

Dulce Maria Monteiro Pereira

Procalcitonina como marcador de sepsis neonatal

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2011

Dulce Maria Monteiro Pereira

Procalcitonina como marcador de sepsis neonatal

Universidade Fernando Pessoa

Ciências da Saúde

Porto, 2011

Dulce Maria Monteiro Pereira

Procalcitonina como marcador de sepsis neonatal

Trabalho realizado por:

“Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para
obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.”

Orientador:

Professora Doutora Cristina Almeida

Sumário

A procalcitonina é uma proteína, produzida nas células C da tiróide, no fígado, macrófagos, pulmão e pâncreas, sendo que a origem parece estar dependente das substâncias estimuladoras da sua produção. O facto desta ser uma pró-hormona da calcitonina, em nada influencia a produção de PCT, apresentando estes valores diferentes e não correlacionáveis com a primeira perante situações clínicas distintas (Carrol et al., 2002).

A procalcitonina é um marcador de fase aguda usado para detectar infecções, sobretudo de origem bacteriana, dado que nas infecções de outra origem, os seus valores de concentração não se alteram significativamente (Bargues et al., 2007). Após uma estimulação imunológica, os valores de procalcitonina aumentam significativamente nas primeiras 3 a 4 horas, atingindo o seu pico máximo ao fim de 6 horas, normalizando 2 a 3 dias após a resolução da infecção. Possui um tempo de semi-vida de 25 a 30 horas. Devido à sua rápida cinética é, assim, possível considerar a procalcitonina um marcador precoce de sepsis. Tem igualmente uma adequada janela de diagnóstico (Carrol et al., 2002).

A procalcitonina tem funções biológicas, como mediador da resposta inflamatória estando descrito, por vários autores, ser, então, um marcador importante no diagnóstico e na previsão do outcome da sepsis (Carrol et al., 2002). Também parece ser consensual o elevado valor preditivo negativo (Joram et al; 2006; Kordek et al., 2003). Todas estas características atribuídas à procalcitonina poderão fazer com que este marcador contribua para o uso racional de antibióticos, sobretudo no período neonatal onde caracteristicamente existe uma maior dificuldade no diagnóstico destas situações clínicas.

As principais limitações do uso da procalcitonina como marcador de sepsis neonatal é o facto de poder surgir alterada em situações de não sepsis como, por exemplo, diabetes gestacional, asfixia fetal, hipocalcemia, síndrome da aspiração mecónio, doença hemolítica, doença da membrana hialina, hipoglicemia, ressuscitação pós-parto, hemorragia intracraniana, pré-eclampsia materna, amnionite clínica e hipertensão, bem como a administração de tensioactivo intratraqueal, ruptura prolongada de membranas e quando a progenitora está colonizada com *Streptococcus* grupo B (Lam e Ng, 2008).

Abstract

Procalcitonin is a protein produced in the thyroid C cells in the liver, macrophages, lung and pancreas, although the main source seems that is dependent of the stimulating substances of its production. The fact of the procalcitonin be a pro-hormone of calcitonin doesn't have any influence in the production of procalcitonin, presenting these different values and won't be correlated with distinct clinical situations (Carrol et al., 2002).

Procalcitonin is an acute phase marker used to detect infections mainly of bacterial origin, considering that in infections with another source the concentrations values do not change significantly (Bargues et al., 2007). After an immunologic stimulation the procalcitonin values considerably increase during the first 3 to 4 hours, reaching its peak at the end of 6 hours and may return to suffer an increase during the subsequent 24 hours if there is a stimulus. Having a long half-life between 25 to 30 hours and normalizing 2 to 3 days after the resolution of the infection. Due to its kinetics is possible to consider the procalcitonin is a sepsis precocious marker as well as having an adequate diagnostic window (Carrol et al., 2002).

It has biological functions as a mediator of the inflammatory response, being written by a number of authors, to be, then, one important marker in the diagnostic and in the outcome of sepsis prevision (Carrol et al., 2002). It also seems to be consensual the elevated negative (Joram et al; 2006; Kordek et al., 2003). All these characteristics may contribute to the rational use of antibiotics mainly in the neonatal period where typically exists one major difficulty in diagnostic of these clinical situations.

Its main limitations as marker of neonatal sepsis is the fact that it can arise changed in situations of no sepsis, for example, gestational diabetes, fetal asphyxia, hyaline membrane disease, resuscitation postpartum and others (Lam e Ng, 2008).

Agradecimentos

Desde já agradeço à Universidade Fernando Pessoa pela formação académica e pessoal que disponibilizou, e pela acessibilidade aos recursos utilizados ao longo não só desta dissertação, mas também destes cinco anos.

À Professora Doutora Cristina Almeida, o meu muitíssimo obrigada por todo o tempo disponibilizado, por toda a paciência tida ao longo da elaboração deste trabalho. Agradeço a disponibilidade que sempre teve para me ajudar no que fosse preciso, bem como a sua preciosa experiência no tema tratado nesta dissertação.

Aos meus pais por tornarem este sonho realizável, obrigada por toda a educação que me deram e por todos os valores que me transmitiram, por me tornarem a pessoa que sou, por não me terem deixado desistir nunca, se sou o que sou agradeço em grande parte a vocês.

Ao meu irmão, obrigada por tudo e desculpa a falta de paciência em momentos que provavelmente precisaste.

À minha família agradeço por todos os valores transmitidos, por todo o carinho, obrigado por serem pessoas que me fazem querer ser como alguém.

Ao Francisco, meu namorado, agradeço por todos os conselhos sábios que me foi dando, por toda a paciência, carinho, sensibilidade que demonstra nos momentos que mais preciso dele.

Aos meus amigos obrigada pela amizade, por estarem sempre presentes e pelo companheirismo ao longo desta jornada.

Por fim, o meu muitíssimo Obrigada a todos os que tornaram esta etapa da minha vida possível de finalizar, quer tenham estado envolvidos directa ou indirectamente.

Índice Geral

| | |
|--------------------------------------------------------------------|-----|
| Índice de figuras | ix |
| Índice de gráficos | x |
| Índice de tabelas | xi |
| Abreviaturas | xii |
| I. Introdução | 1 |
| II. Definições | 5 |
| III. Marcadores bioquímicos, hematológicos e microbiológicos | 10 |
| IV. Comportamento da procalcitonina | |
| 1. Características da procalcitonina | 16 |
| 2. Procalcitonina no adulto | 17 |
| 3. Procalcitonina no período neonatal | 17 |
| 4. Procalcitonina em patologias que não sepsis | 21 |
| V. Procalcitonina como marcador de sepsis neonatal | 24 |
| VI. Conclusão | 33 |
| VII. Referências bibliográficas | 34 |

Índice de figuras

| | |
|-------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1: Relação entre infecção, sepsis e SIRS | 5 |
| Figura 2: Fluxograma da resposta inflamatória | 9 |
| Figura 3: Diagrama da fragmentação da molécula de PCT | 16 |

Índice de gráficos

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gráfico 1: Comparação entre valores de procalcitonina às 0, 24 e 48 horas | 18 |
| Gráfico 2: Concentração de PCT no dia 0 vs semanas de gestação, em neonatos não infectados | 20 |
| Gráfico 3: Variação na concentração de diferentes marcadores após da administração de um endotoxina | 25 |
| Gráfico 4: Valores de sensibilidade da PCT, TNF α , PCR e SAA, nos dias 0, 4 e 8 | 31 |
| Gráfico 5: Valores de especificidade da PCT, TNF α , PCR e SAA, nos dias 0, 4 e 8 ... | 31 |

Índice de Tabelas

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1: Limites de referência do hemograma | 13 |
| Tabela 2: Comparação dos valores de cut-off da PCT | 18 |
| Tabela 3: Valores de PCT em indivíduos saudáveis nos primeiros dias de vida | 19 |
| Tabela 4: Valores de concentração de PCT no dia 1 relacionados com a duração do período gestacional em casos de neonatos não infectados | 20 |
| Tabela 5: Valores medianos de concentração de PCT ao longo das primeiras horas de vida vs factores de risco | 22 |
| Tabela 6: Comparação dos valores de sensibilidade, especificidade, VPP e VPN, entre a PCT e a PCR | 28 |
| Tabela 7: Comparação de valores de sensibilidade, especificidade, VPP e VPN, nos marcadores PCT, PCR e glóbulos brancos | 29 |
| Tabela 8: Comparação da sensibilidade e da especificidade da PCT, TNF α , PCR e AAS, nos dias 0, 4 e 8 | 30 |
| Tabela 9: Valores de sensibilidade, especificidade, VPN e VPP da PCR, PCT, neutrófilos, leucócitos e plaquetas | 32 |
| Tabela 10: Comparação dos valores de sensibilidade e especificidade da PCT e da PCR, nas primeiras 48 horas de vida e dos 3 aos 30 dias | 32 |

Abreviaturas

AAS – Amielóide A Sérica

Da – Dalton

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

Ig - Imunoglobulinas

IL - Interleuquina

LCR – Líquido cefalo-raquidiano

LPS - lipolissacarídeo bacteriano

µg - micrograma

mL – mililitro

ng – nanograma

PCR – Proteína C Reactiva

PCT – Procalcitonina

PDW – Largura de distribuição de plaquetas (Platelet Distribution Width)

RDW – Largura de distribuição de glóbulos vermelhos (Red Cell Distribution Width)

SD – Desvio Padrão

SDR – Síndrome Dificuldade Respiratória

SIRS - Síndrome de Resposta Inflamatória Sistémica

Th – T helper

TNF- α – Factor de Necrose Tumoral α

VPN – Valor Preditivo Negativo

VPP - Valor Preditivo Positivo

I. INTRODUÇÃO

Hoje em dia, uma das principais causas de mortalidade/morbilidade neonatal são as infecções (Boo et al., 2008; Novotny et al., 2006; Ucar et al., 2008), sobretudo devido à imaturidade do sistema imunológico à nascença (Isidor et al., 2007). A prematuridade (Draper e Field, 2007) e a encefalopatia hipóxico-isquêmica (Kumar e Paterson-Brown, 2010) são outras das causas que contribuem para o aumento da taxa de mortalidade/morbilidade, nesta faixa etária. Se bem que, Kordek et al. (2011) refere que a infecção intra-amniótica tem um grande contributo no aumento da mortalidade, sendo considerada a grande responsável pela prematuridade em neonatos.

O nascimento de crianças prematuras e/ou de baixo peso agrava, de forma crescente, as consequências das infecções (Sastre et al., 2006; Vazzalwar et al., 2005) sendo, por isso, necessário um rápido diagnóstico de um quadro de sepsis neonatal para se iniciar, tão rápido quanto possível, a terapêutica antimicrobiana adequada ao tipo de infecção em causa (Dubos et al., 2010; Vazzalwar et al., 2005). Contudo, muitas vezes os sintomas, em neonatos, são subtis e muito pouco específicos, podendo ser confundidos com outras situações do foro não infeccioso (Isidor et al., 2007; Sastre et al., 2007).

Segundo Goldstein et al. (2005), a mortalidade associada à sepsis, em crianças, decresceu de 97% para 9%, entre 1966 e 1990 (Goldstein et al., 2005). Este decréscimo parece dever-se essencialmente à notória evolução da medicina, quer a nível da terapêutica, a nível do conhecimento da etiologia da própria patologia, quer na higiene pessoal e do próprio ambiente hospitalar. A sepsis tem sido a causa mais comum de morte, em unidades de cuidados intensivos, quer na Europa quer nos Estados Unidos da América (Giamarellos-Bourboulis et al., 2011). Anualmente, nos Estados Unidos, estima-se que cerca de 4300 crianças sejam vítimas de sepsis severa, correspondendo a cerca de 7% da taxa de mortalidade em crianças (Goldstein et al., 2005). Estima-se que a taxa de mortalidade neonatal decresça ainda mais, com o passar do tempo, devido aos avanços tecnológicos que vão sendo implementados nesta área.

Os marcadores bioquímicos utilizados no despiste de sepsis neonatal são normalmente compostos produzidos durante a complexa resposta inflamatória que ocorre na sequência da invasão do organismo por um agente patogénico (Lam e Ng, 2008).

Em geral, os marcadores bioquímicos mais usados no diagnóstico de sepsis neonatal podem ser classificados como citocinas pró-inflamatórias (ex: IL-1 β , IL-6, TNF α , IL- γ , IL-1 β), citocinas anti-inflamatórias (ex: IL-10), marcadores de fase aguda (ex: PCR e PCT), antigénios de superfície leucocitários (ex: CD11b, CD64), quimoquinas CC (ex: MCP-1 e RANTES) e quimoquinas CXC (ex: IL-8, GRO- α , IP-10) (Lam e Ng., 2008; Ucar et al., 2008). Estes dois últimos grupos de marcadores diferenciam-se pela presença (CXC) ou ausência (CC) de um aminoácido X entre as duas cadeias de cisteína. A PCR, TNF α , algumas das ILs referidas e a PCT são, hoje em dia, alguns dos marcadores mais utilizados nas situações de sepsis neonatal (Ucar et al., 2008).

A PCT é uma pró-hormona da calcitonina (Bergmann e Bohuon, 2002), composta por 116 aminoácidos e tem origem principalmente nas células C da tiróide, podendo ainda ser produzida no pâncreas, fígado, pulmão e macrófagos (Carrol et al., 2002). A produção de PCT aumenta sobretudo devido a respostas inflamatórias sistémicas de origem bacteriana (Bargues et al., 2007), verificando-se que não possui expressividade suficiente nos casos das infecções de origem fúngica, vírica ou parasitária (Carrol et al., 2002). Dada esta especificidade, e também devido à sua rápida cinética e elevada sensibilidade, é muitas vezes proposta como um marcador específico e precoce em quadros de sepsis de origem bacteriana, podendo servir para distinguir a origem, infecciosa ou não, de uma inflamação severa, em recém-nascidos (Bargues et al., 2007).

Carrol et al. (2002) afirma que a síntese de PCT poderá ter diferentes origens consoante a substância que estimula a sua síntese. Ou seja, se esta estiver em presença da IL-6 e do TNF α , a síntese será estimulada a nível central. Se, por outro lado, estiver exposta a polissacarídeos a síntese dar-se-á nos macrófagos. É de salientar que, alterações na concentração da PCT não provocam variações na concentração de calcitonina, isto é, em caso algum, há o aumento ou a diminuição da calcitonina (Gendrel e Bohuon, 2000) significando, assim, que o comportamento da PCT é independente do da calcitonina.

Segundo Betanzo (2007), Fioretto et al. (2007) e Sastre et al. (2007) os valores da PCT aumentam significativamente 3 a 4 horas após o início de sepsis, atingindo o pico máximo após 6 horas, retomando aos valores normais após 2 a 3 dias, tendo um tempo de semi-vida de 25 a 30 horas (Carrol et al., 2002). Quando há suspeita de sepsis neonatal, a PCT tem apresentado resultados significativamente melhores quando

comparados com outros marcadores, como PCR ou contagem de leucócitos, sendo considerado um marcador mais precoce que os outros marcadores referidos (Almeida et al., 2010; Betanzo, 2007; Carrol et al., 2002; Chiesa et al., 2003).

É de referir, ainda, que este marcador encontra-se fisiologicamente aumentado nas primeiras 48 horas de vida dos recém-nascidos sem que uma infecção bacteriana tenha sido reportada (Almeida et al., 2010; Gendrel et al., 1996).

A PCT possui inúmeras funções a nível biológico, funcionando como mediador e parte integrante da resposta inflamatória. Mediante as quantidades presentes desta no organismo, a sua acção poderá ser benéfica ou maléfica. Ou seja, se os níveis de PCT estiverem elevados poderá servir como auxiliar no diagnóstico e posterior tratamento de indivíduos com sepsis (Carrol et al., 2002). Contudo, se os níveis forem excessivamente elevados na corrente sanguínea poderão levar à morte do indivíduo, ou seja, podem levar a uma resposta inflamatória exagerada, culminando na destruição indiscriminada dos tecidos.

A PCT é utilizada como marcador em inúmeras situações patológicas, como é o caso da doença de Kawasaki, onde esta se revelou útil na clínica para determinar a gravidade da doença estreitando o diagnóstico diferencial de pacientes com doenças inflamatórias (Okada et al., 2004); em casos de pacientes com queimaduras (Heimburg et al., 1998); em indivíduos com parasitas como é o caso do microrganismo responsável pela malária (Hesselink et al., 2009). No entanto, no âmbito deste estudo, debruçamo-nos sobre a importância que a PCT se reveste na detecção precoce de sepsis neonatal, problemática que devido ao seu interesse tem sido abordada por muitos outros autores (Chiesa et al., 2003; Fioretto et al., 2007; Rossum et al., 2004).

Uma das limitações descritas na literatura sobre o uso da PCT como marcador de sepsis neonatal relaciona-se com a necessidade da colheita de sangue (Chen et al., 2009), devido à dificuldade no manuseamento do neonato, o desconforto causado ao recém-nascido aquando da recolha, a dificuldade em encontrar os locais onde se vai fazer a colheita de sangue e a importância da perda desse volume sanguíneo. Por outro lado, segundo a literatura, o facto deste marcador poder estar aumentado em condições de não sepsis, como acontece, segundo a literatura, em casos de asfixia fetal, doença da membrana hialina, diabetes gestacional, hipertensão, taquipneia transiente, doença

hemolítica, hipoglicemia, hipocalcemia, síndrome da aspiração mecônio (Chiesa et al., 1998; Vazzalwar et al., 2005), ressuscitação pós-parto, hemorragia intracraniana, pré-eclampsia materna, amnionite clínica, administração de tensioactivo intratraqueal, ruptura prolongada de membranas e quando a progenitora está colonizada com *Streptococcus* grupo B (Lam e Ng, 2008), pode não limitar o uso da PCT como marcador de sepsis neonatal, desde que os resultados sejam devidamente contextualizados. A possibilidade de utilização de sangue do cordão umbilical (Kordek et al., 2003; Kordek et al., 2011) para o diagnóstico de sepsis trará menos limitações no uso deste marcador, tornando a recolha do material a analisar mais fácil e trazendo uma maior comodidade à criança.

A pesquisa feita no âmbito deste trabalho, permitiu verificar que, tendo em conta as diferentes origens das populações estudadas, das várias definições para o conceito de sepsis, do tratamento da população em estudo, dos valores de cut-off considerados, dos diferentes períodos de colheita e das diferentes técnicas utilizadas para a determinação dos valores de PCT, os resultados encontrados na literatura são de difícil interpretação e, sobretudo, de difícil comparação, pelo menos de forma rigorosa. Contudo, é mais ou menos consensual que a PCT pode ser um marcador promissor. É necessário continuar a estudar este marcador, sobretudo no período neonatal, o qual é caracterizado por alterações bruscas de adaptação à vida extra-uterina.

II. DEFINIÇÕES

Neonato é, por definição, o recém-nascido desde que nasce até um mês de idade (Goldstein et al., 2005).

Sepsis consiste no SIRS na presença de infecção (Goldstein et al., 2005) (Figura 1).

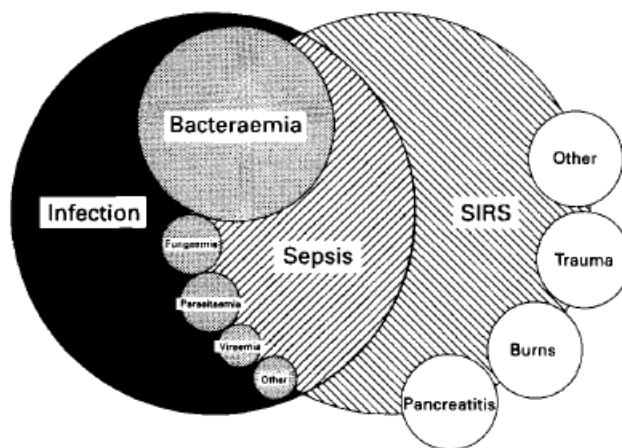


Figura 1: Relação entre infecção, sepsis e SIRS (Davis e Hagen, 1997)

O SIRS, é um processo inflamatório, não específico, que ocorre depois do indivíduo sofrer um trauma, infecção, pancreatite, queimadura, entre outras causas possíveis. Para que seja considerado SIRS é necessário que, no indivíduo, se verifique, em simultâneo, pelo menos dois dos seguintes parâmetros:

- Temperatura \geq a 38,5°C ou $<$ a 36°C;
- Taquicardia, considerada quando o coração bate mais de 2 SD que o normal, ou bradicardia, quando a taxa de batimento cardíaco é 10% inferior ao que seria de esperar para a idade do paciente, ambas as situações na total ausência de estímulos externos;
- Taquipneia, quando a velocidade média respiratória é maior que 2 SD do que seria expectável para a idade do indivíduo em questão ou estando o indivíduo sujeito a ventilação mecânica;

- Contagem de leucócitos, quando a quantidade destes é superior, ou inferior, à que seria normal para a idade, ou ainda, quando mais de 10% dos neutrófilos são imaturos.

Sendo que, a alteração na contagem dos leucócitos ou a presença de hiper ou hipotermia têm de estar presente (Goldstein et al., 2005).

A infecção, causada por qualquer agente patológico poderá, para a definição de sepsis, corresponder a uma suspeita de infecção ou a uma infecção efectivamente comprovada, através de culturas celulares positivas, colorações teciduais ou por PCR (polymerase chain reaction) ou, alternativamente, deverá corresponder a uma síndrome clínica associada a uma elevada probabilidade de infecção. A evidência de infecção inclui resultados positivos no exame clínico, de imagiologia ou em testes laboratoriais (por exemplo, exame radiográfico compatível com pneumonia, edema, ptequias, febre, tosse, entre outros) (Goldstein et al., 2005).

Existem factores de risco que tornam os neonatos mais susceptíveis à infecção, sendo eles a ruptura prolongada de membranas (tempo superior a 18 horas), infecção no tracto urinário materno, o nascimento pré-termo (≤ 36 semanas), quando a progenitora esteve sujeita a febre com temperatura superior a 38°C , quando há colonização materna por *Streptococcus* do grupo B, taquicardia (> 160 batimentos/minuto), quando se encontra fezes no líquido amniótico e, por fim, quando há suspeita clínica de infecção materna (Goldstein et al., 2005).

O quadro de sepsis severa dá-se quando aliado à sepsis existe uma das seguintes situações: um quadro de disfunção cardiovascular, uma SDR aguda ou, então, quando existe disfunção de dois ou mais órgãos (a nível hepático, renal, neurológico, respiratório ou hematológico) (Goldstein et al., 2005).

É considerado choque séptico quando há disfunção cardiovascular acompanhada de sepsis. Para o tratamento de disfunções cardiovasculares administra-se intravenosamente um bolus de fluido isotónico (40 mL de bolus por cada quilo do paciente, durante uma hora), sendo que o paciente deverá apresentar dois dos seguintes itens: acidose metabólica inexplicável, aumento do lactato arterial, oligúria, preenchimento capilar prolongado e/ou aumento da temperatura periférica. A

hipotensão sistémica que acompanha o quadro de choque séptico serve, muitas das vezes, como diagnóstico de sepsis, em pacientes adultos, havendo, então, a necessidade de serem administrados fármacos (adrenalina, dopamina, dobutamina ou noradrenalina) de forma a normalizar os valores de pressão arterial. Na interpretação dos resultados e na administração dos fármacos é necessário ter em conta a idade e o peso, do indivíduo em estudo. Em crianças, a hipotensão poderá revelar-se, apenas, quando o quadro de choque séptico é demasiado grave não sendo, portanto, um indicador precoce deste quadro clínico (Goldstein et al., 2005).

Quando o organismo está sujeito a uma lesão tecidual ou celular, este reage desencadeando um processo inflamatório e respectiva resposta inflamatória. As células lesadas produzem mediadores químicos que alertam o sistema imunitário, libertando células específicas na defesa do organismo (Junqueira e Carneiro, 2004). Se o organismo estiver sujeito a um qualquer tipo de ataque, seja este de que natureza for, o sistema imunitário desencadeia uma resposta caracterizada pela dilatação capilar, edema, aumento do fluxo sanguíneo, aumento da permeabilidade capilar o que permite a entrada nos tecidos de factores de complemento, de fibrinogénio e todas as células envolvidas na resposta inflamatória, como neutrófilos, macrófagos, etc. (Seeley, et al., 2003) diapedese e quimiotaxia (Goldstein et al., 2005) ou atracção quimiotática de fagócitos que vão chegar aos tecidos depois de abandonarem o sangue (Seeley et al., 2003). O aumento do fluxo sanguíneo, o aumento da permeabilidade capilar e a diapedese fazem com que haja um aumento do número de leucócitos e de mediadores químicos no local da lesão tecidual (Seeley et al., 2003). Este processo poderá desencadear uma resposta sistémica caracterizada por febre e proliferação dos leucócitos. A resposta inflamatória desencadeia invariavelmente os mecanismos e consequentemente os sintomas anteriormente referidos, cuja intensidade dependerá da gravidade da lesão e da resposta inflamatória do organismo (Arosa et al., 2007).

As células deste sistema são capazes de diferenciar as células próprias do organismo das células/partículas estranhas. Após a diferenciação do tipo de células em questão, o referido sistema coordena a inactivação ou destruição dos organismos invasores (Junqueira e Carneiro, 2004).

Os mecanismos não específicos de defesa previnem a entrada de organismos invasores, dos quais fazem parte a pele e as mucosas, que funcionam como barreiras, as secreções e enzimas presentes no muco, na saliva, nas lágrimas e no suco gástrico, que quimicamente defendem o organismo. Por outro lado, quando existe invasão do organismo temos outro tipo de resposta inespecífica caracterizada pela produção de interferão, por processos de fagocitose e por uma resposta inflamatória (Amparo et al., 2006). Esta é reforçada, havendo a chamada ao local de mais fagócitos e posterior libertação de ILs (Seeley et al., 2003). A inflamação é um processo em que o organismo localiza, neutraliza e/ou elimina um agente agressor (Areosa et al., 2007).

As bactérias vão ser isoladas, fagocitadas e destruídas, pelos leucócitos e pelos mediadores químicos podendo, depois, seguir dois caminhos. A bactéria é eliminada, havendo posteriormente a reparação dos tecidos ou, então, a bactéria vai permanecer no organismo havendo activação de mais mediadores químicos, ocorrendo depois o aumento da permeabilidade vascular, do fluxo sanguíneo e quimiotaxia (Seeley et al., 2003).

Podemos ter uma infecção local, que está restrita a uma determinada área do organismo, cujos principais sinais e sintomas são edema, rubor, dor, calor e impotência funcional, devendo-se esta à destruição tecidual, ao edema e à dor (Seeley et al., 2003).

A resposta inflamatória sistémica dá-se quando os mediadores da inflamação passam para a corrente sanguínea atingindo, posteriormente, locais distantes da sua origem. A resposta inflamatória sistémica possui os mesmos sinais/sintomas que a infecção local mas, com resultados mais ampliados. A medula óssea vermelha é estimulada a produzir e libertar neutrófilos que vão promover a fagocitose. Há o aumento da temperatura corporal, com a produção de febre, devido às substâncias libertadas pelos microrganismos, os quais vão interferir com a regulação da temperatura corporal no hipotálamo. O aumento da temperatura vai estimular a actividade do sistema imunitário, inibindo o crescimento de determinados microrganismos. Por fim, a permeabilidade vascular aumenta, havendo a transferência de uma determinada quantidade de líquido do espaço vascular para o interstício dos tecidos, leva a uma diminuição do volume intravascular, que poderá culminar em choque hipovolémico ou, mesmo, na morte do paciente, em casos extremos (Seeley et al., 2003). A resposta inflamatória sistémica

quando estendida a outros órgãos pode ter consequências muito graves. Há uma activação descontrolada do sistema imune com predomínio de efeitos tóxicos das citocinas pró-inflamatórias, ou seja, dá-se o desenvolvimento excessivo de microtrombos, obstruindo o fluxo sanguíneo, levando à disfunção do órgão (Davies e Hagen, 1997) (Figura 2).

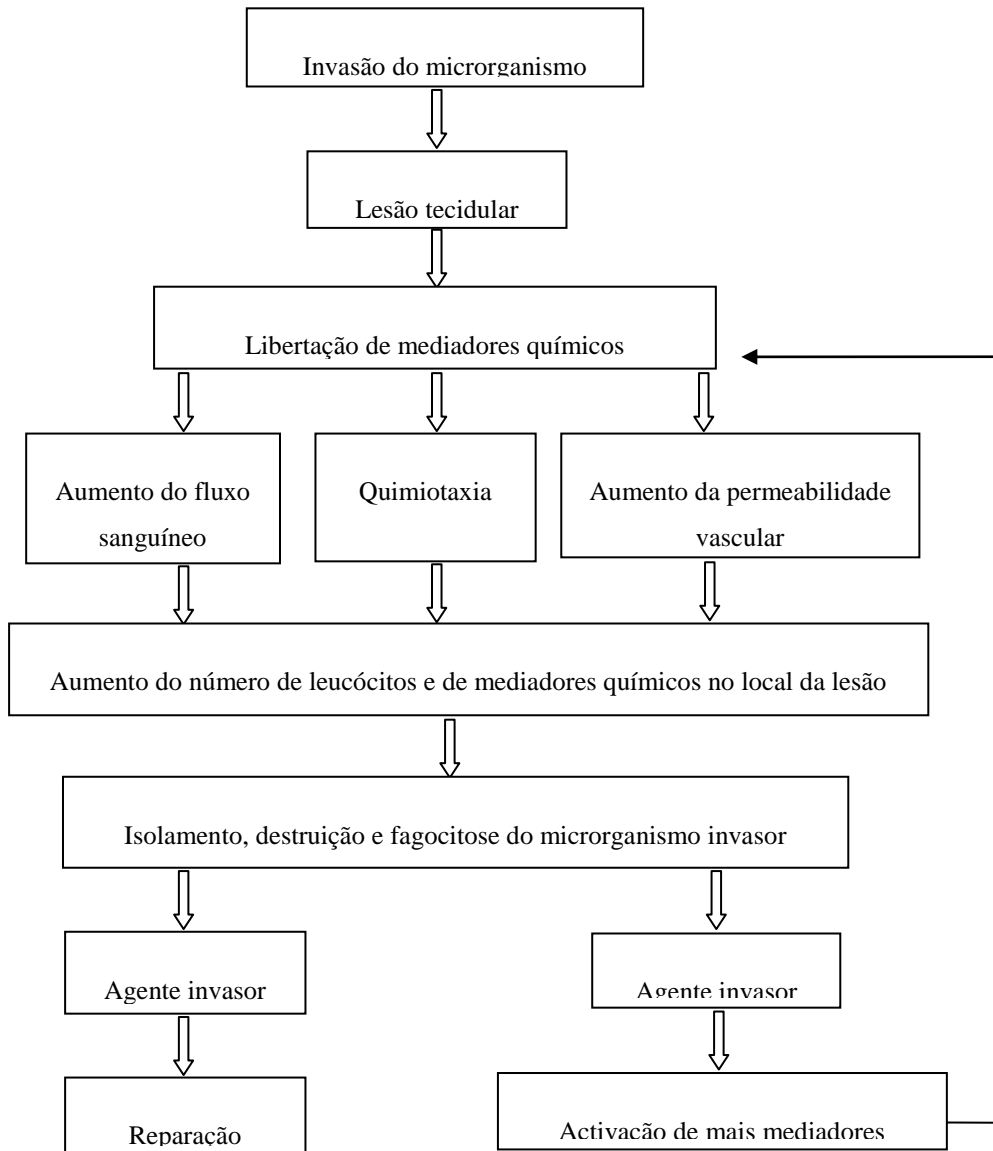


Figura 2: Fluxograma da resposta inflamatória (Seeley et al., 2003)

III. MARCADORES BIOQUÍMICOS, HEMATOLÓGICOS E MICROBIOLÓGICOS

Os principais marcadores bioquímicos utilizados no despiste de sepsis, são PCR, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, PCT e o TNF α . Dentro dos marcadores hematológicos são considerados como mais importantes a contagem de leucócitos, neutrófilos, plaquetas e a percentagem de neutrófilos imaturos (Lam e Ng., 2008). No que diz respeito aos marcadores microbiológicos, o diagnóstico no produto biológico pode ser realizado por exame microscópico directo, detecção de antigénios, por detecção de sequências genómicas e por exames culturais (Ferreira e Sousa, 2007).

Os marcadores bioquímicos podem pertencer a vários grupos de compostos como, por exemplo, o das citocinas anti-inflamatórias e citocinas pró-inflamatórias, quimoquinas, proteínas de fase aguda e antigénios de superfície leucocitários (Lam e Ng, 2008).

A maioria dos marcadores é proveniente da resposta inflamatória e depende do estado imunológico do hospedeiro (Lam e Ng, 2008).

- Dentro do grupo das moléculas pró-inflamatórias fazem parte (Lam e Ng., 2008):

Interferão- γ (IFN- γ), produzido predominantemente pelas células Th1 para facilitar a activação das células pró-inflamatórias como, por exemplo, os macrófagos.

Interleuquina-1 β (IL-1 β), produzida principalmente pelos macrófagos para ajudar a regular o processo pró-inflamatório.

Interleuquina-6 (IL-6), produzida pelos leucócitos e hepatócitos em resposta a uma infecção e/ou trauma.

Marcador α de necrose tumoral (TNF- α), produzido, sobretudo, pelos macrófagos em resposta a uma inflamação bacteriana ou outro produto inflamatório.

- Das citocinas anti-inflamatórias fazem parte (Lam e Ng, 2008):

Interleuquina-4 (IL-4), produzida predominantemente nas células Th2, responsável pela mudança da expressão do linfócito B.

Interleuquina-10 (IL-10), produzida pelos linfócitos T, inibe a produção de citocinas pró-inflamatórias provenientes das células Th1, como é o caso do interferão- γ .

Factor de crescimento transformador β (TGF- β), produzido pelos macrófagos, que regula a proliferação e diferenciação suprimindo a função das células Th (células apresentadoras de antígenos).

- Do grupo das quimoquinas CC, que são quimoquinas ligadas entre si por dois aminoácidos com resíduos de cisteínas, fazem parte (Lam e Ng, 2008):

Monócito quimioatractivo proteína 1 (MCP-1), produzido pelos adipócitos, atrai células natural killer e activa os mastócitos.

Quimoquinas reguladas mediante a activação de células T normais expressadas e secretadas (RANTES), as quais atraem e regulam linfócitos T.

- As quimoquinas CXC as quais são quimoquinas que, entre os aminoácidos com resíduos de cisteína C, têm um aminoácido X e, neste grupo, estão incluídas (Lam e Ng, 2008):

Quimoquinas relacionadas com o crescimento do oncogene α (GRO- α) que atraem neutrófilos e suprimem a formação de colónias mielóides.

Interleuquina-8 (IL-8) que atrai os neutrófilos e estimula a actividade fagocítica.

Proteína-10 produzida pelo interferão- γ (IP-10) que atrai linfócitos T activados e é induzida pelo interferão- γ . Esta tem, também, uma actividade antitumoral, possuindo um papel regulador na angiogenese;

Monoquina induzida pelo interferão- γ (MIG) que possui uma actividade biológica semelhante ao IP-10;

- Quanto aos marcadores de fase aguda temos (Lam e Ng, 2008):

Proteína C Reactiva (PCR) que é uma proteína de fase aguda produzida pelo fígado, cujos valores aumentam em resposta à IL-6;

Proteína Inter- α -inibidor (I α Ip), um grupo de proteínas que inibem proteases séricas, possuindo também propriedades anti-inflamatórias;

Proteína de fase aguda que se liga ao lipolissacarídeo bacteriano (LPB), sendo principalmente produzido pelo fígado;

Procalcitonina (PCT), um precursor da calcitonina que é produzida sobretudo pelo fígado e pelos macrófagos;

Amielóide A Sérica (SAA), um grupo de proteínas estruturalmente relacionadas que são libertadas em resposta a infecções ou lesões em diferentes tipos de células;

- Do grupo dos antígenos de superfície leucocitária fazem parte (Lam e Ng, 2008):

Grupo de diferenciação 11b (CD11b), o qual corresponde a uma molécula β_2 -integrina presente na superfície celular dos leucócitos e moléculas de adesão leucocitárias como os componentes do complemento e lipopolissacarídeos;

Grupo de diferenciação 64 (CD64), um receptor encontrado na superfície dos leucócitos que se vai ligar à porção Fc das imunoglobulinas IgG, com elevada afinidade.

Relativamente ao papel da hematologia na sepsis, temos o hemograma como um dos exames mais requeridos na prática clínica. O hemograma é um exame onde se avaliam

os glóbulos brancos (leucograma), vermelhos (eritrograma) e as plaquetas (plaquetograma) (Failace, 2003).

O eritrograma inclui a concentração glóbulos vermelhos, o hematócrito (volume ocupado pelos glóbulos vermelhos em determinado volume de sangue), a concentração de hemoglobina, o volume corpuscular médio (volume médio de cada eritrócito), a hemoglobina corpuscular média (quantidade média da hemoglobina presente em cada eritrócito), a concentração de hemoglobina corpuscular média (concentração média da hemoglobina em cada eritrócito) e o RDW (que corresponde a um índice o grau de anisocitose) (Failace, 2003). Os valores da hemoglobina bem como os do hematócrito surge mais elevado nas crianças que nos adultos. A concentração corpuscular média no recém-nascido é um pouco alto, quando comparados com indivíduos adultos, acabando por decair para valores semelhantes aos do adulto por volta das nove semanas (Hoffbrand et al., 2004).

O leucograma inclui a contagem total de leucócitos, bem como a contagem diferencial (percentagem e valores relativos de monócitos, linfócitos, eosinófilos, basófilos e neutrófilos) (Failace, 2003). O número de neutrófilos é elevado na altura do nascimento caindo, depois, para um plateau nos próximos quatro dias (Hoffbrand et al., 2004).

| Células | Limite mínimo | Limite máximo | Unidades |
|-------------------------------------------------|---------------|---------------|------------|
| Eritrócitos | 4 | 6 | M/ μ L |
| Hemoglobina | 12 | 16 | g/dL |
| Volume Corpuscular Médio | 82 | 100 | fL |
| Concentração Hemoglobínica Corpuscular Média | 31 | 36 | % |
| Leucócitos | 3500 | 10000 | / μ L |
| Neutrófilos | 1500 | 7000 | / μ L |
| Linfócitos | 1000 | 4000 | / μ L |
| Monócitos | 200 | 1500 | / μ L |

| | | | |
|-------------|------|--------|-----------|
| Eosinófilos | 0 | 1500 | / μ L |
| Basófilos | 0 | 3 | % |
| Plaquetas | 1200 | 400000 | / μ L |

Tabela 1: Limites de referência do hemograma (Failace et al., 2003)

Por fim, o plaquetograma corresponde à contagem de plaquetas, determinação do volume plaquetário médio e PDW (que corresponde ao coeficiente de variação do tamanho das plaquetas) (Failace, 2003) (tabela 1).

Os valores do hemograma podem depender do sexo e da idade do indivíduo (Failace et al., 2003).

As infecções bacterianas podem provocar neutrofilia, neutropenia, leucocitose, leucopenia e trombocitopenia (Cotran et al., 2000).

A leucocitose, ou seja, o aumento do número total de leucócitos, ocorre devido à libertação acelerada de células de reserva da medula óssea, estando associada a estados inflamatórios. A leucocitose vai provocar a libertação de células induzidas pela IL-1 e pelo TNF- α , situação que acontece em infecções agudas ou crónicas por bactérias. No entanto, as infecções, para além de provocarem leucocitose, podem ainda lesar os linfonodos, que actuam como barreiras de defesa, e que, uma vez lesados, resultam num sistema imunitário deficitário (Cotran et al., 2000).

A activação de neutrófilos, por produtos bacterianos, contribui para a fagocitose e posterior morte das bactérias, através de processos oxidativos (Arosa et al., 2007).

A redução da produção e do tempo de semi-vida de plaquetas, bem como o aumento do consumo destas, estão directamente relacionadas com um quadro clínico de infecção, se bem que, poderá não ser a única causa (anemias por perda de sangue, indução por drogas,...). A trombocitopenia, ou redução de plaquetas, constitui uma importante causa de hemorragia generalizada (Cotran et al., 2000).

O isolamento/identificação do microrganismo constitui a confirmação absoluta que há uma infecção. Os produtos biológicos recolhidos em situações de suspeita de sepsis são normalmente urina, sangue e LCR, isto é, produtos habitualmente estéreis (Ferreira e Sousa, 1998).

A identificação do agente infeccioso a nível laboratorial pode fazer-se através da identificação directa no produto biológico ou após a cultura do produto, técnica mais usual. O diagnóstico directo no produto biológico é realizado através do exame microscópico directo, detecção de antígenos e detecção de sequências genómicas. Em alternativa semeia-se as diferentes amostras em meios de cultura específicos com as características necessárias para o seu crescimento e proliferação. A seguir, faz-se o isolamento do agente patogénico e posterior identificação (Ferreira e Sousa, 2007).

Contudo, o isolamento/identificação dos organismos tem limitações associadas, sobretudo porque a grande maioria dos resultados são negativos. Existem variadíssimas causas para que isto aconteça, como, por exemplo, a administração materna de antibióticos dado que alguns deles atravessam a barreira transplacentar; a bacteriémia intermitente; e o volume reduzido de amostra de sangue recolhida do bebé para posterior hemocultura (Chen et al., 2009; Vouloumanou et al., 2011).

IV. COMPORTAMENTO DA PROCALCITONINA

1. Características da procalcitonina

A PCT é uma proteína precursora da calcitonina (Meisner et al., 1999). A PCT possui 116 aminoácidos (Oberhoffer et al., 1999) e sofre várias clivagens originando a calcitonina, com 32 aminoácidos, catacalcina, com 21 aminoácidos, e um fragmento N-terminal, a que se deu o nome de aminoprocalcitonina, com 57 aminoácidos (Russwurm et al., 1999) (Figura 3). Esta fragmentação ocorre em diferentes órgãos, nomeadamente pâncreas, pulmão, macrófagos e células da tiróide (Russwurm et al., 1999). Sastre et al. (2007) sustentou a teoria sobre a origem pulmonar da PCT devido ao facto desta surgir aumentada, nos primeiros dez dias de vida, em crianças assintomáticas, com SDR.

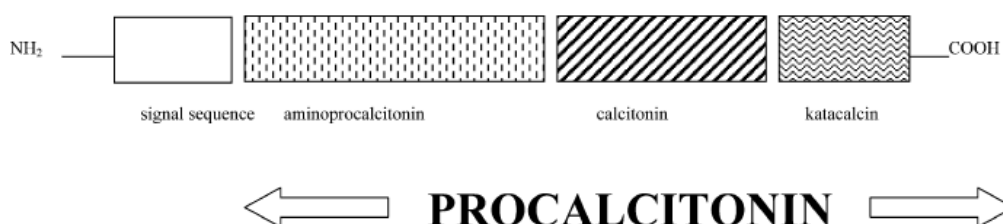


Figura 3: Diagrama da fragmentação da molécula de PCT (Carrol et al., 2002)

A PCT, a nível biológico, funciona como um mediador da resposta inflamatória, de forma semelhante à IL-6 e IL-8 (Carrol et al., 2002), ou seja, estimula a multiplicação dos linfócitos B maduros e posterior evolução para plasmócitos (Failace, 2003). A PCT possui efeitos nefastos quando presente em grandes quantidades no organismo, podendo causar danos nos órgãos e levar à morte celular dos tecidos. Quando presente em

pequenas quantidades possui propriedades benéficas, não só, em termos biológicos mas também porque permite diagnosticar situações de sepsis de origem bacteriana e iniciar o mais rápido possível a terapêutica antimicrobiana (Bachur e Harper, 2010).

Quanto à cinética da PCT, os valores desta aumentam 3 a 4 horas após o início de sepsis, atingindo o pico máximo após 6 horas, retomando a valores normais após 2 a 3 dias, tendo um tempo de semi-vida de 25 a 30 horas (Carrol et al., 2002).

2. Procalcitonina no adulto

Os valores de cut-off podem variar de estudo para estudo, oscilando normalmente entre 0,2 a 5 ng/mL (Carrol et al., 2002).

Mas, segundo bioMerieux, uma concentração inferior a 0,5ng/mL representa um reduzido risco de sepsis severo e/ou choque séptico. Quando a concentração é superior a 2ng/mL representa um risco elevado de sepsis severo e/ou choque séptico. No entanto, as concentrações inferiores a 0,5ng/mL não podem permitir excluir infecção, devido a algumas infecções localizadas que podem estar associadas a fracas concentrações, ou devido a uma infecção sistémica recente (< 6 horas). As concentrações de PCT compreendidas entre 0,5ng/mL e 2,0ng/mL deverão ser interpretadas tendo em conta sempre o contexto clínico do doente (vidas® BRAHMS PCT).

3. Procalcitonina no período neonatal

Os valores de PCT encontrados em neonatos são diferentes dos valores presentes no intervalo de referência de um indivíduo adulto (PCT <0,5ng/L) (Turner et al., 2006; vidas® BRAHMS PCT) devido a um aumento fisiológico da PCT após o nascimento (Chiesa et al., 1998).

Segundo Chiesa et al. (2003), um neonato logo após o parto tem uma concentração média de PCT de 0,22µg/mL, nas 24 horas de vida seguintes apresenta valores de

5,6µg/mL, e às 48 horas a concentração de PCT decai para 2,15µg/mL. Estes valores foram conseguidos numa população controlo de 115 crianças (tabela 2 e gráfico 1).

Chiesa et al. (1998) afirma que, após um aumento inicial, os valores de PCT diminuem, entre as 48 e as 72 horas, aproximando-se dos valores encontrados aquando do nascimento. Por sua vez, Turner et al. (2006) registou um aumento fisiológico da PCT nas primeiras 48 horas de vida, com um pico de 20ng/mL às 28 horas, diminuindo nas horas seguintes, entre as 72 e as 96 horas, contrariou os registos efectuados até então, uma vez que a normalização dos valores neste estudo é mais tardia.

Santuz (et al., 2008), num estudo efectuado numa população de 130 recém-nascidos não infectados, verificou que, no momento do nascimento, a média das concentrações de PCT era de 0,3µg/mL, nas primeiras 24 horas de 7,2µg/mL, acabando por descer para 6,7µg/mL, 48 horas após o nascimento de neonato (Tabela 2 e gráfico 1).

| Horas após o nascimento | Chiesa et al. (2003) | Santuz et al. (2008) |
|-------------------------|----------------------|----------------------|
| 0 | 0,22µg/mL | 0,3µg/mL |
| 24 | 5,6µg/mL | 7,2µg/mL |
| 48 | 2,15µg/mL | 6,7µg/mL |

Tabela 2: Comparação dos valores de cut-off da PCT (Chiesa et al., 2003 e Santuz et al., 2008)

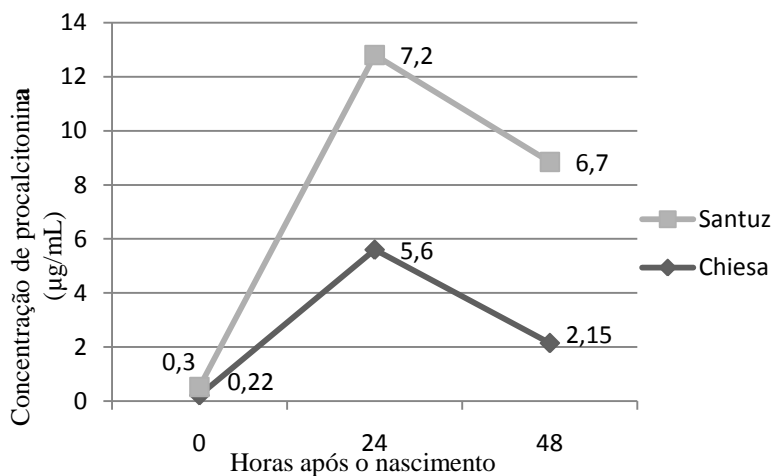


Gráfico 1: Comparação entre valores de procalcitonina às 0, 24 e 48 horas (Chiesa et al., 2003; Santuz et al., 2008)

Almeida et al. (2009) comparou o comportamento da PCT e da PCR, numa população controlo constituída por 216 recém-nascidos. Este estudo verificou que os valores de PCT aumentam após o nascimento, atingindo valores superiores aos usuais valores de referência. A comparação feita, também neste estudo, entre os valores de PCT com PCR serve para verificar que, em situações fisiológicas, a PCT surge alterada mais cedo que a PCR, demorando menos tempo a voltar a valores de referência. Almeida et al. (2009), Joram et al. (2006), Kordek et al. (2003) estudaram a evolução dos valores de PCT ao longo dos primeiros 10 dias de vida, incluindo a análise ao cordão umbilical (tabela 3). No primeiro dia de vida houve um aumento da concentração da PCT, tendo havido depois um decréscimo dos seus valores atingido, no final, valores muito semelhantes aos inicialmente verificados na análise do cordão umbilical (Almeida et al., 2009).

| Tempo de recolha | PCT (ng/mL) |
|------------------|---------------------|
| | Mediana (min.-máx.) |
| Cordão Umbilical | 0,08 (0,04-1,06) |
| 1-23 horas | 0,99 (0,06-6,35) |
| 24-47 horas | 0,84 (0,16-4,34) |
| 48-72 horas | 0,44 (0,07-3,96) |
| >3-10 dias | 0,08 (0,05-0,10) |

Tabela 3: Valores de PCT em indivíduos saudáveis nos primeiros dias de vida (Almeida et al., 2009)

Chiesa et al. (1998) refere que a prematuridade, o baixo peso à nascença e outros factores intrínsecos interferem no comportamento da PCT, podendo esta surgir mais elevada ou, pelo contrário, mais baixa do que seria de esperar em situações não patológicas.

Por outro lado, um estudo de Guibourdenche (et al., 2002) relaciona as semanas de gestação com as concentrações de PCT em neonatos, não infectados. O autor conclui que as concentrações de PCT, ao longo das semanas de gestação, não variam significativamente em crianças não infectadas. Verificou que os resultados eram semelhantes e rondavam 1,0µg/mL, no primeiro dia de vida (Guibourdenche et al., 2002) (tabela 4 e gráfico 2).

Este autor estudou bebês com menos de 32, 32-34, 36-38 e com ≥ 38 semanas de gestação. Concluindo que os valores de concentração da PCT, no primeiro dia de vida, não variam expressivamente com a idade gestacional (tabela 3) mas, contudo, verificou-se que, em todos os grupos de estudo, houve um aumento deste marcador, no final do primeiro dia de vida, que posteriormente diminuía até valores iniciais (Guibourdenche et al., 2002).

| Semanas de gestação | < 32 | 32 - 34 | 34 - 36 | 36 - 38 | ≥ 38 |
|--------------------------------------|------|---------|---------|---------|-----------|
| Concentração de PCT no dia 1 (µg/mL) | 0,5 | 0,9 | 0,3 | 1,1 | 0,7 |

Tabela 4: Valores de concentração de PCT no dia 1 relacionados com a duração do período gestacional em casos de neonatos não infectados (Guibourdenche et al., 2002)

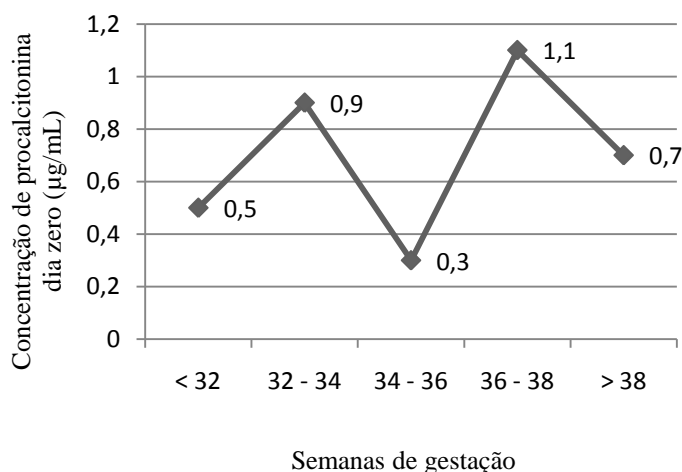


Gráfico 2: Concentração de PCT no dia 0 vs semanas de gestação, em neonatos não infectados (Guibourdenche et al., 2002)

Pelo contrário, Turner et al. (2006), num estudo efectuado, em bebés lactentes não infectados, afirmou que o comportamento da PCT é dependente da idade gestacional, mas não do peso com que a criança nasce. Este autor concluiu que a concentração de PCT diminuía com a prematuridade possivelmente devido à imaturidade do sistema imunitário.

Não será de estranhar que devido ao baixo peso molecular da PCT, aproximadamente 13KDa (Bergmann e Bohoun, 2002; Gendrel e Bohoun, 2000), tenha surgido a possibilidade da passagem transplacentar da PCT, justificando os elevados níveis desta em recém-nascidos (Assuma et al., 2000).

Segundo Assuma et al. (2000), os valores de PCT no cordão umbilical quando comparados com os valores do mesmo marcador no sangue materno, poderia sugerir que esta atravessa a barreira placentária, pois ambos apresentavam valores muito semelhantes. No entanto, no mesmo estudo, passadas 24 a 48 horas após o nascimento, há uma grande diferença de valores da PCT, no sangue do bebé colhido às 24 e 48 horas e no sangue materno, o que não se consegue explicar, apenas com a passagem transplacentar. Portanto, Assuma et al. (2000) sugere que o aumento da PCT tenha fundamentalmente origem endógena.

Pelo contrário, Sastre et al. (2007) estudou casos de bebés que estiveram sujeitos a corioamnionite, infecção das membranas, tendo verificado que os valores de PCT, no momento do nascimento, são elevadíssimos, supõem-se que se deva, em grande parte, à passagem transplacentar da PCT.

Assuma et al. (2000) refere ainda que, o stress perinatal, a anestesia e a cirurgia não alteram significativamente as concentrações de PCT no neonato. De salientar, no estudo, é que as mães que possuíam alto risco de infecção deram origem a neonatos com valores mais elevados de PCT do que recém-nascidos oriundos de mães que possuíam um baixo risco de infecção.

A concentração de PCT no recém-nascido é referida por alguns autores (Assuma et al., 2000; Sastre et al., 2007) como sendo afectada por desordens relacionadas com a gravidez, como é o caso, do tipo de parto a que mãe foi submetida, o uso ou não de anestesia, duração do parto e o stress a que ambos foram submetidos.

4. Procalcitonina em casos de patologias que não sepsis

Um estudo efectuado por Chiesa et al. (1998) refere que há situações clínicas que não sepsis em que a PCT surge alterada. Este estudo comparou uma população controlo com um grupo de neonatos filhos de mães com diabetes gestacional, asfixia à nascença, doença das membranas hialinas, taquipneia transitória, doença hemolítica, hipoglicemia, hipocalcemia, síndrome de aspiração mecónio e/ou hipertensão (Chiesa et al., 1998). As concentrações de PCT, nestas situações surgiram alteradas aquando do nascimento, contudo, com diferentes intensidades. Sastre et al. (2007) refere-nos outros factores que contribuem para um aumento fisiológico da PCT em neonatos, sendo eles: hemorragia intracraniana do neonato, pré-eclampsia materna, síndrome de desconforto respiratório, falha hemodinâmica, colonização da mãe com *Streptococcus* do grupo B, sendo que o aumento da concentração poderá estar relacionada com a hipóxia a que o bebé está sujeito (Sastre et al., 2007). Se bem que, estudos recentes mostram que a diabetes gestacional poderá não estar relacionada com o aumento de PCT no neonato (Almeida et al., 2011).

A tabela 5 mostra-nos como a cesariana, ruptura das membranas por um tempo superior a 18 horas, coroamnionite (existência de infecção na parte interior da placenta, resultante da colonização por bactérias), ressuscitação do neonato no momento do nascimento e, por fim, exposição pré-natal a medicamentos esteróides, são factores que, à partida, e por si só, contribuem para que haja um aumento da PCT (Sastre et al., 2007). Verifica-se então que, ao nascimento, os neonatos com coroamnionite apresentam um valor elevado de PCT (18,61ng/mL). Entre as 12 e 24 horas de vida nota-se que os neonatos apresentam ainda valores elevados de PCT, se bem que mais baixos que nas primeiras horas de vida (até às 48 horas de vida), tendo-se posteriormente notado um ligeiro aumento (36-48 horas de vida). Em contrapartida, verificou-se um aumento progressivo da concentração de PCT em neonatos que foram sujeitas a ressuscitação no nascimento (Sastre et al., 2007).

Mediana dos valores de concentração de PCT (ng/mL)

| Factor de risco | No nascimento | 12 – 24h de vida | 36 – 48h de vida |
|----------------------------------------|---------------|------------------|------------------|
| Cesariana | 1,08 | 0,73 | 0,91 |
| Ruptura das membranas (>18h) | 0,67 | 1,32 | 0,96 |
| Corioamnionite | 18,61 | 1,08 | 1,78 |
| Ressuscitação no momento do nascimento | 1,30 | 5,58 | 8,71 |
| Exposição esteróide pré-natal | 1,84 | 0,58 | 0,93 |

Tabela 5: Valores medianos de concentração de PCT ao longo das primeiras horas de vida vs factores de risco (Sastre et al., 2007)

Segundo o mesmo autor (Sastre et al., 2007), nos neonatos nascidos por cesariana os valores de PCT surgiam elevados, tendo-se mantido um pouco elevados até às 48 horas de vida. Sastre et al. (2007) conclui, então, que os valores de PCT dependem directamente do tipo de parto. A ruptura de membranas por tempo superior a 18 horas, faz aumentar os valores de PCT entre as 12 e as 24 horas de vida, voltando a descer posteriormente (tabela 5). Quanto à exposição esteróide pré-natal do bebé não há alteração muito significativa dos valores de PCT desde o nascimento até às 48 horas subsequentes (Sastre et al., 2007) (tabela 5).

Explicação possível para o aumento dos valores de PCT, em situações de corioamnionite e ressuscitação à nascença, é o facto do neonato ter sido submetido a uma situação de stress com hipóxia tecidual (Sastre et al., 2007). Têm sido reportados outros casos de neonatos que sofreram asfixia perinatal e que tiveram necessidade de entubação, onde se verificou também o aumento da concentração de PCT (Sastre et al., 2007).

V. PROCALCITONINA COMO MARCADOR DE SEPSIS NEONATAL

Um marcador ideal deverá permitir um diagnóstico precoce (para que se inicie tão rápido quanto possível o tratamento antibacteriano) (Turner et al., 2006), deverá fazer a distinção entre infecção e não infecção, permitir a monitorização da situação clínica, bem como informar acerca do prognóstico da doença (Peidró et al., 2007). Para isso o marcador ideal deve ser sensível, específico e com elevados VPP e VPN.

A especificidade é a proporção de indivíduos não doentes que têm um teste negativo (dentro dos valores de referência). Sensibilidade é a proporção de indivíduos doentes com o teste positivo (fora dos valores de referência). O VPP é a proporção de verdadeiros positivos relativamente à totalidade de testes positivos. Quanto ao VPN é a proporção de verdadeiros negativos relativamente à totalidade de testes negativos (Oliveira, 2009).

Os marcadores podem ser classificados como tardios ou precoces, consoante o tempo necessário para surgir alterado após o início da infecção, neste caso, ou seja, se o marcador em questão surgir alterado pouco tempo após o confronto imunológico, estamos perante um marcador precoce e, se, por outro lado, este demorar mais de 12 horas são considerados marcadores tardios. A detecção tardia de sepsis pode ter consequências graves, podendo mesmo impedir que o recém-nascido se salve, devido ao

início tardio da terapêutica. Pelo contrário, a detecção precoce permite que haja uma rápida intervenção, isto é, que seja iniciado o tratamento da sepsis, podendo assim evitar sequelas ou mesmo a morte (Carrol et al., 2002).

A PCT comporta-se de forma distinta, em quadros de inflamação, quando comparada com outras proteínas de fase aguda. Esta surge no sangue precocemente, ou seja, três horas após o contacto com a endotoxina. Por outro lado, as proteínas de fase aguda, como a PCR ou SAA, são produzidas mais tardiamente como nos mostra o gráfico 3 (Gendrel e Bohoun, 2000).

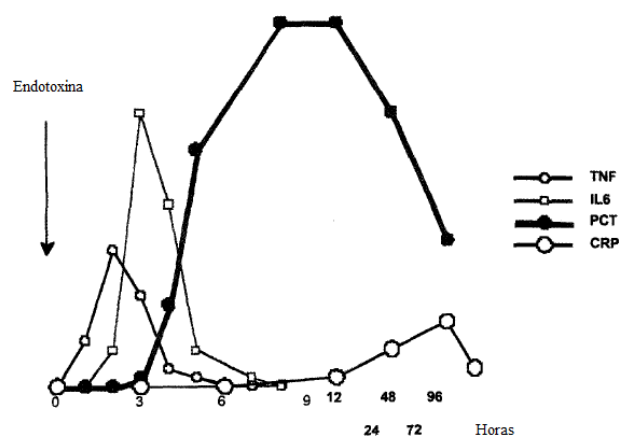


Gráfico 3: Variação na concentração de diferentes marcadores após da administração de um endotoxina (Gendrel e Bohoun, 2000)

No gráfico 3, pode-se observar que a IL-6 e o TNF α sobem rapidamente, após exposição à endotoxina. A concentração do TNF α sobe quase de imediato com o primeiro confronto imunológico. É muito importante que os marcadores surjam alterados precocemente, pois assim, conseguir-se-ia iniciar rapidamente o tratamento evitando consequências mais graves. Contudo, é bastante difícil, devido à falta de sintomatologia do indivíduo nas primeiras horas de vida e aos valores baixos de especificidade de alguns dos marcadores, como por exemplo, IL-6 e TNF α (Gendrel e Bohoun, 2000).

Por outro lado, a PCR só aparece com alterações significativas na sua concentração passadas cerca de 12 horas o que, em alguns casos, poderá ser demasiado tarde para o diagnóstico de um quadro de infecção. Quanto à PCT, o gráfico 3 mostra que esta é um marcador precoce, uma vez que podem ser detectados valores elevados 3 horas após o

contacto com a endotoxina. A PCT é o marcador que surge mais cedo e permanece mais tempo com valores elevados em caso de infecção comparativamente a PCR (Gendrel e Bohoun, 2000). Da mesma opinião é Chiesa et al. (2003), que refere que a PCT é um marcador precoce de sepsis neonatal, o que faz com que o seu uso seja cada vez mais recorrente.

Segundo Carrol et al. (2002), desde cedo a PCT e a sepsis foram relacionadas, devido às elevadas concentrações desta em pacientes com infecções bacterianas. Neste estudo, verificou-se que, independentemente dos valores de concentração de PCT, os valores de calcitonina mantiveram-se normais para todos os pacientes. Concluindo assim, que os valores da calcitonina são independentes dos da PCT. Ou seja, apesar da PCT ser uma pró-hormona da calcitonina, os valores de PCT, na corrente sanguínea, são independentes da primeira e é induzida potentemente por um LPS (Carrol et al., 2002).

Sastre et al. (2007) afirma que os valores da PCT apresentam um aumento entre a 3^a e a 4^a hora após o início de sepsis, alcançando um pico às 6 horas, voltando a diminuir após 2 a 3 dias, apresentando um tempo de semi-vida de 25 a 30 horas (Carrol et al., 2002).

A PCR, por sua vez, após uma infecção apresenta valores alterados após 8 a 10 horas, atingindo o seu pico máximo entre as 20 e as 72 horas, acabando por normalizar ao fim do 5^o ou 6^o dia. Quanto ao comportamento da IL-6, podemos verificar que esta apresenta valores alterados 1 a 2 horas após o confronto do organismo com o agente invasor, sabe-se que 24 horas após o início da infecção os seus valores são indetectáveis (Carrol et al., 2002). Conhecendo estas cinéticas, pode-se facilmente concluir que a PCT é claramente um marcador de sepsis mais precoce que a PCR. A IL-6 não é um marcador muito utilizado devido à sua efemeridade, aos elevados custos associados à sua determinação e à falta de especificidade deste marcador (Carrol et al., 2002).

Quando estamos perante um processo inflamatório de natureza bacteriana e/ou infecções virais os níveis de PCT alteram-se. Contudo, em casos de infecção bacteriana os níveis de PCT aumentam para valores elevados, podendo chegar a níveis 1000 vezes superiores aos que seriam de prever num indivíduo saudável (Carrol et al., 2002). Carrol et al. (2002) verificou que quando as análises apresentavam valores de PCT de cerca de 5ng/mL eram indicativo de que o paciente possui uma infecção grave, geralmente com

bacteriemia associada. Segundo Turner et al. (2006), a PCT é uma ferramenta eficaz para a detecção de infecção bacteriana, em laboratório (Turner et al., 2006).

As principais limitações da PCT na infecção bacteriana são, por exemplo, o intervalo de referência ser demasiado amplo, o custo e o tempo de análise demasiado elevado (Carrol et al., 2002), a recolha da amostra sanguínea ser difícil e incomoda para as crianças (Chen et al., 2009). Contudo, o uso de células de cordão umbilical limitará menos o uso da PCT como marcador de sepsis, uma vez que dá maior liberdade ao operador e maior comodidade à criança (Kordek et al., 2003).

Segundo Santuz et al. (2008), outros marcadores utilizados no diagnóstico de sepsis neonatal são a contagem de glóbulos brancos e/ou comportamento da PCR, apresentam valores de especificidade piores quando comparados com a PCT.

Quanto à distinção entre infecção bacteriana e infecção fúngica, segundo Carrol et al. (2002) a PCT parece ser mais específico de infecção bacteriana. Num estudo efectuado, a PCT apresenta valores moderadamente elevados quando comparados com a PCR, na infecção de origem vírica. A PCT foi utilizada como marcador de gravidade da doença e não propriamente na detecção desta (Carrol et al., 2002).

Ao contrário do que acontece com outros marcadores de fase aguda, como é o caso da PCR e do α -interferão, a PCT não aparece significativamente aumentada em casos de infecção viral (Carrol et al., 2002). A PCT é muito pouco específica de infecções virais quando comparada com outros marcadores (Carrol et al., 2002; Manzano et al., 2009), ou seja, os valores de PCT não surgem expressivamente alterados. Ao que parece o α -interferão será o mais específico na detecção de infecções virais, embora possua uma sensibilidade relativamente baixa, surgindo alterado em 77% dos casos com um quadro confirmado de infecção viral.

Segundo Carrol et al. (2002), os níveis de PCT aparecem mais elevados em situações de infecção clinicamente comprovada, do que em situações em que os indivíduos apresentam apenas alguns dos critérios de SIRS (Carrol et al., 2002). Referencia-nos ainda que nos pacientes infectados com HIV e com infecções secundárias, entre as quais por micobactérias, apresentam valores de PCT baixos, mas apresentam valores elevados de PCT em indivíduos com sepsis (Carrol et al., 2002).

É logicamente útil no diagnóstico de sepsis um marcador que distinga SIRS não infecciosa de sepsis (Pavnick-Arnol et al., 2007). A PCT ao que parece é um bom marcador devido à rápida e confiável distinção entre SIRS e sepsis. Contudo, esta deverá ser sempre acompanhada da análise de outros parâmetros laboratoriais, como exames microbiológicos, para que se inicie com maior confiança o tratamento da infecção (Carrol et al., 2002).

As concentrações de PCT foram significativamente mais elevadas em crianças que padeciam de meningite bacteriana do que em crianças que possuíam meningite viral o que, mais uma vez, comprova que a PCT reage, aumentando os seus níveis, na presença de bactérias, não se verificando o mesmo aumento na presença de vírus. (Carrol et al., 2002).

Num estudo de Joram et al. (2006), este verificou que a PCT necessita de valores de concentração sérica em amostras do cordão umbilical mais baixos, cerca de 1,2ng/mL que a PCR que precisa de concentrações de 2,5mg/mL para dar os valores de sensibilidade, especificidade, VPP e VPN mais equilibrados e fiáveis na interpretação dos resultados, podendo levar a menos erros de diagnóstico. Isto é, a PCT revelou ser um marcador sensível e específico na detecção de sepsis neonatal (Joram et al., 2006).

Num estudo efectuado por Joram et al. (2011), descreve-nos o comportamento da PCT em sangue do cordão umbilical, concluindo que esta é um marcador confiável de sepsis em crianças infectadas e não infectadas, apresentando valores de especificidade de 0,92, sensibilidade de 0,97, VPP de 0,28 e VPN de 0,99.

Na tabela 6, podemos ver os valores de sensibilidade e de especificidade da PCR versus PCT e podemos verificar que a PCT apresenta, em todos os parâmetros avaliados (sensibilidade, especificidade, VPN e VPP), uma melhor performance que a PCR. A PCT possui um VPN muito elevado, bem como o VPP, comparativamente com a PCR (Joram et al., 2006).

| | Sensibilidade | Especificidade | VPP | VPN |
|-----|---------------|----------------|-------|-------|
| PCT | 87,5% | 98,7% | 87,5% | 98,7% |

| | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|
| CRP | 50% | 97% | 67% | 94% |
|-----|-----|-----|-----|-----|

Tabela 6: Comparação dos valores de sensibilidade, especificidade, VPP e VPN, entre a PCT e a PCR (Joram et al., 2006)

Kordek et al. (2003) estudou o comportamento de alguns marcadores de sepsis, como a PCR, a PCT e a contagem de glóbulos brancos, em amostras de sangue do cordão umbilical (tabela 7). Mediante as suas concentrações foi calculada a especificidade, sensibilidade, VPP e VPN. Verificou que todos os marcadores surgem alterados no sangue do cordão umbilical. Contudo, a PCT apresenta maiores valores de especificidade, sensibilidade, VPP e VPN quando comparada com os outros marcadores em questão, ou seja, a PCT apresenta-se como o marcador com melhor resposta (Kordek et al., 2003).

| Marcadores | Concentração | Especificidade | Sensibilidade | VPP | VPN |
|------------|------------------------------------------|----------------|---------------|-----------|-----------|
| PCT | $\leq 0,6\text{ng/mL}$ | 8 | 100 | 18 | 100 |
| | $\leq 1,0\text{ng/mL}$ | 68 | 72 | 32 | 92 |
| | $\leq 1,2\text{ng/mL}$ | 81 | 69 | 42 | 93 |
| | $\leq 1,4\text{ng/mL}$ | 86 | 44 | 40 | 88 |
| | $\leq 5,0\text{ng/mL}$ | 98 | 3 | 25 | 83 |
| | $\leq 80\text{ng/mL}$ | 100 | 3 | 100 | 83 |
| PCR | $\leq 0,5\text{mg/mL}$ | 66 | 50 | 19 | 86 |
| | $\leq 1\text{mg/mL}$ | 88 | 28 | 19 | 86 |
| | $\leq 2,0\text{mg/mL}$ | 94 | 22 | 19 | 85 |
| | $\leq 2,5\text{mg/mL}$ | 97 | 22 | 20 | 86 |
| | $\leq 5,0\text{mg/mL}$ | 99 | 16 | 19 | 85 |
| | $\leq 20\text{mg/mL}$ | 100 | 9 | 18 | 84 |

| | | | | | |
|--------------------|---------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | ≤5g/mL | 0 | 88 | 15 | 0 |
| | ≤12g/mL | 42 | 63 | 18 | 85 |
| Glóbulos Branco | ≤20g/mL | 87 | 16 | 2 | 83 |
| | ≤25g/mL | 95 | 6 | 2 | 83 |
| | ≤70g/mL | 1 | 0 | 0 | 83 |

Tabela 7: Comparação de valores de sensibilidade, especificidade, VPP e VPN, nos marcadores PCT, PCR e glóbulos brancos (Kordek et al., 2003)

Noutro estudo (Joram et al., 2006) também realizado com amostras de sangue do cordão umbilical, conclui-se que a PCT é um marcador sensível e específico de infecção em neonatos, apresentando um VPN muito alto, o que faz com que perante um resultado negativo se descarte, quase de imediato, a possibilidade de estarmos perante uma infecção, evitando assim os tratamentos desnecessários.

Chiesa et al. (2003) comparou os resultados de três marcadores, a PCT, a PCR e a IL-6 em três tempos de colheita diferentes (amostras colhidas no tempo 0, 24 e 48 horas de vida) e referiu que dos três marcadores, a PCT é a mais precoce e a primeira a normalizar após a resolução da infecção.

Segundo Ucar et al. (2008), por ordem decrescente de sensibilidade e especificidade, no momento de diagnóstico, encontra-se a PCR, a PCT, o TNF α e a AAS (tabela 8). Contudo, recomendam a utilização de outros parâmetros, como a contagem de leucócitos e os valores da PCR, mais tardiamente. Apesar da PCR aparecer posteriormente à PCT, Ucar refere-nos que será mais fiável a análise da PCR devido aos elevados valores de sensibilidade e de especificidade que a PCR possui neste estudo. Quanto à sensibilidade, no dia 0, a PCR apresentou os valores mais elevados, o mesmo se seguiu com os dias 4 e 8 em que teve uma sensibilidade de 100%, enquanto os outros marcadores apresentaram resultados significativamente mais baixos, como é o caso da AAS em que os valores rondam os 19% (Ucar et al., 2008).

Sensibilidade (%)

Especificidade (%)

| | Dia 0 | Dia 4 | Dia 8 | Dia 0 | Dia 4 | Dia 8 |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| PCT | 86,1 | 83,3 | 69,4 | 97,2 | 86,1 | 97,2 |
| TNF- α | 83,3 | 80,6 | 86,1 | 80,6 | 80,6 | 80,6 |
| CRP | 97,2 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 |
| SAA | 75,0 | 86,1 | 19,4 | 44,4 | 33,3 | 100,0 |

Tabela 8: Comparação da sensibilidade e da especificidade da PCT, TNF α , PCR e AAS, nos dias 0, 4 e 8 (Ucar et al., 2008)

Quanto à especificidade, no estudo referido, a PCR apresenta valores muito elevados (100%), quando comparada com a PCT, tendo esta valores um pouco mais baixos. Quanto à SAA, esta apresenta valores muito baixos nos primeiros dias, contudo, ao 8º dia apresenta uma especificidade de 100%, levando-nos a crer que será um bom marcador, numa fase mais tardia. Relativamente ao marcador TNF α , este apresenta valores menos razoáveis que a PCR, nem tão elevados como a PCT. Contudo, em algumas situações, será um bom marcador, quanto mais não seja para posterior confirmação de sepsis, ou seja, o seu uso fica condicionada devido a sua cinética (Ucar et al., 2008) (tabela 8 e gráfico 4 e 5).

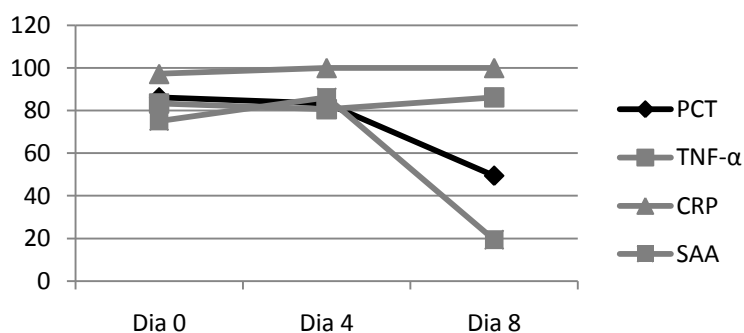


Gráfico 4: Valores de sensibilidade (%) da PCT, TNF α , PCR e SAA, nos dias 0, 4 e 8

Procalcitonina como marcador de sepsis neonatal

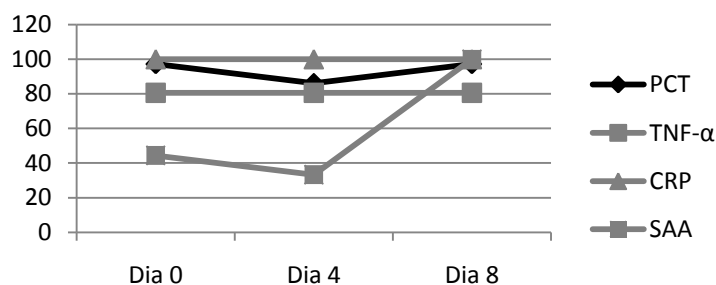


Gráfico 5: Valores de especificidade (%) da PCT, TNF α , PCR e SAA, nos dias 0, 4 e 8

Num estudo efectuado por Almeida et al. (2010), onde se analisa o comportamento de da PCR, da PCT, leucócitos, neutrófilos e plaquetas, em neonatos com suspeita de sepsis, verificou-se que houve um aumento dos valores de PCT até às 22 horas. Neste estudo concluiu-se que a PCT apresenta valores de sensibilidade (94%), especificidade (89%), VPN (89%) e VPP (94%) muito melhores que os obtidos com a PCR, como mostra a tabela 9 (Almeida et al., 2011).

| | PCR | PCT | Neutrófilos | Leucócitos | Plaquetas |
|----------------|-----|------------|-------------|------------|-----------|
| Sensibilidade | 53% | 94% | 47% | 53% | 18% |
| Especificidade | 78% | 89% | 67% | 56% | 78% |
| VPP | 82% | 94% | 73% | 69% | 60% |
| VPN | 47% | 89% | 40% | 39% | 33% |

Tabela 9: Valores de sensibilidade, especificidade, VPN e VPP da PCR, PCT, neutrófilos, leucócitos e plaquetas (Almeida et al., 2011)

Segundo Chiesa et al. (1998), nas primeiras 48 horas, após o início de sepsis, a sensibilidade da PCT é quase o dobro da sensibilidade da PCR (tabela 10). Nos dias que se seguem, até ao mês de idade, a PCT apresenta valores na ordem dos 100% enquanto na PCR apresenta valores de cerca de 70%. Quanto à especificidade a PCT apresenta 100% de especificidade, não tendo sido registados valores deste parâmetro para a PCR. Verificou-se que dois recém-nascidos faleceram. É de notar que, em ambos, os valores de PCT permaneceram sempre elevados, enquanto nos outros recém-nascidos os valores retornaram aos seus valores normais após intervenção com terapêutica antimicrobiana,

ou seja, o confronto imunológico continuou e os bebés sucumbiram. Provavelmente o tratamento administrado não foi o mais correcto para as situações referidas ou então já foi administrado tardiamente (Chiesa et al., 1998).

| | Sensibilidade | | Especificidade |
|-----|---------------|-------------|----------------|
| | 48 horas | 3-30 dias | 3-30 dias |
| PCT | 85,7% | 100% | 100% |
| CRP | 46,4% | 69,5% | ----- |

Tabela 10: Comparação dos valores de sensibilidade e especificidade da PCT e da PCR, nas primeiras 48 horas de vida e dos 3 aos 30 dias (Chiesa et al., 1998)

VI. CONCLUSÃO

Muitos foram os estudos efectuados na investigação usando a PCT como marcador de sepsis neonatal, numa tentativa de encontrar um marcador precoce para esta situação clínica que é considerada uma das principais, senão a principal, causa de mortalidade e morbidade em recém-nascidos.

Contudo, no que diz respeito ao facto da PCT ser, ou não, um bom marcador de sepsis, as opiniões são inconclusivas provavelmente devido à heterogeneidade das populações em estudo nos diferentes trabalhos e, muitas das vezes, nem mesmo dentro destas populações há homogeneidade. A própria definição de sepsis vai variando de estudo para estudo.

Outros factores que contribuem para a disparidade dos resultados encontrados são o facto de haver situações não sepsis em que a PCT surge alterada, como é o caso da diabetes gestacional, ruptura prematura das membranas, doença hemolítica,

ressuscitação no momento do nascimento, asfixia perinatal, coroamnionite, entre outras situações clínicas. Estas situações podem influenciar a leitura dos valores de PCT quando não estão devidamente contextualizadas.

A PCT apresenta, contudo, na maioria dos estudos, um valor de sensibilidade e de especificidade alto, VPN e VPP razoavelmente elevados em situações de sepsis neonatal. Este facto torna-a uma ferramenta bastante útil no diagnóstico da sepsis após início da terapêutica. A sua rápida cinética pode permitir um acompanhamento mais correcto da acção da terapêutica.

Apesar de muitos estudos terem sido feitos, muito mais vai ter de se investigar para confirmar, ou não, a fiabilidade da PCT como marcador de sepsis neonatal.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida, C.; Pinto, M.; Ferreira, S.; Schmith, D.; Carrapato, M.R.G. (2011). Influence of Gestacional Diabetes in Reference Intervals of PCT, CRP and Haematological Values in Neonates. *The 6^o International Symposium on Diabetes & Pregnancy*. Salzburg, Austria. March 23-26. Abstract n.º 498.

Almeida, C., Pinto, M., Ferreira, S., Schmith, D., Marinho, L. e Carrapato, M.R.G. (2010). Heamatological, C-Reactive Protein and Procalcitonin Values of Full Term Healthy Neonates. *XXII European Congress of Perinatal Medicine*. Granada, Spain. May 26-29. Abstract n.º PS341.

Almeida, C., Pinto, M., Ferreira, S., Schmith, D., Marinho, L. e Carrapato, M.R.G. (2010). Heamatological, C-Reactive Protein behaviour in neonatal sepsis. *3rd Congresso*

the European Academy of Paediatric Societies. Copenhagen, Denmark. October 23-26. Abstract n.º 1767.

Almeida, C., Pinto, M., Ferreira, S., Schmith, D., Marinho, L. e Carrapato, M.R.G. (2009). Procalcitonin: a marker of neonatal infection and a parameter to asses response to treatment? *50º Annual Meeting of the European Society for Pediatric Research*, Hamburg, Germany. October 9-12. Abstract n.º 96.

Areosa, F. A., Cardoso, E. M. e Pacheco, F. C. (2007). *Fundamentos de Imunologia*. Lisboa, LIDEL, pp. 193-208.

Bachur, R.G. e Harper, M.B. (2010). Predictive Model for Serious Bacterial Infections Among Infants Younger Than 3 Months of Age. *Pediatrics*, 108 (2), pp. 311-316.

Bargues, L., Chancerelle, Y., Catineau, J. e Jault, P.; Carsin, H. (2007). Evaluation of serum procalcitonina concentration in the ICU following severe burn. *Burns*, 33, pp. 860-864.

Betanzo, R.O.B. (2007). Procalcitonina, protein C reactiva y recuento leucocitario en recién nacidos de muy bajo peso con sepsis neonatal tardia. *Na Pedriatic (Barc.)*, 66(5), pp. 538-544.

Boo, N.Y., Nor Azlina, A.A. e Rohana, J. (2008). Usefulness of a semi-quantitative procalcitonin test kit for early diagnosis of neonatal sepsis. *Singapore Medical Journal*, 49(3), pp. 204-207.

Carrol, E.D., Thompson, A.P.J. e Hart, C.A. (2002). Procalcitonin as a marker of sepsis. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 20, pp. 1-9.

Chen, C.J., Lo, Y.F., Huang, M.C., Chung, R.L., Tang, R.B. e Wu, K.G. (2009). A Model for Predicting Risk of Serious Bacterial Infection in Febrile Infants Younger Than 3 Months of Age. *Journal of the Chinese Medical Association*, 72 (10), pp. 521-526.

Chiesa, C., Panero, A., Rossi, N., Stegagno, M., Giusti, M. De e Osborn, J. F.; Pacifico, L. (1998). Reability of Procalcitonin Concentrations for the Diagnosis of Sepsis in Critically Ill neonates. *Clinical Infectious Diseases*, pp. 664-672.

Chiesa, C., Pellegrini, G., Panero, A., Osborn, J.F., Signore, F. e Assuma, M.; Pacifico, L. (2003). C-Reactive Protein, Interleukin-6, and Procalcitonin in the Immediate Postnatal Period: Influence of Illness Severity, Risk Status, Antenatal and Perinatal Complications, and Infection. *Clinical Chemistry*, 49 (1), pp. 60-68.

Cotran, S.R.; Kumar, V.; Collins, T. (2000). *Robbins – Patologia Estrutural e Funcional*, 6ª Edição. Rio de Janeiro, GuanabaraKoogan, pp. 76, 571, 583.

Davies, M.G. e Hagen, P.O. (1997). Systemic inflammatory response syndrome. *British Journal of surgery*, 86, pp. 920-935.

Dubos, F., Korczowski, B., Denizmen, A. A., Martinot, A., Prat, C., Galetto-Lacour, A., Casado-Flores, J., Taskin, E., Leclerc, F., Rodrigo, C., Gervaix, A., Leroy, S., Gendrel, D., Bréart, G. e Chalumeau, M. (2010). Serum Procalcitonin Level and Other Biological Markers to Distinguish Between Bacterial and Aseptic Meningitis in Children: a European multicenter case cohort study. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 162 (12), pp. 1157-63.

Draper, E. S. e Field, J. D. (2007). Epidemiology of prematurity – How valid are comparisons of neonatal outcomes? *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 12 (5), pp. 337-343.

Failace, R. (2003). *Hemograma*, 4ª Edição. Porto Alegre, Artmed, pp. 16, 30, 43.

Ferreira, W. F. C. e Sousa, J. C. F. (1998). *Microbiologia*. Volume 1. Lisboa, LIDEL, pp. 1-98.

Fioretto, J.R., Borin, F.C., Bonatto, R.C., Ricchetti, S.M.Q., Kurokawa, Moraes, M.A.de, Carpi, M.F., Padovani, C.R. e Martin, J.G. (2007). Procalcitonin in children with sepsis and septic shock. *Jornal de Pediatria*, 83(4).

Gendrel, D. e Bohuon, C. (2000). La procalcitonine, un marqueur de l'infection bactérienne. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 30, pp. 495-509.

Gendrel, D., Assicot, M., Raymond, J., Moulin, F., Francoual, C., Badoual, J. e Bohuon, C. (1996). Procalcitonin as a marker for the early diagnosis of neonatal infection. *The Journal of Pediatrics*, 128 (4), pp. 570-573.

Giamarellos-Bourboulis, E.J., Tsangaris, I., Kanni, T., Mouktaroudi, M., Pantelidou, I., Adamis, G., Atmatzidis, S., Chrisofos, M., Evangelopoulou, V., Frantzeskaki, F., Giannopoulos, P., Giannikopoulos, G., Gialvalis, D., Gourgoulis, G. M., Kotzampassi, K., Katsifa, K., Kofinas, G., Kontopidou, F., Koratzanis, G. Koulouras, V., Koutsikou, A., Koupetori, M., Kritselis, I., Leonidou, L., Mega, A., . Mylona, V., Nikolaou, H., Orfanos, S., Panagopoulos, P., Paramythiotou, E., Papadopoulos, A., Papanikolaou, X., Pavlaki, M., Polychronopoulos, V., Skoutelis, A., Theodotou, A., Vassiliaghoulou, M., Douzinas, E. E., Gogos, C., Armaganidis (2011). Procalcitonin as an early indicator of outcome in sepsis: a prospective observational study. *Journal of Hospital Infection*, 77, pp. 58-63.

Goldstein, B., Giroir, B. e Randolph, A.; (2005). International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatric. *Pediatric Critical Care Medicine*, 6 (1), pp. 2-8.

Guibourdenche, J., Bedu, A., Petzold, L., Marchand, M., Mariani-Kurdjan, P., Hurtaud-Roux, M.F., Aujard, Y. e Porquet, D. (2002). Biochemical markers of neonatal sepsis: value of procalcitonin in the emergency setting. *The Association of Clinical Biochemists*, 39, pp. 130-135.

Heimburg, D. von, Steighorst, W., Khorram-Sefat, R. e Pallua, N. (1998). Procalcitonin – a sepsis parameter in severe burn injuries. *Burns*, 24, pp. 745-750.

Hesselink, D.A., Burgerhart, J. S., Bosmans-Timmerarends, H., Petit, P. e Genderen, P. J. van. (2009). Procalcitonin as a biomarker for severe Plasmodium falciparum disease: a critical appraisal of a semi-quantitative point-of-care test in a cohort of travellers with imported malaria. *Malaria Journal*, 1 (8) pp. 206.

Hoffbrand, A.V., Petit, J.E. e Moss, P.A.H. (2004). *Fundamentos da Hematologia*, 4ª Edição. Porto Alegre, Artmed, pp. 329.

Isidor, B., Caillaux, G., Gilquin, V., Loubersac, V., Caillon, J., Roze, J.C. e Guen, C.G. (2007). The use of procalcitonin in the diagnosis of late-onset infection in neonatal intensive care unit patients. *Scandinavian Journal of Infection Diseases*, First Article, pp. 1-4.

Joram, N., Boscher, C., Denizot, S., Louversac, V., Winer, N., Roze, J.C. e Gras-Le Guen, C. (2006). Umbilical cord blood procalcitonin and C reactive protein concentrations as markers for early diagnosis of very early onset neonatal infection. *Archives of Disease in Childhood – Fetal and Neonatal Edition*, 91, pp. 65-66.

Joram, N.; Muller, J.B.; Denizot, S.; Orsonneau, L.; Caillon, J.; Rozé, C. e Gras-Le Guen, C. (2011). Umbilical cord blood procalcitonin level in early neonatal infections: a 4-year university hospital cohort study. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, DOI 10.1007/s10096-011-1187-0.

Junqueira, L. C. e Carneiro, J. (2008). *Histologia Básica*. 11ª Edição. Rio de Janeiro. Guababara Koogan, pp. 254-284.

Kordek, A., Torbé, A., Podraza, W., Loniewska, B., Jursa-Kulesza, J. e Rudnicki J. (2011). Does prenatal antibiotic therapy compromise the diagnosis of early –onset infection and management of the neonate? *Journal of Perinatal Medicine*, 39, pp. 337-342.

Kordek, A., Giedrys-Kalemba, S., Pawlus, B., Podraza, W. e Czajka, R. (2003). Umbilical cord blood serum procalcitonin concentration in the diagnosis of early neonatal infection. *Journal of Perinatology*, 23, pp. 148-153.

Kumar, S. e Paterson-Brown, S. (2010). Obstetric aspects of hypoxic ischemic encephalopathy. *Early Human Development*, 86 (6), pp. 339-344.

Lam, H.S. e Ng, P.C. (2008). Biochemical markers of neonatal sepsis. *Pathology*, 40 (2), pp. 141-148.

Manzano, S., Bailey, B., Girodias, J.B., Cousineau, J., Delvin, E. e Gervais, A. (2009). Comparison of procalcitonina measurement by semi-quantitative method and an ultra-sensitive quantitative method in a pediatric emergency department. *Clinical Biochemistry*, 42, pp. 1557-1560.

Meisner, M., Tschaikowsky, K., Palmaers, T. e Schmidt, J. (1999). Comparison of procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) plasma concentrations at different SOFA scores during the course of sepsis and MODS. *Critical Care*, 3, pp. 45-50.

Novotny, A., Emmanuel, K., Matevossian, E., Kriner, M., Ulm, K., Bartels, H. e Holzmann, B.; Weighardt, H.; Siewert, J.R. (2006). Use of procalcitonin for early prediction of lethal outcome of postoperative sepsis. *The American Journal of Surgery*, 194, pp. 35-39.

Oberhoffer, M., Stonans, I., Russwurm, S., Stonane, E., Vogelsang, H., Junker, U., Jager, L. e Reinhart, K. (1999). Procalcitonin expression in human peripheral blood mononuclear cells and its modulation by lipopolysaccharides and sepsis-related cytokines in vitro. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 134 (1), pp.49-55.

Okada, Y., Minakami, H., Tomomasa, T., Kato, M., Inoue, Y., Kozawa, K., Kimura, H. e Morikawa, A. (2004). Serum procalcitonin concentration in patients with kawasaki disease. *Journal of Infection*, 48, pp. 199-205.

Oliveira, A. G. de. (2009). *Bioestatística, Epidemiologia e Investigação*. Lisboa, Lidel, pp. 185-188.

Peidró, J.A.P., Dios, J.G., Moreno, M.M.U., Avilés, B.G., Campillo, A. de la M. e Benavent, M.M. (2007). Utilidad de la procalcitonina como prueba diagnóstica precoz de sepsis neonatal en recién nacidos con factores de riesgo de infección. *An Pedriatic (Barcelona)*, 67 (6), pp. 530-535.

Rossum, A.M.C. van, Wulkan, R.W. e Oudesluys-Murphy, A.M. (2004). Procalcitonin as an early marker of infection in neonates and children. *The Lancet Infectious Diseases*, 4, pp. 620-630.

Russwurm, S., Oberhoffer, M., Zipfel, P.F. e Reinhart, K. (1999). Procalcitonin – a novel biochemical marker for the mediator – directed therapy of sepsis. *Molecular Medicine Today*, 5, pp. 286-287.

Santuz, P., Soffiati, M., Dorizzi, R.M., Benedetti, M., Zaglia, F. e Biban, P. (2008). Procalcitonin for the diagnosis of early-onset neonatal sepsis: A multilevel probabilist approach. *Clinical Biochemistry*, 41, pp. 1150-1155.

Sastre, J.B.L., Solís, D.P., Serradilla, V.R., Colomer, B.F., Cotallo, G.D G., Vidal, X.K., López, E.N., Río, M.G.del, Luna, M.S., Cueto, A.B., Serrano, M.S., Artero, A.U., Iglesias, E.A., Lavín, A.C., Vilalta, E.M., Cobos, B.J. e Grupo de Hospitales Castrillo. (2006). Procalcitonin is not sufficiently reliable to be the sole marker of neonatal sepsis of nosocomial origin. *BioMed Central Pediatrics*, 6 (16), pp. 1.

Sastre, J.B.L., Solís, D.P., Serradilla, V.R., Colomer, B.F., Cotallo, G.D C. e Grupo de Hospitales de Castrillo. (2007). Evaluation of procalcitonin for diagnosis of neonatal sepsis of vertical transmission. *BioMed Central Pediatrics*, 7 (9), pp. 1-9.

Seely, R. R., Stephens, T. D. e Tate, P. (2003). *Anatomia & Fisiologia*, 6ª Edição. Lisboa, Lusociência – Edições Técnicas e Científicas, pp. 784-822.

Turner, D., Rudensky, B., Schlesinger, Y., Goia, C. e Schimmel, M.S. (2006). Procalcitonin in preterm infants during the first few days of life: introducing an age related monogram. *Archives Diseases Childhood Neonatal Edition*, 91, pp. 283-286.

Ucar, B., Yildiz, B., Aksit, M.A., Yasar, C., Colak, O., Akbay, Y. e Colak, E. (2008). Serum Amyloid A, Procalcitonin, Tumor Necrosis Factor- α , and Interleukin- 1β Levels in Neonatal Late-Onset Sepsis. *Hindawi Publishing Corporation Mediators of Inflammation*, Article ID 737141, pp. 1-7.

Vazzalwar, R., Pina-Rodrigues, E., Puppala, B., Angst, D.B. e Schweig, L. (2005). Procalcitonin as a screening test for late-onset sepsis in preterm very low birth weight infants. *Journal Perinatal*, 25 (6), pp. 397-402.

Vouloumanou, E.K.; Plessa, E.; Karageorgopoulos, D.E.; Falagas, M.E. (2011). Serum procalcitonin as a diagnostic marker for neonatal sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Medicine*, 37, pp. 747-762.

Vidas[®] Brahms 2007/05, referência 30 450.