



**IOSUD UNIVERSITATEA TITU
MAIORESCU DIN BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ MEDICINĂ**



REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

DIAGNOSTICUL PRECOCE AL ȘOCULUI SEPTIC PRIN EXPLORAREA NEINVAZIVĂ A MICROCIRCULAȚIEI ORALE

CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC
Prof. Univ. Dr. Cochior Daniel

DOCTORAND
Dr. Gorecki Gabriel Petre

BUCUREȘTI 2022

CUPRINS

ABREVIERI.....	4
INTRODUCERE	6
Motivația alegerii temei	6
Importanța și actualitatea temei pe plan național și internațional	6
Impactul studiului doctoral.....	7
Obiectivele științifice urmărite	8
CAPITOLUL 1. SEPSIS. ȘOC SEPTIC. NOȚIUNI FUNDAMENTALE	9
1.1. Date generale referitoare la sepsis și șocul septic	9
1.2. Epidemiologie	9
1.3. Mecanisme/fiziopatologie	9
1.4. Efectul asupra sistemelor și organelor	11
CAPITOLUL 2. DIAGNOSTICUL, SCREENINGUL ȘI PREVENȚIA SEPSISULUI ȘI A ȘOCULUI SEPTIC	12
2.1. Tabloul clinic.....	12
2.2. Definirea sepsisului	12
2.3. Definirea șocului septic	12
2.4. Biomarkeri.....	12
2.5. Prevenție.....	13
2.6. Principii de management terapeutic	13
CAPITOLUL 3. VIDEOCAPILAROSCOPIA CA TEHNICĂ IMAGISTICĂ DE ANALIZĂ A MODIFICĂRILOR MICROCIRCULAȚIEI PERIFERICE DIN ȘOCUL SEPTIC	14
3.1. Descriere generală	14
3.2. Date generale legate de principiul metodei	14
3.3. Videocapilaroscopia orală - tehnică și parametri	14
3.4. Rolul efectiv al videocapilaroscopiei în practica medicală	15
3.5. Indicațiile practice ale videocapilaroscopiei	15
CAPITOLUL 4. MATERIAL ȘI METODĂ	16
4.1. Obiectivele și direcțiile de cercetare ale studiului doctoral.....	16
4.2. Descrierea lotului studiat.....	16

4.3. Metodologia de cercetare	17
4.4. Infrastructura tehnică și software utilizată.....	21
CAPITOLUL 5. REZULTATELE STUDIULUI DOCTORAL	23
5.1. Analiza statistică a lotului analizat.....	23
CAPITOLUL 6. DISCUȚII	27
6.1. Discuții desprinse din principiul metodei.....	27
6.2. Discuții desprinse din analiza statistică a lotului studiat.....	28
CAPITOLUL 7. CONCLUZII.....	31
7.1. Concluzii generale.....	31
7.2. Algoritm de management și detecție precoce a sepsisului folosind videocapilaroscopia orală	33
REFERINȚE	34

ABREVIERI

ATI: Anesthesia and Intensive Care

(Anestezie și Terapie Intensivă)

ATP: Adenosine Triphosphate (Adenozin Trifosfat)

BPI: Bactericidal/Permeability-Increasing Protein (Proteina Bactericida care Crește Permeabilitatea)

BPOC: Chronic Obstructive Pulmonary Disease (Boală Pulmonară Obstructivă Cronică)

CID: Disseminated Intravascular coagulation (Coagulare Intravasculară Diseminată)

CT: Computer Tomography (Computer Tomograf)

C-VE: Vacular Endothelial-Cadherin (Cadherina Vasculară Endotelială)

DAMP: Damage-Associated Molecular Patterns (Modele Moleculare Asociale Daunelor)

DRG: Diagnosis Related Groups (Grupuri de Diagnostic Inrudit)

EMA: European Medicines Agency (Agenția Europeană a Medicamentului)

FDA: Food and Drug Administration (Administrația pentru Alimente și Medicamente)

GMPC: Guanosine Monophosphate-Cyclic (Guanozina Monofosfat Ciclic)

HLA-DR: Human Leukocyte Antigen-DR Isotype (Antigenul Uman Leucocitar-Izotipul DR)

IFN: Interferon

IL: Interleukine

JAKs: Janus Kinase (Kinaze Janus)

LPS: Lipopolysaccharide (Lipopolizaharid)

MAPKs: Mitogen Activated Protein Kinases (Protein Kinaze Activate de Mitogeni)

MBL: Mannose-Binding Lectin (Lectină care Leagă Manoza)

MDS: Myocardial Depressant Substance (Substanța Supresoare a Miocardului)

MDSCs: Myeloid Derivate Suppressor Cells (Celulele Supresoare Derivate Mieloide)

MEWS: Modified Early Warning Score (Scorul de Avertizare Timpurie Modificat)

MHC: Major Histocompatibility Complex (Complex Major de Histocompatibilitate)

MRI / RMN: Magnetic Resonance Imaging (Rezonanță Magnetică Nucleară)

NADPH: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate (Fosfatul Nicotinamide Adenin Dinucleotid)

NEWS: National Early Warning Score (Scorul Național de Avertizare Timpurie)

NIRS: Near-Infrared Spectroscopy (Spectroscopie în Infraroșu)

NLRs: NOD-Like Receptors (Receptori Asemănători NOD)

NOD: Nucleotide-Binding Domain (Domeniul de Legare a Nucleotidelor)

OPS: Orthogonal Polarization Spectral Imaging (Imagistică Spectrală cu Polarizare Ortogonală)

PAF: Platelet Activating Factor (Factorul de Activare a Trombocitelor)

PAI-1: Plasminogen Activating Inhibitor 1 (Inhibitorul 1 al Activării Plasminogenului)

PAM: Mean Arterial Pressure (Presiune Arterială Medie)

PAMP: Pathogen-Associated Molecular Patterns (Modele Moleculare Asociate Patogenilor)

PCR: C-Reactive Protein (Proteina C Reactivă)

PiCCO: Pulse Contour Cardiac Output (Analiza Conturului Undei de Puls)

PICS: Persistent Inflammation, Immunosuppression and Cathabolism Syndrome (Inflamație Persistentă, Imunosupresie și Sindrom Catabolic)

PTSD: Post-Traumatic Stress Syndrome (Tulburare de Stres Post-Traumatic)

qSOFA: quick Sequential Organ Failure Score (Scorul Rapid de Insuficiență Secvențială de Organ)

SDF: Sidestream Dark-Field (Iluminare Laterală a Câmpului Intunecat)

SIRS: Systemic Inflammatory Response Syndrome (Sindrom de Răspuns Inflamator Sistemic)

SOFA: Sequential Organ Failure Assessment (Evaluarea Secvențială a Insuficienței de Organ)

STATs: Signal Transducer and Activator of Transcription (Traductor de Semnal și Activatori al Transcripției)

TCR: T-Cells Receptor (Receptor de Celule T)

TH: T Helper Cell (Limfocite T Helper)

TLRs: Toll-Like Receptors (Receptori Asemănători Taxelor)

TNF: Tumor Necrosis Factor (Factorul de Necroză Tisulară)

UPU: Emergency Unit (Unitate Primiri Urgențe)

INTRODUCERE

Motivația alegerii temei

Sepsisul este disfuncția organelor care pune viața în pericol cauzată de un răspuns dereglat al gazdei la infecție (1). Sepsisul și șocul septic sunt probleme majore de sănătate, cu impact asupra a milioane de oameni din întreaga lume, în fiecare an ucigând între unul din trei și unul din șase dintre cei pe care îi afectează (2-4). Identificarea precoce și gestionarea adecvată în primele ore după dezvoltarea sepsisului îmbunătățesc semnificativ rezultatele (5).

Semnele și simptomele sepsisului sunt nespecifice și adesea imită alte afecțiuni (6-9). Deoarece nu există un test "standard de aur" pentru a diagnostica sepsisul, diagnosticul diferențial al acestuia la un pacient cu disfuncție de organe este foarte dificil. Într-adevăr, o treime sau mai mulți dintre pacienți diagnosticați inițial cu sepsis se dovedesc a avea afecțiuni neinfecțioase (6, 10). Cea mai bună practică este de a evalua continuu pacientul pentru a determina dacă alte diagnostice sunt mai mult sau mai puțin probabile, mai ales că evoluția clinică a unui pacient se poate modifica semnificativ după internarea în spital, crescând sau scăzând probabilitatea unui diagnostic de sepsis. În această incertitudine, pot exista provocări semnificative, de exemplu în a determina când este "adecvat" să se administreze sau să se întrerupă antibioticele.

Din cauza incidenței ridicate, morbidității, mortalității și a costurilor mari pentru sistemul de sănătate, sepsisul se remarcă, printre altele, de indicația fermă de spitalizare într-o unitate de terapie intensivă.

Importanța și actualitatea temei pe plan național și internațional

Studiul morfologic al microcirculației este de o importanță fundamentală deoarece patul microvascular este direct implicat în etiopatogenia maladiilor autoimune și a tulburărilor din stările inflamatorii acute (sindromul de răspuns inflamator sistemic, sindromul compensator antiinflamator) cu răspuns direct visceral (disfuncții multiple de organe) și cele cronice (stare de „balanță”, ce menține un echilibru fragil între leziunile tisulare progresive și cele reparatorii) (12). Videocapilaroscopia este o metodă de cercetare și de diagnostic neinvaziv indispensabilă în evidențierea microcirculației periferice, studierea microangiopatiilor ce însoțesc frecvent manifestările clinice în diverse patologii, și chiar mai mult, este utilă în diagnosticarea și monitorizarea diverselor faze evolutive ale unor maladii sau depistarea stărilor predispozante dezvoltării unei patologii. Printre diferitele indicații de spitalizare în secția de terapie intensivă, sepsisul prezintă importanță pentru incidența ridicată, morbiditatea, mortalitatea și costurile pentru sistemul de sănătate (13).

Stadiul actual al diagnosticului disfuncției microcirculatorii

Tehnica ideală pentru evaluarea microcirculației pacienților aflați în stare critică ar fi cea care ar permite efectuarea acestei evaluări la pat prin detectarea transportul local de oxigen, a modificărilor de permeabilitate vasculară, a răspunsului inflamator sistemic și a coagulării. În

cele din urmă, această tehnică ar trebui să permită, noninvaziv, vizualizarea directă a modificărilor microvasculare, cum ar fi scăderea densității capilare funcționale (numărul de capilare perfuzate spontan în zona analizată), diametrele vasculare și viteza fluxului sanguin (14). Din păcate, nu există o tehnică capabilă să monitorizeze toate aceste aspecte legate de microcirculație. În plus, indiferent de tehnica adoptată, trebuie avut în vedere și faptul că există o mare eterogenitate a microcirculației.

Metodele disponibile în prezent pentru monitorizarea perfuziei microvasculare în clinică pot fi împărțite în semne cutanate, biomarkeri, tehnici de videomicroscopie, tehnici de evaluare a oxigenării țesuturilor și tehnici de evaluare a microcirculației din presiunea parțială a dioxidului de carbon.

Impactul studiului doctoral

Acest studiu doctoral reprezintă o noutate absolută pentru România deoarece în literatura de specialitate din țară nu există nici un studiu care să ateste importanța obiectivării microcirculației orale în diagnosticul precoce al unor stări patologice severe, precum cea propusă în teză (șocul septic) și nici identificarea modificărilor patognomonice de la acest nivel.

Videocapilaroscopia performantă permite vizualizarea acestor alterări microcirculatorii. Monitorizarea pacienților cu stări septice este pusă în dificultate din cauza discrepanțelor dintre circulația de la nivel central (macrohemodinamică) și microcirculația de la nivelul organelor interne (splanhnică), după cum am subliniat în capitolul anterior.

Este bine cunoscut faptul că stările septice și în mod particular șocul septic, asociate diverselor patologii, cresc semnificativ mortalitatea. Incidența stărilor septice este în jur de 3/1000 de locuitori, cu o mortalitate înaltă, ce se situează între 28% și 80% în funcție de severitatea sepsisului, numărul disfuncțiilor/insuficiențelor de organe apărute în evoluție, vârsta și comorbiditățile existente.

De aceea, în abordarea studiului acestei patologii, trebuie încurajat efortul găsirii unor mijloace de diagnostic precoce în scopul instituirii de la debut a tratamentului agresiv pentru oprirea evolutivă către stadiile critice. Acest studiu doctoral este în concordanță cu efortul depus în scopul îmbunătățirii supraviețuirii și a calității vieții după aceste stări.

În acest sens, studiul doctoral propune optimizarea metodelor de prevenție a evoluției stărilor patologice septice către forme severe, grave și facilitează dezvoltarea de protocoale pentru terapie de înaltă performanță, în baza unor date obiective, patognomonice, culese și analizate prin videocapilaroscopie sublinguală.

Utilizarea videocapilaroscopiei în practica clinică curentă poate conduce către dezvoltarea de tehnologii și servicii medicale inovative și preventive în scopul rezolvării unor probleme terapeutice complexe, vitale, pe baza unui diagnostic precoce și de certitudine.

Concluzionând, putem detalia următoarele elemente ale studiului doctoral ca având un impact deosebit:

- Studiul este important în cercetarea medicală, deschizând noi teme pentru mai multe specialități (spre exemplu, studiul rolului modificărilor microvascularizației în declanșarea pancreatitei acute) determinând stimularea educației pentru cercetare fundamentală și clinică;

- Studiul doctoral va putea determina optimizarea metodelor de prevenție a evoluției stărilor patologice către forme severe, grave și va conduce la dezvoltarea de protocoale pentru terapie de înaltă performanță, în baza unor date obiective, patognomonice;
- Implementarea videocapilaroscopiei în mai multe specialități medicale (medicină internă, reumatologie, dermatologie, chirurgie vasculară, angiologie-flebologie, medicină și chirurgie estetică, stomatologie, terapie intensivă) poate avea un impact covârșitor asupra eficientizării sistemului de sănătate publică prin creșterea preciziei investigaționale, diagnostice și îmbunătățirea spectaculoasă a rezultatelor terapeutice și a prognosticului afecțiunilor tratate. Se pot realiza astfel protocoale și proceduri terapeutice cu înaltă valoare științifică, în beneficiul pacienților.
- Implementarea acestei tehnici și promovarea rezultatelor clinice obținute la nivelul societății europene de specialitate va conduce la creșterea competitivității, creativității și a cercetării în sistemul medical.

Obiectivele științifice urmărite

Studiul doctoral se bazează pe următoarele obiective principale:

1. Testarea clinică a videocapilaroscopiei și stabilirea eficacității utilizării acesteia în studiul microcirculației orale sublinguale la pacienți. Acest obiectiv are mai multe direcții secundare de cercetare, astfel:
 - realizarea hărții microcirculației orale (sublinguale) la pacienții cu sepsis sau șoc septic în diverse stadii de evoluție, pe baza unor determinări seriate și centrate pe determinările biologice din momentele cheie de evoluție clinică și paraclinică a acestor pacienți;
 - identificarea parametrilor patognomonici (alterări microcirculatorii) de la nivelul microcirculației orale la pacienți cu sepsis (în diverse stadii evolutive) prin investigarea videocapilaroscopică;
2. Implementarea unui protocol de diagnostic precoce al șocului septic având la bază videocapilaroscopia sublinguală ca metodă imagistică neinvazivă de determinare.

Conform cu obiectivele științifice descrise, studiul doctoral își propune să furnizeze următoarele rezultate:

1. Să elaboreze un protocol de examinare clinică prin videocapilaroscopie, element ce constituie o noutate pe plan național;
2. Să stabilească aspectele patognomonice ce reflectă alterările microcirculatorii de la nivel oral în șocul septic, fapt ce constituie, de asemenea, o noutate pe plan internațional;
3. Să elaboreze un protocol clinic de diagnostic precoce a șocului septic, în vederea instituirii unei terapii precoce, eficiente.

CAPITOLUL 1. SEPSIS. ȘOC SEPTIC. NOȚIUNI FUNDAMENTALE

1.1. Date generale referitoare la sepsis și șocul septic

Există dovezi că sepsisul este cunoscut din antichitate (1.000 î.Hr.) când a fost descris pentru prima dată de filosoful islamist Ibn Sînă (cunoscut și sub numele de Avicenna) ca fiind o putrefacție a sângelui și țesuturilor însoțite de febră (16). Au urmat descrieri ale lui Boerhaave, von Liebig, Semmelweis, Pasteur, Lister, Lennhartz și, cel mai recent, Bone, sepsisul și tratamentul său fiind un subiect controversat de milenii. Din 1991, definiția consensuală a sepsisului a fost "răspunsul inflamator sistemic (SIRS) la o infecție microbiană" (1, 17, 18), SIRS definit ca cel puțin două dintre următoarele: tahipnee, tahicardie, febră sau hipotermie și leucocitoză, leucopenie sau neutrofilie.

1.2. Epidemiologie

1.2.1. Incidența și prevalența

O analiză a datelor din țările dezvoltate sugerează că 31,5 milioane de cazuri de sepsis și 19,4 milioane de cazuri de sepsis sever apar la nivel global în fiecare an, cu potențial 5,3 milioane de decese anual (2, 3, 19). Aceste cifre sunt estimări, deoarece cunoștințele despre incidența și mortalitatea sepsisului în țările cu venituri mici și medii rămân limitate din cauza datelor insuficiente și a dificultății de a genera estimări la nivel de populație în aceste regiuni (2, 3, 19-21). Studiile epidemiologice contemporane din țările cu venituri ridicate sugerează rate ridicate de incidență a sepsisului tratat în spitale, variind de la 194 de cazuri la 100.000 de locuitori în Australia în 2003 (22) la 580 de cazuri la 100.000 de locuitori în Statele Unite în 2006 (22). În Germania, incidența cazurilor de sepsis tratate în spitale între 2007 și 2013 a crescut de la 256 la 335 de cazuri la 100.000 de locuitori; proporția pacienților cu sepsis sever a crescut de la 27% la 41% (2, 3, 19).

1.2.2. Mortalitatea

Estimările privind mortalitatea asociată sepsisului în spital sunt destul de confuze. Între 1999 și 2009, mortalitatea atribuită direct sepsisului pare să fi scăzut. În multe cazuri, mai ales la pacienții cu boli cronice (cancer, cardiopatii, BPOC etc) datele înregistrate în certificatele de deces reflectă frecvent boala de bază și nu cauza imediată a decesului (sepsis), care ar putea contribui la aparenta scădere a mortalității prin sepsis (24). O serie de studii efectuate în Australia și Noua Zeelandă au sugerat că ratele globale ale mortalității care pot fi atribuite sepsisului sunt în scădere. Un alt studiu (Martin et al. (25)) arată că, deși procente pacienților cu sepsis care mor în spital sunt în scădere, rata mortalității globale tinde să fie în creștere, ca urmare a creșterii numărului de pacienți cu sepsis. Deși studiul a fost desfășurat în 2003, datele desprinse din acesta sunt încă valabile și au fost confirmate de numeroase publicații ulterioare.

1.3. Mecanisme/fiziopatologie

1.3.1. Inflamația

Sepsisul este fundamental o boală inflamatorie mediată de activarea sistemului imunitar înăscut. Două evenimente cheie caracterizează răspunsul imun înăscut în sepsis. Primul se referă la faptul că sepsisul este, în general, inițiat de recunoașterea simultană a mai multor

produse microbiene derivate din infecții și a semnalelor endogene prin complement și receptori specifici de la suprafața celulelor a căror sarcină principală este apărarea (26). Celulele includ populații imune, epiteliale și endoteliale, într-un mediu local pe care-l analizează continuu. Legarea atât a modelelor moleculare asociate patogenului (PAMP) cât și a modelelor moleculare asociate leziunii (DAMP) la sistemul complement, la receptorii Toll-like (TLRs), la receptori NOD-like (*nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors* - NLRs), gena inductibilă a acidului retinoic (*RIG-like receptors*) etc induce un sistem complex de semnalizare intracelulară cu activități redundante și complementare (22, 27, 28).

1.3.2. Imunosupresia

Deși răspunsul inflamator sistemic a fost considerat semnul distinctiv al sepsisului, imunosuprimarea apare atât precoce cât și tardiv în răspunsul imun al gazdei la sepsis (29, 30). Pacienții care supraviețuiesc sepsisului au frecvent evoluții clinice prelungite și prezintă atât imunosupresie cât și inflamație. Acest fenomen a fost recent numit Inflamație Persistentă, Imunosupresie sau Sindrom Catabolic (PICS: *Persistent Immunosuppression and Cathabolic Syndrome* - PICS) (31-33).

1.3.3. Microcirculația în șocul septic

Sepsisul este menționat ca un proces de inflamație intravasculară malignă. În mod normal cascada puternică, complexă și imunologică asigură răspuns de protecție la invazia microorganismelor în organismul uman. O apărare imunologică deficitară a gazdei poate permite infecției să colonizeze, iar un răspuns excesiv sau slab controlat poate afecta gazda prin eliberarea în exces de compuși inflamatori. Disfuncția circulatorie este tipică pentru sepsis (34-36).

1.3.4. Disfuncția barierei endoteliale

Endoteliul vascular are mai multe roluri importante: în reglarea tonusului muscular, a permeabilității vasculare, în adeziunea și agregarea celulelor sanguine, în inflamație, în trombogeneză, etc. Alterarea funcției endoteliale este implicată în patogeneza mai multor afecțiuni cum ar fi ateroscleroza, diabetul zaharat etc. Funcția de barieră a endoteliului vascular este o componentă integrantă a răspunsului la sepsis. În condiții normale, endoteliul are funcția de suprafață anticoagulantă care reglează schimbul de gaze, apă, electroliți, hormoni, lipide, proteine și o multitudine de alte macromolecule aflate în microcirculație.

1.3.5. Rolul oxidului de azot (NO) în sepsis

Oxidul de azot este o moleculă de dimensiuni mici, neutră, hidrofobă care este generată în țesuturile biologice de enzima nitric oxid sintetază care participă la metabolizarea argininei și citrulinei cu formare de oxid de azot (NO). Molecula de NO trece prin membrana celulară și în acest fel se deplasează printre compartimentele celulare în vederea exercitării funcției paracrine în peretele vascular. Difuzia NO la nivel tisular este limitată de reacția sa imediată cu oxihemoglobina, și din acest considerent acțiunea NO este în principal la nivel local/tisular.

1.3.6. Coagularea

În sepsis și șoc septic, statusul normal anticoagulant la nivelul patului microcirculator este perturbat. Sepsisul are ca rezultat o stare hipercoagulantă care se caracterizează prin trombi microvasculari, depunere de fibrină, formarea de trombi extracelulari de neutrofile (NET) și

leziuni endoteliale. Citokinele inflamatorii, precum și alți mediatori, cum ar fi factorul de activare a trombocitelor și catepsina G, vizează endoteliul și trombocitele.

Activarea trombocitelor singură poate activa atât coagularea, cât și răspunsul inflamator având ca efect eliberarea trombinei. Trombina este o protează serică, care transformă fibrinogenul în fibrină și catalizează multe alte reacții legate de coagulare. Fibrina împreună cu trombocitele asigură integritatea structurală la formarea cheagurilor. În plus, citokinele inflamatorii pot promova coagularea prin injuria endoteliului și provocarea injuriilor endoteliale.

1.4. Efectul asupra sistemelor și organelor

Sepsisul este o tulburare sistemică ce poate afecta toate organele, probabil datorită activării citokinelor și a altor mediatori care sunt eliberați în circulația generală în timpul debutului acestei maladii. Semnele și simptomele sepsisului sunt variabile și depind de sistemele de organe care sunt afectate. Șase tipuri de disfuncții ale organelor predomină în sepsis: neurologice (stare mentală modificată), pulmonare (cu hipoxemie), cardiovasculare (șoc), renale (oligurie și/sau retenție azotată), hematologice (scăderea numărului de trombocite) și hepatice (hiperbilirubinemie).

CAPITOLUL 2. DIAGNOSTICUL, SCREENINGUL ȘI PREVENȚIA SEPSISULUI ȘI A ȘOCULUI SEPTIC

2.1. Tabloul clinic

La debut, debitul cardiac este normal sau crescut asociat de hipotensiune cu rezistență vasculară scăzută care se manifestă clinic printr-o presiune amplă a pulsului, tegumente calde și bine colorate, o bună umplere a patului capilar, un gradient de temperatură centrală/periferică normal. Bolnavul este însă tahicardic, polipneic, tensiunea arterială diastolică cat și cea medie au tendință la scădere și percepția senzorială este alterată. Confuzia mentală, oliguria, polipneea, asociate uneori cu un subicter scleral indică afectarea precoce și concomitentă a mai multor organe, iar tabloul clinic începe să devină asemănător cu cel din șocul hipovolemic și include hipotensiune marcată în condiții de normovolemie, tahicardie, extremități reci, cianotice, creșterea timpului de reumplere capilară, oligoanurie, alterarea statusului mental (1, 22, 27).

2.2. Definirea sepsisului

Spectrul etiologic al infecțiilor cu potențial sever s-a extins considerabil în ultimii ani datorită administrării inadecvate a antibioticoterapiei, utilizării la scară largă a unor manopere medicale invazive, perfecționării tehnicilor de identificare a agenților infectanți, creșterii speranței de viață și a imunosenscenței. Dintre microorganismele patogene frecvent implicate fac parte bacteriile Gram-pozitive (în special stafilococii), care ocupă în prezent primele locuri, urmate de bacilii gram negativi fermentativi (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Proteus*) sau nefermentativi (*Acinetobacter*) și fungi (reprezențați mai ales de specii ale genului *Candida*).

2.3. Definirea șocului septic

Conceptual, septicemia se referă la sepsis cu culturi pozitive de sânge, deși este un termen desuet care este, în general, de evitat. Culturile de sânge nu sunt frecvent pozitive, pe de o parte pentru că bacteriile nu trebuie să circule în sânge pentru a induce sepsisul și, pe de altă parte, pentru că unii pacienți sunt tratați empiric cu antibiotice în momentul testării, înainte de diagnostic. Astfel, termenul septicemie a fost abandonat.

Termenul "șoc septic" rămâne actual și este definit ca o stare în care sepsisul este asociat cu disfuncția cardiovasculară manifestată prin hipotensiune arterială persistentă, deși s-a efectuat o resuscitare adecvată a volemiei (pentru a exclude posibilitatea scaderii volemiei ca o cauză a hipotensiunii). Pentru a menține o presiune arterială medie >65 mmHg suportul vasoactiv de prima intenție este Norepinefrina, administrată titrat, cu scopul de a restabili perfuzia tisulară. Un nivel crescut de lactat seric este un semn distinctiv al hipofuziei tisulare și al șocului septic și măsurarea lactatului este utilă în diagnosticarea precoce. Casserly et al. (37) au recomandat utilizarea unui nivel lactat de ≥ 4 mmol/l pentru includerea în studiile clinice de sepsis.

2.4. Biomarkeri

Capacitatea biomarkerilor de a identifica prezența și/sau severitatea sepsisului este limitată. Mulți biomarkeri care se bazează pe amploarea răspunsului inflamator, cum ar fi IL-6, IL-10, CCL2, CXCL10 și HMGB1, au arătat o bună corelație cu severitatea sepsisului și

rezultatul clinic în studiile populaționale, dar s-au dovedit mai puțin utili pentru pacienții individuali, în mare parte din cauza lipsei de specificitate a biomarkerilor și a comportamentului acestora în răspunsul inflamator precoce (1, 17, 22).

2.5. Prevenție

Prevenirea sepsisului și a șocului septic se bazează pe bune practici în clinică pentru a reduce incidența infecțiilor, în special la populațiile cu risc ridicat (1, 9, 17, 22). În cadrul comunității, prevenția este centrată pe vaccinarea populațiilor cu risc, cum ar fi pentru pneumonia pneumococică la vârstnici și infecțiile meningococice la adolescenți și adulți tineri. Alte populații vulnerabile includ pe cele cu cancer avansat loco-regional, diabet zaharat de tip I, boală renală în stadiu terminal, insuficiență cardiacă congestivă și boala pulmonară obstructivă cronică.

2.6. Principii de management terapeutic

Odată identificat sepsisul, tratamentul adecvat instituit precoce și agresiv este o prioritate al cărui calendar este esențial. Tratamentul se bazează pe trei componente: controlul infecției, stabilizarea hemodinamică și modularea răspunsului septic.

CAPITOLUL 3. VIDEOCAPILAROSCOPIA CA TEHNICĂ IMAGISTICĂ DE ANALIZĂ A MODIFICĂRILOR MICROCIRCULAȚIEI PERIFERICE DIN ȘOCUL SEPTIC

3.1. Descriere generală

Capilaroscopia este o tehnică de diagnostic non-invazivă, fundamentală în vizualizarea microcirculației periferice și în studierea microangiopatiilor, care sunt manifestările a numeroase patologii, atât în fazele de diagnostic, cât și în cele de monitorizare în timp util a oricărei boli care afectează microcirculația.

Literatura de specialitate privind capilaroscopia a documentat modul în care datele privind poziția, forma, calibrul capilarelor și cadrul arhitectural diferă în diverse patologii (41).

Din cunoștințele noastre, o metodă simplă, non-invazivă, cum ar fi videocapilaroscopia, nu a fost niciodată utilizată în țara noastră pentru a observa caracteristicile microcirculației mucoasei orale umane la pacienții cu sepsis. Spre deosebire de alte mucoase (de exemplu: nazală, anală, vaginală), mucoasa orală este preferată din cauza accesibilității sale (42). În general, studiul morfologic al microcirculației este de o importanță fundamentală deoarece patul microvascular este direct implicat în etiopatogenia bolilor autoimune și a tulburărilor inflamatorii acute și cronice. Valoarea investigației capilaroscopice ca mijloc de diagnostic în unele cazuri de afectare a microcirculației periferice a fost confirmată de numeroase studii (43-49).

3.2. Date generale legate de principiul metodei

Videocapilaroscopia permite monitorizarea oricărei patologii ce afectează microcirculația, aproape în timp real, în mod complet neinvaziv. Alterarea microcirculației capilare într-un anumit sector (tegumentar sau mucos) poate reprezenta, de fapt, singura documentare certă a debutului unei boli. Videocapilaroscopia este o metodă de interes în studiul microcirculației sanguine facilitând posibilitatea examinării capilarelor la pacienți, *in vivo* (46-49).

3.3. Videocapilaroscopia orală - tehnică și parametri

Analiza microcirculației orale se face cu un videocapilaroscop ce utilizează tehnica videomicroscopică. Acesta culege date de la nivelul microvascularizației mucoasei orale (morfologice și dinamice) pe care le prelucrează software, în scopul diagnosticării și tratării de la debut a modificărilor microvasculare incipiente în stările de sepsis, ce premere dezvoltarea șocului septic cu disfuncții multiple de organe.

Se urmăresc și se utilizează următorii parametri:

Date non-parametrice (41, 45-50):

- **Vizibilitatea anselor capilare** (marcate de la 1 la 4):
 - (1) focalizare simplă – în primele 30 de secunde de la începerea examinării;
 - (2) focalizare medie – în intervalul 30 de secunde 2 minute;

- (3) focalizare dificilă – durează peste 2 minute;
- (4) focalizare imposibilă.
- **Orientarea capilarelor în raport cu suprafața mucoasei** (notate A, B sau AB):
 - (A) ansele capilare sunt orientate paralel cu suprafața mucoasei;
 - (B) ansele capilare sunt orientate perpendicular la suprafața mucoasei;
 - (AB) se regăsesc ambele orientări – paralelă și perpendiculară.
- **Microhemoragii** (marcate cu 0 sau 1):
 - (0)= absente;
 - (1)= prezente.
- **Caracteristici ale ansei capilare pe imaginea surprinsă** (marcate cu 0 sau 1):
 - (0) absentă, indescriptibilă;
 - (1) prezentă, descriptibilă.

Date parametrice:

- **Numărul anselor capilare vizibile pe milimetrul pătrat** – densitatea capilară (valoarea obținută reprezintă media a 2 examinări succesive ale aceleiași arii de mucoasă);
- **Calibrul (diametrul) ansei capilare** (valoarea obținută reprezintă media a 2 examinări succesive ale aceleiași arii de mucoasă);
- **Tortuozitatea** - numărul de bucle ale ansei capilare (valoarea obținută reprezintă media a 2 examinări succesive ale aceleiași arii de mucoasă)
- **Index de vâscozitate (sludge)** – intensitatea fondului (grade de transparență sau opacitate capilară), (valoarea obținută reprezintă media a 2 examinări succesive ale aceleiași arii de mucoasă);

Parametrii dinamici (41, 42, 45-50):

- **Procentul de capilare perfuzate pe mm²**
- **Velocitatea**, calculată interactiv pe câte un capilar.
- **Calculul procentului de capilare pe marje de viteză din zona de interes**, reprezentând informații privind starea șunturilor arterio-venoase (marcate cu > sau < de 50%);

3.4. Rolul efectiv al videocapilaroscopiei în practica medicală

Posibilitatea detectării anomaliilor microvasculare din fazele incipiente (asimptomatice) cu ajutorul videocapilaroscopiei deschide noi oportunități terapeutice și de cercetare în câteva categorii de afecțiuni.

3.5. Indicațiile practice ale videocapilaroscopiei

Videocapilaroscopia orală poate investiga, de principiu, boli sistemice sau ale cavității bucale. Din acest punct de vedere, primul aspect pe care trebuie să-l analizăm, la pacienți este microcirculația orală, în diverse regiuni ale acesteia, la subiecții sănătoși.

Această analiză este esențială în identificarea diverselor aspecte anormale apărute în prezența unei patologii.

CAPITOLUL 4. MATERIAL ȘI METODĂ

4.1. Obiectivele și direcțiile de cercetare ale studiului doctoral

Studiul doctoral se bazează pe următoarele obiective principale:

1. Testarea clinică a videocapilaroscopiei și stabilirea eficacității utilizării acesteia în studiul microcirculației orale sublinguale la pacienți. Acest obiectiv are mai multe direcții secundare de cercetare, astfel:
 - realizarea hărții microcirculației orale (sublinguale) la pacienții cu sepsis sau șoc septic în diverse stadii de evoluție, pe baza unor determinări seriate și centrate pe determinările biologice din momentele cheie de evoluție clinică și paraclinică a acestor pacienți;
 - identificarea parametrilor patognomonici (alterări microcirculatorii) de la nivelul microcirculației orale la pacienți cu sepsis (în diverse stadii evolutive) prin investigarea videocapilaroscopică;
2. Implementarea unui protocol de diagnostic precoce al șocului septic având la bază videocapilaroscopia sublinguală ca metodă imagistică neinvazivă de determinare.

Conform cu obiectivele științifice descrise, studiul doctoral își propune să furnizeze următoarele rezultate:

- Să elaboreze un protocol de examinare clinică prin videocapilaroscopie, element ce constituie o noutate pe plan național;
- Să stabilească aspectele patognomonice ce reflectă alterările microcirculatorii de la nivel oral în șocul septic, fapt ce constituie, de asemenea, o noutate pe plan internațional;
- Să elaboreze un protocol clinic de diagnostic precoce a șocului septic, în vederea instituirii unei terapii precoce, eficiente.

4.2. Descrierea lotului studiat

Lotul a constat în 51 pacienți, cu vârste cuprinse între 18 și 91 ani, internați cu diagnosticul de sepsis/șoc septic, de diverse etiologii, în cele 3 secții ATI din cele 3 spitale în care s-a desfășurat studiul doctoral, în perioada Iulie 2018 - Noiembrie 2020.

Componenta multicentrică a fost asigurată prin implicarea celor 3 secții ATI care fac parte din următoarele unități spitalicești:

- Spitalul Județean de Urgență Târgoviște – codificat SJUT în baza de date;
- Spitalul Clinic Județean de Urgență Ilfov – codificat ILF în baza de date;
- Spitalul Județean de Urgență Giurgiu – codificat SGR în baza de date.

Elementele înregistrate și luate în evidență pentru analiză în cadrul studiului doctoral au ținut cont atât de componenta clinică a diagnosticului și evoluției stării de sepsis/șoc septic dar mai ales de parametrii obținuți prin videocapilaroscopie neinvazivă a mucoasei orale. Toate aceste elemente au fost trecute în baza de date a studiului, asupra cărora s-au efectuat prelucrări și analize statistice specifice.

4.3. Metodologia de cercetare

4.3.1. Tipul studiului doctoral

Studiul fost de tip prospectiv, controlat, analitic, nerandomizat, fără lot martor, multicentric, în care au fost înrolați 51 pacienți.

4.3.2. Design-ul studiului doctoral și metodologia de lucru

Metodologia de lucru a presupus parcurgerea următorilor pași distincți (reprezentarea grafică, sub formă de algoritm decizional, în figura 4.7):

- **Examinarea pacientului și achiziția de imagini.** Examinarea se face (de regulă, dacă starea sa generală permite) în poziție șezândă, după calibrarea videocapilaroscopului prin balans al punctului de alb (WB: white balance) cu ajutorul unui card din plastic cu alb 6.500 K, într-un mediu cu temperatură relativ constantă (23°C), și de către un singur examinator, cu respectarea regulilor de asepsie și antisepsie. Se atașează piesa bucală și prin centrul acesteia se introduce capatul distal al capilaroscopului. Se înregistrează un clip video de o lungime prestabilită, de 60 secunde, clip care este stocat pe cardul de memorie intern al aparatului. Previzualizarea se face pe ecranul laptopului atașat prin cablu USB, astfel încât încadrarea să fie optimă.
- **Pregătirea imaginilor.** Imaginile stocate pe card-ul din capilaroscop se descarcă pe laptopul de lucru. Pregătirea, în vederea interpretării software automate din etapa următoare, presupune ca, în această etapă, să fie efectuați următorii pași:
 - din filmul asociat pacientului se selectează manual acele cadre considerate semnificative pentru examinare. În acest sens sunt urmărite vizual calitativ caracteristici precum: densitate de capilare (indiferent de incidență), microhemoragii, etc.;
 - cadrele selectate sunt încărcate în platforma software online CVAT (Computer Vision Annotation Tool - adresă web: <https://cvat.org>) unde proiectul deține cont activ și unde urmează procesul de marcarea semi-automată a capilarelor. Subpașii acestei etape presupun:
 - Marcarea cu poligoane a tuturor capilarelor, atât a celor normale ca incidență dar și a celor paralele cu planul camerei.
 - Pentru fiecare poligon se asignează unul dintre identificatorii definiți în cadrul studiului, astfel încât algoritmul să știe cum să le interpreteze. Pentru fiecare cadru dat este necesară o selecție manuală prin poligoane pentru un minim de 50% din suprafață, restul suprafeței fiind prelucrată automat de către platformă prin algoritmi proprii de detecție a similitudinilor cu elementele deja definite manual.
- **Analiza și interpretarea software a imaginilor.** Întreaga serie de imagini, cu totalitatea identificatorilor, este livrată soluției software, prin propria interfață web, care analizează automat și cuantifică elementele vizate, acești parametri fiind scriși în baza de date Excel, corepunzător cu pacientul investigat.

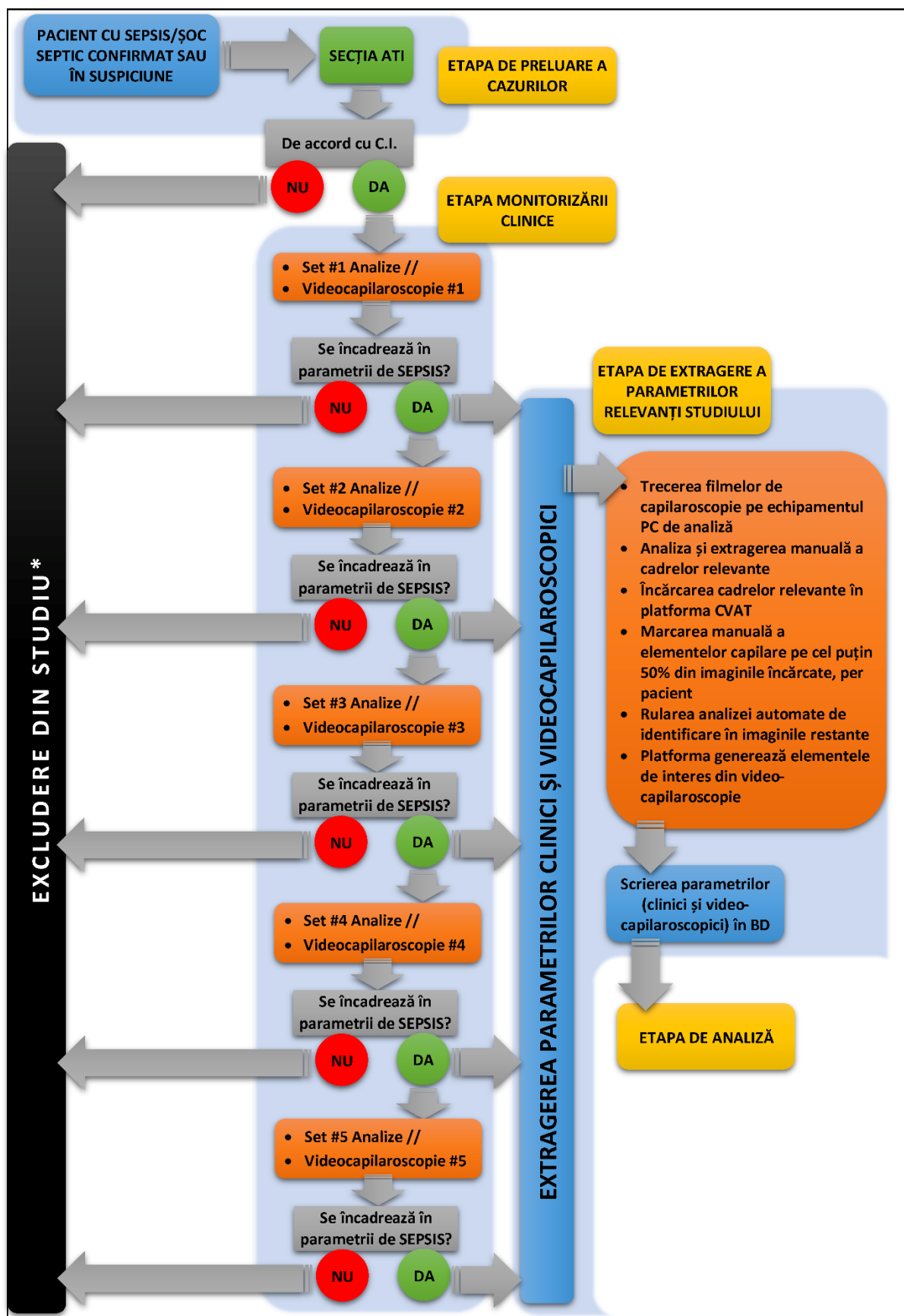


Fig. 4.7. Reprezentarea sub formă de algoritm decizional a studiului doctoral. Notă: *include și situația pacienților decedați. Legendă: BD: baza de date.

4.3.3. Criteriile clinice de includere și excludere din studiu

Criteriile de includere au fost reprezentate de toți pacienții, indiferent de sex, vârstă sau patologie asociată care au fost transferați în secțiile de ATI ale spitalelor participante în studiu pentru suspiciunea de instalare a sepsis-ului/șocului septic, indiferent de etiologie și care, desigur, au acceptat consimțământul informat de participare în studiu.

Criteriile de excludere au fost reprezentate doar de refuzul pacienților pentru participarea la studiu.

4.3.4. Elementele analizate și modalitatea de parametrizare

A. Date generale și pașaportale

Fiecare pacient a primit un identificator unic, determinat printr-o formulă generată în cadrul bazei de date Excel, astfel încât să fie asigurată anonimitatea acestuia. Pe parcursul prelucrărilor ulterioare, doar acest identificator a fost folosit în cadrul referințelor din baza de date. Restul parametrilor sunt: Nume / Prenume / Sex / Vârstă.

Tot în cadrul datelor generale s-au înregistrat și numărul total de imagini relevante înregistrate prin capilaroscopie (#Imag) precum și numele efective ale fișierelor salvate în baza de date, denumite, desigur, cu identificatorul pacientului.

Restul datelor generale conțin elemente precum: Spital (codificat prin acronim), Data Internării în ATI (Data Int. ATI) precum și Data Externării ATI (Data Ext. ATI). Parametrul Nr. Zile ATI este calculat automat de fișierul Excel.

B. Elementele clinice

În scopul construirii unui profil clinic complet al pacientului, studiul a înregistrat și cuantificat elemente de identificare a patologiei asociate, notate cu 1 (prezent) respectiv 0 (absent). Patologia asociată prezentă a fost reprezentată de: patologie cardiovasculară (CV), ciroza hepatică (CH), diabet zaharat tip 2 (DZ tip 2), bronhopneumonie cronică obstructivă (BPOC), obezitate (toate gradele), insuficiență renală cronică (BRC).

Studiul a înregistrat și mediile de cultură folosite pentru determinările bacteriologice, acestea fiind cuantificate tot prin 1 (utilizat) sau 0 (neutilizat). Astfel baza de date are următoarele înregistrări: hemoculturi (HC), aspirat traheo-bronșic (ATrBr), uroculturi (Uro) și alte medii (alte). Tot în această secțiune s-au notat și rezultatele antibiogramelor, parametrizate de asemenea prin 1 (prezent) și 0 (absent). Agenții patogeni determinați de studiu au constatat în 2 specii de Staphylococcus (Simulans și Aureus MRSA), 2 specii de Acinetobacter (Baumannii și Lwoffii), Pseudomonas Aeruginosa, Enterococ, Escherichia Coli respectiv 2 specii de Candida (Albicans și Glabrata). Corespunzător determinărilor bacteriene s-a notat și sensibilitatea la antibiotice, determinată prin antibiogramă.

Parametrii clinici utilizați pentru diagnosticul și monitorizarea stării de sepsis sunt cei uzuali, din practica oricărui serviciu ATI. Astfel au fost determinate elemente precum: Leucocitele (LEU), Hemoglobina (HGB), Trombocitele (PLT), Lactatul (LACTAT), Proteina C Reactivă (PCR). S-a notat și starea febrilă/afebrilă a pacientului (Temp). Toate aceste elemente sunt grupate în seturi, recoltate la intervale cheie de timp, corespunzătoare cu momentele importante de evoluție clinică. Conform design-ului studiului au fost lucrate în total 5 astfel de seturi, fiecare primind o intrare separată în baza de date. Concomitent cu data la care s-au recoltat aceste analize (Data), baza de date calculează automat, în scopul prelucrării

statistice, ziua de internare în ATI a pacientului. Secțiunea de date clinice este completată cu denumirea în clar a antibioticului utilizat la momentul recoltării setului de analize.

C. Elemente de videocapilaroscopie

Studiul doctoral s-a limitat doar la acei parametri pe care atât prototipul de capilaroscop avut la dispoziție cât și soluția software „off-device” disponibilă i-a putut analiza în mod real și cu rezultate reproductibile.

Așadar studiul a înregistrat doar următoarele elemente, toate făcând parte din categoria celor cu caracteristici statice:

Set de date non-parametrice:

- **Orientarea capilarelor în raport cu suprafața mucoasei:** (notate A sau B): (A) ansele capilare sunt orientate paralel cu suprafața mucoasei; (B) ansele capilare sunt orientate perpendicular la suprafața mucoasei;
- **Microhemoragii:** (marcate cu 0 sau 1): (0) absente, respectiv (1) prezente.

Set de date parametrice:

- **Numărul anselor capilare vizibile pe milimetrul pătrat:** sau densitatea capilară (valoarea obținută reprezintă media a 2 examinări succesive ale aceleiași arii de mucoasă);
- **Calibrul:** (diametrul) ansei capilare (valoarea obținută reprezintă media a 2 examinări succesive ale aceleiași arii de mucoasă);

Aceste date au primit identificatori unici, fiind incluse, pe baza acestor identificatori, în baza de date.

4.3.5. Metodele de analiză statistică utilizate

Analiza statistică a avut la bază un document de tip calcul tabelar Microsoft Excel 365 în care au fost înregistrați toți pacienții incluși în studiu, care au îndeplinit criteriile de eligibilitate, criteriile fiind ordonate pe coloane iar pacienții fiind dispuși pe rânduri. Pacienții au fost trecuți fiecare pe câte o linie iar criteriile înregistrate de studiu au fost cuantificate pe coloane.

Prelucrarea statistică primară (reprezentarea grafică a diverselor subgrupe de interes a lotului de pacienți) s-a realizat prin intermediul uneltelor standard deținute de Microsoft Excel[®] 365, iar prelucrarea avansată a fost realizată cu software dedicat IBM SPSS[®] ver. 24 dar și cu CDC Epi Info[®] ver 7.2.2.1.

Pentru analiza statistică a pacienților și verificarea corelațiilor statistice între elementele determinate de videocapilaroscopie și datele clinice, s-a apelat la teste care interpretează variabile continue, așadar s-a folosit testul Wilcoxon-Mann-Whitney[®] (U-Test) și testul Kruskal-Wallis[®] (H-Test, testul ANOVA unisens), ambele fiind teste non-parametrice dar și la teste care aplică regresia logică și la testul exact Fisher.

Pentru evaluarea acurateței prelucrării statistice valoarea P a fost setată la 0.05.

Trebuie să subliniem faptul că valorile parametrice provin din analiza software a imaginilor de înaltă definiție transmise de unitatea optoelectronică la unitatea centrală. Sistemul este în mod special calibrat astfel că valoarea metrică a unui pixel este aceeași indiferent de

gradul de mărire a imaginii digitale, diametrele capilarelor putând fi măsurate cu un grad ridicat de precizie.

4.4. Infrastructura tehnică și software utilizată

4.4.1. Descrierea aparaturii necesare efectuării videocapilaroscopiei

În cadrul studiului doctoral, pentru realizarea efectivă a videocapilaroscopiei la pacienții din clinicile în care am desfășurat cercetarea clinică, am apelat la un prototip de videocapilaroscop realizat împreună cu Prof. Univ. Dr. Cochior Daniel, ale cărui caracteristici tehnice și moduri de funcționare sunt redate mai jos. Acest prototip de capilaroscop a făcut obiectul unor numeroase premii obținute la prestigioase târguri naționale și internaționale de invenție, constituind baza acordării unui brevet de invenție cu înregistrare la Oficiul de Stat pentru Invenții și Marci.

Videocapilaroscopul reprezintă o soluție hardware și software utilizată în scop de diagnostic precoce, neinvaziv, în medicina de urgență. Acesta culege date de la nivelul microvascularizației mucoasei orale (morfologice și dinamice) pe care le prelucrează software, în scopul diagnosticării și tratării de la debut a modificărilor incipiente microvasculare sistemice ce premere dezvoltarea șocului septic cu disfuncții multiple de organe, din diverse stări patologice.

Parametrii tehnici de funcționare, tehnica de examinare și datele citite

În principiu, prototipul de aparat reprezintă un videocapilaroscop ce utilizează tehnica videomicroscopică. Captura imaginilor video sau foto se realizează independent de unitatea centrală (notebook, PC, tabletă) pe o unitate de memorie flash cu afișare pe ecranul incorporat al unității videomicroscopice mobile (videocapilaroscopului propriu-zis). Ecranul incorporat este de dimensiuni mici și permite controlul vizual al operatorului și orientarea aparatului în regiunea investigată. Totodată pe ecran se afișează și elemente grafice de tip retinacul care ajută la o focalizare corectă. Înregistrarea video color (full-frame și full-frame rate) este memorată necomprimat pentru a evita problemele legate de pierderea unor informații. Informațiile înregistrate pe memoria flash se transmit wireless sau prin conectare la portul USB către unitatea centrală (opțiune operator). Imaginile se prelucrează de către software-ul specific la rezoluție HD pe unitatea centrală în vederea identificării parametrilor urmăriți.

Calitatea digitală a imaginii este indispensabilă analizei parametrilor fundamentali ai microcirculației (morfologici și dinamici) precum și pentru calcularea densității capilarelor pe mm² de mucoasă examinată.

Elemente componente

Componentele acesteia sunt:

Hardware:

- Unitate videomicroscopică mobilă

- modulul optic (minim 2x la maxim 25x) cu distanță focală de ordinul milimetrelor;
- sursa de lumină rece echipată cu control electronic al intensității;

- cameră cu unitate de procesare a semnalului video HD (921600 pixeli) sau senzorul video;
- unitate de control intern;
- unitate de memorie flash (capacitate de stocare de ordinul a câțiva Gb);
- interfață transmisie date (wireless și USB);
- sursă de curent (acumulator);
- display rezoluție mai mică de HD (max. 800x480);
- butoane control amplasate ergonomic;
- carcasă cu design ergonomic, estetic.
- **Unitate centrală (care poate fi notebook, PC, tabletă)**
- **Imprimantă**

Software

- **Modul achiziție date** de la unitatea mobilă (videomicroscop);
- **Modul de prelucrare imagine** (stabilizare, regularizare luminozitate, contrast, balans de alb);

4.4.2. Soluții și platforme software utilizate

Pentru identificarea semi-automată a capilarelor (număr, densitate, calibru) sau a microhemoragiilor din imaginile obținute prin videocapilaroscopie, s-a apelat la platforma online **CVAT (Computer Vision Annotation Tools)**, disponibilă la această adresă web: <https://cvat.org>, unde imaginile din fiecare caz în parte și din fiecare determinare individuală în parte, au fost încărcate în subproiecte distincte. Platforma este capabilă ca, după identificarea manuală, de către utilizator, a elementelor capilare și adnotarea acestora pe baza unor seturi distincte de etichete (labels) pe o suprafață de minim xx% din xxx% din cadre, să genereze singură, prin analiză euristică avansată, restul elementelor, rezultând astfel o identificare precisă dar și o reducere considerabilă a timpului total de lucru. Cu toate acestea platforma nu este capabilă să identifice corect elementele capilare în mod complet autonom.

CAPITOLUL 5. REZULTATELE STUDIULUI DOCTORAL

5.1. Analiza statistică a lotului analizat

5.1.1. Analiza statistică primară a lotului studiat

Analiza datelor demografice a celor 51 pacienți din lotul analizat, provenit din toate clinicile participante în studiul doctoral, relevă următoarele caracteristici :

- pondere mai mare a pacienților de sex masculin (19 femei, respectiv 32 bărbați), cu un raport B/F de 1.68:1;
- media de vârstă de înregistrată a fost de 67 ani cu extreme cuprinse între 18 și 91 ani;

Analiza participării cu cazuri din cele 3 secții în care s-a desfășurat studiul doctoral va evidenția următorul grafic din care rezultă că principala pondere o deține secția cu identificatorul SJUT, cu 37 cazuri (72.5%) urmată de ILF, cu 9 cazuri (17.6%) respectiv SGR cu 5 cazuri (9.8 %).

Analiza comorbidităților semnificative pentru patologia analizată relevă o preponderență a celor de natură cardiovasculară (33 cazuri, 65% din lot), urmate în ordine descrescătoare de patologia hepatică (14 cazuri, 27%), BPOC (13 cazuri, 25%), obezitatea și BRC cu ponderi egale (11 cazuri, 22%) respectiv, pe ultimul loc, DZ tip 2 cu 4 cazuri (8%).

Analiza numărului de zile de spitalizare în cadrul ATI a pacienților cu sepsis, relevă un număr mediu de 12 zile, cu extreme de la 1 zi la 59 zile .

Analiza evoluției spre vindecare sau exitus a pacienților cu sepsis și șoc septic din studiu, relevă o preponderență marginală a celor cu exitus comparativ cu cei care au supraviețuit și au putut fi transferați în afara serviciilor ATI din respectivele spitale .Astfel se înregistrează o rată de supraviețuire de 47%, cu o mortalitate de 53%.

Din totalul de 51 pacienți internați în cadrul secțiilor ATI, la 12 dintre aceștia (pondere de 24% din totalul lotului) diagnosticul de sepsis s-a efectuat și pe baza culturilor efectuate, din diverse produse biologice. Analizând distribuția probelor biologice se constată că, cel mai des utilizate produse biologice, au fost reprezentate de aspiratul traheo-bronșic (cu 8 situații, 16% din totalul probelor, 47% din pacienții la care s-a recoltat), urmate de urocultură (4 situații, 8% din totalul probelor, 24% din recoltări) urmate de hemoculturi cu 2 situații (4% din totalul probelor, 12% din recoltări). În categoria „alte tipuri de probe” am încadrat situații speciale reprezentate de: spută și tampon inghinal (TI), cu o pondere de 3% din totalul probelor, 6% din recoltări.

Analiza tipurilor de germeni evidențiați prin culturi efectuate pe probele prezentate în figura 5.7 relevă preponderența, în egală măsură, a Staphylococcus Aureus MRSA și a Acinetobacter Baumannii, cu câte 4 cazuri, fiind urmate de Pseudomonas Aeruginosa cu 2 cazuri respectiv Staphylococcus Simulans, Acinetobacter Lwoffii, Enterococcus, E. Coli, Candida Albicans, Candida Glabrata cu cate 1 caz fiecare.

Distribuția germenilor în mediile analizate nu a fost însă uniformă, pentru ca au existat și pacienți cu 2 sau chiar 3 tipuri de germeni identificați.

Din analiza combinată pe mai multe niveluri, din care nivelul primar îl reprezintă statusul la externare (exitus sau transfer în afara ATI, echivalând cu scoaterea pacientului din starea de sepsis), nivelul secundar reprezentat de sex, respectiv nivelul terțiar de analiză fiind vârsta, cu calculul individual al numărului de zile petrecute în ATI se poate observa că, din categoria celor decedați (E) vârful maxim este atins de bărbații de 54 ani (55 zile ATI), fiind urmați de cei de 84 ani (44 zile în ATI), spre deosebire de femei la care vârful a fost atins în cazul celor de 70 ani, cu 40 zile în ATI. Din categoria celor transferați (TR), de asemenea, tot în cazul bărbaților se încadrează numărul maxim de zile de ATI, cu 59 zile pentru vârsta de 45 ani, pentru femei vârsta de 68 ani fiind cea la care s-au înregistrat cele mai multe zile de spitalizare ATI, mai precis 41 zile.

5.1.2. Analiza statistică a elementelor clinice și biologice

Analizând totalitatea elementelor biologice și clinice din lotul studiat se poate observa că evoluția leucocitelor (LEU) a avut un parcurs ce se încadrează între un minim absolut de 5.100, un maxim de 19.000, cu o valoare medie de 11.350 leucocite/mmc, în **situațiile clinice non-septice**. Pentru **situațiile de sepsis**, valorile minime absolute au fost de 13.200, cele maxime de 37.130, cu o valoare medie de 21.000. Așadar s-a înregistrat o creștere de 259% pentru valorile minime respectiv de 195% pentru cele maxime, între cele două situații.

Pentru hemoglobină (HGB), analiza în **situațiile non-septice** relevă un minim de 6.7 gr/dl, un maxim de 10.7 gr/dl cu o valoare medie de 9 gr/dl, pentru toți pacienții din lotul analizat. Pentru **situațiile de sepsis**, valorile minime sunt de 6 gr/dl, cele maxime de 10 gr/dl iar cele medii de 9 gr/dl, rezultând o variație de 87% (pentru valorile minime) respectiv de 93% pentru cele maxime, între cele două situații clinice.

Evoluția trombocitelor (PLT), pentru **situațiile clinice de non-sepsis**, pune în evidență un minim de 145.000, un maxim de 365.000, cu o valoare medie de 236.000 trombocite/mmc. Comparativ, în **situațiile clinice de sepsis**, minimele înregistrate au fost de 177.000, cele maxime de 483.000, cu valori medii de 310.000 trombocite/mmc. Așadar rezultă o creștere de 122% (pentru valorile minime) respectiv de 132% pentru cele maxime, între cele două situații clinice.

Evoluția lactatului (LACTAT), pentru **situațiile clinice de non-sepsis**, pune în evidență un minim de 0.86 mmol/L, un maxim de 2.90 mmol/L, cu o valoare medie de 1 mmol/L. Comparativ, în **situațiile clinice de sepsis**, minimele înregistrate au fost de 1.20 mmol/L, cele maxime de 3.40 mmol/L, cu valori medii de 2 mmol/L. Așadar rezultă o creștere de 140% (pentru valorile minime) respectiv de 117% pentru cele maxime, între cele două situații clinice.

Evoluția valorilor proteinei C reactive (PCR), pentru **situațiile clinice de non-sepsis**, pune în evidență un minim de 7.11 mg/L, un maxim de 150 mg/L, cu o valoare medie de 111 mg/L. Comparativ, în **situațiile clinice de sepsis**, minimele înregistrate au fost de 146 mg/L, cele maxime de 250 mg/L, cu valori medii de 147 mg/L. Așadar rezultă o creștere de 2067% (pentru valorile minime) respectiv de 167% pentru cele maxime, între cele două situații clinice.

5.1.3. Analiza statistică a elementelor determinate de videocapilaroscopie

Conform designului studiului determinările videocapilaroscopice au fost efectuate cuplat pe seturile de analize efectuate în momentele cheie ale evoluției clinice a pacienților. Astfel, fiecare pacient a beneficiat de 5 determinări biologice complete, fiecare astfel de set

fiind acompaniat de către o investigație videocapilaroscopică, totalizând un număr de 255 determinări care au generat 355 fișiere cu imagini semnificative pentru analiza parametrilor relevanți.

Analizând totalitatea elementelor determinate prin videocapilaroscopie se poate observa că numărul minim de capilare determinabile, **în situațiile clinice fără stare septică**, a fost de 81, cu un maxim de 101, așadar o medie de 91 capilare determinabile în incidență paralelă (Cap_Vector-A). Pentru capilarele cu incidență normală cu mucoasa orală (Cap_Vector-B), numărul minim înregistrat a fost de 39 capilare, cel maxim de 66, respectiv media înregistrată de 52 capilare. Totalul capilarelor determinabile prin videocapilaroscopie (Cap_Total) a variat așadar de la un minim de 120 către un maxim de 167, cu o medie de 143.

În **situațiile clinice de sepsis** (fapt dovedit prin analiza criteriilor biologice), analiza numărului de capilare relevă o creștere atât a numărului de capilare în incidență paralelă (Cap_Vector-A) cât și a celor cu incidență normală (Cap_Vector-B). Creșterea medie este de 176% pentru Cap_Vector-A respectiv de 258% pentru Cap_Vector-B, cu o creștere absolută minimă de 185% (pentru Cap_Vector-A) și 307% (pentru Cap_Vector-B), respectiv cu o creștere absolută maximă de 169% (pentru Cap_Vector-A) și 228% (pentru Cap_Vector-B). Concomitent, și numărul total de capilare, în stările de sepsis (Cap_Total) a variat proporțional, cu un minim între 270 și un maxim de 322 capilare, reprezentând o variație de 250% (față de minim) respectiv de 192% (față de maxim).

Dacă analizăm parametrul ce urmărește prezența/absența microhemoragiilor în mucoasa orală (Cap_Microhem), vom observa că pozitivarea determinării este înregistrată doar în situațiile de sepsis.

Analiza densității capilarelor în suprafața scanată prin videocapilaroscopie (parametrul Cap_Density) a pus în evidență, în situațiile clinice fără sepsis, o variație între un minim de 44, un maxim de 63 capilare, cu o medie de 53. Extinzând analiza în situațiile de sepsis, vom observa că minimul determinabil este de 92 capilare, maximul este de 110 cu o medie de 101 capilare. Așadar creșterea este de 209% pentru minim respectiv de 174% pentru densitatea maximă.

Urmărirea evoluției calibrului capilarelor din aria investigată prin capilaroscopie (Cap_Calibre), în situațiile clinice fără sepsis, relevă un minim de 9 și un maxim de 15, cu o medie de 12. Aceeași analiză, concentrată pe situațiile de sepsis, relevă un minim de 19, un maxim de 63, cu o medie a diametrelor de 41. Așadar evoluția acestui parametru a cunoscut o creștere de 211% (pentru minim), de 420% (pentru maxim), cu o creștere de 341% pentru medie.

5.1.5. Analiza statistică multifactorială a lotului studiat cu preponderență pe caracteristicile și relevanța parametrilor microcirculației orale determinați prin videocapilaroscopie neinvazivă

Pentru a putea determina gradul de corelare a elementelor determinabile prin videocapilaroscopie cu cele clinice, se impune o analiză comparată directă, din care se fie posibilă observarea profilului caracteristicilor ce definesc aspectul relativ normal al mucoasei orale la acești pacienți, precedent stărilor de sepsis sau șoc septic, comparativ cu situațiile de sepsis. Analiza valorilor medii ale caracteristicilor capilarelor înregistrate în studiu, în ambele situații clinice (sepsis/non-sepsis).

Pentru corelarea cu elementele clinice din stările normale, este posibilă generarea distribuției valorilor medii ale parametrilor biologici ai tuturor pacienților din studiu, în situațiile septice și non-septice.

CAPITOLUL 6. DISCUȚII

6.1. Discuții desprinse din principiul metodei

Definirea aspectelor normale sau patologice la pacienți depinde extrem de mult de performanța videocapilaroscopului (rezoluția imaginii, iluminarea, calibrarea punctului de alb) și de diferențele constatate la nivelul anselor capilare (diametru, lungime, densitate), dezordini arhitecturale sau de prezența anomaliilor dinamice (flux) și a microhemoragiilor.

Videocapilaroscopia este o metodă de cercetare și de diagnostic neinvaziv indispensabilă în evidențierea microcirculației periferice, studierea microangiopatiilor ce însoțesc frecvent manifestările clinice în diverse patologii, și chiar mai mult, este utilă în diagnosticarea și monitorizarea diverselor faze evolutive ale unor maladii sau depistarea stărilor predispozante dezvoltării unei patologii.

Această metodă însă trebuie să beneficieze de imagini de bună calitate, cu expunere uniformă a cadrului, care necesită o iluminare corepunzătoare și egală, pentru a nu putea influența determinările software ulterioare - crește riscul ca anumite elemente capilare să fie detectate și cuantificate de mai multe ori, în aceeași determinare, influențând acuratețea datelor. În prezentul studiu, unitatea videocapilaroscopică de care am beneficiat, ca prototip rezultat din cererea de brevet, nu a beneficiat de o sursă de iluminare constantă, așadar am fost nevoiți să analizăm manual cadrele selectate pentru determinările capilarelor, crescând timpul total derulat pentru această etapă. În următoarea iterație a proiectului ne dorim să implementăm un sistem de piesă bucală care să permită o iluminare constantă și reproductibilă pentru senzorul fotografic, astfel încât să eliminăm complet nevoia unei analize manuale, a medicului, de identificare a porțiunilor din cadru care se suprapun.

Analiza imaginilor selectate se face, momentan, în afara unității de videocapilaroscopie, datorită necesității de selecție manuală a cadrelor extrase din filmele rezultate în urma investigației, fapt ce contribuie la creșterea timpului de generare a datelor necesare interpretărilor statistice, așadar momentan metoda înregistrează un ecart de timp semnificativ față de elementele biologice și clinice, ale căror rezultate sunt mult mai prompte. Pentru ca metoda să devină o unealtă eficientă și de un real folos medicilor din serviciile de ATI, se impune așadar scurtarea perioadei de timp dintre achiziția de imagini și componenta de analiză și export a datelor. Pentru rezolvarea acestui deziderat este imperios necesar ca analiza să fie efectuată chiar în interiorul unității de videocapilarocopie iar datele să fie returnate în decurs de minute pentru a putea fi livrate soluției software de analiză a parametrilor.

La acest moment determinarea capilarelor se face în mod semi-automat, cu o importantă intervenție umană, ceea ce duce, de asemenea, la o creștere semnificativă a timpului de execuție. Astfel, platforma software utilizată în cadrul studiului necesită definirea manuală, de către operator, a capilarelor pe minim 50% din suprafața cadrului analizat, ulterior reușind să determine automat capilarele pe restul suprafeței. În cadrul unei utilizări zilnice, în serviciile ATI, acest pas produce mari întârzieri, astfel încât pentru eficientizarea obținerii rezultatelor, se impune implementarea unei analize complet automate .

6.2. Discuții desprinse din analiza statistică a lotului studiat

6.2.1. Discuții desprinse din elementele clinice de monitorizare a stării de sepsis

Pentru determinarea importanței anumitor elemente clinice, paraclinice și generale, au fost efectuate teste non-parametrice (corelații tip Pearson) între următoarele seturi de elemente:

- **setul 1** reprezentat de vârsta, numărul de zile în ATI, patologia asociată (în totalitatea acesteia), numărul de culturi pozitive identificate, numărul de agenți patogeni determinați
- **setul 2** reprezentat de numărul de leucocite, valoarea hemoglobinei, a trombocitelor, a lactatului și nivelul PCR la prima determinare, pe de altă parte.

Această comparație poate identifica dacă oricare din aceste elemente corelate ne pot conduce, încă de la internare, la o predicție bună asupra evoluției sepsisului. Analiza este reprezentată în care putere de corelație o au datele cu $p < 0.05$.

Astfel, se poate observa că:

- Vârsta se corelează statistic ($p < 0.05$) cu elemente precum numărul de comorbidități, numărul total de agenți patogeni determinați la un pacient, nivelul leucocitelor și al trombocitelor, fără a influența nivelul hemoglobinei;
- Numărul total de zile de internare în ATI se corelează statistic cu numărul total de agenți patogeni determinați și nivelul leucocitelor;
- Numărul patologiilor asociate se corelează cu nivelul hemoglobinei și al trombocitelor;
- Numărul total de culturi pozitive se corelează cu numărul leucocitelor și nivelul concentrației PCR;
- Numărul total de agenți patogeni determinați la un pacient se corelează cu numărul leucocitelor și nivelul concentrației PCR.

Corelarea următoarelor seturi de date

- Set 1: numărul de zile în ATI, numărul de patologii asociate, numărul de culturi efectuate, agenții patogeni determinați;
- Set 2: nivelul leucocitelor, hemoglobinei, trombocitelor, lactatului, proteinei C reactive

va genera următorul tabel cu semnificație statistică.

Astfel se relevă faptul că nivelul mediu al hemoglobinei, la internare, se corelează statistic cu nivelul trombocitelor și cu cel al lactatului ($p = 0.04$), la fel cum și nivelul mediu al leucocitelor se corelează cu cel al lactatului ($p = 0.01$). Tot în categoria corelațiilor statistice putem încadra și corelarea nivelului PCR cu cel al lactatului, cu un p de 0.03.

Analiza globală a parametrilor biologici necesită un test de tip ANOVA. În cadrul acestei analize au fost luați în calcul toți parametrii biologici și clinici, din toate cele 5 determinări efectuate în dinamică la toți pacienții din studiu, oferind așadar o imagine globală a evoluției acestora între determinări.

Analiza relevă faptul că o deviere medie de 176% a numărului de capilare în incidență paralelă (Cap_Vector-A) cu planul mucoasei orale, respectiv o deviere medie de 258% pentru numărul de capilare în incidență perpendiculară (Cap_Vector-B), în momentele clinice ce se corelează cu starea de sepsis (dovedită prin următorul tablou biologic: deviere medie de 185% pentru leucocite, de 131% pentru trombocite, de 115% pentru valorile lactatului și de 133% pentru valorile PCR) are corelație statistică semnificativă ($p < 0.05$ cu CI: 97.9%). Așadar, variația medie procentuală a numărului total de capilare orale, în ambele incidente, necesară corelării dintre elementele videocapilaroscopiei și starea de sepsis, este de 206%.

Translația analizei pentru elementul de densitate capilară (Cap_Density) relevă că, pentru o variație medie de 188%, această situație se poate corobora, cu semnificație statistică ($p < 0.05$, CI: 98.1%), cu starea de sepsis (cu același tablou, în termeni de variație procentuală, descris anterior). Variația medie a calibrului capilarelor (Cap_Calibre) necesară corelației dintre videocapilaroscopie și datele clinice, este de 341% ($p < 0.05$, CI: 96.8). Prezența microhemoragiilor în mucoasa orală, identificabilă prin videocapilaroscopie, se poate corela oricând cu starea de sepsis, la pacienții la care și datele biologice susțin acest lucru ($p < 0.05$, CI: 97.2).

Din analiza evoluției valorilor minime, maxime și medii ale parametrilor biologici, comparativ, între cele două situații clinice, de sepsis și non-sepsis, rezultă tabloul clinic general al pacientului cu sepsis, tablou ce servește drept șablon pentru confirmarea datelor videocapilaroscopice.

Așadar se poate observa că o creștere medie de 185% a LEU este sugestivă pentru starea de sepsis ($p < 0.05$, CI: 97.4), o creștere medie de 130% a PLT este sugestivă pentru starea de sepsis ($p < 0.05$, CI: 96.3), o creștere medie de 115% a LACTAT este sugestivă pentru starea de sepsis ($p < 0.05$, CI: 97.2) respectiv o creștere medie de 133% a PCR este sugestivă pentru starea de sepsis ($p < 0.05$, CI: 98.2). Cu toate acestea, analiza HGB nu relevă o modificare semnificativă statistic, între cele două situații clinice, de sepsis și non-sepsis ($p > 0.9$, CI: 34); așadar monitorizarea acestui parametru nu se dovedește utilă studiului.

6.2.2. Discuții desprinse din elementele videocapilaroscopice

Analizând parametrul ce urmărește prezența/absența microhemoragiilor în mucoasa orală, vom observa că pozitivarea determinării este înregistrată doar în situațiile de sepsis. Asocierea microhemoragiilor cu elementele biologice de sepsis are o puternică semnificație statistică, cu o corelație de $p = 0.004$ și un CI de 99.4%.

Există un raport relativ constant între cele două tipuri de capilare, normale și paralele ca incidență pe mucoasă, raport în favoarea celor paralele, în situația unei mucoase ce corespunde unui status non-septic al pacientului. Pentru a observa mai clar acest ecart constant a fost efectuată o analiză comparativă completă.

Practic putem afirma că identificarea acestor microhemoragii la un pacient cu criterii clinice de sepsis este un element videocapilaroscopic de certitudine a stării de sepsis.

Analizând creșterea densității capilarelor, comparativ între situațiile clinice cu și fără sepsis, coroborate cu datele biologice, vom observa că există corelație cu semnificație statistică importantă ($p = 0.05$, CI: 96.4%).

Analiza distribuției diametrelor capilarelor în situații clinice de sepsis respectiv non-sepsis precum și analiza comparativă a acestui parametru între cele două situații relevă o corelație statistică semnificativă ($p=0.04$, CI: 97.3).

CAPITOLUL 7. CONCLUZII

7.1. Concluzii generale

1. Printre diferitele indicații de spitalizare în secția de terapie intensivă, sepsisul prezintă importanță pentru incidența ridicată, morbiditatea, mortalitatea și costurile mari pentru sistemul de sănătate;
2. Studiul morfologic al microcirculației este de o importanță fundamentală deoarece patul microvascular este direct implicat în progresia sepsisului către disfuncția multiplă de organe;
3. Monitorizarea pacienților cu stări septice este pusă în dificultate din cauza discrepanțelor dintre circulația de la nivel central (macrohemodinamică) și microcirculația de la nivelul organelor interne (splanhnică);
4. Studiile clinice actuale demonstrează o necesitate fundamentală în diagnosticul și monitorizarea răspunsului terapeutic în sepsis: evaluarea disfuncției microcirculatorii;
5. În prezent nu există un test "standard de aur" pentru a diagnostica sepsisul, diagnosticul diferențial al acestuia la un pacient cu disfuncție multiplă de organe fiind foarte dificil;
6. Videocapilaroscopia este o metodă de cercetare și de diagnostic neinvaziv indispensabilă în evidențierea microcirculației periferice în sepsis, studierea microangiopatiilor ce însoțesc frecvent manifestările clinice în sepsis, și chiar mai mult, este utilă în diagnosticarea și monitorizarea diverselor faze evolutive ale acestuia sau depistarea stărilor predispozante dezvoltării acestei patologii.
7. Acest studiu doctoral reprezintă o noutate absolută pentru România deoarece în literatura de specialitate din țară nu există nici un studiu care să ateste importanța obiectivării microcirculației orale în diagnosticul precoce al unor stări patologice severe, precum cea propusă în teză (sepsis și șoc septic) și nici identificarea modificărilor patognomone de la acest nivel. Videocapilaroscopia performantă permite vizualizarea acestor alterări microcirculatorii;
8. Chiar dacă numărul de pacienți este relativ mic (51), datele obținute cu ajutorul unui prototip de videocapilaroscop sunt relevante și au necesitat 255 de determinări videocapilaroscopice statice și prelucrare software și statistică (un volum mare de date);
9. Conform cu obiectivele științifice propuse în studiul prospectiv, studiul doctoral a furnizat următoarele rezultate:
 - Elaborarea unui algoritm de management și detecție precoce a sepsisului prin videocapilaroscopie la nivelul mucoasei orale (Cap. 7.2), ce cuprinde indicațiile de efectuare a acesteia, tehnica de examinare, parametri statici și dinamici de urmărit; toate aceste elemente constituie o noutate pe plan național;
 - Deschide perspectiva elaborării unui protocol clinic de diagnostic precoce a șocului septic, pentru studiile viitoare, în vederea instituirii unei terapii precoce, eficiente.

- Corelarea datelor clinice și de laborator cu aspectele patognomonice ce reflectă alterările microcirculatorii de la nivel oral în sepsis și în șocul septic, fapt ce constituie, de asemenea, o noutate pe plan internațional;
10. S-a demonstrat concordanța dintre parametrii statici oferiți de videocapilaroscopie și elementele clinice care oferă o imagine a evoluției sepsisului:
- variația medie procentuală a numărului total de capilare orale, în ambele incidente, necesară corelării dintre elementele videocapilaroscopiei și starea de sepsis stabilită clinic, este de 206%, cu semnificație statistică ($p < 0.05$, CI: 98.1%);
 - prezența microhemoragiilor în mucoasa orală, identificabilă prin videocapilaroscopie, se poate corela oricând cu starea de sepsis, la pacienții la care și datele biologice susțin acest lucru ($p < 0.05$, CI: 97.2);
 - creșterea densității capilarelor, comparativ între situațiile clinice cu și fără sepsis, coroborate cu datele biologice au o corelație cu semnificație statistică importantă ($p = 0.05$, CI: 96.4%);
 - analiza distribuției diametrelor capilarelor în situații clinice de sepsis respectiv non-sepsis precum și analiza comparativă a acestui parametru între cele două situații relevă o corelație statistică semnificativă ($p = 0.04$, CI: 97.3);
11. Studiul demonstrează că, utilizarea videocapilaroscopiei în practica clinică curentă, poate conduce către dezvoltarea de tehnologii și servicii medicale inovative și preventive în scopul rezolvării unor probleme terapeutice complexe, vitale, pe baza unui diagnostic precoce și de certitudine. Se pot realiza astfel protocoale și proceduri terapeutice cu înaltă valoare științifică, în beneficiul pacienților;
12. Studiul deschide noi perspective în cercetarea interdisciplinară prospectivă (medicină, IT, inginerie optică) - continuarea cercetării în studii postdoctorale sau/și în cadrul unor proiecte de cercetare națională/europeană, îmbunătățirea prototipului de videocapilaroscopie, a unității optoelectronice, a soluțiilor software, corelate cu promovarea rezultatelor clinice obținute va conduce la creșterea competitivității, creativității și a cercetării în sistemul academic medical românesc;
13. Atât conceptul, dar, mai ales, execuția acestuia prin prisma rezultatelor înregistrare în cadrul studiului de cercetare doctoral, a primit deja validare externă prin numeroasele premii și diplome obținute în cadrul diverselor manifestări științifice pe plan național și internațional.

7.2. Algoritm de management și detecție precoce a sepsisului folosind videocapilaroscopia orală

Având în vedere rezultatele înregistrate în cadrul studiului doctoral, precum și metodologia de cercetare, dar și concluziile enunțate, se poate defini următorul algoritm de implementare a utilizării zilnice a videocapilaroscopiei mucoasei orale la pacienții cu suspiciune clinică de a dezvolta sepsis/șoc septic, indiferent de etiologie, în scopul emiterii precoce a recomandării de diagnostic, înainte de pozitivarea elementelor biologice.

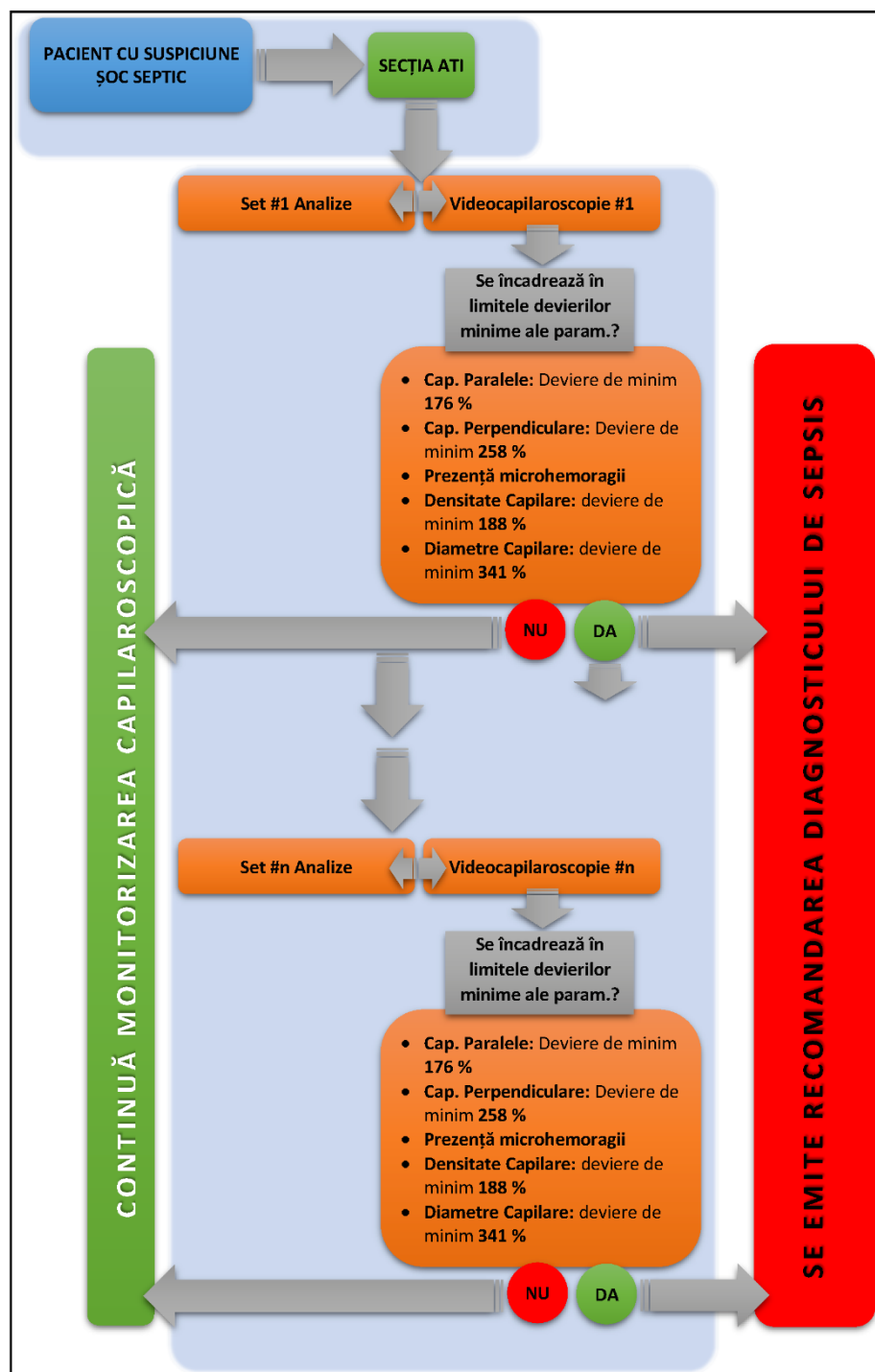


Fig. 7.1. Reprezentarea grafică a algoritmului de lucru propus de studiul doctoral în vederea implementării în utilizarea de rutină în cadrul serviciilor ATI a videocapilaroscopiei mucoasei orale în scopul avertizării precoce asupra riscului de instalare a sepsisului. De remarcat faptul că nu se renunță la determinările biologice, care se efectuează în paralel.

REFERINTE

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *Jama*. 2016;315(8):801-10.
2. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, et al. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2016;193(3):259-72.
3. Fleischmann-Struzek C, Mellhammar L, Rose N, Cassini A, Rudd KE, Schlattmann P, et al. Incidence and mortality of hospital- and ICU-treated sepsis: results from an updated and expanded systematic review and meta-analysis. *Intensive care medicine*. 2020;46(8):1552-62.
4. Rhee C, Dantes R, Epstein L, Murphy DJ, Seymour CW, Iwashyna TJ, et al. Incidence and Trends of Sepsis in US Hospitals Using Clinical vs Claims Data, 2009-2014. *Jama*. 2017;318(13):1241-9.
5. Paoli CJ, Reynolds MA, Sinha M, Gitlin M, Crouser E. Epidemiology and Costs of Sepsis in the United States-An Analysis Based on Timing of Diagnosis and Severity Level. *Critical care medicine*. 2018;46(12):1889-97.
6. Klein Klouwenberg PM, Cremer OL, van Vught LA, Ong DS, Frencken JF, Schultz MJ, et al. Likelihood of infection in patients with presumed sepsis at the time of intensive care unit admission: a cohort study. *Crit Care*. 2015;19:319.
7. Minderhoud TC, Spruyt C, Huisman S, Oskam E, Schuit SCE, Levin MD. Microbiological outcomes and antibiotic overuse in Emergency Department patients with suspected sepsis. *Neth J Med*. 2017;75(5):196-203.
8. Morley GL, Wacogne ID. UK recommendations for combating antimicrobial resistance: a review of 'antimicrobial stewardship: systems and processes for effective antimicrobial medicine use' (NICE guideline NG15, 2015) and related guidance. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2017.
9. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, Antonelli M, Coopersmith CM, French C, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock 2021. *Critical care medicine*. 2021;49(11):e1063-e143.
10. Heffner AC, Horton JM, Marchick MR, Jones AE. Etiology of illness in patients with severe sepsis admitted to the hospital from the emergency department. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2010;50(6):814-20.
11. Dellinger RP. Foreword. The Future of Sepsis Performance Improvement. *Critical care medicine*. 2015;43(9):1787-9.
12. Rodrigues-Santos G, de Magalhaes-Barbosa MC, Raymundo CE, Lima-Setta F, da Cunha A, Prata-Barbosa A. Improvement of 1st-hour bundle compliance and sepsis mortality in pediatrics after the implementation of the surviving sepsis campaign guidelines. *Jornal de pediatria*. 2021;97(4):459-67.
13. Nagata I, Abe T, Ogura H, Kushimoto S, Fujishima S, Gando S, et al. Intensive care unit model and in-hospital mortality among patients with severe sepsis and septic shock: A secondary analysis of a multicenter prospective observational study. *Medicine*. 2021;100(21):e26132.
14. De Backer D, Creteur J, Preiser JC, Dubois MJ, Vincent JL. Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2002;166(1):98-104.

15. Ospina-Tascon G, Neves AP, Occhipinti G, Donadello K, Buchele G, Simion D, et al. Effects of fluids on microvascular perfusion in patients with severe sepsis. *Intensive care medicine*. 2010;36(6):949-55.
16. Majno G. The ancient riddle of sigma eta psi iota sigma (sepsis). *The Journal of infectious diseases*. 1991;163(5):937-45.
17. Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML, Seymour CW, Liu VX, Deutschman CS, et al. Developing a New Definition and Assessing New Clinical Criteria for Septic Shock: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *Jama*. 2016;315(8):775-87.
18. Donnelly JP, Safford MM, Shapiro NI, Baddley JW, Wang HE. Application of the Third International Consensus Definitions for Sepsis (Sepsis-3) Classification: a retrospective population-based cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(6):661-70.
19. Fleischmann C, Thomas-Rueddel DO, Hartmann M, Hartog CS, Welte T, Heublein S, et al. Hospital Incidence and Mortality Rates of Sepsis. *Dtsch Arztebl Int*. 2016;113(10):159-66.
20. Becker JU, Theodosis C, Jacob ST, Wira CR, Groce NE. Surviving sepsis in low-income and middle-income countries: new directions for care and research. *Lancet Infect Dis*. 2009;9(9):577-82.
21. Jawad I, Luksic I, Rafnsson SB. Assessing available information on the burden of sepsis: global estimates of incidence, prevalence and mortality. *J Glob Health*. 2012;2(1):010404.
22. Kalil AC. Sepsis and Septic Shock. *Semin Respir Crit Care Med*. 2021;42(5):639-40.
23. Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J, Paz HL. Rapid increase in hospitalization and mortality rates for severe sepsis in the United States: a trend analysis from 1993 to 2003. *Critical care medicine*. 2007;35(5):1244-50.
24. McPherson D, Griffiths C, Williams M, Baker A, Klodawski E, Jacobson B, et al. Sepsis-associated mortality in England: an analysis of multiple cause of death data from 2001 to 2010. *BMJ open*. 2013;3(8).
25. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *The New England journal of medicine*. 2003;348(16):1546-54.
26. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*. 2010;140(6):805-20.
27. Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *The New England journal of medicine*. 2013;369(21):2063.
28. Tang D, Kang R, Coyne CB, Zeh HJ, Lotze MT. PAMPs and DAMPs: signal 0s that spur autophagy and immunity. *Immunological reviews*. 2012;249(1):158-75.
29. Nakamori Y, Park EJ, Shimaoka M. Immune Deregulation in Sepsis and Septic Shock: Reversing Immune Paralysis by Targeting PD-1/PD-L1 Pathway. *Front Immunol*. 2020;11:624279.
30. Albert Vega C, Oriol G, Bartolo F, Lopez J, Pachot A, Rimmele T, et al. Deciphering heterogeneity of septic shock patients using immune functional assays: a proof of concept study. *Scientific reports*. 2020;10(1):16136.
31. Gentile LF, Cuenca AG, Efron PA, Ang D, Bihorac A, McKinley BA, et al. Persistent inflammation and immunosuppression: a common syndrome and new horizon for surgical intensive care. *J Trauma Acute Care Surg*. 2012;72(6):1491-501.
32. Hu D, Ren J, Wang G, Gu G, Chen J, Zhou B, et al. Persistent inflammation-immunosuppression catabolism syndrome, a common manifestation of patients with enterocutaneous fistula in intensive care unit. *J Trauma Acute Care Surg*. 2014;76(3):725-9.

33. Vanzant EL, Lopez CM, Ozrazgat-Baslanti T, Ungaro R, Davis R, Cuenca AG, et al. Persistent inflammation, immunosuppression, and catabolism syndrome after severe blunt trauma. *J Trauma Acute Care Surg.* 2014;76(1):21-9; discussion 9-30.
34. Chen SH, Chan WS, Liu CM, Chiu CT, Chao A, Wu VC, et al. Effects of endotoxin adsorber hemoperfusion on sublingual microcirculation in patients with septic shock: a randomized controlled trial. *Ann Intensive Care.* 2020;10(1):80.
35. Bakker J, Ince C. Monitoring coherence between the macro and microcirculation in septic shock. *Curr Opin Crit Care.* 2020;26(3):267-72.
36. Hernandez G, Castro R, Bakker J. Capillary refill time: the missing link between macrocirculation and microcirculation in septic shock? *J Thorac Dis.* 2020;12(3):1127-9.
37. Casserly B, Phillips GS, Schorr C, Dellinger RP, Townsend SR, Osborn TM, et al. Lactate measurements in sepsis-induced tissue hypoperfusion: results from the Surviving Sepsis Campaign database. *Critical care medicine.* 2015;43(3):567-73.
38. Bauer SR, Sacha GL, Lam SW, Wang L, Reddy AJ, Duggal A, et al. Hemodynamic Response to Vasopressin Dosage of 0.03 Units/Min vs. 0.04 Units/Min in Patients With Septic Shock. *J Intensive Care Med.* 2022;37(1):92-9.
39. Kiracofe-Hoyte BR, Doepker BA, Riha HM, Wilkinson R, Rozycki E, Adkins E, et al. Assessment of fluid resuscitation on time to hemodynamic stability in obese patients with septic shock. *J Crit Care.* 2021;63:196-201.
40. Guijo Gonzalez P, Gracia Romero MA, Gil Cano A, Garcia Rojo M, Cecconi M, Monge Garcia IM. Hemodynamic resuscitation with fluids bolus and norepinephrine increases severity of lung damage in an experimental model of septic shock. *Med Intensiva (Engl Ed).* 2020.
41. Scardina GA, Cacioppo A, Pisano T, Messina P. In vivo evaluation of labial microcirculation in diabetics: a comparison with healthy subjects. *Panminerva Med.* 2011;53(2):81-5.
42. Bellavia F, Cacioppo A, Lupascu CA, Messina P, Scardina G, Tegolo D, et al. A non-parametric segmentation methodology for oral videocapillaroscopic images. *Comput Methods Programs Biomed.* 2014;114(3):240-6.
43. Kahaleh MB. The role of vascular endothelium in the pathogenesis of connective tissue disease: endothelial injury, activation, participation and response. *Clinical and experimental rheumatology.* 1990;8(6):595-601.
44. Kahaleh MB. The role of vascular endothelium in fibroblast activation and tissue fibrosis, particularly in scleroderma (systemic sclerosis) and pachydermoperiostosis (primary hypertrophic osteoarthropathy). *Clinical and experimental rheumatology.* 1992;10 Suppl 7:51-6.
45. Scardina GA, Carini F, Messina P. [Oral capillaroscopy: a new diagnostic method]. *Reumatismo.* 2005;57(4):295-304.
46. Scardina GA, Fuca G, Messina P. Microvascular characteristics of the human interdental papilla. *Anat Histol Embryol.* 2007;36(4):266-8.
47. Scardina GA, Messina P. Study of the microcirculation of oral mucosa in healthy subjects. *Ital J Anat Embryol.* 2003;108(1):39-48.
48. Scardina GA, Messina P. Microvascular characteristics of the human filiform papillae: a videocapillaroscopic study. *Ann Anat.* 2006;188(2):183-6.
49. Scardina GA, Ruggieri A, Messina P. Oral microcirculation observed in vivo by videocapillaroscopy: a review. *Journal of oral science.* 2009;51(1):1-10.
50. Kempuraj D, Twait EC, Williard DE, Yuan Z, Meyerholz DK, Samuel I. The novel cytokine interleukin-33 activates acinar cell proinflammatory pathways and induces acute pancreatic inflammation in mice. *PloS one.* 2013;8(2):e56866.