KARIN SCHMIDT RODRIGUES MASSARO

**Comparação entre os biomarcadores
inflamatórios procalcitonina (PCT), interleucina-6
(IL-6) e proteína-C reativa (PCR) para diagnóstico
infeccioso e evolução de febre em pacientes
neutropênicos submetidos a transplante de
células tronco hematopoiéticas (TCTH)**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Doutor em
Ciências

Programa de Doenças Infecciosas e
Parasitárias

Orientadora: Profa. Dra. Silvia Figueiredo
Costa

**SÃO PAULO
2013**

SANGUE QUENTE

*Não minto:
não sou inofensiva.
Sou honesta,
e um tanto persuasiva.
Eu sou a reação,
a ideia desatinada,
a provocação,
a doença incubada.
Um homem hiperestrogênico,
Uma mulher contundente,
seu mel, seu arsênico.
Eu sou de sangue quente!*

Karin S. R. Massaro

DEDICATÓRIA

À minha amada e inesquecível mãe e melhor amiga Marlene Schmidt Rodrigues (*in memoriam*)

Sinto muita saudade de você, mãe. Não imaginava estar escrevendo essa dedicatória sem você fisicamente presente. Não imaginava essa etapa da minha vida sem você viva nesse plano, agora, nesse momento. Não podia conceber um amanhecer ou algo assim, sem você. Em verdade, perdi minha raiz e minha referência. Você, minha linda, minha amiga dourada e luminosa...

Minha aula de qualificação? Você foi a única que ouviu inteirinha, mesmo deitada em uma cama de hospital... Sem ser médica, disse que entendeu tudo e estava maravilhada. Coisas de mãe... da mãe perfeita e incomparável que você foi. Acreditou em mim sempre. Fiquei a rocha que sou hoje por você e pelo meu pai. Até me fez acreditar que era poeta! Quando ganhei o prêmio Sepse Brasil com o trabalho do mestrado, nem eu acreditava em mim. Nem chamei você e meu pai, nem meus filhos... Como poderia uma Hematologista ganhar com tantos Infectologistas maravilhosos? Quando ganhei, vi que você estava lá, descobrira o endereço do evento! Minha fofa... Estou chorando...

...

A mulher completa você foi. Mãe, esposa, empresária e acima de tudo, apaixonada pela vida e pelo ser humano. Quantas pessoas ajudou? Incalculável. Não há palavras, ou dedicatórias possíveis para deixar para você. Nem poesia, nem nada. Não sou capaz de adjetivar você, sua palavra é sublime-dourada. Não posso mais me reportar a você. Mas você pode se reportar a Deus, nosso Pai. Aliás, em sua vida terrena, Ele sempre foi tão intrínseco a você. Sem palavras, mãe. Você gostava de festa e energia. Não vou falar de tristeza. Espero que você tenha orgulho desse meu trabalho, essa tese que viu nascer e imensamente me apoiou. Receba meu amor incondicional agora e sempre. E seus ensinamentos ficaram em mim: estudar, trabalhar, amar e viver com dignidade e intensidade. Possa este estudo ajudar um pouco o ser humano, quando este adocece. Coloco o que sei das Ciências Médicas para ajudar o próximo como minha maior meta de vida.

Amo você demais mãe. Você não morreu. Você está no meu sangue e garanto que vou honrar sua confiança e amor por mim. Valeu a pena, mãe!

A Deus, por ter me dado uma família que apoia todos os meus atos, comemora todos os meus sucessos, por ter me dado amigos com quem posso contar em todos os momentos e por ter me dado a oportunidade nessa vida de estudar e trabalhar na área da saúde.

Ao meu pai Djalma Luiz Rodrigues, por ter sido meu grande amigo e exemplo de caráter e retidão moral. Sempre apoiou a ciência em todos os sentidos e, juntamente com minha saudosa mãe, tornaram-me a pessoa forte que sou. Um pai inteligente e genial, um grande homem que continua

me inspirando até hoje. Ensinou-me a ter conhecimento, força e coragem no dia a dia. Não há palavras para exprimir meu amor e admiração.

Ao meu esposo Rubens Massaro, meu grande amor, alma muito elevada, companheiro de todas as horas do nosso mundo, apoiador incansável, marido perfeito. Nosso amor é maior que o infinito e também impossível de ser descrito. Sem ele, nada sou.

Aos meus filhos Rubens Luiz e Roberto Luiz, meus filhos lindos e amorosos, razão da minha vida, por todo o amor que me dedicam, pela paciência em ter uma mãe médica e rigorosa, pelos momentos felizes que vivemos e viveremos sempre. Obrigada por terem sido filhos perfeitos que toda mãe sonhou! Serão homens bons e justos. Vocês são muito sensacionais! Amo vocês mais que infinito.

Aos meus sogros Celestino Massaro e Aparecida Costantino Massaro (*in memoriam*), por todo afeto recebido e amizade, permanecerão registrados no meu coração.

A todos os meus familiares, irmãs, afilhados e sobrinhos, por me incentivarem e me apoiarem durante essa jornada. Agradeço pela amizade e por preencherem com alegria os encontros e por entenderem a minha ausência às vezes. Obrigada por vibrarem com minhas conquistas.

A todos aos quais possa servir como médica e amiga, serei cada vez melhor em todos os sentidos.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Silvia Figueiredo Costa, minha professora amada, que me ensinou e me inspirou desde quando a conheci no meu mestrado. Nos nossos oito anos de convívio e amizade, provou ser mais que uma mestra, mas também uma amiga presente e que me apoiou nos meus períodos difíceis. Aprendi com ela o verdadeiro valor de ser uma cientista e o quão gratificante é uma pesquisa. Além de agradecer, também dedico minha tese à Profa. Dra. Silvia. Serei eternamente grata pelos seus ensinamentos, orientação e paciência. Trabalhar com ela é uma experiência ímpar e divina, marcará para sempre minha vida.

À Profa. Dra. Anna Sara Levi, pela amizade, pelos ensinamentos científicos, pelas orientações preciosas, pelo apoio, modelo de sucesso acadêmico profissional. Sua paciência e carinho durante essa jornada fizeram aumentar-lhe a estima e admiração.

Ao biomédico Rodrigo Matos Macedo, pela amizade, pela imensurável colaboração no estudo, pela presença sempre amiga, dando apoio irrestrito no desenvolvimento do trabalho. Não há palavras para agradecer todo o carinho, amizade e dedicação.

À Profa. Dra. Sigrid de Sousa dos Santos, pela amizade, incentivo, paciência, carinho e pela arguição no exame de qualificação, dando-me mais ensinamentos valiosos e subsídios para o término da tese.

À Profa. Dra. Elvira Deolinda Rodrigues Pereira Velloso, professora exemplar, pelo carinho e amizade com que me trata sempre, pela arguição no exame de qualificação, dando-me ensinamentos e sugestões para o término da tese.

À Profa. Dra. Clarisse Martins Machado, professora dedicada que jamais esquecerei. Agradeço pelas oportunidades, orientações durante a qualificação e confiança em mim depositadas.

À Profa. Dra. Maria Aparecida Shikanai-Yasuda, sinônimo de profissionalismo e educação, pela confiança e receptividade.

Ao Prof. D. Mauro Giudicce, pelo carinho e amizade com que me trata sempre, pelo apoio, acolhimento, pelo muito que aprendi com você. E simplesmente por ser meu amigo querido.

À Profa. Dra. Juliana Pereira, pela sua amizade e incentivo, pelo muito que aprendi com seus ensinamentos e sabedoria. Minha admiração por você sempre cresce.

Ao Prof. Dr. Luís Fernando Aranha Camargo, pelo apoio e confiança.

Ao Prof. Dr. Frederico Dulley, pela amizade e confiança. Agradeço imensamente por permitir a utilização do seu serviço para realização do meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Dalton de Alencar Fischer Chamone, pelo apoio irrestrito no desenvolvimento desse estudo.

Ao Prof. Dr. Sérgio Paulo Bydlowski por ter me incentivado. Você é um exemplo de ética profissional, competência e amizade.

Às enfermeiras e todos os profissionais do Ambulatório de Transplante de Medula Óssea da Fundação Pró-sangue, em especial à Alessandra Barban, Flavia Suazquita, Catarina Delaquilla Mansur Moreira e Priscila Tavares Musqueira pelo carinho, amizade e momentos de muita alegria no nosso convívio durante a etapa de coleta de material biológico;

Às enfermeiras e todos os auxiliares, técnicos de enfermagem e funcionários da Enfermaria de Hematologia do HC, exemplificados pela Enfermeira Claudia dos Santos Sousa e Tânia Alves de Lima, pela amizade e agradável período que passamos juntos durante o período de coleta das amostras de material biológico;

À Dra. Nanci Alves Salles, chefe do Laboratório de Sorologia da Fundação Pró-Sangue, por gentilmente ter permitido novamente que eu pudesse realizar esta investigação científica em seu laboratório.

A todos os profissionais do Laboratório de Sorologia da Fundação Pró-Sangue, em especial à Marli Monteiro e Maria Aparecida Lopes Castilho que sempre me trataram com muito carinho e atenção.

À Inekke, pela amizade, incentivo e imenso carinho durante essa longa jornada, pelos anos de convivência que jamais esquecerei.

Ao biomédico Bruno Stuart de Castro, pelo precioso auxílio na realização da tese, sem se preocupar com horário, com muita competência e boa vontade.

À Sra. Maria Helena Vargas e sua filha Priscilla Vargas, pelas orientações para a elaboração do manuscrito de acordo com as normas da Instituição, mas especialmente pela amizade que já é consolidada desde o meu Mestrado. Trabalhamos juntas tomando café, com sua paisagem maravilhosa e momentos de descontração, alegria e compreensão mútua. Prezo muito nossa amizade!

Ao Prof. Mario Ferraz de Araújo, pela correção da Língua Portuguesa e apoio, é mais que um professor, é um exemplo na minha vida de ser humano bondoso e íntegro. Sou sua eterna discípula e amiga.

Às secretárias e amigas Andreia Aparecida de Paula Alcaia e Roseli Antonia Santo por toda ajuda, confiança e amizade sincera que cultivamos que com certeza é para sempre... A todos os funcionários envolvidos na Pós-Graduação da Disciplina de Doenças Infecciosas da Universidade de São Paulo. Fui extremamente bem acolhida, vocês fizeram-me sentir em casa.

À Creusa Dal Bó, por ter me orientado nas análises estatísticas, pelos ensinamentos valiosos e extrema paciência. Obrigada pela amizade, conselhos e auxílio na obtenção de conhecimentos em estatística e metodologia científica.

A todos os meus amigos, por me apoiarem e entenderem minha ausência nos últimos meses. Não vou citar nomes, pois minha lista de amigos sinceros é muito grande, sou abençoada. Vocês me ajudaram no período de luto que enfrentei durante o doutorado.

A todos os meus pacientes que voluntariamente contribuíram para a realização desse estudo e por terem me ensinado a viver com esperança, alegria e otimismo.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de gráficos

Lista de tabelas

1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Infecção em Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas (TCTH)	2
1.2 Estudos de biomarcadores de infecção em neutropenia febril após TCTH.....	15
1.2.1 Procalcitonina.....	15
1.2.2 Proteína C-reativa.....	19
1.2.3 Interleucina-6 (IL-6).....	20
1.3. Justificativa do Estudo	28
2 OBJETIVOS	29
2.1 Principal	30
2.2 Secundário	30
3 MÉTODOS	31
3.1 Critérios de Inclusão	33
3.2 Critérios de Exclusão	33
3.3 Recrutamento das Amostras de Sangue.....	34
3.4 Avaliação Clínica e Definições	34
3.5 Métodos Laboratoriais	37
3.5.1 Determinação da PCR	38
3.5.2 Determinação da PCT	39
3.5.3 Determinação da IL-6	41
3.6 Análise Estatística.....	44

4 RESULTADOS	47
4.1 Comparação dos grupos em relação a IL-6, PCT e PCR no dia da neutropenia constatada sem febre (tubo A)	54
4.2 Comparação entre os grupos II e III em relação a IL-6, PCT e PCR no momento da constatação do evento febril (tubo B)	55
4.3 Comparação entre os grupos II e III em relação a IL-6, PCT e PCR 24 horas após o início da febre (tubo C).....	56
4.4 Comparação entre os grupos II e III em relação às dosagens de IL-6, PCT e PCR 72 horas após início da febre (tubo D)	56
4.5 Comparação entre os grupos II e III em relação às dosagens de IL-6, PCT e PCR em 48 horas após a coleta do tubo D ou, em caso da persistência da febre, cinco dias após a coleta do tubo D (tubo E)	57
4.6 Estudo da dosagem de IL-6 no diagnóstico de infecção em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH.....	58
4.7 Estudo da dosagem de PCT no diagnóstico de infecção em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH.....	61
4.8 Estudo da dosagem de PCR no diagnóstico de infecção em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH.....	63
4.9 Estudo dos três biomarcadores (IL-6, PCT e PCR) entre si avaliados em todos os momentos estudados no subgrupo TCTH autólogo.....	65
4.10 Biomarcadores e óbito em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH	67
5 DISCUSSÃO.....	74
6 CONCLUSÕES.....	98
7 ANEXOS.....	100
8 REFERÊNCIAS	121

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAG	- Anemia aplástica grave
ACCP/SCCM	- <i>American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine</i>
aDECH	- Doença do enxerto contra o hospedeiro aguda
ASA	- Amiloide sérica A
ATG	- Globulina anti-timocítica
CAPPesq	- Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CMV	- Citomegalovírus
CTCAE	- <i>Common Terminology Criteria for Adverse Events</i>
CVC	- Cateter venoso central
DECH	- Doença do enxerto versus hospedeiro
DHL	- Desidrogenase láctica
DP	- Desvio padrão
DVO	- Doença venooclusiva
ELISA	- <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
FMO	- Falência de múltiplos órgãos
FMUSP	- Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
FOI	- Febre de origem indeterminada
G-CSF	- Fator estimulador de colônia de granulócitos
HC-FMUSP	- Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HMC	- hemocultura
ICS	- Infecção de corrente sanguínea
IFN- γ	- Interferon γ
IL-10	- Interleucina 10
IL-1 α	- Interleucina 1 α
IL-1 β	- Interleucina 1 β

IL-2R	- Interleucina 2R
IL-6	- Interleucina-6
IL-8	- Interleucina-8
KC	- Katalcalcina
LBA	- Lavado brônquio-alveolar
LH	- Linfoma de Hodgkin
LLA	- Leucemia linfóide aguda
LMA	- Leucemia mielóide aguda
LMC	- Leucemia mielóide crônica
LNH	- Linfoma não- Hodgkin
MASCC	- <i>Multinational Association of Supportive Care in Cancer</i>
MM	- Mieloma múltiplo
MRSA	- <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à metacilina
PCR	- Proteína C-reativa
PCT	- Procalcitonina
ROC	- <i>Receiver Operating Characteristic</i>
SCN	- <i>Staphylococci</i> coagulase negativo
SDMO	- Síndrome da disfunção de múltiplos órgãos
SIRS	- Síndrome da resposta inflamatória sistêmica
TCTH	- Transplante de células tronco hematopoiético
TNF- α	- Fator de necrose tumoral alfa
VPN	- Valor preditivo negativo
VPP	- Valor preditivo positivo
VRE	- <i>Enterococcus</i> resistente à vancomicina
VSR	- Vírus sincicial respiratório

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** - Valores de média e desvio-padrão da idade, segundo o grupo de estudo de 296 pacientes submetidos a TCTH, neutropênicos avaliados no HC-FMUSP, no período estudado entre agosto/2008 e dezembro 201048
- Gráfico 2** - Curvas ROC da dosagem de IL-6 para o diagnóstico de infecção em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH de acordo com o momento da coleta60
- Gráfico 3** - Curvas ROC da dosagem de PCT para o diagnóstico de infecção em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH de acordo com o momento da coleta62
- Gráfico 4** - Curvas ROC da dosagem de PCR para o diagnóstico de infecção em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH de acordo com o momento da coleta64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição de frequências dos 296 pacientes submetidos a TCTH estudados segundo a classificação baseada no desenvolvimento de febre e infecção	49
Tabela 2 - Características da população estudada	50
Tabela 3 - Descrição das infecções identificadas nos pacientes neutropênicos submetidos a TCTH, classificados no Grupo III (infecção clínica ou microbiologicamente documentada)	52
Tabela 4 - Microorganismos isolados em culturas de 296 pacientes submetidos a TCTH	52
Tabela 5 - Dosagens de IL-6, PCT e PCR em 267 pacientes submetidos a TCTH no momento da neutropenia constatada sem febre (tubo A) de acordo com a classificação dos grupos: I (afebril), II (FOI), III (infecção clínica e/ou microbiologicamente documentada)	54
Tabela 6 - Dosagens de IL-6, PCT e PCR em 190 pacientes submetidos a TCTH no momento do evento febril constatado (TUBO B) de acordo com a classificação em grupo II (FOI) ou III (infecção clínica e/ou microbiologicamente documentada)	55
Tabela 7 - Dosagens de IL-6, PCT e PCR em 188 pacientes submetidos a TCTH, 24 horas após o início da febre (tubo C), de acordo com a classificação em grupo II (FOI) ou III (infecção microbiologicamente documentada)	56

Tabela 8 - Dosagens de IL-6, PCT e PCR em 186 pacientes submetidos a TCTH, 72 horas após o início da febre (tubo D) de acordo com a classificação em grupo II (FOI) ou III (infecção microbiologicamente documentada).....	57
Tabela 9- Dosagens de IL-6, PCT e PCR em 185 pacientes submetidos a TCTH após 48 horas da coleta do tubo D ou após cinco dias da coleta do tubo D, em caso da persistência da febre (tubo E), de acordo com a classificação em grupo II (FOI) ou III (infecção microbiologicamente documentada)	58
Tabela 10 - Sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e acurácia da dosagem de IL-6 em identificar infecção em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH, no evento febril constatado ou hipotermia (Momento B); após 24 horas do início da febre ou hipotermia (Momento C); após 72 horas do início da febre ou hipotermia (Momento D); após 48 horas da coleta do tubo D ou, em caso de febre, cinco dias após a coleta do tubo D (Momento E)	59
Tabela 11 - Sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e acurácia da dosagem de PCT em identificar infecção em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH, no evento febril ou hipotérmico constatado (Momento B); após 24 horas do início da febre ou hipotermia (Momento C); após 72 horas do início da febre ou hipotermia (Momento D): após 48 horas da coleta do tubo D ou, em caso de febre, cinco dias após a coleta do Momento D (Momento E)	61

Tabela 12 - Sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e acurácia da dosagem da PCR em identificar infecção em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH, no evento febril ou hipotérmico constatado (Momento B); após 24 horas do início da febre ou hipotermia (Momento C); após 72 horas do início da febre ou hipotermia (Momento D): após 48 horas da coleta do tubo D ou, em caso de febre, cinco dias após a coleta do tubo D (Momento E)	63
Tabela 13 - Comparação dos biomarcadores entre si nos casos de TCTH autólogos.....	66
Tabela 14 - Descrição de valores de IL-6, PCT e PCR no dia da neutropenia constatada sem febre (tubo A), segundo a evolução para óbito associado ao evento	67
Tabela 15 - Descrição de valores de IL-6, PCT e PCR no momento do evento febril (tubo B), segundo a evolução para óbito associado ao evento	68
Tabela 16 - Descrição de valores de IL-6, PCT e PRC, avaliadas em pacientes submetidos a TCTH 24 horas após o início da febre (tubo C), segundo a evolução para óbito associado ao evento	68
Tabela 17 - Descrição de valores de IL-6, PCT e PCR em pacientes submetidos a TCTH após 72 horas de febre (tubo D), segundo a evolução ou não para óbito	69
Tabela 18 - Descrição de valores de IL-6, PCT e PCR em pacientes submetidos a TCTH, 48 horas após a coleta do tubo D ou, em caso de persistência da febre, cinco dias após a coleta do tubo D (tubo E), segundo a evolução ou não para óbito	70

Tabela 19 - Análise bivariada de fatores de risco associados ao óbito em pacientes submetidos a TCTH.....	71
Tabela 20 - Análise bivariada das variáveis IL-6, PCT e PCR com o óbito	72
Tabela 21 - Análise multivariada de fatores de risco independentes para óbito em pacientes submetidos a TCTH.....	73

RESUMO

Massaro KSR. *Comparação entre os biomarcadores inflamatórios procalcitonina (PCT), interleucina-6 (IL-6) e proteína-C reativa (PCR) para diagnóstico infeccioso e evolução de febre em pacientes neutropênicos submetidos a transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH)* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

Introdução: No presente estudo foram avaliados biomarcadores na ocorrência de febre em pacientes neutropênicos após transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH). **Objetivo:** O objetivo principal foi avaliar os valores séricos de biomarcadores: proteína C reativa (PCR), procalcitonina (PCT) e IL-6 (interleucina-6) que possam identificar precocemente infecção em TCTH. Outro objetivo foi fatores de risco para óbito nessa população. **Métodos:** Os biomarcadores foram avaliados em um estudo prospectivo que incluiu 296 pacientes neutropênicos, submetidos a TCTH autólogo ou alogênico. Os biomarcadores PCT, PCR e IL-6 foram dosados nos seguintes momentos: dia da neutropenia constatada sem febre, evento febril ou hipotermia ($T < 35^{\circ}\text{C}$), 24 h após a febre ou hipotermia, 72 horas após a febre ou hipotermia e febre prolongada ou seja 48 horas após a coleta no momento anterior ou na persistência da febre, cinco dias após a coleta no momento anterior. Os dados clínicos e laboratoriais, foram avaliados até a evolução para alta ou o óbito, em uma planilha Excel[®] 2003 e foram processados pelos programas SPSS e STATA. Os pacientes foram classificados nos seguintes grupos (I- afebril; II- febre de origem indeterminada FOI e III- febre clínica ou microbiologicamente comprovada) em relação a cada marcador estudado (PCT, PCR e IL-6). Foram feitos cálculos para estabelecer área sob a curva ROC, sensibilidade, especificidade, para avaliação da febre e óbito. Para avaliar o desfecho óbito foi realizada análise multivariada com regressão logística stepwise. **Resultados:** Dos 296 pacientes, 190 apresentaram febre. Duzentos e dezesseis (73%) foram submetidos a transplantes autólogos e 80 (27,0%) alogênicos. Dos 80 casos de TCTH alogênicos 74 (92,6%) eram aparentados e apenas 6 (7,4%) aparentados. Dos 80 casos alogênicos 69 (86,3%) eram fullmatch e 11(13,7%) mismatch. Em relação aos grupos já citados acima, temos a seguinte distribuição: grupo I: 106 pacientes (35,8%); grupo II: 112 pacientes (37,8%) e grupo III: 78 (26,4%). Os valores de média e mediana da IL-6 no momento afebril no grupo I em relação ao grupo II ($p = 0,013$), apresentando valor significativamente maiores. Os níveis da PCR no grupo I diferiram de forma significativa dos encontrados no grupo III ($p < 0,05$). Os grupos diferiram em relação aos níveis de IL-6 e de PCR no

momento febril. O grupo II apresentou concentrações de IL-6 e de PCR significativamente menores que o grupo III. Os melhores valores de corte de PCT para os momentos de coleta: febre, 24 horas após a febre, 72 horas de febre, e febre prolongada foram respectivamente: 0,32; 0,47; 0,46 e 0,35µg/L. No momento da febre a sensibilidade foi 52,3 e a especificidade 52,6 para o diagnóstico de infecção. Os melhores valores de corte de PCR para os momentos de febre, 24 horas após, 72 horas após e febre prolongada foram, respectivamente: 79, 120, 108 e 72 mg/L. No momento da febre a sensibilidade foi 55,4 e especificidade foi 55,1. Os melhores valores de corte de IL-6 para os momentos de febre, 24 h após, 72 horas após a febre e febre prolongada foram respectivamente: 34, 32, 16 e 9 pg/mL. A sensibilidade e especificidade no momento da febre foram respectivamente: 59,8 e 59,7. Na análise dos três biomarcadores no grupo de pacientes autólogos, verifica-se que só a IL-6 apresenta valores significativos nos momentos iniciais (afebril, febre e 24 horas após a febre). Os seguintes fatores de risco independentes foram identificados na análise multivariada: doador aparentado, doador não aparentado, infecção por Gram-negativo, DHL ≥ 390 (UI/L), ureia ≥ 25 (mg/dL) e PCR ≥ 120 (mg/L). **Conclusões:** IL-6 e PCR têm associação com diagnóstico precoce de infecção clínica ou microbiologicamente confirmada em neutropenia febril após TCTH. A associação dos três marcadores não apresentou nenhuma vantagem, e não melhorou a acurácia diagnóstica. A IL-6 foi o único biomarcador significativamente associado de forma precoce com infecção quando avaliado apenas pacientes submetidos a TCTH autólogos. As variáveis independentes associadas com óbito foram: transplante alogênico, infecção por Gram-negativos, DHL ≥ 390 UI/L no momento da febre e ureia ≥ 25 mg/dL no momento da febre e PCR ≥ 120 (mg/L).

Descritores: Transplante de células-tronco hematopoéticas; Transplante homólogo; Transplante autólogo; Marcadores biológicos; Febre; Neutropenia/etiologia; Proteína C-reativa; Interleucina-6; Procalcitonina; Neutropenia febril.

SUMMARY

Massaro KSR. *Comparison between inflammatory biomarkers procalcitonin (PCT), interleukin-6 (IL-6) and C-reactive protein (CRP) for infection diagnosis and fever evolution in neutropenic patients, submitted to hematopoietic stem cell transplantation (HSCT)* [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

Introduction: In the present study, biomarkers were assessed in the occurrence of fever in neutropenic patients upon hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). **Objective:** The main objective was to assess the serum values of biomarkers: C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT) and IL-6 (interleukin-6) which can early identify infection in HSCT. Another objective was risk factors for death in that population. **Methods:** The biomarkers were assessed in a prospective study which comprised 296 neutropenic patients submitted to autologous or allogeneic HSCT. The biomarkers PCT, CRP and IL-6 were dosed at the following moments: day of afebrile neutropenia, febrile event or hypothermia ($T < 35^{\circ}\text{C}$), 24 h upon fever or hypothermia, 72 hours upon fever or hypothermia and long-standing fever, that is, 48 hours upon the last sampling or at fever persistence, five days upon the last sampling. The clinical and laboratory data were assessed up to the evolution to discharge or death, in an Excel[®] 2003 spreadsheet and were processed by the SPSS and STATA software. Patients were classified in the following groups (I- afebrile; II- fever of unknown origin FUO and III- clinically or microbiologically proven fever) in regard to each biomarker studied (PCT, CRP and IL-6). Calculations were made to establish the area under the ROC curve, sensitivity, specificity, for the assessment of the evolution and death. In order to assess the death outcome, a multivariate analysis with stepwise logistic regression was conducted. **Results:** Out of the 296 patients, 190 had fever. Two hundred and sixteen (73%) were submitted to autologous transplantations and 80 (27.0%) to allogeneic ones. Out of the 80 cases of allogeneic HSCT, 74 (92.6%) were related and only 6 (7.4%) were unrelated. Out of the 80 allogeneic cases, 69 (86.3%) were fullmatch and 11(13.7%) were mismatch. In regard to the groups mentioned above, we have the following distribution: group I: 106 patients (35.8%); group II: 112 patients (37.8%) and group III: 78 patients (26.4%). The mean and median values of IL-6 at fever onset in group I in regard to group II ($p = 0.013$), presenting significantly higher values. The levels of CRP in group I differed significantly from those found in group III ($p < 0.05$). The groups differed in regard to the levels of IL-6 and CRP at fever onset. Group II presented IL-6 and CRP concentrations significantly lower than group III. The best cut-off values of PCT for sampling: fever onset, 24 hours upon fever, 72 hours of fever, and

long-standing fever were, respectively: 0.32; 0.47; 0.46 and 0.35µg/L. At fever onset, sensitivity was 52.3 and specificity 52.6 for infection diagnosis. The best cut-off values of CRP for fever onset, 24 hours upon fever, 72 hours upon fever and long-standing fever were, respectively: 79, 120, 108 and 72 mg/L. At fever onset, sensitivity was 55.4 and specificity was 55.1. The best cut-off values of IL-6 for fever onset, 24 hours upon fever, 72 hours upon fever and long-standing fever were, respectively: 34, 32, 16 and 9 pg/mL. At fever onset, sensitivity and specificity were, respectively: 59.8 and 59.7. In the analysis of the three biomarkers in the group of autologous patients, it is observed that only IL-6 presents significant values at initial moments (afebrile, fever and 24 hours upon fever). The following independent risk factors were identified in the multivariate analysis: related donor, unrelated donor, Gram-negative infection, DHL ≥ 390 (UI/L), urea ≥ 25 (mg/dL) and CRP ≥ 120 (mg/L). **Conclusions:** IL-6 and CRP are associated to the early diagnosis of clinically or microbiologically confirmed infection in post-HSCT febrile neutropenia. The association of the three biomarkers did not present any advantage, nor did it improve diagnostic accuracy. IL-6 was the only biomarker significantly associated at an early stage with infection when assessed only in patients submitted to autologous HSCT. The independent variables associated with death were: allogeneic transplantation, Gram-negative infection, DHL ≥ 390 UI/L at fever onset and urea ≥ 25 mg/dL at fever onset and CRP ≥ 120 (mg/L).

Descriptors: Hematopoietic stem cell transplantation; Transplantation, homologous; Transplantation, autologous; Biological markers; Fever; Neutropenia/etiology; C-reactive protein; Interleukin-6; Procalcitonin; Febrile neutropenia

1 INTRODUÇÃO

1.1 Infecção em Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas (TCTH)

O transplante de células tronco hematopoiéticas é um procedimento terapêutico utilizado para patologias hematológicas e não hematológicas. O termo TCTH é usado por ser mais abrangente, pois envolve células progenitoras de qualquer fonte (medula óssea, sangue periférico ou cordão umbilical). A morbidade e mortalidade devido às complicações infecciosas constituem o maior problema clínico em receptores de TCTH (Ochs *et al.*, 1995; Sorely e Shea, 1997).

Pequenos ninhos de células tronco hematopoiéticas são encontrados em material de biópsia óssea no período entre 10-14 dias após o TCTH. A celularidade da medula óssea aumenta rapidamente depois de duas a quatro semanas e mostra a presença de todos os componentes da linhagem mielóide. Entretanto, um período maior de seis a 12 meses pode ser necessário para que se atinja a celularidade normal. O tempo mediano para se atingir um número de neutrófilos de $1,0 \times 10^9/L$, é de 23 dias, variando de 12 a 45 dias (van den Berg *et al.*, 1990). Em TCTH alogênico, a duração média de enxertia (1000 neutrófilos/ μL) é de 17,6 dias (mediana 16, variação 0-110). O tempo médio de enxertia com 1000 neutrófilos/ μL é encurtado pelo uso de fator estimulador de colônia de granulócitos (G-CSF), sendo isso altamente significativo em TCTH

autólogo ($13,2 \pm 11,8$ vs $21,1 \pm 9,9$ dias, $p < 0,001$), mas não após o TCTH alogênico ($18,2 \pm 7,4$ vs $20,3 \pm 11,1$ dias, $p = \text{NS}$). (Krüger *et al.*, 1999). A associação dos dois tipos de transplantes (depletados de células T e não-aparentados) está relacionada a uma enxertia medular (em adultos) muito mais comprometida do que em outros tipos de transplante (Krüger *et al.*, 1999).

A neutropenia resulta em uma suscetibilidade extrema do hospedeiro à infecção. A identificação dessas complicações infecciosas ainda é baseada em critérios clínicos, principalmente na ocorrência de febre. Não obstante, em pacientes neutropênicos, a febre pode ser causada por outras condições sem ser as infecciosas, tais como: administração de drogas ou hemocomponentes e doença do enxerto *versus* hospedeiro aguda (aDECH) nos pacientes submetidos a TCTH (Corey e Boeckh, 2002).

O padrão ouro para detecção de patógenos bacterianos no sangue é a hemocultura (HMC). Entretanto, todos os métodos de HMC apresentam limitações, tais como morosidade do resultado e sensibilidade variável, especialmente quando o paciente já está recebendo antibióticos. Portanto, o diagnóstico de infecção de corrente sanguínea (ICS) representa um desafio para o tratamento de pacientes onco-hematológicos que recebem rotineiramente antibióticos e cujas culturas são frequentemente negativas. Mesmo após a detecção do crescimento na HMC (não antes que 6-12 horas de incubação), os métodos convencionais requerem o mínimo de 24-48 horas para identificação definitiva do patógeno e da sua sensibilidade aos antibióticos (Peters *et al.*, 2006). E, finalmente, HMCs são positivas em apenas 20-50% dos eventos de neutropenia febril (Mancini *et al.*, 2008).

A administração de antibióticos de amplo espectro é, portanto, indicada em pacientes com neutropenia febril, apesar de poder aumentar a resistência antimicrobiana, uma vez que o diagnóstico de infecções durante a neutropenia é difícil e com sinais clínicos inespecíficos (Hughes *et al.*, 2002). Desta forma, todos os pacientes que apresentem febre e neutropenia devem ser tratados prontamente e de forma abrangente (Freifeld *et al.*, 2011). Este tratamento agressivo reduz a mortalidade de 50% a 80% para 10% a 40% (Love *et al.*, 1980; Mendes *et al.*, 2012a).

Os mecanismos de defesa imunológica do paciente que recebe altas doses de quimioterapia ou irradiação corporal total estão gravemente comprometidos. Em adição ao efeito imunodepressor (neutropenia com perda da capacidade de fagocitose), as barreiras epiteliais da mucosa e do trato gastrointestinal estão também adversamente afetadas, e pode ainda haver disfunção de órgãos (Wingard, 1990). O monitoramento intenso destes pacientes para sinais de infecção é essencial, pois, em muitos casos, é muito difícil distinguir entre a DECH ou infecção. Um estudo mostrou que o risco para infecções está frequentemente correlacionado com o nível cumulativo de imunossupressão (tais como doses acumulativas de esteroides ou uso de terapia secundária para DECH) (Nichols *et al.*, 2002). Os tipos de infecções aos quais pacientes submetidos a TCTH estão mais vulneráveis dependem do tempo transcorrido desde o transplante. Os três períodos de interesse são:

- Pré-enxertia - infusão de células tronco até menos de três semanas após o transplante;

- Após-enxertia imediata - três semanas a três meses;
- Após-enxertia tardia - mais de três meses.

Esta divisão é artificial e simplista, mas pode ser muito útil na prática clínica. A morbimortalidade causada por infecção ocorre principalmente durante as três primeiras semanas após o TCTH, correspondendo ao período necessário à recuperação hematológica (Poliquin, 1990). Em contraste, o receptor de transplante autólogo é vulnerável à infecção principalmente durante os dois primeiros períodos (Anaissie, 2010).

Sepse, sepse grave, choque séptico e sepse com falência de múltiplos órgãos (FMO) são as mais importantes causas de morte em pacientes neutropênicos após transplante. A identificação do agente etiológico no sangue, no começo da febre, é possível em somente 20%-40% dos casos de neutropenia (von Eiff *et al.*, 1985; Rintala, 1994; Engervall *et al.*, 1995; Mendes *et al.*, 2012a). Logo, a maioria dos casos de neutropenia febril permanece sem definição quanto ao agente infeccioso causal.

Febre sem foco identificado em paciente neutropênico, denominada febre de origem indeterminada (FOI), que continua depois de três a cinco dias de antibioticoterapia de amplo espectro, é geralmente denominada “neutropenia febril persistente” (Pizzo *et al.* 1982; EORTC International Antimicrobial Therapy Cooperative Group, 1989). Febre persistente em paciente neutropênico submetido a TCTH pode ocorrer por uma série de fatores: infecção fúngica (40%), infecções bacterianas (10%), patógenos oportunistas (< 5%), infecções virais (5%), doença do enxerto *versus* hospedeiro (DECH) (10%) e causas

diversas tais como: febre medicamentosa e origem indeterminada (> 25%) (Corey e Boeckh, 2002).

Bacteremia por Gram-positivos e Gram-negativos respondem por 50%-60% dos episódios de neutropenia febril (Himalainen *et al.*, 2008). As infecções fúngicas também são importantes causas de febre em paciente neutropênico. A aspergilose invasiva é a causa mais comum de infecção por fungos filamentosos após TCTH alogênico, com alta letalidade (50%-70%) (Kontoyiannis *et al.*, 2010). O prognóstico da aspergilose invasiva após TCTH vem melhorando nos últimos anos. O uso de antifúngico profilático, o emprego de regimes de condicionamento não-mieloablativos e de células-tronco periféricas são alguns dos responsáveis pelo decréscimo da mortalidade por *Aspergillus spp* (Upton *et al.*, 2007).

Em pacientes após TCTH é difícil diferenciar infecção de outras causas de febre, como aDECH, ou doença veno-oclusiva (DVO) e síndrome de oclusão sinusoidal. A detecção dessas complicações maiores relacionadas ao transplante é essencial para a introdução precoce e adequada de antibióticos, imunomoduladores ou tratamento hemostático. A identificação dessas complicações, entretanto, ainda é baseada em critérios clínicos (Anaissie, 2010).

O diagnóstico e a evolução das complicações infecciosas podem ser otimizados por meio de marcadores precoces sensíveis e específicos das infecções bacterianas e fúngicas. Um marcador ideal deveria preferencialmente preceder os achados microbiológicos significantes ou justificar uma procura intensiva adicional por um foco de infecção mesmo em

pacientes sem febre (Südhoff *et al.*, 2000). A predição precoce de bacteremia grave ajuda a identificar os pacientes que são mais propensos ao benefício de uma combinação de medicamentos e a reduzir a toxicidade desnecessária de tratamentos adicionais quando não há necessidade. Ao mesmo tempo, auxilia a identificação de pacientes com baixo risco de complicações que podem ser tratados ambulatorialmente (Kern, 2006). Cabe ressaltar que, para o tratamento ambulatorial da neutropenia febril, é fundamental uma avaliação clínico-laboratorial muito criteriosa, bem como a avaliação socioeconômica e da estrutura da enfermagem para a efetivação do mesmo (Belesso *et al.*, 2010).

Um estudo prospectivo que avaliou 143 pacientes consecutivos após TCTH (104 adultos e 39 pediátricos) objetivou analisar o risco de se adquirir infecção nosocomial e o valor preditivo das culturas de vigilância (Marena *et al.*, 2001). Os tipos predominantes de infecção nosocomial foram: ICS (42,9%) e infecções respiratórias (28,6%). A maior parte delas foi associada com infecção de cateter venoso central (CVC) (66,6%). De acordo com este estudo, o desenvolvimento de ICS foi associado de forma independente com a taxa elevada de mortalidade, juntamente com os fatores classicamente já associados ao prognóstico, como: doença avançada, tipo de profilaxia usada em DECH, doador não relacionado ou *mismatch* relativo) (Kernan *et al.*, 1993; Sierra *et al.*, 1997).

Um estudo irlandês multicêntrico avaliou, através de questionários, a frequência de surtos de infecção, os microrganismos envolvidos e o impacto no tratamento do paciente submetido ao TCTH num período de 10 anos

(McCann *et al.*, 2004). Os agentes mais encontrados nos surtos foram: bactérias *Pseudomonas*, *Serratia* e *Enterococcus* resistentes à vancomicina (VRE); vírus parainfluenza, vírus sincicial respiratório (VSR) e fungos *Aspergillus*, *Scedosporium* e *Paecilomyces sp.* A maioria das mortes ocorreu em receptores alogênicos e todas por etiologia fúngica. É sabido que a colonização prévia ou infecção fúngica invasiva durante os períodos neutropênicos induzidos pela quimioterapia aumentam o risco de reincidência da infecção no período após o transplante (Offner *et al.* 1998).

Seguindo a mesma linha de estudo, no sentido de avaliar a incidência de infecção nosocomial nessa referida população, foi conduzido um estudo prospectivo com 351 pacientes após TCTH (alogênico e autólogo) (Dettenkoffer *et al.*, 2003). A infecção nosocomial foi observada em 169 pacientes (48,1%), sendo que 171 casos (71,5%) ocorreram durante a neutropenia. Os patógenos principais foram *Staphylococcus* coagulase-negativo (SCN) (36,3%), *Clostridium difficile* (20,4%), e *Enterococci* (10,0%). Em ordem de maior incidência, as infecções mais observadas foram: ICS (todas associadas a CVC), pneumonias, gastroenterites e infecções urinárias. A limitação deste estudo foi a falta de seguimento ambulatorial após a alta, que pode ter levado a subestimar as infecções fúngicas e virais. A bacteremia por SCN (por exemplo, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* e outros) constitui a ICS mais comum (Bone *et al.*, 1992). A mucosa é o local mais comum de colonização por SCN e é a fonte mais provável de bacteremia em pacientes com câncer, seguida pela pele (incluindo o sítio de inserção de CVC) (Costa *et al.*, 2006).

Outro agente descrito nesta população é a *Stenotrophomonas maltophilia*, tanto na fase neutropênica como na não-neutropênica, relacionando-se também com a manipulação de CVCs (Yeshurun *et al.* 2010).

Atualmente, para melhorar a qualidade de vida dos pacientes e reduzir custos, uma grande variedade de modelos de cuidados especiais vem sendo utilizada, incluindo centros de tratamentos ambulatoriais.

Um estudo realizado num centro cooperativo para cuidados após transplante de órgão sólido e hematológico envolvendo 991 pacientes observou que a infecção nosocomial mais encontrada foi ICS relacionada a CVC (Nusair *et al.*, 2008). Aproximadamente 63% das ICS foram causadas por cocos Gram-positivos, sendo o SCN o mais frequente (37%). Dos casos documentados de ICS, 4,7% foram causados pelo *Staphylococcus aureus*, dos quais 57% eram resistentes à metacilina (MRSA). Neste mesmo estudo, a diarreia associada ao *Clostridium difficile* foi mais comum nos pacientes após transplante hematopoiético do que após o transplante de órgão sólido.

Dados coletados dos pacientes transplantados (órgão sólido e TCTH) do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo entre 2002 e 2007, demonstram que rejeição e infecção são as principais causas de morte e o grande desafio a ser debelado pelos médicos que atuam nessa área (Azeka *et al.* 2009). As principais doenças hematológicas que motivaram o TCTH foram, em ordem de maior prevalência: mieloma múltiplo (MM) (23,8%), linfoma não-Hodgkin (LHN) (23,2%), linfoma de Hodgkin (LH) (14,9%), leucemia mieloide aguda (LMA) (13,9%), leucemia mieloide crônica (LMC) (11,1%), anemia aplástica grave (AAG) (7,5%) e leucemia linfóide aguda (LLA) (5,6%). Houve

ainda, importante e recente coorte retrospectiva realizada entre 2001 e 2009 no Hospital das Clínicas em São Paulo, que avaliou a incidência e os fatores de risco de infecções durante a neutropenia após TCTH em 429 pacientes (Mendes *et al.*, 2012a). A ICS foi a causa mais comum de infecção, presente em 80 (18,6%) casos, com uma incidência de 11,7 em 1000 dias de neutropenia. A maior parte das bacteremias foi causada por Gram-negativos (53,8%), enquanto Gram-positivos foram responsáveis por 41,2% e 5% por fungos. Os fatores de risco independentes associados à infecção após TCTH foram a neutropenia prolongada (OR 1,07, [IC 95%] 1,04-1,10) e duração da febre (OR 1,20, [IC 95%] 1,12-1,30). Os fatores associados à maior mortalidade na análise multivariada foram idade (OR 1,02, IC 95%, 1,01-1,43), transplante alogênico (OR 3,08, IC 95%, 1,68-5,56), infecção microbiologicamente documentada (OR 2,96, IC 95%, 1,87-4,6), presença de aspergilose invasiva (OR 2,21, IC 95%, 1,1-4,3) e leucemia aguda como doença de base (OR 2,24, IC 95%, 1,3-3,6) (Mendes *et al.*, 2012a).

Principais Biomarcadores:

A ruptura da barreira endotelial desempenha um papel chave na patogênese da sepse e choque séptico, sendo, portanto, um tópico atrativo para estudos que procuram identificar novos alvos terapêuticos para sepse (Spronk *et al.*, 2004).

Vários marcadores de síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS) como proteína-C reativa (PCR), procalcitonina (PCT) e interleucina-6 (IL-6), já foram utilizados em estudos com pacientes neutropênicos

(Ruokonen *et al.*, 1999; Südhoff *et al.*, 2000; Fleischhack *et al.*, 2000b; Persson *et al.*, 2005, Juutlainen *et al.*, 2011).

A proteína C-reativa é uma proteína de fase aguda, cuja concentração sérica se eleva marcadamente logo após a ocorrência de uma agressão ao organismo. Suas concentrações plasmáticas encontram-se normalmente abaixo de 10 mg/L (Pepys e Baltz, 1983). É formada por um complexo constituído por cinco subunidades polipeptídicas sintetizadas pelo fígado, ligadas não covalentemente, com peso molecular aproximado de 115 kDa a 140 kDa.

Classicamente, a PCR tem sido utilizada como marcador precoce e sensível da resposta aos processos infecciosos ou inflamatoros, elevando-se cerca de 20 a 2.000 vezes em relação aos níveis basais, de 24 a 48 horas após o estímulo (Johnson *et al.*, 1999) e, para esta finalidade, considera-se limite de referência a concentração sérica de até 0,50 mg/dL (Macy *et al.*, 1998). Trauma, inflamação, estímulos relacionados com dano tecidual e infecções bacterianas são potentes estímulos que causam uma elevação rápida de PCR em horas (Okamura *et al.*, 1990). Artrite reumatoide ativa, doença de Crohn e infarto agudo do miocárdio também podem elevar a PCR (Sjowall *et al.*, 2002; Zebrack e Anderson, 2002). O principal mediador de estímulo  produção de PCR é a IL-6, porém outras citocinas tais como IL-1 e TNF- α também estão envolvidas no processo (Sim *et al.*, 1988; Castell *et al.*, 1990). Uma vez que a IL-6 é o principal mediador de resposta de fase aguda, muitas condições clínicas além de inflamação podem causar elevação da PCR. Adicionalmente, a PCR possui a

desvantagem de não aumentar acima do seu limite superior de referência antes de 8-12 horas após o início do processo inflamatório. Essa característica pode ser a causa da baixa sensibilidade descrita em alguns estudos (Meisner *et al.*, 1996).

A Interleucina-6 é uma citocina pró-inflamatória produzida por diversos tipos de células, incluindo monócitos, macrófagos e células endoteliais. A principal forma de IL-6 no plasma humano consiste de uma molécula de 45 kDa biologicamente ativa (Matsuda *et al.*, 1989).

A Interleucina-6 (também chamada de fator estimulador de hepatócito), como já citado previamente, está envolvida na produção de proteínas de fase aguda, tais como a PCR (Steinmetz *et al.*, 1995). A produção e secreção de IL-6 podem ser induzidas por uma grande variedade de estímulos, incluindo infecção por bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, vírus, lipopolissacárides, TNF- α , interleucina 1 β , interferon gama e fator de crescimento derivado de plaqueta (Lowry *et al.*, 1992). A produção de IL-6 é também estimulada por trombina (Johnson *et al.*, 1998). Também é produzida por células T, células B, fibroblastos, queratinócitos, entre outras (van Snick, 1990). A IL-6 é necessária para o início da resposta inflamatória efetiva contra infecção, e o excesso de produção tem sido associado à síndrome da disfunção de múltiplos órgãos (SDMO), à gravidade da doença e à mortalidade (Pinsky *et al.*, 1993). Reinhart *et al.* (2001) verificaram que uma concentração de IL-6 maior que 1000 pg/mL era altamente preditora de morte por sepse, numa análise multicêntrica de 994 pacientes com sepse. Talvez a IL-6 seja melhor indicadora de prognóstico do que de diagnóstico de infecção grave em

neutropenia febril (Reinhart *et al.*, 2002). A cinética desta citocina é muito rápida (indução em menos que 1-2 horas), mas as concentrações podem declinar num período de tempo muito curto.

Pode haver uma diminuição da produção de IL-6, com o TNF- α e com outras citocinas após administração repetida de endotoxina. Tanto a IL-6 como o TNF- α não reagem especificamente a um estímulo infeccioso (aumentam tanto em infecções virais, como bacterianas e em outras situações tais como doenças autoimunes e trauma tissular) e apresentam flutuações consideráveis nos níveis diários, sugerindo ativação temporária ou supressão da reação imune. Essa falta de especificidade e flutuações diárias dificulta o uso desses marcadores na prática clínica (Meisner, 2000). Ademais, os resultados de tais ensaios não ficam disponibilizados rapidamente para tomada de decisões terapêuticas (Oberhoffer *et al.*, 1999).

Outros fatores que dificultam a medida sérica das citocinas em geral são: meia-vida plasmática curta, presença de inibidores ou receptores solúveis de citocinas e ação de células sanguíneas do sangue periférico, tais como eritrócitos e leucócitos que capturam o excesso de citocinas exógenas via receptores específicos próprios, causando uma redução das citocinas séricas e levando a resultados confusos. Os eritrócitos podem se ligar a IL-8 e outras citocinas via antígeno Duffy (Neote *et al.*, 1993). Portanto, o correto é medir as citocinas intracitoplasmáticas dos leucócitos de forma independente das suas correspondentes séricas (Cabioglu *et al.*, 2002). Em comparação com outras citocinas, a IL-6 foi sempre a mais estudada de forma consistente na circulação de pacientes sépticos, mostrando uma associação à mortalidade (Rodriguez-

Gaspar *et al.*, 2001). Alguns estudos mostram que a IL-6 é um marcador sensível para infecções agudas em neutropenia febril e pode ser usada como marcador de desfecho desfavorável nesta situação (Erten *et al.*, 2004).

PCT, IL-6 e PCR não podem ser utilizadas para diferenciar SIRS de infecção em pacientes que recebam ATG ou similar em até três dias após a aplicação da droga. PCT, PCR e IL-6 têm valor limitado no diagnóstico de infecção durante a administração de ATG ou outros anticorpos anti células T, tais como OKT-3 (Brodska *et al.*, 2008). Ao contrário, Blijlevens *et al.* (2000) encontraram níveis de PCT aumentados em casos isolados de DECH.

A procalcitonina (PCT) é uma proteína de 14 kDa, codificada pelo gene Calc-1, juntamente com a calcitonina e katacalcina (KC). Consiste de 114 a 116 aminoácidos. É normalmente encontrada nas células C da tireoide como um pró-hormônio da calcitonina. Entretanto, em 1993, foi identificado que infecções bacterianas graves causavam liberação dramática de PCT no espaço extracelular. Esta liberação não apresentava associação com a função da tireoide e, de fato, foi observada mesmo após tireoidectomia (Assicot *et al.*, 1993).

A função e a regulação da produção de PCT são bem diferentes daquelas de outros produtos do gene (Whicher *et al.*, 2001). Essa proteína tem sido utilizada como marcador diagnóstico de sepse e infecção bacteriana grave. Representa um tipo diferente de proteína imunologicamente ativa, comparando-se a outros grupos de moléculas inflamatórias ativas, tais como as citocinas, marcadores de superfície leucocitários e proteínas de fase aguda.

Os ensaios comerciais de PCT detectam os fragmentos de calcitonina/katacalcina da proteína. As qualidades farmacocinéticas da PCT possibilitam o seu uso precoce (em seis horas), bem como o seu seguimento (a partir de 24 horas) como marcador de infecção e inflamação. Enquanto a meia-vida da PCT é de 24-30 horas, o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a IL-6 já desapareceram da corrente sanguínea (Dandona *et al.*, 1994). Outra característica interessante desta molécula é que a sua meia-vida independe da função renal (Meisner *et al.*, 2000).

1.2 Estudos de biomarcadores de infecção em neutropenia febril após TCTH

1.2.1 Procalcitonina

A procalcitonina tem sido usada primariamente para o diagnóstico de reações inflamatórias sistêmicas desencadeadas por infecções bacterianas. As concentrações no soro ou plasma da proteína solúvel na população normal estão geralmente abaixo de 0,1 ng/mL (faixa normal). No caso de níveis acima de 0,5 ng/mL, o diagnóstico de sepse deve ser considerado (Meisner, 2010). Em alguns estudos, foi mostrado que a elevação de PCT pode ser bem mais alta (> 2 ng/mL) em pacientes neutropênicos com bacteremia por Gram-negativo (Svaldi *et al.*, 2001; Charles *et al.*, 2008).

Os níveis de PCT na presença de disfunção orgânica oriunda de infecção (choque séptico ou sepse grave) são geralmente mais altos do que em pacientes sem disfunção de órgãos (Castelli *et al.*, 2004). Desta forma, a PCT é também um indicador de mortalidade, utilizando as medidas seriadas dos seus valores (Seligman *et al.*, 2006; Viallon *et al.*, 2008).

Pode haver uma leve indução de PCT após o TCTH, como quando ocorre em quimioterapia, com níveis raramente mais elevados que 0,5 a 1 ng/mL. Isto foi observado, por exemplo, em crianças com LLA, LMA, LNH com células B e LH (Fleischhack *et al.*, 2000a). A especificidade da PCT para o diagnóstico de sepse parece ser então reduzida na vigência de quimioterapia. Na ocorrência de infecções graves ou sepse, estes pacientes podem também induzir níveis altos de PCT. Se a neutropenia é grave, a indução de PCT é reduzida, porém, a síntese não é inteiramente suprimida (Zintl *et al.*, 1996; Fleischhack *et al.*, 2000b; Hambach *et al.*, 2002; Blijlevens *et al.*, 2000; Sauer *et al.*, 2003). Algumas considerações devem ser feitas para justificar os resultados diferentes em dois dos estudos citados. No estudo de Blijlevens *et al.* (2000), o número limitado de pacientes prejudicou a análise estatística dos resultados. No estudo de Fleischhack *et al.* (2000b), nenhum dos pacientes foi transplantado e metade dos eventos febris ocorreu em crianças com tumores sólidos. Zintl *et al.* (1996) mostraram, em um estudo com pacientes submetidos a TCTH com quimioterapia prévia mieloablativa, que a PCT aumenta em infecções bacterianas sistêmicas e está estritamente correlacionada com o choque séptico após o transplante alogênico e também que níveis mais altos indicam mal prognóstico. Um estudo que avaliou a PCT em pacientes hematológicos neutropênicos e com mucosite revelou que ela representa uma ferramenta importante para prever a ocorrência de infecções maiores em pacientes com neutropenia febril, mesmo na presença de condições complicadoras associadas, tais como a mucosite e DECH (Sarmati *et al.*, 2010).

Um valor limite mais baixo (ex.: PCT > 0,25 ng/mL) aumenta a confiabilidade diagnóstica no caso de uma infecção grave mesmo em pacientes com neutropenia (Bernard *et al.*, 1998; Engel *et al.*, 1999; Schüttrumpf *et al.*, 2003; Giamarellou *et al.*, 2004). Isso pode ocorrer, talvez, pelo fato de que monócitos aderentes, entre outros fatores, são necessários para a indução de PCT. Além disso, a resposta imune está enfraquecida de uma forma geral em pacientes neutropênicos (por exemplo: pelo uso de corticosteroides ou ciclosporina, no tratamento de doenças autoimunes ou após transplante de órgãos); por outro lado, a indução de PCT não é totalmente suprimida (Rinaldi *et al.*, 2006). Em casos de neutropenia, a gravidade da resposta inflamatória sistêmica não pode muitas vezes ser avaliada, uma vez que o sintoma “febre” é fracamente associado com a gravidade da sepse ou prognóstico da doença. Nos casos estudados em pacientes neutropênicos, os valores de PCT são também altos se forem consideradas a sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de sepse grave ou choque séptico (Engel *et al.*, 1999; Giamarellou *et al.*, 2004; Kitanovski *et al.*, 2006; Secmeer *et al.*, 2007). Num estudo multicêntrico internacional, 158 pacientes com neutropenia e febre foram avaliados (Giamarellou *et al.*, 2004). Um valor de corte de 5 ng/mL determinou uma sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de sepse grave de 83% e 100% respectivamente. Em concentrações menores de 0,5 ng/mL, a infecção grave era improvável. No caso de infecções fúngicas, os níveis de PCT foram de $1,17 \pm 0,44$ ng/mL no primeiro dia do diagnóstico, com tendência à queda rápida. Doze pacientes foram a óbito. No primeiro dia de febre, eles tiveram níveis de PCT de $20,45 \pm 4,48$ ng/mL (média, desvio padrão). Dados similares

foram reportados em outros estudos (Blijlevens *et al.*, 2000; Hambach *et al.*, 2002; von Lilienfeld-Toal *et al.*, 2004). Uma revisão recente, que explorou estudos publicados entre janeiro de 1990 e outubro de 2006, não conseguiu concluir sobre a utilidade da PCT na neutropenia febril devido à heterogeneidade das populações avaliadas e a variabilidade dos resultados obtidos em diversos artigos (Sakr *et al.*, 2008). Nessa mesma revisão, entretanto, foram citados diversos estudos que identificaram a PCT como ferramenta valiosa para determinar a etiologia da febre em pacientes neutropênicos, com níveis elevados de PCT em pacientes com infecção bacteriana. Um estudo que comparou o valor da PCT, neopterin, PCR, IL-6 e IL-8 como marcadores diagnósticos para tal propósito, mostrou uma área sob a curva ROC na distinção de bacteremia por Gram-negativos de todas as outras causas de febre de 0,863 (IC 95% 0,740-0,987) e resultados não significativos para os outros marcadores (Prat *et al.*, 2008).

Em estudo no qual realizamos dosagens de PCT e PCR em 52 pacientes internados com hemopatias e neutropenia febril, a média da PCT foi significativamente maior nos casos com infecção grave (6,7 ng/mL *versus* 0,6 ng/mL) (Massaro *et al.*, 2007). Utilizando-se valor de corte de PCT acima de 0,245 ng/mL, observou-se sensibilidade de 100% e especificidade de 69,2% para infecção grave, sugerindo emprego da PCT com marcador diagnóstico para infecção sistêmica grave nesta população, em detrimento da PCR. O valor de corte (0,5 ng/mL) foi mais baixo do que no estudo de Giamarellou *et al.* (2004).

Ortega *et al.* (2004b) demonstraram níveis de PCT em pacientes após TCTH com FOI de $0,3 \pm 0,2$ ng/mL (média, desvio padrão), e com infecções documentadas microbiologicamente na faixa de $0,5 \pm 0,7$ ng/mL. Nos casos de febre prolongada (mais de cinco dias) e na suspeita de aspergilose, os níveis de PCT foram ainda mais elevados ($10,1 \pm 6,7$ ng/mL).

Em um recente estudo que avaliou a relevância dos níveis de PCR ultrasensível e de PCT em pacientes após TCTH, foi verificado que a PCR ultrasensível estava aumentada nos pacientes com aDECH e também nos casos de sepse. Os níveis aumentados de PCT estavam associados somente com infecção bacteriana. Apenas os níveis de PCT puderam ser usados para diferenciar infecção de outras complicações relacionadas ao transplante (Azarpira *et al.*, 2009). No referido estudo, a PCT além de não aumentar na DECH, também não aumentou em infecções fúngicas, embora o viés desse estudo seja o tamanho da amostra ($n = 35$).

1.2.2 Proteína C-reativa

Um estudo recente com pacientes adultos submetidos a TCTH alogênico ($n = 137$) demonstrou que os níveis de PCR e de ferritina sérica pré-transplante podem ser marcadores para avaliar o risco de complicações bacterianas (Kanda *et al.*, 2010). Este estudo possui as limitações de ser retrospectivo, de não haver padronização de diferentes doenças hematológicas e número limitado de amostras. Da mesma forma, Pihusch *et al.* (2006) encontraram níveis de PCR elevados tanto em infecções após TCTH como nos casos de aDECH. Nesse estudo, que analisou os níveis de

PCT, PCR e IL-6 prospectivamente em 350 pacientes após TCTH, houve condicionamento de alguns pacientes com globulina anti-timocítica (ATG). É bem conhecido que a ATG, que é um *pool* de anticorpos heterólogos contra células T de forma direta (opsonização e lise via ativação de complemento), causa elevação precoce de TNF- α , PCR, IL-6 e PCT (poucos minutos após a administração) (Dornbusch *et al.*, 2003; Brodska *et al.*, 2008).

1.2.3 Interleucina-6 (IL-6)

Alguns estudos mostram que a IL-6 é um marcador sensível para infecções agudas em neutropenia febril e pode ser usada como marcador de desfecho desfavorável nesta situação (Erten *et al.*, 2004).

Os valores de IL-6 (medidos pelo método *Enzyme-linked immunosorbent assay* [ELISA]) para neutropenia febril variam em diversos estudos. No estudo de Steinmetz *et al.* (1995), o nível de limite de detecção foi de 3 pg/mL, com variações intratestes de < 15% (na faixa. 3-100 pg/mL) e < 20% para valores > 100 pg/mL. Um aumento significativo de IL-6 foi considerado como um aumento maior que 20 pg/mL ou 30% para níveis < 100 pg/mL e $\geq$ 50 pg/mL ou 20% para níveis > 100 pg/mL. Um valor de corte de IL-6 de 297 pg/mL apresentou sensibilidade de 62%, valor preditivo positivo (VPP) de 50% e valor preditivo negativo (VPN) de 70% ($p = 0,016$) para identificação de infecção em pacientes neutropênicos (von Lilienfeld-Toal *et al.*, 2004).

No Quadro 1 encontram-se os estudos feitos em pacientes (adultos e crianças) submetidos a TCTH comparando diversos marcadores de sepse.

Quadro 1 - Estudos com os diversos marcadores de sepse em TCTH

Autor	Marcadores estudados	Amostra estudada	Dias de coleta	Resultados	Comentários
Blijlevens <i>et al.</i> (2000)	PCT e PCR	- 12 adultos - Alogênico	Dias 1, 5, 8, 12 e 15 pós-Tx	- PCT $d15=0,37 \pm 0,05 \mu\text{g/L}$ ($p = 0,012$) - PCR $d1 = 41,9 \pm 15,9 \text{ mg/L}$ ($p = 0,009$)	PCT e PCR são de pouco valor em discriminar infecção e inflamação
Hambach <i>et al.</i> (2002)	PCT e PCR	- 61 adultos - Alogênico	Todo dia da admissão até desfecho (avaliado valores máximos, mPCT e mPCR)	Infecção bacteriana e fúngica: - mPCT $2,3 \mu\text{g/L}$ (corte: mPCT $> 1 \mu\text{g/L}$) - mPCR 188 mg/L (corte: mPCR $> 100 \text{ mg/L}$) FOI: - mPCT $1,5 \mu\text{g/L}$ - mPCR 82 mg/L - AUC mPCT: $0,70$ - AUC mPCR: $0,76$	PCT não superior à PCR para detector infecção bacteriana e fúngica após TCTH alogênico
Sauer <i>et al.</i> (2003)	PCT, PCR e endotoxina	- 47 crianças - Alogênico e autólogo	- Dia 0 do Tx até D30 pós-Tx - Grupo 1 sem eventos - Grupo 2 sepse - Grupo 3 sepse com FMO	- PCT $1,3; 15,2$ e $102,8 \text{ ng/mL}$ para cada grupo, respectivamente, ($p < 0,002$ cada comparação) - PCR $91, 213$ e 260 mg/L , respectivamente, ($p < 0,001$ grupo 1 vs. grupo 2 e grupo 3; $p = \text{NS}$ para grupo 2 vs. grupo 3). - Endotoxina $0,21; 0,30$; e $0,93 \text{ U/L}$, respectivamente, ($p = \text{NS}$ para cada comparação)	PCT se correlaciona com a gravidade da sepse em receptores pediátricos de TCTH e identifica o maior risco de mortalidade que outros marcadores.
Ortega <i>et al.</i> (2004)	PCT	- 77 adultos - Alogênico e autólogo	- 3 vezes/semana desde o 1º dia da febre até resolução da mesma - 4 grupos: (i) infecção documentada (ii) infecção clínica (iii) febre com causa não infecciosa (iv) FOI	- 1º de febre: média ($\pm$ DP) PCT $0,3 \text{ ng/mL}$ grupo iv FOI - $0,5 \text{ ng/mL}$ em infecção documentada (i); $0,2 \text{ ng/mL}$ em infecção clínica (iii) e $1,7$ em febre causa não-infecciosa (iv) ($p = \text{NS}$) - Casos confirmados de aspergilose invasiva PCT muito alto $10,1 \text{ ng/mL}$ em comparação aos outros grupos - $p=0,027$	- PCT no 1º dia da febre não facilitou diagnóstico diferencial de NF. - Se a febre persistiu mais que cinco dias, valores de PCT $\geq 3 \text{ ng/mL}$ tinham maior sensibilidade e especificidade para diagnóstico de aspergilose invasiva.

Continua

Continuação

Autor	Marcadores estudados	Amostra estudada	Dias de coleta	Resultados	Comentários
Pihusch <i>et al.</i> (2006)	PCT, IL-6 e PCR	<ul style="list-style-type: none"> - 350 - > 12 anos - Alogênico Relacionado - <i>Fullmatch</i> 	Antes condicionamento e 1 vez/semana por oito semanas após Tx	<ul style="list-style-type: none"> - PCT (0,8 ng/dL vs. 5,7 ng/dL; $p < 0,001$) - IL-6 (9 3ng/mL vs. 1.138 ng/mL; $p < 0,001$) - PCR (4,4 mg/dL vs. 12,8 mg/dL; $p < 0,001$) em complicações infecciosas - Só PCT diferenciou infecção de outras complicações - PCT não diminuiu com corticoide em aDEVH (2,3 ng/dL vs. 2,0 ng/dL; NS) 	<ul style="list-style-type: none"> - PCR, IL-6 e PCT são marcadores úteis para complicações não-infecciosas - PCT pode diferenciar infecção de aDEVH apesar do tratamento com corticoide
Brodzka <i>et al.</i> (2008)	PCT e PCR	<ul style="list-style-type: none"> - 26 adultos condicionados com ATG antes Tx alogênico 	<ul style="list-style-type: none"> - Antes da ATG antes Tx e durante condicionamento até Tx. 	<ul style="list-style-type: none"> - PCT e PCR normal antes de ATG - Um dia após ATG, PCT e PCR aumentaram, voltando ao normal no D4. 	<ul style="list-style-type: none"> - Nem PCT nem PCR são úteis para identificar infecção em pacientes recebendo ATG
Prat <i>et al.</i> (2008)	PCT, PCR, neopterina, IL-6 e IL-8	<ul style="list-style-type: none"> - 61 adultos (41 TCTH, outros Qt) 	<ul style="list-style-type: none"> - Antes Qt, primeiro dia neutropenia e a cada 24 horas até 6 dias - Episódios febris divididos dois grupos: Grupo 1 (infecção confirmada micro) e grupo 2 (FOI) 	<ul style="list-style-type: none"> - PCT e PCR níveis mais altos no começo da febre comparado com o diagnóstico ($p = 0,014$ e $p < 0,0001$) - Neopterina sem diferença ($p = 0,290$) - Globalmente, sem diferenças entre os dois grupos para PCT ($p = 0,724$), PCR ($p = 0,283$), neopterina ($p = 0,876$), IL-6 ($p = 0,169$) e IL-8 ($p = 0,150$) - Melhor valor de corte para PCT para prever ICS por Gram-negativo foi 1 ng/mL - PCR foi melhor para prever ICS (ambos Gram-positivo e Gram-negativo), mas com baixa especificidade, com valor de corte de 135 µg/mL. 	<ul style="list-style-type: none"> - IL-6 e IL-8 não foram úteis para prever ICS - PCR foi mais sensível que PCT, mas a especificidade foi baixa - Neopterina não teve utilidade, pois, se eleva pelo uso de G-CSF - PCT tem um alto VPN para ICS por Gram-negativo

Continua

Continuação					
Autor	Marcadores estudados	Amostra estudada	Dias de coleta	Resultados	Comentários
Azarpira et al. (2009)	PCT e PCR	- 35 adultos - Alogênico e autólogo	- D0 antes do Tx e uma e três semanas após Tx	- PCR era mais alta em DEVH vs. os pacientes sem DEVH ($20 \pm 2,5 \text{ mg/L}$ vs. $10,12 \pm 5,2 \text{ mg/L}$ - $p = 0,06$) - PCT aumentou em pacientes com sepse bacteriana (ex.: $> 10 \text{ ng/mL}$)	PCT e PCR são biomarcadores de complicações pós-Tx, tais como DEVH e infecções e a PCT pode diferenciar infecções de DEVH
Sarmati et al. (2010)	PCT, PCR e VHS (velocidade de hemossedimentação)	- 88 adultos com hemopattias malignas (30 submeitados à TCTH)	- Dia da primeira febre e diariamente até a resolução do caso - Avaliados eventos infecciosos maiores e menores na presença ou não de mucosite	- Médias dos marcadores durante os eventos maiores comparadas às médias dos eventos menores - Eventos maiores: PCT alto (PCT1: $0,55 \text{ vs. } 0,13 \text{ ng/mL}$, $p < 0,001$; PCT2: $1,04 \text{ vs. } 0,21 \text{ ng/mL}$, $p < 0,001$; PCT3: $0,54 \text{ vs. } 0,16 \text{ ng/mL}$, $p < 0,001$) - PCR maior em 1 e 2 (PCR1: $112 \text{ vs. } 56 \text{ mg/dL}$, $p = 0,001$; PCR2: $150 \text{ vs. } 104 \text{ mg/dL}$, $p = 0,02$ e VHS NS em todas as ocasiões) - Curvas ROC para sensibilidade e especificidade para identificar infecções maiores nos casos com mucosite - Em pacientes com mucosite, valores de PCT2 de $< 0,5 \text{ ng/mL}$ e $< 0,2 \text{ ng/mL}$ discriminaram eventos maiores de infecção com sensibilidade de 48% e 79% e especificidade de 70% e 52%, respectivamente.	- PCT em determinados momentos representa uma ferramenta valiosa para prever episódios infecciosos maiores em NF associados com mucosite e DEVH

Continua

Conclusão

Autor	Marcadores estudados	Amostra estudada	Dias de coleta	Resultados	Comentários
Alves <i>et al.</i> (2010)	- Ang-1 e Ang-2 (angiopoetina sérica 1 e 2)	- 41 adultos com hemopatias malignas e TCTH - 20 controles saudáveis	- Divididos em dois grupos: presença ou não de choque séptico durante a NF - Amostras colhidas 12 horas após a primeira febre e 48 horas após	- Pacientes com choque séptico (n = 10) apresentaram níveis de Ang-2 48 após febre mais altos a razão Ang-2/Ang-1 mais elevada na hora da febre comparados com os pacientes com sepse não-complicada (n = 31)	- Ang-1 e Ang-2 são marcadores precoces e independentes do risco de desenvolver choque séptico e mortalidade por sepse durante a NF
Kanda <i>et al.</i> (2010)	PCR e ferritina sérica	- 112 adultos - Alogênico	- D0 antes do Tx	- Ferritina sérica alta (> 700 ng/mL, 47 pacientes) e PCR alta (> 0,3 mg/dL, 28 pacientes) foram significativamente associadas ao desenvolvimento de infecção em uma análise multivariada (hazard ratio IC 95%): ferritina, 4,00 (1,32-12,7); PCR, 3,64 (1,44-9,20)	- Níveis de ferritina e PCR são marcadores úteis para prever o risco de complicações bacterianas após o TCTH alogênico.

Tx = transplante; d = dia; mPCT = PCT média; mPCR = PCR média; AUC = área sob a curva; NS = não significativo; NF = neutropenia febril; ATG = globulina anti-timocítica; Qt = quimioterapia; FOI = febre de origem indeterminada; ICS = infecção de corrente sanguínea; G-CSF = fator estimulador de colônia de granulócitos; VPN = valor preditivo negativo; DEVH = doença do enxerto versus hospedeiro; aDEVH = doença do enxerto versus hospedeiro aguda; VHS = velocidade de hemossedimentação; NS = não significativo; Ang-1 = angiopoetina sérica 1; Ang-2 = angiopoetina sérica-2; IC = intervalo de confiança; DP = Desvio padrão.

Um marcador ideal de óbito na população neutropênica após TCTH é aquele que indica no momento da febre, ou no máximo até 24 h após a mesma, os pacientes com risco potencial para mortalidade relacionada ao transplante. Poucos trabalhos existem na literatura na auxiliar a previsão do prognóstico na população de pacientes submetidos a TCTH e os trabalhos que existem avaliaram um número pequeno de pacientes. No quadro a seguir são mostrados os principais estudos que avaliaram os preditores de óbito após TCTH (Quadro 2).

Quadro 2 - Estudos que avaliaram óbito em TCTH

Autor	Marcadores Estudados	Amostra Estudada	Dias de coleta	Resultados	Comentários
Schots <i>et al.</i> (1998)	PCR	N=66->15 anos Alogênico Relacionado ou não	Dia 0 ou dia 1 após Tx e a cada 24 ou 48 horas até óbito (no mínimo até 3 semanas após Tx)	PCRmáx <100mg/100mL sem complicações graves e nenhuma morte; níveis >200mg/mL em 80% dos casos com complicações graves e níveis >300mg/mL associados ao óbito em 31% (p<0,001) PCR no dia 0 do Tx também foi relacionada à ocorrência de complicações maiores (42,7±55,4 vs 18,2±19,5 mg/100mL, p=0,045)	PCR deve ser monitorada após o Tx para identificar pacientes de risco para complicações e mortalidade. Altos níveis de PCR após TCTH alo com um padrão crescente ou níveis sempre altos podem estar relacionados ao óbito ligado ao evento
Bacigalu po <i>et al.</i> (1999)	Ureia Bilirrubina total sérica	N=309 adultos Alogênico Relacionado ou não	Dia -7 até D+30 após Tx	Nível de ureia ≥21mg/dL e bilirrubina sérica ≥0,9mg/dL no dia +7 após TCTH identifica um risco maior (1,9) de mortalidade relacionada ao Tx	Estudo validado por outro estudo controle com uma população pediátrica (n=82 alo) em outro hospital, com resultados do D+7 muito semelhantes. O estudo sugere que o dia +7 após o TCTH fornece informações cruciais a respeito do desfecho letal.
Tegg <i>et al.</i> (2001)	IL-6	N=31 autólogos Tumor sólido+hematológico	D0 (dia do TX)	IL-6 mais elevada em mulheres (p=0,0052) Todos com IL-6 elevada (≥10pg/mL) tiveram sobrevida menor (p=0,046). Sobrevida tb menor em mulheres (p=0,002)	Apesar do estudo heterogêneo, foi estudado um subgrupo mais homogêneo de pacientes com linfomas (Hodgkin ou não) todos com condicionamento mieloablativo BEAM e que receberam material de medula (não céls. Tronco periféricas) com resultado semelhante ao grupo principal (p=0,030)
Schots <i>et al.</i> (2002)	PCR	n=96 consecutivos (idade 15-50) alogênico relacionado ou não	A cada 2 dias ou diariamente durante a febre (desde o dia do TCTH até recuperação medular-alta ou óbito)	Níveis de PCR entre dias 5-10 após Tx e % de probabilidade de mortalidade relacionada ao Tx: <100mg/L 1% em relacionado fullmatch e 12,5% em outros doadores >100mg/L 36,5% em fullmatch e 88% em outros doadores	Níveis elevados de PCR nos primeiros 5-10 dias após TCTH é associado com mortalidade associada ao Tx e complicações graves associadas ao Tx.

Continua

Continuação

Autor	Marcadores Estudados	Amostra Estudada	Dias de coleta	Resultados	Comentários
Schots <i>et al.</i> (2003)	IL-6, IL-8 e TNF- α	N=84 adultos (>15 anos) Alogênico ou Relacionado não	Coletas a cada 2 dias ou diariamente no período febril a partir do D0 do Tx até recuperação medular e alta ou óbito.	Mortalidade relacionada ao Tx focada nos 10 primeiros dias após Tx: medianas (pg/mL): 69 (8-2934) (IL-6), 13 (2-474) (IL-8) e 10 (3-75) (TNF).	Aumentos significativos das citocinas (especialmente IL-6 e IL-8) foram detectados nos primeiros dias após Tx. Análise multivariada mostrou que o aumento dessas citocinas, especialmente a IL-8 estava associado ao desfecho fatal em TCTH.
Ortega <i>et al.</i> (2004)	PCR	N=100 adultos consecutivos e Alogênico autólogo	Análises de PCR a cada 48 h a partir da admissão até o final da resolução do episódio febril	PCR no 5º dia de febre $\geq$ 16 mg/dL foi associada à morte por causas infecciosas com uma sensibilidade de 100%, especificidade de 87%, VPP e VPN de 30 e 100%, respectivamente.	No 1º dia de febre pós-Tx o aumento de PCR não era específico para infecções bacterianas nem para valor prognóstico. Em contraste, a PCR acima de 16 mg/dL no 5º dia de febre foi fortemente preditiva de um desfecho desfavorável com origem infecciosa.
Artz <i>et al.</i> (2008)	PCR e IL-6	N=112 adultos Alogênico Relacionado e não	IL-6 e PCR criopreservados 2 semanas ou menos antes do condicionamento do TCTH	Em análise multivariada PCR foi preditora de morte não por recaída ($p=0,04$), mas não com pior sobrevida geral ($p=0,09$). O nível de IL-6 não teve relação significativa com morte não por recaída nem com pior sobrevida em geral. A elevação dupla dos dois biomarcadores acima da mediana foi relacionada com a mortalidade não relacionada à recaída na análise multivariada ($p=0,007$)	Neste estudo a mediana da PCR foi um pouco elevada (18mg/L), da mesma forma, a mediana dos níveis de IL-6 também foi marcadamente elevada neste estudo (78pg/mL). Níveis elevados de PCR, mas não de IL-6, antes do condicionamento para TCTH foram preditores independentes para toxicidade aumentada e mortalidade não por recaída após Tx alogênico usando regimes de condicionamento não-mieloablativo com depleção de céls. T in vivo
Remberg <i>et al.</i> (2010)	PCR	N=299 adultos Alogênico Relacionado ou não	PCR dosada antes do condicionamento (avaliada retrospectivamente)	Sobrevida geral e mortalidade relacionada ao TX foram piores em pacientes com regimes não-mieloablativos com PCR elevada (67 vs 43%, $p=0,005$, e 16 vs 30%, $p=0,036$), mas isso não foi visto em condicionamentos mieloablativos. Os pacientes que já começaram o condicionamento com infecção e PCR elevada ($n=16$) tiveram pior desfecho.	PCR pode ser uma eficaz ferramenta para analisar prognóstico em desfecho após condicionamento não-mieloablativo e TCTH. Deveria ser analisada antes do condicionamento, especialmente em pacientes com infecções coexistentes, uma vez que infecção e PCR alta parecem ter um desfecho muito desfavorável após TCTH.

1.3. Justificativa do Estudo

Sepse, sepse grave, choque séptico e sepse com FMO são as mais frequentes causas de morte em pacientes neutropênicos após o transplante imediato. Poucos estudos avaliaram o diagnóstico da etiologia febril neste cenário. A literatura é ainda mais escassa no que diz respeito à população de pacientes submetidos a TCTH.

Este estudo é a continuação do estudo realizado por Massaro *et al.* (2007), no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), sendo que dessa vez, a população neutropênica ficou restrita a pacientes receptores de TCTH. O estudo prévio não incluía pacientes após TCTH.

Finalmente, é preciso definir o papel da PCT, da IL-6, e da PCR como marcadores de sepse bacteriana, marcadores de infecção, de prognóstico, diagnóstico diferencial e no seguimento de tratamento em pacientes neutropênicos e com febre após TCTH.

2 OBJETIVOS

2.1 Principal

Avaliar os valores séricos de biomarcadores (PCR, PCT e IL-6) que possam identificar precocemente infecção em TCTH.

2.2 Secundário

Avaliar os mesmos biomarcadores e fatores de risco para óbito nessa população.

3 MÉTODOS

Trata-se de um estudo observacional, com coleta prospectiva de dados. Foram incluídos 296 pacientes com idades entre 15 e 70 anos consecutivos, neutropênicos, submetidos a TCTH autólogo ou alogênico. Foram retirados dessa análise nove pacientes que se recusaram e 27 pacientes com falhas na coleta. Foram avaliadas 1016 amostras de sangue destes pacientes (267 amostras para análises de Tubos A, 190 para tubos B, 188 para tubos C, 186 para tubos D e 185 para tubos E). Todos estavam em regime de tratamento ambulatorial no Ambulatório de Transplante do Serviço de Hematologia - HC-FMUSP ou internados na enfermaria de Transplante do Serviço de Hematologia do Instituto Central do HC-FMUSP. O período de coleta de dados ocorreu entre agosto de 2008 a dezembro de 2010. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) (Anexo A). Os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo B).

3.1 Critérios de Inclusão

Pacientes com idades entre 15 e 70 anos internados ou em regime ambulatorial do Serviço de Transplante da Hematologia da FMUSP que apresentaram neutropenia isoladamente ou neutropenia febril após TCTH autólogo ou alogênico. Não era necessário estar sem antibióticos ou qualquer tipo de profilaxia para infecção fúngica, viral ou bacteriana. Não era necessário haver infecção ou suspeita de sepse.

Como neutropenia foi considerada a contagem de neutrófilos $< 500/\text{mm}^3$ ou $< 1.500/\text{mm}^3$ com declínio previsto para $< 500/\text{mm}^3$ durante as primeiras 48 horas (Freifeld *et al.*, 2011). O termo neutropenia “profunda” é algumas vezes utilizado para descrever a neutropenia cuja contagem de neutrófilos é $< 100\text{cél}/\text{mm}^3$. O critério para SIRS, sepse, sepse grave e choque séptico foi estabelecido de acordo com a definição do ACCP/SCCM em 1992 (Bone *et al.*, 1992). O uso de G-CSF no momento da coleta não excluiu o paciente (Anexo C).

Caso o paciente fosse a óbito, não haveria exclusão e as amostras obtidas seriam analisadas.

3.2 Critérios de Exclusão

- Febre claramente associada à transfusão de hemocomponentes ou hemoderivados.
- Uso de soro antitimocítico para tratamento de anemia aplástica pelo menos sete dias antes da coleta.
- Não obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.
- Erro na coleta seriada dos marcadores.

3.3 Recrutamento das Amostras de Sangue

Foram colhidas amostras de 3 a 5 mL de sangue periférico ou de CVC, entre duas a seis horas após o início da febre da seguinte forma:

- TUBO A: dia da neutropenia constatada sem febre.
- TUBO B: evento febril constatado ou hipotermia ($T < 35^{\circ}\text{C}$).
- TUBO C: 24 horas após o início da febre ou hipotermia.
- TUBO D: 72 horas após o início da febre ou hipotermia.
- TUBO E: 48 horas após a coleta do tubo D ou, em caso da persistência da febre, cinco dias após a coleta do tubo D.

Caso o paciente iniciasse a neutropenia com febre ou hipotermia, não haveria TUBO A, iniciando a coleta no TUBO B. No caso de óbito, poderiam faltar dois ou mais tubos. Caso o paciente não desenvolvesse quadro febril, da mesma forma, só haveria TUBO A.

Foram colhidas ao todo 1016 amostras de sangue dos 296 pacientes (267 para tubo A, 190 para tubo B, 188 para tubo C, 186 para tubo D e 185 para tubo E).

3.4 Avaliação Clínica e Definições

Todos os pacientes foram avaliados quanto à existência de foco infeccioso quando desenvolveram febre e receberam antibioticoterapia de acordo com o protocolo vigente para neutropenia febril (Hughes *et al.*, 2002; Freifeld *et al.*, 2011; Levin *et al.*, 2009-2011). Uma avaliação clínica completa foi realizada para cada paciente desde o dia da neutropenia inicial até a própria evolução final (alta ou óbito), por meio do preenchimento prospectivo

de uma ficha com dados clínicos e laboratoriais, visando à classificação do mesmo em grupos de acordo com o diagnóstico infeccioso. Esta avaliação incluiu: achados físicos; parâmetros hematológicos e bioquímicos; dados do transplante; culturas de sangue, urina, secreções e tecidos diversos; radiografias e tomografias de tórax, seios paranasais e abdômen sempre que considerado necessário (Anexo D).

Variáveis epidemiológicas:

- Idade;
- Sexo.

Variáveis clínicas:

- Doença de base;
- Dados do transplante (data, modalidade, HLA, tempo do transplante até a febre);
- Presença de DECH agudo e sítio acometido;
- Presença e grau de mucosite;
- Uso de antibiótico no momento da coleta e nome dos mesmos;
- Tipo de condicionamento;
- Datas das coletas dos tubos;
- Dados relevantes da evolução clínica do paciente;
- Temperatura axilar;
- Presença de calafrios;
- Frequência cardíaca;
- Frequência respiratória;

- Presença de hipotensão arterial;
- Presença de oligúria/anúria;
- Presença de alteração do estado mental (não relacionado à doença prévia).

Variáveis laboratoriais:

- Contagem de leucócitos nas cinco amostras;
- Contagem de neutrófilos;
- Hemoglobina;
- Plaquetas;
- Desidrogenase láctica (DHL);
- Ureia;
- PCR;
- PCT;
- IL-6;
- Duração da neutropenia;
- Gradação da neutropenia inicial;
- Número e locais de HMCs colhidas;
- Número de HMCs positivas;
- Patógeno isolado e perfil de sensibilidade;
- Presença de patógeno isolado relacionado à infecção em outro local;
- Tipo de CVC, data de inserção do mesmo e tempo de uso até febre ou hipotermia;

- Dados do CVC (cultura de ponta, patógeno isolado e perfil de sensibilidade, presença de infecção no local);
- Dados de outras culturas isoladas (urina, lavado brônquio-alveolar [LBA], secreções, etc.);
- Exames de imagem relevantes;
- Presença de infecção viral e identificação do agente;
- Presença de infecção fúngica e identificação do agente.

3.5 Métodos Laboratoriais

As amostras de sangue foram coletadas em dois tubos sem reagentes (“secos”) e centrifugados por 15 minutos a 3.400 rpm (2.016 g) em um prazo máximo de até 60 minutos após a coleta, e armazenadas (duas alíquotas de cada soro) em freezer (temperatura de -20°C) no momento inicial. A centrifugação e armazenagem iniciais ocorreram no Laboratório de Sorologia da Fundação Pró-Sangue. O outro tubo foi encaminhado para o Laboratório Central do Instituto Central do HC para realização do PCR. O tubo congelado que ficou no Laboratório de Sorologia foi transferido para o freezer a -80°C no LIM 54 da FMUSP, em transporte realizado por profissional biomédico respeitando a cadeia do frio. As amostras de PCT e IL-6 foram medidas retrospectivamente, ao contrário das amostras de PCR que foram realizadas juntamente com outros dados laboratoriais (hemograma, DHL e ureia).

Com exceção da PCR, todos os demais marcadores foram medidos no LIM 54 do HC-FMUSP. Hemoculturas foram colhidas no momento da febre, mesmo na vigência de antibiótico profilático, bem como urina,

secreção traqueal, líquido para cultura, cultura de locais suspeitos e exames de imagem, conforme o caso. Testes sorológicos foram também obtidos conforme indicação clínica. Foram realizadas antigenemia e PCR em tempo real para detecção de citomegalovírus (CMV) duas vezes por semana em todos os pacientes (internados e ambulatoriais). Exames de imunofluorescência direta para influenza A, influenza B, parainfluenza e VSR, bem como PCR para influenza H1N1 também foram incluídos quando houve indicação clínica. Os pacientes foram seguidos até o término da neutropenia. Houve um hemograma inicial indicando o início da neutropenia, hemogramas diários de seguimento e hemograma indicativo do término da neutropenia (“pega” medular).

3.5.1 Determinação da PCR

A determinação quantitativa da PCR foi feita pela nefelometria (Dade-Behring N High Sensitivity CRP). Partículas de poliestireno recobertas com um anticorpo monoclonal anti-PCR sofrem aglutinação quando misturadas aos soros de pacientes que contém PCR. A intensidade da luz é diretamente proporcional à concentração de PCR da amostra. Por meio de cálculos obtidos a partir de uma curva elaborada com um soro padrão (com concentração conhecida), conhece-se a concentração de PCR (em mg/L de soro), testada em diferentes diluições. O valor de referência fornecido pelo fabricante é $\leq 3,5$ mg/L (Gabay e Kushner, 1999).

3.5.2 Determinação da PCT

Todas as determinações de PCT foram realizadas de maneira cega por dois profissionais biomédicos devidamente treinados.

Os níveis de PCT foram determinados pelo uso de um ensaio imunoluminométrico (Brahms, PCT-Lumitest, Berlin, Alemanha), que utiliza somente 20 µL de soro ou plasma. Além das amostras dos pacientes, soros padrão e controles são também incubados em tubos de ensaio pré-revestidos com 250 µL de solução sinalizadora do *kit*, por duas horas à temperatura ambiente, num agitador horizontal (298 rpm, protegidos da luz). O tubo é revestido com um anticorpo monoclonal para KC. O marcador consiste de um anticorpo monoclonal anticalcitonina ligado à acridina e um tampão estabilizador. Após a incubação, o tubo de ensaio é totalmente enxaguado três vezes usando a solução de enxágue e então secado de cabeça para baixo por 10 minutos sobre um tecido macio. Após a secagem, os tubos são medidos no luminômetro de acordo com as instruções do fabricante. Para a medida, hidróxido de sódio (0,25 M) e água oxigenada são automaticamente injetados para dentro dos tubos por um injetor duplo do luminômetro. A reação química gera uma emissão curta de luz que é medida como unidade relativa de luz. O luminômetro, no qual as substâncias peróxido de hidrogênio e hidróxido de sódio reagem com a acridina ligada ao anticorpo anticalcitonina, faz as leituras. A luz é emitida à medida que a acridina vai se transformando em acridona (reação de redução-oxidação). A intensidade de luz emitida é diretamente proporcional à concentração de PCT. Usando os padrões (concentrações de 0,08; 0,5; 2,0; 200, 500 µg/L

PCT), a concentração real das amostras controle e dos pacientes é calculada por um algoritmo (curva-padrão) (Meisner, 2000) e os resultados são impressos imediatamente. O procedimento inteiro demora aproximadamente 2½ horas. Em resumo, a reação funciona com dois anticorpos monoclonais anti-katacalcina que se ligam a regiões específicas da molécula de PCT encontrada no soro do paciente. Os resultados são expressos em nanogramas por mililitro de soro ou plasma (ng/mL). O valor de corte é 2 ng/mL (para imunocompetente). O limite de detecção do ensaio é 0,1 ng/mL e os níveis de PCT de indivíduos saudáveis são geralmente < 0,1 ng/mL (Gendrel *et al.*, 1997) (Figuras 1 e 2).

Figura 1 - Determinação da PCT por ensaio imunoluminométrico [FONTE: Modificado de Meisner, 2000]

Figura 2 - Aparelho utilizado para medida do PCT por imunoluminescência (luminômetro)

3.5.3 Determinação da IL-6

Como na determinação da PCT, as dosagens séricas da IL-6 foram realizadas de maneira cega por dois biomédicos treinados. Foi utilizado o imunoensaio enzimático, com a presença de um anticorpo humano anti IL-6 (Biotrak human interleukin-6 ELISA, GE Healthcare, Reino Unido). O anticorpo anti IL-6 específico já vem incorporado à microplaca do kit. As amostras são pipetadas dentro das fontes juntamente com o anticorpo reagente biotinilado. Se presente, o anticorpo humano anti IL-6 é ligado pelo anticorpo imobilizado e o anticorpo biotinilado. Depois de lavar, com a intenção de retirar qualquer amostra proteica não combinada e o anticorpo biotinilado, um conjugado estreptavidina é adicionado às fontes. Qualquer anticorpo anti IL-6 humano que esteja ligado ou pelo anticorpo imobilizado ou biotinilado durante a primeira incubação será ligado pelo conjugado estreptavidina. Após nova lavagem para remover conjugados não ligados, um substrato é adicionado às fontes e a

coloração então se forma na proporção direta da quantidade de IL-6 humana ligada na etapa inicial. Além das amostras testadas, uma série de fontes é preparada usando concentrações conhecidas de IL-6 humana padrão. Uma curva é feita comparando a densidade óptica e a concentração da amostra padronizada. Finalmente, pela comparação da densidade óptica das amostras da curva padronizada, a concentração de IL-6 humana das amostras desconhecidas é então determinada. O processo todo demora mais ou menos umas quatro horas. Este ensaio não apresenta reação cruzada com IL-6 de rato, nem com as citocinas humanas IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-7, IL-8, TNF α e também não com G-CSF ou Interferon γ (IFN γ). Segundo as instruções do fabricante, os valores esperados para soro variam de 0-149 pg/mL (média 43 pg/mL).

Todos os exames foram repetidos e confirmados de acordo com a padronização dos mesmos. Os resultados discrepantes foram repetidos em triplicata.

Etiologia infecciosa foi classificada como bacteriana, fúngica ou viral somente quando confirmada através de cultura positiva ou teste diagnóstico apropriado. Os pacientes foram categorizados em três grupos:

- GRUPO I: Afebris, não desenvolveram febre durante o estudo.
- GRUPO II: Febre de origem indeterminada (FOI), ou seja, toda febre sem foco identificado, que continua depois de três a cinco dias de antibioticoterapia de amplo espectro (Pizzo *et al.*, 1982; EORTC International Antimicrobial Therapy Cooperative Group, 1989).

- GRUPO III: Infecção clínica comprovada e/ou microbiologicamente confirmada.

A identificação dos microrganismos em HMCs foi feita no Laboratório de Microbiologia do Instituto Central do HC-FMUSP, utilizando provas bioquímicas convencionais e pelo sistema automatizado de identificação Vitek® (bioMérieux). As HMCs periféricas e de CVC foram todas coletadas pelas equipes de enfermagem (ambulatório e unidade de internação), através de frascos para microrganismos aeróbios e anaeróbios (Bactec 9240). A demanda de HMCs variou de acordo com cada situação clínica específica. As recomendações do CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) foram usadas para interpretação dos resultados.

Febre foi definida quando houve uma temperatura axilar de $> 38,3^{\circ}\text{C}$ (101°F); ou $\geq 38,0^{\circ}\text{C}$ ($100,4^{\circ}\text{F}$) por no mínimo uma hora (Freifeld *et al.*, 2011). A resolução da febre foi considerada quando a temperatura corporal caiu para $\leq 37,6^{\circ}\text{C}$ na vigência do uso de antibióticos (Giamarellou, 1998).

Foi considerado óbito relacionado ao evento quando este e respectiva causa estavam relacionadas com as complicações após o TCTH, durante o período estudado.

Febre sem foco identificado, denominada febre de origem indeterminada, que continua depois de três a cinco dias de antibioticoterapia de amplo espectro, é geralmente denominada “neutropenia febril persistente” (Pizzo *et al.*, 1982; EORTC International Antimicrobial Therapy Cooperative Group, 1989).

Mucosite oral e gastrointestinal foram definidas e graduadas de acordo com a versão três do Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) (Cancer Therapy Evaluation Program, 2003).

Infecção relacionada ao cateter foi definida quando houve o isolamento de um microorganismo após duas horas do isolamento dele em cultura de sangue periférico e/ou o mesmo agente isolado de outra cultura ou ponta de cateter (Freifeld *et al.*, 2011).

Infecções fúngicas foram definidas de acordo com o European Organization for research and treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group (EORTC) (Ascioglu *et al.*, 2002) (Anexo E).

Outras infecções foram definidas de acordo com o critério do CDC.

Pneumonia foi definida pela presença de sinais ou sintomas respiratórios adquiridos recentemente e infiltrados na radiografia de tórax.

A aDECH foi avaliada de acordo com o critério padrão (Przepiorka *et al.*, 1995).

3.6 Análise Estatística

Os dados clínicos e laboratoriais foram armazenados em uma planilha Excel[®] 2003 para processamento pelo programa SPSS e STATA.

Foram comparados os grupos entre si e em relação a cada marcador estudado (PCT, PCR e IL-6). Foram feitos cálculos para estabelecer a sensibilidade, a especificidade, os valores preditivos positivo e negativo e a área sob a curva ROC para cada indicador, comparando os diferentes grupos: I, II e III em seus diferentes momentos (neutropenia afebril, momento

da febre, 24 horas após o início da febre, 72 horas após o início da febre ou hipotermia e 48 horas após a coleta do tubo D ou, em caso da persistência da febre, cinco dias após a coleta do tubo D). De acordo com a curva ROC de cada biomarcador (IL-6, PCT e PCR), foram definidos pontos de corte que apresentaram a melhor sensibilidade e especificidade nos diferentes momentos de avaliação, no momento de febre (tubo B), 24 horas após o início da febre (tubo C), 72 horas após o início da febre (Tubo D) e 48 horas após a coleta do tubo D (tubo E).

Também foram calculados média, mediana e desvio-padrão. As variáveis categóricas foram avaliadas utilizando-se o teste do Qui-quadrado e o teste T exato de Fisher. As variáveis contínuas foram avaliadas pelo teste não-paramétrico de Mann-Whitney para a comparação de dois grupos e o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para a comparação dos três grupos.

Na comparação dos grupos 2 a 2 foi utilizado o teste de Dunn, desta forma os dados serão apresentados como $p < 0,05$, pois os testes não paramétricos não permitem o cálculo exato de p (Hollander, 1973).

Foram realizados testes para comparação dos três biomarcadores entre si em todos os momentos estudados somente para o subgrupo que realizou transplante autólogo. Usando o teste de Dunn, foram calculados média, desvio-padrão e mediana.

Foi avaliado também o desfecho óbito. As seguintes variáveis foram consideradas: idade, sexo, tipo de internação (ambulatorial, internado ou misto), grupo do estudo (I, II e III), diagnóstico hematológico, tipo de doador quando transplante alogênico (aparentado ou não), presença ou não de

DECH, mucosite, condicionamento (mieloablativo ou não), nº de hemoculturas positivas, infecções por Gram-positivo, Gram-negativo, fungos, vírus, contagem de neutrófilos (mm^3) (nos momentos afebril, febre e 24h após a febre), hemoglobina (g/dL), plaquetas (mm^3), ureia (mg/dL), DHL (UI/L), IL-6 (pg/mL), PCT (ng/mL) e PCR (mg/L). Na análise bivariada foram comparadas variáveis dos pacientes que sobreviveram com aqueles que foram a óbito. Nessa análise foram utilizados os testes t de Student, qui-quadrado, teste exato de Fisher e teste não-paramétrico de Mann-Whitney, dependendo da variável em questão. Para a análise multivariada, foram selecionadas as variáveis com p abaixo de 0,15. Para esta análise, os biomarcadores foram analisados no momento da febre, exceto a IL-6 que também foi estudada no momento 24 horas após a febre. Para a análise multivariada foram selecionados: idade, tipo de doador, DECH, presença de hemocultura positiva, infecção por bactéria Gram-positiva, infecção por bactéria Gram-negativa, DHL (momento da febre), contagem de plaquetas (momento da febre), ureia (momento da febre), IL-6 (momento da febre e 24 horas após a febre) e PCR (momento da febre). Aplicando um processo de seleção de variáveis do tipo “stepwise” no modelo de regressão logística, observou-se que as variáveis selecionadas foram: tipo de doador, infecção por Gram-negativo, DHL (momento da febre), ureia (momento da febre) e PCR (momento da febre).

4 RESULTADOS

Foram avaliadas 1016 amostras de soros de 296 pacientes. Nove pacientes se recusaram a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e houve 27 falhas de coleta. Os dados clínicos e laboratoriais dos mesmos foram analisados, sendo que destes, 190 apresentaram febre. Dos 296 casos estudados, a idade variou de 15 e 70 anos (média de 42,37 anos, com DP de 14,24 anos e medianas de 44 anos). Cento e cinquenta e seis (52,7%) pacientes eram do sexo masculino. Observou-se que não houve diferença com relação a esta variável (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Valores de média e desvio-padrão da idade, segundo o grupo de estudo de 296 pacientes submetidos a TCTH, neutropênicos avaliados no HC-FMUSP, no período estudado entre agosto/2008 e dezembro 2010

Grupo I: afebril; Grupo II: Febre de origem indeterminada (FOI) e Grupo III: Infecção clínica e/ou microbiologicamente confirmadas.

Duzentos e dezesseis (73%) pacientes foram submetidos a transplantes autólogos e 80 (27,0%), alogênicos. Dos 80 casos de TCTH alogênicos 74 (92,6%) eram aparentados e apenas seis (7,4%) não aparentados. Dos 80 casos alogênicos 69 (86,3%) eram *fullmatch* e 11 (13,7%) *mismatch*. Em relação ao tipo de regime de condicionamento pré-transplante, temos 231 casos (78,0%) que receberam quimioterapia mieloablativa e 65 (22,0%) do tipo não mieloablativa.

Cento e noventa (64,2%) pacientes apresentaram febre após o transplante. O tempo decorrente entre o transplante e a febre variou de zero a 25 dias (média de 6,43 dias com DP de 3,72 dias e mediana de seis dias).

Os pacientes foram divididos em três grupos de acordo com o desenvolvimento de febre e infecção, conforme a Tabela 1. Observamos, também, que nenhum paciente apresentou hipotermia durante o estudo e 25 (8,4%) pacientes foram a óbito, sendo que destes, 23 (7,8%) casos o óbito estava relacionado com o evento.

Tabela 1 - Distribuição de frequências dos 296 pacientes submetidos a TCTH estudados segundo a classificação baseada no desenvolvimento de febre e infecção

Grupo	N	%
I	106	35,8
II	112	37,8
III	78	26,4
TOTAL	296	100

Grupo I: afebril; Grupo II: Febre de origem indeterminada (FOI) e Grupo III: infecção clínica ou microbiologicamente confirmada

Na Tabela 2 foram apresentados os dados clínicos dos 296 pacientes TCTH, 68 (23,0%) pacientes estavam internados, a doença de base mais

frequente foi mieloma múltiplo presente em 98 pacientes (33,2%), 210 pacientes (70,9%) apresentaram mucosite e cinco pacientes (1,7%) manifestaram DECH.

Tabela 2 - Características da população estudada

Variáveis	Número	%	Média/DP	Mediana/ Min-Max
Presença de febre	190	64,18	-	-
Idade		-	42,37/14,24 (anos)	44/15-70 (anos)
Sexo				
- Masculino	156	52,7	-	-
- Feminino	140	47,3		
Tipo de transplante				
- Alogênico	80	27	-	-
- Autólogo	216	73		
Doador do alogênico				
- Aparentado	74	92,6	-	-
- Não-aparentado	6	7,4		
Compatibilidade (alogênico)				
- Fullmatch	69	86,3	-	-
- Mismatch	11	13,7		
Condicionamento				
- Mieloablativo	231	78	-	-
- Não-mieloablativo	65	22		
Grupos do estudo				
- Grupo I (Afebril)	106	35,8	-	-
- Grupo II (FOI)	112	37,8		
- Grupo III*	78	26,4		
Duração da neutropenia				
- Grupo I (Afebril)	-	-	8,44/3,74	8/0-19
- Grupo II (FOI)			10,69/5,59	9/0-28
- Grupo III*			12,17/6,58	12/0-30
Suporte hospitalar				
- Internação	49	16,6	-	-
- Ambulatorial	228	77		
- Internação + ambulatorial	19	6,4		
Tempo de transplante até a febre	-	-	6,43/3,72 (dias)	6/0-25 (dias)

Continua

Continuação

Variáveis	Número	%	Média/DP	Mediana/ Min-Max
Doença de base				
- Mieloma múltiplo	98	33,2		
- Linfoma não-Hodgkin	72	24,4		
- Leucemia aguda	59	19,9	-	-
- Linfoma Hoddgkin	40	13,5		
- Aplasia de medula	15	5,1		
- Outras**	12	3,9		
DECH	5[#]	6		
- Grau I	1	0,3		
- Grau II	4	1,4		
- Grau III	0	0		
- Grau IV	0	0		
Mucosite	210	70,9		
- Grau I	65	22,0		
- Grau II	84	28,4	-	-
- Grau III	37	12,4		
- Grau IV	24	8,1		
Óbitos	25	8,4		
- Não relacionados ao evento	2	0,6	-	-
- Relacionados ao evento	23	7,8		

* Infecção clínica e/ou microbiologicamente confirmada

** Leucemia crônica (n = 3, 1,0%), amiloidose (n = 2, 0,7%), hemofagocitose (n = 2, 0,7%), anemia de Fanconi (n = 1, 0,3%), Linfoma/leucemia de células T do adulto (n = 1, 0,3%), mielofibrose (n = 1, 0,3%), síndrome mielodisplásica (n = 2, 0,7%);

calculado no total de alogênicos (80 casos)

Analisando os resultados do grupo III, isto é, com infecção clínica ou microbiologicamente comprovada, obtivemos os seguintes resultados (Tabela 3):

Tabela 3 - Descrição das infecções identificadas nos pacientes neutropênicos submetidos a TCTH, classificados no Grupo III (infecção clínica ou microbiologicamente documentada)

Infecções	n	%
Distribuição		
Localizadas	11	14,1
Disseminadas#	67	85,9
Agentes identificados		
Bactérias	26	33,3
Vírus	19	24,4
Fungos	1	6,3
Bactérias/Fungos	11	14,1
Bactérias/Vírus	6	7,7
Bactérias/Fungos/Vírus	4	5,1
TOTAL	78	0,0

das 67 infecções disseminadas, temos: ICS (n = 28, 41,79%), sepse (n = 12, 17,91%), sepse grave (n = 8, 11,94%), choque séptico (n = 7, 10,44%) e sepse com FMO (n = 12, 17,9%).

Tabela 4 - Microorganismos isolados em culturas de 296 pacientes submetidos a TCTH

Agente	Método	Sítio	Número ^a
SCN	Cultura	Sangue	14
<i>Enterococcus faecium</i>	Cultura	Sangue	6
<i>Enterococcus faecium</i>	Cultura	Urina	5
<i>Enterococcus faecium</i>	Cultura	LBA	2
<i>Enterococcus faecium</i>	Cultura	Secreção traqueal	2
<i>Enterococcus faecium</i>	Cultura	Secreção região glútea	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	Cultura	Sangue	2
<i>Enterococcus faecalis</i>	Cultura	Urina	2
<i>Enterococcus sp</i>	Cultura	Sangue	1
<i>Rothia mucilaginosa</i>	Cultura	Sangue	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cultura	Sangue	1
<i>Enterococcus sp</i>	Cultura	Urina	1
TOTAL			38

Continua

Continuação				
	Agente	Método	Sítio	Número ^a
Bactérias Gram-negativas	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cultura	Sangue	4
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cultura	Escarro	1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> *	Cultura	Urina	3
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Cultura	Sangue	2
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Cultura	Sangue	2
	<i>Enterobacter cloacae</i>	Cultura	sangue	1
	<i>Burkholderia cepacia</i>	Cultura	Sangue	1
	<i>Escheria coli</i>	Cultura	sangue	1
	<i>Pseudomonas putido</i>	Cultura	Sangue	1
	<i>Serratia marscencens</i>	Cultura	Sangue	1
	<i>Citrobacter koseri</i>	cultura	Urina	1
TOTAL				18
Fungos	Levedura não <i>cryptococcus</i> spp	Cultura	LBA	3
	Leveduras não <i>albicans</i>	Cultura	Urina	3
	Leveduras não <i>albicans</i>	Cultura	Secreção traqueal	1
	<i>Fusarium</i> sp	Cultura	Pele	2
	<i>Aspergillus</i> sp	Cultura	LBA	1
	Levedura não <i>cândida tropicalis</i>	Cultura	Sangue	1
	<i>Candida tropicalis</i>	Cultura	Sangue	1
	<i>Candida parapsilosis</i>	Cultura	Sangue	1
TOTAL				13
Vírus	VSR	IFD	Lavado nasal	10
	CMV	PCR/ antigenemia	Sangue	10
	Influenza A (H1N1)	PCR	Lavado nasal	5
	Poliomavirus	PCR	Sangue e urina	4
	Influenza B	IFD*	Lavado nasal	3
	Herpes zoster	Observação clínica	Pele	2
	Parainfluenza	IFD	Lavado nasal	1
TOTAL				35

^a Mais de uma espécie foi isolada a partir de algumas hemoculturas. Estas amostras foram colhidas tanto em cateter venoso central quanto de sangue periférico

* inclusive a forma *K. pneumoniae* multi-resistente.

SCN = Staphylococcus coagulase-negativo; CMV = Citomegalovírus; VSR = Vírus sincicial respiratório; LBA = Lavado brônquio-alveolar, *IFD = imunofluorescência direta, PCR = polymerase chain reaction

4.1 Comparação dos grupos em relação a IL-6, PCT e PCR no dia da neutropenia constatada sem febre (tubo A)

Os grupos diferiram em relação aos níveis de IL-6 e de PCR no momento da neutropenia constatada sem febre. Para a PCT observou-se que os grupos não apresentaram diferença significativa (Tabela 5).

Tabela 5 - Dosagens de IL-6, PCT e PCR em 267 pacientes submetidos a TCTH no momento da neutropenia constatada sem febre (tubo A) de acordo com a classificação dos grupos: I (afebril), II (FOI), III (infecção clínica e/ou microbiologicamente documentada)

Variável	Grupo	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	IC	P
IL-6 (pg/mL)	I	106	25,66	76,05	3,94	0,02	400,00	95%	0,013
	II	94	16,33	27,53	6,66	0,05	174,68		
	III	65	21,66	44,56	6,90	0,02	256,00		
PCT (ng/mL)	I	104	0,70	1,87	0,23	0,08	18,11	95%	0,356
	II	94	0,65	1,64	0,15	0,08	13,76		
	III	63	1,16	3,99	0,24	0,08	31,00		
PCR (mg/L)	I	105	28,66	45,08	14,70	0,74	238,70	95%	0,012
	II	95	34,36	42,45	17,50	0,60	188,00		
	III	65	53,54	61,83	21,30	0,19	269,80		

Tubo A: dia da neutropenia constatada sem febre; IL-6 = Interleucina-6; PCT = Procalcitonina; PCR = Proteína C-reativa. Grupo I: afebril; Grupo II: Febre de origem indeterminada (FOI) e Grupo III: infecção clínica e/ou microbiologicamente confirmada.
IC = Intervalo de confiança

Os resultados do grupo I diferiram significativamente em relação aos do grupo II ($p = 0,013$) apresentando valor significativamente maior. O grupo III não apresentou diferença significativa em relação aos outros dois grupos ($p > 0,05$). Não houve diferença estatisticamente significativa quanto a PCT, na comparação entre os três grupos. Da mesma forma, observou-se que os níveis de PCR no grupo I diferiram de

forma significativa dos encontrados no grupo III ($p < 0,05$). O grupo II não apresenta diferença significativa em relação aos outros dois grupos ($p > 0,05$).

4.2 Comparação entre os grupos II e III em relação a IL-6, PCT e PCR no momento da constatação do evento febril (tubo B)

Os grupos diferiram em relação aos níveis de IL-6 e de PCR no momento do evento febril constatado (tubo B). O grupo II apresentou concentrações de IL-6 e de PCR significativamente menores que o grupo III. Não houve diferença significativa em relação à PCT (Tabela 6).

Tabela 6 - Dosagens de IL-6, PCT e PCR em 190 pacientes submetidos a TCTH no momento do evento febril constatado (TUBO B) de acordo com a classificação em grupo II (FOI) ou III (infecção clínica e/ou microbiologicamente documentada)

Variável	Grupo	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	IC	P
IL-6 (pg/mL)	II	112	49,19	71,16	26,21	0,95	400,00	95%	0,001
	III	78	96,34	110,21	50,81	0,78	400,00		
PCT (ng/mL)	II	111	0,81	1,36	0,26	0,06	9,09	95%	0,188
	III	78	1,11	2,01	0,36	0,08	12,33		
PCR (mg/L)	II	112	93,95	131,86	68,05	2,89	1320,00	95%	0,036
	III	78	115,23	87,54	86,25	6,20	301,00		

IL-6 = Interleucina-6; PCT = Procalcitonina; PCR = Proteína C-reativa. Tubo B: evento febril constatado ou hipotermia. Grupo I: afebril; Grupo II: Febre de origem indeterminada (FOI) e Grupo III: infecção clínica ou microbiologicamente confirmada.

IC = Intervalo de confiança

4.3 Comparação entre os grupos II e III em relação a IL-6, PCT e PCR 24 horas após o início da febre (tubo C)

Os grupos diferiram em relação às dosagens de IL-6 e de PCR em 24 horas após o início da febre (do tubo C). O grupo II apresentou concentrações de IL-6 e de PCR significativamente menores que o grupo III. Não houve diferença significativa em relação aos valores da PCT ($p = 0,146$) (Tabela 7).

Tabela 7 - Dosagens de IL-6, PCT e PCR em 188 pacientes submetidos a TCTH, 24 horas após o início da febre (tubo C), de acordo com a classificação em grupo II (FOI) ou III (infecção microbiologicamente documentada)

Variável	Grupo	n	Média	Dp	Mediana	Mínimo	Máximo	IC	P
IL-6 (pg/mL)	II	112	58,20	92,46	25,90	0,17	400,00	95%	0,001
	III	76	105,01	123,37	48,67	0,17	400,00		
PCT (ng/mL)	II	110	1,49	4,10	0,43	0,08	37,14	95%	0,146
	III	75	2,59	5,42	0,56	0,08	24,64		
PCR (mg/L)	II	112	110,91	73,27	102,50	2,90	353,00	95%	0,006
	III	76	151,12	99,66	137,30	16,20	413,00		

IL-6 = Interleucina-6; PCT = Procalcitonina; PCR = Proteína C-reativa. Tubo C: 24 horas após o início da febre ou hipotermia. Grupo I: afebril; Grupo II: Febre de origem indeterminada (FOI) e Grupo III: infecção clínica ou microbiologicamente confirmada.

IC = Intervalo de confiança

4.4 Comparação entre os grupos II e III em relação às dosagens de IL-6, PCT e PCR 72 horas após início da febre (tubo D)

Os grupos II e III diferiram em relação às dosagens de IL-6, PCT e PCR no momento 72 horas após o início da febre (tubo D). O grupo II apresentou concentrações de IL-6, PCT e PCR significativamente menores que o grupo III (Tabela 8).

Tabela 8 - Dosagens de IL-6, PCT e PCR em 186 pacientes submetidos a TCTH, 72 horas após o início da febre (tubo D) de acordo com a classificação em grupo II (FOI) ou III (infecção microbiologicamente documentada)

Variável	Grupo	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	IC	P
IL-6 (pg/mL)	II	112	48,80	89,90	11,42	0,28	400,00	95%	0,013
	III	74	89,42	122,80	26,03	0,02	400,00		
PCT (ng/mL)	II	109	1,15	4,37	0,34	0,08	42,70	95%	0,013
	III	72	2,06	4,61	0,57	0,08	32,00		
PCR (mg/L)	II	112	112,67	79,21	98,90	3,00	330,00	95%	0,032
	III	73	150,21	104,52	139,00	16,30	407,00		

IL-6 = Interleucina-6; PCT = Procalcitonina; PCR = Proteína C-reativa. Tubo D: 72 horas após o início da febre ou hipotermia. Grupo I: afebril; Grupo II: Febre de origem indeterminada (FOI) e Grupo III: infecção clínica ou microbiologicamente confirmada.
IC = Intervalo de confiança

4.5 Comparação entre os grupos II e III em relação às dosagens de IL-6, PCT e PCR em 48 horas após a coleta do tubo D ou, em caso da persistência da febre, cinco dias após a coleta do tubo D (tubo E)

Os níveis de IL-6 e de PCT não apresentaram diferença significativa entre os dois grupos ($p = 0,108$ e $p = 0,083$, respectivamente) em relação aos resultados colhidos em 48 horas após a coleta do tubo D (tubo E). O grupo II apresentou concentrações de PCR significativamente menores que o grupo III ($p = 0,017$) (Tabela 9).

Tabela 9- Dosagens de IL-6, PCT e PCR em 185 pacientes submetidos a TCTH após 48 horas da coleta do tubo D ou após cinco dias da coleta do tubo D, em caso da persistência da febre (tubo E), de acordo com a classificação em grupo II (FOI) ou III (infecção microbiologicamente documentada)

Variável	Grupo	n	Média	Dp	Mediana	Mínimo	Máximo	IC	P
IL-6 (pg/mL)	II	112	34,81	76,59	6,92	0,02	400,00	95%	0,108
	III	72	71,55	121,45	10,64	0,02	400,00		
PCT (ng/mL)	II	111	1,12	3,63	0,24	0,08	33,46	95%	0,083
	III	69	1,58	3,56	0,44	0,08	24,00		
PCR (mg/L)	II	112	82,30	67,26	57,05	3,87	330,00	95%	0,017
	III	71	116,54	93,72	85,30	6,28	370,30		

IL-6 = Interleucina-6; PCT = Procalcitonina; PCR = Proteína C-reativa. Tubo E: 48 horas após a coleta do Tubo D ou, em caso de persistência da febre, cinco dias após a coleta do tubo D. Grupo I: afebril; Grupo II: Febre de origem indeterminada (FOI) e Grupo III: infecção clínica ou microbiologicamente confirmada.

IC = Intervalo de confiança.

A evolução dos biomarcadores IL-6, PCT e PCR em pacientes neutropênicos após TCTH, de acordo com a evolução para febre ou para o diagnóstico de infecção, encontram-se no Anexo F.

4.6 Estudo da dosagem de IL-6 no diagnóstico de infecção em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH

A dosagem de IL-6 nos pacientes neutropênicos após TCTH e febre apresentou baixa acurácia em diagnosticar infecção. Os melhores valores de corte para os momentos de coleta febre, 24 horas de febre, 72 horas de febre ou febre prolongada foram respectivamente 34, 32, 16, e 9 pg/mL.

Tabela 10 - Sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e acurácia da dosagem de IL-6 em identificar infecção em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH, no evento febril constatado ou hipotermia (Momento B); após 24 horas do início da febre ou hipotermia (Momento C); após 72 horas do início da febre ou hipotermia (Momento D); após 48 horas da coleta do tubo D ou, em caso de febre, cinco dias após a coleta do tubo D (Momento E)

Momento	Ponto de Corte (pg/mL)	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	IC	Acurácia
B	34	59,8	59,7	68,4	50,6	95%	59,8
C	32	58,9	57,9	67,4	48,9	95%	58,5
D	16	59,5	59,5	68,8	49,4	95%	59,5
E	9	58,0	54,2	66,3	45,4	95%	53,8

VPP = Valor preditivo positivo; VPN = Valor preditivo negativo; Tubo B: Evento febril constatado ou hipotermia; Tubo C: 24 horas após o início da febre ou hipotermia; Tubo D: 72 horas após o início da febre ou hipotermia; Tubo E: 48 horas após a coleta do tubo D ou, em caso de febre, cinco dias após a coleta do tubo D.

IC = Intervalo de confiança.

Gráfico 2 - Curvas ROC da dosagem de IL-6 para o diagnóstico de infecção em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH de acordo com o momento da coleta

IL-6 = Interleucina 6; Tubo B: Evento febril constatado ou hipotermia; Tubo C: 24 horas após o início da febre ou hipotermia; Tubo D: 72 horas após o início da febre ou hipotermia; Tubo E: 48 horas após a coleta do tubo E ou, em caso de persistência da febre, cinco dias após a coleta do tubo E.

4.7 Estudo da dosagem de PCT no diagnóstico de infecção em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH

A dosagem de PCT nos pacientes neutropênicos submetidos a TCTH e febre apresentou baixa acurácia para diagnosticar infecção. Os melhores valores de corte para os momentos de coleta: febre (tubo B), 24 horas após a febre (tubo C), 72 horas de febre (Tubo D), e febre prolongada foram respectivamente 0,32; 0,47; 0,46 e 0,35 ng/mL (Tabela 11 e Gráfico 3).

Tabela 11 - Sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e acurácia da dosagem de PCT em identificar infecção em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH, no evento febril ou hipotérmico constatado (Momento B); após 24 horas do início da febre ou hipotermia (Momento C); após 72 horas do início da febre ou hipotermia (Momento D); após 48 horas da coleta do tubo D ou, em caso de febre, cinco dias após a coleta do Momento D (Momento E)

Momento	Ponto de Corte (ng/mL)	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	IC	Acurácia
B	0,32	52,3	52,6	61,1	43,6	95%	52,7
C	0,47	51,8	52,0	61,3	42,4	95%	51,9
D	0,46	59,6	59,7	69,2	49,4	95%	59,7
E	0,35	55,9	56,5	67,4	44,3	95%	56,1

VPP = Valor preditivo positivo; VPN = Valor preditivo negativo; PCT = Procalcitonina; Tubo B: Evento febril constatado ou hipotermia; Tubo C: 24 horas após o início da febre ou hipotermia; Tubo D: 72 horas após o início da febre ou hipotermia; Tubo E: 48 horas após a coleta do tubo D ou, em caso de febre, cinco dias após a coleta do tubo D.

IC = Intervalo de confiança.

Gráfico 3 - Curvas ROC da dosagem de PCT para o diagnóstico de infecção em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH de acordo com o momento da coleta

PCT = Procalcitonina; Tubo B: Evento febril constatado ou hipotermia; Tubo C: 24 horas após o início da febre ou hipotermia; Tubo D: 72 horas após o início da febre ou hipotermia; Tubo E: 48 horas após a coleta do Tubo D ou, em caso da persistência da febre, cinco dias após a coleta do tubo D.

4.8 Estudo da dosagem de PCR no diagnóstico de infecção em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH

A dosagem de PCR nos pacientes neutropênicos após TCTH e febre também apresentou baixa acurácia em diagnosticar infecção. Os melhores valores de corte para os momentos de coleta febre, após 24 horas do início da febre (tubos C), após 72 horas do início da febre (tubo D), e febre prolongada (tubo E) foram, respectivamente: 79, 120, 108 e 72 mg/L (Tabela 12 e Gráfico 4).

Tabela 12 - Sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e acurácia da dosagem da PCR em identificar infecção em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH, no evento febril ou hipotérmico constatado (Momento B); após 24 horas do início da febre ou hipotermia (Momento C); após 72 horas do início da febre ou hipotermia (Momento D); após 48 horas da coleta do tubo D ou, em caso de febre, cinco dias após a coleta do tubo D (Momento E)

Momento	Ponto de Corte (mg/L)	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	IC	Acurácia
B	79	55,4	55,1	63,9	46,2	95%	55,3
C	120	56,3	56,6	65,6	46,7	95%	56,4
D	108	54,5	53,4	64,2	43,3	95%	54,1
E	72	55,4	56,3	66,7	44,4	95%	55,7

VPP = Valor preditivo positivo; VPN = Valor preditivo negativo; Tubo B: Evento febril constatado ou hipotermia; Tubo C: 24 horas após o início da febre ou hipotermia; Tubo D: 72 horas após o início da febre ou hipotermia; Tubo E: 48 horas após a coleta do tubo D ou, em caso de febre, cinco dias após a coleta do tubo D.

IC = Intervalo de confiança.

Gráfico 4 - Curvas ROC da dosagem de PCR para o diagnóstico de infecção em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH de acordo com o momento da coleta

PCR: Proteína C-reativa; Tubo B: Evento febril constatado ou hipotermia; Tubo C: 24 horas após o início da febre ou hipotermia; Tubo D: 72 horas após o início da febre ou hipotermia; Tubo E: 48 horas após a coleta do tubo D ou, em caso da persistência da febre, cinco dias após a coleta do tubo D.

4.9 Estudo dos três biomarcadores (IL-6, PCT e PCR) entre si avaliados em todos os momentos estudados no subgrupo TCTH autólogo

Foram comparados os três biomarcadores em todos os momentos estudados nos 216 pacientes submetidos a TCTH autólogo (Tabela 13).

Pela análise feita durante o momento afebril, observamos que os três grupos estudados diferem em relação à IL-6. Pelo Teste de Dunn, o grupo I apresentou resultado significativamente maior que o resultado do grupo II.

Durante o momento da febre (coleta do tubo B), observamos que os grupos diferem significativamente para a IL-6, o mesmo não ocorreu em relação à PCT e PCR, quando comparados aos valores obtidos no grupo III.

No momento 24 h após a febre, houve diferença entre os grupos (II e III) em relação à IL-6 e PCT. O grupo II apresentou valores significativamente maiores com estes dois marcadores quando comparado aos valores encontrados no grupo III.

Nos momentos mais tardios do estudo (coletas dos tubos D e E) não houve relevância em qualquer resultado dos três biomarcadores em quaisquer dos grupos (II e III).

Tabela 13 - Comparação dos biomarcadores entre si nos casos de TCTH autólogos

Análise do Tubo A								
Variável	Grupo	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
IL-6 (pg/mL)	I	83	25,37	81,76	3,59	0,02	400,00	0,020
	II	67	17,50	31,17	6,24	0,05	174,68	
	III	40	26,09	55,06	6,11	0,02	256,00	
PCT (ng/mL)	I	82	0,42	0,53	0,24	0,08	2,82	0,431
	II	67	0,57	1,74	0,15	0,08	13,76	
	III	38	1,38	5,05	0,17	0,08	31,00	
PCR (mg/L)	I	83	26,04	42,92	11,90	0,74	238,70	0,161
	II	68	34,43	44,04	15,25	0,60	186,00	
	III	40	44,32	61,83	17,60	0,19	269,80	
Análise do Tubo B								
Variável	Grupo	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
IL-6 (pg/mL)	II	81	54,16	79,29	26,52	1,18	400,00	0,027
	III	49	90,18	103,30	44,88	2,49	400,00	
PCT (ng/mL)	II	80	0,87	1,51	0,21	0,06	9,09	0,089
	III	50	1,12	1,99	0,37	0,08	12,33	
PCR (mg/L)	II	81	103,44	151,18	82,10	2,89	1320,00	0,443
	II	50	113,50	96,67	74,65	6,20	301,00	
Análise do Tubo C								
Variável	Grupo	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
IL-6 (pg/mL)	II	81	57,45	96,68	22,81	0,17	400,00	0,009
	III	49	83,02	89,39	46,26	0,17	400,00	
PCT (ng/mL)	II	80	1,09	2,31	0,31	0,08	17,48	0,043
	III	48	1,38	2,52	0,62	0,08	14,90	
PCR (mg/L)	II	81	111,11	73,61	106,80	2,90	345,00	0,050
	III	49	153,69	110,72	132,00	16,20	413,00	
Análise do Tubo D								
Variável	Grupo	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
IL-6 (pg/mL)	II	80	49,04	92,00	11,22	0,28	400,00	0,139
	III	49	73,47	107,81	18,00	0,02	400,00	
PCT (ng/mL)	II	79	0,67	0,96	0,28	0,08	6,50	0,084
	III	47	1,27	2,34	0,53	0,08	12,79	
PCR (mg/L)	II	81	115,04	82,26	101,00	3,00	330,00	0,169
	III	49	147,53	108,90	119,00	16,50	407,00	
Análise do Tubo E								
Variável	Grupo	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
IL-6 (pg/mL)	II	81	40,47	88,37	5,96	0,02	400,00	0,659
	III	49	59,71	112,99	7,30	0,02	400,00	
PCT (ng/mL)	II	80	1,29	4,25	0,23	0,08	33,46	0,051
	III	47	1,22	2,31	0,44	0,08	11,49	
PCR (mg/L)	II	81	87,35	73,22	62,30	4,70	330,00	0,425
	III	49	104,04	93,13	63,30	6,28	370,30	

(*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Mann-Whitney

4.10 Biomarcadores e óbito em pacientes neutropênicos submetidos a TCTH

A dosagem de PCR nos pacientes após TCTH e neutropenia constatada sem febre apresentou níveis significativos de acordo com a evolução ou não para o óbito ($p = 0,041$). Os marcadores IL-6 e PCT não apresentaram diferença significativa de acordo com a evolução ($p = 0,583$ e $0,413$, respectivamente) (Tabela 14).

Tabela 14 - Descrição de valores de IL-6, PCT e PCR no dia da neutropenia constatada sem febre (tubo A), segundo a evolução para óbito associado ao evento

Variável	Óbito	N	Média	Dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
IL-6 (pg/mL)	Não	244	21,64	57,03	5,58	0,02	400,00	0,583
	Sim	21	18,2	30,57	7,82	0,02	137,64	
PCT (ng/mL)	Não	239	0,79	2,57	0,19	0,08	31,00	0,413
	Sim	21	0,83	1,40	0,25	0,08	5,74	
PCR (mg/L)	Não	243	34,91	48,38	16,00	0,60	269,80	0,041
	Sim	21	59,57	60,18	34,70	0,19	195,00	

IL-6 = Interleucina-6; PCT = Procalcitonina; PCR = Proteína C-reativa. Tubo E: 48 horas após a coleta do Tubo D ou, em caso de persistência da febre, cinco dias após a coleta do tubo D. Grupo I: afebril; Grupo II: Febre de origem indeterminada (FOI) e Grupo III: infecção clínica ou microbiologicamente confirmada. (*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

A dosagem de PCR nos pacientes após TCTH, neutropenia e evento febril apresentou níveis significativos de acordo com a evolução ou não para o óbito ($p = 0,032$). Os marcadores IL-6 e PCT não mostraram essa diferença ($p = 0,115$ e $p = 0,494$, respectivamente). O grupo que evoluiu para o óbito apresentou maiores dosagens de PCR quando comparado com o grupo sobrevivente (Tabela 15).

Tabela 15 - Descrição de valores de IL-6, PCT e PCR no momento do evento febril (tubo B), segundo a evolução para óbito associado ao evento

Variável	Óbito	N	Média	Dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
IL-6 (pg/mL)	Não	169	63,81	84,86	29,04	0,78	400,00	0,115
	Sim	21	106,65	133,30	44,88	3,60	400,00	
PCT (ng/mL)	Não	170	0,95	1,70	0,35	0,06	12,33	0,494
	Sim	21	0,77	1,29	0,25	0,08	5,50	
PCR (mg/L)	Não	170	98,54	118,55	68,20	2,89	1320,00	0,032
	Sim	21	132,27	86,95	124,00	12,00	300,00	

IL-6 = Interleucina-6; PCT = Procalcitonina; PCR = Proteína C-reativa. Tubo E: 48 horas após a coleta do Tubo D ou, em caso de persistência da febre, cinco dias após a coleta do tubo D. Grupo I: afebril; Grupo II: Febre de origem indeterminada (FOI) e Grupo III: infecção clínica ou microbiologicamente confirmada. (*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

O grupo que evoluiu para óbito diferiu em relação aos níveis de IL-6 e PCR no momento 24 horas após a febre (tubo C) ($p = 0,008$ e $p = 0,024$). Para o marcador PCT observamos que os grupos não apresentaram diferença significativa ($p = 0,783$) (Tabela 16).

Tabela 16 - Descrição de valores de IL-6, PCT e PRC, avaliadas em pacientes submetidos a TCTH 24 horas após o início da febre (tubo C), segundo a evolução para óbito associado ao evento

Variável	Óbito	N	Média	Dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
IL-6 (pg/mL)	Não	169	69,84	100,56	29,59	0,17	400,00	0,008
	Sim	19	141,85	149,45	77,00	7,62	400,00	
PCT (ng/mL)	Não	167	1,79	4,35	0,46	0,08	37,14	0,783
	Sim	19	3,13	7,08	0,32	0,08	24,55	
PCR (mg/L)	Não	169	122,06	83,75	108,00	2,90	413,00	0,024
	Sim	19	172,57	103,30	172,00	25,00	385,00	

IL-6 = Interleucina-6; PCT = Procalcitonina; PCR = Proteína C-reativa. Tubo E: 48 horas após a coleta do Tubo D ou, em caso de persistência da febre, cinco dias após a coleta do tubo D. Grupo I: afebril; Grupo II: Febre de origem indeterminada (FOI) e Grupo III: infecção clínica ou microbiologicamente confirmada. (*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

Os pacientes que evoluíram para óbito apresentaram diferentes concentrações de IL-6 e PCR após 72 horas do início da febre (tubo D) ($p = 0,004$ e $p = 0,034$, respectivamente), não houve diferença na dosagem de PCT ($p = 0,448$) (Tabela 17).

Tabela 17 - Descrição de valores de IL-6, PCT e PCR em pacientes submetidos a TCTH após 72 horas de febre (tubo D), segundo a evolução ou não para óbito

Variável	Óbito	N	Média	Dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
IL-6 (pg/mL)	Não	169	55,92	94,62	12,93	0,02	400,00	0,004
	Sim	17	154,84	161,25	78,16	0,18	400,00	
PCT (ng/mL)	Não	165	1,39	4,03	0,38	0,08	42,70	0,448
	Sim	17	2,66	7,60	0,50	0,08	32,00	
PCR (mg/L)	Não	169	123,67	91,39	101,00	3,00	407,00	0,034
	Sim	16	167,74	87,07	170,00	48,00	312,00	

IL-6 = Interleucina-6; PCT = Procalcitonina; PCR = Proteína C-reativa. Tubo E: 48 horas após a coleta do Tubo D ou, em caso de persistência da febre, cinco dias após a coleta do tubo D. Grupo I: afebril; Grupo II: Febre de origem indeterminada (FOI) e Grupo III: infecção clínica ou microbiologicamente confirmada. (*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

Os pacientes neutropênicos após TCTH e febre prolongada apresentaram diferentes concentrações de IL-6 e PCR de acordo com a evolução para óbito, não houve diferença nos níveis de PCT (Tabela 18).

Tabela 18 - Descrição de valores de IL-6, PCT e PCR em pacientes submetidos a TCTH, 48 horas após a coleta do tubo D ou, em caso de persistência da febre, cinco dias após a coleta do tubo D (tubo E), segundo a evolução ou não para óbito

Variável	Óbito	N	Média	Dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
IL-6 (pg/mL)	Não	169	37,50	78,73	7,49	0,02	400,00	0,002
	Sim	15	180,81	175,90	43,80	0,17	400,00	
PCT (ng/mL)	Não	166	1,17	3,27	0,33	0,08	33,46	0,541
	Sim	14	2,78	6,32	0,28	0,08	24,00	
PCR (mg/L)	Não	169	89,04	75,39	60,20	3,87	370,30	< 0,001
	Sim	14	174,59	95,47	157,50	52,10	336,00	

IL-6 = Interleucina-6; PCT = Procalcitonina; PCR = Proteína C-reativa. Tubo E: 48 horas após a coleta do Tubo D ou, em caso de persistência da febre, cinco dias após a coleta do tubo D. Grupo I: afebril; Grupo II: Febre de origem indeterminada (FOI) e Grupo III: infecção clínica ou microbiologicamente confirmada. (*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

Os fatores de risco associados de forma significativa com óbito na análise bivariada foram: idade, transplante alogênico, transplante com doador não-aparentado, DECH, infecção por Gram-negativo, IL-6 > 140 pg/mL e PCR > 120 mg/L. Os fatores considerados “protetores” foram: linfoma como doença de base e quando o paciente era acompanhado ambulatorialmente.

Tabela 19 - Análise bivariada de fatores de risco associados ao óbito em pacientes submetidos a TCTH

Variável		Óbito				p	Odds Ratio	IC a 95%	
		Não (n = 273)		Sim (n = 23)					
Idade		42,8	(14,3)	35,9	(14,1)	0,028(1)	0,97	0,93	1,00
Sexo Masculino		144	52,7	12	52,2	0,958(2)	1,02	0,44	2,40
Tipo de Internação	Ambulatorial	226	82,8	2	8,7	0,001<(3)	1,00	-	-
	Internado	31	11,4	18	78,3		65,61	14,52	296,51
	Ambulatorial/ internado	16	5,9	3	13,0		21,19	3,30	136,05
Grupo	I	104	38,1	2	8,7	0,001<(2)	1,00	-	-
	II	110	40,3	2	8,7		0,95	0,13	6,84
	III	59	21,6	19	82,6		16,75	3,77	74,42
Tipo de transplante Doador	Autólogo	209	76,6	6	26,1	0,001<(2)	1,00	-	-
	Aparentado	62	22,7	13	56,5		7,30	2,67	20,00
	Não aparentado	2	0,7	4	17,4		69,66	10,62	457,15
Diagnóstico	Leucemia Aguda	50	18,3	9	39,1	0,002(3)			
	Leucemia Crônica	3	1,1	0	0,0				
	Mieloma	96	35,2	2	8,7				
	LNH	68	24,9	4	17,4				
	Linfoma. H	38	13,9	2	8,7				
	Aplasia	12	4,4	3	13,0				
	Outros	6	2,2	3	13,0				
DECH		2	0,7	3	13,0	0,004(3)	20,32	3,21	128,67
Mucosite		191	70,0	19	82,6	0,200(2)	2,04	0,67	6,18
Condicionamento Mieloblatoivo		213	78,0	20	87,0	0,430(3)	1,88	0,54	6,53
Presença de HMC +		23	8,4	9	39,1	0,001<(3)	6,99	2,73	17,89
Num HMC +		0,3	(1,8)	1,1	(1,7)	0,001<(4)	1,14	0,98	1,32
Gram-positivo		15	5,5	3	13,6	0,141(3)	2,72	0,72	10,21
Gram-negativo		6	2,2	6	27,3	0,001<(3)	16,69	4,83	57,60
Fungo		2	0,7	0	0,0	1,000(3)	-	-	-
Infecção Viral		28	10,3	5	21,7	0,156(3)	2,43	0,84	7,05
Neutrófilos (mm³)		132,9	(1083,1)	55,6	(130,0)	0,161(4)	1,00	1,00	1,00
Hb (g/dL)		14,7	(61,4)	9,5	(1,3)	0,266(4)	1,00	1,00	1,00
Plaquetas (mm³)		35865,7	(73636,3)	20185,7	(16206,0)	0,050(4)	1,00	1,00	1,00
DHL(UI/L)		324,8	(152,1)	498,8	(246,1)	0,001<(4)	1,01	1,01	1,01
Ureia (mg/dL)		25,9	(12,9)	41,8	(29,5)	0,001(4)	1,05	1,02	1,08

(1) Nível descritivo de probabilidade do teste t de Student

(2) Nível descritivo de probabilidade do teste qui-quadrado

(3) Nível descritivo de probabilidade do teste exato de Fisher

(4) Nível descritivo de probabilidade do teste não paramétrico de Mann-Whitney

Tabela 20 - Análise bivariada das variáveis IL-6, PCT e PCR com o óbito

Variável	Tubo	Óbito	n	Média	dp	Mediana	Mínimo	Máximo	p*
IL-6 (pg/mL)	A	Não	243	21,73	57,13	5,61	0,02	400,00	0,594
		Sim	21	18,22	30,57	7,82	0,02	137,64	
	B	Não	168	62,83	84,14	28,58	0,78	400,00	0,105
		Sim	21	106,65	133,30	44,88	3,60	400,00	
	C	Não	169	69,84	100,56	29,59	0,17	400,00	0,007
		Sim	19	141,85	149,45	77,00	7,62	400,00	
	D	Não	168	55,23	94,47	12,58	0,02	400,00	0,003
		Sim	17	154,84	161,25	78,16	0,18	400,00	
	E	Não	169	37,50	78,73	7,49	0,02	400,00	0,002
		Sim	15	180,81	175,90	43,80	0,17	400,00	
PCT (ng/mL)	A	Não	239	0,79	2,57	0,19	0,08	31,00	0,412
		Sim	21	0,83	1,40	0,25	0,08	5,74	
	B	Não	170	0,95	1,70	0,35	0,06	12,33	0,493
		Sim	21	0,77	1,29	0,25	0,08	5,50	
	C	Não	167	1,79	4,35	0,46	0,08	37,14	0,782
		Sim	19	3,13	7,08	0,32	0,08	24,55	
	D	Não	165	1,39	4,03	0,38	0,08	42,70	0,447
		Sim	17	2,66	7,60	0,50	0,08	32,00	
	E	Não	166	1,17	3,27	0,33	0,08	33,46	0,539
		Sim	14	2,78	6,32	0,28	0,08	24,00	
PCR (mg/L)	A	Não	243	34,91	48,39	16,00	0,60	269,80	0,041
		Sim	21	59,57	60,18	34,70	0,19	195,00	
	B	Não	170	98,54	118,55	68,20	2,89	1320,00	0,032
		Sim	21	132,27	86,95	124,00	12,00	300,00	
	C	Não	169	122,06	83,75	108,00	2,90	413,00	0,024
		Sim	19	172,57	103,30	172,00	25,00	385,00	
	D	Não	169	123,67	91,39	101,00	3,00	407,00	0,034
		Sim	16	167,74	87,07	170,00	48,00	312,00	
	E	Não	169	89,04	75,39	60,20	3,87	370,30	< 0,001
		Sim	14	174,59	95,47	157,50	52,10	336,00	

(*) nível descritivo de probabilidade do teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

Os resultados das variáveis que foram para a análise multivariada são apresentados na tabela abaixo, sendo que também foram incluídos os valores de corte para as três últimas variáveis deste modelo:

Tabela 21 - Análise multivariada de fatores de risco independentes para óbito em pacientes submetidos a TCTH

	Odds Ratio	IC a 95%		p
Doador aparentado	8,90	2,45	32,31	< 0,001
Doador não aparentado	12,27	1,31	114,49	0,028
Gram-negativo	8,77	1,58	48,67	0,013
DHL $\geq$ 390(UI/L)	3,71	1,12	12,22	0,032
Ureia $\geq$ 25 (mg/dL)	4,46	1,13	17,63	0,033
PCR $\geq$ 120 (mg/L)	4,60	1,35	15,72	0,015

A dosagem de IL-6 nos pacientes neutropênicos após TCTH apresentou moderada acurácia em predizer o óbito em pacientes após 72 horas do início da febre (Anexo G).

A dosagem de PCR nos pacientes neutropênicos submetidos a TCTH apresentou moderada acurácia em predizer o óbito em pacientes com febre prolongada, e baixa acurácia em predizer o óbito em pacientes sem febre ou com até 72 horas de febre (Anexo H).

5 DISCUSSÃO

O tratamento de pacientes neutropênicos febris após o TCTH requer diagnóstico adequado e precoce. Marcadores laboratoriais sensíveis e específicos para diferenciar causas infecciosas e não infecciosas de febre podem auxiliar no uso apropriado de antibióticos, e levar à redução de custos. Até o momento, o papel dos biomarcadores como ferramentas na condução da neutropenia febril ainda é questionável, o último guia da *Infectious Disease Society of America* (IDSA) não recomenda o uso desses biomarcadores (Freifeld *et al.*, 2011). Decisões terapêuticas ainda são baseadas na combinação de anamnese, exame físico e testes microbiológicos. Um marcador ideal é aquele que pode ser facilmente obtido de espécimes clínicos antes do desenvolvimento de sepse grave e não deve ser influenciado por citopenias ou estados inflamatórios associados à doença de base.

O presente estudo avaliou PCR, IL-6 e PCT para diferenciar causas de febre no período após TCTH imediato. Febre pode ter origem infecciosa e não infecciosa. Os principais fatores de risco para infecção no período pré-enxertia (de duas a três primeiras semanas) após TCTH são mucosite e as lesões cutâneas (que destroem as barreiras naturais da pele e membranas mucosas), neutropenia, disfunção orgânica e dispositivos invasivos (Anaissie, 2010; Mendes *et al.*, 2012a). Apesar da população estudada ser

heterogênea (transplantes autólogos e alogênicos, condicionamentos mieloablativos e não-mieloablativos, pacientes internados e ambulatoriais), pudemos inferir algumas observações a partir dos resultados, levando em consideração o número de pacientes (296), o número de amostras de sangue estudadas (1016) e o fato de o estudo ser prospectivo com análise de dados clínicos e laboratoriais em conjunto. Nossa casuística avaliou 216 transplantes autólogos (73%), cuja doença de base predominante foi o mieloma múltiplo ($n = 98$, 33,2%) e 80 alogênicos (27%), cuja doença de base preponderante foi a leucemia aguda ($n = 59$, 19,9%). A maior parte dos condicionamentos utilizou protocolos mieloablativos (78%). Dos pacientes com regimes mais agressivos, apenas seis fizeram uso de drogas depletoras de linfócitos T (globulina antitimocítica - ATG). Isto deve ser citado, uma vez que a PCT, a PCR e também a IL-6 apresentam valor limitado no diagnóstico de infecção durante a infusão de ATG (Pihusch *et al.*, 2006; Brodska *et al.*, 2009). O sítio de ligação da ATG nos linfócitos é principalmente CD2, CD3, CD4/CD8, CD7+, LFA-1+ e ICAM-1 (características dos linfócitos T). O principal mecanismo de ação é opsonização e lise por ativação de complemento, levando à depleção de células T. Um efeito direto da ATG nos linfócitos T pode ser o mecanismo de base, além de um efeito hepatotóxico. A ATG é frequentemente usada como uma parte do regime de condicionamento em TCTH alogênico. A administração de ATG pode ser associada com reação sistêmica, incluindo febre e hipotensão, comparáveis à sepse, tornando o uso de critérios diagnóstico chave para diferenciação de SIRS/sepse impossível. Por essa

razão, demos um prazo maior que três dias para coleta dos exames. Também o uso com outros anticorpos antilinfócitos T (OKT3) pode desencadear reações similares e aumento de PCT e PCR. Tratamento com alemtuzumab (anticorpo monoclonal CD52) também eleva os níveis de PCT e PCR, comparáveis a um caso de sepse por Gram-negativo (Dornbusch *et al.*, 2008).

Outro fato que precisa ser ressaltado é o comportamento dos biomarcadores na presença de DECH e mucosite. Frequentemente é muito difícil diferenciar a patogênese de complicações relacionadas ao TCTH (Infecções, DECH e doença veno-oclusiva), uma vez que as mesmas podem produzir os mesmos sintomas clínicos. Como o tempo de observação do paciente após TCTH no presente estudo limitou-se à fase aguda após o transplante, observou-se que 6% dos pacientes desenvolveram DECH aguda e não foi observado nenhum caso de doença veno-oclusiva. A presença de mucosite em 70,9% possa talvez ser responsabilizada pelo aumento de alguns marcadores em pacientes afebris, bem como em infecções localizadas oligossintomáticas, como resposta à translocação bacteriana (Engel *et al.*, 1999). A mucosite pode também explicar a febre em casos de FOI em pacientes TCTH, mimetizando SIRS (grupo II). Entretanto, em recente estudo italiano, não houve interferência de condições confundidoras (mucosite e DECH) nos níveis séricos de PCT (Sarmati *et al.*, 2010). Neste estudo foram avaliados 116 episódios febris em 88 pacientes neutropênicos (todos com neoplasias hematológicas, sendo 30 deles submetidos a TCTH). Foram medidos os níveis séricos de PCT, PCR e VHS

no curso da neutropenia febril e a influência da mucosite e DECH sobre esses três parâmetros. As amostras para avaliar os níveis de PCT, PCR e VHS foram coletadas no primeiro momento da febre e depois, diariamente até a resolução da mesma. Foi demonstrado que a PCT é um marcador confiável de infecção em pacientes com tumores hematológicos e neutropenia febril, e que o aumento significativo da PCT durante eventos infecciosos não foi afetado por condições inflamatórias tais como as já citadas, mucosite e DECH (Sarmati *et al.*, 2010). No presente estudo, observou-se um número grande de casos com mucosite ($n = 210$, 70,9%) e não houve relação dos biomarcadores estudados com ela. No caso de DECH aguda, somente a PCT apresentou valor significativamente maior no grupo sem DECH ($p = 0,034$). Neste estudo, a presença de mucosite somente teve influência nos três biomarcadores 24 horas após o início da febre. Apesar do número pequeno de DECH ($n = 5$), decorrente do fato da população ser avaliada após TCTH imediato, achamos que seria importante avaliar o comportamento desses biomarcadores na presença de DECH. Apenas a PCT apresentou valor significativamente maior no grupo sem DECH durante o momento da febre, apesar do pequeno número de casos de DECH aguda ($n = 5$).

O estudo de Min *et al.*, apesar de não falar de óbito, e sim das complicações ligadas ao transplante alogênico, deve ser mencionado. Em uma população de 52 pacientes, foram avaliadas IL-6, TNF- α , IL-8 e IL-10. Nessa avaliação, somente a IL-6 e a IL-10 apresentaram cinética que se correlacionou com complicações precoces, tais como febre, mucosite grave

e DECH agudo. Os autores acharam que os níveis de IL-6 em pacientes com febre já na primeira semana após o TCTH podem ser um preditor precoce de complicações relacionadas ao transplante e podem desencadear liberação de citocinas pró e anti-inflamatórias. Nesse estudo a doença de base não teve associação com as citocinas (Min *et al.*, 2001).

Cento e noventa pacientes (64,2%) apresentaram febre e a duração da neutropenia diferiu nos três grupos estudados (I, II e III) com medianas de 8 dias (min-máx 0-19), 9 (min-máx 0-28) e 12 (min-máx 0-30), respectivamente. Há muita discussão sobre o significado clínico dos níveis séricos da PCR, IL-6 e PCT nas complicações relacionadas ao transplante (Remberger *et al.*, 1997; Schots *et al.*, 2003). A PCR produzida pelos hepatócitos correlaciona-se com a atividade inflamatória e mostra fortes interações com o sistema complemento (de Bel *et al.*, 1991). A IL-6 pode ter um papel na fisiopatologia do DECH uma vez que tem propriedades inflamatórias entre seus efeitos pleiotrópicos (Symington *et al.*, 1992; Min *et al.*, 2001; Pihusch *et al.*, 2006). Pihusch *et al.* demonstraram que os níveis de PCR estavam aumentados em pacientes com infecção. Esses autores sugeriram que infecções bacterianas em particular se correlacionaram com altos níveis de PCR e que ela não é usualmente um biomarcador para infecções virais (Pihusch *et al.*, 2006).

No grupo III (infecções clínicas ou microbiologicamente documentadas), observamos 14,1% de infecções localizadas e 85,9% de disseminadas. Chama a atenção a elevada porcentagem de casos de sepse com complicações (sepse grave, choque séptico e sepse com falência de

múltiplos órgãos), igual a 40,28%. No presente estudo foi realizada avaliação dos valores séricos dos biomarcadores IL-6, PCT e PCR que poderiam identificar precocemente infecção em TCTH e foi evidenciado que IL-6 e PCR são marcadores mais sensíveis e precoces que a PCT.

Nossos dados revelaram que os níveis de IL-6 e PCR diferiram nos três grupos estudados (I, II e III), quando constatada a neutropenia sem febre (IL-6 $p = 0,013$; e PCR $p = 0,012$). O mesmo não foi constatado usando-se o marcador PCT. No momento do evento febril, a IL-6 e a PCR ($p = 0,001$ e $p = 0,036$, respectivamente) e não a PCT apresentaram relação com o diagnóstico de infecção após TCTH. Esses dois marcadores (IL-6 e PCR) também foram capazes de identificar infecção após TCTH na nossa casuística, no momento 24 horas após a febre ($p = 0,001$ e $p = 0,006$, respectivamente). Mais uma vez, a PCT não pôde ser relacionada como marcador de infecção nesse momento. Esses dois momentos: início da febre e 24 horas após representam os momentos ideais para se identificar infecção precoce em neutropenia febril após TCTH. Destarte, a PCT não se comportou como um marcador precoce, o que seria o ideal em uma população de alto risco, quando decisões terapêuticas devem ser tomadas o mais rapidamente possível. Apesar de poder detectar infecção precocemente nos momentos citados, as acurácias de ambas IL-6 e PCR não foram altas no momento da febre com valores de 59,8 e 55,3, respectivamente e 24 horas após a febre com valores de 58,5 e 56,4, respectivamente. A sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos não foram considerados ótimos (respectivamente para IL-6 59,8;

59,7; 68,4 e 50,6 e para PCR, respectivamente 55,4; 55,1; 63,9 e 46,2). Este resultado não mudou quando analisados dois biomarcadores em associação e tampouco quando associados os três marcadores.

Ressalte-se o importante estudo de Mendes *et al.* que analisou diversos fatores de risco em TCTH demonstrando o predomínio de microorganismos Gram-negativos (53,8%) em infecção após TCTH, especialmente a *P. aeruginosa* (22,5%), seguida pela *K. pneumoniae*, confirmando os dados do presente estudo em relação a Gram-negativos mais prevalentes (Mendes *et al.*, 2012a).

Após a introdução da profilaxia antifúngica (especialmente fluconazol), a morbimortalidade por candidíase invasiva reduziu significativamente nos pacientes TCTH (Slavin *et al.*, 1995). Entretanto, provavelmente devido a essa profilaxia, foi observado o aumento de infecção por *Candida* resistente a fluconazol, tais como: *C. krusei* e *C. glabrata* (Bodey *et al.*, 2002). As infecções fúngicas mais frequentes na nossa casuística foram *Leveduras não albicans* e infecções causadas por fungos filamentosos, particularmente por *Aspergillus spp.*. No estudo de Mendes *et al.*, com uma casuística de TCTH muito importante (n = 429), conduzido previamente no HC-FMUSP, quarenta e sete episódios de aspergilose invasiva foram diagnosticados, sendo que trinta deles foram classificados como “possível”, 11 como “provável” e seis “confirmados” (Mendes *et al.*, 2012a).

Quanto aos vírus, a infecção mais comum no período após o transplante imediato é o HSV reativado e vírus respiratórios. Os vírus respiratórios mais comuns são o VSR, o parainfluenza, rinovírus e influenza

A e B. A frequência dos mesmos variam de ano em ano e dependem dos padrões da comunidade (Anaissie, 2012) e também do tipo de transplante (allogênico ou autólogo) (Ljungman *et al.*, 1999). O VSR pode ocorrer em mais de 50% dos receptores TCTH (Ljungman *et al.*, 1989). Os vírus mais comuns no presente estudo foram CMV, VSR e Influenza A (H1N1). Houve um surto de VSR durante o período do estudo. No mesmo hospital, o estudo de Mendes *et al.* reportaram um surto de infecção por VSR em 31 casos em pacientes após TCTH (allogênicos e autólogos), acompanhados ambulatorialmente, sendo que somente oito pacientes foram internados (25,8%) e apenas um foi a óbito devido a infecção por aspergilose invasiva comprovada (Mendes *et al.*, 2012b).

Pihusch *et al.* relataram que a PCR estava aumentada em pacientes com infecção após TCTH allogênico, porém ressaltaram que ela aumentava mais em infecções bacterianas e em casos de DECH agudo (Pihusch *et al.*, 2006). Tal resultado também foi observado em outro estudo (Azarpira *et al.*, 2009). Outros estudos com pacientes submetidos a transplante allogênico mostraram que a PCR foi um marcador confiável de infecções fúngicas e bacterianas (Schots *et al.*, 1998; Rintala *et al.*, 1997) e com aumento sérico mais precoce que a PCT (Hambach *et al.*, 2002). Cabe ressaltar que estes últimos estudos citados não possuíam um número de pacientes tão expressivos. No estudo de Hambach *et al.* (2002) os biomarcadores foram coletados no dia da admissão e após TCTH diariamente, com seguimento até alta ou morte. Em um recente estudo retrospectivo que avaliou os níveis pré-transplante de PCR e ferritina sérica em 112 pacientes submetidos a

TCTH, foi demonstrado que ambos podem ser marcadores úteis para prever risco de infecção bacteriana precoce após TCTH alogênico (Kanda *et al.*, 2010), em indivíduos sem qualquer tipo de profilaxia antibacteriana. O risco foi quatro vezes maior que em pacientes com PCR e ferritina mais altas (ferritina > 700ng/mL). A PCR tem um papel defensivo no hospedeiro, pois se liga à fosfocolina dos polissacárides microbianos, ativando a via do complemento clássica. É sugerido que, especialmente, as infecções bacterianas clássicas se correlacionam com níveis altos de PCR, e as infecções virais, em contrapartida, não afetariam suficientemente a PCR.

A PCR, no presente estudo, conseguiu diagnosticar infecção, sendo que, com um valor de 79 mg/L (no momento da febre), apresentou sensibilidade de 55,4, especificidade de 55,1 e valor preditivo positivo de 63,9. Valores semelhantes também puderam ser reproduzidos 24 horas após a febre com um valor de 120 mg/L (sensibilidade 56,3, especificidade de 56,6 e valor preditivo positivo de 65,6). A IL-6 na nossa casuística conseguiu diferenciar febre de origem infecciosa, sendo que com um valor de 34 pg/mL (no momento da febre) apresentou sensibilidade e especificidade de 59,8 e 59,7 respectivamente, e valor preditivo positivo de 68,4. Valores semelhantes também puderam ser reproduzidos 24 horas após a febre com um valor de 32 pg/mL (sensibilidade 58,9; especificidade de 57,9 e valor preditivo positivo de 67,4). Poucos estudos avaliaram IL-6 em pacientes neutropênicos febris após TCTH, Pihusch *et al.* avaliaram TCTH alogênicos, e mostraram que somente níveis elevados de IL-6 puderam ser associados com uma gravidade aumentada nas complicações infecciosas ,

com especificidade e valores preditivos positivos mais altos (respectivamente, 68,2 % e 36,2%) (Pihusch *et al.*, 2006). Entretanto, os mesmos autores observaram que os níveis de PCR e IL-6 diminuíram com a corticoterapia, mas não os de PCT. Em nosso estudo, pudemos observar que a IL-6 apresentou especificidade satisfatória para discriminar infecção após TCTH (59,7) e razoável valor preditivo positivo de 68,4 no momento da observação da febre, com um valor de corte de 34 pg/mL. Isto significa uma vantagem, pois é exatamente nesse o momento crítico que as ações devem ser tomadas. Vinte e quatro horas após a febre, a IL-6 também apresentou valores satisfatórios de especificidade, valor preditivo positivo e área sob a curva ROC. A IL-6 é, de forma geral, associada a complicações infecciosas em outros estudos (Schwaighofer *et al.*, 1994; Pihusch *et al.*, 2006). A IL-6 no estudo de Pihusch *et al.* (2006) apresentou maior especificidade e maior valor preditivo positivo que a PCR e a PCT em complicações infecciosas no período pré e pós-transplante e pode diagnosticar precocemente infecção (Schwaighofer *et al.*, 1994). A IL-6 parece ter um papel na fisiopatologia do DECH (Symington *et al.*, 1992), pois sua produção por monócitos é induzida após estimulação por TNF- α . Nem sempre os níveis de IL-6 se correlacionam com a doença de base (Pihusch *et al.*, 2006). O uso concomitante de esteroides (na profilaxia de DECH) diminui os valores de IL-6, uma vez que bloqueiam a produção de IL-6 pelo tumor e células normais, induzindo apoptose. É produzida por várias células em muitos órgãos em resposta ao estímulo pró-inflamatório. Não é afetada por esteroides, e isso seria uma vantagem em DECH (Pihusch *et al.*, 2006).

Já a PCT, conforme dados de outros estudos confirmados por Pihusch *et al.* (2006), estava aumentada em pacientes com infecção após TCTH do que em outras complicações após TCTH, recomendando sua medida para acompanhamento em paciente com sepse grave (Mueller *et al.*, 2000; Sauer *et al.*, 2000).

Também é sabido que outras condições que elevam PCT não são relacionadas com infecção sistêmica (Meisner *et al.*, 1998; Azarpira *et al.*, 2009).

A PCR, IL-6 e PCT foram avaliadas em estudo com 350 receptores de TCTH antes do condicionamento e semanalmente até oito semanas após o transplante (Pihusch *et al.*, 2006). Esse estudo demonstrou que os níveis séricos desses biomarcadores estavam aumentados precocemente nos indivíduos que desenvolveram complicações ligadas ao transplante (PCR 4,4 mg/dL versus 12,8 mg/dL; $p < 0,001$); IL-6 (93 ng/mL vs 1.138 ng/mL; $p < 0,001$) e PCT (0,8 ng/dL vs 5,7 ng/dL; $p < 0,001$), independente dos micro-organismos envolvidos. Uma possível limitação deste estudo foi o fato de não excluir ou esperar um tempo limite após a administração de ATG nos casos que utilizaram esta medicação na profilaxia da DECH, o que causou a elevação de todos os biomarcadores. Da mesma forma, não houve critérios de exclusão definidos para o estudo. Somente os níveis elevados de IL-6 foram associados à gravidade da infecção. Os valores preditivos positivos e negativos para pacientes com complicações do transplante foram para PCR (VPP: 19,5% e VPN: 97,8%), para IL-6 (VPP: 36,2% e VPN: 94,5%) e para PCT (VPP: 29,6% e VPN: 91,4%). As sensibilidades respectivamente para

PCR, IL-6 e PCT foram: 15,6%, 74,4% e 22,5% e as especificidades foram para PCR, IL-6 e PCT: 64,1%, 68,2% e 25,2% no período após-transplante. Entretanto, somente os valores de PCT puderam diferenciar infecção exclusiva e outras complicações ligadas ao transplante. Outro resultado interessante deste estudo é que somente os níveis de PCT não foram aumentados durante o uso de esteroides.

Nossos resultados em relação à PCT são discordantes de outros estudos, nos quais a PCT foi capaz de diferenciar pacientes com infecção após TCTH de outros sem qualquer complicação relacionada ao transplante (Pihusch *et al.*, 2006; Azarpira *et al.*, 2009). A PCT só pôde detectar infecção após o transplante em um momento mais tardio em nosso estudo, 72 horas após o início da febre ($p = 0,013$) com acurácia de 59,7 e baixo valor preditivo negativo (49,4%), com um valor de corte de 0,46 ng/mL. Nesse mesmo momento (72 horas após o início da febre) tanto a IL-6 como a PCR também puderam indicar a infecção ($p = 0,013$ e $p = 0,032$, respectivamente), embora também com sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos aquém de um valor considerado ótimo. Pode ser visto, a partir das curvas ROC para PCT, que a mesma não pode ser usada como marcador de diagnóstico precoce de infecção após TCTH. A área sob a curva no momento da febre e 24 h após a febre são respectivamente de 0,556 e 0,563. Também não foi possível estabelecer um valor de corte ideal para a mesma finalidade, uma vez que não foram atingidas a sensibilidade e a especificidade suficientemente adequadas para indicar precocemente a infecção. Ao contrário dos dados de Hambach *et al.*,

que mostrando que a PCT foi um marcador específico para detecção de infecção bacteriana ou fúngica quando valores de corte de no máximo 1µg/L detectados usualmente após um dia do início da febre, são usados em receptores de transplantes alogênicos (Hambach *et al.*, 2002). Entretanto, a sensibilidade e especificidade da PCT para tais situações não foi superior às da PCR; é sugerido, portanto, uma combinação de PCR com PCT para aumentar a especificidade visando à detecção de infecções bacterianas ou fúngicas. Esses mesmos autores acham difícil explicar por que não houve aumento ou ocorreu um aumento modesto dos níveis da PCT em alguns casos de bacteremia por Gram-positivo e por Gram-negativo em pacientes que evoluíram para sepse. Blijlevens *et al.* da mesma forma, não conseguiram caracterizar a PCT, nem a PCR como marcadores com poder de discriminar entre infecção e outras complicações durante a neutropenia após transplante hematopoiético alogênico (Blijlevens *et al.*, 2000). Um dado importante que deve também ser enfatizado é o que diz respeito ao tempo de coleta da amostra. A elevação da PCT é mais lenta quando comparada com a elevação imediata da PCR (Hambach *et al.*, 2002), sugerindo que a PCR possa ser uma ferramenta melhor que a PCT em NF.

Quando são analisadas etiologias infecciosas (bactérias Gram-positivas e negativas, infecções virais e fúngicas) dos casos do grupo III em relação a cada biomarcador, pode-se inferir que não há associação de nenhum marcador com infecção fúngica. A IL-6 apresentou relevância no momento afebril nos casos que apresentaram infecção viral. Em relação às infecções bacterianas por Gram-positivos, a IL-6 mostrou-se superior aos

demais marcadores no momento 24 horas após a febre. A PCR apresentou valores significativamente maiores no momento afebril nos casos por infecção bacteriana por Gram-negativos. E a PCT aparentemente não conseguiu diferenciar o agente etiológico da infecção, nem mesmo quando avaliada apenas as infecções fúngicas. Alguns estudos encontraram resultados diferentes do presente estudo. Ortega *et al.*^b estudaram 77 pacientes após TCTH (autólogo e alogênico) e demonstraram que a PCT, apesar de não discriminar infecção no primeiro dia de febre, identificou pacientes de risco para infecção fúngica grave (em especial a Aspergilose invasiva) quando a febre persistia por mais de cinco dias, com um valor de corte $\geq 3\text{ng/mL}$ (Ortega *et al.*, 2004b). Embora os leucócitos (em especial os monócitos) circulantes sejam conhecidos como a maior fonte para liberação de PCT na sepse (Oberhoffer *et al.*, 1999; Monneret *et al.*, 2003), é improvável que a aplasia seja a razão para a não associação do aumento da PCT e da infecção. Além disso, é demonstrado em estudos que avaliaram neutropenia febril após a quimioterapia convencional, independência entre a contagem de leucócitos e os níveis séricos de PCT (Bernard *et al.*, 1998; Sakr *et al.*, 2008; Meisner, 2010). Para entender melhor a não associação da PCT com infecção em nosso estudo, poderíamos ainda dizer que a PCT não aumenta muito quando há destruição de linfócitos, pois seu aumento é mediado pela liberação de $\text{TNF-}\alpha$. Entretanto, as dinâmicas da PCT e PCR são similares. É especulado que o aumento do nível sérico da PCT é relacionado a certa reserva imunológica do corpo que não pode ser refletida totalmente pela contagem real de leucócitos, ou mais especificamente pela

transição de monócitos para macrófagos. A PCT surgiu como um novo e promissor marcador de infecção bacteriana em diversos estudos em populações gerais para identificar infecção (Simon *et al.*, 2005), guiar o tratamento (Christ-Crain *et al.*, 2004) e prever o desfecho (Charles *et al.*, 2009). Entretanto, sua utilidade permanece controversa em receptores de TCTH (Blijlevens *et al.*, 2000; Hambach *et al.*, 2002; Pihusch *et al.*, 2006; Azarpira *et al.*, 2009). Estudo retrospectivo (n = 70) (Mori *et al.*, 2011) que avaliou PCT e PCR após TCTH (também em alogênico) mostrou que a associação de PCT semi-quantitativa e PCR pode ser útil, porém o melhor valor de corte de PCR deve diferir entre neutropenia febril após TCTH e não TCTH. A combinação de PCT e PCR com alto valor de corte (> 9,5 mg/dL) pode ser usada em coortes de TCTH, possivelmente devido à alta falsa-positividade da PCT na DECH aguda. Este estudo apresenta vários vieses: usou método semiquantitativo para análise de PCT (PCT-Q) e avaliou pacientes neutropênicos após TCTH e neutropenia febril em não transplantado.

É possível que a imunossupressão usada para a profilaxia da DECH iniba a produção de IFN- γ das células T em resposta a infecções ou possa haver infecções bacterianas latentes nesses pacientes altamente imunodeprimidos. Portanto, a PCT só não poderia ser útil para estimar os patógenos causadores de infecção, particularmente após TCTH.

Como reconhecemos que o presente estudo avalia uma população muito heterogênea, fizemos a análise dos três biomarcadores em todos os momentos do estudo somente na população que recebeu transplante

autólogo (n = 216). Foi observado que em relação à IL-6, os grupos apresentaram diferenças significativas nos momentos afebril, presença de febre e 24 h após a febre. Os grupos não apresentaram diferença significativa em relação à PCR nos momentos avaliados. Considerando-se a PCT, os grupos apresentam diferença significativa no momento 24 após a febre (tubo C).

Os biomarcadores também podem ser úteis na avaliação de prognóstico de pacientes neutropênicos após TCTH. Como em nossos resultados, Ortega *et al.* (2004a) avaliaram a utilidade da PCR para monitorizar o diagnóstico diferencial e prognóstico de episódios de neutropenia febril em 100 pacientes após TCTH (38 alogênicos e 62 autólogos). A PCR foi medida a cada 48 h da admissão até a resolução do episódio febril. Na análise multivariada, a PCR no 5º dia de tratamento foi um fator prognóstico independente para desfecho fatal, com sensibilidade de 100%, especificidade de 87%, VPP e VPN de 30 e 100%, respectivamente.

No nosso estudo também analisamos associação de cada marcador com prognóstico. Apesar dos avanços e melhorias no tratamento de suporte, o TCTH alogênico ainda apresenta alta toxicidade, com mortalidade relacionada ao transplante entre 10-50% devido às complicações maiores relacionadas ao transplante durante os primeiros meses após o transplante (infecções, DVO, DECH e pneumonite) (Anaissie, 2012). Obviamente existem diferenças da susceptibilidade individual para efeitos de danos tissulares do regime de condicionamento. O índice modificado de comorbidade descrito por Sorror *et al.* (2005) validaram um escore confiável usado antes do transplante

que previu mortalidade não relacionada à recaída da doença e à sobrevida. O Grupo Europeu para transplante de sangue e medula (EBMT) criou um escore de risco que avaliou cinco fatores: idade, estágio da doença, tempo entre o diagnóstico e o transplante, tipo de doador e combinações do gênero do doador e receptor (Gratwohl *et al.*, 2009).

Nossos resultados emergiram de análise bivariada e multivariada que avaliaram fatores de risco associados com óbito e o papel dos biomarcadores nesse contexto. Na análise bivariada, os seguintes fatores foram associados ao óbito em pacientes após TCTH: idade ($p = 0,028$); paciente em regime de internação ($p < 0,001$); pacientes com FOI (grupo II) ($p < 0,001$); diagnóstico de LNH ($p = 0,002$); doador aparentado [no caso de transplante alogênico] ($p < 0,001$); presença de DECH aguda ($p = 0,004$); presença de pelo menos uma hemocultura positiva ($p < 0,001$); presença de mais de duas hemoculturas positivas ($p < 0,001$); infecção por Gram-negativos ($p < 0,001$). Essas variáveis foram, portanto, avaliadas no modelo multivariado. Além disso, a contagem de neutrófilos também apresentou significância em uma primeira análise em todos os momentos do estudo, exceto no momento da febre. A hemoglobina só não foi significativa nos momentos da febre e 24 horas após a mesma. Quanto à contagem de plaquetas, houve uma associação com o óbito no momento 24 h após a febre. A DHL teve relação com óbito relacionado ao evento febril em todos os momentos, bem com a ureia (esta última só não teve relação no momento afebril). Como a PCT não teve nenhuma relação na análise bivariada, não foi avaliada no modelo de análise multivariada. A IL-6 não

teve associação com óbito no momento da febre ($p = 0,105$), porém como 24 h após a febre apresentou associação $p = 0,007$, mas não foi fator de risco independente na análise multivariada. Nossos resultados mostraram que o paciente após TCTH alogênico cujo doador é aparentado apresenta chance nove vezes maior de evolução para óbito do que os pacientes que realizaram transplante autólogo (OR: 8,9 - IC a 95% e $p < 0,001$). Essa chance aumenta ainda de forma mais drástica, quando o doador é não-aparentado, sendo treze vezes maior que em pacientes após transplante autólogo (OR: 12,27 - IC a 95% e $p = 0,028$). Estes dados já são bem conhecidos pela literatura e mostrados em outros estudos (Bacigalupo *et al.*, 1999; Schots *et al.*, 2002; Gratwohl *et al.*, 2009).

Os estudos publicados sobre prognóstico em pacientes após TCTH dividem-se em alogênicos ou autólogos. A mortalidade relacionada ao TCTH alogênico representa ainda uma preocupação e a identificação precoce de pacientes de risco pode ser de importância crucial. A grande maioria dos pacientes receptores de transplante alogênico apresenta uma boa condição nas primeiras semanas após o transplante durante o período de neutropenia e tendem a ter problemas mais tarde: um número significativo de pacientes desenvolverá complicações sérias e com risco de morte, especialmente no transplante com doador não relacionado. Desta forma, prever o desfecho baseado em exames laboratoriais enquanto o paciente está clinicamente bem, independente de um julgamento clínico subjetivo, é de grande valor.

Os pacientes deste estudo que apresentaram algum tipo de infecção comprovada causada por Gram-negativos tiveram nove vezes maior chance

de falecer após TCTH (OR: 8,77 - IC a 95% e $p = 0,013$), conforme também demonstrado em outro estudo na mesma instituição (Mendes *et al.*, 2012a). Além disso, 13 das 18 infecções confirmadas por Gram-negativos eram ICS.

Dois parâmetros laboratoriais se relacionaram com óbito no modelo multivariado: DHL e ureia. Os pacientes que apresentavam DHL ≥ 390 UI/L tiveram chance de ir a óbito quatro vezes maior (OR: 3,71 - IC A 95% e $p = 0,032$). Já a ureia quando é ≥ 25 mg/dL apresentam a possibilidade 4,5 vezes maior para desfecho fatal (OR: 4,46 - IC a 95 % e $p = 0,033$).

Bacigalupo *et al* (1999) descreveram um escore preditivo para mortalidade relacionada ao transplante após TCTH alogênico ($n = 309$) com doadores relacionados ($n = 263$) ou não ($n = 46$), baseado nos valores de ureia e bilirrubina sérica no dia +7 após TCTH (Bacigalupo *et al.*, 1999). Ambos os exames foram preditores de mortalidade relacionada ao transplante na análise multivariada. Estes autores demonstraram que níveis de ureia ≥ 21 mg/dL e de bilirrubina $\geq 0,9$ mg/dL no dia +7 após o transplante identificaram pacientes com risco maior para mortalidade relacionada ao transplante (1,9). Níveis de bilirrubina aumentados podem surgir na DVO subclínica ou DECH aguda. A ureia pode estar relacionada com DECH aguda, infecções graves, desidratação, toxicidade do condicionamento e uso de drogas nefrotóxicas.

O valor de corte ≥ 120 mg/dL para PCR identificou risco de óbito cinco vezes maior na nossa população estudada, sendo portanto, o único dos três biomarcadores estudados com poder de predição de óbito (OR: 4,6 - IC a 95% e $p = 0,015$). Esses dados são confirmados por outros estudos em

pacientes após TCTH (Schots *et al.*, 2002; Ortega *et al.*, 2004a; Artz *et al.*, 2008; Kanda *et al.*, 2010; Remberger *et al.*, 2010). Schots *et al.* trabalharam com uma casuística menor (n = 96), somente TCTH alogênicos, obtiveram níveis de PCR entre 5-10 dias após o transplante e porcentagem de probabilidade de mortalidade relacionada ao transplante com PCR < 100 mg/L, entretanto esses autores não fizeram análise multivariada. Artz *et al.* utilizaram análise multivariada, porém com número menor que o presente estudo (n = 112) e só analisaram dois marcadores (PCR e IL-6) em TCTH alogênico. Em seu estudo, a mediana de PCR foi 18 mg/L, e a da IL-6 de 78 pg/mL, mostrando que níveis elevados de PCR, mas não de IL-6, antes do condicionamento para TCTH, foram preditores independentes para mortalidade relacionada ao transplante alogênico em regime não mieloablativos e com depleção de células T. Remberger *et al.* (2010), apesar de publicarem um estudo com número grande - 299 pacientes -, o mesmo foi retrospectivo, sem análise multivariada e, como os dois anteriores, avaliou somente PCR antes do condicionamento, e também só em TCTH alogênicos. Os autores demonstraram que a mortalidade relacionada ao transplante foi menor em pacientes com regimes não mieloablativos com PCR elevada (67 vs 43%, p = 0,005, e 16 vs 30%, p = 0,036). Finalmente, o estudo de Ortega *et al.* (2004a) analisou somente a PCR, não utilizou análise multivariada e o número de 100 (menor que o do presente estudo), em pacientes autólogos e alogênicos, e demonstrou que a PCR no 5º dia de febre ≥ 16 mg/dL foi associada à morte por causas infecciosas com sensibilidade de 100%, especificidade de 87%, VPP e VPN de 30 e 100%, respectivamente.

Schots *et al.* (2002) monitoraram os níveis de PCR e outras variáveis em 96 adultos consecutivos submetidos a TCTH alogênico, dosando do dia 0 a +5. Somente os altos níveis de PCR ($> 50\text{mg/L}$) ($p < 0,001$) e tipo de doador alogênico ($p = 0,02$) foram os fatores independentes para mortalidade relacionada ao transplante. Os autores concluem que o grau de inflamação sistêmica, como refletida pelos níveis de PCR durante os primeiros 5-10 dias após o transplante, identifica pacientes de risco para mortalidade relacionada ao transplante antes do dia 100 após TCTH. Provavelmente os níveis de PCR e também de IL-6 e outras citocinas se correlacionam fortemente com inflamação sistêmica mediada por citocinas como resultado de dano tissular produzido pelo condicionamento. A PCR foi medida a cada dois dias ou diariamente nos períodos de febre, desde o dia do transplante até a recuperação de neutrófilos e a alta. No estudo retrospectivo de Remberger *et al.* (2010) foi avaliado o impacto clínico da PCR antes do condicionamento em TCTH alogênico ($n = 205$), após o condicionamento não mieloablativo e em pacientes após condicionamento mieloablativo ($n = 299$). Houve uma correlação significativa entre níveis de PCR em ambos os grupos com sobrevida geral e mortalidade relacionada ao transplante, aumentada em indivíduos que receberam condicionamento não mieloablativo. Morte precoce por infecção (em 100 dias) resultou em 25 e 8,7% em pacientes com PCR elevado com e sem infecção documentada, respectivamente ($p < 0,001$ e $p = 0,04$), comparada a pacientes com PCR normal, onde morte precoce por infecção ocorreu em 2,3% de pacientes. Remberger *et al.* (2010) concluíram que a PCR pode servir como fator prognóstico porque permite identificação de

infecção em fases mais precoces, como observado também em nossos resultados. Nos estudos de Pihusch *et al.*, os níveis séricos de PCR (5,2 mg/dL VS 7,8 mg/dL, $p < 0,001$), IL-6 (147 ng/mL vs 494 ng/mL; $p < 0,001$) e PCT (2,1 ng/mL vs 4,0 ng/mL; $p = 0,003$) estavam elevados até a semana +2 no grupo de pacientes que morreram de complicações relacionadas ao transplante, em comparação ao grupo que sobreviveu (Pihusch *et al.*, 2006). No estudo de Artz *et al.* houve associação a níveis de PCR pré-transplante e desfecho do mesmo (uma associação marginalmente significativa com infecção após TCTH não mieloablativa) (Artz *et al.*, 2008). Estes resultados são compatíveis com o estudo de Kanda *et al.* (2010). Estes autores avaliaram fatores de risco para detectar infecção bacteriana precocemente através de análise retrospectiva de dados clínicos de 112 pacientes adultos consecutivos com neoplasias hematológicas, submetidos a transplante alogênico sem profilaxia antibacteriana. Entre vários fatores pré-transplante, somente a ferritina sérica alta ($> 700\text{ng/mL}$, em 47 pacientes) e níveis altos de PCR ($> 0,3\text{ mg/dL}$ em 28 pacientes) estavam associados significativamente ao desenvolvimento de infecção bacteriana na análise multivariada. Além disso, choque séptico e sepse com FMO foram exclusivamente observados em pacientes que tinham altos níveis de ferritina e/ou níveis aumentados de PCR. O nível de PCR elevado no pré-transplante é considerado um fator de risco significativo em dois estudos para a mortalidade relacionada ao transplante (Artz *et al.*, 2008; Kanda *et al.*, 2010). A razão para tal fato permanece obscura e precisa ser esclarecida em estudos futuros. Também níveis de ferritina sérica (pré- transplante $\geq 700\text{ng/mL}$) são associados ao alto

risco de mortalidade relacionada ao transplante (até cinco vezes mais) (Kanda *et al.*, 2010). Diversos estudos sugerem que a sobrecarga de ferro é um importante fator para prognóstico em vários desfechos clínicos de TCTH alogênico (Armand *et al.*, 2007; Majhail *et al.*, 2008; Kataoka *et al.*, 2009; Kanda *et al.*, 2010).

Portanto, o presente estudo é o único prospectivo que avaliou conjuntamente dados clínicos, laboratoriais e três biomarcadores (IL-6, PCT e PCR) com um número considerável de casos (296) e de amostras de sangue estudadas (1016), visando correlacionar a diferenciação de febre de origem infecciosa em neutropenia febril após o TCTH e os fatores de risco independente para óbito, concomitantemente. Além disso, as análises dos biomarcadores foram realizadas em duplicata e, muitas vezes em triplicata. Existem também poucos estudos que utilizaram análise multivariada para tentar estabelecer os fatores de risco independentes para óbito (Schots *et al.*, 2003), e muitos destes, com casuísticas pequenas.

Levando em consideração as já citadas limitações de nosso estudo, faz-se necessário conduzir um estudo prospectivo de populações separadas: alogênicos e autólogos. Além disso, é sempre difícil correlacionar achados laboratoriais e eventos clínicos, principalmente em tão peculiar população. Também seria interessante incluir a IL-8. Um marcador ideal deveria ser facilmente detectado em amostras de sangue obtidas antes do desenvolvimento de sepse mais grave e não deveria ser influenciado por citopenias, drogas e nem pela reação inflamatória associada à doença de base.

6 CONCLUSÕES

IL-6 e PCR têm associação com o diagnóstico precoce de infecção clínica ou microbiologicamente confirmada em neutropenia febril após TCTH.

A PCT não foi um bom marcador precoce para diferenciar febre de origem não infecciosa da oriunda de um processo infeccioso em pacientes neutropênicos após TCTH.

A associação dos três biomarcadores juntos ou associados dois a dois não apresentou nenhuma vantagem, e não melhorou a acurácia diagnóstica.

Somente o biomarcador PCR foi significativamente associado ao desfecho óbito relacionado ao evento estudado (febre em neutropenia após TCTH) em todos os momentos avaliados.

Outras variáveis independentes associadas com óbito foram: transplante alogênico, infecção por Gram-negativos, DHL $\geq$ 390 UI/L no momento da febre e ureia $\geq$ 25 mg/dL no momento da febre.

7 ANEXOS

Anexo A - Aprovação CAPPesq

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 27/08/2008, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0559/08**, intitulado: **"PROCALCITONINA (PCT) EM COMPARAÇÃO COM OUTROS MARCADORES INFLAMATÓRIOS (IL-6, NEOPTERINA E PCR) PARA DIAGNÓSTICO, EVOLUÇÃO E PROGNÓSTICO DE FEBRE EM PACIENTES NEUTROPÊNICOS APÓS TRANSPLANTE HEMATOLÓGICO."** apresentado pelo Departamento de **MOLÉSTIAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: **Sílvia Figueiredo Costa**

Pesquisador (a) Executante: **Karin Schmidt Rodrigues Massaro**

CAPPesq, 29 de Agosto de 2008

Prof. Dr. Eduardo Massad
Presidente da Comissão de
Ética para Análise de Projetos
de Pesquisa

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP e da FMUSP Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo Rua Ovídio Pires de Campos, 255, 5º andar - CEP 05403 010 - São Paulo - SP Fone: 011 3069 6442 Fax: 011 3069 6492 e-mail: cappesq@hcnet.usp.br / secretariacappesq2@hcnet.usp.br

Anexo B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento livre e Esclarecido

- 1 - Título do projeto; Procalcitonina (PCT) em comparação com outros marcadores inflamatórios (IL-6, neopterin e PCR) para diagnóstico, evolução e prognóstico de febre em pacientes neutropênicos após transplante hematopoiético.
- 2 - Desenho do estudo e objetivo(s) “essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que visa verificar os níveis de procalcitonina, Interleucina-6 e proteína C reativa, proteínas que aumentam no sangue quando ocorre uma infecção grave”. O objetivo é melhorar o diagnóstico precoce de infecções graves que ocorrem após o transplante hematológico, tendo em vista a diminuição das defesas do organismo.
- 3 - Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros;

Coleta de uma amostra de sangue (5-10 ml) através de punção de veia do antebraço para que seja realizada a dosagem desses exames acima citados. Essa amostra será coletada antes da febre, no momento da febre, 24, 48, 72 horas após a febre e 48 horas após o término da febre.
- 4 - Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados - coleta de sangue por punção periférica da veia do antebraço; exames radiológicos;
- 5 - Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 3 e 4;

Pode ocorrer um pequeno desconforto no local da punção.
- 6 - Benefícios para o participante:

Poderá ter acesso aos resultados dos exames, receberá as orientações necessárias quanto à conduta no tratamento empregado.
- 7 - Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar;
- 8 - Orientação quanto ao sucesso do tratamento (antibióticos) e evolução da doença (sepsis).
- 9 - Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, haverá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais

dúvidas. O principal investigador é a Dra. Karin Schmidt Rodrigues Massaro pode ser encontrado no endereço Laboratório LIM 54 da Faculdade de Medicina da USP tel: Telefone(s) 30667030. Se houver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) - Rua Ovídio Pires de Campos, 255 - 5º andar - CEP: 05403-010 Fone: 0xx11 3069-6442 FAX: 0xx11 3069-6492 - E-mail: cappesq@hcnet.usp.br/secretariacappesq2@hcnet.usp.br.

- 10 - É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;
- 11 - Direito de confidencialidade - As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente;
- 12 - Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;
- 13 - Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.
- 14 - Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.
- 15 - Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

“Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo”. Procalcitonina (PCT) em comparação com outros marcadores inflamatórios (IL-6 e PCR) para diagnóstico, evolução e prognóstico de febre em pacientes neutropênicos após transplante hematológico.

Eu discuti com a Dra. Karin Schmidt Rodrigues Massaro sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do

estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data ____/____/____

Assinatura da testemunha Data ____/____/____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semianalfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____/____/____

Anexo C - Conceitos

Baseadas nas Conferências de Consenso de 1992 e 2001 da “American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine”.

As definições atualmente empregadas consideram que a sepse, a sepse grave e o choque séptico representam estágios evolutivos da mesma doença, o que não significa necessariamente um aumento da gravidade do processo infeccioso, e sim da gravidade da resposta sistêmica do paciente à infecção (Rangel-Frausto *et al.*, 1995).

Neutropenia: contagem de neutrófilos $< 500/\text{mm}^3$ ou $< 1.000/\text{mm}^3$ com decréscimo previsto para $\leq 500/\text{mm}^3$ (Hughes *et al.*, 1997). A frequência e gravidade das infecções são sempre inversamente proporcionais à contagem de neutrófilos. Pacientes com contagens de neutrófilos de < 500 células/ mm^3 são considerados de risco consideravelmente maior para infecções do que aqueles com contagens de < 1.000 células/ mm^3 , e pacientes com contagens de ≤ 100 células/ mm^3 apresentam risco maior do que aqueles com contagens de < 500 células/ mm^3 . Além do número de neutrófilos circulantes, é também importante a duração da neutropenia como determinante da infecção. Uma neutropenia prolongada (contagem de neutrófilos < 500 células/ mm^3 por 10 dias) é o fator de risco maior para infecção iminente (Hughes *et al.*, 2002). Também são levados em consideração para risco de infecção em neutropênicos, classificando-os como alto ou baixo risco, os seguintes aspectos: doença de base em remissão ou não, intervalo de quimioterapia e neutropenia maior que 10 dias, estado geral do paciente, ausência ou não de hipotensão ou de disfunção orgânica e ausência ou não de comorbidades, tais como mucosite grave, diarreia, infecção perianal, celulite ou pneumonia (Levin *et al.*, 2005-2006).

Febre: uma única temperatura axilar de $> 38,3^\circ\text{C}$ (101°F); ou $\geq 38,0^\circ\text{C}$ ($100,4^\circ\text{F}$) por no mínimo uma hora (Hughes *et al.*, 1997).

Infecção: fenômeno patológico caracterizado por uma resposta inflamatória à presença de microorganismos ou a invasão de tecidos, fluidos ou cavidades corporais normalmente estéreis do hospedeiro por microorganismos patogênicos ou potencialmente patogênicos (Levy *et al.*, 2003). Esta definição, essencialmente a mesma do comitê de 1992, não é perfeita. Por exemplo, colite causada por *Clostridium difficile* resulta de um supercrescimento deste organismo no cólon, o qual é certamente não estéril. Além disso, as manifestações clínicas desta colite não são causadas pela bactéria invadindo tecidos normalmente estéreis, mas sim pelos efeitos citopáticos de uma exotoxina secretada pelo organismo. É muito importante lembrar também que infecção pode ser fortemente suspeitada mesmo sem a comprovação microbiológica. Consequentemente, sepse (infecção associada à resposta sistêmica) pode ser apenas fortemente suspeitada sem ter confirmação microbiológica.

Bacteremia: presença de bactéria viável no sangue. A presença de vírus, fungos, parasitas, e outros patógenos no sangue devem ser descritos numa maneira similar (ex. viremia, fungemia, parasitemia, etc.) (Bone *et al.*, 1992).

Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica: resposta inflamatória sistêmica que pode ser deflagrada por uma variedade de condições infecciosas e não infecciosas (Levy *et al.*, 2003). Sinais de inflamação sistêmica *podem e ocorrem* na ausência de infecção entre pacientes com queimaduras, pancreatite, e outras doenças. Entretanto, o critério específico proposto pelas definições do consenso de 1992, é considerado pouco específico quanto à utilidade em diagnosticar uma causa para a síndrome ou em identificar um padrão distinto de resposta por parte do hospedeiro (Vincent, 1997; Marshall, 2000). Embora as manifestações clínicas da SIRS sejam importantes, os aspectos bioquímicos podem ser mais consistentes. Além das substâncias circulantes elevadas que foram detectadas nos pacientes com critério para SIRS de 1992 IL-6, adrenomedulina, CD14

solúvel, molécula de adesão leucocitária endotelial, fosfolipase A2 extracelular e PCR, a PCT pode estar aumentada na inflamação sistêmica (Levy *et al.*, 2003). De acordo com o Comitê do ACCP/SCCM de 1992, clinicamente a SIRS é manifestada por duas ou mais das seguintes condições:

- Temperatura axilar > 38°C ou < 36°C
- Frequência cardíaca > 90 bpm
- Frequência respiratória > 90 mpm ou PaCO₂ < 32 torr
- Contagem de leucócitos > 12.000 células/mm³, < 4000 células/mm³, ou > 10% de formas jovens.

Sepse: resposta sistêmica à infecção. De acordo com os critérios da ACCP/SCCM de 2001, mais dados laboratoriais foram incluídos aos sinais clínicos.

Ao contrário da SIRS, é muito importante que clínicos e pesquisadores tenham ferramentas necessárias para reconhecer e diagnosticar sepse prontamente para que terapias efetivas sejam instituídas o quanto antes. É interessante notar que a PCT foi incluída nesse novo consenso.

Sepse grave: sepse associada com disfunção de órgão, hipoperfusão, ou hipotensão. Hipoperfusão e anormalidades perfusionais podem incluir, mas não são limitadas à acidose láctica, oligúria, ou uma alteração aguda no estado mental (Levy *et al.*, 2003). A sepse grave é considerada agora a causa mais comum de morte em unidades de terapia intensiva não coronariana. Aproximadamente 150.000 pessoas morrem anualmente na Europa e mais que 200.000 pessoas morrem anualmente nos Estados Unidos (Angus *et al.*, 2001). A elevada taxa de mortalidade associada à sepse reflete a gravidade e a complexidade dessa síndrome, com quadros clínicos muito heterogêneos e fisiopatologia incompreendida. A falta de clareza na identificação e caracterização dos pacientes dificulta a realização de metanálises (Vincent e Byl, 2000; Angus, 2000). Disfunções de órgãos podem ser definidas usando-se as definições desenvolvidas por Marshall *et al.* (1995) ou as definições usadas pelo sistema de pontos SOFA (Ferreira *et al.*, 2001). Disfunção orgânica em sepse grave na população pediátrica pode ser definida pelos critérios de Wilkinson *et al.* (1986), Proulx *et al.* (1996), e Doughty *et al.* (1998) ou as definições usadas para o score "Pediatric multiple organ dysfunction" e "Pediatric Logistic Organ Dysfunction" (Leteurtre *et al.*, 2004).

Choque séptico: sepse com hipotensão, a despeito de adequada ressuscitação hídrica, juntamente com a presença de anormalidades perfusionais que podem incluir, mas não são limitadas, acidose láctica, oligúria, ou alteração aguda do estado mental. Pacientes que estão sob uso de agentes inotrópicos ou vasopressores podem não estar hipotensos no instante em que as anormalidades perfusionais são observadas. Crianças e neonatos mantêm tônus vascular mais alto do que adultos. Portanto, o estado de choque ocorre bem antes da hipotensão em crianças (Levy *et al.*, 2003).

Hipotensão relacionada à sepse: uma pressão sistólica menor que 90 mmHg ou uma redução maior que 40 mmHg dos níveis basais na ausência de outras causas de hipotensão (Levy *et al.*, 2003).

Síndrome da disfunção múltipla de órgãos: presença de função orgânica alterada em paciente agudamente enfermo de tal forma que a homeostase não pode ser mantida sem intervenção.

Na Conferência Internacional de Sepse em 2001 - SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS ficou estabelecido como pontos de consenso primário:

- O conceito atual de sepse, sepse grave e choque séptico parecem ser definições fortes e devem permanecer como descritos há 10 anos.
- Definições atuais não permitem o estadiamento preciso da resposta do hospedeiro à infecção.

- Sinais e sintomas de sepse estão mais variados do que os do critério inicial estabelecido em 1991.
- Uma lista desses sinais e sintomas para o diagnóstico de sepse é apresentada.
- O futuro está em desenvolver um sistema de estadiamento que caracterizará a progressão da sepse. Um novo sistema, Sistema PIRO (onde: P = Predisposição, I = Natureza da infecção, R = Resposta do hospedeiro e O = Disfunção orgânica), é proposto para caracterizar e estadiar a resposta do hospedeiro à infecção.

Critérios diagnósticos para sepse/SIRS em resposta à infecção:

Infecção*, documentada ou suspeita, com alguns dos seguintes itens: **

Variáveis gerais:

Febre (temperatura corporal $>38,3^{\circ}\text{C}$)
Hipotermia (temperatura corporal $< 36^{\circ}\text{C}$)
Frequência cardíaca $> 90/\text{min}$ ou > 2 DP acima do valor normal para a idade
Taquipneia
Alteração do nível de consciência
Edema significativo ou balanço hídrico positivo ($> 20\text{ mL/kg}$ em 24 h)
Hiperglicemia (glicose plasmática $> 120\text{ mg/dL}$ ou $7,7\text{ mmol/L}$) na ausência de diabetes mellitus.

Variáveis inflamatórias:

Leucocitose (leucócitos $> 12.000/\text{mm}^3$)
Leucopenia (leucócitos $< 4.000/\text{mm}^3$)
Contagem normal de leucócitos com $> 10\%$ de formas imaturas
PCR plasmática > 2 DP acima dos valores normais
PCT plasmática > 2 DP acima dos valores normais

Variáveis Hemodinâmicas:

Hipotensão arterial** (pressão sistólica sanguínea $< 90\text{ mm Hg}$, pressão arterial sanguínea média <70 , ou uma diminuição da pressão sistólica $> 40\text{ mm Hg}$ em adultos ou < 2 DP para a idade)
 $\text{SvO}_2 > 70\%$
Índice cardíaco $> 3,5\text{ L.min.M}$

Variáveis de disfunção de órgãos:

Hipoxemia arterial ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$)
Oligúria aguda (débito urinário $< 0,5\text{ mL/kg/h}$ por 2 horas)
Aumento de creatinina sérica $> 0,5\text{ mg/dL}$
Anormalidades da coagulação ($\text{INR} > 1.5$ ou $\text{TTPA} > 60$ segundos)
Íleo paralítico (ruídos intestinais ausentes)
Trombocitopenia (contagem de plaquetas $< 100.000/\text{mm}^3$)
Hiperbilirrubinemia (bilirrubina plasmática total $> 4\text{ mg/dL}$)

Variáveis de perfusão tecidual:

Hiperlactatemia ($> 1\text{ mmol/L}$)
Perfusão capilar periférica diminuída ou irregular

Onde: SvO₂, saturação venosa central; INR, international normalized ratio-taxa normatizada internacional; TTPA, tempo da tromboplastina parcial ativada.

*Infecção sendo definida como um processo patológico induzido por um microorganismo; ** SvO₂ sat > 70% é normal em crianças (normalmente, 75-80%); portanto, NUNCA usar como sinal de sepse em recém-natos ou crianças. Critérios diagnósticos para sepse na população pediátrica são sinais ou sintomas de inflamação mais infecção com hiper ou hipotermia (temperatura retal > 38,5 ou < 35°C), taquicardia (pode ser ausente em pacientes hipotérmicos), e no mínimo uma das seguintes indicações de função orgânica alterada: estado mental alterado, hipoxemia, aumento do lactato sérico, ou pulsos irregulares.

REFERÊNCIAS

Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, Hwang T, Davis CS, Wenzel RP. The natural history of systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study. *JAMA*. 1995; 273(2):117-23.

Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, Brown AE, Edwards JE, Feld R, Pizzo P, Rolston KVI, Shenep JL, Young LS. 1997 Guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with unexplained fever. *Clin Infect Dis*. 1997; 25(3):551-73.

Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, Bow EJ, Calandra T, Feld R, Pizzo PA, Rolston KVI, Shenep JL, Young LS. 2002 Guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. *Clin Infect Dis*. 2002; 34(6):730-51.

Levin ASS, Dias MBGS, Oliveira MS, et al. Grupo e subcomissões de controle de infecção hospitalar do Hospital das Clínicas da FMUSP -*Guia de utilização de anti-Infecçiosos e recomendações para prevenção de Infecções hospitalares* - Hospital das Clínicas da FMUSP-2005-2006; 38-9.

Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*. 2003; 31(4):1250-6.

Bone RC, Sibbald WJ, Sprung CL. ACCP/SCCM criteria-1992 American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med*. 1992; 20:864-74.

Vincent JL. Dear SIRS, I'm sorry to say that I don't like you. *Crit Care Med*. 1997; 25(2):372-4.

Marshall JC. SIRS and MODS: what is their relevance to the science and practice of intensive care? *Shock*. 2000; 14(6):586-9.

Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*. 2001; 29(7):1303-10.

Vincent JL, Byl B. Defining a clinical syndrome of systemic inflammation. *Sepsis*. 2000; 4(1):15-9.

Marshall JC, Cook DJ, Christou NV. Multiple organ dysfunction score: a reliable descriptor of a complex clinical outcome. *Crit Care Med*. 1995; 23(10):1638-52.

Ferreira FL, Bota DP, Bross A. Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients. *JAMA*. 2001; 286(14):1754-8.

Wilkinson JD, Pollack MM, Ruttimann UE, Glass NL, Yeh TS. Outcome of pediatric patient with multiple organ system failure. *Crit Care Med.* 1986; 14(4):271-4.

Proulx F, Fagan M, Farrel CA. Epidemiology of sepsis and multiple organ dysfunction syndrome in children. *Chest.* 1996; 109(4):1033-7.

Doughty LA, Carcillo JA, Kaplan SS. Plasma nitrite and nitrate concentration and multiple organ failure in pediatric sepsis. *Crit Care Med.* 1998; 26(1):157-62.

Leteurtre S, Leclerc F, Wirth J, Noizet O, Magnenant E, Sadik A, Fourier C, Cremer R. Can generic paediatric mortality scores calculated 4 hours after admission be used as inclusion criteria for clinical trials? *Critical Care.* 2004; 8(4):R185-93.

Anexo D - Ficha com dados clínicos e laboratoriais

1) Identificação

Nome: _____

RG: _____

Idade: _____

Sexo: _____

2) Doença de base:

Leucemia aguda ☐

Leucemia crônica ☐

Mieloma múltiplo ☐ LNH ☐

Linfoma H ☐

Aplasia de medula ☐

Outros _____

3) TMO

Data: _____

Autólogo ☐

Alogênico ☐

Aparentado ☐

Não aparentado ☐

HLA ☐

Células de cordão ☐

Tempo de transplante até a febre: _____ dias

4) DECH

Sim ☐

Não ☐

Agudo ☐

Crônico ☐

Pele ☐

TGI ☐

Pulmão ☐

Grau I ☐

Grau II ☐

Grau III ☐

Grau IV ☐

5) Mucosite:

Sim ☐

Não ☐

Grau I ☐

Grau II ☐

Grau III ☐

Grau IV ☐

6) Uso de ATB

Sim ☐

Não ☐

Qual(is) antibiótico(s) _____

Até 30 dias da coleta da amostra ☐ No momento da coleta ☐

Quantos dias até a coleta: _____ dias

Por quanto tempo: _____ dias

Quais? _____

7) Tipo de condicionamento:

☐ mieloablativo

☐ não mieloablativo

8) Febre ou hipotermia: (datas dos eventos estudados)

(observação das 24 horas precedentes ao evento estudado)

Sim ☐

Não ☐

(algum registro de $T > 38,3^{\circ}\text{C}$ ou $\geq 38,0^{\circ}\text{C}$ por no mínimo uma hora, ou no caso de hipotermia, algum registro de $T < 35^{\circ}\text{C}$)

Dia do registro da neutropenia inicial (sem febre ou hipotermia): _____ (TUBO A)

Dia do episódio febril ou hipotérmico: _____ (TUBO B)

24 horas após: _____ (TUBO C)

72 horas após: _____ (TUBO D)

48 horas após o término da febre ou hipotermia ou D5 após a coleta do tubo D*: _____ (TUBO E)

* no caso do paciente persistir fazendo febre após coleta do tubo D- dúvidas ligar para Dr^a. Karin: cel: 8338-3253

This image shows a single sheet of white paper with horizontal blue ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

Dados clínicos	TUBO A	TUBO B	TUBO C	TUBO D	TUBO E
DATA					
Temperatura (algum registro de T>38° C ou < 35° C)					
Calafrios					
F. cardíaca (pelo menos 2 registros consecutivos FC > 90/min)					
F. respiratória (pelo menos 2 registros consecutivos de FR > 20/min)					
Hipotensão arterial (PAS < 90 mmHg ou redução > 40 mmHg na PAS de base em pelo menos 2 medidas consecutivas, sem qualquer outra causa de hipotensão)					
Oligúria/anúria (diurese < 40 mL/h por um período contínuo de pelo menos 6 horas)					
Alteração do estado mental (não relacionada à doença prévia)					

Dado laboratorial	TUBO A	TUBO B	TUBO C	TUBO D	TUBO E
Data					
Leucócitos					
Neutrófilos					
Hb					
Plaquetas					
DHL					
Ureia					
PCR					
PCT					
IL-6					

Duração da neutropenia: dias

Gradação da neutropenia inicial:

1000 < X < 1500 ☐

< 1000 ☐

< 500 ☐

< 100 ☐

10) Hemoculturas (HMC):

Datas: dd/mm/aaaa

HMCs sangue cateter:

HMCs sangue periférico:

Número de HMC positivas:

Gram + ☐

Gram - ☐

Anaeróbio ☐

Fungo ☐

Patógeno

1 _____

2 _____

3 _____

Perfil de sensibilidade

1 _____

2 _____

3 _____

Patógeno relacionado à infecção em outro local:

Sim ☐

Não ☐

11) Presença de cateter venoso central

Externo ☐

Semi - implantado ☐

Totalmente implantado ☐

Data da inserção: _____

Tempo de uso até febre ou hipotermia: _____

12) Cateter

Cultura de ponta

Sim ☐

Não ☐

Datas: dd/mm/aaaa

Gram + ☐

Gram - ☐

Anaeróbio ☐

Fungo ☐

Patógeno

1 _____

2 _____

3 _____

Perfil de sensibilidade

1 _____

2 _____

3 _____

Infecção local

Sim ☐

Não ☐

Hiperemia de óstio ☐

Infecção de túnel ☐

Saída de secreção purulenta pelo óstio ☐

Outros: _____

13) Outras culturas (urina, LBA, secreções, etc.):

Local: _____

Data: _____

Patógeno 1 _____

2 _____

3 _____

Perfil de sensibilidade 1 _____

2 _____

3 _____

14) Exames de imagem relevantes:

Datas: _____

Laudos: _____

15) Recuperação imune:Fase I ☐Fase II ☐Fase III ☐**16) Infecção viral**Sim ☐Não ☐

Data: _____

CMV ☐

Antigenemia: _____ PCR tempo real: _____

Vírus respiratório ☐VSR ☐Influenza ☐Parainfluenza ☐**17) Infecção fúngica:**Sim ☐Não ☐

Data: _____

Agente: ☐ Candida☐ Aspergillus☐ Fusarium☐ Mucormicose☐ Outros: _____**Infecção fungo filamentosos:**Possível ☐Provável ☐Confirmada ☐Sítio: ☐ Pulmão☐ SNC☐ Seios da face☐ Sangue

Outros: _____

PCR para AspergillusSim ☐Não ☐

Anexo E - Infecções por fungos invasivos

Os termos “confirmada”, “provável” e “possível” são utilizadas pelo comitê para expressar o grau de certeza da doença (*Ascioglu et al.*, 2002).

Infecção fúngica invasiva possível: presença de pelo menos um critério do fator do “hospedeiro”*; e um critério microbiológico# ou um critério clínico maior α (ou dois menores) a partir do sítio anormal consistente com infecção;

Infecção fúngica invasiva provável: presença de pelo menos um fator do “hospedeiro”; e um critério microbiológico; e um critério clínico maior (ou dois menores) a partir do sítio anormal consistente com infecção;

Infecção fúngica invasiva confirmada: presença do fungo no tecido isolado por biópsia ou punção por agulha.

*: neutropenia (<500 neutrófilos/mm³ por > 10 dias), febre persistente por > 96 horas refratária a tratamento antibacteriano apropriado de amplo espectro em pacientes de alto risco; temperatura corporal ou >38° ou < 36 ° e qualquer uma das seguintes condições predisponentes: neutropenia prolongada (>10 dias) nos 60 dias prévios, uso recente ou corrente de agentes imunossupressivos significantes nos 30 dias prévios, infecção fúngica possível ou provável durante o episódio prévio de neutropenia, ou coexistência de SIDA sintomática; sinais e sintomas de DECH, particularmente grave ($\geq$ grau II) ou doença crônica extensa; uso prolongado (>3 semanas) de corticosteróides nos 60 dias prévios.

##: resultado positivo de cultura de fungos (incluindo *Aspergillus*, *Fusarium*, ou *Scedosporium* spp ou *Zygomycetos*) ou *Cryptococcus neoformans* ou um fungo patogênico endêmico do escarro ou LBA (lavado bronco-alveolar); resultado positivo de cultura ou achados de microscopia/citológico diretos para fungos de espécimes aspiradas de sinus ou *Cryptococcus* spp. de amostras de escarro ou LBA; resultado positivo para antígeno de *Aspergillus* em espécimes de LBA, LCR, ou ≥ 2 amostras de sangue; resultado positivo para antígeno criptocócico em amostra de sangue, achados positivos de exame citológico ou microscopia direta para fungos em fluidos estéreis corporais (ex: *Cryptococcus* spp no LCR); resultado positivo para *Histoplasma capsulatum* spp em LCR); dois resultados positivos de leveduras em uroculturas na ausência de cateter urinário; cepas de *Candida* na urina na ausência de cateter urinário e resultado positivo em hemocultura para *Candida* spp.

α : critérios clínicos devem ser relatados para situar os critérios microbiológicos e relatados temporalmente ao episódio presente.

Infecção de trato respiratório inferior

- maior: qualquer infiltrado novo na TC: sinal do halo, sinal em crescente aéreo, ou cavidade dentro de área de consolidação
- menor: sintomas de infecção de trato respiratório inferior (tosse, dor torácica, hemoptise, dispneia); achados físicos de atrito pleural; qualquer novo infiltrado que não preencham os critérios maiores; efusão pleural.

Infecção sinusal

- maior: evidência radiológica sugestiva de infecção invasiva dos seios (ex: erosão das paredes sinusais ou extensão da infecção em áreas vizinhas, destruição extensa da base do crânio)
- menor: sintomas de infecção respiratória superior (ex: coriza, obstrução nasal); ulceração nasal ou escara de mucosa nasal ou epistaxe; edema periorbital; perda de consistência osso maxilar; lesões escuras necróticas ou perfuração do palato duro.

Infecção do Sistema Nervoso central (SNC):

- maior: evidência radiológica sugerindo infecção de SNC (ex: mastoidite ou outros focos parameningeos. Empiema extradural, massa em parênquima cerebral ou em espinha vertebral)
- menor: sintomas e sinais neurológicos focais (incluindo convulsões focais, hemiparesia, e paralisia de nervos cranianos); alterações mentais; sinais de irritação meníngea; anormalidades na bioquímica do LCR e contagem de células

Infecção fúngica disseminada: lesões papulares ou nodulares em pele sem outras explicações; achados intraoculares sugestivos de coriorretinite fúngica hematogênica ou endoftalmite.

Candidíase crônica disseminada: abscessos pequenos, periféricos, em forma de alvo (lesões em olho-de-boi) no fígado e/ou baço demonstradas por TC/RM, ou ultrassom, bem como nível de fosfatase alcalina elevado; reforçando critérios microbiológicos que não foram requeridos para categoria provável.

Candidemia: critérios clínicos que não são requeridos para candidemia provável; não há definição para candidemia possível.

Tradução livre de: Ascioglu S, Rex JH, de Pauw B, Bennett JE, Bille J, Crokaert E. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis.* 2002; 34: 7-14.

Anexo F - Evolução dos biomarcadores IL-6, PCT e PCR em pacientes neutropênicos com TCTH, de acordo com a evolução para febre ou para o diagnóstico de infecção

Gráfico 1 - Descrição de valores da IL-6 (pg/mL) de 296 pacientes neutropênicos submetidos a TCTH, de acordo com a classificação em: Grupo I (afebril), II (FOI), III (infecção clínica e/ou microbiologicamente documentada)

IL-6 = Interleucina-6; Tubo A: dia da neutropenia constatada sem febre; Tubo B: evento febril constatado ou hipotermia; Tubo C: 24 horas após o início da febre ou hipotermia; Tubo D: 72 horas após o início da febre ou hipotermia; Tubo E: 48 horas após a coleta do tubo D ou, em caso de febre, cinco dias após a coleta do tubo D.

Gráfico 2 - Descrição de média da PCT (ng/mL), de 296 pacientes submetidos a TCTH de acordo com a classificação em: Grupo I (afebril), II (FOI), III (infecção clínica e/ou microbiologicamente documentada)

PCT = Procalcitonina; Tubo A: dia da neutropenia constatada sem febre; Tubo B: evento febril constatado ou hipotermia; Tubo C: 24 horas após o início da febre ou hipotermia; Tubo D: 72 horas após o início da febre ou hipotermia; Tubo E: 48 horas após a coleta do tubo D ou, em caso de febre, cinco dias após a coleta do tubo D.

Gráfico 4 - Descrição de média da PCR (mg/L), de 296 pacientes submetidos a TCTH de acordo com a classificação em: Grupo I (afebril), II (FOI), III (infecção clínica e/ou microbiologicamente documentada)

PCR = Proteína C-reativa; Tubo A: dia da neutropenia constatada sem febre; Tubo B: evento febril constatado ou hipotermia; Tubo C: 24 horas após o início da febre ou hipotermia; Tubo D: 72 horas após o início da febre ou hipotermia; Tubo E: 48 horas após a coleta do tubo D ou, em caso de febre, cinco dias após a coleta do tubo D.

Anexo G - Curva ROC e análise de IL-6 em relação ao óbito

Gráfico 1 - Curvas ROC comparando a acurácia nos diferentes momentos de coleta de IL-6 em prever o óbito em pacientes neutropênicos após TCTH

Tubo A: neutropenia sem febre; Tubo B: evento febril; Tubo C: 24 horas após o início da febre; Tubo D: 72 horas após o início da febre; Tubo E: 48 horas após a coleta do tubo D ou, em caso da persistência da febre, cinco dias após a coleta do tubo D.

Tabela 1 - Áreas sob as curvas ROC nos diferentes momentos de coleta de IL-6 na predição de óbito em pacientes neutropênicos após TCTH

Tubo	Área	Erro padrão	p	IC a 95%	
				LI	LS
A	0,536	0,071	0,581	0,396	0,676
B	0,606	0,066	0,114	0,477	0,735
C	0,688	0,063	0,007	0,564	0,812
D	0,713	0,075	0,004	0,566	0,859
E	0,746	0,082	0,002	0,585	0,908

Tubo A: neutropenia sem febre; Tubo B: evento febril; Tubo C: 24 horas após o início da febre; Tubo D: 72 horas após o início da febre; Tubo E: 48 horas após a coleta do tubo D ou, em caso da persistência da febre, cinco dias após a coleta do tubo D.

Anexo H - Curva ROC e análise de PCR em relação ao óbito

Gráfico 1 - Curvas ROC comparando a acurácia nos diferentes momentos de coleta de PCR em prever o óbito em pacientes neutropênicos após TCTH

Tubo A: neutropenia sem febre; Tubo B: evento febril; Tubo C: 24 horas após o início da febre; Tubo D: 72 horas após o início da febre; Tubo E: 48 horas após a coleta do tubo D ou, em caso da persistência da febre, cinco dias após a coleta do tubo D.

Tabela 1 - Áreas sob as curvas ROC nos diferentes momentos de coleta de PCR na predição de óbito em pacientes neutropênicos após TCTH

Tubo	Área	Erro padrão	p	IC a 95%	
				LI	LS
A	0,636	0,067	0,039	0,504	0,768
B	0,644	0,066	0,031	0,514	0,775
C	0,659	0,070	0,023	0,522	0,796
D	0,660	0,063	0,035	0,537	0,783
E	0,788	0,051	< 0,001	0,688	0,889

Tubo A: neutropenia sem febre; Tubo B: evento febril; Tubo C: 24 horas após o início da febre; Tubo D: 72 horas após o início da febre; Tubo E: 48 horas após a coleta do tubo D ou, em caso da persistência da febre, cinco dias após a coleta do tubo D.

8 REFERÊNCIAS

Anaissie E. Overview of infections following hematopoietic cell transplantation. UpToDate. April, 2012.

Anaissie E. Overview of infections following hematopoietic cell transplantation. UpToDate. January, 2010.

Armand P, Kim HT, Cutler CS, Ho VT, Koreth J, Alyea EP. Prognostic impact of elevated pretransplantation serum ferritin in patients undergoing myeloablative stem cell transplantation. *Blood* 2007; 109:4586-4588.

Artz AS, Wickrema A, Dinner S, Godley LA, Kocherginsky M, Odenike O, Rich ES, Stock W, Ulaszek J, Larson RA, van Besien K. Pretreatment C-Reactive protein is a predictor for outcomes after reduced-intensity allogeneic Hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2008; 14:1209-1216.

Ascioglu S, Rex JH, de Pauw B, Bennett JE, Bille J, Crokaert E. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis*. 2002; 34: 7-14.

Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bouhon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet*. 1993; 341(8844):515-8.

Azarpira N, Ramzi M, Aghdaie M, Daraie M. Procalcitonin and C-reactive protein serum levels after hematopoietic stem-cell transplant. *Exp Clin Transplant*. 2009; 2:115-8.

Azeka E, Auler JOC, Fernandes PMP, Nahas WC, Fiorelli AI, Tannuri U, Cristofani LM, Caiero MT, Dulley FL, Paggiaro AO, Bacchella T. Registry of Hospital das Clínicas of the University of São Paulo School: first official solid organ and tissue transplantation report- 2008. *Clinics*. 2009; 64(2):127-34.

Bacigalupo A, Oneto R, Bruno B, Soracco M, Lamparelli T, Gualandi F, Occhini D, Raiola AM, Mordini N, Berisso G, Bregante S, Dini G, Lombardi A, Van Lint MT, Brand R. Early predictors of transplant-related mortality (TRM) after allogeneic bone marrow transplants (BMT): blood urea nitrogen (BUN) and bilirubin. *Bone Marrow Transplantation* 1999; 24:653-659.

Belesso M, Costa SF, Chamone DAF, Dorlhiac-Llacer PE. Triagem para o tratamento ambulatorial da neutropenia febril. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2010; 32(5):402-8.

Bernard L, Ferriere F, Casassus P, Malas F, Leveque S, Guilevin L. Procalcitonin as an early marker of bacterial infection in severely neutropenic febrile adults. *Clin Infect Dis*. 1998; 27:914-5.

Blijlevens NMA, Donnelly JP, Meis FGM, De Keizer MH, De Pauw BE. Procalcitonin does not discriminate infection from inflammation after allogeneic bone marrow transplantation. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2000; 7(6):889-92.

Bodey GP, Mardani M, Hanna HA. The epidemiology of *Candida glabrata* and *Candida albicans* fungemia in immunocompromised patients with cancer. *Am J Med*. 2002; 112:380.

Bone RC, Sibbald WJ, Sprung CL. ACCP/SCCM criteria-1992 American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med*. 1992; 20:864-74.

Brodzka H, Drabek T, Malickova K, Kazda A, Vitek A, Zima T, Markova M. Marked increase of procalcitonin after the administration of anti-thymocyte globulin in patients before hematopoietic stem cell transplantation does not indicate sepsis: a prospective study. *Crit Care*. 2008; 13(2):1-7.

Cabioglu N, Bilgic S, Deniz G, Aktas E, Seyhun Y, Turna A, Gunay K, Esen F. Decreased cytokine expression in peripheral blood leukocytes of patients with severe sepsis. *Arch Surg*. 2002; 137:1037-43.

Cancer Therapy Evaluation Program. Common Terminology Criteria for Adverse Events, version 3.0, DCTD, NCI, Bethesda, MD, USA. NIH, DHHS, March 31, 2003. Disponível em: <<http://ctep.cancer.gov>>. Acesso em 9 ago 2011.

Castell JV, Gomes-Lechon MJ, David M. Hepatology 1990; Acute phase response of human hepatocytes: regulation of acute-phase protein synthesis by interleukin-6. Hepatology. 1990; 12:1179-86.

Castelli GP, Pognani C, Meisner M, Stuani A, Bellomi D, Sgarbi L. Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. Crit Care. 2004; 8:R234-40.

Charles PE, Ladoire S, Aho S. Serum procalcitonin elevation in critically ill patients at the onset of bacteremia caused by either gram-negative or gram-positive bacteria. BMC Infect Dis. 2008; 8:381-8.

Charles PE, Tinel C, Barbar S. Procalcitonin kinetics within the first days of sepsis: relationship with the appropriateness of antibiotic therapy and the outcome. Crit care 2009; 13:R38.

Christ-Crain M, Jaccard-Stolz D, Bingisser R. Effect of procalcitonin-guided treatment on antibiotic use and outcome in lower respiratory tract infections: cluster-randomised, single-blinded intervention trial. Lancet 2004; 363:600-607.

Corey L, Boeckh M. Persistent fever in patients with neutropenia. *N Eng J Med*. 2002; 346:222-4.

Costa SF, Barone AA, Miceli MH, van der Heijden IM, Soares RE, Levin AS, Anaissie EJ. Colonization and molecular epidemiology of coagulase-negative Staphylococcal bacteremia in cancer patients: a pilot study. *Am J Infect Control*. 2006; 34 (1): 36-40.

Dandona P, Nix D, Wilson MF, Aljada A, Love J, Assicot M, Bohuon C. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994; 79(6):1605-8.

de Bel C, Gerritsen E, de Maaker G, Moolenaar A, Vossen J. C-reactive protein in the management of children with fever after allogeneic bone marrow transplantation. *Infection* 1991; 19:92-96.

Dettenkoffer M, Ebner W, Bertz H, Babikir R, Finke J, Frank U, Rüden H, Daschner FD. Surveillance of nosocomial infections in adult recipients of allogeneic and autologous bone marrow and peripheral blood stem-cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2003; 31:795-801.

Dornbusch HJ, Strenger V, Kerl R, Lackner H, Schwinger W, Sovinz P, Urban C. Procalcitonin and C-reactive protein do not discriminate between febrile reaction to anti-T- lymphocyte antibodies and Gram-negative sepsis. *Bone Marrow Transplant.* 2003; 32:941-5.

Dornbusch HJ, Strenger V, Sovinz P, Lackner H, Schwinger W, Kerbl R, Urban C. Non-infectious causes of elevated procalcitonin and C-reactive protein serum levels in pediatric patients with hematologic and oncologic disorders. *Support Care Cancer* 2008; 16:1035-1040.

Engel A, Steinbach G, Kern P, Kern WV. Diagnostic value of procalcitonin serum levels in neutropenic patients with fever: comparison with IL-8. *Scand J Infect Dis.* 1999; 31:185-9.

Engervall P, Andersson B, Bjorkholm M. Clinical significance of serum cytokine patterns during start of fever in patients with neutropenia. *Br J Haematol.* 1995; 91:838-45.

EORTC International Antimicrobial Therapy Cooperative Group. Empiric antifungal therapy in febrile granulocytopenic patients. *Am J Med.* 1989; 86:668-72.

Erten N, Genc S, Besisik SK, Saka B, Karan MA, Tascioglu C. The predictive and diagnostic values of procalcitonin and C-reactive protein for clinical outcome in febrile neutropenic patients. *J Chin Med Assoc.* 2004; 67:217-21.

Fleischhack G, Cipic D, Juettner J, Hasan C, Bode U. Procalcitonin - A sensitive inflammation marker of febrile episodes in neutropenic children with cancer. *Intensive Care Med.* 2000a; 26:S202-11.

Fleischhack G, Kambeck I, Cipic D, Hasan C, Bode U. Procalcitonin in paediatric cancer patients: its diagnostic relevance is superior to that of C-reactive protein, interleukin 6, interleukin 8, soluble interleukin 2 receptor and soluble tumour necrosis factor receptor II. *Br J Haematol.* 2000b; 111(4):1093-102.

Freifeld AG, Bow EJ, Sepkowitz KA, Boeckh MJ, Ito JI, Mullen CA, Raad II, Rolston KV, Young J-A H, Wingard JR. Clinical Practice Guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. *CID.* 2011; 52(4):e56-93.

Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med*. 1999; 340(6):448-54.

Gendrel D, Raymond J, Assicot M, Moulin F, Iniguez JL, Lebon P, Bohuon C. Measurement of procalcitonin levels in children with bacterial and viral meningitis. *Clin Infect Dis*. 1997; 24(6):1240-2.

Giamarellou H, Giamarellos-Bourboulis EJ, Repoussis P, Galani L, Anagnostopoulos N, Grecka P. Potential use of procalcitonin as a diagnostic criterion in febrile neutropenia: experience from a multicentre study. *Clin Microbiol Infect*. 2004; 10:628-33.

Giamarellou H. Infections in febrile neutropenia. Infectious diseases in critical care medicine. *New York: Marcel Dekker*, 1998. p. 563-98.

Gratwohl A, Stern M, Brand R, Apperley J, Baldomero H, de Witte T. Risk score for outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective analysis. *Cancer* 2009; 115(20):4715-26.

Hambach L, Eder M, Dammann E, Schrauder A, Sykora KW, Dieterich C. Diagnosis value of procalcitonin serum levels in comparison with C-reactive protein in allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica*. 2002; 87:643-51.

Himalainen S, Kuitinen T, Matinlahti I. Neutropenic fever and severe sepsis in adult acute myeloid leukemia (AML) patients receiving intensive chemotherapy: causes and consequences. *Leuk Lymphoma*. 2008; 49: 495-501.

Hollander M, Wolfe DA. *Nonparametric statistical methods*. New York: Wiley, 1973.

Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, Bow EJ, Brown AE, Calandra T, Feld R, Pizzo PA, Rolston KV, Shenep JL, Young LS. 2002 guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. *Clin Infect Dis*. 2002; 34:730-51.

Johnson AM, Rohlf EM, Siverman LM. Proteins. In: *Tietz textbook of clinical chemistry*. 3^a ed. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999; p. 477-540.

Johnson K, Choi Y, De Groot E. Potential mechanisms for a proinflammatory vascular cytokine response to coagulation activation. *J Immunol*. 1998; 160:5130-5.

Juutlainen A, Hämäläinen S, Pulkki K, Kuittinen T, Nousianinen T, Jantunen E, Koivula I. Biomarkers for bacteremia and severe sepsis in hematological patients with neutropenic fever: multivariate logistic regression analysis and factor analysis. *Leukemia & Lymphoma* 2011; 52(12):2349-2335.

Kanda J, Mizumoto C, Ichinohe T, Kawabata H, Saito T, Yamashita K, Kondo T, Takakura S, Ichiyama S, Uchiyama T, Ishikawa T. Pretransplant serum ferritin and C- reactive protein as predictive factors for early bacterial infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2010; 3:1-9.

Kataoka K, Nannya Y, Hangaishi A, Imai Y, Chiba S, Takahashi T. Influence of pretransplantation serum ferritin on nonrelapse mortality after myeloablative and nonmyeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15:195-204.

Kern WV. Risk assessment and treatment of low-risk patients with febrile neutropenia. *Clin Infect Dis*. 2006; 42:533-40.

Kernan NA, Bartsch G, Osh RC, Beatty PG, Champlin R, Filipovich A, Gajewski J, Hansen JA, Henslee-Downey J, McCulloch J, Mc Glave P, Perkins HA, Philips GL, Sanders J, Stroncek D, Thomas ED, Blume KG. Analysis of 462 transplantations from unrelated donors facilitated by the National Marrow Donor Program. *N Engl J Med*. 1993; 328:593-602,

Kitanovski L, Jazbec J, Hojker S, Gubina M, Derganc M. Diagnostic accuracy of procalcitonin and interleukin-6 values for predicting bacteremia and clinical sepsis in febrile neutropenic children with cancer. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2006; 20(6):413-5.

Kontoyiannis DP, Marr KA, Park BJ. Prospective surveillance for invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, 2001-2006: overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database. *Clin Infect Dis*. 2010; 50:1091-100.

Krüger W, Rüssmann B, Kröger N, Salomon C, Ekopf N, Elsner HA, Kaulfers PM, Mack D, Fuchs N, Dürken M, Kabisch H, Erttmann R, Zander AR. Early infections in patients undergoing bone marrow or blood stem cell transplantation-a 7 year single centre investigation of 409 cases. *Bone Marrow Transplant*. 1999; 23(6):589-97.

Levin ASS, Dias MBGS, Oliveira MS, et al. Grupo e subcomissões de controle de infecção hospitalar do Hospital das Clínicas da FMUSP- *Guia de Utilização de anti- Infeccciosos e recomendações para prevenção de Infecções Hospitalares*- Hospital das Clínicas da FMUSP-2009-2011; 52-7.

Ljungman P, Gleaves CA, Meyers JD. Respiratory virus infection in immunocompromised patients. *Bone Marrow Transplant* 1989; 4:35.

Ljungman P, Ward K, Crooks B. In: 25th annual meeting European group for blood and marrow transplantation and 15th meeting of the nurses group; 1999 March 21-25; Hamburg, Germany.

Love LJ, Schimpff SC, Schiffer CA, Wiernik PH. Improved prognosis for granulocytopenic patients with gram-negative bacteremia. *Am J Med*. 1980; 68(5): 643-8.

Lowry SF, Moldawer LL. Cytokines and cytokines antagonists in sepsis and critical illness. In: Vincent JL (ed). *Yearbook on intensive care and emergency medicine*. Berlin, Springer Verlag, 1992, pp 36-43.

Macy E, Hayes TE, Tracy RP. Variability in the measurement of C- reactive protein findings in leukaemic patients with blood cultures positive for *Staphylococcus epidermidis*. *J Hosp Infect*. 1998; 38(1):27-35.

Majhail NS, Lazarus HM, Burns LJ. Iron overload in hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41:997-1003.

Mancini N, Clerici D, Diotti R, Perotti R, Ghidoli N, De Marco D, Pizzorno B, Emrich T, Burioni R, Ciceri F, Clementi M. Molecular diagnosis of sepsis in neutropenic patients with haematological malignancies. *J Med Microbiol*. 2008; 57:601-4.

Marena C, Zecca M, Carenini ML, Bruschi A, Bassi ML, Olivieri P, Azzaretti S, Locatelli F. Incidence of, and risk factors for, nosocomial infections among hematopoietic stem cell transplantation recipients, with impact on procedure-related mortality. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2001; 22:510-7.

Massaro KSR, Costa SF, Leone C, Chamone DA. Procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) as severe systemic infection markers in febrile neutropenic adults. *BMC Infect Dis*. 2007; 7:137.

Matsuda T, Hirano T, Nagasawa S. Identification of alpha2-macroglobulin as a carrier protein for IL-6. *J Immunol*. 1989; 142:148-52.

McCann S, Byrne JL, Rovira m, Shaw P, Ribaud P, Sica S, Volin L, Olavarria E, Mackinnon S, Trabasso P, Van Lint MT, Ljungman P, Ward K, Browne P, Gratwohl A, Widmer AF, Cordonnier C, for the Infectious Diseases Working Party of the EBMT. Outbreaks of infectious diseases in stem cell transplant units: a silent cause of death for patients and transplant programmes. *Bone Marrow Transplant*. 2004; 33:519-29.

Meisner M, Schmidt J, Huttner H, Tschaikowsky K. The natural elimination rate of procalcitonin in patients with normal and impaired renal function. *Intensive care Med*. 2000; 26(Suppl. 2):S212-6.

Meisner M, Tschaikowsky K, Hutzler A, Schick C, Schuttler J. Postoperative plasma concentrations of procalcitonin after different types of surgery. *Intensive Care Med* 1998; 24:680-684.

Meisner M, Tschaikowsky K, Palmers T. Procalcitonin and CRP in septic shock: Inflammatory parameters with different kinetics. Abstr. *Intensive Care Med*. 1996; 22:14.

Meisner M. Procalcitonin (PCT) *A new, innovative infection parameter. Biochemical and clinical aspects*. New York; Georg Thieme Stuttgart, 2000.

Meisner M. *Procalcitonin- biochemistry and clinical diagnosis*. Bremen: UNI-MED Verlag AG, 2010.

Mendes ET, Dulley F, Basso M, Batista MV, Coracin F, Guimarães T, Shikanai-Yasuda MA, Levin AS, Costa SF. Healthcare-associated infection in hematopoietic stem cell transplantation patients: risk factors and impact on outcome. *Intern J Infect Dis* 2012a; 16:e424-e428.

Mendes ET, Ramos J, Peixoto D, Dulley F, Alves T, Villas Boas LS, Batista MV, da Silva DP, Levin AS, Shikanai-Yasuda MA, Costa SF. An outbreak of respiratory syncytial virus infection in hematopoietic stem cell transplantation outpatients: good outcome without specific antiviral treatment. *Transplant Infect Dis* 2012b; 0:1-7.

Min CK, Lee WY, Min DJ, Lee DG, Kim YJ, Park YH, Kim HJ, Lee S, Kim DW, Lee JW, Min WS, Kim CC. the kinetics of circulating cytokines including IL-6, TNF- α , IL-8 and IL-10 following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 2001; 28:935-940.

Monneret G, Arpin M, Venet F, Maghni K, Debard AL, Pachot A, Lepape A, Bienvenu J. Calcitonin gene related peptide and N-procalcitonin modulate CD11b upregulation in lipopolyssacharide activated monocytes and neutrophils. *Intensive Care Med*. 2003; 29(6):923-8.

Mori Y, Miyawaki K, Kato K, Takenaka K, Iwasaki H, Harada N, Miyamoto T, Akashi K, Teshima T. Diagnostic value of serum procalcitonin and C-reactive protein for infections after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation versus nontransplant setting. *Inter Med* 2011; 50:2149-2155.

Mueller B, Becker KL, Schachinger H, Rickenbacher PR, Huber PR, Zimmerli W, Ritz R. Calcitonin precursors are reliable markers of sepsis in a medical intensive care unit. *Crit care Med* 2000; 28:977-983.

Neote K, Darbonne W, Ogez J, Horuk R, Schall TJ. Identification of a promiscuous inflammatory peptide receptor on the surface of red blood cells. *J Biol Chem*. 1993; 268:12247-9.

Nichols WG, Corey L, Gooley T. High risk of death due to bacterial and fungal infection among cytomegalovirus (CMV) - Seronegative recipients of stem cell transplants from seropositive donors: Evidence for indirect effects of primary CMV infection. *J Infect Dis*. 2002; 185:273.

Nusair A, Jourdan D, Medcalf S, Marion N, Iwen PC, Fey PD, Reed E, Langnas A, Rupp ME. Infection control experience in a Cooperative Care Center for Transplant Patients. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008; 29:424-9.

Oberhoffer M, Karzai W, Meier-Hellmann A, Bogel D, Fabetabinder J, Reinhart K. Sensitivity and specificity of various markers of inflammation for the prediction of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in patients with sepsis. *Crit Care Med*. 1999; 27(9):1-10.

Ochs L, Shu XO, Miller J, Enright H, Wagner J, Filipovich A. Late infections after allogeneic bone marrow transplantation: comparison of incidence in related and unrelated donor transplant recipients. *Blood*. 1995; 86: 3979-86.

Offner F, Cordonnier C, Ljungman P. *et al.*, on behalf of the EBMT-EORTC Joint Project on Aspergillosis prior to BMT. Impact of previous aspergillosis on the outcome of bone marrow transplantation. *Clin Infect Dis.* 1998; 26:1098-103.

Okamura JM, Miyagi JM, Terada K. Potential clinical applications of C-reactive protein. *J Clin Lab Anal.* 1990; 4:231-5.

Ortega M, Rovira M, Almela M, de la Bellacasa JP, Carreras E, Mensa J. Measurement of C-reactive protein in adults with febrile neutropenia after Hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2004a; 33:741-744.

Ortega M, Rovira M, Filella X, Almela M, de la Bellacasa JP, Carreras E. Prospective evaluation of procalcitonin in adults with febrile neutropenia after hematopoietic stem cell transplantation. *Brit J Hematology.* 2004b; 126:372-8.

Pepys MB, Baltz ML. Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentraxins) and serum amyloid A protein. *Adv Immunol.* 1983; 34:141-212.

Persson L, Söderquist B, Engervall P, Vikerfors T, Hansson LO, Tidefelt U. Assessment of systemic inflammation markers to differentiate a stable from a deteriorating clinical course in patients with febrile neutropenia. *Eur J Haematol.* 2005; 74(4):297-303.

Peters RPH, Twisk WR, van Agtmael MA, Groeneveld ABJ. The role of procalcitonin in a decision tree for prediction of bloodstream infection in febrile patients. *Clin Microbiol Infect.* 2006; 12:1207-13.

Pihusch M, Pihusch R, Fraunberger P. Evaluation of C-reactive protein, interleukin-6, and procalcitonin levels in allogeneic hematopoietic stem cell recipients. *Eur J Haematol*. 2006; 76(2):93-101.

Pinsky MR, Vincent JL, Deviere J. Serum cytokine levels in human septic shock: relation to multiple-system organ failure and mortality. *Chest*. 1993; 103:565-75.

Pizzo PA, Robichaud KJ, Gill FA, Witebsky FG. Empiric antibiotic and antifungal therapy for cancer patients with prolonged fever and granulocytopenia. *Am J Med*. 1982; 72:101-11.

Poliquin CM. Post-bone marrow transplant patient management. *Yale J Biol Med*. 1990; 63: 495-502.

Prat C, Sancho JM, Dominguez J, Xicoy B, Gimenez M, Ferra C. Evaluation of procalcitonin, neopterin, C-reactive protein, IL-6 and IL-8 as a diagnostic marker of infection in patients with febrile neutropenia. *Leuk Lymphoma*. 2008; 49:1752-61.

Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P. Consensus conference on acute GVHD grading. *Bone Marrow Transplant*. 1995; 15:825-8.

Reinhart K, Bayer O, Brunkhorst F, Meisner M. Markers of endothelial damage in organ dysfunction and sepsis. *Crit Care Med*. 2002; 30(5 Suppl.):S302-12.

Reinhart K, Menges T, Gardlund B. Randomized, placebo-controlled trial of the anti-tumor necrosis factor antibody fragment afelimomab in hyperinflammatory response during severe sepsis. The RAMSES Study. *Crit Care Med.* 2001; 29:765-9.

Remberger M, Mattsson J. C-reactive protein levels before reduced-intensity conditioning predict outcome after allogeneic stem cell transplantation. *Int J Hematol.* 2010; 92:161-167.

Remberger M, Ringden O. Serum levels of cytokines after bone marrow transplantation: increased IL-8 levels during severe veno-occlusive disease of the liver. *Eur J Haematol* 1997; 59:254-262.

Rinaldi S, Adembri C, Grechi S, De Gaudio R. Low-dose hydrocortisone during severe sepsis: effects on microalbuminuria. *Crit Care Med.* 2006; 34:2334-9.

Rintala E. Incidence and clinical significance of positive blood cultures in febrile episodes of patients with hematological malignancies. *Scand J Infect Dis.* 1994; 26(1):77-84.

Rodriguez-Gaspar M, Santolaria F, Jarque-Lopez A. Prognostic value of cytokines in SIRS general medical patients. *Cytokine.* 2001; 21:232-236.

Ruokonen E, Nousiainen T, Pulkki K, Takala J. Procalcitonin concentrations in patients with neutropenic fever. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1999; 18:283-5.

Sakr Y, Sponholz C, Tuche F. The role of procalcitonin in febrile neutropenic patients. Review of the literature. *Infection*. 2008; 36:396-407.

Sarmati L, Beltrame A, Dori L, Maffongelli, Cudillo L, De Angels G, Picardi A, Ottaviani L, Cefalo MG, Venditti A, Amadori S, Arcese W, Andreoni M. Procalcitonin is a reliable marker of severe systemic infection in neutropenic haematological patients with mucositis. *Am J Hematol*. 2010; 85(5):380-3.

Sauer M, Tiede K, Fuchs D, Gruhn B, Berger D, Zintl F. Procalcitonin, C-reactive protein, and endotoxin after bone marrow transplantation: identification of children at high risk of morbidity and mortality from sepsis. *Bone Marrow Transplantation*. 2003; 31:1137-42.

Sauer M, Tiede K, Volland R, Fuchs D, Zintl F. Procalcitonin in comparison to C-reactive protein as markers of the course of sepsis in severely immunocompromised children after bone marrow transplantation. *Klin Padiatr* 2000; 212:10-15.

Schots R, Kaufman L, Van Riet I, Ben Othman T, De Waele M, Van Camp B, Demanet C. Proinflammatory cytokines and their role in the development of major transplant-related complications in the early phase after allogeneic bone marrow transplantation. *Leukemia* 2003; 17:1150-1156.

Schots R, Kaufman L, Van Riet I, Lacor P, Trullemans F, De Waele M, Van, Camp B. Monitoring of C-reactive protein after allogeneic bone marrow transplantation identifies patients at risk of severe transplant-related complications and mortality. *Bone Marrow Transplantation* 1998; 22:79-85.

Schots R, Van Riet I, Othman TB, Trullemans F, de Waele M, Van Camp B, Kaufman L. An early increase in serum levels of C-reactive protein is an Independent risk factor for the occurrence of major complications and 100-Day transplant-related mortality after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 2002; 30:441-446.

Schüttrumpf S, Binder L, Hagemann T, Berkovic D, Trümper L, Binder C. Procalcitonin: a useful discriminator between febrile conditions of different origin in hemato-oncological patients? *Ann Hematol.* 2003; 82:98-103.

Schwaighofer H, Herold M, Schwarz T, Nordberg J, Ceska M, Prior C, Nachbaur D, Weyrer W, Brankova J, Eibl B. Serum levels of interleukin 6, interleukin 8 and C-reactive protein after human allogeneic bone marrow transplantation. *Transplantation* 1994; 58:430-436.

Secmeer G, Devrim I, Kara A, Ceyhan M. Role of procalcitonin and CRP in differentiating a stable from a deteriorating clinical course in pediatric febrile neutropenia. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2007; 29:107-11.

Seligman R, Meisner M, Lisboa TC, Hertz FT, Filippin TB, Fachel JMG. Decreases in procalcitonin and c-reactive protein are strong predictors of survival in ventilator-associated pneumonia. *Crit Care.* 2006; 10:R125.

Sierra J, Storer B, Hansen JA, Bjerke JW, Martin PJ, Petersdorf EW, Appelbaum FR, Bryant E, Chauncey TR, Sale G, Sanders JE, Storb R, Sullivan KM, Anasetti C. Transplantation of Marrow cells from unrelated donors for treatment of high-risk acute leukemia: the effect of leukemic burden, donor HLA-matching, and marrow cell dose. *Blood*. 1997; 89(11):4226-35.

Sim JE, March CD, Cosman D. cDNA expression cloning of the IL-1 receptor, a member of the immunoglobulin super-family. *Science*. 1988; 241:585-9.

Simon L, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, Lacroix J. 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(9):1386-8.

Sjowall C, Eriksson P, Almer S, Skogh T. Autoantibodies to C-reactive protein is a common finding in SLE, but not in primary Sjogren's syndrome, rheumatoid arthritis or inflammatory bowel disease. *J Autoimmun*. 2002; 19: 155-60.

Slavin MA, Osborne B, Adams R. Efficacy and safety of fluconazole prophylaxis for fungal infections after marrow transplantation – a prospective randomized, double-blind study. *J Infect Dis* 1995; 171:1545.

Sorely JS, Shea TC. Prevention of infections in bone marrow transplant recipients. *Infect Dis Clin North Am*. 1997; 11:459-77.

Sorrer ML, Maris MB, Storb R, Baron F, Sandmeier BM, Maloney DG. Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. *Blood* 2005; 106(8):2912-9.

Spronk PE, Zandstra DF, Ince C. Bench-to-bedside review: sepsis is a disease of the microcirculation. *Crit Care* 2004;8(6):462-468.

Steinmetz HT, Herbertz A, Bertram M, Diehl V. Increase in interleukin-6 serum level preceding fever in granulocytopenia and correlation with death from sepsis. *J Infect Dis.* 1995; 171(1):225-8.

Südhoff T, Giagounidis A, Karthaus M. Evaluation of neutropenic fever: value of serum and plasma parameters in clinical practice. *Chemotherapy.* 2000; 46: 77-85.

Svaldi M, Hirber J, Lanthaler AI. Procalcitonin - Reduced sensitivity and specificity in heavily leucopenic and immunosuppressed patients. *Br J Haematol.* 2001; 115:53-7.

Symington FW, Symington BE, Liu PY, Viguet H, Santhanam U, Sehgal PB. The relationship of serum IL-6 levels to acute graft-versus host disease and hepatorenal disease after human bone marrow transplantation. *Transplantation* 1992; 54:457-462.

Upton A, Kirby KA, Carpenter P, Boeckh M, Marr KA. Invasive aspergillosis following hematopoietic cell transplantation: outcomes and prognostic factors associated with mortality. *CID.* 2007; 44:531-40.

van den Berg H, Kluin PM, Vossen JM. Early reconstitution of haematopoiesis after allogeneic bone marrow transplantation: a prospective histopathological study of bone marrow biopsy specimens. *J Clin Pathol*. 1990; 43(5):365-9.

Van Snick J. Interleukin-6: An overview. *Ann Rev Immunol*. 1990; 8: 253-78.

Viallon A, Guyomarc'h S, Marjollet O, Berger C, Carricajo A, Robert F, Laporte S, Lambert C, Page Y, Zéni F, Bertrand JC. Can emergency physicians identify a high mortality subgroup of patients with sepsis: role of procalcitonin. *Eur J Emerg Med*. 2008; 15(1):26-33.

von Eiff M, Zühlsdorf M, Roos N, Hesse M, Schulten M, van de Loo J. Pulmonary fungal infections in patients with hematological malignancies- Diagnostic approaches. *Ann Hematol*. 1985; 70(3):135-41.

von Lilienfeld-Toal M, Dietrich MP, Glasmacher A, Lehmann L, Breig P, Hahn C. Markers of bacteremia in febrile neutropenia patients with hematologic malignancies: procalcitonin and IL-6 are more reliable than CRP. *J Clin Microbiol Infect Dis*. 2004; 23:539-44.

Whicher J, Bienvenu J, Monneret G. Procalcitonin as an acute phase marker. *Ann Clin Biochem*. 2001; 38(Pt 5):483-93.

Wingard JR. Advances in the management of infectious complications after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 1990; 6:371.

Yeshurun M, Gafter-Gvili A, Thaler M, Keller N, Nagler A, Shimoni A. Clinical characteristics of *Stenotrophomonas maltophilia* infection in hematopoietic stem cell transplantation recipients: a single center experience. *Infection*. 2010; 38: 211-15.

Zebrack JS, Anderson JL. Role of inflammation in cardiovascular disease: how to use C-reactive protein in clinical practice. *Prog Cardiovasc Nurs*. 2002; 17:174-85.

Zintl F, Sauer M, Fuchs D, Hermann J, Reinhart K. High serum procalcitonin (PCT) concentrations in children and adults after hemopoietic stem cell transplantation (HSCT) - An indicator for poor prognosis in severe infections. *Blood*. 1996; 88 (suppl. 1):266.