

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

**FITAS REAGENTES E EXAME CITOLÓGICO NO
DIAGNÓSTICO DE PERITONITE BACTERIANA
ESPONTÂNEA EM PACIENTES COM CIRROSE: ESTUDO
COMPARATIVO DE ACURÁCIA E CUSTO-EFETIVIDADE**

Dissertação de Mestrado

ALEXANDRE DE ARAUJO

Outubro de 2007

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

**FITAS REAGENTES E EXAME CITOLÓGICO NO
DIAGNÓSTICO DE PERITONITE BACTERIANA
ESPONTÂNEA EM PACIENTES COM CIRROSE: ESTUDO
COMPARATIVO DE ACURÁCIA E CUSTO-EFETIVIDADE**

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada como
parte dos requisitos para obtenção
do título de Mestre em Medicina

ALEXANDRE DE ARAUJO

ORIENTADOR: PROF. DR. MÁRIO REIS ÁLVARES-DA-SILVA

Outubro de 2007

A663f Araujo, Alexandre de

Fitas reagentes e exame citológico no diagnóstico de peritonite bacteriana espontânea em pacientes com cirrose : estudo comparativo de acurácia e custo-efetividade / Alexandre de Araujo ; orient. Mário Reis Álvares-Da-Silva. – 2005.

91 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências em Gastroenterologia. Porto Alegre, BR-RS, 2005.

1. Peritonite 2. Cirrose 3. Ascite 4. Fitas reagentes 5. Técnicas citológicas I. Álvares-Da-Silva, Mário Reis II. Título.

NLM: WI 575

DEDICATÓRIA

Ao meu pai **Marcílio** e à minha mãe **Liéte**, que me deram educação, amor, amizade e todas as condições para eu alcançar os meus objetivos.

À minha esposa, **Gabriela**, a quem eu muito amo, que está sempre ao meu lado em qualquer circunstância.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador, Prof. Dr. **Mário Reis Álvares-da-Silva**, por sua inteligência, paciência, compreensão e criatividade. Certamente é um exemplo de sucesso. Mantém sempre a busca da melhor alternativa científica e presta incansável assistência aos seus orientandos. Seu entusiasmo e motivação são grandiosos. Agradeço pela confiança depositada em mim e pela possibilidade de trabalhar nesse grupo extraordinário.

Ao Prof. Dr. **Sérgio Gabriel Silva de Barros**, pela sua sabedoria, amizade, capacidade de oferecer oportunidades, compreensão, sensatez. Agradeço pelo contínuo aprendizado técnico e pessoal no seu convívio. É admirável a possibilidade de integrar a residência médica com a Pós-Graduação iniciada por mim com o seu incentivo.

Ao Dr. **Antônio de Barros Lopes**, Dr. **Matheus Truccolo Michalczuk**, Dr. **Jonathas Stiff** e Dr. **Enzo Fabiano Nardelli** que participaram ativamente do trabalho sempre dispostos ao melhor rendimento possível.

AGRADECIMENTOS

Aos professores do Serviço de Gastroenterologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Profs. Drs. Hugo Cheinquer, Carlos Fernando Francesconi, Luiz Edmundo Mazzoleni, Ismael Maguilnik, Renato Fagundes e aos contratados deste Serviço, Drs. Ilton Vicente Stella, Helenice Pankowsky Breyer, Cristina Flores e Cristina Antonini Arruda que contribuíram significativamente para minha formação e propiciaram condições para a realização da pesquisa quando necessário.

À acadêmica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Gabriela Escobar Fortes, pelo apoio na organização dos dados.

Às minhas irmãs Patrícia e Ana Karina que participaram da minha educação.

Aos meus padrinhos Pedro Paulo e Júlia que me deram apoio fundamental em Porto Alegre.

À família da minha esposa, especialmente à minha sogra Verônica, pelo ser humano puro e de bom coração que é.

Aos meus avós, que inúmeras vezes apoiaram a minha carreira.

À Prof. Dra Themis Reverbel da Silveira, que entusiasma pelo eterno amor à medicina. Apesar de pouco convívio, é esplêndido identificar sua cultura, vivacidade, alegria e inteligência.

À Dra Sandra Maria Gonçalves Vieira, que comentou o projeto em Seminário de Pesquisa, tendo realizado várias observações relevantes contribuindo para a melhoria do estudo.

Ao Sr. Fernando Augusto Soares, secretário do serviço de Gastroenterologia do HCPA e às Sras. Moema Goulart e Jamile Ladeira, secretárias do Programa de Pós-Graduação de Gastroenterologia da UFRGS, por seu auxílio.

À equipe de estatística do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA, pelo apoio técnico prestado.

Aos pacientes que, em nenhuma circunstância negaram-se a participar da pesquisa e por vezes até perguntaram se poderiam participar novamente.

Aos colegas de pós graduação, em especial aos que compartilharam o mesmo orientador e ajudaram de alguma maneira na realização desse projeto.

Aos funcionários do Centro Cirúrgico e Ambulatorial do HCPA que prestaram ajuda na realização dos procedimentos de maneira muito prestativa e amigável.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO

- 1.1 Definição 1
- 1.2 Patogênese 2
- 1.3 Manifestações Clínicas 5
- 1.4 Diagnóstico 5
- 1.5 Tratamento 7

2. JUSTIFICATIVA 8

3. OBJETIVOS

- 3.1 Objetivo Geral 9
- 3.2 Objetivos Específicos 9

4. PACIENTES E MÉTODOS

- 4.1 Pacientes 10
 - 4.1.1 Critérios de Inclusão 10
 - 4.1.2 Critérios de Exclusão 11
- 4.2 Paracentese 11
- 4.3 Teste com Fitas Reagentes 13

4.4 Critérios Diagnósticos 15

4.5 Aspectos Éticos 15

4.6 Análise Estatística 15

4.7 Financiamento 16

5. RESULTADOS 17

6. DISCUSSÃO

6.1 Dos resultados e sua interpretação 28

6.2 Das limitações do estudo 38

6.3 Da aplicabilidade prática 39

7. CONCLUSÕES 41

8 . REFERÊNCIAS 42

ANEXOS

Anexo 1. Fluxograma de coleta de dados

Anexo 2. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Anexo 3. Resumo do trabalho apresentado no *Digestive Disease Week 2007*

Anexo 4. Artigo encaminhado para publicação

Anexo 5. Banco de Dados

Anexo 6. Carta encaminhada para *Hepatology* (aceita para publicação)

Anexo 7. Algoritmo para atendimento de pacientes com cirrose e ascite

LISTA DE ABREVIATURAS

Ac: Acurácia

CAPES: Coordenadoria de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior

DDW: *Digestive Disease Weak*

E: Especificidade

EL: Esterase leucocitária

GPPG: Grupo de Pesquisa e Pós Graduação

IC: Intervalo de confiança

LA: Líquido de ascite

MELD: *Model for End Stage Liver Disease*

p: valor p (alfa)

PBE: Peritonite bacteriana espontânea

PMN: Polimorfonucleares

QALY: *Quality-adjusted life-year*

ROC: *receiver operator characteristic*

RVN: Razão de Verossimilhança Negativa

RVP: Razão de Verossimilhança Positiva

S: Sensibilidade

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UFRGS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

VPN: Valor Preditivo Negativo

VPP: Valor Preditivo Positivo

LISTA DE TABELAS

Tabela I. Características demográficas e clínicas da população estudada 18

Tabela II. Características do líquido de ascite nos pacientes considerados portadores de peritonite bacteriana espontânea 19

Tabela III. Resultados obtidos com as fitas reagentes Multistix SG 10® no diagnóstico de peritonite bacteriana espontânea quando comparada com o exame citológico 20

Tabela IV. Resultados obtidos com as fitas reagentes Choiceline 10® no diagnóstico de peritonite bacteriana espontânea quando comparada com o exame citológico 21

Tabela V. Avaliação do desempenho diagnóstico das fitas reagentes na amostra total, em pacientes hospitalizados e em pacientes ambulatoriais 23

Tabela VI. Estimativa de custo-efetividade das fitas reagentes e do exame citológico no diagnóstico de peritonite bacteriana espontânea na amostra estudada (em US\$) 25

Tabela VII. Apresentação das medianas e médias do número de PMN obtidos no exame citológico do líquido de ascite conforme a graduação das fitas reagentes empregadas 27

Tabela VIII. Análise comparativa dos estudos publicados com fitas reagentes no diagnóstico rápido da peritonite bacteriana espontânea 29

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Técnica de paracentese 12

Figura 2. Técnica das fitas reagentes 14

Figura 3. Curva ROC para Multistix SG 10® 24

Figura 4. Curva ROC para Choiceline 10® 24

RESUMO

Introdução: o diagnóstico de peritonite bacteriana espontânea (PBE) baseia-se na contagem de células no líquido de ascite (LA), mas tem-se buscado teste mais conveniente, como as fitas reagentes. Os objetivos do estudo são avaliar e comparar a acurácia das fitas Multistix 10 SG® e Choiceline 10® no diagnóstico de PBE e comparar seus custos com o exame citológico.

Pacientes e Métodos: 71 pacientes ambulatoriais e internados com cirrose e ascite foram consecutivamente incluídos no estudo (159 amostras de LA). O padrão para o diagnóstico foi o número de polimorfonucleares ≥ 250 , independente do exame cultural. Os pontos de corte para o diagnóstico com as fitas foram definidos por curva ROC, e calculados sensibilidade (S), especificidade (E), valores preditivos positivo (VPP) e negativo (VPN) e acurácia (Ac). O custo das fitas reagentes foi comparado com o exame citológico por análise de custo-efetividade, em US\$.

Resultados: houve PBE em 17 pacientes (23,9%), sendo 11 (64,7%) com cultural positivo. Os melhores pontos de corte nas curvas ROC foram 1+ para Multistix 10 SG® e ca.75, para Choiceline 10®. Comparando ao exame citológico, Multistix 10 SG® S= 80%, E=98,5%, VPP=90,9%, VPN=96,2 e Ac=95% e Choiceline 10® S=76,9%, E=97,7%, VPP=87%, VPN=95,6% e Ac=94%, sem diferença de acurácia entre as fitas ($p=0,8$). Em relação à custo-efetividade por Custo/Ac, 41,5 para o exame citológico, para Multistix 10 SG® 0,57 e para Choiceline 10® 0,19 ($p<0,001$).

Conclusão: Fitas reagentes são úteis no diagnóstico de PBE, com alta acurácia e com melhor relação custo-efetividade, em comparação com o exame citológico.

ABSTRACT

Background: Diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis (SBP) is currently based on ascitic fluid cell counting, but there is a need for a more convenient diagnostic tool. The objectives of this study are to evaluate the accuracy of reagent strips in diagnosing SBP and compare their costs with the cytological exam.

Patients and Methods: 71 cirrhotic in and outpatients were consecutively included (159 samples). SBP diagnosis was made by neutrophil cells ≥ 250 . Data for the graduations of the reagent strips were analyzed in ROC curves, and Sensitivity (S), Specificity (Sp), Positive and Negative Predictive Values (PPV and NPV), Accuracy (Ac), and cost-effectiveness (US\$) in comparison to cytological exam were calculated.

Results: SBP was diagnosed in 17 patients (23,9%), 11 of them cultural-positives (64,7%). The best cut-off points found in ROC curves were 1+ for Multistix SG 10[®] and ca.75 for Choiceline 10[®] (Multistix 10 SG[®] S= 80%, Sp=98.5%, PPV=90.9%, NPV=96.2%, Ac=95%; Choiceline 10[®] S=76.9%, Sp=97.7%, PPV=87%, NPV=95.6, Ac=94%). In relation to the cost-effectiveness evaluation, by cost/ accuracy, cytological exam, 41.5, Multistix SG10[®] 0.57, and Choiceline 10[®], 0.19 (p<0,001).

Conclusion: reagent strips are useful in the SBP diagnosis, with high accuracy and better cost-effectiveness than cytological exam.

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – Definição

Peritonite bacteriana espontânea (PBE) pode ser definida como a infecção espontânea do líquido de ascite (LA), sem que haja um foco infeccioso intra-abdominal aparente (García-Tsao *et al*, 2001; Moore *et al*, 2003; Runyon, 2004). Apesar do termo PBE estar difundido na literatura médica, justifica-se observar que essa é uma infecção no líquido de ascite, causada por bactérias e conceitua-se como espontânea visto que não há foco infeccioso intra-abdominal aparente, apesar das inúmeras alterações fisiopatológicas que expliquem a possibilidade de bactérias alcançarem o LA. Encontra-se descrição de relatos iniciais dessa infecção em 1960 (Conn, 1964), porém em análise retrospectiva o primeiro caso descrito foi a morte Beethoven. Houve intensa discussão sobre a *causa mortis*, considerando sífilis, intoxicação por chumbo, doença de Whipple, hepatite infecciosa e cirrose alcoólica. Sua doença terminal foi caracterizada por ascite, icterícia, dor abdominal e edema de membros inferiores. Os dados da necropsia de Beethoven demonstraram cirrose alcoólica, necrose papilar renal, pancreatite e possivelmente diabetes melittus. Análise toxicológica de seu cabelo demonstrou níveis elevados de chumbo. No século 18 e início do século 19 costuma-se adicionar chumbo ilegalmente a vinhos baratos para suavizá-los e revigorá-los. Esses achados fortemente sugerem que a insuficiência hepática

secundária ao álcool associada com peritonite bacteriana espontânea e perda de função renal foram as causas da morte (Mai, 2006).

A prevalência de PBE em pacientes cirróticos que necessitam internação é de 10 a 30%, todavia ela é menor em pacientes ambulatoriais, especialmente quando assintomáticos. Nousbaum *et al*, 2007, encontraram nesta última população uma prevalência de apenas 0,66%. Quando inicialmente descrita, a PBE apresentava uma mortalidade superior a 90%. Entretanto, com o reconhecimento precoce e o início rápido do tratamento, a mortalidade por episódio encontra-se hoje em torno de 20% (García-Tsao *et al*, 2001), embora sua recorrência em 1 ano seja ainda bastante elevada, em torno de 70% (Ginés *et al*, 2004)

1.2 – Patogênese

A infecção do LA é hematogênica e na maioria dos casos monomicrobiana (Sherlock S, Dooley J, 2002). O mecanismo mais provável de acesso das bactérias ao LA é a translocação, processo que consiste na passagem de bactérias do trato intestinal para áreas extraintestinais. Em pacientes com cirrose e PBE, a translocação ocorre pela transferência de bactérias através de neutrófilos e macrófagos pela parede intestinal para os linfonodos mesentéricos e, a seguir, via circulação linfática, para a corrente sanguínea e só então para o LA (Sola *et al*, 2002; Runyon 2004) . Este tipo de

contaminação foi demonstrado em modelos animais e em estudos em humanos com cirrose (Llovet *et al*, 1998; Cicera *et al*, 2001; Bauer *et al*, 2002).

Os motivos pelos quais ocorre importante translocação bacteriana em cirróticos, acredita-se, envolvem três principais mecanismos, quais sejam: a) comprometimento da imunidade local e sistêmica; b) supercrescimento bacteriano intestinal; e c) aumento da permeabilidade intestinal.

Os mecanismos de defesa imune nos cirróticos estão prejudicados, através da diminuição da atividade do sistema reticulo-endotelial, causada principalmente pelo *shunt* intra-hepático funcional ou anatômico; alterações na função de neutrófilos e macrófagos e deficiência nos níveis séricos de complemento e outras proteínas com capacidade de opsonização, como fibronectina.

Fatores bacterianos têm especial importância na patogênese da infecção do LA. Demonstrou-se ocorrer suprescrescimento bacteriano em experimentos com animais com indução de cirrose e ascite e em estudos de pacientes com cirrose. O mecanismo considerado mais relevante para contribuição dessa modificação do crescimento bacteriano é a diminuição da motilidade intestinal verificada nesses indivíduos. Existe comprovação de que o uso de drogas pró-cinéticas diminui o supercrescimento bacteriano devido ao aumento do trânsito intestinal. As causas da diminuição da motilidade do intestino delgado na cirrose não são conhecidas, todavia o aumento da produção de óxido nítrico, o aumento do tônus simpático, as mudanças estruturais provocados na parede intestinal e o estresse oxidativo podem contribuir para essa dismotilidade.

A barreira intestinal sofre alterações estruturais e funcionais nesses pacientes, possivelmente relacionadas a estase venosa causada pela hipertensão portal, dessa maneira aumentando a permeabilidade intestinal para bactérias entéricas. As alterações estruturais são demonstradas através de biópsias intestinais de pacientes com cirrose, evidenciando edema, congestão vascular e inflamação, além de aumento dos espaços intercelulares. Alterações funcionais confirmando o aumento da permeabilidade intestinal também foram identificadas em estudos de substâncias marcadas com tecnécio em pacientes com cirrose (Sola *et al*, 2002).

Quando as bactérias chegam ao LA, o determinante final da infecção desse líquido é sua capacidade antimicrobiana. Muitas alterações imunes no hospedeiro favorecem o desenvolvimento de PBE. Tem-se demonstrado que níveis baixos de proteína no LA correlacionam-se com baixa capacidade de opsonização e maior chance de infecção, especialmente quando proteínas totais no LA são menores que 1 – 1,5 g/dl. Também nota-se diminuição dos níveis de frações do complemento C3 e C4 em cirróticos, predispondo a infecção no LA. Os fatores propostos para a hipocomplementenemia detectada nos cirróticos são: 1) mecanismo de formação de ascite desenvolvendo transudato com baixa concentração de proteínas; 2) insuficiência hepática, tendo como consequência diminuição da produção de fatores do complemento; 3) consumo desses fatores pela exposição hepática contínua de bactérias ou seus produtos; 4) diluição, devido a grandes volumes de ascite.

A translocação explica porque a maioria dos casos de PBE, ao redor de 70%, é causada por bactérias da flora intestinal, especialmente bacilos gram-negativos aeróbios, sendo a *Escherichia coli* o germe mais freqüente (50%). Porém, a concentração bacteriana no LA é baixa.

1.3 – Manifestações clínicas

A PBE apresenta-se de forma variável, dependente do estágio em que a infecção se encontra. Assim, pode ser oligossintomática ou assintomática em estágios iniciais, e provocar dor abdominal e febre. Outras manifestações menos freqüentes, mas mais temidas, podem estar associadas, como encefalopatia hepática, piora da função renal, hemorragia digestiva, choque séptico e hipotermia (Anadom & Arroyo, 2003).

1.4 – Diagnóstico

Considera-se que um indivíduo tenha PBE quando há contagem igual ou superior a 250 polimorfonucleares (PMN) /mm³ no LA, o que provavelmente representa a falência da primeira linha de defesa, os macrófagos peritoneais, que deveriam eliminar o microorganismo ofensor. O diagnóstico dá-se de forma

independente do resultado do exame cultural, que tem baixo rendimento e fornece resultados tardios, mesmo que as amostras sejam inoculadas em meios de hemocultura no momento da colheita. O diagnóstico é assim definido independente da cultura do LA pois a evolução clínica é semelhante em pacientes cirróticos com ascite e ≥ 250 PMN nesse líquido independente do exame cultural. Outras técnicas já foram estudadas no diagnóstico da doença, como a dosagem de citocinas no líquido de ascite, sem resultados satisfatórios, ou ainda a pesquisa do DNA bacteriano (Vieira *et al*, 2007), técnica mais complexa e que não permite diferenciar entre infecção e colonização bacteriana.

É interessante fazer-se referência a duas entidades distintas: a) ascite neutrocítica, no paciente que apresenta PMN acima de $250/\text{mm}^3$, porém com cultura negativa; e b) bacterioascite, quando o exame cultural é positivo, monomicrobiano, mas não há resposta neutrocítica, ou seja, número de PMN menor do que 250. Aos primeiros corresponde o mesmo quadro clínico e prognóstico daqueles pacientes com elevação dos PMN e cultura positiva (Runyon, 2004). Aos últimos caberia a observação e controle dos PMN no LA em paracenteses subseqüentes. Essa condição pode envolver sem tratamento mas também pode progredir para PBE, de acordo com o equilíbrio entre fatores imunes do hospedeiro x fatores de virulência bacterianos.

1.5 – Tratamento

O tratamento é via de regra empírico, posto que o exame cultural nem sempre é positivo, e realizado com cefotaxima por via endovenosa por ao menos 5 dias, em associação à infusão de albumina nas doses de 1,5 g/kg e 1,0 g/kg, respectivamente, no primeiro e terceiro dias. Ao uso de albumina atribuem-se menores disfunção hemodinâmica e perda de função renal, bem como diminuição da mortalidade intra-hospitalar e nos primeiros 90 dias subseqüentes ao episódio (Sort *et al*, 1999). Esta recomendação tem sido discutida mais recentemente, especialmente para pacientes com bilirrubina total abaixo de 4 mg/dl, tempo de protrombina acima de 60% e uréia normal. Provavelmente a albumina deva ser restrita a casos mais graves (Wong *et al*, 2005). Por outro lado, o tratamento antibiótico por via oral poderia ser utilizado em casos selecionados, naqueles pacientes sem encefalopatia grave, perda de função renal, choque ou vômitos (Navasa *et al*, 1996).

2 – JUSTIFICATIVA

A PBE é uma complicação grave de pacientes com cirrose e ascite e apresenta mortalidade elevada, podendo alcançar taxas de até 50% se não tratada rapidamente, o que salienta a importância do diagnóstico precoce. Como é habitual que seja assintomática ou oligossintomática, é justificável a recomendação de que a paracentese diagnóstica seja feita em qualquer paciente com ascite de início recente, ou quando houver sinais de descompensação da cirrose ou a presença de fatores de risco para PBE. O exame cultural do LA seria o método diagnóstico definitivo. No entanto, na prática clínica, é negativo em 50 a 60% dos pacientes. Ademais, seu resultado apresenta o inconveniente do tempo. Habitualmente, o diagnóstico de PBE é baseado na contagem de células, cujo resultado também demanda algum tempo e pode não estar disponível em algumas situações, como à noite e nos finais de semana, especialmente em hospitais não universitários. Isso justifica a busca de outras ferramentas diagnósticas, como o teste com fitas reagentes. Esta técnica é amplamente acessível, rápida, barata e tem possibilidade de orientar o diagnóstico e manejo do paciente à beira do leito em apenas dois minutos. Seu mecanismo é baseado na atividade da esterase leucocitária liberada pelos granulócitos. Essa enzima quebra uma molécula indoxil esterificada e o radical indoxil então liberado reage com sal diazônio produzindo uma coloração violeta com intensidade diretamente proporcional ao número de PMN. Sua utilização já foi demonstrada em outros líquidos biológicos, como no diagnóstico de infecção

urinária, meningite, empiema e corioamnionite. Sua potencial utilidade no diagnóstico de PBE e o fato de seu uso ainda não ser uma prática corrente em nosso meio justificam este estudo.

3 – OBJETIVOS

3.1 – Objetivo Geral

Avaliar a utilidade e estimar a relação custo-efetividade do teste rápido com fitas reagentes à beira do leito no diagnóstico da PBE em pacientes cirróticos com ascite, em comparação com o exame citológico.

3.2 – Objetivos específicos

3.2.1 – Comparar a acurácia diagnóstica de duas fitas reagentes distintas no diagnóstico de PBE e identificar os pontos de corte com melhor desempenho na curva ROC (*receiver operator characteristic*).

3.2.2 – Avaliar a sensibilidade, especificidade, valores preditivos, razões de verossimilhança e acurácia das fitas reagentes no diagnóstico de PBE quando comparadas com o exame citológico total e diferencial do líquido de ascite.

3.2.3 - Estimar a relação custo-efetividade na realização do teste rápido com fitas de reagentes e do exame citológico do líquido de ascite em pacientes

com cirrose e ascite submetidos à paracentese, através das relações custo-sensibilidade e custo-accurácia.

3.2.4 - Identificar a proporção de indivíduos com PBE que apresentam cultura do líquido de ascite positiva em nosso meio.

4 – PACIENTES E MÉTODOS

4.1 – Pacientes

4.1.1 – Critérios de Inclusão

Foram selecionados consecutivamente pacientes com cirrose diagnosticada por exame clínico, exames laboratoriais e métodos de imagem ou biópsia hepática, apresentando ascite, com indicação de paracentese em decorrência de seu estado clínico. As paracenteses foram realizadas em pacientes ambulatoriais com ascite volumosa, necessitando remoção de LA para alívio, ou em pacientes internados com ascite pelo motivo acima ou caso apresentassem sinais de descompensação da cirrose ou fatores de risco para PBE, como bilirrubina sérica elevada e proteína baixa no LA em paracentese anterior (Andreu *et al*, 1993).

4.1.2 – Critérios de Exclusão

Foram excluídos pacientes com suspeita de ascite de etiologia não cirrótica, como ascite de causa pancreática, por carcinomatose ou tuberculose peritoneal e pacientes com ascite e gradiente de albumina soro-ascite inferior a 1,1. Também foram excluídos pacientes com suspeita de infecção secundária do LA. As amostras de ascite hemática não foram avaliadas pela limitação técnica de leitura da fita reagente nessa condição.

4.2 – Paracentese

As paracenteses foram realizadas em hospital, em salas de procedimentos com condições similares de iluminação, com técnica estéril, através de punção do quadrante inferior esquerdo do abdome com acesso vascular venoso periférico 14 G e coleta de LA para análise em laboratórios de microbiologia, hematologia e bioquímica, conforme a rotina do hospital. Também foi coletada amostra para realização do teste com fitas reagentes. O LA destinado para cultura foi inoculado em frasco de hemocultura aeróbia BacT/ALERT[®] (Durham, NC, USA), à beira do leito, imediatamente após a paracentese. Ver Figura 1. Essas paracenteses foram realizadas por 5 investigadores que foram submetidos a treinamento das técnicas de coleta do líquido de ascite e realização do teste com fitas reagentes antes do início do estudo, para assegurar a padronização das mesmas.



A



B



C

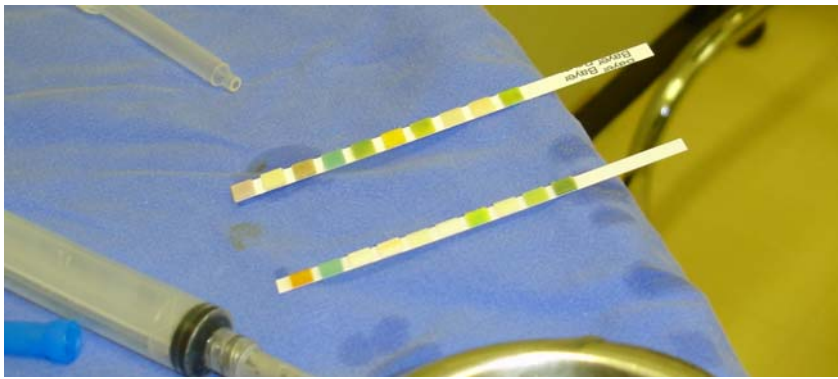
Figura 1 – Técnica de paracentese - A: Detalhe de um paciente sendo submetido ao procedimento B: Material utilizado C: A coleta de líquido de ascite.

4.3 – Teste com fitas reagentes

Para avaliação com fitas reagentes o LA foi armazenado em frascos de aço inoxidável estéril e logo em seguida procedeu-se a imersão das fitas Multistix 10 SG® (Bayer Diagnosticos, Buenos Aires, Argentina) e Choiceline 10® (Roche, Mannheim, Germany) com retirada imediata. O excesso de ascite foi removido por gravidade e em seguida as fitas foram colocadas em superfície plana para que, após 120 segundos, fosse feita a leitura pelo médico, comparando-se a área referente aos PMN na fita reagente com o cartão fixado nos frascos, a saber: Multistix 10 SG®: 0, traços, 1, 2 ou 3+; Choiceline 10®: 0, ca.15, ca.75, ca.125 ou ca.500. Ver Figura 2. Os valores de referência dos fabricantes para urinálise são os seguintes: Multistix 10 SG®: 0: 0-4 PMN/mm³, traços: 5-9 PMN/mm³; 1+: 10-29 PMN/mm³; 2+: 30-74 PMN/mm³; 3+: 75-200 PMN/mm³; e Choiceline 10®: 0: 0 leucócitos/mm³; ca.15: 15 leucócitos/mm³; ca.75: 75 leucócitos/mm³; ca.125: 125 leucócitos/mm³; ca.500: 500 leucócitos/mm³).



A



B



C

Figura 2 – Técnica das fitas reagentes A: Imersão no líquido de ascite B: Retirada do excesso de ascite C: Leitura

4.4 – Critérios diagnósticos

Quando a contagem de PMN no LA foi ≥ 250 , determinada por técnica automatizada, considerou-se como diagnóstico de PBE, independente do resultado do exame cultural. Todos os pacientes que apresentavam critérios diagnósticos para PBE pelo exame citológico diferencial foram tratados com antibióticos e infusão endovenosa de albumina, conforme rotina do hospital, sendo em 48 horas, feita paracentese de controle. No Anexo 1 encontra-se a ficha individual de coleta de dados para cada paciente incluído.

4.5 – Aspectos éticos

Os pacientes receberam informações sobre o referente estudo pelo médico que realizou o procedimento e após assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (ver Anexo 2). O estudo foi avaliado e aprovado pelo comitê de ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GPPG nº 05-293).

4.6 – Análise Estatística

O cálculo do tamanho da amostra foi feito considerando-se especificidade de 95%, margem de erro de 4%, e sendo prevista uma prevalência de 15% para amostras compatíveis com PBE, com nível de confiança de 95%, o que resultou em 135 amostras. As variáveis quantitativas contínuas foram descritas como

média e desvio-padrão. Foi calculada mediana para o número de PMN. Foram comparados os resultados obtidos com as fitas reagentes àqueles do exame citológico diferencial do LA para diagnóstico de PBE, assumindo este último como padrão. Foram calculados sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo (com intervalos de confiança de 95%), além da razão de verossimilhança positiva e negativa e a acurácia. Os dados das graduações das fitas reagentes foram analisados em curva ROC para visualizar o ponto de corte com maior acurácia. Utilizou-se o teste Z para 2 proporções para cálculo do p valor e do intervalo de confiança da diferença de proporções. Esses cálculos foram realizados com o programa PEPI 4.0 (DOS – Shell MW, 2002). Foi considerado $p < 0,05$ significativo. Foram comparados os custos do exame citológico total e diferencial com os custos das fitas reagentes para cada paciente, pela estimativa de custo-efetividade, conforme descrita por Lilly *et al*, 2006, através das fórmulas [custo do teste (US\$) /sensibilidade do teste] e [custo do teste (US\$) /acurácia do teste].

4.7 - Financiamento

O presente estudo foi financiado pelo Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, com custo total de R\$ 400,00 (quatrocentos reais), e realizado com o apoio do Ministério da Educação (CAPES – Coordenadoria de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior),

através de bolsa de Mestrado. Contou ainda com o auxílio do Programa de Pós-Graduação em Gastroenterologia da UFRGS para divulgação dos seus resultados na cidade de Washington, Estados Unidos, neste ano, durante a *Digestive Disease Week 2007 (DDW 2007)*(Anexo 3).

5 – RESULTADOS

Foram realizadas 159 paracenteses em 71 pacientes. Foi utilizada a fita Multistix 10 SG® em 155 delas, enquanto que o teste com fita Choiceline 10® foi feito em todas. Através de análise das curvas ROC, obteve-se os seguintes pontos de corte para o diagnóstico de PBE com fitas reagentes: Multistix 10 SG®: 0 e traços: negativo; 1, 2 ou 3+: positivo; Choiceline 10®: 0 e ca.15: negativo; ca.75, ca.125 ou ca.500: positivo, considerando-se os pontos com melhor desempenho analisando sensibilidade e especificidade. Em relação ao sexo, 57 pacientes (80%) eram homens. A idade média foi de 55 anos (desvio-padrão 11,4). A infecção crônica pelo vírus C foi a causa mais freqüente de cirrose na amostra estudada – 24 pacientes (34%). Dentre os indivíduos estudados, 39 (55%) foram classificados como Child-Pugh C (Tabela I).

A maioria das amostras de líquido de ascite testadas com as fitas reagentes foram de pacientes ambulatoriais (103/155 para Multistix 10 SG® e 106/159 para Choiceline 10®). PBE foi diagnosticada pelo citológico diferencial em 17 pacientes (23,9%), sendo o exame cultural positivo em 11 (64,7%). As bactérias mais frequentemente encontradas foram *Escherichia coli* (36%) e

Klebsiella pneumoniae (27%) – a Tabela II resume esses achados e os correlaciona aos sintomas apresentados pelos pacientes.

Tabela I. Características demográficas e clínicas da população estudada

Variável	Média (+/-DP) ou n (%)
Sexo masculino	57 (80%)
Idade	55 +/- 11,04
Classificação Child-Pugh	
A	5 (7%)
B	27 (38%)
C	39 (55%)
MELD	15 +/- 5,58
Etiologia da Cirrose	
Hepatite C	24 (34%)
Álcool	16 (23%)
Hepatite C + álcool	20 (28%)
Hepatite B	3 (4%)
Outras	8 (11%)

Onde: MELD = *Model for End Stage Liver Disease* (Kamath *et al*,2001); para cálculo <http://www.mayo.edu>.

Tabela II. Características do líquido de ascite nos pacientes considerados portadores de peritonite bacteriana espontânea

Nº	PMN	Multistix10SG®	Choiceline10®	Sintomas	Atb prévio	Cultural
1	306	2+	ca.75	4	-	Negativa
2	11786	3+	ca.15	1 e 2	-	Escherichia coli
3	264	Traços	ca.15	1	-	Negativa
4	327	1+	ca.15	1	-	Negativa
5	6480	1+	ca.15	1 e 3	-	S. coagulase neg
6	7885	2+	ca.500	1 e 4	+	Escherichia coli
7	535	Traços	ca.75	1 e 3	-	Negativa
8	8360	0	0	-	-	Escherichia coli
9	312	0	ca.15	-	-	Negativa
10	386	NR	ca.75	1, 2 e 4	-	S. pneumoniae
11	5130	2+	ca.500	1	-	Escherichia coli
12	2880	1+	ca.75	4	-	K. pneumoniae
13	2024	2+	ca.500	1 e 3	-	K. pneumoniae
14	1440	2+	ca.125	1	-	Enterococcus sp
15	6480	1+	ca.500	1, 3 e 4	-	K.pneumoniae
16	9558	2+	ca.500	1	-	Negative
17	4758	2+	ca.500	1	-	S.pneumoniae

Onde: *Sintomas: 1: dor abdominal 2: febre 3: perda de função renal 4: encefalopatia hepática; NR: não realizada

Em 11 dos 17 pacientes que tiveram diagnóstico de PBE foram realizadas paracenteses de controle do tratamento, e em 9 havia persistência de contagem superior a 250 PMN no LA. Assim, foram 26 as amostras com número igual ou superior a 250 PMN para comparação com as fitas. Apenas uma destas amostras não foi testada com Multistix 10 SG®.

As Tabelas III e IV descrevem os achados obtidos com o uso de Multistix 10 SG® e Choiceline 10®. Com relação a Multistix 10 SG®, 155 amostras foram analisadas, dentre elas 25 com contagem igual ou maior que 250 PMN e 130 com menos de 250 PMN. Houve 20 casos verdadeiro-positivos, 128 verdadeiro-negativos, 2 falso-positivos e 5 falso-negativos. Dentre os cinco resultados falso-negativos, quatro apresentavam contagem de PMN inferior a 1000.

Quando avaliada a fita Choiceline 10®, obtiveram-se 159 amostras, 26 delas com mais de 250 PMN e 133 com menos de 250 PMN. Foram observados 20 casos verdadeiro-positivos, 130 verdadeiro-negativos, 3 falso-positivos e 6 falso-negativos, dentre os quais em 3 a contagem de PMN foi inferior a 1000.

Tabela III. Resultados obtidos com as fitas reagentes Multistix SG 10® no diagnóstico de peritonite bacteriana espontânea quando comparada com o exame citológico

Esterase leucocitária (EL)	PMN \geq 250	PMN < 250	Total
EL +	20	2	22
EL -	5	128	133
Total	25	130	155

Tabela IV. Resultados obtidos com as fitas reagentes Choiceline 10® no diagnóstico de peritonite bacteriana espontânea quando comparada com o exame citológico

Esterase leucocitária (EL)	PMN ≥ 250	PMN < 250	Total
EL +	20	3	23
EL -	6	130	136
Total	26	133	159

Na comparação com o exame citológico, o emprego de Multistix 10 SG® resultou em sensibilidade (S) de 80% (IC_{95%} 58,7-92,4), especificidade (E) de 98,5% (IC_{95%} 94-99,7), valor preditivo positivo (VPP) de 90,9% (IC_{95%} 69,4-98,4), valor preditivo negativo (VPN) de 96,2% (IC_{95%} 91-98,6), razão de verossimilhança positiva (RVP) de 40, razão de verossimilhança negativa (RVN) de 0,2 e acurácia (Ac) de 95% (IC_{95%} 90,44-97,58). Com a fita Choiceline 10® encontrou-se S=76,9% (IC_{95%} 55,9-90,2), E=97,7% (IC_{95%} 93-99,4), VPP=87% (IC_{95%} 65,3-96,6), VPN=95,6% (IC_{95%} 90,2-98,2), RVP=25,3, RVN=0,24 e Ac=94% (IC_{95%} 89,07-96,76). Estes resultados estão descritos na Tabela V, onde também são comparados os dados obtidos em pacientes ambulatoriais e hospitalizados. Utilizou-se o teste Z para comparar duas proporções obtendo-se os seguintes resultados: Ac de Multistix 10 SG x Ac de Choiceline: p = 0,88 e IC_{95%} da diferença de proporção -5 a 7%; S, E, VPP, VPN e Ac de Multistix 10 SG em pacientes internados x ambulatoriais, respectivamente p < 0,01; p < 0,01; p < 0,01; p = 0,06 e p = 0,06; S, E, VPP, VPN e Ac de Choiceline 10 em pacientes

internados x ambulatoriais, respectivamente $p = 0,17$; $p = 0,82$; $p < 0,01$; $p = 0,01$ e $p = 0,058$. Foram construídas duas curvas ROC, uma para Multistix SG 10® e outra para Choiceline 10® (Figuras 3 e 4). Os melhores pontos de corte encontrados, considerando a melhor relação entre sensibilidade e especificidade, foram de foram 1+ e ca.75, respectivamente. As áreas sob a curva obtidas foram de 94,5% para Multistix SG10® e 95,1% para Choiceline 10® ($p = 1$, IC_{95%} da diferença de proporção -5 a 6%).

Tabela V. Avaliação do desempenho diagnóstico das fitas reagentes na amostra total, em pacientes hospitalizados e em pacientes ambulatoriais

	n	Amostra	S	E	VPP	VPN	RVP	RVN	Acurácia
Multistix 10SG® amostra total	68	155	80%	98,5%	90,9%	96,2%	40	0,2	95%*
Choiceline 10® amostra total	71	159	76,9%	97,7%	87%	95,6%	25,3	0,24	94%*
Multistix 10SG® hospitalizados	42	52	86%#	93%	90%	90%	12	0,15	90%‡
Multistix 10SG® ambulatoriais	28	103	33%#	100%	100%	98%	-	0,67	98%‡
Choiceline 10® hospitalizados	43	53	78%+	96%	94%	85%	19	0,22	88%†
Choiceline 10® ambulatoriais	28	106	66%+	98%	50%	99%	33	0,34	97%†

Onde: S= sensibilidade, E= especificidade, VPP= valor preditivo positivo, VPN= valor preditivo negativo, RVP= razão de verossimilhança positiva, RVN= razão de verossimilhança negativa

p = 0,88; # p < 0,01; + p = 0,17; ‡ p = 0,06; † p = 0,05

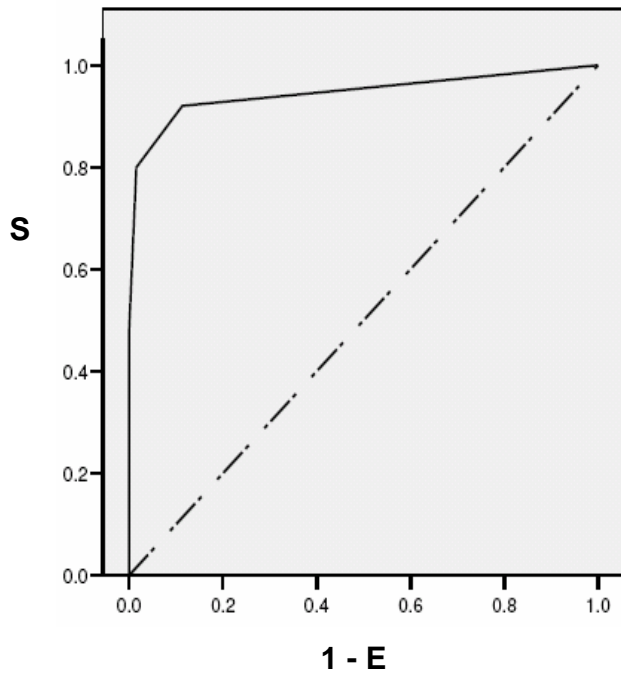


Figura 3 – Curva ROC para Multistix SG 10®

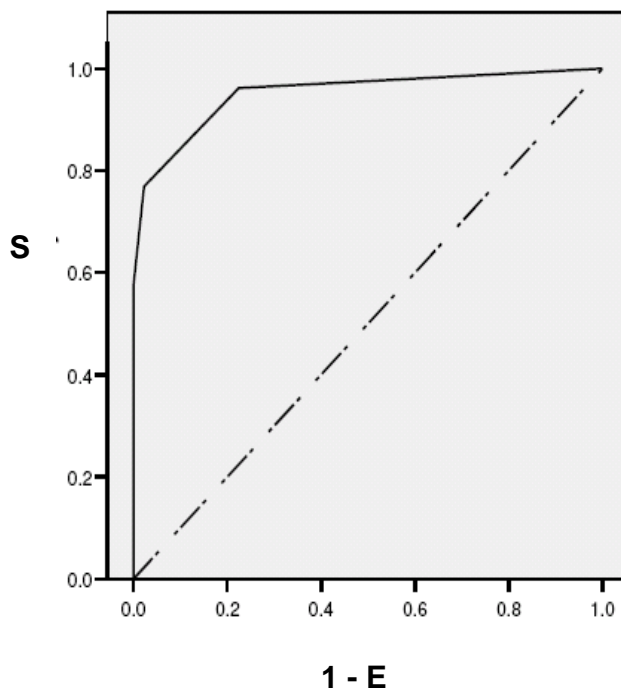


Figura 4 – Curva ROC para Choceline 10®

O custo das fitas reagentes foi o que se segue: Multistix 10 SG®, US\$ 0,55, e Choiceline 10®, US\$ 0,18 por unidade. O custo do exame citológico total e diferencial foi de US\$ 41,50, tomando por base para conversão 1 dólar americano como 2 reais, a moeda brasileira (US\$ 1,00 = R\$ 2,00). Isso equivale a uma proporção de custo 75 e 230 vezes maior do exame citológico em comparação às fitas Multistix 10 SG® e Choiceline 10®, respectivamente.

A estimativa de custo-efetividade em relação a custo e sensibilidade e custo e acurácia foi, respectivamente, para Multistix SG 10® 0,68 e 0,57 e para Choiceline 10® 0,23 e 0,19. Essa estimativa para o exame citológico foi de 41,5. Estes dados estão demonstrados na Tabela VI. Há possibilidade de variação do custo do exame citológico total e diferencial conforme disponibilidade no mercado e utilização de determinado laboratório, porém tem-se estimativa de custo mínimo próximo a US\$ 20,00. Mesmo assim, ainda apresenta uma proporção de custo 36 e 111 vezes maior em comparação às fitas reagentes. Mantém-se ainda a estimativa custo-efetividade favorável às fitas reagentes.

Tabela VI. Estimativa de custo-efetividade das fitas reagentes e do exame citológico no diagnóstico de peritonite bacteriana espontânea na amostra estudada (em US\$)

	Custo*/Sensibilidade	Custo*/Acurácia
Multistix 10SG®	0,68 [†]	0,57 [‡]
Choiceline 10®	0,23 [†]	0,19 [‡]
Exame citológico	41,5	41,5

* em US\$/unidade ^{†e‡} p < 0,001

Quando comparou-se Multistix 10 SG® com Choiceline 10®, efetuou-se também o cálculo considerando no denominador os limites inferior e superior dos intervalos de confiança da sensibilidade e acurácia dessas fitas para definir qual apresentou melhor desempenho. Utilizando esse método, os resultados foram os seguintes: Multistix 10 SG®, S 80%, IC_{95%} 58,7 - 92,4; Custo/Sensibilidade 0,68 - 0,94 e 0,59; Custo/Acurácia 0,57 - 0,61 e 0,56. Choiceline 10®, S 76,9%, IC_{95%} 55,9 - 90,2; Custo/Sensibilidade 0,42 - 0,32 e 0,2; Custo/Acurácia 0,34 - 0,2 e 0,18. Detectou-se que, utilizando a fita Choiceline 10®, consegue-se os menores valores do limite inferior do intervalo de confiança da sensibilidade e acurácia em relação àqueles do limite superior do intervalo de confiança da sensibilidade e acurácia da fita Multistix 10 SG®. Isso apresenta uma possibilidade diagnóstica para ser utilizada na prática clínica.

Os resultados foram organizados no formato de um artigo (Anexo 4), enviado para publicação. Os dados brutos de todos os pacientes incluídos estão no Anexo 5.

A tabela VII demonstra o cálculo da média e mediana do número de PMN para cada escala colorimétrica das fitas Multistix 10 SG® e Choiceline 10®.

Tabela VII. Apresentação das medianas e médias do número de PMN obtidos no exame citológico do líquido de ascite conforme a graduação das fitas reagentes empregadas

	0	Traços	1+	2+	3+
Multistix SG10®					
Mediana	6	9	2880	3391	11786
Média	88	13	3810	4002	11786
Choiceline 10®	0	ca.15	ca.75	ca.125	ca.500
Mediana	7	28	5346	1440	4944
Média	94	626	568	1890	5001

6 – DISCUSSÃO

6.1 - Dos resultados e sua interpretação

A mensuração da esterase leucocitária (EL) avalia a atividade dos PMN em líquidos corporais e sua utilidade já foi comprovada no diagnóstico precoce de infecção urinária, meningite, empiema e corioamnionite, entre outras (Paredes *et al*, 1988; Levy *et al*, 1989; Hiscoke *et al*, 1990; Moosa *et al*, 1995; Azoulay *et al*, 2000; Ravaud *et al*, 2002). Em relação ao líquido de ascite, foi empregada inicialmente na detecção de peritonite em pacientes com diálise peritoneal (Farmer *et al*, 2000; Sam *et al*, 2002). É recente, no entanto, seu uso na avaliação de PBE, situação em que sua grande conveniência seria fornecer resultados em apenas dois minutos, o que poderia influenciar positivamente no tratamento e prognóstico da doença. Seu mecanismo é baseado na atividade da EL que, ao ser liberada pelos granulócitos, reage com um componente químico esterificado na fita reagente tornando-a de coloração violeta, cuja intensidade correlaciona-se com o número de PMN.

A Tabela VIII resume os principais estudos publicados acerca do tema e os compara ao estudo em discussão.

Tabela VIII. Análise comparativa dos estudos publicados com fitas reagentes no diagnóstico rápido de peritonite bacteriana espontânea

Autor/ ano	Amostras/ pacientes	Fita reagente empregada	PBE n (%)	Ponto de corte*	S	E	VPP	VPN
Vanbiervliet, 2002	79/72	Multistix 8SG®	9(12)	2	100	100	100	100
Castelotte, 2003	228/128	Aution®	52(40)	3	89	99	98	97
Butani, 2004	136/75	Multistix10SG®	12(16)	2	83	99	91	98
Thévenot, 2004	100/100	Multistix 8SG®	9(9)	3	89	100	99	99
		Combur®	9(9)	2	89	100	99	99
Sapey, 2005	151/53 [#]	Multistix10SG®	7(13)	1	100	100	100	100
		Nephur-test®	7(13)	1	86	100	100	99
	33/23 ⁺	Multistix10SG®	6(26)	1	83	96	83	96
		Nephur-test®	6(26)	1	100	92,5	75	100
Sapey, 2005	245/51	Multistix10SG®	17(33)	1	64,7	99,6	91,7	97,4
		Nephur-test®	17(33)	1	88,2	99,6	93,8	99,1
Kim, 2005	75/53	UriSCAN	18(33)	2	100	100	100	100
				3	67	100	100	89
		Multistix10SG		3	50	100	100	87
Campillo, 2006	443/116	Multistix8SG®	46(39)	1	69,6	94,9	64	96
		Combur2LN®	46(39)	1	80,4	90,4	52	97,3
Rerknimitr, 2006	200/127	Combur®	42(35)	1	88	81	55	96
				2	63	96	82	91
Braga, 2006	100/42	Combur®	9(21)	2	100	98,9	92,3	100
Nousbaum, 2007	2123/1041	Multistix8SG®	117(11)	3	45,3	99,2	77,9	96,9
Presente estudo, 2007	155/68	Multistix10SG®	16(23)	2	80	98,5	90,9	96,2
	159/71	Choiceline10®	17(23)	2	76,9	97,7	87	95,6

Onde: # Centro 1 + Centro 2 * Ponto de corte = Multistix 8 SG® e 10 SG®: grau 0: 0, grau 1: traços, grau 2: 1+, grau 3: 2+, grau 4: 3+; Aution®: graduação 0, 1, 2, 3 e 4; Combur®: graduação 0, 1, 2 e 3; Nephur-test®: grau 0: negativo, grau 1: 1+, grau 2: 2+, grau 3: 3+; Choiceline 10®: grau 0:0, grau 1: ca.15, grau 2: ca.75, grau 3: ca.125, grau 4: ca.500; uriSCAN®: graduação 0,1,2 e 3.

Considerando a fita Multistix 10 SG® para uso no diagnóstico rápido de PBE, tem-se pelo menos 4 estudos acerca do tema. Butani *et al* em 2004 obtiveram resultados semelhantes aos do estudo atual, utilizando o mesmo ponto de corte. No referido estudo também realizou-se curva ROC para avaliar o local de melhor desempenho do teste, tendo área sob a curva de 91,5%. Os estudos de Sapey *et al*, 2005, apresentam ponto de corte diferente e desempenho variável.

No presente estudo duas fitas reagentes foram utilizadas, Multistix 10 SG®, que já fora testada com bom desempenho, e Choiceline 10®, fita esta que é a disponível na rotina do hospital para urinálise, a qual ainda não havia sido testada para análise do LA. O uso de duas fitas visa compará-las quanto a acurácia e relação custo-efetividade para, no futuro, escolher aquela com melhor desempenho. Foram avaliados 71 pacientes cirróticos com ascite, 97% deles com Child-Pugh B e C, portanto graves, conforme o esperado, dos quais 17 (23,9%) apresentaram diagnóstico de PBE. Desses, três estavam em acompanhamento ambulatorial e foram submetidos à paracentese de alívio, todos com sintomas, momento em que se fez o diagnóstico de PBE, correspondendo a uma prevalência de 4%. Esses dados são concordantes, em linhas gerais, com os descritos por Nousbaum *et al*, 2007, que demonstraram baixa prevalência de PBE em pacientes ambulatoriais (1,33%), prevalência esta que foi ainda menor quando o paciente não apresentava sintomas (0,57%). Entretanto, quando avaliados pacientes internados, encontrou-se PBE em 19,7% deles, dentro do esperado, conforme observações prévias, com prevalências

que variam da recentemente descrita por Nosbaum *et al*, 2007, de 9%, até 33% encontrada no estudo de Kim *et al*, 2005. Castellote *et al*, 2002, detectaram uma prevalência maior, de 40%, mas analisaram apenas pacientes internados e incluíram, de forma criticável, pacientes com ascite devido a outras etiologias, como tuberculose e carcinomatose peritoneal. É interessante notar que, no estudo em tela, o exame cultural, mesmo realizado em um cenário de pesquisa e com coleta do material à beira do leito, teve rendimento limitado, o que vai ao encontro do que tem sido relatado. Estima-se que esse rendimento seja ainda menor na prática clínica (Runyon, 2003). A acurácia diagnóstica das fitas reagentes no presente estudo foi elevada: 95% com a fita Multistix 10 SG® e 94% com a fita Choiceline 10®. Esses resultados são similares aos descritos por Vanbiervliet *et al*, 2002, usando fita Multistix 8 SG® na avaliação de 79 amostras de líquido de ascite de 72 pacientes internados, dentre os quais 9 apresentaram PBE, com sensibilidade e especificidade de 100%, e também por Castellote *et al*, 2003, que demonstraram a utilidade da fita Aution® no diagnóstico de PBE em 228 paracenteses de 128 pacientes hospitalizados, com sensibilidade de 89% e especificidade de 99%. Runyon, 2003, em editorial sobre o referido artigo, salientou a importância do novo método, ressaltando a necessidade do diagnóstico precoce de PBE, que é incomum com o emprego do método tradicional – o exame citológico. Outros estudos também demonstraram bons resultados na utilização das fitas reagentes, dentre os quais Thévenot *et al*, 2004, avaliando a acurácia de Multistix 8 SG® e Combur®, em 100 paracenteses de 31 pacientes internados e ambulatoriais. Os autores

encontraram sensibilidade de 86% e especificidade de 100%, sem que houvesse diferença entre as fitas. Em 2004, Butani *et al* também detectaram sensibilidade maior que 80%, especificidade próxima de 100% e valores preditivos maiores que 90% na avaliação de Multistix 10 SG® em 136 amostras de LA de 75 pacientes. Sapey *et al*, 2005, compararam as fitas Multistix 10 SG® e Nephur®, em dois centros, analisando 184 amostras de 76 pacientes. Os autores descreveram resultados concordantes com os estudos prévios. Analisando uma amostra maior, ainda em 2005, Sapey *et al* avaliando as mesmas fitas Multistix 10 SG® e Nephur®, mostraram sensibilidade menor da primeira (64,7% x 88,2%), porém com especificidade e valores preditivos semelhantes aos encontrados anteriormente. A fita Multistix 10 SG® também foi analisada por Kim *et al*, 2005, comparando-a com Uriscan®, porém com utilização de um ponto de corte maior para o diagnóstico de PBE, o que diminuiu a sensibilidade do teste e manteve valores elevados de especificidade e valor preditivo negativo. Considerando o ponto de corte 2+ para diagnóstico de PBE, encontraram sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo, respectivamente, de 50%, 100%, 100% e 87% para Multistix 10 SG® e 67%, 100%, 100% e 89% para Uriscan®. A modificação do ponto de corte de 1+ para 2+ produziu alterações semelhantes às descritas por Kim *et al*, 2005, no trabalho de Rerknimitr *et al*, 2006, em que foi utilizada Combur®, com sensibilidade e especificidade de 88% e 81% contra 63% e 96%, respectivamente. No Brasil, Braga *et al*, 2006, analisaram 100 amostras de LA de 42 pacientes internados e ambulatoriais acompanhados no Hospital Universitário Walter Cantídio, da

Universidade Federal do Ceará, também utilizando a fita Combur®, com um desempenho excelente (sensibilidade 100% e especificidade 98,9%).

Quando analisados os 17 pacientes com PBE na amostra estudada, chama atenção o fato de que 15 deles apresentavam sintomas tais como febre, dor abdominal, encefalopatia hepática ou piora da função renal. Mesmo que possam ser discutidos os critérios de intensidade da dor e de piora da função renal e o viés do ambiente de pesquisa, este dado deve ser considerado. Não existe uma correlação direta entre celularidade e sintomas (Moore *et al*, 2003; Ginès *et al*, 2004; Runyon, 2004; Moore *et al*, 2006), e é fato que os casos de PBE no estudo em discussão não ocorreram apenas em indivíduos com alta celularidade no LA, uma vez que dos 17 pacientes, em 6 a contagem de PMN foi inferior a 1000. Campillo *et al*, 2006, chamavam atenção para a maior possibilidade de falso-negativos do teste com fitas reagentes para diagnóstico de PBE quando a contagem de PMN era menor que 1000. Os autores compararam as fitas Multistix 8 SG® e Combur 2 LN®, tendo sido os resultados discretamente melhores para Combur 2 LN. No subgrupo com contagem de PMN acima de 1000, respectivamente, a sensibilidade de Multistix 8 SG® e Combur 2 LN® foi de 100 e 90%, e os valores preditivos negativos foram 100 e 99,4%, com ponto de corte 1+ na escala colorimétrica. Esses dados são concordantes com os do estudo em questão, em que também foi observada maior possibilidade de resultado falso-negativo quando o número de PMN foi inferior a 1000. No presente estudo, dos seis pacientes com PBE e contagem inferior a 1000 PMN, em apenas três as fitas foram diagnósticas. Esta

dificuldade foi ainda maior entre pacientes ambulatoriais, pois 2 dos 3 tiveram resultados falso-negativos.

Cabe ainda ressaltar que a média de PMN nos pacientes com PBE incluídos no presente estudo foi de 3742, com variação de 264 a 11786. Esta grande dispersão é observada em outros estudos (Vanbervliet *et al*, 2002; Castelotte *et al*, 2003; Thévenot *et al*, 2004; Sapey *et al*, 2005; Kim *et al*, 2005; Campillo *et al*, 2006; Rerknimitr *et al*, 2006; Nousbaum *et al*, 2007). Apesar da grande dispersão, observa-se também nesses estudos um aumento progressivo da média de PMN associado à escala colorimétrica da fita reagente. Para valores maiores de PMN, acima do ponto de corte na fita para o diagnóstico de PBE, isso não traz problema e até fortalece o diagnóstico com uma coloração mais intensa na escala colorimétrica. Todavia, para valores menores de PMN, e especialmente se for escolhido um ponto de corte elevado na fita reagente, pode gerar falso-negativos.

Analisando os diferentes estudos, nota-se que os autores não utilizaram sempre as mesmas fitas reagentes e, ainda mais, que as próprias fitas não são padronizadas e apresentam diferentes pontos de corte na escala colorimétrica. Não se duvida, entretanto, da utilidade deste teste no diagnóstico, por exemplo, na infecção urinária, e as fitas reagentes que são empregadas são as mesmas citadas acima, com suas diferentes escalas. Parece que o mais importante nesta questão é que aprendamos a interpretá-las.

Há duas indagações recorrentes que se refletem na utilidade do teste e que merecem ser discutidas: a primeira, o fato do paciente ter sido

diagnosticado como portador de PBE em ambulatório ou durante internação, e a segunda, os pontos de corte das fitas reagentes.

No presente estudo, com ambas as fitas a sensibilidade ficou em torno de 80% na população geral. No entanto, ela foi inferior nos pacientes ambulatoriais, especialmente com a fita Multistix 10 SG® (86 vs 33%, hospitalizados vs ambulatoriais, $p < 0,01$), mas também com Choiceline 10® (78 vs 66%, respectivamente, $p = 0,17$). Isto pode explicar em parte a diferença para outros estudos, como o de Vanbiervliet *et al*, 2002, que descreveu sensibilidade de 100%, mas em uma amostra de 79 paracenteses obtidas apenas de pacientes hospitalizados. De qualquer modo, a acurácia de ambas as fitas tanto em pacientes ambulatoriais quanto hospitalizados foi bastante elevada (respectivamente, Multistix 10 SG® 98% e 90%, $p = 0,06$; Choiceline 10® 97% e 88%, $p = 0,058$) e, de forma intrigante, foi levemente superior nos pacientes ambulatoriais, sem diferença estatisticamente significativa, apesar da sensibilidade menor (ambulatoriais x hospitalizados, respectivamente: Multistix 10 SG 33% x 86%, $p < 0,001$; Choiceline 10 66% x 78%, $p = 0,17$). Isso talvez seja justificado pelo maior número de verdadeiro-negativos nessa situação. Entretanto, o número de eventos é pequeno e a amostra não foi calculada para surpreender esta diferença, ficando assim difícil estabelecer uma exata relação entre o desempenho do teste e o caráter ambulatorial ou de internação dos pacientes. Quando comparou-se as fitas Multistix 10 SG® e Choiceline 10®, observou-se desempenho semelhante, com acurácia elevada (respectivamente 95% e 94%, $p = 0,88$), área sob a curva ROC semelhante (respectivamente

95,1% e 94,5%, $p = 1$), porém observou-se maior diferença de sensibilidade quando utiliza-se Multistix 10 SG® em pacientes hospitalizados versus ambulatoriais.

Muitas das diferenças nos estudos, em verdade, podem ter explicação em outro ponto polêmico: quando diagnosticar PBE pelas fitas reagentes. O lógico seria utilizar o ponto correspondente a 250 PMN na escala colorimétrica da fita. Entretanto, a fita Aution® é a única com indicação pelo fabricante de um ponto de corte exatamente coincidente com 250 PMN. Ou a utilizamos, ou descobrimos qual o melhor ponto de corte com outras fitas.

O maior estudo realizado sobre o tema foi recentemente publicado na revista *Hepatology* (Nousbaum *et al*, 2007). Os autores avaliaram 2123 paracenteses de 1041 pacientes a fim de estimar a prevalência de PBE e a acurácia diagnóstica da fita Multistix 8 SG®. A prevalência de PBE foi de 5,5% na população geral e de 0,57% em pacientes ambulatoriais assintomáticos. A sensibilidade encontrada foi baixa, em média de 45,3% (IC 36,3-54,3), o que foi menor que a nossa. Provavelmente, aí está a importância do ponto de corte para diagnóstico. Os autores utilizaram como ponto de corte para o diagnóstico de PBE o grau 3 (2+) na fita Multistix 8 SG®. Esse ponto é provavelmente muito alto e motivou uma carta do nosso grupo aos editores de *Hepatology*, aceita para publicação (Anexo 6), criticando o estudo de Nousbaum *et al* e sugerindo que os autores deveriam ter analisado diferentes pontos de corte para determinar aquele que seria o mais adequado para o diagnóstico. E isso é o que foi feito no estudo em questão. Ao invés de serem utilizados os valores de

referência do fabricante, determinaram-se outros pontos de corte, definidos pelas curvas ROC. Os pontos escolhidos foram os de melhor relação entre sensibilidade e especificidade que são 1+ para Multistix 10 SG® e ca.75 para Choiceline 10®. Calculadas as medianas do número de PMN para cada divisão das fitas reagentes, foram encontrados valores maiores que os previstos pelos fabricantes. Isto sugere que o uso dos valores dados como de referência pode subestimar a contagem de PMN no líquido de ascite e fazer com que sejam perdidos alguns casos de PBE, o que provavelmente tenha ocorrido no estudo de Nosbaum *et al.* Parece claro que o ponto de corte utilizado para o diagnóstico de PBE deve ser mais baixo, pois isso melhora a acurácia do teste e, principalmente, sua sensibilidade, importante em uma situação clínica grave como a PBE.

O presente estudo demonstrou boa concordância nos resultados de EL (fitas reagentes) e citológico diferencial no líquido de ascite, principalmente considerando especificidade e valor preditivo negativo, resultados semelhantes aos do estudo de Noursbaum *et al*, porém, em discordância aos seus achados, com elevada acurácia. Não houve diferença significativa entre os resultados obtidos com as fitas Multistix 10 SG® e Choiceline 10® empregadas neste estudo.

Quando avaliados, por custo-efetividade, os custos necessários para o diagnóstico com fitas reagentes ou com o exame citológico, estes foram muito menores quando aplicadas as fitas. A avaliação de custo-efetividade é metodologicamente mais difícil quando usada para um teste diagnóstico, por

isso sua descrição é menos freqüente. A definição do denominador considera o desfecho ou estado de saúde final do indivíduo em análise para a estimativa de custo-efetividade, que com freqüência faz-se através de modelo de decisão analítica, utilizando análise de Markov. Os resultados expressos no denominador dessa análise são apresentados de diversas maneiras, porém habitualmente descrevendo-se anos de vida ajustados para qualidade (*QALY- Quality-adjusted life-year*). A avaliação econômica de um teste diagnóstico, obviamente, é prejudicada pela incerteza entre a relação do resultado do teste e o estado final do paciente. Isso limita a montagem de uma árvore de decisão (Mushim *et al*, 2001). Por isso, foi escolhido o cálculo descrito na seção 4.6 para a análise de custo-efetividade nesse estudo. De fato, as fitas, conforme esperado, demonstraram ter uma relação custo-efetividade bastante favorável. Ambas tiveram uma estimativa de custo-efetividade menor que o exame citológico.

6.2 - Das limitações do estudo

Alguns pontos merecem ser discutidos para que seja dado o real valor aos achados. Este estudo foi realizado em pacientes vinculados a um único hospital, de caráter universitário, que atende a uma população gravemente doente, portanto com maior risco de apresentar complicações secundárias à cirrose. Isto limita sua validade em hospitais ou ambulatórios com perfil muito distinto.

O cálculo amostral foi feito através dos dados existentes na literatura até o momento do planejamento do trabalho e considerou-se a especificidade do teste

para definir a amostra necessária. Foi tomada uma estimativa da prevalência semelhante à descrita por outros autores. No entanto, se o número de amostras analisadas superou o previsto, parece que tenha sido ainda pequeno, especialmente quando se considera a sensibilidade do teste. Uma amostra maior poderia ter auxiliado neste quesito.

Outro ponto refere-se ao fato de que as paracenteses e os testes com fitas reagentes foram realizados por cinco investigadores, e não por apenas um, embora os cinco tenham realizado treinamento para tornar a técnica uniforme. Se este fato pode ter influenciado de alguma forma o resultado do estudo, fica a dúvida, uma vez que não foi avaliada a correlação entre os cinco examinadores.

6.3 - Da aplicabilidade prática

As fitas reagentes, neste estudo, demonstraram boa acurácia e excelente relação custo-efetividade. Ainda mais, seu uso é rápido, prático e está amplamente acessível. Parecem especialmente indicadas quando o citológico não é disponível de forma rápida, como em muitos hospitais, ou ainda, em países em desenvolvimento em que os testes diagnósticos são por vezes limitados. A aplicação do teste com fitas é bastante conveniente em salas de emergência, em que seu uso pode ser diagnóstico ou de triagem, neste caso mesmo em locais que dispõem do exame citológico, visando antecipar o diagnóstico da infecção espontânea do líquido de ascite e permitir o seu tratamento precoce. Considerando essas utilidades, propõe-se um algoritmo

para atendimento de pacientes com cirrose e ascite no nosso meio, como demonstrado no anexo 7.

7 – CONCLUSÕES

Levando em consideração os propósitos e os métodos utilizados, e analisando os resultados obtidos, podem ser emitidas as seguintes conclusões:

7.1. As fitas reagentes são úteis no diagnóstico da PBE, apresentando alta acurácia e relação custo-efetividade favorável, em comparação com o exame citológico.

7.2. As fitas Multistix 10 SG® e Choiceline 10® apresentam acurácia similar, e seus pontos de corte de melhor desempenho no diagnóstico de PBE são 1+, para a primeira, e CA 75, para a última.

7.3. As fitas Multistix 10 SG® e Choiceline 10®, respectivamente, em comparação ao exame citológico do líquido de ascite, apresentaram sensibilidade de 80 e 76,9%, especificidade de 98,5 e 97,7%, valor preditivo positivo de 90,9 e 87%, valor preditivo negativo de 96,2 e 95,6%, razão de verossimilhança positiva de 46 e 25,3, razão de verossimilhança negativa de 0,2 e 0,24 e acurácia de 95 e 94%, no diagnóstico de PBE.

7.4. A relação custo-efetividade das fitas reagentes no diagnóstico de PBE em comparação ao exame citológico diferencial foi significativamente superior.

7.5. O rendimento do exame cultural no diagnóstico de PBE, mesmo em um ambiente de pesquisa, é limitado.

8– REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 – ANADON MN, ARROYO V. Ascites and Spontaneous Bacterial Peritonitis – In: Schiff ER, Sorrell MF, Maddrey WC, eds, Schiff's Diseases of the liver, 9th edition, vol1, Philadelphia, Lippincott, pp 559-594.

2 – AZOLULAY E, FARTOUKH M, GALLIOT R, BAUD F, SIMMONEAU G, LE GALL JR, et al. Rapid diagnosis of infectious pleural effusions by use of reagent strips. *Clin Infect Dis* 2000;31:914-919.

3 - BAUER TM, SCHWACHA H, STEINBRUCKNER B, et al. Small intestinal bacterial overgrowth in human cirrhosis is associated with systemic endotoxemia. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2364-2370.

4 – BRAGA LLBC, SOUZA MHL P, BARBOSA AMC, FURTADO FM, CAMPELO PAM, ARAUJO FILHO AH. Diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients in northeastern Brazil by use of rapid urine-screening test. *Sao Paulo Med J* 2006;124(3):141-4.

5 - BUTANI RC, SHAFFER RT, SZYJKOWSKI RD, WEEKS BE, SPEIGHTS L, KADAKIA S. Rapid diagnosis of infected ascetic fluids using leukocyte esterase dipstick testing. *Am J Gastroenterol* 2004;532-37.

6 – CAMPILLO B, RICHARDETT JP, DUPEYRON C. Diagnostic value of two reagent strips (Multistix® 8 SG and Combur® 2 LN) in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis and symptomatic bacterascites. *Gastroenterol Clin Biol* 2006;30:446-452.

- 7 - CASTELLOTE J, LÓPEZ C, GORNALS J, TREMOSA G, FARINA ER, BALIELLAS C, DOMINGO A, XIOL X. Rapid diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis by use of reagent strips. *Hepatology* 2003;37:893-896.
- 8 – CICERA I, BAUER TM, NAVASA M, VILA J, GRANDE L, TAURA P, FUSTER J, GARCIA-VALDECASAS JC, LACY A, SUAREZ MJ, RIMOLA A, RODES J. Bacterial translocation of enteric organisms in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 2001;34:32-37.
- 9 - CONN HO. Spontaneous bacterial peritonitis and bacteremia in Laennec's cirrhosis caused by enteric organisms. A relatively common but rarely recognized syndrome. *Ann Intern Med* 1964; 60:568-580.
- 10 – DAS A. A Cost Analysis of Long Term Antibiotic Prophylaxis for Spontaneous Bacterial Peritonitis in Cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 98; 93: 1895-1900.
- 11 - EVANS LT, KIM WR, POTERUCHA JJ, KAMATH PS. Spontaneous bacterial peritonitis in asymptomatic outpatients with cirrhotic ascites. *Hepatology* 2003;37:897-901.
- 12 - FARMER CK, HOBBS H, MANN S, NEWALL RG, NDAWULLA E, MIHR G, et al. Leukocyte esterase reagent strips for early detection of peritonitis in patients on peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2000;20:237-239.
- 13 – GARCIA-TSAO G. Current Management of the Complications of Cirrhosis and Portal Hypertension: Variceal Hemorrhage, Ascites and Spontaneous Bacterial Peritonitis. *Gastroenterology* 2001;120:726–748.

- 14 – GINÈS P, CÁRDENAS A, ARROYO V, RODÉS J. Management of Cirrhosis and Ascites. *N Engl J Med* 2004;350:1646-54.
- 15 - HISCOKE C, YOXALL H, GREIG D, LIGHFOOT GHF. Validation of a method for the rapid diagnosis of urinary tract infection suitable for use in general practice. *Br J Gen Pract* 1990;40:403-405.
- 16 - KIM DY, KIM JH, CHON CY, HAN K-H, AHN SH, KIM JK, PAIK YH, LEE KS, MOON YM. Usefulness of urine strip test in the rapid diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis. *Liver Int* 2005; 25: 1197–1201.
- 17 - LEVY M, TOURNOT F, MULLER C, CARBON C, YENI P. Evaluation of screening tests for urinary infection in hospital patients. *Lancet* 1989;12:384-385.
- 18 - LILLY KK, KOSHNICK RL, GRILL JP, KHALIL ZM, NELSON DB, WARSHAW EM. Cost-effectiveness of diagnostic tests for toenail onychomycosis: A repeated-measure, single-blinded, cross-sectional evaluation of 7 diagnostic tests. *J Am Acad Dermatol* 2006;55:620-6.
- 19 - LLOVET JP, BARTOLI R, MARCH F, PLANAS R, VINADO B, CABRE E, ARNAL J, COLL P, AUSINA V, GASSULL MA. Translocated intestinal bacteria cause spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic rats: molecular epidemiologic evidence. *J Hepatol* 1998;28:307-313.
- 20 - PAREDES AL, MORTOM CV, GARCIA VR, MARINO AP, HERNANDEZ PM. [The leukocyte zone on Multistix-10-SG reactive strips for cerebrospinal, seminal and peritoneal fluids]. *Med Clin (Barc)* 1988;90:362-365.
- 21 - MOOSA AA, QUORTUM HA, IBRAHIM MD. Rapid diagnosis of bacterial meningitis with reagent strips. *Lancet* 1995;345:1290-1291.

- 22 - MOORE K, WONG F, GINÈS P, BERNARDI M, OCHS A, SALERNO F, ANGELI P, PORAYKO M, MOREAU R, GARCIA-TSAO G, JIMENEZ W, PLANAS R, ARROYO V. The Management of Ascites in Cirrhosis: Report on the Consensus Conference of the International Ascites Club. *Hepatology* 2003; 38: 258-66.
- 23 - MOORE KP, AITHAL GP. Guidelines on the management of ascites in cirrhosis. *Gut* 2006;55(Suppl VI):vi1–vi12.
- 24 – MUSHLIN AI, RUCHLIN HS, CALLAHAN MA. Costeffectiveness of diagnostic tests. *Lancet* 2001; 358: 1353–55.
- 25 - NAVASA M, FOLLO A, LLOVET JM, CLEMENTE G, VARGAS V, RIMOLA A, MARCO F. Randomized, comparative study of oral ofloxacin versus intravenous cefotaxime in spontaneous bacterial peritonitis. *Gastroenterology* 1996;111:1011–1017.
- 26 – NOUSBAUM JB, CADRANEL JF, et al. Diagnostic Accuracy of the Multistix 8 SG Reagent Strip in Diagnosis of Spontaneous Bacterial Peritonitis. *Hepatology* 2007; 45:1275-1281.
- 27 - RAVAUD P, HUDRY C, GIREAUDEAU B, WEILL B, DOUGADOS M. Rapid diagnosis of inflammatory synovial fluid with reagent strips. *Rheumatology (Oxford)* 2002;41:815-818.
- 28 – RERKNIMITR R, RUNGSANGMANOON W, KONGKAM P, KULLAVANIJAYA P. Efficacy of leukocyte esterase dipstick test as a rapid test in diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis. *World J Gastroenterol* 2006 November 28; 12(44): 7183-7187.

- 29 – RUNYON BA. Management of Adult Patients With Ascites Due to Cirrhosis. AASLD Practice Guidelines. *Hepatology* 2004; 39: 1-16.
- 30 - RUNYON BA. Early events in spontaneous bacterial peritonitis. *Gut* 2004;63:782-784.
- 31 - RUNYON BA. Strips and Tubes: Improving the Diagnosis of Spontaneous Bacterial Peritonitis. *Hepatology* 2003; 37: 745-47.
- 32 - SAM R, SAHANI M, ULOZAS E, LEEHEY DJ, ING TS, GANDHI VC. Utility of a peritoneal dialysis leukocyte test strip in the diagnosis of peritonitis. *Artif Organs* 2002;26:546-548.
- 33 – VIEIRA SMG, SILVEIRA TR, MATTE U, KIELING CO, FERREIRA CT, TANIGUCHI A, OLIVEIRA FS, BARTH AL. Amplification of Bacterial DNA Does Not Distinguish Patients with Ascitic Fluid Infection From Those Colonized by Bacteria. *JPGN* 44:603–607, 2007.
- 34 – SAPEY T, MENA E, FORT E, LAURIN C, KABISSA D, RUNYON BA, MENDLER MH. Rapid diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis with leukocyte esterase reagent strips in a European and in an American center. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20, 187–192.
- 35 - SAPEY T, KABISSA D, FORT E, LAURIN C, MENDLER MH. Instant diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis using leukocyte esterase reagent strips: Nephur-Tests vs. MultistixSG. *Liver Int* 2005: 25: 343–348.
- 36 – SHERLOCK S, DOOLEY J. Ascitis – In Sherlock S, Dooley J, eds, *Disease of the Liver & Biliary System*, 11th edition, 2002, Copyright, pp 111-128.

- 37 - SOLÁ R, SORIANO G. Why do bacteria reach ascitic fluid? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002;14: 351-354.
- 38 - SORT P, NAVASA M, ARROYO V, ALDEGUER X, PLANAS R, RUIZ-DELABOL L, CASTELLS L, VARGAS V, SORIANO G, GUEVARA M, GINÉS P, RODES J. Effect of intravenous albumin on renal impairment and mortality in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis. *N Engl J Med* 1999; 341:403-9.
- 39 - THÉVENOT T, CADRANEL JF, NGUYEN-KHAC E, TILMANT L, TIRY C, WELTY S, MERZOUG N. Diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients by use of two reagent strips. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004, 16:579–583.
- 40 – VANBIERVILLET G, ROKOTOARISOA C, FILIPPI J, GUÉRIN O, CALLE G, HASTIER P, MARINÉ-BERJOAN E, SCHNEIDER S, PICHE T, BROUSSARD JF, DOR JF, BENZAKEN S, HÉBUTERNE X, RAMPAL P, TRAN A. Diagnostic accuracy of rapid urine-screening test (Multistix8SG) in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002;14:1257-60.
- 41 – WONG F, BERNARDI M, BALK R, CHRISTMAN B, MOREAU R, GARCIA-TSAO G, PATCH D, SORIANO G, HOEFS J, NAVASA M, on behalf of the International Ascites Club. Sepsis in cirrhosis: report on the 7th meeting of the International Ascites Club. *Gut* 2005;54;718-725.

ANEXOS

Anexo 1 – Fluxograma de coleta de dados

FORMULÁRIO INDIVIDUAL DE COLETA DOS DADOS PROJETO GPPG nº 05-293

Nome: _____ Prontuário: _____

Data Nasc: / / Data coleta: / / Sexo: _____

Lista de Tx: () 1- Sim 2- Não Telefone: _____

Causa da Cirrose:

() HCV () HBV () Álcool () HAI () Outras:

PBE no passado: () 1- Sim () 2- Não

Uso ATB profilático: () 1- Sim () 2- Não

() 1- Norfloxacina () 2- SMZ-TMP

() Outro:

Tipo de paracentese: () alívio () diagnóstica

Sintomas:

() assintomático () dor abdominal () febre () aumento de volume

() perda de função renal () Encefalopatia hepática () outros:

Aspecto do líquido de ascite:

() hemorrágico () purulento () quilosa () citrino () outros:

Fitas reagentes:

MTX: () 0 () traços () 1+ () 2+ () 3+

ChoiceLine: () 0 () CA15 () CA75 () CA125 () CA 500

Número solicitação de exames:

Contagem global de células: _____ Eritrócitos: _____

Citológico diferencial:

Neutrófilos: _____ Linfócitos: _____ Outros: _____

Albumina: sérica: _____ ascite: _____ gradiente: _____

Proteínas totais (ascite): _____

Bacterioscópico:

Bacteriológico:

Anexo 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

A peritonite bacteriana espontânea (PBE) é uma complicação freqüente e grave da cirrose. Seu diagnóstico baseia-se na detecção de aumento de leucócitos (glóbulos brancos) no líquido de ascite. A detecção dos leucócitos pode ser mais rápida com a utilização de fitas reagentes que fornecem o diagnóstico em 2 minutos. Esse método ainda está em fase de pesquisa, necessitando comprovação para ser empregado em nosso hospital. Para realização do teste em nosso meio é necessária avaliação do líquido de ascite de voluntários portadores de cirrose e ascite. A avaliação desse método com fitas reagentes é importante para um diagnóstico mais precoce dessa infecção e assim instituição do tratamento rapidamente.

Os participantes deste estudo serão todos os pacientes com cirrose e ascite submetidos a paracentese no HCPA durante o período do estudo. A participação dos pacientes será de permitir a análise de seu líquido de ascite com fitas reagentes.

A assinatura nesse consentimento informado, dará autorização aos pesquisadores do estudo de utilizarem os dados obtidos somente para fins científicos, incluindo a divulgação dos mesmos, sempre preservando a identidade dos pacientes.

Eu,
assinou e identifico este documento, declaro ter recebido explicação clara e completa sobre a pesquisa acima mencionada. Declaro ser de livre vontade minha participação nesta pesquisa.

Assinatura:

Hospital de Clínicas de Porto Alegre - Rua: Ramiro Barcelos, 2350

Fone para contato: 2101-8307

Porto Alegre,.....de.....de 200.....

Anexo 3 – Resumo encaminhado para a *Digestive Disease Week*

T1041**Accuracy of 2 Types of Leukocyte Esterase Dipstick Test in the Rapid Diagnosis of Spontaneous Bacterial Peritonitis**

Alexandre Araujo, Antônio B. Lopes, Gabriela F. Escobar, Matheus T. Michalczuk, Jonathas Stiff, Enzo Nardelli, Mario R. Álvares-da-Silva

Introduction: Spontaneous bacterial peritonitis (SBP) is a highly frequent and severe complication of cirrhosis, leading 10 - 30 % of the patients to renal failure and/or death. Early diagnosis may improve these outcomes. The use of dipsticks for detection of leukocyte esterase as a marker of SBP has been studied with good results. Objective: The aim of this study is to evaluate the sensitivity (Se), specificity (Sp), positive (PPV) and negative predictive values (NPV) of 2 different types of dipstick (Multistix® - Bayer and Choiceline® - Roche) in the rapid diagnosis of SBP. Methods: Ascitic fluid of outpatients and inpatients with cirrhosis were analyzed with 2 types of dipsticks and compared with cytology for the diagnosis of SBP. Se, Sp, PPV and NPV were determined. Results: 100 samples of ascitic fluid were analyzed. SBP was diagnosed by cytology in 14 of those samples (14%). Se, Sp, PPV and NPV of the 2 types of dipsticks are summarized in the following table: Conclusion: both the types of dipsticks had high PPV and NPV in the diagnosis of SBP.

	Se	Sp	PPV	NPV
Multistix®	64%	97%	81%	94%
Choiceline®	57%	97%	80%	93%

Se= sensibility; Sp= specificity; PPV= positive predictive value; NPV= negative predictive value

AASLD Abstracts

Anexo 4 – Artigo

EVALUATING THE ROLE OF REAGENT STRIPS ON SPONTANEOUS BACTERIAL PERITONITIS IN CIRRHOTIC PATIENTS: A HIGHLY ACCURATE AND COST-EFFECTIVE TOOL

ABSTRACT

Background: Diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis (SBP) is currently based on ascitic cell counting, but there is a need for a more convenient diagnostic tool. The objectives of this study are to evaluate accuracy of reagent strips in diagnosing SBP and compare their costs with cell count and differential exam.

Patients and Methods: 71 cirrhotic in and outpatients were consecutively included (159 samples). SBP was defined as neutrophil cells ≥ 250 . Data for graduations of reagent strips were analyzed in ROC curves, and Sensitivity (S), Specificity (Sp), Positive and Negative Predictive Values (PPV and NPV), Accuracy (Ac), and cost-effectiveness (US\$) in comparison to cell count exam were calculated.

Results: SBP was diagnosed in 17 patients (23,9%), 11 of them cultural-positives (64,7%). The best cut-off points found in ROC curves were 1+ for Multistix 10 SG® and ca.75 for Choiceline 10® (Multistix 10 SG® S=80%, Sp=98.5%, PPV=90.9%, NPV=96.2%, Ac=95%; Choiceline 10® S=76.9%, Sp=97.7%, PPV=87%, NPV=95.6%, Ac=94%). In relation to cost-effectiveness evaluation, by cost/ accuracy, cell count was 41.5, Multistix 10 SG® 0.57, and Choiceline 10®, 0.19 ($p<0,001$).

Conclusion: reagent strips are useful in the SBP diagnosis, with high accuracy and better cost-effectiveness than cell count and differential exam. Strips are especially indicated when cell count and differential are not quickly available and as screening test in emergency rooms to anticipate the SBP diagnosis and allow its early treatment.

INTRODUCTION

Spontaneous bacterial peritonitis (SBP) is a severe complication of patients with cirrhosis and ascites. Its prevalence in non-selected cirrhotic patients admitted to the hospital ranges from 10 to 30%.^{2,3,4,6} SBP-associated mortality rate remains high, reaching 50% if not treated soon and aggressively. Thus, early diagnosis is essential.^{1,10,16,17,18} Culture of ascitic fluid would be the ultimate diagnostic method, but it is negative in more than 60% of patients, and it is also time-lengthy.⁵ Usually, diagnosis of SBP is based on the cell counting: when greater than 250 polymorphonuclear (PMN) cells, it is highly probable.^{1,2,19} Like culture, cell count and differential exam last hours to be ready and it is unavailable in certain situations, as at night or during weekends, especially in non-university hospitals. It has led to the quest of another more convenient diagnostic tool. In this sense, reagent strips have satisfyingly been used. Its mechanism is based in the leukocyte esterase activity triggered by the granulocytes which reacts with a chemical component esterified in the reagent strip turning it purple-colored, whose intensity correlates with the PMN number. In the last few years, some studies have evaluated it in SBP diagnosis. However, these studies have shown different trademarks and colorimetric scales of reagent strips, limiting universal use of results.^{3-9,11-14,21} The objectives of this study are to evaluate and compare the accuracy of two available reagent strips (Multistix

10 SG® and Choiceline 10®) in diagnosing SBP and compare their costs with the cell count and differential exam.

PATIENTS AND METHODS

Between June 2006 and April 2007, patients with histologic proven or clinical, laboratory and image features suggesting cirrhosis, presenting with ascites, and needing paracentesis, were evaluated in a single university hospital and consecutively included. Cases in which serum-ascites albumin gradient was $< 1,1$ or when there was suspicion of tuberculosis or peritoneal carcinomatosis were excluded. The following data was collected of all the selected patients: age, sex, etiology of the cirrhosis, procedure done during the patient's admission or in outpatient clinic, previous SBP history, use of prophylactic antibiotics, clinical symptoms and signs, and indication and kind of paracentesis. The most recent blood tests available were recorded within a period of up to 30 days for Child-Pugh classification and MELD score. Symptoms were defined by the following criteria: recently started abdominal pain, fever ($\geq 37,8^{\circ}$ C), loss of renal function (serum creatinine $> 1,5$ g/dl) and beginning or worsening of hepatic encephalopathy.

Paracentesis was performed in a similar setting, with sterile technique. Ascitic fluid was sent for total and differential cell count exam, biochemical (glucose, albumin and total protein), gram stain and culture, according to the hospital's routine. The culture sample was bedside collected immediately after the paracentesis with inoculation of 10 to 20 ml of ascitic fluid in aerobic blood culture bottle (BacT/ALERT® Durham, NC, USA). Additionally, ascites was collected in a sterile bottle, where the reagent strips were immersed (Multistix 10 SG®, Bayer Diagnoses, Buenos Aires, Argentina and Choiceline 10®, Roche Diagnoses, Mannheim, Germany) and immediately withdrew. After 120 seconds, was made the reading with 5 graduations at colorimetric scale in both urine reagent strips (Multistix 10 SG®: 0, traces, 1, 2 or 3+; Choiceline 10®: 0, ca.15, ca.75, ca.125 or ca.500). Manufacturer reference values (for urinalysis) are the following: Multistix 10 SG®: 0: 0-4 PMN/mm³, traces: 5-9 PMN/mm³, 1+: 10-29 PMN/mm³, 2+: 30-74 PMN/mm³, 3+: 75-200 PMN/mm³; and Choiceline 10®: 0: 0 leukocytes/mm³, ca.15: 15 leukocytes/mm³, ca.75: 75 leukocytes/mm³, ca.125: 125 leukocytes/mm³, ca.500: 500 leukocytes/mm³.

SBP was considered when PMN were ≥ 250 , in the absence of intra-abdominal source infection, independently of the culture. For the SBP diagnosis through the reagent strips, it was taken into consideration: Multistix 10 SG®: 0 and traces: negative; 1, 2 or 3+: positive; and Choiceline 10®: 0 and ca.15: negative; ca.75, 125 or 500: positive. All the patients who presented SBP diagnosis criteria by cell count and differential exam were treated with antibiotics and endovenous albumin infusion, according to the hospital's routine, and control paracentesis was made in 48 hours.

The cost of the reagent strips was as follows: Multistix 10 SG®, US\$ 0,55, and Choiceline 10®, US\$ 0,18 per unit. The cost of the total and differential cell count exam was US\$ 41,50, taking as conversion par 1 American dollar for 2 Brazilian Real, the local currency (US\$ 1,00 = R\$ 2,00).

Statistical Aspects

Considering specificity of 95%, margin of error of 4% and predicting a prevalence of 15% for compatible SBP samples, with confidence level of 95%, the sample calculation was made, resulting in 135 samples. The continuous quantitative variables were described as mean \pm standard deviation. The median for the PMN number was also calculated. The results obtained with the reagent strips were compared to those of the cell count and differential exam of the ascitic fluid for the SBP diagnosis, taking the latter as the standard. Sensitivity, specificity, positive and negative predictive values (with confidence intervals of 95%), were calculated besides the positive and negative likelihood ratios and accuracy. The data for the graduations of the reagent strips were analyzed in ROC curve (receiver operating characteristic) to visualize the cut-off point more accurately. The costs of cell count and differential exam were compared with the costs of the reagent strips for each patient, by the cost-effectiveness evaluation, through the formula [test cost (US\$)/test sensitivity] and [test cost (US\$)/test accuracy]. In order to compare different proportions was also applied z-test.

Ethical Aspects

All the patients had signed informed consent term, being thoroughly clarified before joining the study. The protocol was approved by the hospital's committee of ethics.

RESULTS

A total of 159 paracenteses were made in 71 attended patients, out of which 155 realized the test with the reagent strip Multistix 10 SG®, while the entire study group realized the test with the reagent strip Choiceline 10®. As for the gender, 57 patients (80%) were male. The average age was 55 years old. Hepatitis C chronic infection associated with excessive alcohol consumption was the most frequent cause of cirrhosis in the studied sample – 34 patients (28%). Among the studied individuals, 39 (55%) were classified as Child-Pugh C (Table 1).

Table 1: Characteristics of the 71 cirrhotic patients which were subject to 159 paracenteses.

Characteristics	Mean +/-DP or No. (%)
Males	57 (80%)
Age	55 +/- 11,04
Child-Pugh Classification	
A	5 (7%)
B	27 (38%)
C	39 (55%)
MELD	15 +/- 5,58
Etiology of Cirrhosis	
Hepatitis C	24 (34%)
Alcohol	16 (23%)
Hepatitis C + alcohol	20 (28%)
Hepatitis B	3 (4%)
Others	8 (11%)

Most of the ascitic fluid samples tested with the reagent strips were outpatients' (103/155 for Multistix 10 SG® and 106/159 for Choiceline 10®). SBP was diagnosed by cell count and differential in 17 patients (23,9%), the culture returning positive in 11 of them (64,7%). The most frequent bacteria found were *Escherichia coli* (36%) and *Klebsiella pneumoniae* (27%) – the Table 2 summarizes these findings, and correlates them to the symptoms presented by the patients. 11 patients diagnosed with SBP were subject to treatment control paracenteses, 9 of them had a persistence > 250 PMN in the ascitic fluid. Thus, there were 26 samples > 250 PMN for comparison with the strips. Only one of these samples was not tested with Multistix 10 SG®.

Table 2: SBP patient profile

Patient	PMN	Multistix 10 SG®	Choiceline 10®	Symptoms*	Prophylactic Antibiotics	Culture
1	306	2+	ca.75	4	-	Negative
2	11786	3+	ca.15	1 e 2	-	<i>Escherichia coli</i>
3	264	Traces	ca.15	1	-	Negative
4	327	1+	ca.15	1	-	Negative
5	6480	1+	ca.15	1 e 3	-	<i>S. coagulase neg</i>
6	7885	2+	ca.500	1 e 4	+	<i>Escherichia coli</i>
7	535	Traces	ca.75	1 e 3	-	Negative
8	8360	0	0	-	-	<i>Escherichia coli</i>
9	312	0	ca.15	-	-	Negative
10	386	ND	ca.75	1, 2 e 4	-	<i>S. pneumoniae</i>
11	5130	2+	ca.500	1	-	<i>Escherichia coli</i>
12	2880	1+	ca.75	4	-	<i>K. pneumoniae</i>
13	2024	2+	ca.500	1 e 3	-	<i>K. pneumoniae</i>
14	1440	2+	ca.125	1	-	<i>Enterococcus sp</i>
15	6480	1+	ca.500	1, 3 e 4	-	<i>K.pneumoniae</i>
16	9558	2+	ca.500	1	-	Negative
17	4758	2+	ca.500	1	-	<i>S.pneumoniae</i>

*Symptoms: 1: abdominal pain 2: fever 3: loss of renal function 4: hepatic encephalopathy
 NT: not done

The Table 3 describes the findings obtained with the use of Multistix 10 SG® and Choiceline 10®. In relation to Multistix 10 SG®, 155 samples were analyzed, out of which 25 with > 250 PMN and 130 with < 250 PMN. There were 20 true-positive cases, 128 true-negative, 2 false-positive and 5 false-negative. Among the five false-negative results, four presented a PMN count lower than 1000.

When the strip Choiceline 10® was evaluated, we obtained 159 samples. There were 26 with > 250 PMN and 133 with < 250 PMN. 20 true-positive cases were observed, along with 130 true-negatives, 3 false-positives and 6 false-negatives, in which 3 of them the PMN count was lower to 1000.

Table 3: Results of reagent strips Multistix 10 SG® and Choiceline 10® when compared to cell count and differential.

	Multistix 10 SG®			Choiceline 10®		
	PMN > 250	PMN < 250	Total	PMN > 250	PMN < 250	Total
LE +	20	2	22	20	3	23
LE -	5	128	133	6	130	136
Total	25	130	155	26	133	159

LE: leukocyte esterase

In comparison with the cell count and differential exam, the use of Multistix 10 SG® resulted in sensitivity (S) of 80% (IC 58,7-92,4), specificity (Sp) of 98,5% (IC 94-99,7), positive predictive value (PPV) of 90,9% (IC 69,4-98,4), negative predictive value (NPV) of 96,2% (IC 91-98,6), positive likelihood ratio (PLR) of 40, negative likelihood ratio (NLR) of 0,2 and accuracy (Ac) of 95%. With Choiceline 10® we found S=76,9% (IC 55,9-90,2), Sp=97,7% (IC 93-99,4), PPV=87% (IC 65,3-96,6), NPV=95,6% (IC 90,2-98,2), PLR=25,3, NLR=0,24 and Ac=94%. These results are described in Table 4, where the collected date in outpatients and inpatients are also compared.

Table 4: Diagnostic performance of the reagent strips in the total sample, inpatients and outpatients.

	No. pts	Sample	S	SP	PPV	NPV	PLR	NLR	Accuracy
Multistix 10SG	68	155	80%	98,5%	90,9%	96,2%	40	0,2	95% *
Choiceline 10	71	159	76,9%	97,7%	87%	95,6%	25,3	0,24	94% *
Mtx inpt	42	52	86%#	93%	90%	90%	12	0,15	90%‡
Mtx outpt	28	103	33%#	100%	100%	98%	-	0,67	98%‡
Cho inpt	43	53	78%†	96%	94%	85%	19	0,22	88%+
Cho outpt	28	106	66%†	98%	50%	99%	33	0,34	97%+

As in: S= sensitivity, SP= specificity, PPV= positive predictive value, NPV= negative predictive value, PLR= positive likelihood ratio, NLR= negative likelihood ratio, Mtx inpt: Multistix 10 SG® in inpatients, Mtx outpt: Multistix 10 SG® in outpatients, Cho inpt: Choiceline 10® in inpatients, Cho outpt: Choiceline 10® in outpatients. * p=0.88; † p=0.17; ‡ p=0.06; + p=0.05; # p<0.001.

Table 5: PMN number median and mean according to the reagent strip graduation

	0	Traces	1+	2+	3+
Multistix 10 SG®					
Median	6	9	2880	3391	11786
Mean	88	13	3810	4002	11786
Choiceline 10®	0	ca.15	ca.75	ca.125	ca.500
Median	7	28	5346	1440	4944
Mean	94	626	568	1890	5001

The cost-effectiveness evaluation in relation to the cost and sensitivity and cost and accuracy was, respectively, for Multistix 10 SG®, 0,68 and 0,57, and for Choiceline 10®, 0,23 and 019. The cell count and differential exam evaluation was 41,5.

Table 6: Cost-effectiveness Evaluation

	Cost*/Sensitivity	Cost*/Accuracy
Multistix 10 SG®	0,68	0,57
Choiceline 10®	0,23	0,19
Cell count and differential	41,5	41,5

* US\$/unit

Two ROC curves were made, one for Multistix 10 SG® and another for Choiceline 10® (Figures 1 and 2). The best cut points found, considering the best relation between sensitivity and specificity, were 1+ and ca.75, respectively. The areas obtained under the curve were 94,5% for Multistix 10 SG® and 95,1% for Choiceline 10®.

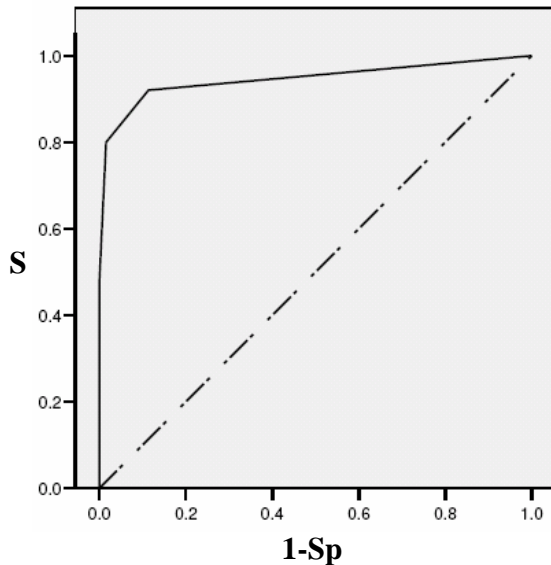


Figure1: ROC curve for Multistix 10 SG®

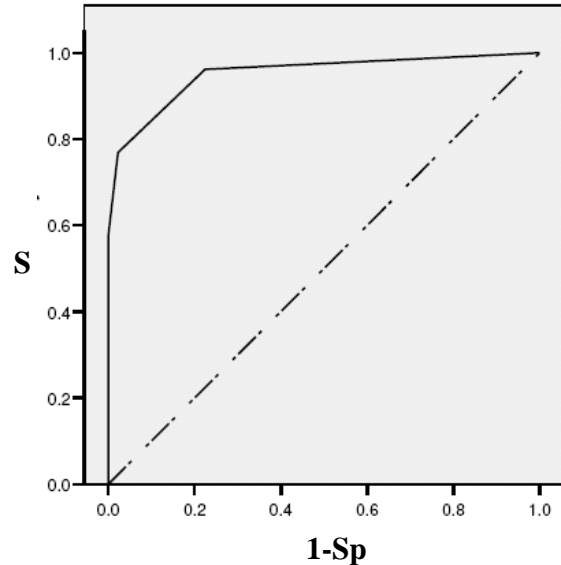


Figure 2: ROC curve for Choiceline10®

DISCUSSION

Leukocyte esterase evaluates the PMN activity in body fluids and its value has been verified in early diagnosis of urinary infection, meningitis, empyema and chorioamnionitis, among others.²¹⁻²⁹ Its use in the evaluation of SBP is fairly recent. It is a low-cost, simple, widely accessible, bedside administrable technique which provides results in two-minute time, positively influencing the treatment and the prognostic of the disease.

In the present study 71 cirrhotic patients were evaluated with ascites, 97% of them with Child-Pugh B and C, therefore severe, as expected, out of which 17 (23,9%) presented an SBP diagnosis. Once SBP is important just for cirrhotic ascites, and we specifically aimed to achieve a quick tool for SBP diagnosis, patients with suspect of tuberculosis or neoplastic ascites were excluded. It is interesting to notice that the culture exam, even when conducted in a research scene and with bedside material collection, had limited results, corroborating with what has already been reported.⁵ The diagnostic accuracy of the reagent strips in the present study was high: 95% with the Multistix 10 SG® and 94% with the Choiceline 10®. These results are similar to the ones described by Vanbiervliet et al,³ in 2002, using the strip Multistix 8 SG®, and also by Castellote et al,⁴ in 2003, which demonstrated the usefulness of the strip Aution®. Runyon,⁵ in an editorial about the referred article, highlighted the importance of the new method. Other studies also

showed good results in the using of the reagent strips.^{6,7,8,9,11,13} In Brazil, Braga et al,¹⁴ in 2006, analyzed 100 ascitic fluid samples using the strip Combur®, having an excellent performance (sensitivity 100%, specificity 98,9%).

When analyzed the 17 SBP patients in the studied sample, the fact that 15 of them presented symptoms such as fever, abdominal pain, encephalopathy or loss of renal function called our attention. Even though the criteria of pain intensity and renal function impairment might be discussed including the research environ bias, this data must be considered. There's no straight correlation between cell count and symptoms,^{2,15,17,18} and the SBP cases in the study did not occur only in individuals with high cell count. As a matter of fact, out of the 17 patients, 6 had a PMN count < 1000, when was already described a lower reagent strip sensitivity. The PMN mean in the SBP patients was 3742, with variation from 264 to 11786. This large dispersion was also observed in other studies.

This question refers to two recurrent investigations which reflect on the usefulness of the test, the first one, the fact that SBP was diagnosed while inpatient or outpatient, and the second, the reagent strips cut points.

In the present study, with both strips the sensitivity was around 80% in the general population. However, it was inferior in the outpatients, especially with the strip Multistix 10 SG® (86 vs 33%, inpatients vs outpatients), but also with Choiceline 10® (78 vs 66%, respectively), consonant with results from Nousbaum et al.²¹ This can partly explain the difference for other studies, as for Vanbiervliet et al,³ of 2002, who described sensitivity of 100%, but in a sample of 79 paracenteses made only to inpatients. Anyway, the accuracy of both strips both in inpatients as in outpatients was quite high and, intriguingly, it was slightly superior in the outpatients, in spite of the smaller sensitivity. It might be justified by the higher number of true negatives in this situation.

Many of the differences in the studies may have their explanation in another controversial issue: when to diagnose SBP using reagent strips. The most logical would be using the point corresponding to 250 PMN in the strip's colorimetric scale. Nonetheless, the strip Aution is the only one indicated by the manufacturer for a cut point exactly coinciding with 250 PMN. However, strip colorimetric scale for urine does not correlate to cell count at ascitic fluid. Either we use it, or we find out which is the best cut point with other strips. The largest study made on this topic was recently published in *Hepatology*.²¹ The authors evaluated 2123 paracenteses of 1041 patients in order to estimate the prevalence of SBP and the diagnostic accuracy of the strip Multistix 8 SG®. The prevalence of SBP was 5,5% in the general population and 0,57% in asymptomatic outpatients. The sensitivity found was low, around 45,3% (IC 36,3-54,3), which was lower than ours. Probably, here is the importance of the cut point for diagnosis. Nousbaum et al, in the mentioned study, used the degree 3 (2+) in the strip Multistix 8 SG® as the cut-off point for the diagnosis of SBP. This point was probably very high and it made us to send a letter to the editor of *Hepatology*, accepted for publication, criticizing that study and suggesting that the authors should have analyzed different cut points to determine the most appropriate one for the diagnosis. This is what has been done in this study. Instead of using the manufacturer reference values, other cut points were henceforth determined, defined by ROC curves. The chosen points were the ones with the best relation between S and Sp: 1+ for Multistix 10 SG® and ca.75 for Choiceline 10®. Once calculated the PMN median number for each reagent strip

colorimetric scale, we found larger values than those assumed by the manufactures, suggesting the use of the reference values of these strips could underestimate the PMN value in the ascitic fluid and even miss some SBP cases. It seems clear that the cut point used for the SBP diagnosis must be lower, because it improves the test accuracy and, especially, its sensitivity, which is important in a severe clinic condition as of SBP.

The present study showed good concordance in the results of leukocyte esterase (reagent strips) and cell count and differential in the ascitic fluid, especially considering specificity and negative predictive value. There was no significant difference between the results obtained with the Multistix 10 SG® and Choiceline 10® strips used in this study.

When cost-effectiveness was evaluated, strips have a quite favorable cost-effectiveness relation. The formula used, described by Lilly et al,³⁰ was chosen because the economical evaluation of a diagnosis test is harmed by the uncertainty between the relation of the diagnosis result and the final state of the patient. It narrows the mounting of a decision tree.^{20,31}

The authors conclude that the reagent strips are useful in the SBP diagnosis, with high accuracy and convenience, and lower cost in comparison with cell count and differential. Moreover, they agree with Noursbaum et al²¹ when they say that the strips are especially indicated when cell count and differential are not quickly available, or still, in developing countries with limited diagnostic tests or sometimes unavailable cell count and differential (it may seem unbelievable, but it is true). They still point out that this is a quite convenient procedure in emergency rooms, where its use can be justified as a screening test, even when cell count is available, aiming to anticipate the SBP diagnosis and allow its early treatment. Nevertheless, attention must be paid to the cut-off points for diagnosis. When Multistix 10 SG® or Choiceline 10® strips are used, the authors suggest that the cut-off points 1+ or ca.75, respectively, be considered.

REFERENCES

- 1 – Anadon MN, Arroyo V. Ascites and Spontaneous Bacterial Peritonitis. In: Schiff ER, Sorrell M, Maddrey WC, eds, Schiff's Diseases of the liver, 9th ed, Lippincott, Philadelphia, 2003, pp.559-594.
- 2 - Moore K, Wong F, Gines P, Bernardi M, Ochs A, Salerno F, Angeli P, Porayko M, Moreau R, Garcia-Tsao G, Jimenez W, Planas R and Arroyo V. The Management of Ascites in Cirrhosis: Report on the Consensus Conference of the International Ascites Club. *Hepatology* 2003; 38: 258-66.
- 3 - Vanbiervliet G, Rokotoarisoa C, Filippi J, Guérin O, Calle G, Hastier P, Mariné-Barjoan E, Schneider S, Piche T, Broussard JF, Dor JF, Benzaken S, Hébuterne X, Rampal P, Tran A. Diagnostic accuracy of rapid urine-screening test (multistix8SG) in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002;14:1257-60.
- 4 - Castellote J, López C, Gornals J, Tremosa G, Farina ER, Baliellas C, Domingo A, Xiol X. Rapid diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis by use of reagent strips. *Hepatology* 2003;37:893-896.

- 5 - Runyon BA. Strips and Tubes: Improving the Diagnosis of Spontaneous Bacterial Peritonitis. *Hepatology* 2003; 37: 745-47.
- 6 - Butani RC, Shaffer RT, Szyjkowski RD, Weeks BE, Speights L, Kadakia S. Rapid diagnosis of infected ascitic fluids using leukocyte esterase dipstick testing. *Am J Gastroenterol* 2004;532-37.
- 7 - Thévenot T, Cadranel JF, Nguyen-Khac E, Tilmant L, Tiry C, Welty S, Merzoug N. Diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients by use of two reagent strips. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004, 16:579–583.
- 8 - Sapey T, Mena E, Fort E, Laurin C, Kabissa D, Runyon BA, Mendler MH. Rapid diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis with leukocyte esterase reagent strips in a European and in an American center. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20, 187–192.
- 9 - Sapey T, Kabissa D, Fort E, Laurin C, Mendler MH. Instant diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis using leukocyte esterase reagent strips: Nephur-Tests vs. MultistixSG. *Liver Int* 2005: 25: 343–348.
- 10 - Sort P, Navasa M, Arroyo V, Aldeguer X, Planas R, Ruiz-Del-Abol L, Castells L, Vargas V, Soriano G, Guevara M, Ginés P, Rodes J. Effect of intravenous albumin on renal impairment and mortality in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis. *N Engl J Med* 1999; 341:403-9.
- 11 – Rerknimitr R, Rungsangmanoon W, Kongkam P, Kullavanijaya P. Efficacy of leukocyte esterase dipstick test as a rapid test in diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12(44): 7183-7187.
- 12 – Campillo B, Richardett JP, Dupeyron C. Diagnostic value of two reagent strips (Multistix® 8 SG and Combur® 2 LN) in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis and symptomatic bacterascites. *Gastroenterol Clin Biol* 2006;30:446-452.
- 13 - Kim DY, Kim JH, Chon CY, Han K-H, Ahn SH, Kim JK, Paik YH, Lee KS, Moon YM. Usefulness of urine strip test in the rapid diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis. *Liver Int* 2005: 25: 1197–1201.
- 14 – Braga LLBC, Souza MHL, Barbosa AMC, Furtado FM, Campelo PAM, Araújo Filho AH. Diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients in northeastern Brazil by use of rapid urine-screening test. *Sao Paulo Med J*. 2006;124(3):141-4.
- 15 - Moore KP, Aithal GP. Guidelines on the management of ascites in cirrhosis. *Gut* 2006;55(Suppl VI):vi1–vi12.
- 16 – Garcia-Tsao G. Current Management of the Complications of Cirrhosis and Portal Hypertension: Variceal Hemorrhage, Ascites and Spontaneous Bacterial Peritonitis. *Gastroenterology* 2001;120:726–748.
- 17 – Ginès P, Cárdenas A, Arroyo V, Rodés J. Management of Cirrhosis and Ascites. *N Engl J Med* 2004;350:1646-54.
- 18 – Runyon BA. Management of Adult Patients With Ascites Due to Cirrhosis. *AASLD Practice Guidelines*. *Hepatology* 2004; 39: 1-16.
- 19 – Wong F, Bernardi M, Balk R, Christman B, Moreau R, Garcia-Tsao G, Patch D, Soriano G, Hoefs J, Navasa M, on behalf of the International Ascites Club. Sepsis in cirrhosis: report on the 7th meeting of the International Ascites Club. *Gut* 2005; 54;718-725.
- 20 – Das A. A Cost Analysis of Long Term Antibiotic Prophylaxis for Spontaneous Bacterial Peritonitis in Cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 98; 93: 1895-1900.

- 21 - Nousbaum JB, Cadranel JF, et al. Diagnostic Accuracy of the Multistix 8 SG Reagent Strip in Diagnosis of Spontaneous Bacterial Peritonitis. *Hepatology* 2007; 45:1275-1281.
- 22 - Levy M, Tournot F, Muller C, Carbon C, Yeni P. Evaluation of screening tests for urinary infection in hospital patients. *Lancet* 1989;12:384-385.
- 23 - Hiscoke C, Yoxall H, Greig D, Lightfoot NF. Validation of a method for the rapid diagnosis of urinary tract infection suitable for use in general practice. *Br J Gen Pract* 1990;40:403-405.
- 24 - Moosa AA, Quortum HA, Ibrahim MD. Rapid diagnosis of bacterial meningitis with reagent strips. *Lancet* 1995;345:1290-1291.
- 25 - Azoulay E, Fartoukh M, Galliot R, Baud F, Simonneau G, Le Gall JR, et al. Rapid diagnosis of infectious pleural effusions by use of reagent strips. *Clin Infect Dis* 2000;31:914-919.
- 26 - Ravaud P, Hudry C, Giraudeau B, Weill B, Dougados M. Rapid diagnosis of inflammatory synovial fluid with reagent strips. *Rheumatology (Oxford)* 2002;41:815-818.
- 27 - Lopez Paredes A, Valera Morton C, Rodenas Garcia V, Pedromingo Marino A, Martinez Hernandez P. [The leukocyte zone on Multistix-10-SG reactive strips for cerebrospinal, seminal and peritoneal fluids]. *Med Clin (Barc)* 1988;90:362-365.
- 28 - Farmer CK, Hobbs H, Mann S, Newall RG, Ndawula E, Mihr G, et al. Leukocyte esterase reagent strips for early detection of peritonitis in patients on peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2000;20:237-239.
- 29 - Sam R, Sahani M, Ulozas E, Leehey DJ, Ing TS, Gandhi VC. Utility of a peritoneal dialysis leukocyte test strip in the diagnosis of peritonitis. *Artif Organs* 2002;26:546-548.
- 30 - Lilly KK, Koshnick RL, Grill JP, Khalil ZM, Nelson DB, and Warshaw EM. Cost-effectiveness of diagnostic tests for toenail onychomycosis: A repeated-measure, single-blinded, cross-sectional evaluation of 7 diagnostic tests. *J Am Acad Dermatol*. 2006;55:620-6.
- 31 - Mushlin AI, Ruchlin HS, Callahan MA. Costeffectiveness of diagnostic tests. *Lancet* 2001; 358: 1353-55.

Anexo 5 – Banco de Dados

AM	PBE	ATB	PAR	SINT	LIQ	MULT	CHOI	CITO	ERIT	NEUT	PMN	N250	BACS	BACT
1	2	2	2	2,4	1	0	0	97	224	10%	9,70	2,00	2	2
2	2	2	2	4	4	0	0	150	2560	8%	12,00	2,00	2	2
3	1	1	2	4	1	0	0	176	500	12%	21,12	2,00	2	2
4	2	2	2	4	1	0	0	86	4300	25%	21,50	2,00	2	2
5	2	2	2	4	1	0	0	31	88	8%	2,48	2,00	2	2
6	2	2	1	4,6	2	2	75	600	580	51%	306,00	1,00	2	2
7	1	1	2	4	1	0,5	0	49	93	22%	10,78	2,00	2	2
8	1	1	2	4	1	0	0	53	51	3%	1,59	2,00	2	2
9	2	2	2	4	1	0	0	63	61	10%	6,30	2,00	2	2
10	1	1	1	2,3,4	2	3	15	16.600	30.000	71%	11786,00	1,00	2	1
11	1	1	1	4,6	1	0	0	400	20.000	6%	24,00	2,00	2	2
12	2	2	1	4,5,6	3	0,5	15	438	20000	20%	87,60	2,00	2	2
13	1	1	2	4	1	0	0	51	448	23%	11,73	2,00	2	2
14	2	2	2	4	1	0,5	15	341	15.000	8%	27,28	2,00	2	2
15	2	2	1	4,6	1	0	0	90	125	0%	0,00	2,00	2	2
16	2	2	2	3,4	1	0	0	53	198	12%	6,36	2,00	2	1
17	2	2	1	2,4	1	1	15	420	427	78%	327,60	1,00	2	2
18	1	2	1	1	1	0	0	85	1590	5%	4,25	2,00	2	2
19	2	2	1	2,3,4,6	2	99999	75	560	3415	69%	386,40	1,00	2	1
20	1	2	2	4	4	0	0	148	3900	7%	10,36	2,00	2	2
21	2	1	1	2,4	1	0	0	42	260	70%	29,40	2,00	2	1
22	2	2	2	4	1	0	0	83	165	8%	6,64	2,00	2	2
23	2	2	1,2	2,4	1	0	15	400	80	20%	80,00	2,00	2	2
24	2	2	2	4,5	1	0,5	15	213	690	14%	29,82	2,00	2	2
25	2	2	2	2,4,6	1	0	0	120	256	12%	14,40	2,00	2	2
26	2	2	2	6	1	0	0	300	220	10%	30,00	2,00	2	2
27	2	2	2	2,4	1	0	0	192	853	11%	21,12	2,00	2	2
28	2	2	2	4	1	0	0	218	220	2%	4,36	2,00	2	2
29	2	2	2	4	1	0	0	170	341	0%	0,00	2,00	2	1
30	2	2	2	2,4	1	0	0	104	853	1%	1,04	2,00	2	2
31	2	2	2	2,4	1	0	0	39	256	2%	0,78	2,00	2	2
32	2	2	2	2,4	1	0	15	144	565	0%	0,00	2,00	2	2
33	2	2	2	4	1	0	0	127	533	6%	7,62	2,00	2	2
34	2	2	2	1	1	0	0	101	120	8%	8,08	2,00	2	2
35	2	2	1	1	1	0	15	600	260	52%	312,00	1,00	2	2
36	1	1	2	4	1	0	0	1600	300	2%	32,00	2,00	2	2
37	1	1	2	4	1	0	0	7	341	2%	0,14	2,00	2	2
38	1	1	2	4	1	0	75	27	187	5%	1,35	2,00	2	2
39	1	1	2	4,5	3	0	15	32	4700	2%	0,64	2,00	2	2
40	1	1	2	1	1	0	0	36	152	16%	5,76	2,00	2	1
41	1	1	2	4	1	0	0	31	215	5%	1,55	2,00	2	2
42	2	2	2	4	1	0	15	200	426	27%	54,00	2,00	2	2
43	2	2	1,2	2,3	1	0	0	256	1280	6%	15,36	2,00	2	2
44	2	2	2	2,3,4	3	0	0	128	2560	20%	25,60	2,00	2	2
45	2	2	2	1	1	0	0	272	813	23%	62,56	2,00	2	2
46	2	2	2	4	3	0	0	11	1280	2%	0,22	2,00	2	2
47	2	2	2	1	1	0	0	30	20000	10%	3,00	2,00	2	2
48	2	2	2	4,7	1	0	0	16	27	6%	0,96	2,00	2	2
49	2	2	2	4	1	0	0	19	35	4%	0,76	2,00	2	1
50	2	2	2	2,4	1	0	0	33	1700	0%	0,00	2,00	2	2
51	2	2	2	4	1	0	0	25	853	6%	1,50	2,00	2	2
52	2	2	2	4	1	0	0	10	853	1%	0,10	2,00	2	2
53	2	2	2	1	1	0	0	32	330	4%	1,28	2,00	2	2
54	1	1	2	4	1	0	0	78	341	1%	0,78	2,00	2	2
55	1	1	2	2,4,5	1	0	15	32	263	2%	0,64	2,00	2	2
56	1	1	2	2,4	1	0	0	85	750	44%	37,40	2,00	2	2
57	2	2	1	2,4,6	2	2	500	9500	1280	83%	7885,00	1,00	2	1
58	2	2	1	2,4,6,8	2	2	500	4900	2700	61%	2989,00	1,00	99999	99999
59	1	1	1	2,3,4	2	0,5	125	1800	5970	33%	594,00	1,00	99999	99999
60	2	2	2	1	2	0	0	19000	5000	44%	8360,00	1,00	2	1
61	2	2	2	2,4	1	0,5	75	653	1200	82%	535,46	1,00	2	2
62	1	1	2	1	1	0	0	500	560	40%	200,00	2,00	2	2
63	1	1	1,2	4	1	0	0	75	42	4%	3,00	2,00	2	2
64	1	1	2	4	1	0	0	55	99	17%	9,35	2,00	2	2
65	1	1	2	4	1	0	0	14	256	1%	0,14	2,00	2	1
66	1	1	2	4	1	0	0	24	60	2%	0,48	2,00	2	2
67	1	1	2	4,5	1	0	15	36	256	3%	1,08	2,00	2	2

AM	PBE	ATB	PAR	SINT	LIQ	MULT	CHOI	CITO	ERIT	NEUT	PMN	N250	BACS	BACT
68	1	1	1	4,5	1	1	15	8100	1710	80%	6480,00	1,00	2	1
69	1	1	1	2,4,5,8	1	1	125	5700	20000	75%	4275,00	1,00	99999	99999
70	1	1	1	2,4,8	2	1	500	3100	1200	81%	2511,00	1,00	99999	99999
71	1	1	1	8	1	1	125	3700	20000	29%	1073,00	1,00	99999	99999
72	2	2	2	2,4	1	0	0	69	3400	0%	0,00	2,00	2	2
73	1	2	2	2,4, 5	1	0,5	15	600	1100	6%	36,00	2,00	2	2
74	2	2	2	4	1	0	0	51	5	6%	3,06	2,00	2	2
75	2	2	2	4	1	0	0	99	100	0%	0,00	2,00	2	2
76	2	2	2	2,3,4	1	0	75	80	200	1%	0,80	2,00	2	2
77	2	2	1	2,6	1	0	0	106	597	9%	9,54	2,00	2	2
78	2	2	2	4	1	0	0	189	756	16%	30,24	2,00	2	1
79	2	2	2	4	1	0	0	600	1280	7%	42,00	2,00	2	2
80	2	2	2	4	1	1	15	100	1700	0%	0,00	2,00	2	2
81	2	2	1	1	1	0	0	160	2560	6%	9,60	2,00	2	2
82	2	2	1	4,5	1	0	0	200	840	10%	20,00	2,00	2	2
83	2	2	1,2	2	1	0	0	200	500	40%	80,00	2,00	2	2
84	2	2	2	4	1	0	0	170	426	32%	54,40	2,00	2	2
85	1	1	2	4	1	0,5	15	48	2000	14%	6,72	2,00	2	2
86	1	1	2	4	1	0	0	37	1130	13%	4,81	2,00	2	2
87	2	2	1	2,4,5,6	2	1	15	416	5100	43%	178,88	2,00	2	2
88	1	1	1	99999	99999	0,5	75	160	1620	5%	8,00	2,00	2	2
89	2	2	1	4,6	1	0	0	112	480	30%	33,60	2,00	2	2
90	2	2	1	1	1	0	0	138	895	4%	5,52	2,00	2	2
91	1	2	2	2,4	1	0	0	42	426	7%	2,94	2,00	2	2
92	2	2	1,2	2,4	2	0	0	85	2133	0	0,00	2,00	2	2
93	1	1	1	2,4,5	3	0	0	300	853	13%	39,00	2,00	2	2
94	2	2	2	4,5	1	0	0	85	70	0%	0,00	2,00	2	2
95	2	2	1	4	2	0	0	350	1100	10%	35,00	2,00	2	2
96	2	2	1	4, 5,7	1	0	0	133	1045	0%	0,00	2,00	2	2
97	1	1	2	4	1	0	15	133	180	6%	7,98	2,00	2	1
98	2	2	1,2	2,4	1	0,5	15	330	450	80%	264,00	1,00	2	2
99	1	2	2	4	1	0	0	170	341	11%	18,70	2,00	2	2
100	99999	99999	99999	8	99999	0	15	180	65	30%	54,00	2,00	99999	99999
101	99999	99999	99999	8	1	99999	0	120	1067	63%	75,60	2,00	99999	99999
102	1	2	2	5	3	99999	15	500	20000	2%	10,00	2,00	2	2
103	2	2	2	4	1	0	0	280	400	4%	11,20	2,00	2	2
104	2	2	2	4	1	0	0	69	1700	13%	8,97	2,00	2	2
105	2	2	1,2	3,4	4	0	0	200	1400	5%	10,00	2,00	2	2
106	2	2	2	1	5	0	0	340	3200	14%	47,60	2,00	2	2
107	2	2	1,2	2,4	1	0	0	149	1240	3%	4,47	2,00	2	2
108	2	1	1	4,6	2	0,5	15	166	4350	27%	44,82	2,00	2	1
109	2	1	2	2,4	3	0	0	100	5100	48%	48,00	2,00	2	2
110	2	2	1	2,4	1	0	0	53	2560	2%	1,06	2,00	2	2
111	2	2	2	4	1	0	0	200	3200	32%	64,00	2,00	2	2
112	2	2	2	3,4	1	0	0	170	100	3%	5,10	2,00	2	2
113	1	1	1,2	2,3,4	5	0	15	130	341	4%	5,20	2,00	2	2
114	2	2	1,2	4	1	0	0	43	53	6%	2,58	2,00	2	2
115	2	2	1	6	1	0	0	400	50	0%	0,00	2,00	2	2
116	1	1	2	4	1	0	0	75	208	15%	11,25	2,00	2	2
117	99999	99999	1,2	4	1	0	0	150	450	8%	12,00	2,00	2	2
118	99999	99999	1,2	2,4	3	0	0	59	10.000	30%	17,70	2,00	2	1
119	99999	99999	2	4	5	0	15	48	7680	13%	6,24	2,00	2	2
120	2	2	1	4	1	0	15	300	2000	1%	3,00	2,00	2	2
121	1	1	2	4	1	0	0	128	752	1%	1,28	2,00	2	2
122	2	2	1,2	2,4	1	0	0	259	270	10%	25,90	2,00	2	2
123	2	2	2	4	3	0,5	15	20	10.000	3%	0,60	2,00	2	1
124	2	2	99999	2,4	1	0	0	20	1800	4%	0,80	2,00	2	2
125	2	2	1	2,4	5	2	125	1500	160.000	96%	1440,00	1,00	2	1
126	2	2	1	2,5	2	2	500	2200	4010	92%	2024,00	1,00	2	1
127	2	2	1,2	4	1	0,5	15	181	555	5%	9,05	2,00	2	2
128	2	2	2	4	1	0	0	400	720	12%	48,00	2,00	2	2
129	2	2	1	4	1	0	0	200	6.000	11%	22,00	2,00	2	2
130	1	1	2	4	1	0	0	80	120	0%	0,00	2,00	2	2
131	2	2	2	4,5	5	0,5	15	68	480	2%	1,36	2,00	2	2
132	1	1	2	4	1	0	0	25	85	0%	0,00	2,00	2	2
133	2	2	2	1	1	0	0	24	533	0%	0,00	2,00	2	2
134	2	2	1	3	5	2	500	2600	30	70%	1820,00	1,00	2	2
135	1	1	1	2,4	2	2	500	5700	2.500	90%	5130,00	1,00	2	1
136	1	1	1	2, 4,8	5	2	500	7000	1800	98%	6860,00	1,00	99999	99999

AM	PBE	ATB	PAR	SINT	LÍQ	MULT	CHOI	CITO	ERIT	NEUT	PMN	N250	BACS	BACT
137	2	2	1	2,4,5,6	2	1	500	7.200	2.610	90%	6480,00	1,00	2	1
138	1	1	2	4,8	1	0	0	187	203	12%	22,44	2,00	2	2
139	1	1	2	4	1	0	0	250	1.200	16%	40,00	2,00	2	2
140	2	2	2	1	1	0	0	80	725	1%	0,80	2,00	2	2
141	2	2	1,2	4,6,7	2	1	75	3.200	1.000	90%	2880,00	1,00	2	1
142	1	2	1	2,6	1	0	0	188	360	4%	7,52	2,00	2	2
143	2	2	1	2	1	0	0	147	53	0%	0,00	2,00	2	2
144	2	2	1	4,6	3	0	0	500	160.000	0	0,00	2,00	2	1
145	2	2	1	1	5	0	0	155	203	5%	7,75	2,00	2	2
146	2	2	2	1	1	0	0	92	35	0%	0,00	2,00	2	2
147	2	2	1	4,6	1	0	0	110	240	8%	8,80	2,00	2	2
148	2	2	1	4	5	0	15	15.800	30.000	1%	158,00	2,00	2	2
149	1	1	2	4	1	0	15	130	1.600	25%	32,50	2,00	2	2
150	2	2	1,2	1	1	0	0	107	32	11%	11,77	2,00	2	2
151	1	1	1	2,4	1	0	0	300	3.200	4%	12,00	2,00	2	2
152	1	1	1,2	2,4, 5	3	0,5	15	81	10.000	35%	28,35	2,00	2	2
153	2	2	2	1,4	1	0	0	60	40	10%	6,00	2,00	2	2
154	2	2	1,2	2,4	1	0,5	15	132	200	21%	27,72	2,00	2	2
155	2	2	1	2,4	2	2	500	11800	260	81%	9558,00	1,00	2	2
156	2	2	1	1,8	2	1	125	3000	900	69%	2070,00	1,00	2	2
157	2	1	1	4,6	1	0	0	250	85	0%	0,00	2,00	2	2
158	2	2	1	2,4	2	2	500	7800	20.000	61%	4758,00	1,00	2	1
159	2	2	1	1,8	3	2	75	1300	40.000	33%	429,00	1,00	2	2

Onde: PBE = peritonite bacteriana espontânea prévia (1=sim; 2=não); ATB= antibioticoterapia profilática (1=sim; 2=não); PAR= tipo de paracentese (1=diagnóstica; 2= alívio) ; SINT= sintomas (1= Assintomático 2= Dor abdominal 3= Febre 4= Aumento de volume abdominal 5= Perda de função renal 6= Encefalopatia hepática; 7=outros; 8=pós-PBE); LÍQ= líquido ascite= aspecto do líquido (1= citrino; 2= turvo; 3= hemorrágico; 4= quiloso; 5= outros); MULT= Multistix (0=0; 0,5= traços; 1=1+; 2=2+; 3=3+); CHOI= Choiceline (0=0; 15=CA 15; 75= CA 75; 125= CA 125; 500=CA 500); CITO= citológico total (numérico); ERIT= eritrócitos (numérico); NEUT= neutrófilos (%); PMN = polimorfonucleares (numérico); N250 = neutrófilos maior ou igual a 250 (1=sim; 2=não); BACS= bacterioscópico (1+positivo;2=negativo); BACT=exame cultural (1=positivo; 2=negativo).

Anexo 6 – Carta encaminhada para *Hepatology* (aceita para publicação)

CORRESPONDENCE

Lower Cutoff Values for Dipsticks May Improve Their Accuracy in Rapid Diagnosis of Spontaneous Bacterial Peritonitis

To the Editor:

We read with interest the article by Nousbaum et al.¹ In this multicenter French study, the authors report their results with Multistix SG8 reagent strip for the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis (SBP) in more than 2000 paracentesis procedures, performed in more than 1000 patients. This is the largest group of patients ever studied for this technique. Their conclusions focus on the low sensitivity of the dipsticks for the diagnosis of SBP found in the current study (45.3%), making the dipsticks an inaccurate test. The sensitivity for asymptomatic patients was even worse (16.7%). However, the negative predictive value (NPV) and specificity were high, ranging between 98% and 100%.

The results are really different from the findings of all other studies on the same issue that reported sensitivity greater than 64.7%, with NPV and specificity of barely 100% in 72 to 245 paracenteses per study.²⁻⁶

Vanbiervliet et al.² published the first article in 2002, and reported sensitivity, specificity, NPV, and positive predictive value (PPV) of 100% in 72 paracenteses. The reagent strip used was the Multistix 8G; tests were considered positive when leukocyte esterase became 1, 2, or 3+. Zero or trace detections were considered negative for diagnosis of SBP. The studies by Butani et al.³ and Sapey et al.⁴ used Multistix 10SG with the same criteria for positives and negatives and reached sensitivity of 83%-100%, specificity of 92.5%-100%, PPV of 75%-100%, and NPV of 96%-100%. Sapey et al.⁵ published another analysis of dipstick testing using Multistix 10SG and Nephur-Test with sensitivity of 64.7% and 88.2%, specificity of 99.6% and 99.6%, PPV of 91.7% and 93.8%, and NPV of 97.4% and 99.1%, respectively.

The differences between previous studies and the current study may arise from the interpretation of the dipsticks. The study by Nousbaum et al.¹ considered the dipsticks positive when they became 2 and 3+, and negative when they indicated 0, trace, and 1+. These cutoffs were based on the manufacturer description for tests of urine. Thevenot et al.⁶ used the same criteria and had good results. The other papers on the rapid diagnosis of SBP used cutoffs for positive with results of 1 to 3+, and negative for 0 and trace.²⁻⁵ The study by Butani et al.³ used the receiver operating characteristic curve to determine the best cutoff for diagnosis.

SBP is a highly lethal disease, and its diagnosis has to be made with highly sensitive devices. We believe that in order to

increase sensitivity of the dipstick test, the results of Nousbaum et al.¹ should be better evaluated using the receiver operating characteristic curve to establish the best sensitivity with the least loss of specificity and NPV.

ANTONIO LOPES
ALEXANDRE ARAUJO
MARIO ALVARES-DA-SILVA
*Department of Gastroenterology,
Hospital de Clínicas de Porto Alegre,
Porto Alegre, Brazil*

AQ:2

References

1. Nousbaum JB, Cadranel JF, Nahon P, Khac EN, Moreau R, Thevenot T, et al., and Club Francophone pour l'Etude de l'Hypertension Portale, Association Nationale des Hépatogastroentérologues des Hôpitaux Généraux de France. Diagnostic accuracy of the Multistix 8 SG reagent strip in diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis. *HEPATOLOGY* 2007;45: 1271-1281.
2. Vanbiervliet G, Rakotoarisoa C, Filippi J, Guerin O, Calle G, Hastier P, et al. Diagnostic accuracy of a rapid urine-screening test (Multistix8SG) in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002;14:1257-1260.
3. Butani RC, Schaffer RT, Szyjkowski RD, Weeks BE, Speights LG, Kadakia SC. Rapid diagnosis of infected ascitic fluid using leukocyte esterase dipstick testing. *Am J Gastroenterol* 2004;99:532-537.
4. Sapey T, Mena E, Fort E, Laurin C, Kabissa D, Runyon B, et al. Rapid diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis with leukocyte esterase reagent strips in European and in an American center. *J Gastroenterol Hepatol* 2005;20:187-192.
5. Sapey T, Kabissa D, Fort E, Laurin C, Mendler MH. Instant diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis using leukocyte esterase reagent strips: Nephur-Test vs. MultistixSG. *Liver Int* 2005;25:343-348.
6. Thevenot T, Cadranel JF, Nguyen-Khac E, Tilmant L, Tiry C, Welty S, et al. Diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients by use of two reagent strips. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004;16:579-583.

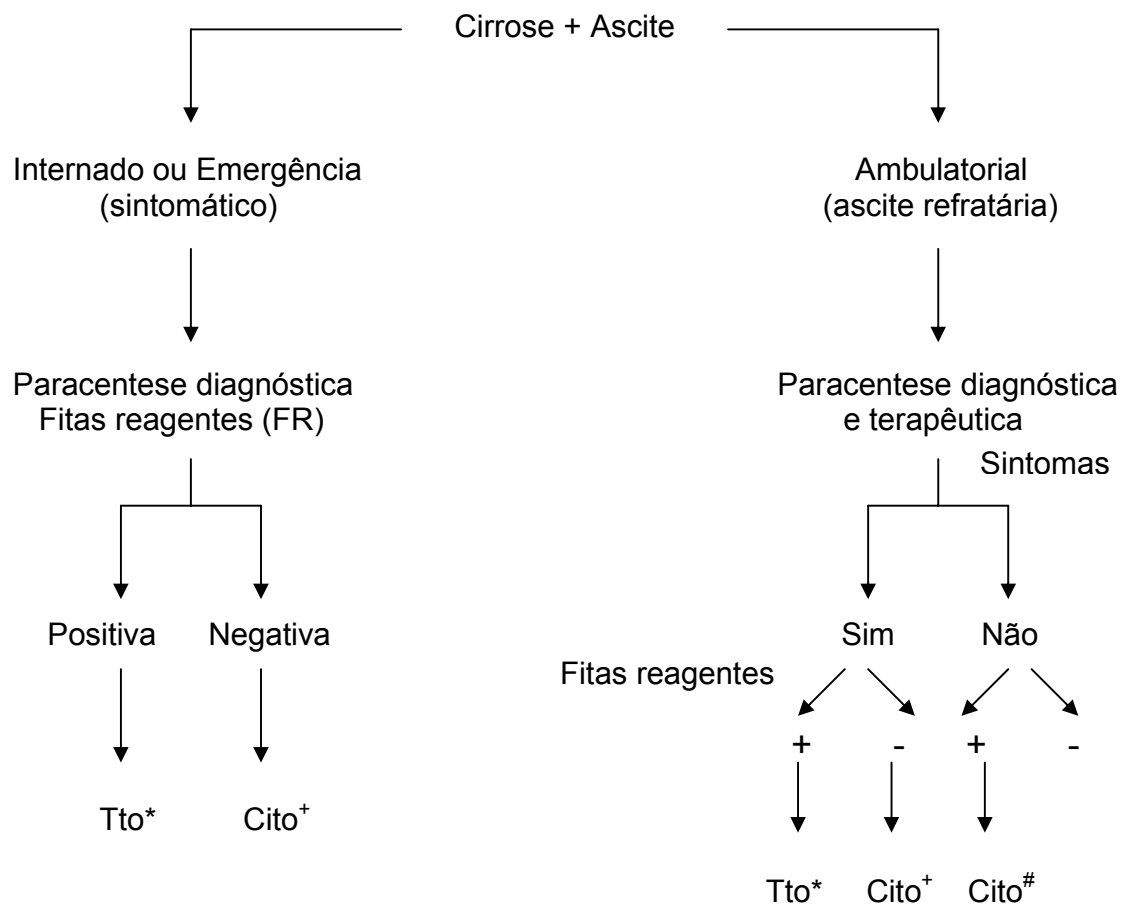
Copyright © 2007 by the American Association for the Study of Liver Diseases.
Published online in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com).
DOI 10.1002/hep.21842

Potential conflict of interest: Nothing to report.

AQ:1

Anexo 7 – Algoritmo para manejo de pacientes com cirrose e ascite

Algoritmo para manejo de pacientes com cirrose e ascite



- *Tratamento com antibiótico (cefotaxima) associado a albumina humana (1,5 g/kg no 1º dia e 1 g/kg no 3º dia) – tratamento iniciado precocemente, confirmação com exame citológico total e diferencial após
- +Aguardando citológico total e diferencial para exclusão diagnóstica
- #Aguardando citológico total e diferencial para confirmação diagnóstica