

***Joelma Gonçalves Martin***

INTERLEUCINA 12, PROCALCITONINA E PROTEÍNA C –  
REATIVA EM CRIANÇAS COM SEPSE E CHOQUE SÉPTICO

Tese apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Fisiopatologia em Clínica  
Médica da Faculdade de Medicina de Botucatu,  
Unesp, para obtenção do título de Doutor.

**Orientador: Prof. Adj. Dr. José Roberto Fioretto**

Botucatu – SP  
2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO  
DA INFORMAÇÃO  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP

**Bibliotecária responsável: Selma Maria de Jesus**

Martin, Joelma Gonçalves.

Interleucina 12, procalcitonina e proteína C-reativa em crianças com sepse e choque séptico / Joelma Gonçalves Martin. – Botucatu : [s.n.], 2009.

Tese (doutorado) – Faculdade de Medicina de Botucatu,  
Universidade Estadual Paulista, 2009.

Orientador: José Roberto Fioretto

Assunto CAPES: 40101002

1. Sepse 2. Choque séptico 3. Crianças - Tratamento intensivo

CDD 616.014

Palavras chave: Choque séptico; Interleucina; Procalcitonina; Proteína C-reativa; Sepse

Estudo realizado na Unidade de Terapia Intensiva Pediátrica e centro de pesquisa clínica e experimental do Departamento de pediatria da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP

Este trabalho teve apoio financeiro da FAPESP, processo número 2004/03776-0

*“Sê forte e corajoso; não temas, nem te espantes, porque o Senhor teu Deus, é contigo por onde quer que andares”.*

**Josué 1:8**

Dedico este trabalho a **Deus**, que tem cumprido sua promessa comigo, guardando a mim e aos meus queridos em todo lugar por onde tenho andado, sendo-lhe grata por tudo que tenho vivido até aqui.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço e ofereço este trabalho,

- Aos meus pais, **Reinaldo**(*in memorian*) e **Josina**, pelo constante apoio aos estudos mesmo com tantas dificuldades financeiras, pelo exemplo de vida e pelas demonstrações de incentivo e amor.
- Ao meu esposo **Reginaldo**, há 20 anos companheiro de todos os momentos e auxiliador em toda a minha trajetória de vida e acadêmica. Com certeza teria sido muito difícil chegar até aqui sem você.
- Aos meus filhos, **André e Paulo**, que são para mim não apenas uma herança de Deus, mas o meu bem maior, a quem com certeza quero deixar exemplo de lutas bem travadas e de desafios conquistados com a ajuda de Deus e de pessoas especiais que Ele coloca em nosso caminho.
- Ao meu orientador, professor e mestre **Dr. José Roberto Fioretto**, agradeço de coração por ter me recebido desde o início de forma pronta e incondicional, confiando e acreditando em mim, apesar das minhas limitações e permitindo que eu chegasse até aqui na realização deste meu sonho. Obrigada por dividir comigo o seu conhecimento e me fazer andar pelo caminho da ciência. Só mesmo Deus pode retribuir à altura, tudo o que você fez por mim.

Agradeço a todos que contribuíram para a realização deste trabalho, em particular:

- A equipe da UTI-pediátrica, especialmente **Dr. Rossano C. Bonatto, Dr. Mario F. Carpi, Dra.Sandra M.Q.Richetti e Dr. Marcos Aurélio de Moraes**, pela participação na elaboração e aplicação do protocolo deste trabalho, pelas palavras de incentivo e pelo exemplo de vida acadêmica.
- Aos funcionários do Centro de Pesquisa Clínica e Experimental do Departamento de Pediatria, especialmente a **Dra Cilmary Suemi Kurokawa**, não apenas pelo rigor científico, mas também pela enorme disponibilidade.
- Ao pessoal da secretaria do Departamento de Pediatria: **Fabiano, Adriana e Paulo**, cujo incentivo e ajuda profissional foram essenciais para minha conquista.
- Ao **Prof. Titular Carlos R. Padovani**, do Departamento de Bioestatística-Instituto de Biociências do Campus de Botucatu, pelo auxílio nas análises estatísticas.
- A todos os docentes do Departamento de Pediatria, que inicialmente foram meus modelos e depois, meus incentivadores.
- Aos meus queridos amigos **Dr. João César Lyra e Dra. Silvia M.K.Lyra**, exemplos para mim de conduta profissional ilibada, modelos de vida em família e de amizade, companheiros da minha trajetória há 23 anos, de quem jamais posso esquecer.
- Ao sr. **Antonio Claret Lyra**, amigo e revisor ortográfico, que com doçura e profissionalismo corrigiu minha tese.
- Agradecimento especial (*in memoriam*) aos professores **Pádua, Flávio e Kfour**i que além de seus legados científicos, foram para mim modelos na formação acadêmica.

# ÍNDICE

	<b>páginas</b>
<b>1 - Introdução</b> .....	02
<b>2 - Objetivos</b> .....	13
<b>3 – Pacientes e Métodos</b> .....	15
<b>3.1 Pacientes, definições e monitorização</b> .....	15
<b>3.2 Critérios de Exclusão</b> .....	18
<b>3.3 Análises Laboratoriais</b> .....	18
3.3.1 Coleta de sangue e separação do plasma .....	18
3.3.2 Método de Dosagem de IL-12 .....	19
3.3.3 Método de Dosagem de procalcitonina.....	20
3.3.4 Método de Dosagem de proteína C reativa.....	21
<b>3.4 Análise Estatística</b> .....	21
<b>4 – Resultados</b> .....	24
<b>4.1 Inclusão e exclusão de pacientes</b> .....	24
<b>4.2 Comparação dos grupos – características gerais</b> .....	24
<b>4.3 Marcadores bioquímicos</b> .....	28
4.3.1 Interleucina – 12.....	28
4.3.2 Procalcitonina.....	31
4.3.3 Proteína C reativa.....	37
4.3.4 Mediadores e gravidade da doença .....	40
<b>5- Discussão</b> .....	42
<b>5.1 Método de dosagem da PCT</b> .....	44

5.2 Características dos pacientes.....	45
5.3 Procalcitonina.....	46
5.4 PCR.....	50
5.5 Interleucina -12.....	52
5.6 Limitações do Estudo.....	56
6- Conclusões .....	58
7- Resumo .....	60
8- Summary .....	62
9- Referências Bibliográficas.....	64
10- Apêndice .....	81
10.1 Publicação 1 .....	85
10.2 Publicação 2 .....	91





## ***1 – Introdução***

A sepse continua sendo um dos maiores desafios para a medicina intensiva. Apesar de recentes avanços no entendimento de sua fisiopatologia e da aplicação de novos recursos terapêuticos, a incidência dos quadros sépticos está aumentando e a taxa de mortalidade permanece elevada, excedendo 50% na dependência da população avaliada (PRESTERL et al., 1997; ANGUS & WAX, 2001; FIORETTO, 2003; SHARMA & KUMAR, 2003; TETTA et al., 2003; RIVERS et al., 2005; HARTVIG et al., 2006).

Originalmente traduzida como “putrefação”, ou seja, decomposição de material orgânico (MARIK, 2002), atualmente a sepse é reconhecida como uma síndrome clínica heterogênea, tipicamente associada à resposta sistêmica do organismo frente a um agente infeccioso, quer seja este bactéria, fungo, vírus ou parasita (AYRES, 1985; BALK & BONE, 1989; BONE et al., 1992).

A definição clínica de sepse e de quadros correlatos tem motivado inúmeras pesquisas. Em 1989, BONE et al. descreveram a “síndrome séptica” para codificar grupos de pacientes que mostravam evidência de resposta sistêmica à infecção, mas que não demonstravam, uniformemente, sinais clássicos de infecção. Os sinais e sintomas inicialmente descritos incluíam aumento da temperatura corporal, taquicardia, taquipnéia, anormalidade da contagem de células brancas do sangue periférico e evidência de disfunção orgânica.

Em 1992 uma reunião de especialistas coordenada pelo “American College of Chest Physicians / Society of Critical Care Medicine” (BONE et al., 1992) propôs unificação conceitual para definir a resposta sistêmica à infecção, o que serviu como base para o surgimento de novos conceitos como o de Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SRIS), sepse e sua evolução para choque séptico. O conceito de SRIS descreve a resposta

orgânica comum a uma grande variedade de insultos infecciosos ou não como trauma, queimadura, pancreatite etc, sendo caracterizada pela presença de duas ou mais das seguintes manifestações clínicas: temperatura corporal  $> 38^{\circ}\text{C}$  ou  $< 36^{\circ}\text{C}$ ; taquicardia (frequência cardíaca maior que 90 bpm); taquipneia (frequência respiratória maior do que 20 rpm) e alteração na contagem de glóbulos brancos ( $>12.000$  cels/ $\text{mm}^3$  ou presença de mais de 10% de células jovens). Foi estabelecido que sepse é a SRIS causada por infecção documentada ou suspeitada clinicamente. A reunião teve por objetivo padronizar estes conceitos para detectar a doença o mais precocemente possível de acordo com sua apresentação clínica. Também objetivou relacionar sua fisiopatologia com a resposta inflamatória e assim possibilitar intervenção terapêutica precoce (BONE et al., 1992).

Entretanto, desde sua publicação esses critérios foram muito difíceis de ser transpostos para crianças, pois utilizavam parâmetros específicos de adultos. Assim, para tornar a definição de sepse e dos quadros correlatos mais aplicável para a pediatria, alguns autores propuseram modificações nos critérios originais de SRIS, incluindo valores normais de acordo com a idade para frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), pressão arterial (PA) e contagem de células brancas periféricas (HAYDEN, 1994; PARKER, 1996). Os valores absolutos dos sinais vitais para adultos foram substituídos por parâmetros fisiológicos baseados em desvios-padrão acima ou abaixo da média apropriada para a idade da criança.

A aplicação dos critérios estabelecidos pela conferência de consenso de 1992 também encontrou resistência entre os intensivistas de adultos, pois logo depois de sua publicação, os critérios adotados para definição de SIRS foram considerados muito amplos e não específicos. Utilizando este critério, muitos pacientes que não apresentavam inflamação sistêmica ou infecção foram incluídos no diagnóstico de sepse. Outro

problema que surgiu após a conferência de 1992 foi que, ao se definir critérios estritos para sepse, outros itens importantes foram desconsiderados, como: curso temporal do processo infeccioso, sítio da infecção, agente agressor e os processos fisiopatológicos subjacentes. Em editorial clássico publicado em 1997, VINCENT criticou a legitimação do conceito de SRIS por sensibilidade excessiva, falta de conexão com a fisiopatologia, falta de especificidade e por não serem claros os benefícios no cuidado de pacientes e na melhoria de pesquisas na área.

Assim é que, em 2001, uma nova conferência de consenso foi conduzida pelas sociedades de medicina intensiva dos Estados Unidos e da Europa para rever estas definições (LEVY et al., 2003). Este novo consenso reafirmou a importância do diagnóstico precoce de sepse, utilizando critérios clínicos e laboratoriais, visto que a efetividade de novas estratégias de tratamento está diretamente relacionada com a rapidez com a qual o diagnóstico é estabelecido (DELLINGER et al., 2004).

Em 2005, foram publicados os resultados da conferência de consenso para as definições de sepse em pediatria (GOLDSTEIN et al., 2005), com as especificações para a faixa etária pediátrica: infecção documentada ou suspeitada, febre ( $>38,5^{\circ}\text{C}$ ) ou hipotermia ( $<36^{\circ}\text{C}$ ), FC maior do que dois desvios-padrão para o valor esperado para a idade, taquipneia: valor acima do esperado para a idade, estado de consciência alterado, balanço hídrico positivo, hiperglicemia, leucocitose ( $>12.000\text{ cels/mm}^3$ ) ou leucopenia ( $<4.000\text{ cels/mm}^3$ ). Ainda foram definidas outras variáveis hemodinâmicas e de disfunção orgânica e de perfusão tecidual.

Como mencionado anteriormente, os sinais e sintomas de sepse não são específicos e, algumas vezes, levam a erro diagnóstico, o qual já é particularmente difícil em crianças e idosos (LUZZANI et al., 2003; MEISNER, 2005). Além disso, há relatos de que o atraso no diagnóstico associa-se à manutenção, demora na retirada e maior utilização de antibióticos,

favorecendo o aparecimento de cepas microbianas altamente resistentes (ACCP/NIAID/NHBIW 1997; VINCENT, 1997). Ainda mais alarmante é que, infelizmente, os sinais clínicos ou as alterações laboratoriais mais típicas da sepse são tardios, quando já há disfunção orgânica e considerável aumento da mortalidade (MEISNER, 2005).

Por essas dificuldades é que os participantes do consenso de 2001 alertaram que, para o diagnóstico de sepse e situações correlatas, a análise clínica é insuficiente, sendo útil focar mediadores bioquímicos capazes não apenas de distinguir a resposta inflamatória à infecção de outros tipos de inflamação, bem como indicar a gravidade e o prognóstico dos pacientes. VINCENT, em 2000, reforçando seu sentimento de discórdia em relação ao diagnóstico de sepse por critérios tão simplistas, considerou até mesmo vergonhoso que tanta ênfase tivesse sido dada aos quatro sinais de inflamação descritos inicialmente, o que seria uma tentativa de simplificação de um processo tão complexo como a sepse. A partir de então, ganhou entusiasmo o estudo de mediadores bioquímicos de sepse.

Para compreender o papel dos mediadores bioquímicos na sepse e quadros correlatos é importante, resumidamente, descrever sua participação na fisiopatologia da síndrome.

Na sepse e no choque séptico produtos e toxinas bacterianas ativam células do sistema imunológico para sintetizar mediadores pró-inflamatórios e citocinas reguladoras antiinflamatórias (SHARMA & KUMAR 2003). Para que a defesa contra a infecção se inicie de maneira eficaz é necessária a participação de citocinas com função fundamentalmente pró-inflamatória, como, por exemplo: fator de necrose tumoral-alfa (TNF-alfa), Interleucina-1(IL-1), IL-6 e IL-12 (CHIZZONITE et al., 1998; DINARELLO, 2000; GOLDMANN et al., 2005; MIZUNO et al., 2005). A IL-6 é a maior estimulante da síntese de proteínas hepáticas, como a proteína C reativa (PCR). Além das citocinas anteriormente citadas, há a liberação do fator de

ativação plaquetária e interferon-gama (IFN-gama). Estas últimas, por sua vez, podem ativar os macrófagos, leucócitos e células endoteliais, perpetuando o processo (LIVINSTON et al., 1995; FIORETTO, 2003). A estimulação produzida pelo TNF-alfa, IL-6 e outras citocinas determina a liberação de procalcitonina (PCT), que amplia o processo inflamatório (MEISNER, 2000; MARISCALCO, 2003; SAUER et al., 2003). A resposta pró-inflamatória inicial é controlada por moléculas anti-inflamatórias: receptores específicos de algumas citocinas (IL-4, IL-6, IL-10, IL-11 e IL-13) e pelos receptores específicos para IL-1, TNF e IL-18 (GOLDIE et al., 1995; GOGOS et al., 2000; EMMANUILIDIS et al., 2002). Em condições fisiológicas, todas essas moléculas comportam-se como imunomoduladoras e, portanto, limitam o efeito potencialmente deletério da reação inflamatória. Em condições patológicas, a resposta anti-inflamatória pode ser insuficiente para antagonizar a atividade inflamatória ou, ao contrário ser inibidora do sistema imune, deixando o hospedeiro à mercê da infecção.

Os mediadores descritos têm sido considerados úteis para avaliar a presença, gravidade e evolução clínica da sepse, com destaque para a PCR, PCT (CASEY et al., 1993; PINSKY et al., 1993; MULLER et al., 2000; HARBATH et al., 2001; MULLER & BECKER, 2001; MARCHALL et al., 2003; SIMON et al., 2004; STRYJEWSKY et al., 2005) e IL-12 (MANCUSO et al., 1997; GENG et al., 2000; LAUW et al., 2001; WEIGHARDT et al., 2002; MIZUNO et al., 2005).

Entre as proteínas de fase aguda, a PCR foi a primeira descrita por TILLET & FRANCIS em 1930. É uma proteína pentamérica sintetizada principalmente pelos hepatócitos, depois da liberação de algumas citocinas como IL-6 e IL-1. Após estímulo agudo, a concentração plasmática da PCR aumenta em até 6 horas, chegando a dobrar seus níveis em 8 horas, com pico máximo em torno de 50 horas (YOUNG et al., 1991; ENGUIX et al., 2001). Sendo medida pela nefelometria ou turbidimetria, tem seus valores basais em torno de 1 mg/dL em adultos, elevando-se até 1.000 vezes em resposta

ao estímulo inflamatório, variando de paciente para paciente (RENY et al., 2002; SIMON et al., 2004).

Vários estudos clínicos têm mostrado a utilidade da PCR no diagnóstico e seguimento de quadros infecciosos (YOUNG et al., 1991; HOGVEIK et al., 1997). No entanto, parece não ser útil para o diagnóstico de infecção (HATHERILL et al., 1999; RENY et al., 2002). Quando combinada com os sinais clínicos de SIRS, é melhor que outras variáveis utilizadas até então como, por exemplo, a contagem absoluta de células brancas (RENY et al., 2002). Outro estudo mostrou a utilidade da dosagem de PCR na gravidade e intensidade da disfunção de órgãos e mostrou sua correlação com escores de gravidade em adultos (LOBO et al., 2003), sendo recentemente, incluída entre os critérios diagnósticos de sepse nesta população (LEVY et al., 2003).

Na literatura há estudos que apoiam o uso da PCR (SUPRIN et al., 2000; PENEL et al., 2001; CLAEYS et al., 2002; HAMBACH et al., 2002; BELL et al., 2003; CHAN et al., 2004; CASTELLI et al., 2006) contrapondo-se a outros que não mostraram utilidade na análise do mediador para o diagnóstico de infecção e sepse (De WERRA et al., 1997; HATHERILL et al., 1999; CASADO-FLORES et al., 2003; SIERRA et al., 2004, POVOA et al., 2005; GAINI et al., 2006).

A PCT, hormônio precursor da calcitonina, é uma proteína com 116 aminoácidos, normalmente secretada pelas células “C” da glândula tireóide em resposta à hipercalcemia. Sob condições normais, concentrações séricas muito baixas (<0,1 ng/mL) de PCT são detectadas (WHICHER et al., 2001). De forma mais significativa, processos inflamatórios induzem a liberação extratireoidiana de PCT, cujos níveis aumentam entre três e quatro horas, atingem pico em 6 horas e, então, um platô de até 24 horas. A PCT é degradada por uma protease específica, permanecendo elevada por até 48 horas (MEISNER, 2000; CARROL et al., 2002). O sítio exato da produção da PCT extratireoidiano não é conhecido. No entanto, acredita-se que o fígado

seja a maior fonte de PCT extratireoidiana (NIJSTEN et al., 2000) e que, também, células mononucleares do sangue periférico produzam o mediador, após estimulação com lipopolissacáride (OBERHOFFER et al., 1999).

A primeira descrição de aumento da concentração plasmática de PCT em sepse foi publicada por ASSICOT et al. em 1993. Os autores estudaram, prospectivamente, 79 crianças (recém-nascido até 12 anos) com suspeita de infecção e observaram que os níveis de PCT foram muito baixos nos pacientes sem infecção, muito elevados naqueles com infecção grave e que os níveis diminuíram rapidamente durante tratamento antibioticoterápico (BRUNKHORST et al., 1998). Em 1996, GENDREL et al. encontraram resultados semelhantes, estudando recém-nascidos.

Desde então, pesquisas têm sido realizadas para determinar se a PCT é um mediador específico de infecção e sepse, com resultados conflitantes. Diversos estudos demonstraram que a PCT pode ser útil no diagnóstico precoce e como indicador de gravidade de crianças com sepse (HATHERILL et al., 2000; ENGUIX et al., 2001; HAN et al., 2003; CASADO-FLORES et al., 2003; CARROL et al., 2005), assim como de adultos (MEISNER et al., 1999; SCHWARTZ et al., 2000; SELBERG et al., 2000; WANNER et al., 2000; BRUNKHORST et al., 2000; CLAEYS et al., 2002). Outros estudos, porém, têm mostrado resultados contrários, questionando o valor da PCT no diagnóstico e prognóstico de pacientes com sepse e choque séptico, em adultos, crianças e neonatos (MIMOZ et al., 1998; LAPILLONE et al., 1998; RUOKONEN et al., 1999; UGARTE et al., 1999; SUPRIN et al., 2000; VINCENT, 2000; LECHARMY et al., 2001; RESCH et al., 2003). Além disso, há evidências de aumento do nível plasmático de PCT em pacientes com SIRS de etiologia não infecciosa, como choque cardiogênico (De WERRA et al., 1997), grande queimado (CARSIN et al., 1997; Von HEIMBURG et al., 1998), choque térmico (NYLEN et al., 1998) e pós-operatório (MEISNER et al., 1998).



Estes achados conflitantes geraram um editorial de MONERET, em 2002, no qual o autor diz: “Cara PCT, você não é um marcador específico de infecção bacteriana”, deixando aberta a questão da utilidade da PCT em pacientes sépticos.

Da mesma forma que os níveis séricos de PCR, a PCT também foi incluída entre os critérios diagnósticos de sepse em adultos (LEVY et al., 2003) e o *Food and Drug Administration* (FDA) liberou a dosagem de PCT para ser utilizada em conjunto com outros exames laboratoriais e a avaliação clínica, no primeiro dia de admissão, para acompanhamento dos quadros de sepse e choque séptico (MEISNER, 2005).

A interleucina-12 (IL-12) é o principal mediador da resposta imune inata inicial a microorganismos intracelulares e é indutora essencial da imunidade mediada por células. Foi identificada originalmente como ativadora da função citolítica das células *Natural Killer* (NK) (KOBAYASHI et al., 1989; STERN et al., 1990), mas sua ação mais importante é estimular a produção de IFN-gama pelas células T (WOLF et al., 1991; GOLDMANN et al., 2005), bem como pelas células NK. Existe como um heterodímero de subunidades de 35 kD e 40 kD ligadas por pontes de sulfeto (GILLESSEN et al., 1995; LING et al., 1995). As principais fontes de IL-12 são fagócitos mononucleares ativados, células dendríticas e células B.

A IL-12 tem papel na proteção contra infecções, sendo demonstrado que sua deficiência leva a infecções de repetição (HARAGUCHI et al., 1998). NOVOTNY et al., em 2006, mostraram que a depressão na produção de IL-12 pode limitar de forma importante a defesa do hospedeiro contra infecções no período pós-operatório, aumentando a taxa de mortalidade por sepse.

Em geral, a maioria dos estudos que avaliaram IL-12 e sepse foi realizada em modelos experimentais (GENG et al., 2000; LAUW et al., 2001; MIZUNO et al., 2005). Em humanos, estudo recente de 1.113 pacientes que se submetiam eletivamente a cirurgia do trato digestivo superior e inferior,

os autores isolaram células mononucleares do sangue periférico dos pacientes, estimularam as mesmas com endotoxinas provindas de cepas de *Escherichia coli* e quantificaram a produção de IL-12 nestas células para correlacionar tal produção à sobrevida ou não dos pacientes (WEIGHARDT et al., 2002). Os resultados mostraram que os pacientes que evoluíram para óbito por sepse produziram quantidades substancialmente menores de IL-12, enquanto que pacientes sépticos que apresentaram maior produção de IL-12 sobreviveram. Os autores concluíram que a IL-12 é um fator preditor de mortalidade por sepse no período pós-operatório. De modo semelhante, EMMANUILIDIS et al. (2002) observaram em 66 pacientes que desenvolveram sepse no período pós-operatório níveis significativamente mais baixos de IL-12 que no grupo controle, mas sem diferença de valores entre os sobreviventes e os não sobreviventes. No entanto, há estudos que observaram que a IL-12 tem efeito maléfico na resposta inflamatória, associando-se a aumento de mortalidade em sepse e quadros correlatos (ABDI, 2002; HEREMANS et al., 2000; JANSEN et al., 1996).

Em pediatria há apenas um estudo que mostrou correlação positiva entre os níveis plasmáticos de IL-12 e o escore de gravidade *Pediatric Risk of Mortality* em pacientes internados em unidade de terapia intensiva com o diagnóstico de meningococemia (HAZELZET et al., 1997).

Em vista da dificuldade e da importância do estabelecimento do diagnóstico precoce de sepse e dos resultados conflitantes e, algumas vezes, inexistentes sobre o papel da PCR, PCT e IL-12, assim como pela escassez de estudos em pediatria que tenham avaliado esses mediadores, a utilidade dos mesmos em crianças sépticas está para ser definida.

Nossa hipótese é que PCR, PCT e IL-12 são úteis tanto para o diagnóstico como para avaliar a gravidade de crianças com quadros sépticos após o período neonatal.

***Objetivos***

---

## ***2 – Objetivos***

Os objetivos do estudo foram:

- 1- Estudar o comportamento dos níveis plasmáticos de PCR, PCT e IL-12 em crianças com diagnóstico de sepse ou choque séptico;
- 2- Determinar o valor destes mediadores no diagnóstico dos quadros sépticos;
- 3 - Verificar se PCR, PCT e IL-12 são indicadores de gravidade dos pacientes, sendo capazes de discriminar crianças com diagnóstico de sepse daquelas com choque séptico.

## *Pacientes e Métodos*

---

### ***3. Pacientes e Métodos***

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Paulista-UNESP. Foi obtido consentimento por escrito dos pais ou responsáveis pelas crianças antes da inclusão das mesmas na pesquisa.

#### **3.1 – Pacientes, Definições e Monitorização**

No período consecutivo de janeiro de 2004 a dezembro de 2005, crianças de 28 dias a 14 anos de idade, admitidas na UTI-Pediátrica com diagnóstico de sepse ou choque séptico, foram incluídas prospectivamente no estudo. A UTI-Pediátrica conta com oito leitos e está inserida no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP, hospital terciário de referência da região centro-sul do Estado de São Paulo (DRS-6), atendendo a uma média de 30 pacientes por mês. A unidade conta com equipe multidisciplinar composta por enfermeiros, fisioterapeutas e médicos devidamente treinados, sendo todos os médicos diaristas e 80% dos plantonistas titulados em medicina intensiva. Além disso, a unidade é credenciada pela Associação de Medicina Intensiva Brasileira como Centro Formador de Intensivistas Pediátricos.

Os pacientes foram acompanhados por meio de um protocolo que continha dados de identificação, idade, diagnósticos de entrada e saída, foco primário de infecção, horário do diagnóstico de sepse/choque séptico, volume hídrico administrado, drogas vasoativas utilizadas, os critérios para definição de sepse, choque séptico e disfunção de múltiplos órgãos, culturas solicitadas e os germes isolados.

Sepse foi definida de acordo com os critérios estabelecidos pela Conferência de Consenso de 2001, publicada em 2003 (LEVY et al., 2003), associada à inclusão de valores normais de acordo com a idade para algumas variáveis biológicas, segundo HAYDEN (1994) e GOLDSTEIN et al. (2005). Assim, sepsé foi caracterizada pela presença de sinais e sintomas de SRIS associados à infecção, aqui entendida como processo patológico causado pela invasão de um tecido, fluido ou cavidade corporal, normalmente estéril, por um microorganismo patogênico. A SRIS foi identificada pela presença de dois ou mais dos seguintes critérios, sendo pelo menos um deles a alteração da temperatura ou a contagem anormal de leucócitos: 1) Temperatura (retal, oral ou central) maior que 38,5°C ou menor que 36°C; 2) Taquicardia, FC média maior que dois desvios-padrão acima do normal para a idade na ausência de estimulação externa, uso crônico de drogas ou estímulo doloroso OU Bradicardia (válida para crianças menores de 1 ano de idade) definida como FC média menor que o percentil 10 para a idade, na ausência de estímulo vagal, drogas beta-bloqueadoras ou cardiopatia congênita; 3) Taquipnéia, definida como FR média maior que dois desvios-padrão acima do normal para a idade, OU necessidade de ventilação mecânica para processo agudo, não relacionado à doença neuromuscular ou anestesia geral; 4) Contagem de leucócitos elevada ou diminuída para a idade (não secundária à quimioterapia) OU neutrófilos imaturos representando mais que 10% do total.

Choque séptico foi definido como sepsé associada à disfunção cardiovascular. Disfunção cardiovascular foi caracterizada quando, apesar da administração intravenosa de 40 ml/kg de salina isotônica, em uma hora, algum dos seguintes parâmetros estava presente: Hipotensão, pressão arterial sistólica (PAS) menor do que o percentil cinco para a idade ou menor que dois desvios-padrão do normal para a idade OU necessidade de droga vasoativa

(Dopamina  $> 5 \mu\text{g/kg/min}$ ; ou Dobutamina, Epinefrina ou Norepinefrina em qualquer dose) para manter PA normal, OU dois dos seguintes itens: acidose metabólica sem causa aparente (Déficit de Base maior que  $-5\text{mEq/L}$ ); aumento do lactato arterial (maior que duas vezes o limite superior da normalidade); oligúria (débito urinário menor que  $0,5 \text{ mL/kg/h}$ ); perfusão periférica lenta ( $>5$  segundos); diferencial entre temperatura central e periférica maior que  $3^\circ\text{C}$ .

Seguindo estas definições, os pacientes foram distribuídos em dois grupos de estudo à admissão: Grupo Sepse (**GS**) e Grupo Choque Séptico (**GCS**). A classificação dos pacientes em sepse e choque séptico foi realizada pelo médico diarista e reavaliada por todo o grupo em duas visitas gerais durante a semana. Acrescenta-se que, como a última conferência de consenso sobre definições de sepse em pediatria foi publicada quando o estudo já estava em andamento, realizou-se revisão dos protocolos para adequação do diagnóstico, quando necessário.

Como parte do atendimento de rotina de pacientes com sepse, culturas do sangue, urina, fezes, outros fluidos e, ocasionalmente, do líquido cefalorraquidiano foram obtidas. As drogas vasoativas utilizadas para recuperar os pacientes em choque, o volume de fluido administrado dentro da primeira hora e o número de órgãos funcionalmente comprometidos foram anotados diariamente. Disfunção de múltiplos órgãos e sistemas (DMOS) foi determinada pela presença de pelo menos dois órgãos com disfunção diagnosticada pelos critérios estabelecidos por WILKINSON et al. (1987). Exames radiológicos do tórax e abdome foram realizados quando indicados clinicamente. O escore PRISM (*Pediatric Risk of Mortality*) foi obtido de todos os pacientes. Este escore foi proposto para aferir o risco de óbito à admissão com base na medida da pressão arterial sistólica e diastólica, FC e FR,  $\text{PaO}_2$  e  $\text{PaCO}_2$ , reação pupilar, escala de coma de Glasgow, tempo de



protrombina, bilirrubina sérica, potássio, cálcio, glicose e bicarbonato (POLLACK et al. 1988).

### **3.2 – Critérios de exclusão**

Foram excluídas crianças com doenças inflamatórias sistêmicas crônicas, doenças neurológicas degenerativas, imunodeficiência primária ou adquirida, aquelas em uso de corticoterapia, antiinflamatórios não hormonais e antibióticos por mais de 24 horas, as vítimas de traumatismo e queimaduras e as crianças em pós-operatório. Também foram excluídas as crianças que na adequação do diagnóstico às novas definições não preencheram os critérios de sepse ou choque séptico.

### **3.3 – Análises Laboratoriais**

#### **3.3.1 - Coleta de sangue e separação do plasma**

A primeira coleta de sangue para a determinação dos níveis dos mediadores bioquímicos foi realizada em tempo inferior a oito horas do diagnóstico clínico das síndromes, para avaliar sua utilidade como forma de diagnosticar sepse, sendo este momento considerado o tempo zero (T0) de avaliação. Passadas 12 horas da primeira coleta, nova amostra foi obtida (tempo 12 horas – T12h). Os resultados das análises bioquímicas não foram disponibilizados para os médicos diaristas.

Para a determinação dos níveis plasmáticos de IL-12, PCR e de PCT foram coletados 3 mL de sangue no T0 e a mesma quantidade de sangue na dosagem subsequente, sendo o material obtido a partir de cateter posicionado

em veia central. Após a coleta, o sangue era imediatamente colocado sob refrigeração e, em prazo não superior a oito horas, o material era centrifugado para dosagem dos mediadores no plasma.

### 3.3.2 - Método de ELISA para dosagem de IL-12

A dosagem de IL-12 foi realizada por ensaio imunoenzimático ou método de ELISA (Enzyme-linked immunosorbant assay). Microplacas de ELISA compostas de 96 alvéolos (Maxosrb – Nunc<sup>TM</sup>) foram sensibilizadas com 100µL de anticorpo monoclonal de camundongo anti- IL-12 humana na concentração de 4µg/mL (R & D Systems<sup>TM</sup>). O tampão utilizado para diluição foi salina tamponada com fosfato (PBS) com pH=7,4. O período de sensibilização utilizado foi de 18 horas a 4°C em câmara úmida. Após a sensibilização, a microplaca com o anticorpo monoclonal anti-IL-12 humana foi lavada três vezes com PBST (PBS adicionado de 0,05% de tween 20), 400 µl/alvéolo, e bloqueada com 300 µL/alvéolo de tampão de bloqueio composto por 1% de albumina bovina sérica (BSA-Sigma<sup>TM</sup>) e 2% de soro de cabra inativado, diluídos em PBS. O período de bloqueio utilizado foi de duas horas, à temperatura ambiente, seguido de quatro lavagens sucessivas para posterior adição das amostras e curva padrão na placa. Um volume de 100 µL de plasma de cada amostra foi depositado em cada alvéolo da microplaca e esta incubada por duas horas à temperatura ambiente. Ao mesmo tempo, foram adicionados oito padrões de IL-12 recombinante (R & D Systems<sup>TM</sup>) no intervalo de concentração de 15,6 a 2000 pg/mL. Após a retirada das amostras da placa e lavagem dos alvéolos, o anticorpo de cabra anti IL-12 humana conjugado com biotina (R & D Systems<sup>TM</sup>) foi adicionado na concentração de 300 ng/mL. Logo após a incubação de duas horas, em temperatura ambiente, a

placa foi lavada novamente com PBST e incubada com streptoavidina conjugada com peroxidase (R & D Systems<sup>TM</sup>) diluída 1:200, conforme recomendado pelo fabricante.

Como substrato, foi utilizada solução de Tetrametilbenzidina (Pharmingen-BD<sup>TM</sup>). O tempo de reação foi de 30 minutos e o bloqueio realizado com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 4 N. A leitura da placa foi realizada em leitor de ELISA à 450 nm. O coeficiente de variação intra-assay foi de 5% e inter-assay de 7% com limite mínimo de detecção de 3,9 pg/mL. Todas as concentrações dos anticorpos conjugados e IL-12 recombinante utilizados no ELISA seguiram a recomendação do fabricante. As densidades ópticas obtidas na curva-padrão foram semelhantes à curva de concentração fornecida pelo fabricante.

Esta metodologia permitiu a identificação da subunidade p70 da IL-12, fração biologicamente ativa do mediador.

### **3.3.3 – Método de dosagem de PCT**

A PCT foi dosada por método semiquantitativo por meio de imunocromatografia (B.R.A.H.M.S PCT<sup>®</sup>-Q-Diagnostica GmbH, Hennigsdorf, Germany), o denominado teste rápido.

O tempo de reação é de 30 minutos após a deposição do soro ou plasma sobre a fita de imunocromatografia. O teste usa um anticorpo monoclonal anticatacalcina conjugada com um traçador e um anticorpo policlonal de carneiro na fase sólida. Depois do soro ou plasma ser depositado nas fitas, o traçador liga-se a PCT e forma um complexo antígeno-anticorpo marcado. Este complexo move-se por capilaridade pela fita e passa através da área, contendo as seguintes classes de bandas-teste: < 0,5 ng/mL; ≥ 0,5 ng/mL; ≥ 2 ng/mL; ≥ 10 ng/mL.

O teste é executado pipetando-se seis gotas ou 200  $\mu\text{L}$  de soro/plasma dentro da cavidade redonda da B.R.A.H.M.S PCT<sup>®</sup>-Q. Depois de 30 minutos, determinam-se as variações da concentração de PCT da amostra. A validade do teste é verificada, primeiramente, pela visualização de uma banda controle e, depois, as concentrações são determinadas por comparação de intensidade de cor da banda teste com a cor dos blocos do cartão de referência.

As possíveis interpretações para as classes de concentrações de PCT são as seguintes: 1)  $< 0,5 \text{ ng/mL}$  = sepse é improvável, podendo haver infecção localizada; 2)  $\geq 0,5 \text{ ng/mL}$  e  $< 2 \text{ ng/mL}$  = sepse é possível; 3)  $\geq 2 \text{ ng/mL}$  e  $< 10 \text{ ng/mL}$  = infecção bacteriana complicada por inflamação sistêmica e 4)  $\geq 10 \text{ ng/mL}$  = choque séptico (MEISNER, 2000).

### **3.3.4 - Dosagem da Proteína C-reativa**

A quantificação de proteína C-reativa foi realizada por química seca por meio do aparelho Vitros 950, Johnsons & Johnsons <sup>TM</sup>. A sensibilidade do método foi de 0,7 mg/dL (7 mg/L) e o volume de soro utilizado de 11  $\mu\text{L}$ .

### **3.4 – Análise Estatística**

Os grupos sepse e choque séptico foram comparados quanto à idade e o sexo, foco primário de infecção e escore PRISM à admissão. Os níveis plasmáticos de IL-12, PCR e PCT foram comparados nos dois momentos de avaliação (T0 e T12h) dentro de cada grupo e entre os grupos de estudo.

Como as variáveis estudadas não apresentaram aderência à distribuição normal das probabilidades, foram utilizados testes não

paramétricos para análise dos dados e as medidas descritivas expressas pela mediana e semi-amplitude total.

Para a análise da distribuição de frequência de sexo, focos de infecção, classes de PCT por tempos e grupos e alteração de classes segundo os grupos, foi utilizado o teste de Goodman para contrastes entre e dentro de populações multinomiais (GOODMAN et al., 1965). O teste U de Mann-Whitney foi utilizado para estudar as diferenças entre os grupos segundo a idade e o escore PRISM. Para comparar os níveis plasmáticos de PCR e de IL-12 nos dois tempos de avaliação e entre grupos foi utilizada a análise de medidas repetidas em grupos independentes (STREINER & NORMAN 1994). Para a análise da concordância entre o diagnóstico clínico e os níveis de IL-12 e de PCR foi utilizado o teste de Qui-quadrado.

A correlação entre os níveis séricos de IL-12 e de PCR dos pacientes dos dois grupos e os valores do escore PRISM foi determinada pelo coeficiente de correlação de Spearman.

Para a indicação das significâncias dos testes, foram utilizadas letras minúsculas para indicar os resultados das comparações entre grupos, fixada a categoria da resposta e letras maiúsculas nas comparações das categorias de resposta dentro dos grupos.

Todas as conclusões foram discutidas no nível de 5% de significância.



## **4 – Resultados**

### **4.1 – Inclusão e exclusão dos pacientes**

No período eleito para o estudo, 689 pacientes foram admitidos na UTI-Pediátrica, sendo que 59 preencheram os critérios diagnósticos de sepse (**GS**) e 65 de choque séptico (**GCS**). Do **GS** foram excluídos 12 pacientes (seis por uso de antibióticos por mais de 24 horas; quatro em pós-operatório; dois por doença neurológica degenerativa) e 22 do **GCS** (12 por uso de antibióticos há mais de 24 horas; três por doença inflamatória crônica em atividade; dois por doença neurológica degenerativa; dois por uso prolongado de corticóides; três por óbito antes da coleta do material). Após a coleta foram excluídas outras duas amostras do **GCS** e uma do **GS** por volume insuficiente de soro para realização das dosagens bioquímicas. Desta forma, foram estudados 87 pacientes, sendo 46 do **GS** e 41 do **GCS**.

### **4.2 - Comparação dos grupos – Características gerais**

A tabela 1 mostra a comparação dos grupos quanto à idade, sexo e escore PRISM. Os grupos não diferiram estatisticamente quanto à idade (**GS**: mediana = 24 meses e variação de 2 a 167; **GCS**: mediana = 12 meses e variação de 1 a 204;  $p > 0,05$ ) e sexo (masculino – **GS** = 25; **GCS** = 24 -  $p > 0,05$  e feminino – **GS** = 21; **GCS** = 17 -  $p > 0,05$ ). Os grupos foram estatisticamente diferentes quanto à gravidade da doença, sendo o escore PRISM maior no **GCS** [**GCS**: 29 (19,6-33,5) > **GS**: 17,8 (16-21,7);  $p < 0,05$ ].

A frequência de desenvolvimento de DMOS foi significativamente maior no **GCS** [**GCS**: 42/41 (97,7%) versus **GS**: 11/46 (23,4%); risco

relativo= 4,17;  $p < 0,05$ ]. Três (6,4%) pacientes do **GS** e 11 (25,6%) do **GCS** foram a óbito.

Tabela 1 – Comparação entre o grupo sepse (GS) e o grupo choque séptico (GCS) quanto à idade, escore Pediatric Risk of Mortality (PRISM), expressos como mediana e variação e o sexo.

<b>Variável</b>	<b>GS (n=46)</b>	<b>GCS (n=41)</b>	<b>Nível Descritivo</b>
<b>Idade em meses</b>	24 (2 - 167)	12 (1 - 204)	$p > 0,05^a$
<b>Sexo (número)</b>			
<b>Masculino</b>	25	24	$p > 0,05^b$
<b>Feminino</b>	21	17	
<b>PRISM</b>	17,8 (16-21,7)	29 (19,6-33,5)	$p < 0,05^a$

n = número de pacientes. <sup>a</sup>Teste U de Mann-Whitney; <sup>b</sup>Teste de Goodman.

Foi possível isolar microorganismos a partir de hemocultura e cultura de líquido em 54 pacientes. Hemocultura foi positiva em 40 pacientes, sendo 29 (72,5%) do **GCS**, e a cultura de líquido foi positiva em 14 crianças, 11 (78,6%) do **GCS**. Em 38 (70,4%) pacientes foram isolados germes gram-negativos (*P. aeruginosa*; *H. influenzae*; *A. baumannii*; *Klebsiella species*), em 11 (20,4%), gram-positivos (*S. aureus*; *S. pneumoniae*; *S. epidermidis*) e em outros quatro (7,4%) pacientes a infecção foi polimicrobiana. Infecção fúngica (*C. albicans*) foi diagnosticada em um paciente (1,8%).



Os pulmões foram o foco primário de infecção na maioria dos pacientes do **GS** [pulmão: 32 (69,5%) versus sistema nervoso central: cinco (11%) versus intestino: quatro (8,5%) versus outros: cinco (11%);  $p < 0,05$ ] e na comparação entre os dois grupos [**GS**: 32 (69,5%) versus **GCS**: 15 (36,6%);  $p < 0,05$ ]. Dentro do **GCS** não houve diferença estatisticamente significativa na distribuição de frequências entre os focos de infecção, como pode ser observado na tabela 2.

Tabela 2 – Comparação entre o grupo sepse (GS) e o grupo choque séptico (GCS) quanto aos focos primários de infecção.

Grupos	Focos de Infecção				Total
	Pulmão	SNC	Intestino	Outros	
<b>GS</b>	32 (69,5) <sup>bB</sup>	5 (11) <sup>aA</sup>	4 (8,5) <sup>aA</sup>	5 (11) <sup>aA</sup>	46
<b>GCS</b>	15 (36,6) <sup>aA</sup>	11 (26,8) <sup>aA</sup>	8 (19,5) <sup>aA</sup>	7 (17,1) <sup>aA</sup>	41

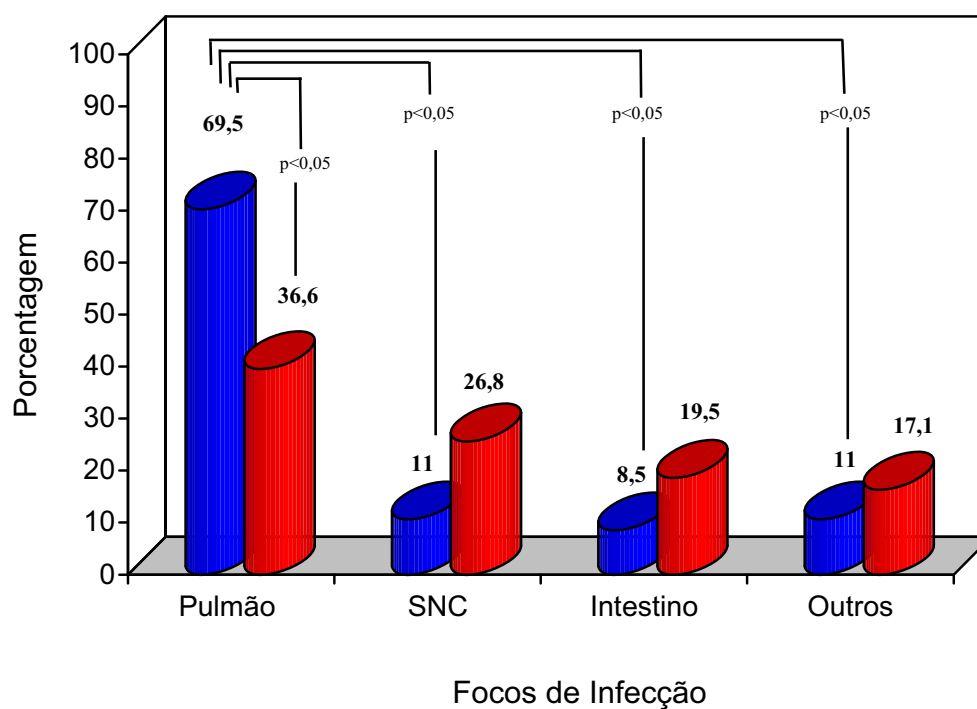
n (%); SNC: sistema nervoso central; Teste estatístico: Teste de Goodman.

Letras minúsculas: comparam os grupos, fixada a categoria (focos de infecção).

Letras maiúsculas: comparam as categorias dentro de cada grupo.

Letras diferentes: indicam diferenças significantes.  $p < 0,05$ .

A figura 1 é uma ilustração representativa da comparação dos grupos quanto aos focos de infecção.



**Figura 1** – Comparação entre os grupos sepse (em barras azuis) e choque séptico (em barras vermelhas) quanto aos focos de infecção. Teste de Goodman.

### 4.3 – Marcadores Bioquímicos

#### 4.3.1 – Interleucina – 12

##### *Comparação entre grupos*

Os níveis plasmáticos de IL-12 não diferiram estatisticamente entre os grupos no T0 [GS: 1,23 (0 – 511,62) = GCS: 0,24 (0 – 226,43); p= 0,135] e no T12h [GS: 6,11 (0 – 230,52) = GCS: 1,32 (0 – 61,0); p = 0,129], como apresentado na Tabela 3.

##### *Comparação entre os tempos de coleta*

Analisando-se o fator tempo de coleta, observou-se que no **GS** não houve diferença estatisticamente significativa nos valores dos níveis plasmáticos de IL-12 entre os dois momentos [T0: 1,23 (0 – 511,62) = T 12h: 6,11 (0 – 230,52) - p= 0, 075]. Por outro lado, no **GCS** houve aumento estatisticamente significativo dos níveis de IL-12 de T0 para T 12h [T0: 0,24 (0 – 226,43) < T 12h: 1,32 (0 – 61,0) - p= 0, 018].

Tabela 3 – Mediana e variação dos níveis plasmáticos de Interleucina-12 (IL-12 – pg/ml) na comparação entre os grupos sepse (GS) e choque séptico (GCS) nos dois momentos de coleta: tempo inicial (T0 – à admissão) e 12 horas após a primeira coleta (T 12h).

<b>Grupos</b>	<b>GS</b> <b>(n=46)</b>	<b>GCS</b> <b>(n=41)</b>
<b>Momentos</b>		
<b>T 0</b>	1,23 <b>aA</b> (0 – 511,62)	0,24 <b>aA</b> (0 – 226,43)
<b>T 12h</b>	6,11 <b>aA</b> (0 – 230,52)	1,32 <b>aB</b> (0 – 61,0)

n = número de pacientes; Testes estatísticos: Análise de Medidas Repetidas.

Letras minúsculas: comparam os grupos, fixados os momentos.

Letras maiúsculas: comparam os momentos de análise dentro de cada grupo.

Letras diferentes: indicam diferenças significantes –  $p < 0,05$

#### *Diagnóstico clínico e limite de detecção de IL-12*

Avaliou-se a concordância entre o diagnóstico clínico e os níveis plasmáticos de IL-12. Observou-se que tanto em T0 quanto em T12h foi maior a frequência de pacientes que apresentaram níveis de IL-12 acima do limite de detecção para os dois grupos, sem, no entanto, haver diferença estatística significativa entre as frequências de crianças com níveis acima e abaixo do limite de detecção, como ilustrado na Tabela 4.

Tabela 4 - Número de dosagens e porcentagem de pacientes com níveis plasmáticos de interleucina-12 (IL-12) acima e abaixo do limite de detecção (2,34 pg/ml) para os grupos sepse (GS) e choque séptico (GCS) nos dois momentos de coleta: à admissão (tempo zero - T0) e 12 horas após a primeira coleta (T 12h).

Momentos	Grupos	Limite de Detecção		Total
		Acima	Abaixo	
T0	GS	29 (63,04) <sup>Aa</sup>	17 (36,96) <sup>Aa</sup>	46
	GCS	22 (53,6) <sup>Aa</sup>	19(46,4) <sup>Aa</sup>	41
T12h	GS	26 (56,5) <sup>Aa</sup>	20(43,5) <sup>Aa</sup>	46
	GCS	26 (63,4) <sup>Aa</sup>	15 (36,6) <sup>Aa</sup>	41

n (%); Teste estatístico: Qui-quadrado.

Letras minúsculas: comparam os grupos, fixados os momentos.

Letras maiúsculas: comparam os momentos dentro do grupo para os limites.

Letras diferentes: indicam diferenças significantes –  $p < 0,05$ .

### 4.3.2 – Procalcitonina

#### *PCT no tempo zero*

A tabela 5 mostra a distribuição dos pacientes entre as classes de níveis plasmáticos de PCT ( $< 0,5$  ng/mL = sepse improvável, podendo haver infecção localizada;  $\geq 0,5$  ng/mL e  $< 2$  ng/mL = sepse possível;  $\geq 2$  ng/mL e  $< 10$  ng/mL = infecção bacteriana complicada por inflamação sistêmica e  $\geq 10$  ng/mL = choque séptico) no T0, para os grupos sepse e choque séptico.

A PCT foi indicador de gravidade no T0, pois discriminou os pacientes com choque séptico daqueles com sepse, já que a maioria dos pacientes do **GCS** ocupou a classe  $\geq 10$  ng/mL, diferentemente do que ocorreu com as crianças do **GS**, sendo a diferença entre os grupos, para esta classe, estatisticamente significativa [**GCS**: 30 (71,3%) > **GS**: 14 (30,4%) -  $p < 0,05$ ]. Dentro do **GCS**, a frequência de pacientes que ocupou a classe mais elevada de PCT, foi significativamente maior que a de pacientes em outras classes [classe  $\geq 10$ : 30 (71,3%) > classe  $\geq 2$ -< 10: 7 (17,1%) = classe  $\geq 0,5$ -< 2: 4 (9,8%) = classe  $< 0,5$ : 0(0%) –  $p < 0,05$ ]. Por outro lado, no **GS**, não houve diferença estatística na distribuição dos pacientes entre as classes de PCT [classe  $\geq 10$ : 14 (30,4%) = classe  $\geq 2$ -< 10: 11 (24%) = classe  $\geq 0,5$ -< 2: 13 (28,2%) = classe  $< 0,5$ : 8 (17,4%) –  $p > 0,05$ ].

Tabela 5 – Distribuição dos pacientes do grupo sepse (GS) e do grupo choque séptico (GCS) entre as classes de procalcitonina (PCT) no tempo zero de avaliação (T0).

Grupos	Classes de PCT no T0				Total
	< 0,5	≥ 0,5 - < 2	≥ 2 - < 10	≥ 10	
GS	8 (17,4) <sup>aA</sup>	13 (28,2) <sup>aA</sup>	11 (24) <sup>aA</sup>	14 (30,4) <sup>aA</sup>	46
GCS	0 (0,0) <sup>aA</sup>	4 (9,8) <sup>aA</sup>	7 (17,1) <sup>aA</sup>	30 (71,3) <sup>bB</sup>	41

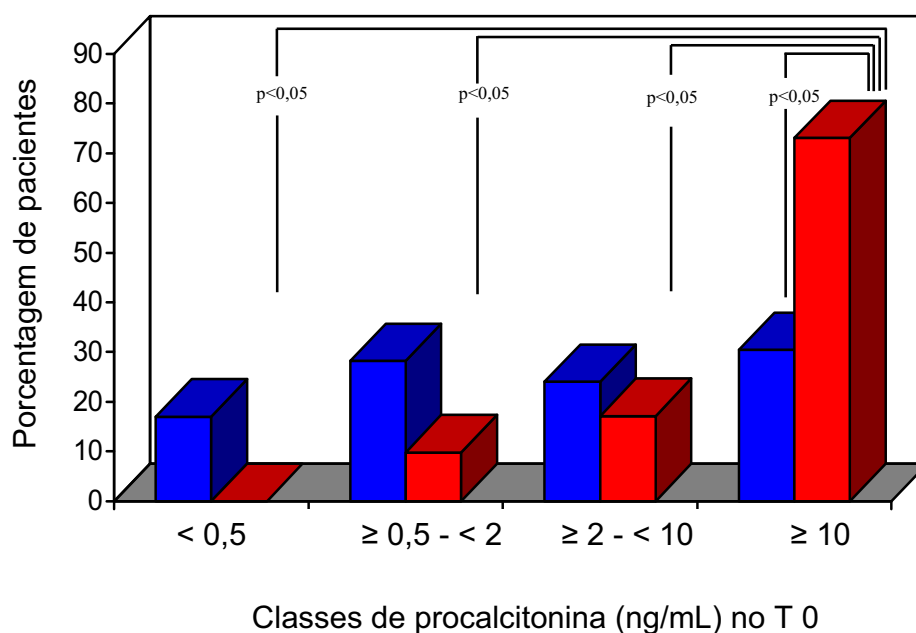
n (%); Teste estatístico: Teste de Goodman.

Letras minúsculas: comparam os grupos, fixadas as classes de procalcitonina.

Letras maiúsculas: comparam as classes dentro de cada grupo.

Letras diferentes: indicam diferenças significantes.  $p < 0,05$ .

A figura 2 é uma ilustração representativa da distribuição dos pacientes entre as classes de PCT no T0.



**Figura 2** – Distribuição dos pacientes dos grupos sepse (barras azuis) e choque séptico (barras vermelhas) entre as classes de nível plasmático de procalcitonina no tempo zero de avaliação (T0). Teste de Goodman.

### *PCT no tempo 12 horas*

No T12h (Tabela 6) o comportamento da PCT foi semelhante ao T0, ou seja, foi significativamente maior a frequência de pacientes do **GCS** na classe  $\geq 10$ , quando comparado o **GS** [**GCS**: 34 (82,9%) > **GS**: 10 (21,3%) -  $p < 0,05$ ]. Além disso, houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos para a classe  $\geq 2 - < 10$ , favorecendo o **GS**.



Dentro do **GCS** observou-se diferença estatística entre a frequência de pacientes na classe mais alta comparada com as demais [classe  $\geq 10$ : 34 (82,9%) > classe  $\geq 2$ -< 10: 4 (9,8%) = classe  $\geq 0,5$ -< 2: 3 (7,3%) > classe <0,5: 0(0%) – p < 0,05]. Por outro lado, no **GS**, não houve diferença estatística na distribuição dos pacientes entre as classes de PCT [classe  $\geq 10$ : 10 (21,7%) = classe  $\geq 2$ -< 10: 19 (41,3%) = classe  $\geq 0,5$ -< 2: 11 (24%) = classe <0,5: 6 (13%) – p > 0,05].

Tabela 6 – Distribuição dos pacientes do grupo sepse (GS) e do grupo choque séptico (GCS) entre as classes de níveis plasmáticos de procalcitonina (PCT) no tempo 12 horas de avaliação (T 12h).

Grupos	Classes de PCT no T 12h				Total
	< 0,5	$\geq 0,5$ - < 2	$\geq 2$ - < 10	$\geq 10$	
<b>GS</b>	6 (13) <sup>aA</sup>	11 (24) <sup>aA</sup>	19 (41,3) <sup>bA</sup>	10 (21,7) <sup>aA</sup>	46
<b>GCS</b>	0 (0,0) <sup>aA</sup>	3 (7,3) <sup>aB</sup>	4 (9,8) <sup>aB</sup>	34 (82,9) <sup>bC</sup>	41

n (%); Teste estatístico: Teste de Goodman.

Letras minúsculas: comparam os grupos, fixadas as classes de procalcitonina.

Letras maiúsculas: comparam as classes dentro de cada grupo.

Letras diferentes: indicam diferenças significantes – p<0,05.

A figura 3 é uma ilustração representativa da distribuição dos pacientes entre as classes de PCT no T 12h.

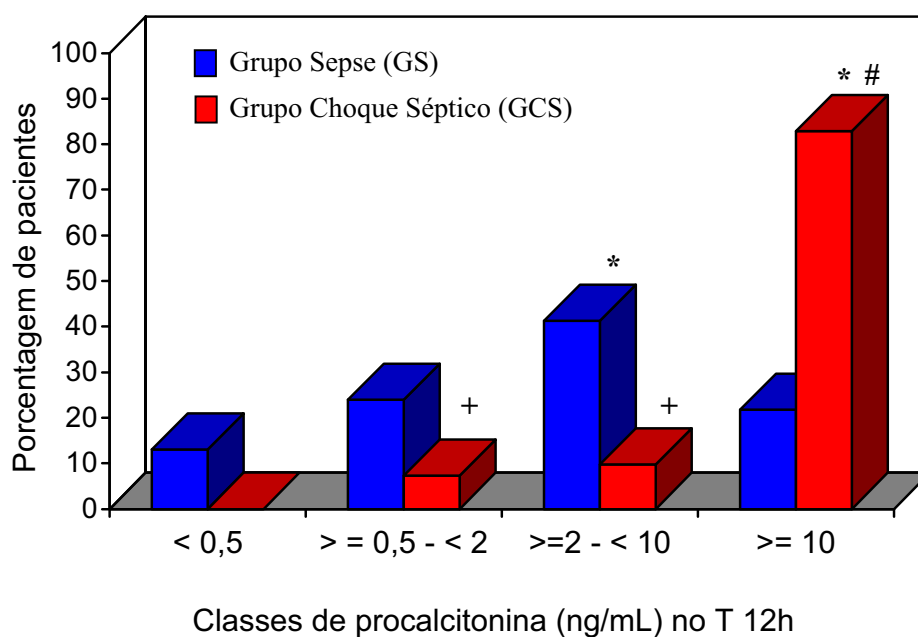


Figura 3 – Distribuição dos pacientes dos grupos sepse e choque séptico entre as classes de nível plasmático de procalcitonina no tempo 12 horas de avaliação (T 12h). \*  $p < 0,05$  na comparação entre os grupos para a classe  $\geq 10$  (GCS>GS) e para a classe  $\geq 2$ -<10 ng/mL (GS>GCS); #  $p < 0,05$  comparando a classe  $\geq 10$  com as classes  $\geq 2$ -<10,  $\geq 0,5$ -<2 e <0,5 dentro do GCS; +  $p < 0,05$  comparando as classes  $\geq 2$ -<10 e  $\geq 0,5$ -<2 com a classe < 0,5 dentro do GCS. Teste de Goodman.

A tabela 7 mostra, mais especificamente, a distribuição da alteração de classe de PCT no T12h, segundo os grupos sepse e choque séptico. Não houve diferença estatística entre os grupos quanto à mudança de classes, predominando manutenção sobre aumento ou diminuição. No **GS** os pacientes aumentaram ou diminuíram de classe de forma semelhante, enquanto que no **GCS**, apesar do predomínio de manutenção, foi significativamente maior a frequência de pacientes que passou de uma classe mais baixa para uma mais alta ( $p < 0,05$ ).

Tabela 7 – Distribuição da alteração de classe da procalcitonina (PCT) do tempo zero (T0) para o tempo 12 horas (T 12h), segundo o grupo sepse (GS) e o grupo choque séptico (GCS).

Grupos	Alteração da classe de PCT de T0 para T 12h			Total
	Aumento	Manutenção	Diminuição	
<b>GS</b>	5 (10,9) <sup>aA</sup>	39 (84,8) <sup>aB</sup>	2 (4,3) <sup>aA</sup>	46
<b>GCS</b>	8 (19,5) <sup>aB</sup>	32 (78) <sup>aC</sup>	1 (2,5) <sup>aA</sup>	41

n (%); Teste estatístico: Teste de Goodman.

Letras minúsculas: comparam os grupos, fixada a alteração de classe de procalcitonina.

Letras maiúsculas: comparam as classes dentro de cada grupo.

Letras diferentes: indicam diferenças significantes –  $p < 0,05$ .

### 4.3.3 – PCR

#### *Comparação entre os grupos*

Os níveis plasmáticos de PCR (tabela 8) não foram significativamente diferentes comparando os grupos choque séptico e sepse no T0 [GS: 14,05 (1–36,5) = GCS: 12,9 (0,5–52,2) – p=0,706] e no T12h [GS:13 (0,4–39,4) = GCS: 15,3 (0,9–38,1); p=0,6].

#### *Comparação entre os tempos de coleta*

Analisando-se o fator tempo de coleta, observou-se que não houve diferença estatisticamente significante nos valores dos níveis plasmáticos de PCR entre os dois momentos nos grupos estudados [GS– T0: 14,05 (1-36,5) = T12: 13 (0,4-39,4);p= 0,188 – GCS- T0: 12,9 (0,5-52,2) = T12: 15,3 (0,9-38,1) - p=0,428].

Tabela 8 – Mediana e variação dos níveis plasmáticos de PCR na comparação entre os grupos sepse (GS) e choque séptico (GCS) nos dois momentos de coleta: tempo inicial (T0-à admissão) e 12 horas após a primeira coleta (T12h).

Grupos	GS (n=46)	GCS (n=41)
Momentos		
T 0	14,05 <b>Aa</b> (1 - 36,5)	12,9 <b>Aa</b> (0,5 – 52,2)
T 12h	13 <b>Aa</b> (0,4 – 39,4)	15,3 <b>Aa</b> (0,9 – 38,1)

n = número de pacientes; Testes estatísticos: Análise de Medidas Repetidas.

Letras minúsculas: comparam os grupos, fixados os momentos.

Letras maiúsculas: comparam os momentos de análise dentro de cada grupo.

Letras diferentes: indicam diferenças significantes –  $p < 0,05$

### *Diagnóstico clínico e limite de detecção da PCR*

Observou-se que em T0 e em T 12h foi significativamente maior a frequência de pacientes com níveis de PCR acima do limite de detecção estabelecido pelo método ( $> 1$  mg/dL) tanto no **GS** como no **GCS**, sem, no entanto, haver diferença significativa entre os grupos (tabela 9).

**Tabela 9** – Número de dosagens e percentagem de pacientes com níveis plasmáticos de Proteína C Reativa (PCR) acima e abaixo do limite de detecção (> 1 mg/dL) para os grupos sepse (GS) e choque séptico (GCS) no tempo zero (T0 - inferior a oito horas do diagnóstico clínico), 12 horas após a primeira coleta (T12h).

Momento	Grupo	Limite de Detecção		Total
		Acima	Abaixo	
T0	GS	46 (100) <sup>aB</sup>	0 (0,0) <sup>aA</sup>	46
	GCS	39 (95,2) <sup>aB</sup>	2 (4,8) <sup>aA</sup>	41
T 12h	GS	42 (91,5) <sup>aB</sup>	4 (8,5) <sup>aA</sup>	46
	GCS	40 (97,6) <sup>aB</sup>	1 (2,4) <sup>aA</sup>	41

n = número de pacientes; Testes estatísticos: Análise de Medidas Repetidas.

Letras minúsculas: comparam os grupos, fixados os momentos.

Letras maiúsculas: comparam as categorias acima e abaixo dentro de cada grupo.

Letras diferentes: indicam diferenças significantes –  $p < 0,05$

#### 4.3.4 – Mediadores e gravidade da doença

No T0 os níveis plasmáticos de IL-12 não mostraram correlação positiva significativa com o escore PRISM dos pacientes do **GCS** (Correlação de Spearman –  $p= 0,215$ ;  $r =- 0,20$ ) e do **GS** (Correlação de Spearman –  $p =0,852$ ;  $r= 0,0285$ ). O mesmo foi observado para a PCR em ambos os grupos: **GCS** (Correlação de Spearman –  $p=0,0249$ ;  $r=0,342$ ) e **GS** (Correlação de Spearman –  $p= 0,199$ ;  $r=- 0,190$ ).

Com relação às dosagens de PCT, observou-se que o valor médio do PRISM dos 30 pacientes do **GCS**, que ocuparam a classe mais alta de PCT, foi significativamente mais elevado que a média do PRISM das 14 crianças do **GS**, na mesma classe de PCT (**GCS**:  $31,15 \pm 5,91 > \text{GS} : 18,78 \pm 5,75 - p < 0,05$ ), no T0.

Os valores individuais dos níveis plasmáticos de IL-12, bem como algumas características dos pacientes de ambos os grupos, são apresentados em tabelas específicas no apêndice.





## 5 – Discussão

A sepse e o choque séptico se mantêm como um dos grandes desafios para a medicina intensiva, estando entre as maiores causas de morbidade e óbito nas modernas unidades de tratamento intensivo (CASADO-FLORES et al., 2003). Recentes estimativas indicam que há mais de 750.000 casos de sepse nos Estados Unidos por ano e cerca de 200.000 desses casos evoluem para óbito (CHANG-LEE et al., 2007 ANGUS & WAX, 2001). Há necessidade prioritária de identificação precoce de pacientes com alto risco de evolução para o óbito por meio de pronta análise laboratorial ou de prova clínica consistente de rápida realização. Entretanto, muitos desses pacientes, inicialmente, encontram-se em serviços de emergência e podem ter o diagnóstico de sepse atrasado em função das investigações iniciais habituais (STREHLOW et al., 2006).

O diagnóstico de sepse é difícil, pois os sinais clínicos frequentemente se sobrepõem a outras situações clínicas não infecciosas causadoras de resposta inflamatória sistêmica. Por esta razão, vários estudos têm focado a utilização de protocolos pré-estabelecidos com o objetivo de reduzir a letalidade pela melhora do diagnóstico e do tratamento de crianças (CARCILLO et al., 2002; PARKER et al., 2004) e adultos (DELLINGER et al., 2004) com quadros sépticos.

Na condução dos doentes sépticos, a identificação/diagnóstico precoce da infecção é o elemento que tem o maior impacto sobre o curso clínico, tratamento e sobrevida dos pacientes. Tanto é assim que, em 2004, DELLINGER et al. publicaram o *Surviving Sepsis Campaign* e, posteriormente, RIVERS et al., em 2005, relataram a importância das primeiras seis horas de atendimento e das primeiras 24 horas de internação, respectivamente, *golden*

*hour e silver day*. Estes protocolos alertaram para o fato de que o diagnóstico deve ser realizado o mais cedo possível.

Como descrito anteriormente, os primeiros sinais clínicos de sepse não são, habitualmente, típicos ou específicos. Conseqüentemente há a necessidade de se encontrar mediadores confiáveis da resposta inflamatória à infecção.

Em vista da importância do diagnóstico precoce de sepse, da PCT e da PCR já terem sido incluídas entre os critérios diagnósticos de sepse em adultos e, também, em razão da escassez de estudos em pediatria que tenham avaliado mediadores de infecção grave, objetivamos estudar o comportamento dos níveis plasmáticos de PCT, IL-12 e PCR em crianças com sepse/choque séptico.

Demonstramos que os níveis de IL-12 não diferiram de forma estatisticamente significativa entre os dois momentos estudados para as crianças com sepse. No caso dos pacientes com choque séptico, entretanto, houve aumento estatisticamente significativo nos níveis desta interleucina de T0 para T12h. Quanto à concordância entre o diagnóstico clínico e os níveis plasmáticos de IL-12, cerca de 50% dos pacientes apresentaram níveis de IL-12 acima do limite de detecção para os dois grupos estudados e não houve correlação entre os níveis plasmáticos da IL-12 com o escore PRISM. Quanto a PCT, observamos que foi maior a frequência de pacientes do **GCS** que ocupou a classe mais alta de nível plasmático do mediador no T0 e que esta frequência aumentou ainda mais no T12h, fato que não ocorreu com os pacientes do **GS**. Adicionalmente, os níveis mais altos de PCT associaram-se com os valores mais altos do PRISM para as crianças do **GCS**. Com relação à PCR não foram observadas diferenças estatísticas comparando os grupos nos

dois momentos estudados, da mesma forma que não houve correlação com a gravidade dos pacientes.

### **5.1 – Método de dosagem de PCT**

Para a dosagem da PCT existe certo debate na literatura entre dois métodos: 1) método semiquantitativo, por meio de imunocromatografia (B.R.A.H.M.S. PCT ®-Q – Diagnostica GmbH, Hennigsdorf, Germany), o chamado teste rápido, e 2) método quantitativo, por meio de imunoluminometria (LUMItestPCT®).

Optamos pelo teste rápido, semiquantitativo, apesar de PELINKA et al., em 2003, terem demonstrado que o teste apresenta baixa sensibilidade (44%) quando comparado com o quantitativo. Ocorre, no entanto, que os autores chamaram a atenção para o fato de que a realização do teste quantitativo ser bem mais complicada e de maior custo, exigindo o dobro de medidas e curvas-padrão e o dobro do pessoal experiente. Além disso, quando se utiliza o teste semiquantitativo é relatada alta especificidade (92% a 98%) para altos níveis de PCT e há a vantagem da viabilização dos resultados em 30 minutos (MEISNER 2000; PELINKA et al., 2003). Estes fatos, associados ao relato de alta sensibilidade diagnóstica do teste semiquantitativo (90% a 92%) (MEISNER 2000) e a necessidade de, na prática clínica, contar com um teste que forneça resultados com a maior rapidez possível e a menor custo, nos levaram a decidir pelo teste rápido.

## 5.2 – Características dos pacientes

Estimativa acurada da incidência da sepse é obviamente difícil devido aos problemas relacionados com a definição do quadro, heterogeneidade das populações avaliadas e tipos de hospitais (ANGUS & WAX, 2001). No entanto, há descrição de aumento de incidência de sepse em adultos (SHARMA & KUMAR, 2003). No presente estudo, a prevalência de sepse e dos quadros correlatos foi de 18 %.

A idade e o sexo dos nossos pacientes não diferiram de relatos de outros autores (HATHERILL et al., 2000; CASADO-FLORES et al., 2003; ARKADER et al., 2006), refletindo as características da população atendida pela UTI-Pediátrica (FIORETTO et al., 1993; PAIVA et al., 2006). Da mesma forma, a maior frequência dos pulmões como foco primário de infecção seguiu a tendência atual de a insuficiência respiratória aguda ser a principal causa de admissão em nossa unidade (FERRARI & FIORETTO, 2003; FIORETTO et al., 2004).

Com relação à gravidade dos pacientes, CASADO-FLORES (2003), observaram DMOS em, aproximadamente, 50% dos casos, sem diferenciar sepse de choque séptico. Em nosso estudo, a frequência de DMOS foi de 58%, sendo significativamente maior entre os doentes com choque séptico. A maior ocorrência de disfunções orgânicas neste grupo de crianças pode ser explicada pelo fato das disfunções dos órgãos serem progressivas e cumulativas e representarem a fase terminal do processo séptico hipermetabólico, sendo, portanto, mais frequentes nos doentes em estágios mais avançados da sepse (RICHETTI, 2003).

O escore PRISM, medida de gravidade e do prognóstico de crianças gravemente enfermas, é facilmente executado e foi validado em várias populações de diferentes países (Van BRAKEL et al., 2000). A utilização deste

escore permitiu-nos diferenciar a gravidade dos pacientes, sendo seus valores significativamente mais elevados no grupo com choque, semelhante ao descrito por CASADO-FLORES et al. (2003) e por outros trabalhos do nosso grupo (FIORETTO et al., 2004; PAIVA et al., 2006).

A mortalidade geral observada foi de 15,5 %, sendo 6,4% para os doentes com sepse e 25,6% naqueles com choque séptico, próxima às relatadas por STOLL et al. (1998), em sepse, e por HATHERILL et al. (2000) e CASADO-FLORES et al. (2003), em choque séptico.

### **5.3 – Procalcitonina**

O papel fisiológico preciso da PCT não está claro, sendo sua produção e função complexas e dependentes do tempo.

Confirmando a participação da PCT na sepse, foi demonstrado por NYLEN et al. (1998) que a administração de altas concentrações do mediador aumenta a mortalidade em modelos animais, enquanto que sua neutralização melhora a sobrevida. UGARTE et al., em 1999, encontraram níveis mais elevados de PCT em pacientes com bacteremia do que em pacientes sem bacteremia, mesmo quando o quadro não esteve associado ao aumento do índice de mortalidade. Outros relatos (BRUNKHORST et al., 1998 ENGELMANN et al., 1996) demonstraram níveis de PCT mais elevados em pacientes com bacteremia induzida por germes gram-negativos. Tais estudos sugerem que a PCT atua como mediador, sustentando e aumentando a resposta inflamatória, da mesma forma que IL-6, IL-12 e outras citocinas. Há que se considerar, no entanto, que é improvável, filogeneticamente, que uma substância liberada pelo hospedeiro, para combater um agente invasor, cause destruição do organismo. Portanto, é lógico pensar que a PCT possa funcionar como outros

mediadores, tendo efeito benéfico quando liberada em pequenas quantidades e maléfico em quantidades excessivas.

Em 2004, foi publicada uma revisão sistemática, seguida de meta-análise, sobre o valor da PCT como marcador de infecção bacteriana em adultos e crianças (SIMON et al., 2004). Ocorre que dos 12 estudos analisados, apenas dois envolveram crianças, sendo um deles em recém-nascidos (HATHERILL et al., 1999; ENGUIX et al., 2001). Esta revisão deixou em aberto a avaliação da PCT para o diagnóstico e prognóstico de crianças com sepse e choque séptico.

Nosso estudo demonstrou que a PCT foi capaz de discriminar a gravidade dos pacientes no momento da admissão, pois, no tempo zero de avaliação foi significativamente maior a frequência de crianças com choque séptico que ocuparam a classe de valor mais elevado de PCT (69,7% em  $\geq 10$  ng/mL), diferentemente do que ocorreu nas crianças com sepse, havendo diferença estatística entre os grupos. Adicionalmente, observamos que o valor médio do PRISM dos pacientes do GCS que ocuparam a classe mais alta de PCT no T0 foi significativamente mais elevado que a média do PRISM das crianças do GS, para esta mesma classe do mediador. Estes resultados estão de acordo com o trabalho de CASADO-FLORES et al. (2003), que estudaram 80 crianças com suspeita de sepse. Os autores observaram que a PCT apresentou melhor valor diagnóstico e prognóstico, que seus níveis foram significativamente mais elevados nas crianças com choque séptico do que naquelas com sepse e que a PCT foi mais alta nos pacientes com maior valor de PRISM, à semelhança de outros estudos em crianças (HATHERILL et al., 2000; RESCH et al., 2003; CARROL et al., 2005) e adultos (OBERHOFFER et al., 1999; UGARTE et al., 1999; MULLER et al., 2000; MULLER & BECKER, 2001).

Adicionalmente, observamos que no T12h a frequência de pacientes com choque séptico que passou a ocupar a classe mais elevada de PCT ( $\geq 10$  ng/mL) foi ainda maior, o que não ocorreu nas crianças com sepse. No geral, os pacientes dos dois grupos mantiveram-se dentro das classes que ocupavam inicialmente. Porém, 20,9% das crianças do **GCS** passaram para a classe mais elevada, confirmando a relação deste mediador com a gravidade e, até mesmo, com o prognóstico dos pacientes, visto que aqueles com choque séptico apresentaram maior taxa de mortalidade (GCS= 25,6% x GS= 6,4%). Resultados semelhantes foram obtidos por LUZZANI et al. (2003), estudando 70 adultos por meio de avaliação diária da PCT. Os autores demonstraram que a PCT se correlacionou com a gravidade da doença e com a evolução para DMOS.

Nós não pudemos estabelecer correlação entre os níveis de PCT e a evolução para DMOS. No entanto, observamos que foi significativamente maior a porcentagem de pacientes que desenvolveram DMOS no **GCS**, quando comparado com crianças do **GS**, da mesma forma que os níveis de PCT foram mais elevados no **GCS**.

A migração de pacientes do **GCS** para a classe mais alta do PCT, com o passar do tempo, pode ser explicada pela cinética deste mediador. Como descrito anteriormente, a PCT tem pico mais tardio que outras citocinas, porém mais rápido quando comparado com a PCR (MEISNER, 2005). É preciso considerar, também, a influência do tratamento antibioticoterápico sobre os níveis de PCT. Já foi descrita diminuição da concentração plasmática deste mediador com a administração de antibióticos (ASSICOT et al., 1993; STAEHLER et al., 1997) e que a PCT pode ser utilizada para testar a resposta ao tratamento antibioticoterápico (BRUNKHORST et al., 1998). Assim, alguns de nossos resultados podem ter sido influenciados pelo uso de antibióticos no curso da

doença e que esta influência tenha sido mais acentuada nos casos menos graves, bloqueando possível aumento de PCT nas crianças do **GS**.

Observamos que a distribuição dos pacientes do **GS** entre as classes de níveis de PCT foi homogênea no T0, com oito pacientes ocupando a classe 0,5 ng/mL (sepse improvável). Também alguns pacientes deste grupo ocuparam a classe mais alta, correspondente àquela que indica a presença de choque séptico. No T12h sete crianças ocuparam a classe mais baixa, havendo agora maior porcentagem de pacientes na classe  $\geq 2$  -  $< 10$  ng/mL (infecção complicada por inflamação sistêmica). No **GCS**, nos dois momentos, não houve crianças na classe  $< 0,5$  ng/mL e, aproximadamente, 10% ocuparam a classe intermediária ( $\geq 0,5$ – $2$  ng/mL). Tem sido descrito que alguns pacientes sem sintomas clínicos de sepse apresentam altos níveis de PCT e, ao contrário, alguns pacientes que preenchem os critérios clínicos da doença não possuem altos níveis do marcador (MULLER & BECKER 2001). Além disso, a classe  $\geq 0,5$ - $2$  ng/mL foi denominada de “zona cinza”, pela dificuldade de interpretação do resultado. Entendemos então que é possível que em alguns de nossos pacientes sépticos a inflamação fosse mínima, e outros, inicialmente rotulados como tendo sepse, na realidade tivessem quadro inflamatório sistêmico ainda mais grave.

Estes dados permitem afirmar que a PCT pode ser considerada como elemento auxiliar para o diagnóstico de sepse e reflete a gravidade da infecção. Porém este método diagnóstico precisa ser avaliado no contexto do quadro clínico do paciente, complementando a avaliação clínica cuidadosa e o julgamento clínico de sepse/choque séptico que é muitas vezes subjetivo e, conseqüentemente, incerto.



O futuro está em demonstrar se a avaliação da PCT melhora o prognóstico dos pacientes, na medida em que possibilita diagnóstico precoce e acompanhamento do tratamento.

#### **5.4 – PCR**

Muitos estudos compararam PCR com PCT, mostrando superioridade da PCT na diferenciação da SRIS de causa infecciosa das demais causas (De WERRA et al., 1997; HATHERILL et al., 1999; SUPRIN et al., 2000; HAMBACH et al., 2002; CASTELLI et al., 2004; CASADO-FLORES et al., 2003; SIERRA et al., 2004; POVOA et al., 2005; CASTELLI et al., 2006; GAINI et al., 2006; SIMON et al., 2008). Outros, no entanto, mostraram que a PCR é igual ou superior a PCT para o diagnóstico de infecção e sepse (SUPRIN et al., 2000; PENEL et al., 2001; CLAEYS et al., 2002; HAMBACH et al., 2002; BELL et al., 2003; CHAN et al., 2004; CASTELLI et al., 2006), deixando a questão em aberto.

HATHERILL et al. (1999), estudando 175 crianças internadas em unidade de terapia intensiva e divididas em cinco grupos (crianças sem infecção; com infecção viral; com infecção bacteriana localizada; com meningite e em choque séptico) compararam os valores de PCR e PCT em cada situação. Observaram que a PCR variou nas cinco categorias, sendo mais alta em crianças com choque séptico do que naquelas com infecções localizadas e virais. Entretanto a PCT foi melhor que a PCR para discriminar a gravidade da infecção. Estudando crianças, CASADO-FLORES et al. (2003) observaram que os valores de PCR variaram com a idade e foram semelhantes entre os pacientes com sepse e choque séptico, não havendo correlação com a sobrevida ou com a evolução para DMOS. Comparando PCT com PCR, os autores observaram que a PCT apresentou melhor valor diagnóstico e prognóstico, que seus níveis

foram significativamente mais elevados nas crianças com choque séptico do que naquelas com sepse e que os níveis de PCT foram mais elevados nos pacientes com maior valor de PRISM, resultados semelhantes aos que observamos.

Em 2004, meta-análise de 12 estudos que avaliou 1.386 pacientes (684 crianças), metade dos quais internados em UTI, evidenciou que a PCT é melhor que a PCR para diferenciar infecções bacterianas de virais e para diferenciar infecção bacteriana de outras causas de inflamação sistêmica não infecciosas (SIMON et al., 2004). Entretanto tais conclusões precisam ser avaliadas com cuidado, pois os próprios autores descreveram que o estudo apresentou limitações e que os resultados apontavam apenas para um suporte parcial à superioridade da PCT (SIMON et al., 2005).

Recentemente SIMON et al. (2008), em estudo prospectivo que incluiu 64 crianças com SRIS de diversas causas, observaram que a PCT foi melhor que a PCR em diagnosticar infecção bacteriana no início da resposta inflamatória sistêmica. Os níveis de PCT foram significativamente mais elevados em SRIS de etiologia bacteriana, quando comparados com SRIS de etiologia não infecciosa, enquanto a PCR não foi diferente.

Nossos resultados mostraram superioridade da PCT em relação a PCR para a diferenciação de pacientes com sepse e choque séptico. Para a PCR, não observamos diferenças estatisticamente significantes entre crianças com sepse ou choque séptico nos dois momentos avaliados. Tais resultados podem ser explicados pela cinética da PCR que é uma proteína de fase aguda com *turnover* extremamente rápido e influenciável fortemente pela introdução de antibióticos, visto que seus níveis séricos estão diretamente relacionados com a síntese que se mantém enquanto o estímulo inicial não for bloqueado (RIDKER, 2003). É possível que a obtenção de uma amostra mais tardia ou

seriada permita a diferenciação dos pacientes e melhor correlação com a gravidade.

Outros fatores poderiam ter influenciado nossos resultados. Nossa população foi heterogênea do ponto de vista de faixa etária o que pode ter influenciado os valores da PCR, já que a mesma varia com a idade, sendo tanto maior quanto maior a idade (CASADO-FLORES et al., 2003).

Há ainda a questão do estabelecimento de um valor de “cut off”. CASTELLI et al. (2004), comparando PCT e PCR, fixaram valores de PCR > 50 mg/L para discriminar inflamação de causa infecciosa de outras causas e demonstraram que aumento maior ou igual a 25% do valor inicial da PCR seria fortemente sugestivo de sepse. Mostraram que os valores de PCR estavam altos durante estágios iniciais de DMOS e inflamação sistêmica, sem aumento com a progressão da doença. Ainda assim concluíram pela superioridade da PCT para avaliação de gravidade. Nós não determinamos um valor de “cut off”, dificultando a separação dos pacientes por níveis deste mediador.

### **5.5. Inteleucina-12**

Para entender a participação das citocinas, em particular da IL-12, na fisiopatologia da sepse é imperioso discutirmos algumas de suas características principais.

A liberação de citocinas é um evento breve e autolimitado, sendo que as mesmas não são armazenadas como moléculas pré-formadas. Uma vez sintetizadas, as citocinas são rapidamente secretadas, resultando em explosão de liberação quando necessário. Têm ações pleiotrópicas, ou seja, têm a capacidade de agir em diferentes tipos de células, mediando diferentes efeitos

biológicos e limitando seu uso em situações terapêuticas, pois a administração de uma citocina pode resultar em vários efeitos colaterais. Têm ainda ação redundante que se refere à propriedade de múltiplas citocinas possuírem os mesmos efeitos funcionais. As citocinas frequentemente influenciam a síntese e as ações de outras citocinas de diversas formas: somando, antagonizando ou potencializando os efeitos umas das outras (YOSHIE et al., 2001).

As ações das citocinas podem ser locais (ação autócrina) e sistêmicas (ação parácrina) e quando são produzidas em grande quantidade têm ação mais intensa conhecida como ação endócrina (ZLOTNIK et al., 2001). Suas ações são iniciadas pela ligação aos receptores de membrana específicos em células-alvo. Sinais externos regulam a expressão de receptores de citocinas e, portanto, o potencial de resposta das células às mesmas (CAMPBELL et al., 2003).

CERAMI & BEUTLER (1988), ao estudar o papel das citocinas na sepse, observaram que a utilização de anticorpos neutralizadores do TNF poderiam proteger ratos contra os efeitos letais das endotoxinas bacterianas. Esta observação não somente foi a primeira que demonstrou o papel patogênico das citocinas na sepse, mas também ilustrou que esta doença resulta de uma reação excessiva do hospedeiro contra a liberação de toxinas bacterianas. Estudos subsequentes têm fornecido forte evidência de que, em particular, IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, INF-gama e TNF estão envolvidas na patogênese da sepse e choque séptico (LACOUR et al., 2001).

Evidências recentes indicam que a IL-12 tem papel importante na patogênese da infecção por bactérias gram-negativas e a resposta inflamatória associada a ela (WEIJER et al., 2005). A administração de *E. coli* viva ou endotoxina purificada promove a liberação da IL-12 biologicamente ativa (subunidade p70; IL-70) na circulação de animais em modelos experimentais

(ZISMAN et al., 1997; WYSOCKA et al., 1995; HEINZEL et al., 1994). A neutralização desta IL-12 provê clareamento de bactérias com aumento de sobrevivência, mesmo após uma sobrecarga de toxinas bacterianas. Tomando juntas essas duas observações e o fato de que a IL-12 administrada exogenamente provocar resposta inflamatória sistêmica, WEIJER et al. (2005) relataram que a IL-12 está envolvida nas sequelas tóxicas da endotoxemia grave.

Apesar destas evidências, o papel de IL-12 na patogênese da sepse é controverso. Alguns autores descreveram a sua atuação como protetora contra a sepse e o choque séptico (MANCUSO et al., 1997; ZISMAN et al., 1997; STEINHAUSER et al., 1999; WEIJER et al., 2005). Em contrapartida, outros estudos colocam-na como “vilã” na evolução da sepse e quadros correlatos (JANSEN et al., 1996; HENSLER et al., 1998; HEREMANS et al., 2000; ABDI, 2002).

Não observamos diferenças nos níveis plasmáticos de IL-12 entre os dois grupos estudados, assim como no **GS** não houve diferença estatisticamente significativa nos valores de IL-12 nos dois momentos estudados. Entretanto no **GCS** houve aumento dos níveis de IL-12 de T0 para T12h.

Vários fatores podem ter influenciado nossos resultados, tais como a cinética da citocina, a intensidade do estímulo, a faixa etária dos pacientes e o tipo de subunidade da IL-12 estudado.

Quando estudamos a cinética da IL-12, observamos que a subunidade p40 é produzida mais precocemente (HEINZEL et al., 1994). A subunidade p70, por sua vez, inicia liberação de 12 a 72 horas após estímulo, com pico em torno de 36 horas (JANSEN et al., 1996), mais tardiamente que o momento de nossa coleta. Como nos casos com choque séptico o estímulo é mais intenso, foi possível detectar aumento da IL-12 em T12h, fato que não ocorreu nos

pacientes do grupo sepse. É possível, ainda, que no início do estímulo infeccioso, a p40, liberada mais precocemente, possa ter bloqueado a liberação da p70 por contra-regulação, efeito este mais pronunciado nos pacientes menos graves (MATTNER et al., 2003).

Influenciam também, os níveis de IL-12 a faixa etária e o tipo de subunidade estudada. UPHAM et al. (2002) estudaram os níveis de IL-12 em indivíduos sadios de quatro faixas etárias diferentes: nascimento; 5 anos; 12 anos; e na vida adulta. Os autores observaram que os níveis da subunidade p70 diferiram grandemente nos quatro grupos estudados, sendo tão menores quanto menor a faixa etária. Descreveram, ainda, que a capacidade de sintetizar IL-12 em níveis comparáveis aos de adultos parece ser alcançada apenas na adolescência. Em nossa casuística estudamos um grupo heterogêneo quanto à faixa etária, englobando pacientes de 1 mês de vida até 15 anos incompletos, com maior concentração de pacientes em faixas etárias mais baixas. Tal fato pode ter limitado a detecção do aumento de IL-12.

Os estudos que descreveram ação deletéria de IL-12 em modelos experimentais (ABDI, 2002; HEREMANS et al., 2000; JANSEN et al., 1996) e humanos (HAZELZET et al., 1997; FINNERTY et al., 2007) observaram correlação entre aumento da subunidade p40 e mortalidade. No presente estudo avaliamos a subunidade p70, não sendo possível estabelecer correlação com óbito em razão do pequeno número de pacientes com essa evolução. Avaliando a gravidade dos pacientes, também não pudemos demonstrar correlação entre PRISM e IL-12, diferentemente do que foi observado por FINNERTY et al. (2007) em crianças vítimas de queimadura.

## 5.6. Limitações do Estudo

Algumas limitações deste estudo merecem consideração. A utilização de critérios clínicos para o diagnóstico pode ter introduzido um viés de classificação dos pacientes. No entanto, como os resultados de PCT, PCR e IL-12 foram mantidos em segredo, os médicos assistentes não foram influenciados pelos mesmos, fazendo com que a falta de um padrão-ouro de diagnóstico não comprometesse nossos resultados. Também a influência de diferentes classes de antibióticos sobre os níveis dos marcadores estudados não pode ser desprezada, assim como a influência do tipo de disfunção orgânica.

A interpretação de resultados de análise de marcadores sanguíneos não é fácil. Em geral as citocinas têm vida média muito curta. Os resultados de estudos de níveis circulantes podem ser, portanto, fortemente influenciados pelo tempo da coleta da amostra e pela intensidade e duração do estímulo. Para a IL-12, especificamente, é possível que uma dosagem mais tardia pudesse demonstrar correlação com a gravidade.

Em resumo, poder-se-ia dizer que o trabalho do médico ficaria muito mais fácil se um simples teste laboratorial detectasse a presença de infecção grave. Mas a vida nunca é tão simples e, embora PCT, PCR e IL-12 possam ser marcadores úteis de infecção, eles não são “OS” marcadores.

A confiabilidade de um marcador para sepse/choque séptico depende da precisão do diagnóstico clínico, a qual deve ser perseguida incessantemente pelo aprimoramento das definições clínicas, principalmente em crianças.

*Conclusões*

---



1- Os níveis plasmáticos de PCT, à admissão, permitem diferenciar sepse de choque séptico, com significância ainda maior depois de 12 horas e correlacionam-se diretamente com a gravidade da doença;

2- Os níveis plasmáticos de PCR e de IL-12 não permitem a diferenciação de sepse e choque séptico à admissão e não se correlacionam com a gravidade dos pacientes. A IL-12, no entanto, aumenta significativamente nos pacientes com choque séptico após 12 horas.



Problemas com diagnóstico de sepse são indicativos da necessidade de enfocar mediadores bioquímicos capazes, não somente de distinguir as diferentes causas de inflamação, mas também de indicar a gravidade dos pacientes. **Objetivos:** avaliar o comportamento da Interleucina-12 (IL-12), proteína C-reativa (PCR), e procalcitonina (PCT) e sua utilidade em diferenciar crianças com sepse e quadros correlatos. **Métodos:** crianças sépticas foram incluídas prospectivamente e divididas em dois subgrupos: sepse (GS; n=46) e choque séptico (GCS; n=41). IL-12, PCR e PCT foram medidas à admissão (T0) e 12 horas mais tarde (T12h). Valores de PCT foram classificados como: sepse improvável, sepse possível, infecção bacteriana complicada por inflamação sistêmica e choque séptico. A gravidade da doença foi medida pelo escore PRISM. **Resultados:** Em T0, houve uma maior frequência de crianças com choque séptico com níveis mais elevados de PCT, quando comparados com o grupo sepse [GCS: 30 (69,7%) > GS: 14 (29,8%);  $p < 0,05$ ], o mesmo ocorrendo em T12h. PRISM foi maior para os pacientes do GCS do que do GS. Em T12h, os níveis de IL-12 foram maiores no GCS [T12: 1,32 (0-61.0) > T0: 0,24 (0-226,43;  $p = 0,018$ ]. Os níveis de PCR não foram diferentes entre os grupos ou tempos de coleta. **Conclusões:** PCT parece ser útil no diagnóstico precoce de sepse e choque séptico, sendo relacionada com a gravidade da doença. PCR e IL-12 não diferenciaram sepse e choque séptico.



## ***8 – Summary***

Problems with sepsis diagnosis are indications of the need to focus on biochemical mediators capable not only of distinguishing the different causes of inflammation, but also of indicating the severity of patients. Objectives: To examine the behavior of interleukin-12 (IL-12), C-reactive protein (CRP), and procalcitonin (PCT) and the utility of them to differentiate children with septic conditions. Methods: Septic children, prospectively enrolled, were divided into sepsis (SG; n = 47) and septic shock (SSG; n = 43) groups. IL-12, PCT and CRP were measured at admission ( $T_0$ ) and 12 hours later ( $T_{12}$ ). Values of PCT were ranked as: unlikely sepsis; possible sepsis; systemic inflammation; septic shock. Disease severity was assessed by PRISM score. Results: At  $T_0$ , there was a higher frequency of SSG with higher PCT compared with SG [SSG: 30 (69.7%) > SG: 14 (29.8%);  $p < 0.05$ ], similarly at  $T_{12}$ h. PRISM was higher for SSG patients with higher PCT than SG patients. At  $T_{12}$ , IL-12 levels were higher in SSG [ $T_{12}$ : 1,32 (0 – 61,0) >  $T_0$ : 0,24 (0 – 226,43);  $p = 0,018$ ]. CRP levels were not different for groups and moments. Conclusions: PCT appears to be helpful in early diagnosis of pediatric septic conditions, being related to disease severity. CRP and IL-12 did not differentiate septic conditions.

## *Referências Bibliográficas*

---

## ***9 - Referências Bibliográficas\****

Abdi K. The role of p40 versus p75. *Scand J Immunol* 2002; 56: 1-11.

American College of Chest Physicians, National Institute of Allergy and Infectious Disease, and National Heart, Lung, and Blood Institute Workshop: From the bench to the bedside: The future of sepsis research. *Chest* 1997; 111: 744-753.

Angus DC & Wax RS. Epidemiology of sepsis: An update. *Crit Care Med* 2001; 29: S109-S116.

Arkader R, Troster EJ, Lopes MR, et al. Procalcitonin does discriminate between sepsis and systemic inflammatory response syndrome. *Arch Dis Child* 2006; 91: 117-120.

Assicot M, Gendrel D, Carsin H, et al. High serum procalcitonin in patients with sepsis and infection. *Lancet* 1993; 341: 515-518.

Ayres SM. SCCM's New Horizons Conference on Sepsis and Septic Shock. *Crit Care Med* 1985; 13:864-866.

Balk, RA & Bone RC. The septic syndrome: definition and clinical implications. *Crit Care Clinics* 1989; 5:1.

Bell K, Wattie M, Byth K, et al. Procalcitonin: a marker of bacteraemia in SIRS. *Anaesth Intensive Care* 2003; 31: 629-636.

---

\* International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. *N Engl J Med* 1997; 336:309-15.

- Bone RC, Fisher CJ, Climmer TP, et al. Sepsis syndrome: a valid clinical entity. *Crit Care Med* 1989; 17: 389-393.
- Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis: the AACP/SCCM Consensus Conference Committee. *Chest* 1992; 101: 1644.
- Brunkhorst FM, Heinz U, Forycki ZF, et al. Kinetics of procalcitonin in iatrogenic sepsis. *Intensive Care Med* 1998; 24: 888-889.
- Brunkhorst FM, Wegscheider K, Forycki ZF, et al. Procalcitonin for early diagnosis and differentiation of SIRS, sepsis, severe sepsis, and septic shock. *Intensive Care Med* 2000; 26: S148-S152.
- Campbell DJ, Kim CH and Butcher EC. Chemokines in the systemic organization of immunity. *Immunol Rev* 2003; 195:58-71.
- Carcillo JA, Fields AI, and Task Force Committee Members. Clinical practice parameters for hemodynamic support of pediatric and neonatal patients in septic shock. *Crit Care Med* 2002; 30:1365-1378.
- Carrol ED, Newland P, Thomson APJ, et al. Prognostic value of procalcitonin in children with meningococcal sepsis. *Crit Care Med* 2005; 33:224-225.
- Carrol ED, Thomson APJ, and Hart CA. Procalcitonin as a marker of sepsis. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 20:1-9.
- Carsin H, Assicot M, Feger F, et al. Evolution and significance of circulating procalcitonin levels compared with IL-6, TNF alpha and endotoxin levels early after thermal injury. *Burns* 1997; 23:1362-1365.



- Casado-Flores J, Blacon-Quirós A, Asensio J, et al. Serum procalcitonin in children with suspected sepsis: A comparison with C-reactive protein and neutrophil count. *Pediatr Crit Care Med* 2003; 4:190-195.
- Casey L, Balk RA and Bone RC. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with septic syndrome. *Ann Intern Med* 1993; 119:771-778.
- Castelli GP, Pognani C, Meisner M, et al. Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. *Crit Care* 2004; 8:R12-R20.
- Castelli GP, Pognani C, Cita M, et al. Procalcitonin, C-reactive protein, white blood cells and SOFA score in ICU: diagnosis and monitoring of sepsis. *Minerva Anestesiol* 2006; 72:69-80.
- Cerami A, Beutler B. The role of cachectin/TNF in endotoxin shock and cachectin. *Immunol Today* 1988; 9: 28.
- Chan YL, Tseng CP, Tsay PK, et al. Procalcitonin as a marker of bacterial infection in the emergency department: an observational study. *Crit Care* 2004; 8: R12- R20.
- Chang-Lee C, Ying Chen S, Lin Tsai C, et al. Prognostic value of mortality in emergency department sepsis score, procalcitonin, and C-reactive protein in patients with sepsis at the emergency department. *Shock* 2007; 0:1-7.
- Chizzonite R, Gubler U, Magram J, et al. Interleukin-12. *Cytokine* 1998; 183:203.

- Claeys R, Vinken S, Spapen H, et al. Plasma procalcitonin and C-reactive protein in acute septic shock: Clinical and biological correlates. *Crit Care Med* 2002; 30:757-762.
- De Werra J, Jaccard C, Corradin S, et al. Cytokines, nitrite/nitrate, soluble tumor necrosis factor receptors and procalcitonin concentrations: Comparison in patients with septic shock and bacterial pneumonia. *Crit Care Med* 1997; 25:607-613.
- Dellinger RP, Carlet JM, Masur M, et al. Surviving sepsis campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2004; 32 (Suppl): S858-S872.
- Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest* 2000; 118:503-508.
- Emmanuilidis K, Weighardt H, Matevossian E, et al. Differential regulation of systemic IL-18 and IL-12 release during postoperative sepsis: high serum IL-18 as an early predictive indicator of lethal outcome. *Shock* 2002; 18: 301 -305.
- Engelmann L, Gundelach K, Pilz U, et al. Procalcitonin and its relationship to endotoxin in sepsis. *Abstr Intensive Care Med* 1996; 22(suppl 3): S333.
- Enguix A, Rey C, Concha A, et al. Comparison of procalcitonin with C-reactive protein and serum amyloid for the early diagnosis of bacterial sepsis in critically ill neonates and children. *Intensive Care Med* 2001; 27:211-215.
- Ferrari GF & Fioretto JR. Insuficiência respiratória aguda. In: Manual de terapia intensiva pediátrica. Fioretto JR ed. Rio de Janeiro, Revinter, 2003:233-248.

- Finnerty CC, Herndon DN, Chinkes DL, et al. Serum cytokine differences in severely burned children with and without sepsis. *Shock* 2007; 27: 4-9.
- Fioretto JR, Moreira FL, Ferrari GF, et al. Sepsis em unidade de terapia intensiva pediátrica (UTIP). *Rev Paul Pediatr* 1993; 11: 203-209.
- Fioretto JR. Choque Séptico. In: *Manual de Terapia Intensiva Pediátrica*. Fioretto JR ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2003: 115-140.
- Fioretto JR, Moraes MA, Bonatto RC, et al. Acute and sustained effects of early administration of inhaled nitric oxide to children with acute respiratory distress syndrome. *Pediatr Crit Care Med* 2004; 5:469-474.
- Gaini S, Kolkjaer OG, Pedersen C, et al. Procalcitonin, lipopolysaccharide-binding protein, interleukin-6 and C-reactive protein in community-acquired infections and sepsis: a prospective study. *Crit Care* 2006; 10:53.
- Geng Y, Berencsi K, Gyulai Z, et al. Roles of Interleukin- 12 and gamma Interferon in murine *Chlamydia pneumoniae* infection. *Infect Immun* 2000; 68:2245–2253.
- Gendrel D, Assicot M, Raymond J, et al. Procalcitonin as a marker for the early diagnosis of neonatal infection. *J Pediatrics* 1996; 128:570-573.
- Gillessen S, Carvajal D, Ling P, et al. Mouse interleukin-12 p40 hemodimer: a potent IL-12 antagonist. *Eur J Immunol* 1995; 25:200-206.
- Goldie AS, Fearon KC, Ross JA, et al. Natural cytokine antagonists and endogenous antiendotoxin core antibodies in sepsis syndrome. The Sepsis Intervention Group. *JAMA* 1995; 274:172-177.

- Goldmann O, Chhatwai GS and Medina E. Contribution of Natural Killer cells to the pathogenesis of septic shock induced by *Streptococcus pyogenes* in mice. *J Infect Dis* 2005; 191:1280-1285.
- Goldstein B, Giroir B, Randolph A, et al. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med* 2005; 6:2-8.
- Gogos CA, Drosou E, Skoutelis A, et al. Pro versus anti-inflammatory cytokine profile in patients with severe sepsis: a marker for prognosis and future therapeutic options. *J Infect Dis* 2000; 181:176-180.
- Goodman LA. On simultaneous confidence intervals for multinomial proportions. *Theometrics* 1965; 7:247-254.
- Hambach L, Eder M, Dammann E, et al. Diagnostic value of procalcitonin serum levels in comparison with C-reactive protein in allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica* 2002; 87:643-651.
- Han YY, Doughty LA, Kofos D, et al. Procalcitonin is persistently increased among children with poor outcome from bacterial sepsis. *Pediatr Crit Care Med* 2003; 4:21-25.
- Haragushi S, Noorbibi KD, Robert PN, et al. Interleukin-12 deficiency associated with recurrent infection. *Proc Natl Acad Sci* 1998; 95:13125-13129.
- Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, et al. Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected of sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164:396-402.

- Hartvig T, Kurt MD, Peter MSC, et al. Procalcitonin increase in early identification of critically ill patients at high risk of mortality. *Crit Care Med* 2006; 34: 2596–2602.
- Hatherill M, Tibby SM, Sykes K, et al. Diagnostic markers of infection: comparison of procalcitonin with C-reactive protein and leukocyte count. *Arch Dis Child* 1999; 81: 417-421.
- Hatherill M, Tibby SM, Turner C, et al. Procalcitonin and cytokine levels: Relationship to organ failure and mortality in pediatric septic shock. *Crit Care Med* 2000; 28: 2591-2595.
- Hayden WR. Sepsis terminology in pediatrics. *J Pediatr* 1994; 124: 657-658.
- Hazelzet JA, Kornelisse RF, Tineke CTM et al. Interleukin-12 levels during the initial phase of septic shock with purpura in children: relation to severity of disease. *Cytokine* 1997; 9:711-716.
- Heinzel FP, Rerko RM, Ling P, et al. Interleukin 12 is produced in vivo during endotoxemia and stimulates synthesis of gamma interferon. *Infec Immun* 1994; 62:4244-4249.
- Hensler T, Heidecke CD, Hecker H, et al. Increased susceptibility to postoperative sepsis in patients with impaired monocyte IL-12 production. *J Immunol* 1998; 161: 2655-2659.
- Heremans H, Dillen C, Groenen M, et al. Role of interferon-gamma and nitric oxide in pulmonary edema and death induced by lipopolysaccharide. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:110-117.

- Hogevik H, Olaison L, Anderson R, et al. C-reactive protein is more sensitive than erythrocyte sedimentation rate for diagnosis of infective endocarditis. *Infection* 1997; 25: 82-85.
- Jansen P, Van der Pouw Kraan T, de Jong I, et al. Release of interleukin 12 in experimental *Escherichia coli* septic shock in baboons: relation to plasma levels of interleukin 10 and interferon-gama. *Blood* 1996; 87:5144-5151.
- Kobayashi M, Fitz L, Ryan M, et al. Identification and purification of natural killer cell stimulatory factor, a cytokine with multiple biological effects on human lymphocytes. *J Exp Med* 1989; 170:827-845.
- Lacour AG, Gervaix A, Zamora SA, et al. Procalcitonin, IL-6, IL-8, IL-1 receptor antagonist and C-reactive protein as identifiers of serious bacterial infections in children with fever without localizing signs. *J Pediatr* 2001; 160:95-100.
- Lapillonne A, Basson E, Monneret G, et al. Lack of specificity of procalcitonin for sepsis diagnosis in premature infants. *Lancet* 1998; 351:1211-1212.
- Lauw FN, Florquin S, Speelman P, et al. Role of endogenous Interleukin -12 in immune response to *Staphylococcal enterotoxin B* in mice. *Infect Immun* 2001; 69: 5949–5952.
- Lecharmy JB, Khater D, Bronchard R et al. Hyperprocalcitonemia in patients with perioperative myocardial infarction after cardiac surgery. *Crit Care Med* 2001; 29:323-325.

- Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESCIM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003; 31:1250–1256.
- Ling P, Gately MK, Gubler U, et al. A hemodimer of the IL-12 p40 subunit binds to the IL-12 receptor but does not mediate biologic activity. *J Immunol* 1995; 154:116-127.
- Livinston DH, Mosenthal AC, and Deitch EA. Sepsis and multiple organ dysfunction syndrome: a clinical-mechanistic overview. *New Horiz* 1995; 3:257-266.
- Lobo SMA, Lobo FRM, Bota DP, et al. C-reactive protein levels correlate with mortality and organ failure in critically ill patients. *Chest* 2003; 123: 2043-2049.
- Luzzani A, Polati E, Dorizzi R, et al. Comparison of procalcitonin and C-reactive protein as markers of sepsis. *Crit Care Med* 2003; 31:1737-1741.
- Mancuso G, Cusumano V, Genovese F, et al. Role of Interleukin 12 in experimental neonatal sepsis caused by Group B Streptococci. *Infect and Immun* 1997; 65: 3731-3735.
- Mattner F, Fischer s, Guckes S, Jin S, Kaulen H, Schimidt E, Rude E, Germann T 1993. The interleukin-12 subunit p40 specifically inhibits effects of the interleukin-12 heterodimer. *Eur J Immunol* 2003; 23:2202-2208.
- Marchall JC, Vincent JL, Fink MP, et al. Measures, markers, and mediators: Toward a staging system for clinical sepsis. A report of the Fifth Toronto

- Sepsis Roundtable, Toronto, Ontario, Canada, October 25-26, 2000. *Crit Care Med* 2003; 31:1560-1567.
- Marik PE. Definition of sepsis: Not quite time to dump SIRS? *Crit Care Med* 2002; 30:706-708.
- Mariscalco MM. Is plasma procalcitonin ready for prime time in the pediatric intensive care unit? *Pediatr Crit Care Med* 2003; 4:118-119.
- Meisner M, Tschaikowsky K, Hutzler A, et al. Postoperative plasma concentrations of procalcitonin after different types of surgery. *Intensive Care Med* 1998; 24:680-684.
- Meisner M, Tschaikowsky K, Palmares T, et al. Comparison of procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) plasma concentrations at different SOFA scores during the course of sepsis and MODS. *Crit Care Med* 1999; 3:45-50.
- Meisner M. Biochemistry. In: Meisner M ed. *Procalcitonin (PCT): A new, innovative infection parameter. Biochemical and clinical aspects.* Stuttgart: Georg Thieme Verlag 2000: 15-45.
- Meisner M. Biomarkers of sepsis: clinically useful? *Curr Opin Crit Care* 2005; 11: 473-480.
- Mimoz O, Benoist JF, Edouard AR, et al. Procalcitonin and C-reactive protein during the early posttraumatic systemic inflammatory response syndrome. *Intensive Care Med* 1998; 24:185-188.
- Mizuno K, Takahashi HK, Twagaki H, et al. *Immunology Letters* 2005; 101: 168–172.



- Moneret G. Dear PCT, you are not a specific marker of bacterial infection. *Intensive Care Med* 2002; 28:377-378.
- Muller B & Becker KL. Procalcitonin: how a hormone became a marker and mediator of sepsis. *Swiss Med Wkly* 2001; 131:595-602.
- Muller B, Becker K, Schachinger H, et al. Calcitonin precursors are reliable markers of sepsis in a medical intensive care unit. *Crit Care Med* 2000; 28: 977-983.
- Nijsten MW, Olinga P, The TH, et al. Procalcitonin behaves as a fast responding acute phase protein in vivo and in vitro. *Crit Care Med* 2000; 28:458-461.
- Nylen ES, Whang KT, Snider RH, et al. Mortality is increased by procalcitonin and decreased by an antiserum reactive to procalcitonin in experimental sepsis. *Crit Care Med* 1998; 26:1001-1006.
- Novotny AR, Emmanuel K, Ulm K, et al. Blood interleukin 12 as preoperative predictor of fatal postoperative sepsis neoadjuvant radiochemotherapy. *Brit J Surg* 2006; 93:1283-1289.
- Oberhoffer M, Stonans I, Russwurm S, et al. Procalcitonin expression in human peripheral blood mononuclear cells and its modulation by lipopolysaccharides and sepsis-related cytokines in vitro. *J Lab Clin Med* 1999; 134:49-55.
- Paiva BSR, Fioretto JR, Paiva CE, et al. Cateterização venosa central em crianças internadas em unidade de terapia intensiva pediátrica. *Rev Paul Pediatr* 2006; 24:35-41.

- Parker MM. Pathophysiology of cardiovascular dysfunction in septic shock. *New Horiz* 1996; 5:130-138.
- Parker MM, Hazelzet JA, and Carcillo JA. Surviving sepsis campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. Pediatric considerations. *Crit Care Med* 2004; 32 (Suppl): S591-S594.
- Pelinka LE, Sendova K, Mauritz W, et al. Quantitative versus semiquantitative procalcitonin measurement. *Eur J Trauma* 2003; 2:81-84.
- Penel N, Fournier C, Degardin M, et al. Fever and solid tumor: diagnostic value of procalcitonin and C-reactive protein. *Rev Med Intern* 2001; 22: 706-714.
- Pinsky MR, Vincent JL, Deviere J, et al. Serum cytokine levels in human septic shock. Relation to multiple-organ failure and mortality. *Chest* 1993; 103: 65-75.
- Pollack MM, Ruttimann EU and Getson PR. The Pediatric Risk of Mortality (PRISM) score. *Crit Care Med* 1988; 16: 1110-1116.
- Povoa P, Coelho L, Almeida E, et al. C-reactive protein as a marker of infection in critically ill patients. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 101-108.
- Presterl E, Staudinger T, Pettermann M, et al. Cytokine profile and correlation to the APACHE III and MPM II scores in patients with sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 825-832.
- Reny JL, Vuagnat A, Ract C, et al. Diagnosis and follow-up of infections in intensive care patients: value of C-reactive protein compared with other clinical and biological variables. *Crit Care Med* 2002; 30: 529–535.

- Resch B, Gusenleitner W, and Muller WD. Procalcitonin and interleukin-6 in the diagnosis of early-onset sepsis of the neonate. *Acta Paediatrica* 2003; 92: 243-245.
- Richetti SMQ. Disfunção de múltiplos órgãos e sistemas. In : *Manual de Terapia Intensiva Pediátrica*. Fioretto JR ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2003: 141-158.
- Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003; 107:363-369.
- Rivers EP, McIntyre L, Morro DC, et al. Early and innovative interventions for severe sepsis and septic shock: taken an advantage of a window of opportunity. *CMAJ* 2005; 9: 1054-1065.
- Ruokonen E, Nousiainen T, Pulkki K, et al. Procalcitonin concentration in patients with neutropenic fever. *Eur J Clin Microbial Infect Dis* 1999; 18:83-285.
- Sauer M, Tiede K, Fuchs D, et al. Procalcitonin, C-reactive protein, and endotoxin after bone marrow transplantation: identification of children at high risk of morbidity and mortality from sepsis. *Bone Marrow Transp* 2003 (31):1137-1142.
- Schwartz S, Bertam M, Schwab S, et al. Serum procalcitonin levels in bacterial and abacterial meningitis. *Crit Care Med* 2000; 28:1828-1832.
- Selberg O, Hartmut H, Martin M, et al. Discrimination of sepsis and systemic inflammatory response syndrome by determination of circulating plasma concentrations of procalcitonin, protein complement 3a, and interleukin-6. *Crit Care Med* 2000; 28:2793-2798.

- Sharma S & Kumar A. Septic shock, multiple organ failure, and acute respiratory distress syndrome. *Curr Opin Pulm Med* 2003; 9:199-209.
- Sierra R, Rello J, Bailen MA, et al. C-reactive protein used as an early indicator of infection in patients with systemic inflammatory response syndrome. *Intensive Care Med* 2004; 30:2038-2045
- Simon L, Gauvin F, Amre DK, et al. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: A systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2004; 39:206-217.
- Simon L, Gauvin F, Amre DK, et al. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: A systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 206-217. Erratum in: *Clin Infect Dis* 2005; 40:1386-1388.
- Simon L, Saint-Louis P, Amre DK, et al. Procalcitonin and C-reactive protein as markers of bacterial infection in critically ill children at onset of systemic inflammatory response syndrome. *Pediatr Crit Care Med* 2008; 9: 47-413.
- Staehler M, Hammer C, Meiser B, et al. Procalcitonin: a new marker for differential diagnosis of acute rejection and bacterial infection in heart transplantation. *Transplant Proc* 1997; 29:584-585.
- Steinhauser ML, Hogaboam CM, Kukacs NW, Strieter RM, Kunkel SL. Multiple roles for IL-12 in a model of acute septic peritonitis. *J Immunol* 1999; 162:5437-5443.
- Stern AS, Podlaski FJ, Hulmes JD, et al. Purification to homogeneity and partial characterization of cytotoxic lymphocyte maturation factor from

- human B-lymphoblastoid cells. Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87:6808–6812
- Stoll BJ, Holman RC and Schuchat A. Decline in sepsis-associated neonatal and infant deaths in the United States 1979 through 1994. Pediatrics 1998; 102: 1-7.
- Strehlow MC, Emond SD, Shapiro NI, et al. National study of emergency department visits for sepsis, 1992-2001. Ann Emerg Med 2006; 48:326-331.
- Streiner SL & Norman GR. Bioestatistics. The base essentials. Mosby-Year Book, St Louis, 1994: 260.
- Stryjewsky GR, Nylen ES, Bell MJ, et al. Interleukin-6, interleukin-8, and a rapid and sensitive assay for calcitonin precursors for the determination of bacterial sepsis in febrile neutropenic children. Pediatr Crit Care Med 2005; 6:129-133.
- Suprin E, Camus C, Gacouin A, et al. Procalcitonin: A valuable indicator of infection in a medical ICU? Intensive Care Med 2000; 26:1232-1238.
- Tetta C, Bellomo R and Ronco C. Artificial organ treatment for multiple organ failure, acute renal failure, and sepsis: Recent new trends. Artif Organs 2003; 27: 202-213.
- Tillet WS & Francis T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. J Exp Med 1930; 52:561-71.
- Ugarte H, Silva E, Mercan D, et al. Procalcitonin used as a marker of infection in the intensive care unit. Crit Care Med 1999; 27:498-504.

- Upham JW, Lee PT, Holt BJ, et al. Development of Interleukin-12 producing capacity throughout childhood *Infect Immun* 2002; 70: 6583-6588.
- Van Brakel MJM, Van Vught AJ and Gemke RJJ. Pediatric risk of mortality (PRISM) score in meningococcal disease. *Eur J Pediatr* 2000; 159:232-236.
- Vincent JL. Dear SIRS, I'm sorry to say that I don't like you. *Crit Care Med* 1997; 25:372-374.
- Vincent JL. THE marker of sepsis? *Crit Care Med* 2000; 28:1226-1228.
- Von Heimburg D, Stieghorst W, Khorram-Sefat R, et al. Procalcitonin – a sepsis parameter in severe burn injuries. *Burns* 1998; 24:745-750.
- Wanner GA, Keel M, Steckholzer U, et al. Relationship between procalcitonin plasma levels and severity of injury, sepsis, organ failure and mortality in injured patients. *Crit Care Med* 2000; 28:950-957.
- Weighardt H, Heidecke CD, Emmanuilidis K, et al. Impaired monocyte IL-12 production before surgery as a factor for the lethal outcome of postoperative sepsis. *Ann Surg* 2002; 235:560 -567.
- Weijer S, Florquin S, Van der Poll. Endogenous interleukin-12 improves the early antimicrobial host response to murine *Escherichia coli* peritonitis. *Shock* 2005; 23:54-58.
- Whicher J, Bienvenu J, Monneret G. Procalcitonin as an acute phase marker. *Ann Clin Biochem* 2001; 38 : 483-493.
- Wilkinson JD, Pollack MM, Glass NL, et al. Mortality with multiple organ system failure and sepsis in pediatric intensive care unit. *J Pediatr* 1987; 111: 324-328.

- Wolf SF, Temple PA, Kobayashi M, et al. Cloning of DNA for natural killer stimulatory factor, a heterodimeric cytokine with multiple biologic effects on T and natural killer cells. *J. Immunol* 1991; 146: 3074-3081.
- Wysocka M, Kubin M, Vieira LQ, Ozmen L, Garotta G, Scott P, Trinchieri G. Interleukin-12 is required for interferon-gamma production and lethality in lipopolysaccharide-induced shock in mice. *Eur J Immunol* 1995; 25:672-676.
- Yoshie O, T Imai and Nomiyama H, Chemokines in immunity. *Adv Immunol* 2001; 78:57-110.
- Young B, Gleeson M, Cripps AW. C-reactive protein: A critical review. *Pathology* 1991; 23:118-124.
- Zisman DA, Kunkel SL, Strieter RM, et al. Anti-Interleukin-12 therapy protects mice in lethal endotoxemia but impairs bacterial clearance in murine *Escherichia coli* peritoneal sepsis. *Shock* 1997; 8:349-356.
- Zlotnik A and Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity* 2001; 12:121-127.





**Anexo I – Idade dos pacientes do grupo sepse (GS) e choque séptico (GCS).**

<b>Idade (meses)</b>	
<b>GS (n=46)</b>	<b>GCS (n=41)</b>
78	5
4	1,5
2	4
21	29
36	4
48	204
2	8
60	3
36	36
167	1
3	123
36	29
9	39
2	8
48	36
84	12
29	18
18	11
7	8
27	9
84	123
11	15
20	41
3	12
120	1
48	24
68	18
63	6
4	168
6	19
72	3
12	4
82	72
68	1,5
24	9
30,5	178
12	17
2	12
8	1
4	60
13	7
9	5
24	1,5
108	
139	
98	
78	

n = número de pacientes.

**Anexo II** – Valores individuais dos níveis plasmáticos de interleucina-12 dos pacientes do grupo sepse (GS) e choque séptico (GCS) no tempo zero (T0) e 12 horas (T 12h) de avaliação.

<b>Interleucina-12</b>			
<b>GS (n=46)</b>		<b>GCS (n=41)</b>	
<b>T 0</b>	<b>T 12h</b>	<b>T 0</b>	<b>T 12h</b>
0	--	0	4,232
53,545	0	0,456	0,997
0	9,416	0	--
7,688	0	19,128	20,732
0	0	0,54	0
8,869	0	0	0
0	0	0	0,026
0	--	1,144	0,94
16,117	0	0	0
0	22,389	0,146	0
0	54,923	0	0,878
0	11,244	0	0
11,893	--	0	0
0,21	0	0	2,349
3,712	0	13,342	61,005
0	90,745	0,717	10,155
35,697	39,309	0	0,74
1,577	53,799	1,664	3,171
0	--	0,853	12,103
0,196	6,91	0,989	4,254
1,029	1,621	0	2,982
0	14,666	2,219	14,811
0,105	12,172	0	1,489
1,029	0	0,328	14,848
0	--	0	--
0	44,267	--	1,151
1,915	0	0	0,118
0	3,712	0,424	3,99
1,234	0	0	0,49
0	0	226,428	28,725
0	3,369	7,092	0
0	1,238	0	0
2,469	26,217	0	--
3,213	--	0	0
2,077	21,712	2,013	2,783
511,618	9,651	5,579	2,905
21,84	3,378	13,979	--
7,998	--	6,363	--
14,375	2,998	0	0
3,076	6,111	14,825	7,998
6,875	31,7	8,759	11,861
35,156	27,989	0	4,232
34,702	230,516	0,456	0,997
5,135	8,567	--	--
0,497	--		
5,542	0		
0	9,416		

**Anexo III** – Valores individuais dos níveis plasmáticos de proteína C reativa dos pacientes do grupo sepse (GS) e choque séptico (GCS) no tempo zero (T0) e 12 horas (T 12h) de avaliação.

<b>Proteína C Reativa</b>			
<b>GS (n=46)</b>		<b>GCS (n=41)</b>	
<b>T 0</b>	<b>T 12h</b>	<b>T 0</b>	<b>T 12h</b>
10,6	21,6	--	15,9
3,3	11,8	--	10,5
1,9	9,9	0,8	--
36,5	20,5	35,7	11,5
16,8	19,3	24,6	18,3
32,9	8,5	39,4	15,2
9,3	1,9	9,9	5,9
17,5	22,1	16,3	16,2
11,5	29,1	6,9	30,6
10,2	6	10,1	10,1
2,4	22,7	1,5	27,4
21,5	5,1	17,6	5
13,4	41,4	13,5	37,8
1	22,3	2,6	38,1
30	8,8	29,4	10,6
16,8	19,5	14,6	21
11,1	2,5	10,2	2,5
3,2	3,8	0,4	13,3
10,7	20,3	12,4	26,1
20	12,3	30,2	9,6
28,4	26,9	28,2	22,6
3	5,3	3,5	9,5
25,7	18,6	20,3	17,2
4,9	39,4	3,4	35
21	5,7	10	--
10,7	20,2	--	19,7
2,6	52,2	5,7	15,1
25,4	1,7	16,4	1
4,1	9,4	11,2	8,6
7,9	9,1	14,5	10,2
31,6	9,2	30,6	5,3
18,3	20,8	10,5	24,2
22,1	25,2	19,2	
14,7	12,9	12,2	15,4
17,4	0,5	--	0,9
7	17,9	5,3	17,3
16,1	12,8	16,2	
23,6	7,9	25,3	
3,1	0,9		8,5
2,1	13,4	1,7	24,1
2,8	25,3	2,5	33,3
1,2	21,6	0,9	15,9
36,4	11,8	35,4	10,5
23,9	9,9		--
22	20,5		11,5
25,8	19,3		
10,6	8,5		