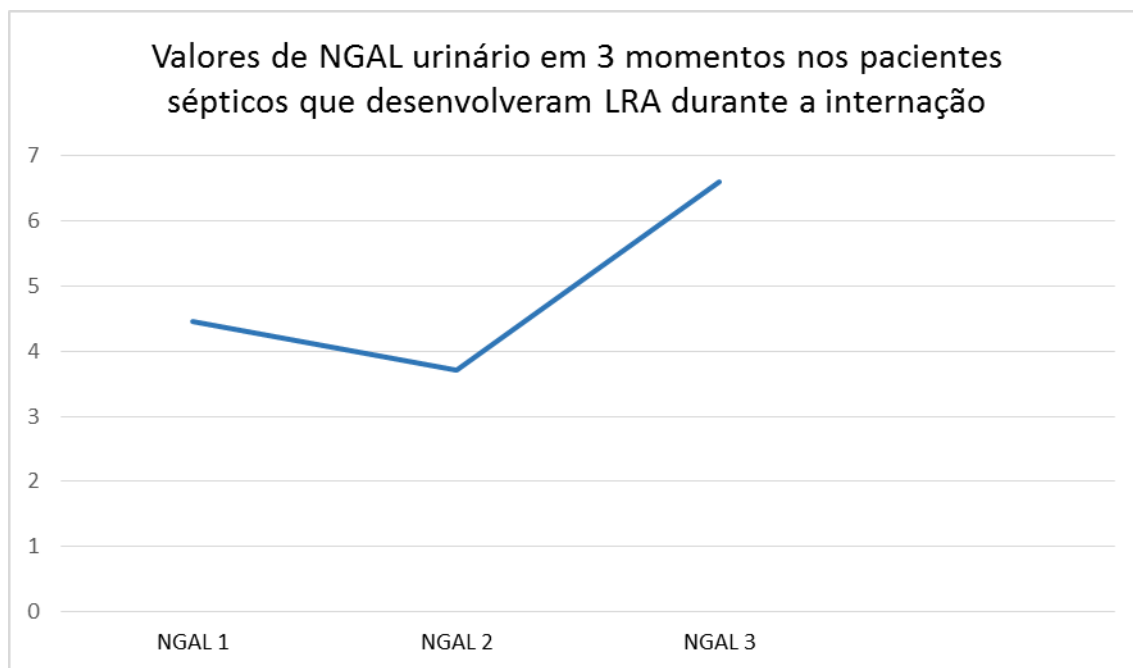


Figura 2- Valores de NGALu em 3 momentos nos pacientes sépticos que desenvolveram LRA durante a internação

4.7 NGAL urinário como preditor diagnóstico de LRA e prognóstico dos pacientes sépticos:

A seguir, as figuras 3 a 6 representam a área sob a curva para o diagnóstico de LRA e prognóstico dos pacientes sépticos. Observa-se nas curvas apresentadas que o NGALu 1 e 2, assim como a relação NGALu/Cru 1 e 2 apresentam boa área sob a curva ($>0,7$), com sensibilidade entre 0,63 e 0,75, e portanto, sendo bons preditores diagnósticos de LRA.

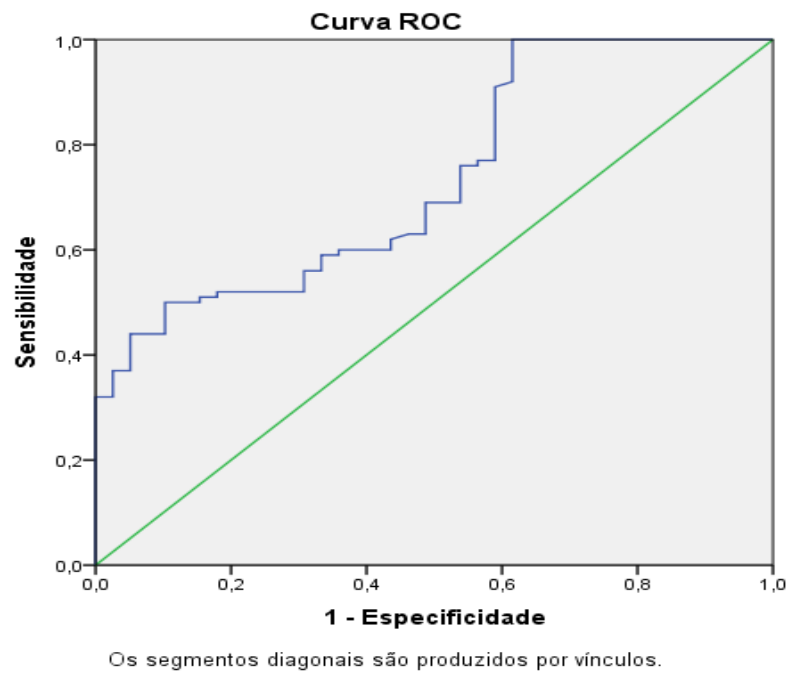


Figura 3- Área sob a curva NGALu1 e diagnóstico de LRA

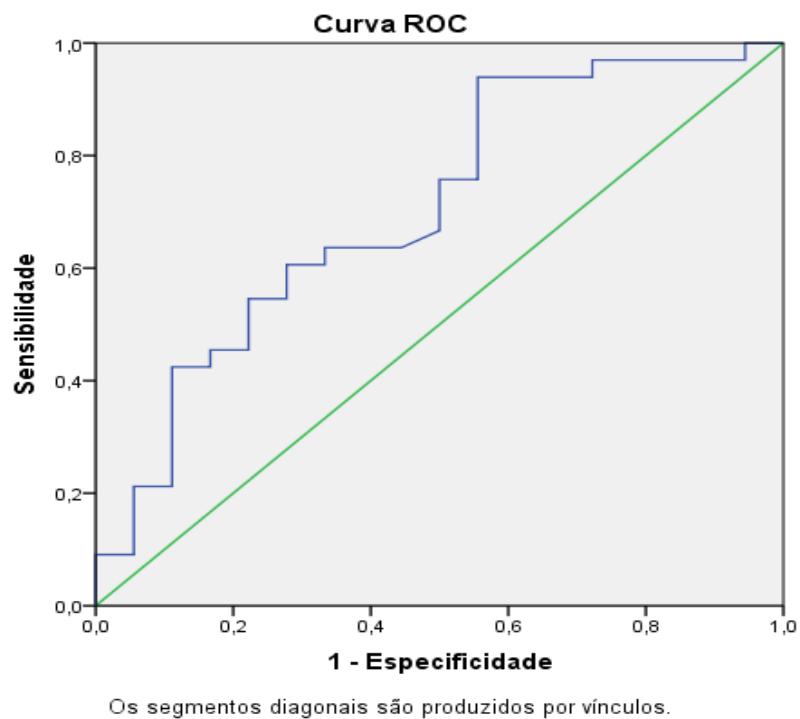


Figura 4- Área sob a curva NGALu 2 e diagnóstico de LRA

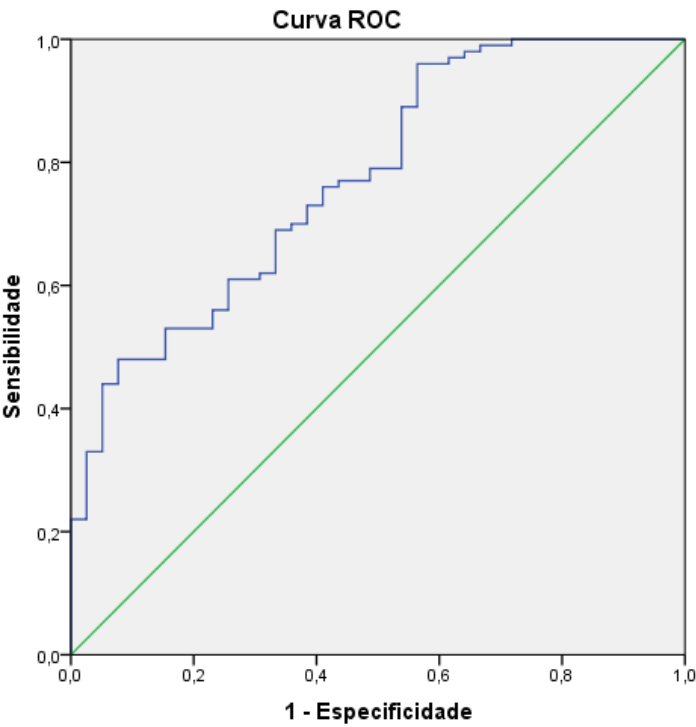


Figura 5- Área sob a curva NGALu/Cru 1 e diagnóstico de LRA

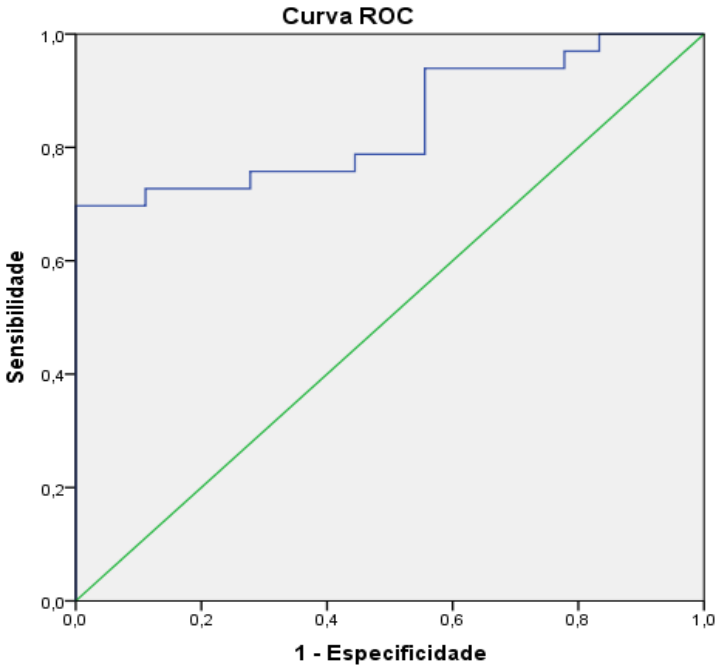


Figura 6 – Área sob a curva NGALu/Cru 2 e diagnóstico de LRA

Tabela 9- Sensibilidade e especificidade do NGAL urinário e da relação NGAL/Cr urinária para diagnóstico de LRA:

	Área sob curva	p	cutoff	Sensibilidade	Especificidade	IC (95%)
NGALu1	0,73	0,04	3,36	0,63	0,46	(0,64-0,82)
NGALu2	0,70	0,01	2,73	0,63	0,44	(0,55-0,85)
NGALu/Cru1	0,77	0,04	54,8	0,70	0,38	(0,68-0,85)
NGALu/Cru2	0,84	0,001	46,4	0,75	0,43	(0,73-0,94)

A tabela 10 mostra subanálise dos pacientes que não desenvolveram LRA na admissão (n=81), sendo as áreas sob a curva para NGALu1, NGALu2, NGALu1/Cru1 e NGALu2/Cru2 foram 0,83, 0,81, 0,87 e 0,89, respectivamente. Os valores de *cutoff* e suas respectivas sensibilidade e especificidade estão apresentadas abaixo.

Tabela 10- Sensibilidade e especificidade do NGAL urinário em pacientes sépticos sem LRA à admissão (n=81)

	Área sob curva	p	cutoff	Sensibilidade	Especificidade	IC (95%)
NGALu1	0.83	0.03	3.16	0.77	0.66	(0.64-0.81)
NGALu2	0.81	0.01	3.83	0.75	0.78	(0.52-0.79)
NGALu/Cru1	0.87	0.02	53.8	0.81	0.68	(0.58-0.78)
NGALu/Cru2	0.89	0.0001	47.4	0.87	0.67	(0.64-0.71)

A figura 7 mostra a área sob a curva para a mortalidade nos diferentes momentos após a admissão hospitalar. Para os preditores NGALu 1, NGALu 2, NGALu/Cru 1, NGALu/Cru 2, a precisão foi respectivamente 0,66; 0,70; 0,68 e 0,81, sendo a sensibilidade e especificidades maiores para o NGAL 2.

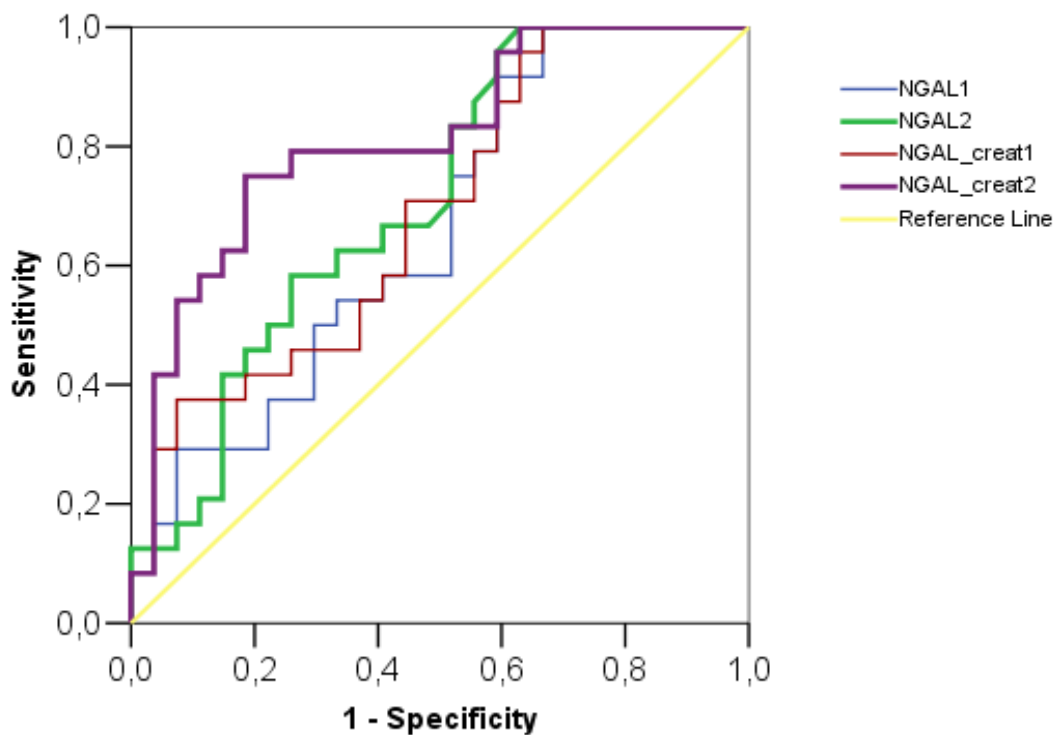


Figura 7- Área sob a curva NGALu e NGAL/Cru e sobrevida dos pacientes sépticos

Tabela 11- Sensibilidade e especificidade do NGAL urinário e da relação NGALu/Cru para a sobrevida dos pacientes sépticos:

	Área sob a curva	p	cutoff	Sensibilidade	Especificidade	IC (95%)
NGALu1	0,66	0,048	2,07	0,88	0,54	(0,51-0,81)
NGALu2	0,70	0,01	1,84	0,95	0,59	(0,56-0,85)
NGAL/Cru1	0,68	0,02	55,9	0,71	0,45	(0,54-0,83)
NGAL/Cru2	0,81	0,001	69,6	0,75	0,48	(0,69-0,93)

5 Discussão:

Há muito são necessários marcadores mais precoces e específicos de LRA. Diante disto, muitos estudos sobre novos biomarcadores, entre eles o NGAL, têm sido realizados e identificados como promissores preditores de LRA em diferentes cenários (35), sendo a nossa população estudada, o paciente séptico.

O presente estudo teve como proposta avaliar a eficácia do NGALu como preditor diagnóstico e prognóstico da LRA associada à sepse em pacientes admitidos na SEC e identificar fatores de risco para o seu desenvolvimento e para o óbito.

A população estudada apresentou características clínicas semelhantes às descritas previamente na literatura, tais como idade acima de 60 anos, predomínio de indivíduos do sexo masculino e elevada prevalência de comorbidades, sendo a principal a hipertensão arterial (18,29).

Assim como esperado em SEC, o choque séptico foi a principal apresentação da sepse nos pacientes admitidos e diferente do recomendado pelo protocolo de Rivers (36), apenas metade dessa população recebeu antibióticos em menos de uma hora após o diagnóstico.

A maioria dos pacientes sépticos (72%) desenvolveu LRA, prevalência maior que a relatada na literatura (2,37). Estudos prévios mostram que 50% dos pacientes com choque séptico em UTIs evoluem com LRA (2). Porém, os dados sobre a prevalência de LRA associada à sepse em SEC são escassos, o que torna difícil analisar e comparar os resultados do presente estudo.

A análise univariada mostrou que a LRA foi mais frequente em pacientes idosos, com creatinina basal mais elevada, com menores níveis de PA e débito urinário à admissão hospitalar, com maior necessidade de VM e DVA e valores de APACHE 2 mais desfavoráveis. O destino dos pacientes com LRA foram predominantemente as unidades de terapia semi-intensiva ou intensiva, enquanto os sem LRA foram para as enfermarias.

Além disso, a mortalidade dos pacientes sépticos com LRA foi superior a de pacientes com sepse e sem LRA.

Na regressão logística, apenas permaneceram como fatores associados à LRA a idade > 65 anos, a presença do choque séptico à admissão e a necessidade de VM, dados esses

semelhantes aos relatados por outros autores (4,10). Entretanto, a maioria das variáveis eram colineares, o que pode ter prejudicado a análise multivariada, uma vez que foi realizada pelo método de *Collet*.

São fatores clássicos na literatura associados ao desenvolvimento de LRA em UTI a idade, os escores prognósticos na admissão e a sepse com relação direta com a sua gravidade (38,39). Ponce e cols (40), ao comparar características clínicas e evolução de pacientes com e sem LRA adquirida em UTI do mesmo centro em estudo prospectivo observacional com 564 pacientes, identificaram como fatores de risco para LRA, idade >55 anos, APACHE II >16 e a creatinina basal >1,2.

Dentre os pacientes sépticos com LRA, a grande maioria (72%) já foi admitida na SEC com diagnóstico de LRA, enquanto 28% deles evoluíram com LRA durante a internação. Como discutido anteriormente, não há dados na literatura com a prevalência de LRA em pacientes sépticos à admissão em SEC, nem como a prevalência de LRA durante a internação destes pacientes.

Ao analisarmos os valores de NGALu da população geral, observamos que os pacientes sépticos apresentaram valores médios de NGALu elevados, de NGALu 1 de 3,78 (2,14-7,06), NGALu 2 de 2,89 (1,14-6,9) e NGALu 3 de 6,6 (2,86-11). Já o grupo controle tem NGALu médio de $0,2 \pm 0,08$ ng/ml. Na população sem LRA, o valor médio de NGALu também era elevado, sendo o NGALu 1 de 3,56 (0,82-5,2) e NGALu 2 de 2,76 (2,3-7,83). Na população com LRA, o valor médio do NGALu 1 foi ainda maior, de 3,86 (2,6-9,54) e NGALu 2 de 3,03 (0,65-4,33). Desta forma, observamos que o valor do NGALu já se encontrava aumentado na população séptica sem LRA, secundário provavelmente à própria infecção.

No presente estudo foi observado que os valores da normalidade de NGALu são próximos de 0,2 e que valores acima disso provavelmente não são fisiológicos e que podem ser justificados pela presença de sepse e/ou LRA. Neste trabalho, o grupo séptico sem LRA apresentava valores de NGALu mais elevados que o grupo controle.

A área sob a curva ROC do NGALu tanto nas primeiras 24h como entre 24 e 48h após admissão, mostrou precisão acima de 0,7, com $p < 0,05$, o que caracteriza o NGALu como um bom preditor diagnóstico da LRA. Ao compararmos a população com LRA e aquela sem LRA, o *cutoff* encontrado para tal diagnóstico com o NGALu 1 foi de 3,36 ng/ml, com sensibilidade de 68%. O valor de *cutoff* na literatura é muito heterogêneo. Nickolas e cols (41) em um estudo que avaliou 635 pacientes admitidos na SEC de um centro da Universidade de

Columbia mostraram que valores de NGALu acima de 130 µg/g de Cr apresentaram sensibilidade e especificidade de 0,90 e 0,95, respectivamente, enquanto Wagener e col (42) em estudo que avaliou 90 pacientes submetidos à cirurgia cardíaca com coleta de urina em 5 momentos diferentes encontraram uma área sob curva para prever LRA imediatamente após a cirurgia e 3 horas após de 0,59 e 0,65 e mostraram que valores de NGALu acima de 18,1 ng/mL tinham sensibilidade e especificidade de 37,7 e 78,1%, respectivamente. Já Schinstock e col(24) em estudo realizado com 363 pacientes admitidos em SEC encontraram *cutoff* de 42,71 ng/ml com sensibilidade e especificidade de 64,5%.

Desta forma, conforme relatado, há divergência de valores de *cutoff* e de sensibilidade e especificidade, provavelmente devido aos diferentes cenários em que os estudos foram realizados, como sala de emergências e unidades intensivas e às distintas populações estudadas como crianças, adultos sépticos e pós operatório de cirurgia cardíaca, além do delineamento heterogêneo dos estudos (24,36,37).

Da mesma forma, as áreas sob a curva ROC da relação entre NGALu e Cru nos momentos 1 e 2 foram superiores a 0,7, com $p < 0,05$, mostrando que esse parâmetro também é preditor de LRA. No presente estudo, a relação NGALu e Cru no momento 2 mostrou maior área sob a curva (0,84) quando comparado com o momento 1 (0,77), sendo portanto melhor preditor de LRA. Porém no estudo de Schinstock e col (24), além do NGALu, a relação NGALu e Cru foi avaliada concomitantemente, não se mostrando potencialmente melhor que o NGALu isolado.

Royakkers e col(43) em um estudo multicêntrico analisaram 140 pacientes críticos em UTI, dos quais 31 não desenvolveram LRA, 57 evoluíram com LRA durante a internação e 52 tiveram o diagnóstico já à admissão na UTI. Foi observado que a área sob a curva do NGALp para prever LRA foi baixa, de 0,45 (0,27-0,63) e 0,53 (0,38-0,67), respectivamente com 2 e 1 dia antes do desenvolvimento de LRA. A área sob a curva do NGALu não foi muito diferente, com 0,48 (0,33-0,62) para ambos os momentos. Quando foi realizada a relação NGALu e Cru, a área sob a curva foi discretamente melhor 0,47 (0,29-0,66) e 0,65 (0,51-0,79) para o dia 2 e 1 prévio ao diagnóstico de LRA respectivamente, porém ainda pouco precisa. Concluiu-se, portanto, que o NGALu e sua relação com Cru não foram considerados bons preditores de LRA neste estudo.

O *cutoff* do NGALu/Cru 1 do presente estudo foi de 54,84 ng/mg, tendo sensibilidade de 0,70 e especificidade de 0,62 e o NGALu/Cru 2 de 46,45 ng/mg, com sensibilidade de 0,75 e especificidade de 0,67. Resultados muito semelhantes foram

observados por Martesson e col (18) em estudo que incluiu 65 pacientes com choque séptico internados em UTI e avaliou entre outros biomarcadores o NGALp e NGALu, encontrando valor de *cutoff* da relação NGALu e Cru de 68ng/mg para o diagnóstico de LRA, com área sobre a curva de 0,86 e sensibilidade e especificidade de 0,71 e 1,0 respectivamente. Os autores também observaram que o NGALp encontrava-se aumentado nos pacientes com SIRS, sepse grave e choque séptico, enquanto o NGALu estava discretamente aumentado, sendo, portanto, melhor preditor para LRA que o NGALp na sepse.

Assim como observado no estudo de Martesson e col (18) citado anteriormente, aparentemente o NGALu tem pico bimodal, um prévio ao aparecimento da LRA e um após seu estabelecimento.

Quando comparados valores do NGALu das primeiras 24h após a admissão dos pacientes sem LRA com aqueles que desenvolveram LRA durante a internação, o segundo grupo apresentou NGALu mais elevado: 3,65 (0,82-5,71) x 4,45 (2,89-7,95), $p=0,034$. Entre 24 e 48h foi observado resultado semelhante, sendo os valores maiores no grupo que desenvolveu LRA durante a internação. O NGAL das 48h no grupo LRA na evolução apresentou uma mediana de 3,7(3,14-7,83) x 2,76 (0,65-5,08); $p=0,04$.

Ao analisar apenas os pacientes com LRA adquirida durante a internação, observou-se comportamento bimodal da elevação do NGALu (NGALu 1=4,45, NGALu 2=3,7 e NGALu 3= 6,6). Segundo a literatura, o aumento precoce ($< 24h$) do NGALu é resultado da excreção de neutrófilos sequestrados nos túbulos lesionados, enquanto o segundo pico pode representar outras formas de NGAL liberadas após regulação nas células tubulares renais (18). Cai e col (44) em estudo com 33 amostras urinárias colhidas de pacientes submetidos à cirurgia cardíaca, sendo que 5 dessas amostras eram de pacientes com infecção urinária concomitantemente, observaram picos de NGALu em diferentes tempos de cirurgia cardíaca. O trabalho descreve as diferentes formas de NGAL produzidas e secretadas pelo organismo, sendo a mais importante a monomérica. Sua produção e secreção são estimuladas por citocinas como IL-1 β e por situações de estresse. A forma monomérica é a principal produzida pelas células epiteliais tubulares, enquanto a forma dimérica parece ser exclusiva de neutrófilos. Foi observado então, por diferentes métodos de ELISA, que o NGALu apresentava 2 picos nestes pacientes, sendo o primeiro pico atribuído a forma dimérica e o segundo pico a forma monomérica. Da mesma forma, encontramos este comportamento bimodal no subgrupo LRA durante a evolução.

Já quando comparamos o grupo sem LRA com o subgrupo com LRA na admissão, apenas o NGAL das primeiras 24 horas elevou-se de forma significativa ($p=0,015$). A provável explicação para o fato é a presença da própria LRA já à admissão, ou seja, desses valores de NGALu representarem o segundo pico. O biomarcador podia já estar elevado horas e até dias antes da entrada hospitalar. Estudo com NGAL realizado em 90 pacientes após cirurgia cardíaca mostrou sua elevação por 24 horas após o insulto, com um pico após 6 horas (45,46). Assim, se a injúria ocorreu antes da admissão na SEC, o aumento do NGALu pode não ter sido identificado. Além disso, estudo recente de Soto e cols (37), em cenário de 616 pacientes admitidos em SEC classificados de acordo com a presença de LRA, DRC ou função renal normal, no qual foi dosado NGAL plasmático seriado, encontrou o pico de 12 horas como melhor preditor diagnóstico e prognóstico de LRA.

Em subanálise envolvendo pacientes que não desenvolveram LRA à admissão ($n=81$), os resultados foram melhores que demonstrado na população geral. A análise da área sob a curva ROC mostrou que o NGALu e NGALu/Cru foram excelentes preditores de LRA após 48h de admissão, com acurácia $> 0,8$, alta sensibilidade ($>75\%$) e boa especificidade ($>65\%$).

Corroborando com os dados existentes na literatura (36), o NGALu parece ser um preditor diagnóstico sensível de LRA em diferentes cenários, incluindo a LRA associada à sepse em pacientes admitidos na SEC, com boa sensibilidade, porém pouca especificidade. Apesar da resposta inflamatória da sepse aumentar a expressão do NGAL em vários tecidos do organismo mesmo sem a vigência de LRA, como mostrado em vários trabalhos (29,34), a sua expressão ainda é maior naqueles que desenvolverão LRA.

Com relação à mortalidade, foi elevada nos pacientes sépticos (44,2%), sendo ainda maior na presença de choque, de LRA, nos pacientes com maiores escores de APACHE 2 e ATN-ISS, assim como naqueles que necessitaram de DVA, VM e tratamento dialítico. Aqueles que evoluíram a óbito tiveram como principal destino a UTI, enquanto os sobreviventes foram encaminhados principalmente à enfermaria.

No grupo sem LRA, o APACHE II médio foi de 15,82, com mortalidade de 25%, que é correspondente a mortalidade atribuída para esse valor de APACHE, enquanto o escore médio do grupo com LRA foi de 21, com uma evolução para óbito de 51%, mortalidade esta diferente da atribuída pelo escore de APACHE, no qual o risco de morte para tal valor seria em torno de 40%. No entanto, como já mostrado por Balbi e col (47), o APACHE II não é o melhor escore prognóstico para pacientes com LRA, sendo o escore de ATN-ISS mais

específico e com maior poder de discriminação e calibração para esta população. No presente estudo, o ATN-ISS médio foi de 0,51, valor equivalente a mortalidade deste grupo.

Na regressão logística, foram identificados como fatores associados ao óbito a presença do choque séptico e de LRA e o ATN-ISS $> 0,5$.

Na literatura são observados resultados semelhantes, sendo que a idade, a presença de LRA e a sepse são os principais fatores associados a mortalidade nos pacientes com LRA (1). Maria Bucuvic e col (48), em estudo observacional identificaram como fatores de risco para mortalidade na LRA a necessidade de diálise, internação em UTI, idade maior que 60 anos e menor tempo de acompanhamento nefrológico.

Poucos estudos mostraram associação entre NGAL e evolução para óbito. O trabalho de Nickolas e col (41) mostrou que NGALu associou-se a desfechos clínicos, incluindo consulta com nefrologista, diálise e admissão em UTI, com OR de 24,71 (IC: 7,69-79,42). O estudo de Collins e col (23) avaliou o NGALu em 399 pacientes com disfunção cardíaca aguda em SEC e encontrou que o NGALu colhido entre 12-24h após início de tratamento foi preditor de evento cardiovascular em 30 dias ($p=0,02$).

No presente estudo, foi avaliado o papel do NGALu como preditor prognóstico dos pacientes sépticos admitidos em SEC. O NGALu 2 e sua relação com Cru foram identificados como os melhores preditores de óbito, com área sob a curva ROC de 0,7 e 0,81, sensibilidade de 0,95 e 0,75 e especificidade de 0,59 e 0,48, respectivamente. Desta forma, além de marcador importante de LRA, o NGAL apresentou-se como preditor sensível para o desfecho óbito de pacientes sépticos admitidos em SEC.

Por fim, devem ser consideradas algumas limitações do estudo, tais como ser unicêntrico, ter um tamanho amostral menor do que o calculado e a perda de algumas amostras de NGALu. Devido ao pequeno número de pacientes, não foi realizada análise do NGALu de acordo com o estágio da LRA segundo os critérios do KDIGO (13), assim como não foi avaliado seu papel como preditor de diálise.

Apesar de suas limitações, os resultados obtidos neste estudo reafirmam o poder do NGALu de predizer a LRA, principalmente quando mensurado na admissão do paciente séptico em SEC, e o óbito, principalmente quando realizado entre 24 e 48h após admissão.

Assim, este estudo valoriza o papel do NGALu como preditor de LRA e óbito, com boa sensibilidade, porém pouca especificidade, reforçando a sua aplicação clínica como

marcador não só de disfunção renal, mas também de sobrevida de pacientes sépticos admitidos em SEC.

6 Conclusão

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que o NGAL u está elevado em pacientes sépticos, porém estatisticamente superior naqueles com sepse e LRA. O NGALu das primeiras 48 horas após a admissão de pacientes sépticos em SEC é um preditor sensível de LRA, enquanto o NGALu colhido entre 24 e 48h após a admissão, assim como sua relação com a creatinina urinária, apresentam-se como melhores preditores de óbito de pacientes sépticos.

7 Referências bibliográficas

1. Lentini P, de Cal M, Clementi A, D'Angelo A, Ronco C. Sepsis and AKI in ICU Patients: The Role of Plasma Biomarkers. *Crit Care Res Pract*. 2012;2012:856401.
2. Zarjou A, Agarwal A. Sepsis and acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2011;22(6):999–1006.
3. Sales Júnior JAL, David CM, Hatum R, Souza PCSP, Japiassú A, Pinheiro CTS, et al. [An epidemiological study of sepsis in Intensive Care Units: Sepsis Brazil study]. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2006;18(1):9–17.
4. Schrier RW, Wang W. Acute Renal Failure and Sepsis. *N Engl J Med*. 2004;351(2):159–69.
5. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*. 2001;29(7):1303–10.
6. Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, Martin C, Goodman S, Artigas A, et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive Care Med*. 2002;28(2):108–21.
7. Silva E, Pedro M de A, Sogayar ACB, Mohovic T, Silva CL de O, Janiszewski M, et al. Brazilian Sepsis Epidemiological Study (BASES study). *Crit Care Lond Engl*. 2004;8(4):R251–60.
8. Santos WJQ, Zanetta DMT, Pires AC, Lobo SMA, Lima EQ, Burdmann EA. Patients with ischaemic, mixed and nephrotoxic acute tubular necrosis in the intensive care unit--a homogeneous population? *Crit Care Lond Engl*. 2006;10(2):R68.
9. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P, Acute Dialysis Quality Initiative workgroup. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care Lond Engl*. 2004;8(4):R204–12.
10. Metnitz PGH, Krenn CG, Steltzer H, Lang T, Ploder J, Lenz K, et al. Effect of acute renal failure requiring renal replacement therapy on outcome in critically ill patients. *Crit Care Med*. 2002;30(9):2051–8.
11. Annane D, Aegerter P, Jars-Guincestre MC, Guidet B, CUB-Réa Network. Current epidemiology of septic shock: the CUB-Réa Network. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168(2):165–72.
12. Singbartl K, Kellum JA. AKI in the ICU: definition, epidemiology, risk stratification, and outcomes. *Kidney Int*. 2012;81(9):819–25.
13. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney Int Suppl*. 2012;2:1–138.

14. Balbi AL, Ponce D, Silva VS, Silva RPS, Torres AS, Barsante RC. Insuficiência renal aguda: análise de 500 pacientes atendidos em Hospital Universitário. *J Bras Nefrol.* 2003;25(Supl 1):50.
15. Wan L, Bellomo R, Di Giantomasso D, Ronco C. The pathogenesis of septic acute renal failure. *Curr Opin Crit Care.* 2003;9(6):496–502.
16. Galvão SFV, Balbi AL. Insuficiência renal aguda no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP : descrição da população e análise dos fatores de risco associados a mortalidade [Dissertação mestrado]. [Botucatu]: Universidade Estadual Paulista“Julio de Mesquita Filho”; 2007.
17. Chvojka J, Sýkora R, Karvunidis T, Raděj J, Kroužecký A, Novák I, et al. New developments in septic acute kidney injury. *Physiol Res Acad Sci Bohemoslov.* 2010;59(6):859–69.
18. Mårtensson J, Bell M, Oldner A, Xu S, Venge P, Martling C-R. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in adult septic patients with and without acute kidney injury. *Intensive Care Med.* 2010;36(8):1333–40.
19. Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Hüsing J, Göring F, Pietruck F, Janssen O, et al. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int.* 2004;66(3):1115–22.
20. Dear JW, Kobayashi H, Jo S-K, Holly MK, Hu X, Yuen PST, et al. Dendrimer-enhanced MRI as a diagnostic and prognostic biomarker of sepsis-induced acute renal failure in aged mice. *Kidney Int.* 2005;67(6):2159–67.
21. Devarajan P. Biomarkers for the Early Detection of Acute Kidney Injury. *Curr Opin Pediatr.* 2011;23(2):194–200.
22. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care Lond Engl.* 2007;11(2):R31.
23. Collins SP, Hart KW, Lindsell CJ, Fermann GJ, Weintraub NL, Miller KF, et al. Elevated urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin after acute heart failure treatment is associated with worsening renal function and adverse events. *Eur J Heart Fail.* 2012;14(9):1020–9.
24. Schinstock CA, Semret MH, Wagner SJ, Borland TM, Bryant SC, Kashani KB, et al. Urinalysis is more specific and urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin is more sensitive for early detection of acute kidney injury. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2013;28(5):1175–85.
25. De Geus HRH, Bakker J, Lesaffre EMEH, le Noble JLML. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin at ICU admission predicts for acute kidney injury in adult patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;183(7):907–14.
26. Dent CL, Ma Q, Dastrala S, Bennett M, Mitsnefes MM, Barasch J, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts acute kidney injury, morbidity and mortality after pediatric cardiac surgery: a prospective uncontrolled cohort study. *Crit Care Lond Engl.* 2007;11(6):R127.

27. Hirsch R, Dent C, Pfriem H, Allen J, Beekman RH, Ma Q, et al. NGAL is an early predictive biomarker of contrast-induced nephropathy in children. *Pediatr Nephrol Berl Ger.* 2007;22(12):2089–95.
28. Wheeler DS, Devarajan P, Ma Q, Harmon K, Monaco M, Cvijanovich N, et al. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of acute kidney injury in critically ill children with septic shock. *Crit Care Med.* 2008;36(4):1297–303.
29. Bagshaw SM, Haase M, Haase-Fielitz A, Bennett M, Devarajan P, Bellomo R. A prospective evaluation of urine microscopy in septic and non-septic acute kidney injury. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2012;27(2):582–8.
30. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med.* 2013;39(2):165–228.
31. Varon J, Marik P. Multiple organ dysfunction syndrome. *Intense Care Medicine.* Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999. p. 2044–8.
32. Liaño F, Gallego A, Pascual J, García-Martín F, Teruel JL, Marcén R, et al. Prognosis of acute tubular necrosis: an extended prospectively contrasted study. *Nephron.* 1993;63(1):21–31.
33. Knaus WA, Zimmerman JE, Wagner DP, Draper EA, Lawrence DE. APACHE-acute physiology and chronic health evaluation: a physiologically based classification system. *Crit Care Med.* 1981;9(8):591–7.
34. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med.* 1985;13(10):818–29.
35. Devarajan P. NGAL for the detection of acute kidney injury in the emergency room. *Biomark Med.* 2014;8(2):217–9.
36. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, et al. Early Goal-Directed Therapy in the Treatment of Severe Sepsis and Septic Shock. *N Engl J Med.* 2001;345(19):1368–77.
37. Soto K, Papoila AL, Coelho S, Bennett M, Ma Q, Rodrigues B, et al. Plasma NGAL for the diagnosis of AKI in patients admitted from the emergency department setting. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* 2013;8(12):2053–63.
38. Murray PT, Devarajan P, Levey AS, Eckardt KU, Bonventre JV, Lombardi R, et al. A framework and key research questions in AKI diagnosis and staging in different environments. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* 2008;3(3):864–8.
39. Solomon R, Segal A. Defining acute kidney injury: what is the most appropriate metric? *Nat Clin Pract Nephrol.* 2008;4(4):208–15.
40. Ponce D, Zorzenon C de PF, Santos NYD, Teixeira UA, Balbi AL. Acute kidney injury in intensive care unit patients: a prospective study on incidence, risk factors and. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2011;23(3):321–6.

41. Nickolas TL, O'Rourke MJ, Yang J, Sise ME, Canetta PA, Barasch N, et al. Sensitivity and Specificity of a Single Emergency Department Measurement of Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin for Diagnosing Acute Kidney Injury. *Ann Intern Med.* 2008;148(11):810–9.
42. Wagener G, Gubitosa G, Wang S, Borregaard N, Kim M, Lee HT. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute kidney injury after cardiac surgery. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 2008;52(3):425–33.
43. Royakkers AA, Bouman CS, Stassen PM, Korevaar JC, Binnekade JM, van de Hoek W, et al. Systemic and urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalins are poor predictors of acute kidney injury in unselected critically ill patients. *Crit Care Res Pract.* 2012;2012:712695.
44. Cai L, Borowiec J, Xu S, Han W, Venge P. Assays of urine levels of HNL/NGAL in patients undergoing cardiac surgery and the impact of antibody configuration on their clinical performances. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 2009;403(1-2):121–5.
45. Bennett M, Dent CL, Ma Q, Dastrala S, Grenier F, Workman R, et al. Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: a prospective study. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* 2008;3(3):665–73.
46. Xu S, Venge P. Lipocalins as biochemical markers of disease. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1482(1-2):298–307.
47. Balbi AL, Gabriel DP, Barsante RC, Caramori JT, Martin LC, Barreti P. [Assessment of mortality and specific index in acute renal failure]. *Rev Assoc Médica Bras* 1992. 2005;51(6):318–22.
48. Maria Bucuvic E, Ponce D, Luis Balbi A. Fatores de risco para mortalidade na lesão renal aguda. *Rev Assoc Médica Bras.* 2011;57(2):158–63.
49. Green RS, Gorman SK. Emergency Department Antimicrobial Considerations in Severe Sepsis. *Emerg Med Clin North Am.* 2014;32(4):835–49.

Anexo 1- Protocolo

PROJETO SEPSE – LRA

AVALIAÇÃO INICIAL

Nome: _____ Registro: _____
 Idade: _____ anos Sexo: M () F () Peso: _____ Kg Admissão: ____/____/____
 AP: () HAS () DM () DLP () DPOC
 () DAC () Hepatopatia () Nefropatia Cr basal: _____ SOFA: _____
 () Outros: _____
 Foco: () Pulmonar () Urinário () Pele () Abdominal () Outro: _____
 FC: _____ bpm Tax.: _____ °C FR: _____ irm PA: _____ mmHg HGT: _____
 PVC: _____ PAM: _____ ScvO2: _____
 Expansão volêmica: _____ litros de cristalóide
 Débito urinário nas primeiras 24h de admissão: _____ ml/kg/h
 Balanço hídrico: _____
 Uso de droga vasoativa: () Não () Sim: _____
 Ventilação mecânica: () Não () Sim
 Transfusão de hemocomponentes: () Não () Sim: _____
 Uso de corticoide: () Não () Sim
 Tempo da admissão ao início de antibiótico: _____
 Antibiótico: _____
 Disfunção orgânica: () Não () Sim: _____
 Destino do paciente: () Enfermaria () UTI
 Evolução: LRA: () Não () Sim: dia ____ Estadio (AKIN): (I) (II) (III)
 ATN – ISS: _____
 Recuperação da função renal: () Não () Sim: após _____ dias.
 Diálise: () Não () Sim –
 Tipo: _____ Número de sessões: _____
 Recuperação da Sepsis: () Não () Sim: após _____ dias.
 Óbito: () Não () Sim: data: _____ após _____ dias.

AVALIAÇÃO CLÍNICA DIÁRIA

Data	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /	/ /
ΔFC							
ΔPA							
ΔTax							
Nº PICOS							
DU							
DVA							
FiO ₂							
PO ₂ /FiO ₂							
Conduta							

AVALIAÇÃO LABORATORIAL

DATA								
Hb								
Htc								
Leuco								
Neutro								
Bastões								
Plaq								
Na								
K								
Ca								
Ur								
Cr								
Glicose								
PCR								
TGO								
TGP								
TP								
INR								
PTT								
pH								
Bic								
BE								
lactato								
cultura								
NGAL u								

Anexo 2- Aprovação Comitê de ética



Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Medicina de Botucatu

Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P.
CEP: 18.618-970
Fone/Fax: (0xx14) 3611-6143
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br
e-mail coordenadoria: tsarden@fmb.unesp.br



Registrado no Ministério da Saúde
em 30 de abril de 1997

Comitê de Ética
em Pesquisa
P.S. nº 42

Botucatu, 01 de outubro de 2.012

OF. 479 /2012

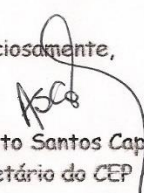
Ilustríssima Senhora
Profª Drª Daniela Ponce
Departamento de Clínica Médica da
Faculdade de Medicina de Botucatu

Prezada Profª. Daniela,

De ordem do Senhor Coordenador, informo que o Projeto de Pesquisa (Protocolo CEP 4365-2012) "O papel do NGAL urinário como preditor diagnóstico e prognóstico da lesão renal aguda associada à sepse em pacientes admitidos na emergência clínica", a ser conduzido por Hong Si Nga, orientada por Vossa Senhoria, recebeu do relator parecer favorável, aprovado em reunião de 01/10/2012.

Situação do Projeto: APROVADO. Os pesquisadores deverão apresentar ao CEP ao final da execução do Projeto o "Relatório Final de Atividades".

Atenciosamente,


Alberto Santos Capelluppi
Secretário do CEP

Parte II: Artigos científicos

Acute kidney Injury in septic patients admitted in emergency clinical room: risk factors and outcome

Pâmela Medeiros, Hong Si Nga, Precil Menezes, Ramaiane Bridi, André Balbi, **Daniela Ponce***

**University São Paulo State-UNESP
Distrito de Rubiao Junior, without number
Botucatu, Sao Paulo, Brazil**

Key words: sepsis, emergency room, predictors, acute kidney injury mortality

***Corresponding author: dponce@fmb.unesp.br**

**Distrito de Rubião Junior, without number Botucatu, São Paulo, Brazil
mobile tel: 55 14 97625806**

1. Introduction

Sepsis, defined as systemic inflammatory response syndrome associated with infection, is an important cause of morbidity and mortality in patients admitted to emergency clinic room (ER) and in intensive care units (ICU).

Between 1992 and 2001, approximately 2.8 million visits to ERs in the United States were related to sepsis, and more than 10% of these patients required admission to ICU(1) . The most prevalent sources of infection leading to sepsis were the lower respiratory tract and the genitourinary tract (1). Despite recent advances in the understanding and treatment of severe sepsis and septic shock, this syndrome remains a leading cause of death(1–4).

In many cases, the emergency medicine physician is the initial point of contact for a patient's medical care. The identification and timely intervention of septic patients in the ER may be the most important phase of care, because delays in therapy are associated with increased morbidity and mortality(5).

Sepsis is a well known risk factor for the development of acute kidney injury (AKI)(5,6), occurring in approximately 19% of patients with sepsis, 23% of patients with severe sepsis and in 51% of patients with septic shock and positive cultures (6).

The presence of AKI leads to significant impact on morbidity and increased length of stay and hospital costs, and it is an independent risk factor for mortality(7,8). Overall in-hospital mortality rates in critically ill patients are high, exceeding 50% and reaching 80%, depending on the clinical conditions, comorbidities and need for renal replacement therapy (RRT).

AKI associated with sepsis remains a major challenge in ICU due to its common occurrence, the high costs of treatment and the unacceptably high mortality. Although emergency medicine physicians have a critical role in the management of patients with severe sepsis and septic shock, there are few studies about the incidence and outcome of patients with sepsis in ER and most of the data include only patients who were diagnosed with sepsis on admission or during the ICU stay(5,9–11). Whether the septic AKI in ER patients is different from that in ICU patients needs to be further studied and clarified. Given the paucity of studies in this important area, more studies on the AKI associated with sepsis in ER and its effect on clinical outcomes are necessary. Our primary goal in this study was to identify risk factors for AKI and for death in septic patients admitted in ER.

2. Materials and Methods

Study population

We screened all septic patients admitted through the internal medicine department to the emergency clinical room of our University Hospital from January 2013 to July 2014 for enrollment in a prospective cohort study designed to study the development of AKI following sepsis.

According to Surviving Sepsis Campaign published in 2013(8), sepsis was defined as a systemic, deleterious host response to infection leading to severe sepsis (acute organ dysfunction secondary to documented or suspected infection) and septic shock (severe sepsis plus hypotension not reversed with fluid resuscitation).

We included patients 18 years of age or older who had sepsis and exclusion criteria were chronic kidney disease stage 4 and 5 and patients undergoing kidney transplantation.

Complete data on inclusions and exclusions are shown in Figure 1.

The Ethics Committee of the Botucatu School of Medicine – UNESP approved this study with a waiver of informed consent given its observational nature (IRB approval 4368/2012).

Risk factor selection

Variables previously reported to be associated with AKI in other populations and those with a plausible association with AKI were included in the risk factor analysis. Baseline data, including demographics, medical history, sepsis focus and severity were collected prospectively on each patient by review of the medical record. Key risk factors analyzed are displayed in Table 1.

Outcome definitions

Presence and stage of AKI were defined according to AKIN criteria (12) and its severity was evaluated by Acute Tubular Necrosis Individual Severity Score (ATNISS). The ATN-ISS was shown to be a prognostic index with high confidence level that can be routinely applied to AKI patients (13,14). For AKI by creatinine increase, successive 2-day time windows were tracked (e.g., days 0–2, days 1–3), using the first measured creatinine of each

window as the baseline value. Since a significant subpopulation of sepsis patients has no prior interaction with the medical system, available pre-hospitalization baseline creatinine values from the medical record were not used in order to prevent ascertainment bias. As only 24-hour urine output data were consistently available, a modification was made in the urine output definition such that transient (6- or 12-hour) reductions in urine output were not captured. AKI was considered to have occurred on the first day that any criterion was met, though full staging continued through discharge from hospital or death, whichever came first. Day 0 was defined as the calendar day of ER, and thus its length varied depending on time of presentation.

We determined vital status at the time of discharge from the hospital for all patients. Our 5-day study time frame was designed to capture most cases of early AKI, and to reduce the confounding effects of time-varying interventions (e.g., nephrotoxic medications) and late complications (e.g., sepsis related to MV) which would likely have had a greater impact in cases of AKI occurring later in the hospital course.

Statistical analysis

Associations of baseline characteristics with AKI were tested using chi-square test, Student's t-test, or Wilcoxon test, as appropriate. All variables with an unadjusted association with AKI and a p-value <0.20 as well as all potential confounders were considered for inclusion in the multivariable logistic regression model. Confounders were included in the final model if they had a significant impact on the unadjusted association of candidate exposure variables (as defined by a change in odds ratio $\geq 15\%$) (12). Rivers protocol (13) for sepsis resuscitation was performed at our institution. Standardized risks were determined for each variable in the model using postestimation marginal analysis (14). This method allows an estimation of the absolute risk of AKI in the presence or absence of a single characteristic, holding the other covariates in the model at the average values of the cohort.

For mortality analyses, the unadjusted associations of AKI with death at discharge were evaluated using Pearson's chi-square test. Associations of baseline variables with mortality were also determined to identify possible confounders (defined as in the primary multivariable model). Multivariable logistic regression was then used to adjust the effect of AKIN on death for these confounders. All statistical analyses were done using software SAS for Windows, version 9 (May, 2010).

3. Results

Two hundred patients were included in the final analysis (Figure 1). Within the first five ER days, 144 subjects (72%) developed AKI. The most of AKI episodes was diagnosed by increase of serum creatinine (75%) and only 25% were diagnosed by urine output criteria. A comparison of baseline characteristics between those who did and did not develop AKI is shown in Table 1.

Among AKI patients, 104 (72.2%) already had the diagnosis on admission to the ER, while 40 of them developed AKI during hospitalization. Most of patients were classified as AKIN-3 (42%). AKI group had higher age (69.87 ± 13.7 vs. 63.3 ± 18.5 ; $p = 0.012$), more diabetes mellitus (59.1 vs. 32.1 , $p=0.034$), higher baseline creatinine (0.86 ± 0.30 vs. 0.72 ± 0.26 ; $p = 0.02$), higher hypotension at admission and need for noradrenalin use (63.8% vs. 34% ; $p = 0.0002$), as well as the need for mechanical ventilation (26.4% vs. 8.5% ; $p = 0.01$). Urine output in first 24 hours (ml / kg / h) was lower in AKI group (0.64 (0.33 to 0.97) vs. 1.02 (0.75 to 1.35); $p = 0.049$) and APACHE II significantly higher (21.04 ± 7.17 vs. 15.82 ± 5.4 ; ($p < 0.0001$). AKI patients were mainly directed towards the ICU, while non-AKI were referred mainly to the ward ($p = 0.007$). The groups were similar in gender, infection, and time to administration of antibiotics, steroids and blood transfusions (Table 1).

In multivariable regression analysis, independent risk factors for AKI included age over 65 years (OR 1.28; 95% CI 1.12-1.89; $p=0.04$), mean blood pressure (MBP) lower than 65 mmHg at moment of admission (OR 1.89; 95% CI 1.43- 2.64, $p=0.003$), and diabetes mellitus (OR 1.66; 95% CI 1.30-3.20; $p=0.012$) (Table 2).

Mortality was higher in AKI patients (51.4% vs. 26.8% , $p = 0.002$). Table 4 shows the clinical and laboratory characteristics of the population according to the hospital outcome. The groups were similar regarding gender, age, comorbidities, baseline creatinine, urine output, use of corticosteroids and transfusion requirements.

The groups were statistically different in MBP at moment of admission to the ER, which was significantly lower in non-survivor patients (69.34 ± 25.6 vs. 76.54 ± 20.73 ; $p=0.05$); in the need for noradrenalin use and in the diagnosis of septic shock, being higher in non-survivor group (41 vs. 73% , $p = 0.001$). The need for mechanical ventilation and organ dysfunction were significantly higher in non-survivor patients (5.4 vs. 42.5% ; $p < 0.0001$ and 66.3 vs. 86.5 ; $p = 0, 01$, respectively).

Non-survivors patients were mainly directed towards the ICU, while survivors were referred mainly to the ward ($p < 0.0001$). The presence of AKI was higher in

nonsurvivors group (83.2% vs. 61.9%, $p = 0.002$) as the values of ATN-ISS and APACHE II score ($0.59 \pm 0.25 \pm 0.42$ vs. 0.18 ; $p < 0.0001$ and 23.31 ± 7.34 vs. 16.85 ± 5.4 ; $p < 0.0001$ respectively). AKIN-3 and need for dialysis were higher in non-survivors group (50.6 vs. 18%; $p = 0.002$ and 3.6 vs. 15.7; $p = 0.04$). The risk of death increased with higher AKIN stage (Figure 2). Since the recovery of renal function at the time of hospital outcome was lower in the group progressing to death (93.7 vs. 41.6, $p < 0.0001$).

Septic shock (OR=1.83, 95% CI 1.23-2.74, $p=0.007$), AKIN 3 (OR=1.64; 95% CI 1.19-1.89, $p=0.02$), APACHE 2 >20 (OR 1.92, 95% CI 1.34-2.02, $p=0.009$) and need for dialysis (OR=1.26, 95% CI 1.13-1.75, $p=0.03$) were identified as independent risk factors for death in multivariable regression analysis.

Adjusting for these variables, however, did not significantly change the association of AKIN with mortality. Given this finding and the limited number of deaths, only age, shock, APACHE 2 score and need for dialysis were included in the multivariable model to avoid over fitting (17)

Discussion

Our primary objective in this study was to determine novel baseline characteristics associated with AKI in septic patients admitted to ER. Knowledge of such characteristics may improve our understanding of how the AKI risk imparted by sepsis is modified by patient-level factors. This may aid both in identifying new areas for studying the pathophysiology of AKI and in predicting AKI risk associated with sepsis.

Among 400 patients with sepsis and septic shock admitted in ER, 144 (72%) developed AKI defined by AKIN classification. The risk factors for AKI in these septic patients were older age, presence of diabetes, and presence of shock. The development and severity of AKI, septic shock and higher APACHE II were associated with the increased mortality.

There are no data on AKI associated with sepsis in ER patients to be compared with our results. Our findings are consistent with the previous studies performed in ICU. Many studies have reported that AKI is more frequently observed in patients with sepsis and septic shock than in patients with other conditions (15–20). An observational cohort study of 390 patients with septic shock in a single center ICU for about 2 years reported nearly 2 out of

3 patients experiencing AKI (13). In a recent retrospective multicenter study of 4532 patients with septic shock, a similar percentage of patients (64.4%) developed AKI(16).

There are few studies on AKI in ER. Challiner et al (21) performed a retrospective study with 745 patients admitted to the emergency department and evaluated the presence or absence of AKI according to AKIN criteria. AKI incidence was 25.4% overall, with approximately one third present on admission and two thirds developing post admission. In the multivariate logistic regression, diabetes, previous CKD, sepsis and diuretic usage were identified as risk factors for AKI.

In this study, AKI was more frequently accompanied by older age, and male or female predominance was not observed. It is controversial whether these demographic differences actually affect the development of septic AKI. In a previous study conducted in Australia, septic AKI was more prevalent in the older patient (22).

Another study of AKI in septic shock, however, conducted in Germany, showed male dominance in the development of AKI in patients with severe sepsis and septic shock, where older patients were more likely to experience AKI in this study. In contrast, no significant differences were observed in the age and frequency of male sex between the patient groups with or without AKI in a more recent study (15). Despite some discrepancies among studies, more careful approaches to kidney protection are required in the management of older aged patients with sepsis and septic shock.

We proved that previous diabetes is one of the risk factors for the development of AKI, which was also found in previous studies. In a previous study, which enrolled the patients with severe sepsis and septic shock, the frequency of pre-existing diabetes was significantly higher among those who developed AKI, although multivariable analysis for the risk factors of septic AKI was not conducted in that study (17).

However, another study, which only analyzed patients with septic shock, noted diabetes as an independent risk factor for development of AKI in the population (16). Our results indicate that a history of diabetes is one risk factor among patients with severe sepsis and septic shock, as well as non-severe sepsis.

Whether the septic AKI in ER patients is different from that in ICU patients needs to be further studied and clarified.

Often the sites of infection suspected in ER patients with severe sepsis/septic shock are respiratory and urinary tract and are often caused by predictable organisms and

therefore clinicians should administer antimicrobials that cover these bacteria. In ICU, blood stream infection is other frequent infectious focus.

Resistance patterns vary from hospital to hospital and, in some cases, ward to ward, and every effort should be made to ensure that accurate patterns of resistance are available and reviewed regularly because antimicrobial administration with insufficient activity against a microbe can result in treatment failure and progression of the sepsis syndrome (23).

Bacteria of particular concern in the ER and similar to agents in ICU include drug resistant *Streptococcus pneumoniae*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), and multi-drug-resistant gram-negative infections caused by extended spectrum β -lactamases (ESBL). Valid screening tools to help identify patients at risk for antibiotic-resistant organisms (ARO) do not exist. However, there are several ARO risk factors that should be considered, in addition to local susceptibility patterns, when choosing empiric antibiotic therapy.

Risk factors for infection with resistant agents in adults include age greater than 65 years, alcoholism, medical comorbidities as diabetes mellitus, immunosuppression, history of previous antibiotic use in the past 90 days, hospitalization in the past 3 months, and residence in a long-term care facility (24). The recognition and rapid institution of appropriate management strategies in septic ER patients are paramount in optimizing good outcomes.

In our study, old age and comorbidities were very often, which may explain the similar prevalence and outcome of septic AKI in ER and ICU.

The pathophysiology of septic AKI, although still not firmly established, is considered different from AKI of other etiologies. It is generally understood that systemic hypotension would deteriorate renal blood flow, which might be a major cause of the renal injury in septic patients. Other studies of septic AKI documented the longer duration of hypotension before hemodynamic resuscitation was associated with higher incidence of AKI(16,23). In accordance of these findings, we noted that the presence of shock was one of the risk factors of septic AKI. However, the high incidence of AKI in patients with sepsis, but without shock, however, cannot be explained with decreased renal blood flow alone. In their experimental animal study, Langenberg, et al(18) found AKI in septic shock mainly affected by dysfunction of the renal vascular bed rather than systemic hypotension and renal hypoperfusion. In their study, fluid resuscitation and maintenance of renal perfusion did not prevent the deterioration of GFR. In contrast, recovery from sepsis resulted in the

normalization of GFR(19,25). This implies the development of AKI also involves inflammatory/immunologic mechanisms. Whether the early and adequate administration of antibiotics prevents the development of septic AKI needs to be further elucidated.

Our data clearly suggest the mortality increases as the severity of AKI increases in ER patients with sepsis and septic shock. It has been elucidated from other previous studies that AKI remains one of the independent risk factors of adverse clinical outcomes in ICU even after the adjustment of covariates (15–17). Because the development of septic AKI is linked to the increased mortality, patients at a high-risk for septic AKI should be carefully assessed so that nephrotoxic agents or procedures that could be harmful to renal function could be avoided at the initial stage of sepsis management.

There are limitations to our study. First, our data were collected in a single university hospital. The incidence and severity of diseases might be biased. Second, duration of follow-up was short. We did not determine the impact of etiological agents of sepsis on AKI and mortality and we also did not investigate the effect of septic AKI on long-term survival.

Despite these demerits, our study has some advantages. First, our study was prospective and included septic population in ER, extensive baseline information, and urine output data to enhance detection of AKI. Second, we revealed various risk factors associated with the development of septic AKI in ER, some of which are of novel.

In conclusion, AKI developed in more than half of patients with sepsis and septic shock admitted in ER. Old age, diabetes, presence of shock, and need for mechanical ventilation were associated with an increased risk for the development of septic AKI. The development of septic AKI adversely affected clinical outcomes.

Moreover, the severity of AKI was associated with increased short-term mortality as observed in ICU patients.

Acknowledgments

Financial support provided by Fundação de Amparo á pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) grants

References

1. Green RS, Gorman SK. Emergency Department Antimicrobial Considerations in Severe Sepsis. *Emerg Med Clin North Am.* 2014;32(4):835–49.
2. Mayr VD, Dünser MW, Greil V, Jochberger S, Luckner G, Ulmer H, et al. Causes of death and determinants of outcome in critically ill patients. *Crit Care.* 2006;10(6):R154.
3. Keegan J, Wira CR. Early Identification and Management of Patients with Severe Sepsis and Septic Shock in the Emergency Department. *Emerg Med Clin North Am.* 2014;32(4):759–76.
4. Schrier RW, Wang W. Acute Renal Failure and Sepsis. *N Engl J Med.* 2004;351(2):159–69.
5. Silva E, Pedro M de A, Sogayar ACB, Mohovic T, Silva CL de O, Janiszewski M, et al. Brazilian Sepsis Epidemiological Study (BASES study). *Crit Care Lond Engl.* 2004;8(4):R251–60.
6. Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, Hwang T, Davis CS, Wenzel RP. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study. *JAMA.* 1995;273(2):117–23.
7. Metnitz PGH, Krenn CG, Steltzer H, Lang T, Ploder J, Lenz K, et al. Effect of acute renal failure requiring renal replacement therapy on outcome in critically ill patients. *Crit Care Med.* 2002;30(9):2051–8.
8. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med.* 2013;39(2):165–228.
9. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* 2001;29(7):1303–10.
10. Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, Martin C, Goodman S, Artigas A, et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive Care Med.* 2002;28(2):108–21.
11. Annane D, Aegerter P, Jars-Guincestre MC, Guidet B, CUB-Réa Network. Current epidemiology of septic shock: the CUB-Réa Network. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;168(2):165–72.
12. Maldonado G, Greenland S. Simulation study of confounder-selection strategies. *Am J Epidemiol.* 1993;138(11):923–36.
13. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, et al. Early Goal-Directed Therapy in the Treatment of Severe Sepsis and Septic Shock. *N Engl J Med.* 2001;345(19):1368–77.

14. Graubard BI, Korn EL. Predictive margins with survey data. *Biometrics*. 1999;55(2):652–9.
15. Bagshaw SM, Uchino S, Bellomo R, Morimatsu H, Morgera S, Schetz M, et al. Septic acute kidney injury in critically ill patients: clinical characteristics and outcomes. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2007;2(3):431–9.
16. Plataki M, Kashani K, Cabello-Garza J, Maldonado F, Kashyap R, Kor DJ, et al. Predictors of acute kidney injury in septic shock patients: an observational cohort study. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2011;6(7):1744–51.
17. Bagshaw SM, Lapinsky S, Dial S, Arabi Y, Dodek P, Wood G, et al. Acute kidney injury in septic shock: clinical outcomes and impact of duration of hypotension prior to initiation of antimicrobial therapy. *Intensive Care Med*. 2009;35(5):871–81.
18. Langenberg C, Wan L, Egi M, May CN, Bellomo R. Renal blood flow in experimental septic acute renal failure. *Kidney Int*. 2006;69(11):1996–2002.
19. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med*. 2006;34(6):1589–96.
20. Suh SH, Kim CS, Choi JS, Bae EH, Ma SK, Kim SW. Acute Kidney Injury in Patients with Sepsis and Septic Shock: Risk Factors and Clinical Outcomes. *Yonsei Med J*. 2013;54(4):965–72.
21. Challiner R, Ritchie JP, Fullwood C, Loughnan P, Hutchison AJ. Incidence and consequence of acute kidney injury in unselected emergency admissions to a large acute UK hospital trust. *BMC Nephrol*. 2014;15:84.
22. Bagshaw SM, George C, Bellomo R, ANZICS Database Management Committee. Early acute kidney injury and sepsis: a multicentre evaluation. *Crit Care Lond Engl*. 2008;12(2):R47.
23. Leekha S, Terrell CL, Edson RS. General principles of antimicrobial therapy. *Mayo Clin Proc*. 2011;86(2):156–67.
24. Kumar A, Ellis P, Arabi Y, Roberts D, Light B, Parrillo JE, et al. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. *Chest*. 2009;136(5):1237–48.
25. Oppert M, Engel C, Brunkhorst F-M, Bogatsch H, Reinhart K, Frei U, et al. Acute renal failure in patients with severe sepsis and septic shock--a significant independent risk factor for mortality: results from the German Prevalence Study. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 2008;23(3):904–9.

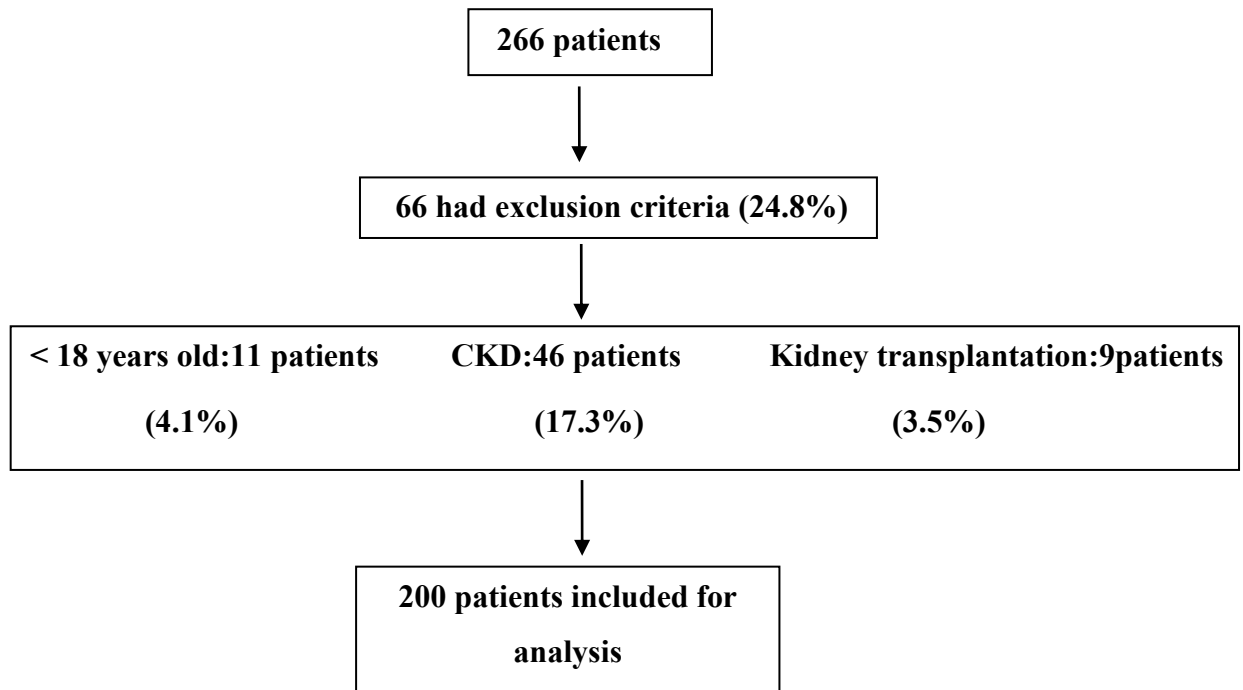


Figure 1: Screening and enrollment

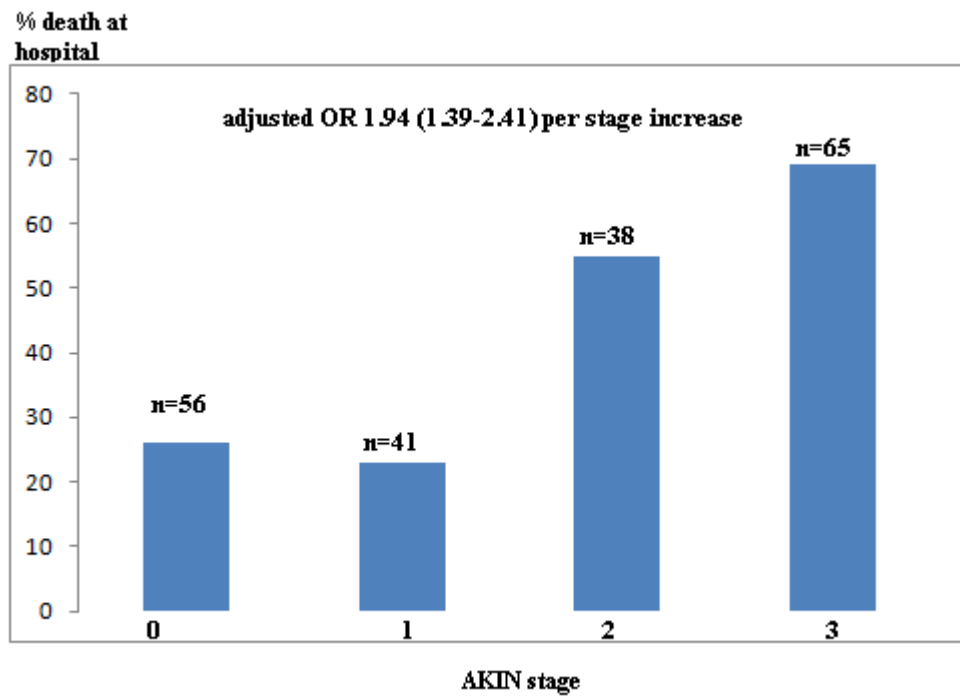


Figure 2. Acute Kidney Injury Network (AKIN) stage association with hospital mortality. Numbers at the top of each bar represent the total number of patients for each stage. Stage 0 represents no AKI. Odds ratio for death is adjusted for age and APACHE II score

Table 1- Patients demographics and clinical characteristics (n=200).

Characteristics	AKI(N=144)	No AKI(N=56)	p
Male sex n(%)	85(60.3)	29(51.6)	0.27
Age (years)	69.8 ± 13.7	63.3 ± 18.5	0.012
MBP	62.2 ± 21.6	76.3 ± 26.78	0.031
Comorbidities n(%)			
Hypertension	70(49.6)	35(53.2)	0.67
Diabetes	39(23.9)	19(31.9)	0.29
Dyslipidemia	11(8.2)	9(17.6)	0.09
Cardiovascular disease	45(28.9)	19(31.9)	0.70
Liver disease	7(4.96)	0	0.12
CKD	12(8.3)	3(5.3)	0.36
Baseline creatinine	0.86 ± 0.3	0.72 ± 0.3	0.02
Noradrenaline use n(%)	87(63.6)	19(34.1)	0.0005
Classification of sepsis n(%):			0.0002
Sepsis	12(8.4)	18(32)	
Severe sepsis	39(27)	19(34)	
Septic Shock	91(63.8)	19(34)	
Focus n(%):			0.33
Urine	24(16.7)	12(21.7)	
Lung	64(45)	33(58.7)	
Mechanical ventilation n(%)	39(26.4)	5(8.5)	0.01
Blood transfusion n(%)	11(7.6)	4(7.1)	0.68
Steroids use n (%)	25(18.2)	7(12.5)	0.61
Time for antibiotics administration			0.36
<1h n(%)	69(48.7)	32(57.1)	
>1h n(%)	75(51.3)	24(42.8)	
Volume on admission (L)	1.22 ± 0.74	1.33 ± 0.76	0.32
Urine output in 24h (ml/kg/h)	0.64 (0.33-0.97)	1.02 (0.75-1.35)	0.049
Fluid balance (ml)	500 (-200-1200)	545 (-500-1130)	0.52
APACHE II	21.04 ± 7.17	15.82 ± 5.40	<0.0001

Toward n(%):			0.007
Ward	35(24.3)	28(50)	
ICU	103(71.6)	25(44.7)	
others	6(4.17)	3(5.4)	
Outcome n(%):			0.002
discharge	70(48.6)	41(73.4)	
death	74(51.4)	15(26.8)	

Values expressed as mean and standard deviation or median and interquartile range

AKI- acute kidney injury, MBP- Mean Blood Pressure, CKD- chronic kidney disease, ATN-ISS- Acute Tubular Necrosis Individual Severity Score, ICU- intensive care unit

Table 2- Patients demographics and clinical characteristics (n=200) according to outcome

Characteristics	Survivors (N=111)	Non- survivors (N=89)	p
Male sex n(%)	49(56.2.3)	46(63.0)	0.20
Age (years)	66.5 ± 16.7	70.6 ± 130	0.08
MBP	76.5 ± 20.7	69.3 ± 25.6	0.05
Comorbidities n(%)			
Hypertension	62(56.5)	31(42.5)	0.07
Diabetes	28(27.2)	18(24.7)	0.71
Dyslipidemia	37(35.9)	15(20.5)	0.03
Cardiovascular disease	3(2.2)	4(5.5)	0.25
Liver disease	8(7.6)	5(6.8)	0.85
CKD			
Baseline creatinine	0.84 ± 0.38	0.81 ± 0.29	0.52
Noradrenaline use n(%)	47(41.30)	65(73.9)	<0.0001
Classification of sepsis n(%):			0.0001
Sepsis	22(19.8)	9(10.1)	
Severe sepsis	42(39.1)	15(16.8)	
Septic Shock	47(41.3)	65(73.1)	
Focus n(%):			0.028
Urine	28(24.2)	9(11.1)	

lung	48(41.8)	53(59.7)	
Mechanical ventilation n(%)	6(5.4)	36(42.5)	<0.0001
Blood transfusion n(%)	9(8.70)	6(6.8)	0.66
Steroids use n (%)	13(13.0)	19(23.3)	0.08
Time for antibiotics administration n(%)			0.32
<1h	53(47.2)	49(55.1)	
>1h	58(52.7)	40(44.9)	
Volume on admission (L)	1.25 ± 0.70	1.25 ± 0.81	0.75
Urine output in 24h (ml/kg/h)	0.8 (0.44-1.07)	0.62 (0.33-1.06)	0.22
Fluid balance (ml)	500 (-299-1136)	545 (-200-1130)	0.47
Toward n(%):			<0.0001
Ward	48(41.8)	15(16.7)	
ICU	19(15.4)	42(47.2)	
others	46(39.6)	25(29.2)	
	4(3.3)	6(6.9)	
AKI n (%)	68(61.9)	77(83.2)	0.002
I	29(27)	12(14.6)	
II	18(16.2)	20(22.4)	
III	20(18)	45(50.6)	
ATN-ISS	0.42 ± 0.18	0.59 ± 0.25	<0.0001
APACHE II	16.8 ± 5.4	23.31 ± 7.34	<0.0001
Recovery of kidney function n(%):	104(93.7)	37(41.6)	<0.0001
Need for dialysis n(%)	4(3.6)	14(15.7)	0.04

Values expressed as mean and standard deviation or median and interquartile range

AKI- acute kidney injury, MBP- Mean Blood Pressure, CKD- chronic kidney disease, ATN-ISS- Acute Tubular Necrosis Individual Severity Score, ICU- intensive care unit

Table 3. Multivariable analysis for AKI risk (n=200)

AKI	OR	CI (95%)	P
Age > 65 years	1.28	1.12-1.89	0.04
Dyslipidemia	1.18	0.94-1.36	0.17
Baseline creatinine	1.24	0.98-1.46	0.08
MBP < 65 mmHg	1.89	1.43-2.64	0.003
Diabetes	1.66	1.30-3.20	0.012
Mechanical ventilation	1.21	0.92-1.67	0.11
Urine output	1.25	0.94-1.09	0.09

Death	OR	CI(95	p
	%)	%)	
Dyslipidemia	1.22	0.98-	0.19
	1.33		
Hypertension	1.18	0.94-	0.11
	1.35		
Septic shock	1.83	1.23-	0.007
	2.74		
Pulmonary focus	1.11	0.91-	0.23
	1.76		
Steroids use	1.23	0.93-	0.32
	1.67		
AKIN 3	1.64	1.19-	0.02
	1.89		
Apache II >20	1.92	1.34-	0.009
	2.02		
Dialysis	1.26	1.13-	0.03
	1.75		

MBP: mean blood pressure, AKI: acute kidney injury

**Sepsis and AKI in clinical emergency room patients: the role of urinary
NGAL**

**Hong Si Nga, Pamela Medeiros, André Balbi, Daniela
Ponce***

**University São Paulo State-UNESP
Distrito de Rubião Junior, without number
Botucatu, Sao Paulo, Brazil**

**Key words: sepsis, emergency room, predictors, acute kidney
injury mortality**

***Corresponding author: dponce@fmb.unesp.br**

**Distrito de Rubião Junior, without number Botucatu, São Paulo, Brazil
mobile tel: 55 14 97625806**

Abstract:

Background: Few studies have investigated the predictive properties of urinary (u) NGAL as an AKI marker in a septic population. **Objectives:** This study aimed to evaluate the efficacy of urinary (u) NGAL as predictor of AKI and death in septic patients admitted to the clinical emergency room (ER). **Methodology:** We prospectively studied patients with sepsis admitted to the ER from University Hospital of Botucatu Medical School - UNESP from February 1, 2013 to May 31, 2014. Urine was analyzed for NGAL within the first 24 hours after admission (classified as NGAL1), between 24-48 h (NGAL2) and at moment of AKI diagnosis (NGAL3). Diagnostic characteristics of uNGAL in predicting AKI and mortality were assessed by calculation of the area under the receiver operating characteristic curve (AUC-ROC). **Results:** Among 168 septic patients admitted to ER, 72% developed AKI. The uNGAL and its relationship with creatinine (Cr) were high in septic patients, but statistically higher in those with sepsis and AKI. The uNGAL 1 and 2, as well as uNGAL / uCr 1 and 2 were good predictors for AKI in septic patients admitted to ER (area under ROC 0.73, 0.70, 0.77 and 0.84 respectively). The uNGAL 1 and uNGAL1/uCr1 were poor predictors for death of septic patients (area under ROC 0.66, and 0.68, respectively), whereas uNGAL2 and uNGAL2/ucr2 were very good predictor (area under ROC 0.70 and 0.81 respectively). **Conclusion:** The results of this study show that the uNGAL is a highly sensitive, but nonspecific predictor of AKI and death in septic patients admitted in ER. Further validation of uNGAL as a biomarker of AKI and death in this population is warranted.

Key words: sepsis, emergency room, acute kidney injury, mortality, urinary NGAL, predictor.

1.Introduction:

Sepsis, defined as systemic inflammatory response syndrome associated with infection, is a primary cause of morbidity and mortality in patients admitted to emergency clinical room (ER) and in intensive care units (ICU) (1–3). It is a well known risk factor for the development of acute kidney injury (AKI), occurring in approximately 51% of patients with septic shock (4–6). The presence of AKI leads to significant impact on morbidity and increased length of stay and hospital costs, and it is an independent risk factor for mortality (4,7,8).

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is a rapidly emerging biomarker for early detection of AKI. Seemingly NGAL levels in both plasma (p) and urine (u) can be used to detect AKI days before creatinine, at least when the time of insult to the kidneys is known (9–12). Released by neutrophils upon activation, NGAL is also a marker of bacterial infection and systemic inflammation (13–15), which can elevate p NGAL levels (16).

Few studies have investigated the predictive properties of NGAL as an AKI marker in a septic population. Studies on pediatric ICU patients have shown pNGAL to be a non-specific predictor (17) and uNGAL to be a good predictor of AKI (18). In these two pediatric studies AKI and sepsis coincided to a great extent. This is common in ICU patients and might obstruct the interpretation of elevated NGAL in plasma and urine. Indeed, Bagshaw et al (19) in a study that included 83 AKI patients, both p and u NGAL were higher in septic versus non-septic patients. Martensson et al (20) performed a study that evaluated 65 septic patients admitted to ICU and showed that pNGAL was not a good predictor of AKI because it was elevated in septic patients without AKI, probably due to the systemic infections.

Given the higher mortality rate of patients with sepsis and AKI and lack of studies in ER, we decided to investigate the role of uNGAL as predictor of AKI and death in septic patients admitted to ER.

2. Materials and Methods

2.1 Study population

We screened all septic patients admitted through the internal medicine department to the ER of our University Hospital from January 2013 to May 2014 for enrollment in a prospective cohort study designed to study the development of AKI following sepsis. We included patients 18 years of age or older who had sepsis according to “Survival Sepsis 2012” (21) and exclusion criteria were patients with chronic kidney disease stage 4 and 5 (creatinine clearance lower than 30 mL/min/1.73 m², estimated by the modification of diet in renal disease (MDRD) equation (22) and patients undergoing kidney transplantation. Complete data on inclusions and exclusions are shown in Figure 1.

The Ethics Committee of the Botucatu School of Medicine – UNESP approved this study with a waiver of informed consent given its observational nature.

Presence and stage of AKI were defined according to AKIN criteria (24). For AKI by creatinine (Cr) increase, successive 2-day time windows were tracked (e.g., days 0–2, days 1–3), using the first measured Cr of each window as the baseline value. Since a significant sub-population of sepsis patients has no prior interaction with the medical system, available pre-hospitalization baseline Cr values from the medical record were not used in order to prevent ascertainment bias.

AKI was considered to have occurred on the first day that any criterion was met, though full staging continued through discharge from hospital or death, whichever came first. Day 0 was defined as the calendar day of ER, and thus its length varied depending on time of presentation. We determined vital status at the time of discharge from the hospital for all patients.

Our 5-day study time frame was designed to capture most cases of early AKI, and to reduce the confounding effects of time-varying interventions (e.g., nephrotoxic medications) and late complications (e.g., sepsis related to mechanic ventilation (MV)) which would likely have had a greater impact in cases of AKI occurring later in the hospital course.

2.2 Biochemical analysis

Samples of blood were collected once daily during 5 days or earlier if discharge from hospital or death. Urine was analyzed for NGAL and Cr within the first 24 hours after admission (classified as NGAL1), between 24-48 h (NGAL2) and at moment of AKI diagnosis (NGAL3). The samples were centrifuged and stored at minus 80 degrees Celsius and were analyzed subsequently. NGAL was measured by the *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA).

Expected normal uNGAL level was less than 0.2 ng/mL. We performed dosage of u NGAL in 20 healthy subjects between 30 and 50 years old and the mean was 0.2 ± 0.029 .

2.3 Statistical analysis

Data were analyzed by using STATA for Windows version 8.0 software (Stata Corp., College Station, TX, USA, 2004). Continuous variables were expressed as median and interquartile range and categorical variables as n (%). The Kruskal–Wallis test (for multiple groups) and Mann–Whitney test or T test (for two groups) were used for comparison between continuous values and for categorical variables. Diagnostic characteristics of u NGAL in predicting AKI and death were assessed by calculation of the area under the receiver operating characteristic curve (AUC-ROC). AUC-ROC analysis was performed by (1) comparing AKI patients with all non-AKI patients, and by (2) comparing died patients with those non-died patient. A p value less than 0.05 was considered statistically significant.

3. Results

One hundred sixty eight patients were included in the final analysis (Figure 1). Mean age was 68.0 ± 15.4 years, 57.7% were male, most of them had comorbidities (65.4%) and hypertension, cardiovascular disease and diabetes mellitus were the most frequent (in 50.6, 29.7 and 26.1% of patients, respectively). APACHE II score was 19.70 ± 7.1 and the need for mechanical ventilation and noradrenalin use in the first 24hours after admission to ER was 21.4 and 55.4%, respectively. Septic shock was the primary sort of septic state (55.4 %). Patients were mainly directed towards the ICU (51.8%), while only 53 patients (31.5%) were referred to the ward. Within the first five ER days, 121 subjects (72%) developed AKI. The mortality rate was 44% (table 1).

Among AKI patients, 87 (71.9%) already had the diagnosis on admission to the ER, while 34 of them developed AKI during hospitalization. Most of patients were classified as AKIN-3 (43%), while AKIN 1 occurred in 35 patients (28.9 %) and AKIN 2 in 34 (28.1%).

U NGAL 1 and 2 in AKI group showed higher values than non-AKI group: 3.86 (2.6 to 9.5) vs. 3.5 (0.8-5); $p = 0.003$ and 3.03(0,65-4,33) vs. 2.76 ng/mL (2.3-7.83); $p=0.009$, respectively, as well as uNGAL / uCr in the first 24h: 75.08 (37-165) x 53.31 (17.79 to 102.2); $p < 0.0001$, and between 24 and 48h after admission: 77.2 (29.4 to 160.6) x 60.29 (17.56 to 85.64); $p = 0.02$ (table 2).

U NGAL 1 was higher in non-survival group when compared with survival patients (4.88 (2.19-9.51) x 3.30 ng/mL (1.76-6.18), $p=0.01$). The two groups were similar in uNGAL 2 ($p=0.16$), as well as uNGAL / uCr in the first 24h ($p=0.72$) and between 24 and 48h after admission ($p=0.63$) (table 3).

Figures 2 to 5 display the receiver operator curves (ROC) for uNGAL as predictor of AKI and death. The areas under the curve for uNGAL1, uNGAL2, uNGAL1/uCr1 and uNGAL2/uCr2 were 0.73, 0.70, 0.77 and 0.84, respectively. Both uNGAL and uNGAL/uCr were good predictors of AKI within the next 48 h. The optimal cutoff value of each one of them had sensivity and specificity of 0.63 and 0.46; 0.63 and 0.44; 0.7 and 0.38 and 0.75 and 0.43, respectively (table 4).

Figure 6 shows the values of uNGAL at different moments (1, 2 and 3) in the group of septic patients that developed AKI during the hospitalization. The expression of uNGAL seemed to follow a bimodal pattern around the development of AKI with an early

peak preceding AKI followed by a second peak after AKI was established. Sub-analysis was performed involving only patients who did not present AKI at admission to ER (n=81) and results were better than those described in the general population (n = 168 patients). The areas under the curve for uNGAL1, uNGAL2, uNGAL1/uCr1 and uNGAL2/uCr2 were 0.83, 0.81, 0.87 and 0.89, respectively. Both uNGAL and uNGAL/uCr were excellent predictors of AKI within the next 48 h. The optimal cutoff value of each one of them had sensitivity and specificity of 0.77 and 0.66; 0.75 and 0.78; 0.81 and 0.68 and 0.79 and 0.67, respectively (table 5).

Concerning uNGAL as predictor of death, the areas under the curve for uNGAL1, uNGAL2, uNGAL1/uCr1 and uNGAL2/uCr2 were 0.66; 0.70; 0.68 and 0.81, respectively (Figure 7). Only uNGAL2 and uNGAL2/uCr2 were good predictors of septic patients death. The optimal cutoff value of each one of them had sensitivity and specificity of 0.88 and 0.54; 0.95 and 0.59; 0.71 and 0.45 and 0.71 and 0.48, respectively (table 6).

4. Discussion

This is the first study of septic adult patients admitted to ER to undergo prospective evaluation of uNGAL as a biomarker for AKI and death. Among 168 patients with sepsis and septic shock admitted in ER, 121 (72%) developed AKI defined by AKIN classification (23) and mortality rate was 44%. There are few studies on AKI in ER and these findings are consistent with the previous studies performed in ICU.

Many studies have reported that AKI is more frequently observed in patients with sepsis and septic shock than in patients with other conditions (24–26). An observational cohort study of 390 patients with septic shock in a single center ICU for about 2 years reported nearly 2 out of 3 patients experiencing AKI. In a recent retrospective multicenter study of 4532 patients with septic shock, a similar percentage of patients (64.4%) developed AKI (25). Challiner R et al (26) performed a retrospective study with 745 patients admitted to the emergency department and evaluated the presence or absence of AKI according to AKIN criteria. AKI incidence was 25.4% overall, with approximately one third present on admission and two thirds developing post admission.

Herein we show that uNGAL and its relation to uCr were significantly increased within the first 48 hours of admission to the ER in septic AKI patients compared to healthy controls and septic patients without AKI. In addition, uNGAL on the day 1 of admission to ER was significantly increased in non-survivors septic patients compared to survivors ones. U NGAL therefore appears to be a highly sensitive predictor of AKI and death in this population.

NGAL is a 25 kDa protein that is expressed at very low concentrations in several human tissues, including the kidney, lungs, and gastrointestinal tract. It is highly upregulated in injured epithelial cells. It is therefore not surprising that NGAL concentration is high in septic patients, even in the absence of AKI. In this regard, p NGAL may also be a marker of sepsis, similar to C-reactive protein, procalcitonin, or interleukin (IL)-6 (27).

NGAL is also highly upregulated in the epithelial cells of the proximal renal tubule following ischemia and several clinical studies have shown that urine and serum NGAL is a highly sensitive, specific, and predictive early biomarker for AKI in a wide range of different disease processes (9,10,18,28–30).

In study of Martesson et al (21) both pNGAL and uNGAL were good predictors of AKI within the next 12 h. However, the ability of pNGAL to predict AKI in patients with septic shock was poor with an AUC-ROC (0.67) similar to the AUC-ROC (0.68) found in pediatric patients (17). The ability of uNGAL to predict AKI was less affected by the presence of septic shock with an AUC-ROC (0.86). The magnitude to which AKI per se contributes to NGAL levels in plasma might be clouded by the systemic activation of neutrophils due to sepsis with subsequent release of NGAL into the bloodstream. This is a possible explanation of why uNGAL performed better as an AKI predictor in this subgroup of patients.

In the current study, uNGAL in healthy adults was much lower (median 0.2 ng/mL, IQR 0-1.1 ng/mL) than that reported in others studies (18–20). These differences are likely related to the different techniques used to measure NGAL in different studies.

In our study both uNGAL and its relation to uCr on day1 and day 2 after admission of septic patients to the ER were good predictors of AKI. In the current study, ROC analysis suggested that uNGAL2/uCr2 had an excellent accuracy (0.84) and a highly sensitive for predicting AKI (75%), albeit with relatively poor specificity (46%) predictor of AKI in septic patients admitted to ER. In sub-analysis that involved only patients who did not present AKI at admission to ER (n=81), the results were better than those described in the general

population. ROC analysis showed that uNGAL and NGAL/uCr were excellent predictors of AKI within the next 48 h (>0.8), with a highly sensitive ($>75\%$) and a good specificity ($>65\%$).

Our results are similar to the AUC-ROC found in pediatric septic patients by Wheeler et al (17) and in adults septic patients in study performed by Martesson et al (17). The authors showed the AUC was 0.677 (95% C.I. 0.557, 0.786; $p=0.008$) with an optimal cutoff value of 139 ng/mL (sensitivity=86% and specificity=39%).

However, in our study, uNGAL was measured within the first 48 hours of admission to the ER, which is not necessarily the first 48 hours of their disease process. In fact, the vast majority of these patients already had the sepsis diagnosis on admission to the ER. We would therefore expect the uNGAL concentrations to be much higher in patients with septic shock and evolving kidney injury. Mishra et al (9) demonstrated that u and p NGAL concentrations at 2 hours following cardiopulmonary bypass were significantly predictive of AKI. U NGAL concentrations greater than 50 $\mu\text{g/L}$ reliably predicted AKI in children at two hours following cardiopulmonary bypass, with 100% sensitivity and 98% specificity. While p NGAL concentrations were not as robust in this study, concentrations greater than 25 $\mu\text{g/L}$ had 70% sensitivity, 94% specificity, 82% positive predictive value, and 89% negative predictive value.

We also analyzed the values of uNGAL at different moments (1, 2 and 3) in the 34 patients that developed AKI during the hospitalization. The expression of uNGAL seemed to follow a bimodal pattern around the development of AKI with an early peak preceding AKI followed by a second peak after AKI was established. Similar results were found by Martesson et al (20). We speculate that the early expression seen is the result of excretion from neutrophils sequestered in the tubular lumen whereas the second peak might represent other forms of NGAL released after upregulation in the tubular cells themselves. In fact, in recent study, different molecular forms of uNGAL were found at different time points after cardiac surgery (31). We did not find the same for the group that already had AKI by admission, the explanation for that is the fact that the values of NGAL by admission represents the second peak and probably the biomarker should be elevated hours or even days before the hospitalization.

Concerning uNGAL as predictor of death, in our study uNGAL1 and uNGAL1/uCr1 were poor predictors (AUC-ROC was 0.7). The uNGAL 2 and the uNGAL 2/uCr2 were good predictor of death in septic patients. ROC analysis suggested that uNGAL2

had a good accuracy (0.7) and highly sensitive for predicting death (95%), whereas uNGAL2/uCr2 was better, with an excellent accuracy (0.81) and sensitive for predicting death (71%), albeit nonspecific predictor of death (48%) in septic patients admitted to ER. We believe that adding any other marker, KIM-1 for example, with higher specificity would help to improve the predictive value of the studied markers.

We speculate that uNGAL 2 was better predictor of death in septic patients than uNGAL 1 because it may reflect the patient's response to initial treatment of sepsis. If after 24 hours of initial treatment, the NGAL u 2 and the uNGAL 2/ uCr2 remain high, they can predict death of septic patients admitted to ER.

Few studies have shown an association between NGAL and mortality. Nickolas et al (32) showed that uNGAL was associated with clinical outcomes, including consultation with nephrologist, dialysis and ICU admission (OR = 24.71 (CI: 7.69 to 79.42). Collins et al (33) evaluated 399 patients with acute cardiac dysfunction and found that uNGAL between 12-24h after treatment initiation was predictive of 30-day mortality ($p = 0.02$).

The present study has some important limitations. It included a small number of patients and was performed in single center. Due to the small number of patients, no analysis of uNGAL according to the stage of AKI or classification of sepsis was performed. The role of uNGAL as a predictor of dialysis also was not evaluated. Despite these limitations, the results of this study allow us to conclude that uNGAL is elevated in septic patients, but statistically higher in those with sepsis and AKI and reaffirm the role of uNGAL to predict AKI and death. U NGAL/uCr values on day 2 after admission to ER were the best predictors of AKI and death in septic patients, with highly sensitive, but nonspecific. We speculate that uNGAL values may be confounded by hydration status and urine output, and may therefore need standardization by expressing as a ratio with uCr. Further validation of uNGAL as a biomarker of AKI in this population is warranted.

5. References

1. Mayr VD, Dünser MW, Greil V, Jochberger S, Luckner G, Ulmer H, et al. Causes of death and determinants of outcome in critically ill patients. *Crit Care*. 2006;10(6):R154.
2. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*. 2001;29(7):1303–10.
3. Silva E, Pedro M de A, Sogayar ACB, Mohovic T, Silva CL de O, Janiszewski M, et al. Brazilian Sepsis Epidemiological Study (BASES study). *Crit Care Lond Engl*. 2004;8(4):R251–60.
4. Lentini P, de Cal M, Clementi A, D'Angelo A, Ronco C. Sepsis and AKI in ICU Patients: The Role of Plasma Biomarkers. *Crit Care Res Pract*. 2012;2012:856401.
5. Zarjou A, Agarwal A. Sepsis and acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2011;22(6):999–1006.
6. Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, Martin C, Goodman S, Artigas A, et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive Care Med*. 2002;28(2):108–21.
7. Singbartl K, Kellum JA. AKI in the ICU: definition, epidemiology, risk stratification, and outcomes. *Kidney Int*. 2012;81(9):819–25.
8. Chvojka J, Sýkora R, Karvunidis T, Raděj J, Kroužecký A, Novák I, et al. New developments in septic acute kidney injury. *Physiol Res Acad Sci Bohemoslov*. 2010;59(6):859–69.
9. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet*. 2005;365(9466):1231–8.
10. Wagener G, Jan M, Kim M, Mori K, Barasch JM, Sladen RN, et al. Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology*. 2006;105(3):485–91.
11. Hirsch R, Dent C, Pfriem H, Allen J, Beekman RH, Ma Q, et al. NGAL is an early predictive biomarker of contrast-induced nephropathy in children. *Pediatr Nephrol Berl Ger*. 2007;22(12):2089–95.
12. Bachorzewska-Gajewska H, Malyszko J, Sitniewska E, Malyszko JS, Pawlak K, Mysliwiec M, et al. Could neutrophil-gelatinase-associated lipocalin and cystatin C predict the development of contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary interventions in patients with stable angina and normal serum creatinine values? *Kidney Blood Press Res*. 2007;30(6):408–15.
13. Xu SY, Pauksen K, Venge P. Serum measurements of human neutrophil lipocalin (HNL) discriminate between acute bacterial and viral infections. *Scand J Clin Lab Invest*. 1995;55(2):125–31.

14. Fjaertoft G, Foucard T, Xu S, Venge P. Human neutrophil lipocalin (HNL) as a diagnostic tool in children with acute infections: a study of the kinetics. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. 2005;94(6):661–6.
15. Mori K, Lee HT, Rapoport D, Drexler IR, Foster K, Yang J, et al. Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *J Clin Invest*. 2005;115(3):610–21.
16. Devarajan P. NGAL for the detection of acute kidney injury in the emergency room. *Biomark Med*. 2014;8(2):217–9.
17. Wheeler DS, Devarajan P, Ma Q, Harmon K, Monaco M, Cvijanovich N, et al. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of acute kidney injury in critically ill children with septic shock. *Crit Care Med*. 2008;36(4):1297–303.
18. Zappitelli M, Washburn KK, Arikan AA, Loftis L, Ma Q, Devarajan P, et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early marker of acute kidney injury in critically ill children: a prospective cohort study. *Crit Care Lond Engl*. 2007;11(4):R84.
19. Bagshaw SM, Bennett M, Haase M, Haase-Fielitz A, Egi M, Morimatsu H, et al. Plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in septic versus non-septic acute kidney injury in critical illness. *Intensive Care Med*. 2010;36(3):452–61.
20. Mårtensson J, Bell M, Oldner A, Xu S, Venge P, Martling C-R. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in adult septic patients with and without acute kidney injury. *Intensive Care Med*. 2010;36(8):1333–40.
21. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med*. 2013;39(2):165–228.
22. Earley A, Miskulin D, Lamb EJ, Levey AS, Uhlig K. Estimating equations for glomerular filtration rate in the era of creatinine standardization: a systematic review. *Ann Intern Med*. 2012;156(11):785–95.
23. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care Lond Engl*. 2007;11(2):R31.
24. Bagshaw SM, Lapinsky S, Dial S, Arabi Y, Dodek P, Wood G, et al. Acute kidney injury in septic shock: clinical outcomes and impact of duration of hypotension prior to initiation of antimicrobial therapy. *Intensive Care Med*. 2009;35(5):871–81.
25. Plataki M, Kashani K, Cabello-Garza J, Maldonado F, Kashyap R, Kor DJ, et al. Predictors of acute kidney injury in septic shock patients: an observational cohort study. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2011;6(7):1744–51.
26. Challiner R, Ritchie JP, Fullwood C, Loughnan P, Hutchison AJ. Incidence and consequence of acute kidney injury in unselected emergency admissions to a large acute UK hospital trust. *BMC Nephrol*. 2014;15:84.

27. Stryjewski GR, Nylen ES, Bell MJ, Snider RH, Becker KL, Wu A, et al. Interleukin-6, interleukin-8, and a rapid and sensitive assay for calcitonin precursors for the determination of bacterial sepsis in febrile neutropenic children. *Pediatr Crit Care Med J Soc Crit Care Med World Fed Pediatr Intensive Crit Care Soc.* 2005;6(2):129–35.
28. Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2003;14(10):2534–43.
29. Mishra J, Mori K, Ma Q, Kelly C, Barasch J, Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a novel early urinary biomarker for cisplatin nephrotoxicity. *Am J Nephrol.* 2004;24(3):307–15.
30. Trachtman H, Christen E, Cnaan A, Patrick J, Mai V, Mishra J, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin in D+HUS: a novel marker of renal injury. *Pediatr Nephrol Berl Ger.* 2006;21(7):989–94.
31. Cai L, Borowiec J, Xu S, Han W, Venge P. Assays of urine levels of HNL/NGAL in patients undergoing cardiac surgery and the impact of antibody configuration on their clinical performances. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 2009;403(1-2):121–5.
32. Nickolas TL, O'Rourke MJ, Yang J, Sise ME, Canetta PA, Barasch N, et al. Sensitivity and Specificity of a Single Emergency Department Measurement of Urinary Neutrophil Gelatinase–Associated Lipocalin for Diagnosing Acute Kidney Injury. *Ann Intern Med.* 2008;148(11):810–9.
33. Collins SP, Hart KW, Lindsell CJ, Fermann GJ, Weintraub NL, Miller KF, et al. Elevated urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin after acute heart failure treatment is associated with worsening renal function and adverse events. *Eur J Heart Fail.* 2012;14(9):1020–9.

Table 1- Patients demographics and clinical characteristics (n=168).

Characteristics	Septic patients(N=168)
Male sex n (%)	97 (57.7)
Age (years)	68 ± 15.4
MBP	73.3 ± 23
Comorbidities n (%)	
Hypertension	85 (50.6)
Diabetes	44 (26.1)
Dyslipidemia	18 (10.7)
Cardiovascular disease	50 (29.7)
Liver disease	6 (3.5)
CKD	12 (7.1)
Baseline creatinine	0.82 ± 0.3
Noradrenaline use n (%)	93 (55.3)
Classification of sepsis n (%):	
Sepsis	26 (15.4)
Severe sepsis	49 (29.1)
Septic Shock	93 (55.3)
Focus n (%):	
Urine	30 (18)
Lung	81 (48.8)
Mechanical ventilation n (%)	36 (21.4)
Blood transfusion n (%)	13 (7.7)
Steroids use n (%)	29 (17.2)
Time for antibiotics administration	
<1h n (%)	83 (50.92)
>1h n (%)	80 (49.08)
AKI n (%):	121 (72.02)
at admission	87(71.9)
during hospitalization	34 (28.1)
Urine output in 24h(ml)	900 (450-1425)
Urine output (ml/kg/h)	0.70 (0.4-1.05)
APACHE II	19.67 ±7.11
Dialysis n (%):	15 (8.93)
Outcome n (%):	
discharge	92 (55.7)
death	73 (44.2)

Values expressed as mean and standard deviation or median and interquartile range

AKI- acute kidney injury, MBP- Mean Blood Pressure, CKD- chronic kidney disease,
 ATN-ISS- Acute Tubular Necrosis Individual Severity Score, ICU- intensive care unit

Table 2- Urinary NGAL values according to presence of acute kidney injury

	AKI N=121	Non-AKI N=47	p
uNGAL (ng/ml):			
at moment 1 (<24h*)	3.86(2.6-9.54)	3.56(0.82-5.2)	0.003
at moment 2 (24-48h*)	3.03(0.65-4.33)	2.76(2.3-7.83)	0.009
uNGAL /uCr (ng/mg):			
at moment 1 (<24h*)	75.08 (37-165)	53.31 (17.79-102.2)	<0.0001
at moment 2 (24-48h*)	77.2 (29.49-160.6)	60.29 (17.56-85.64)	0.002

Values expressed as median and interquartile range

u-urinary; AKI- acute kidney injury; *: after admission to emergency room

Table 3- Urinary NGAL values according to patient outcome

	Survivors N=94	Non-survivors N=74	p
uNGAL (ng/ml):			
at moment 1 (<24h*)	3.30 (1.76-6.18)	4.88 (2.19-9.51)	0.01
at moment 2 (24-48h*)	2.18 (0.89-6.36)	3.93 (1,.89-7.19)	0.16
at moment 3 (AKI diagnosis)	6.60 (1.66-6.9)	12.42 (2.63-19.02)	0.15
uNGAL /uCr (ng/mg):			
at moment 1 (<24h*)	56.91(27.55-113.92)	75.08 (40-154)	0.82
at moment 2 (24-48h*)	46.30 (20.81-137.49)	93.35 (57.45-115.81)	0.63
at moment 3 (AKI diagnosis)	134.41(35.99-259.43)	263.6 (99.28-984.15)	0.056

Values expressed as median and interquartile range

u-urinary; AKI- acute kidney injury; *: after admission to emergency room

Table 4- Urinary NGAL sensibility and specificity in septic AKI patients (n=168)

	AUC-ROC	p	cutoff	Sensibility	Specificity	CI(95%)
uNGAL1	0.73	0.04	3.36	0.63	0.46	(0.64-0.82)
uNGAL2	0.70	0.01	2.73	0.63	0.44	(0.55-0.85)
uNGAL/uCr1	0.77	0.04	54.8	0.70	0.38	(0.68-0.85)
uNGAL/uCr2	0.84	0.001	46.4	0.75	0.43	(0.73-0.94)

AUC-ROC - receiver operating characteristic curve; Cr - creatinine

Table 5- Urinary NGAL sensibility and specificity in septic AKI patients (n=81)

	AUC-ROC	p	cutoff	Sensibility	Specificity	CI(95%)
uNGAL1	0.83	0.03	3.16	0.77	0.66	(0.64-0.81)
uNGAL2	0.81	0.01	3.83	0.75	0.78	(0.52-0.79)
uNGAL/uCr1	0.87	0.02	53.8	0.81	0.68	(0.58-0.78)
uNGAL/uCr2	0.89	0.0001	47.4	0.87	0.67	(0.64-0.71)

AUC-ROC - receiver operating characteristic curve; Cr – creatinine

Table 6- Urinary NGAL sensibility and specificity in non-survival septic patients

	AUC-ROC	p	cutoff	Sensibility	Specificity	CI(95%)
uNGAL1	0.66	0.048	2.07	0.88	0.54	(0.51-0.81)
uNGAL2	0.70	0.01	1.84	0.95	0.59	(0.56-0.85)
uNGAL/uCr1	0.68	0.02	55.9	0.71	0.45	(0.54-0.83)
uNGAL/uCr2	0.81	0.001	69.6	0.71	0.48	(0.69-0.93)

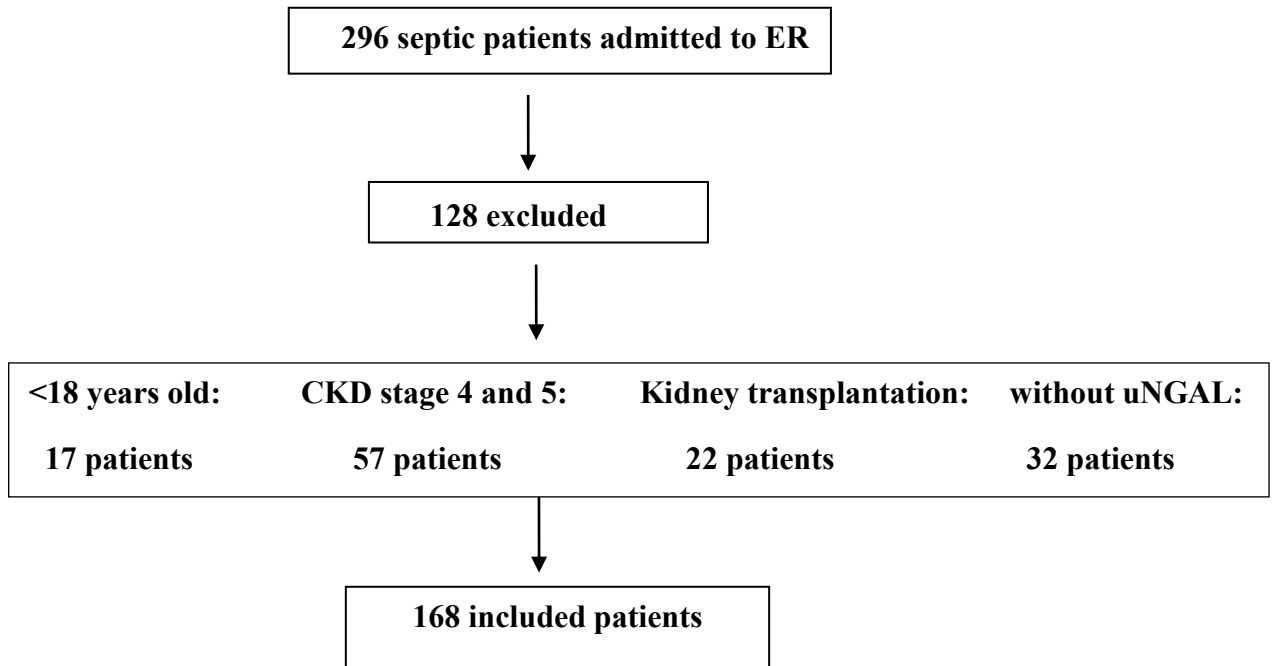


Figure 1: Screening and enrollment

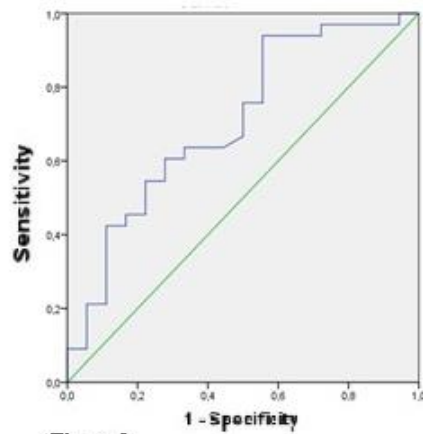


Figure 2

ROC analysis of uNGAL measure on day 1 of admission to the ER in septic patients with AKI versus without AKI

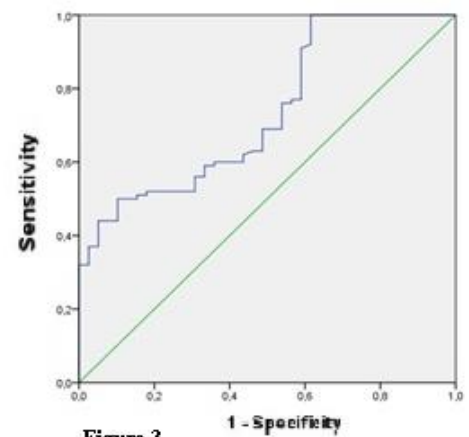


Figure 3

ROC analysis of uNGAL measure on day 2 of admission to the ER in septic patients with AKI versus without AKI

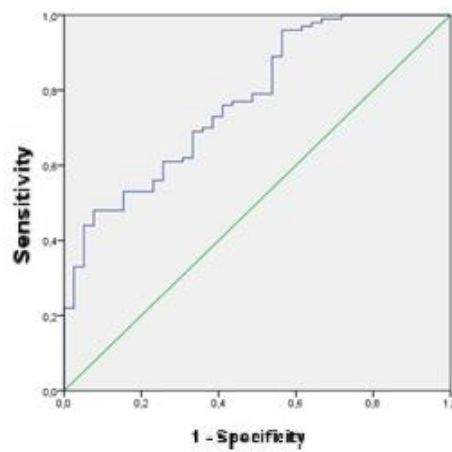


Figure 4

ROC analysis of UNGAL/uCr measure on day 1 of admission to the ER in septic patient with AKI versus without AKI

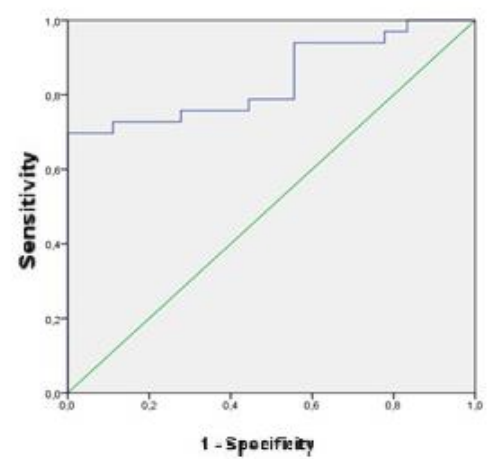
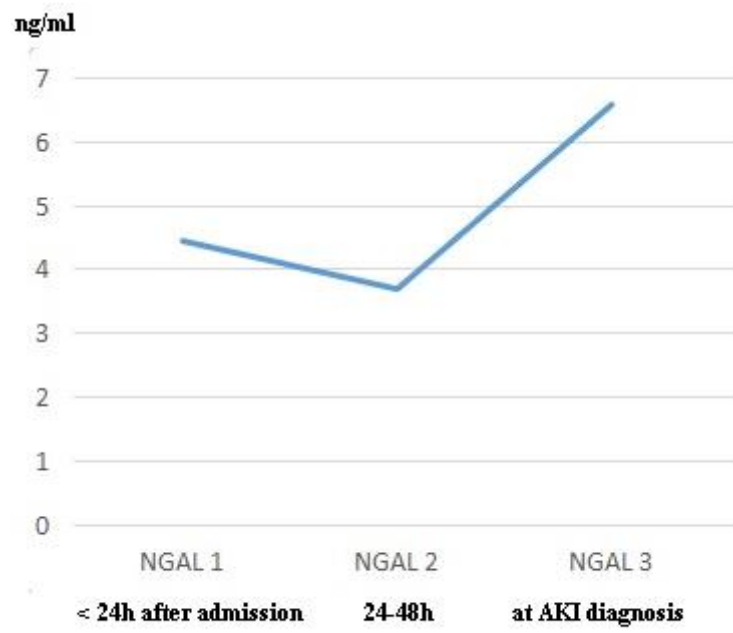


Figure 5

ROC analysis of UNGAL/uCr measure on day 2 of admission to the ER in septic patient with AKI versus without AKI



**Figure 6- Urinary NGAL values at three moments after admission
in septic patients undergoing AKI during hospitalization**

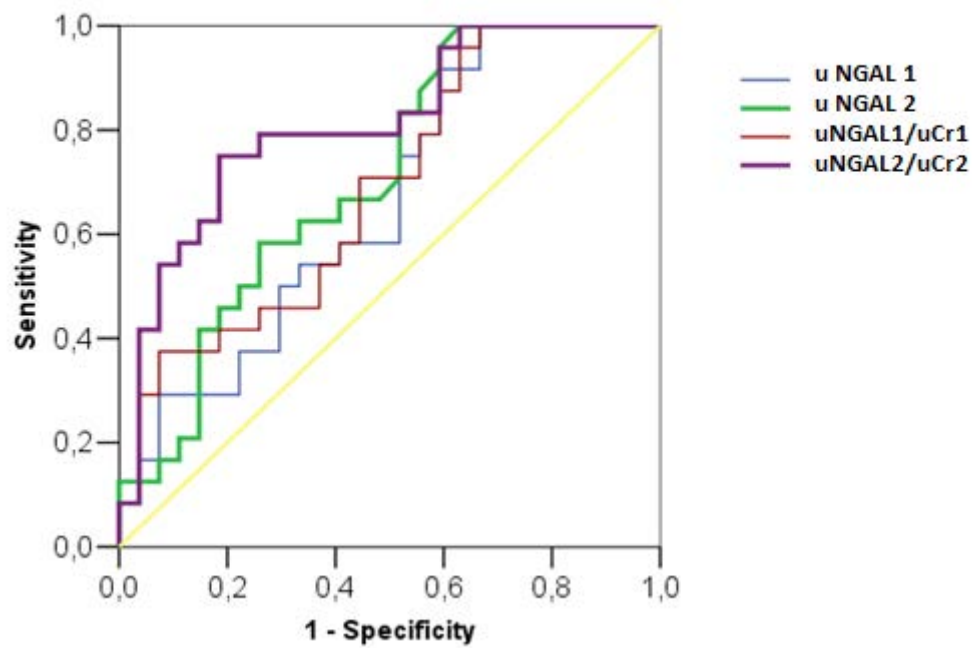


Figure 7- ROC analysis of u NGAL and uNGAL/uCr measured on Day 1 and 2 of the admission to ER in survivors versus non-survivors septic patients