

## INTERLEUCINA 6 E PROTEÍNA C REATIVA NO DIAGNÓSTICO DE SEPSE TARDIA NO RECÉM-NASCIDO

MARIA ESTHER J. R. CECCON\*, FLÁVIO A.C. VAZ, EDNA M. A. DINIZ, THELMA S. OKAY

Trabalho realizado na Unidade de Cuidados Intensivos Neonatal do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da FMUSP

### RESUMO

**OBJETIVO.** Verificar a acurácia da interleucina 6 (IL-6) e da proteína C reativa (PCR) para o diagnóstico de sepse tardia no recém-nascido (RN).

**MÉTODOS.** Trata-se de estudo de coorte prospectivo com 43 RNs internados com suspeita de sepse tardia na UTIN. Foram dosados no dia da suspeita diagnóstica (dia 0) e nos dias 1, 3 e 7 de evolução os níveis séricos da IL-6 e da PCR e calculado o melhor valor de coorte para o diagnóstico de sepse. Também foram calculados os índices de sensibilidade (S), especificidade (E), valor preditivo positivo e negativo (VPP, VPN) para cada um dos testes, assim como para a combinação entre eles.

**RESULTADOS.** Os níveis séricos da IL-6 e da PCR estiveram acima do ponto de coorte nos RN com sepse e com sepse presumível com diferenças significantes entre ambos os grupos, nos quais a única diferença foi hemocultura positiva no primeiro. Foi possível afastar esse diagnóstico em seis RNs. Para o diagnóstico de sepse, a IL-6 obteve os melhores índices no dia da suspeita diagnóstica, dia 0 (S: 88,9%, E: 80%, VPP: 76,2%, VPN: 90,9%), seguida da proteína C reativa (S: 94%, E: 78,3%, VPP: 77,3%, VPN: 94,7%) 24 horas após. A combinação dos dois (IL 6/PCR) mostrou-se mais adequada para o diagnóstico precoce no dia 0 e até 24 horas de evolução com S e VPN de 100%.

**CONCLUSÃO.** A combinação de IL6/PCR apresentou acurácia para o diagnóstico de sepse. A evolução destes testes ao longo dos dias refletiu a evolução clínica dos RN.

UNITERMOS: Recém-nascido. Sepse tardia. Diagnóstico. Interleucina-6. Proteína C reativa.

### \*Correspondência:

Av. Dr. Éneas Carvalho de Aguiar, 647  
CEP 05403-900 São Paulo  
SP – Brasil  
Tel.(11)3069-8590/  
(11)3069-8711  
marioejc@icr.hcnet.usp.br  
ou lcecon@uol.com.br

### INTRODUÇÃO

A sepse no recém-nascido (RN) continua sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade nessa faixa etária, não obstante os avanços nas medidas de suporte de vida, o uso de novos agentes antimicrobianos e a melhor identificação dos seus fatores de risco<sup>1</sup>.

Como os sinais e sintomas clínicos de sepse são escassos e de difícil avaliação, devemos estar sempre atentos para esse diagnóstico, pois os RN acometidos, se não adequadamente tratados, podem ter uma evolução clínica fulminante, com choque séptico, coagulação intravascular disseminada e óbito, poucas horas após o início do quadro<sup>2,3</sup>. Aqueles que permanecem na terapia intensiva por longos períodos, submetidos à monitorização invasiva, são os mais susceptíveis a esta doença e costumam apresentar em média até três episódios de sepse durante sua internação<sup>3</sup>.

Culturas de sangue, de urina, de fezes e de líquido cefalorraquidiano são realizadas com o objetivo de identificar o agente etiológico, porém a positividade não é de 100% e o diagnóstico rápido de infecção é prejudicado<sup>1</sup>. Assim sendo, o início e a continuação do tratamento de uma possível infecção bacteriana quase sempre são feitos empiricamente.

A proteína C reativa (PCR) vem sendo utilizada como teste discriminativo de infecção bacteriana no RN. Esta proteína é um dos indicadores mais sensíveis de processos inflamatórios, sendo mais fidedigna do que a velocidade de sedimentação, pois eleva-se mais rapidamente e, uma vez controlada a doença, retorna a níveis

normais<sup>4,5</sup>. Trabalhos da literatura<sup>6,7</sup> realizados com RN que apresentavam fatores de risco para sepse precoce e tardia comprovaram o valor desta proteína no diagnóstico das infecções bacterianas.

Na última década, vários trabalhos da literatura utilizaram as interleucinas (IL) para o diagnóstico de sepse de início precoce no RN<sup>9,10,11,12</sup>. Estas proteínas são produzidas por vários tipos de células, principalmente monócitos e macrófagos, e são classificadas como pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. De uma maneira simplificada as citocinas pró-inflamatórias (fator de necrose tumoral  $\alpha$ , interleucina 1 b, interleucina 6, interleucina 8 e a proteína I monocitária quimiotática) são produzidas inicialmente pelo hospedeiro, frente à invasão bacteriana. Tem-se observado que o excesso de produção destas proteínas provoca efeitos deletérios, como choque, coagulação intravascular disseminada, falência múltipla de órgãos e óbito. O hospedeiro, para fazer frente ao processo infeccioso, também produz as citocinas anti-inflamatórias: principalmente as IL-4, IL-10, interferon gama e fator transformador do crescimento b, que neutralizariam os efeitos das primeiras, de maneira a ocorrer uma homeostase entre estes mediadores e finalização com sucesso do processo infeccioso<sup>13</sup>.

Os objetivos desta pesquisa foram analisar os resultados da utilização de um mediador pró-inflamatório, a IL- 6, e uma proteína de fase aguda, a PCR, no diagnóstico de sepse em RN e verificar se estes mediadores isoladamente ou em combinação teriam uma indicação adequada para o diagnóstico, bem como para observar a resposta clínica dos pacientes.

**Tabela 1 – Sensibilidade, especificidade e valores preditivos positivos e negativos da interleucina 6 e da proteína C reativa para cada dia de evolução**

	Dias de evolução															
	0				1				3				7			
	S	E	VPP	VPN	S	E	VPP	VPN	S	E	VPP	VPN	S	E	VPP	VPN
<b>IL 6</b>	88,9	80,0	76,2	90,9	72,2	84,0	76,5	80,8	55,6	87,5	76,9	72,4	38,9	100	100	64,5
<b>PCR</b>	77,8	76,0	70,0	76,0	94,4	78,3	77,3	94,7	77,8	90,9	87,5	83,3	38,9	100	100	57,7

S: sensibilidade, E: especificidade, VPP: valor preditivo positivo, VPN: valor preditivo negativo

## MÉTODOS

Trata-se de um estudo de coorte prospectivo realizado na Unidade de Cuidados Intensivos Neonatal (UCINE) do Instituto da Criança-HC-FMUSP, no período de janeiro de 2001 a março de 2002. De 250 internações ocorridas neste período, foram incluídos no estudo inicialmente 50 RN que haviam sido internados com suspeita de sepse bacteriana. Posteriormente, sete RN tiveram que ser excluídos, pois apresentaram condições que alterariam os resultados da aplicação dos testes (dois receberam indometacina, dois apresentaram hemorragia intracraniana e um foi submetido à cirurgia)<sup>14</sup>. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Instituto da Criança e pela Comissão de Ética em Pesquisa do HC-FMUSP, e o consentimento livre e esclarecido foi obtido por escrito dos pais ou responsáveis legais dos RN para serem incluídos no estudo.

Para definição de caso suspeito de sepse, adotamos o conceito clínico de Bone et al. (1991)<sup>15</sup>, aprovado na Conferência ACCP/SCCM em 1992<sup>16</sup>, e modificado para o RN por Jafari e McCracken<sup>17</sup> no mesmo ano, segundo o qual pelo menos dois dos critérios abaixo devem estar presentes: hipo (temp. < 36°C) ou hipertermia (≥ 37,5°C), taquipneia (≥ 60 irp/m), taquicardia (FC ≥ 160 bp/m). Além destes, incluímos também sinais e sintomas importantes para esta suspeita no RN: letargia ou irritabilidade, episódios de apnéia, resíduos gástricos, vômitos, distensão abdominal; petéquias, icterícia; abaulamento de fontanela e convulsões.<sup>1,4,6,7</sup>

Dos 43 RN foram coletadas amostras para realização de hemograma completo com plaquetas e culturas: hemocultura, urocultura e cultura de líquor. Os testes específicos IL-6 e PCR foram realizados além do dia da suspeita diagnóstica de sepse (dia 0), no dias 1, 3 e 7 de evolução. A IL-6 foi mensurada pelo teste de Elisa (*enzyme-linked immunosorbent assay*), utilizando placas sensibilizadas com microtítulos e tampão contendo anticorpo monoclonal para esta citocina. A menor sensibilidade para detectar a IL-6 foi de 0,7 pg/mL. A PCR foi medida por nefelometria utilizando o *nephelometer* (Behring 100), cuja sensibilidade para detecção dessa proteína é de 3,5 mg/L.

A acurácia dos medidores (IL-6 e PCR) foi avaliada por meio de sua sensibilidade (S), especificidade (E) e valores preditivos positivos e negativos (VPP, VPN)<sup>17</sup>. Para a PCR, o valor indicativo de infecção utilizado foi ≥ 10mg/L, conforme estabelecido em estudos anteriores<sup>6,7</sup>. Para a IL-6, a determinação do ponto de coorte foi realizada por meio da curva ROC (*Receiver Operative Curve*)<sup>18</sup>, tendo como padrão ouro de sepse o valor de primeiro dia dos RN que apresentaram hemoculturas positivas.

As diferenças entre os grupos, em relação às variáveis qualitativas, foram testadas pelo teste exato de Fisher. Para as variáveis quantitativas, foi utilizado um modelo de Anova com um fator (grupo) e três níveis.

O nível de significância adotado foi < 0,05. O programa utilizado para efetuar os cálculos foi o *SPSS for Windows*, versão 8.

## RESULTADOS

Nas 43 crianças estudadas, a idade ao início dos sintomas variou de 5 a 28 dias (média de 17,4), a idade gestacional de 26 a 40 semanas (média de 36,6)<sup>19,20</sup> e o peso de nascimento de 680 a 3.790 gramas (média de 2.618). Em relação ao sexo, 25 (58,1%) eram do sexo masculino e 18 (41,9%) do sexo feminino; 29 (67,4%) recém-nascidos eram de termo e 14 (32,6%) pré-termos. A hemocultura foi positiva em 18 RN (41,9%). Entre os 43 RN, houve apenas um óbito (2,3%).

Os RN foram estratificados em três grupos: com sepse, sepse presumível e sem sepse:

↓ **Grupo 1- sepse:** sinais clínicos positivos, hemocultura positiva e pelo menos um dos medidores alterados. Neste grupo se incluíram 18 RN.

↓ **Grupo 2- sepse presumível:** sinais clínicos positivos, hemocultura negativa e pelo menos um dos medidores alterados. Neste grupo se incluíram 19 RN.

↓ **Grupo 3- sem sepse:** sinais clínicos presentes, hemocultura negativa e todos os medidores negativos. Neste grupo se incluíram 6 RN.

Após estratificação dos grupos, não se observou diferença estatisticamente significativa em relação à idade do início dos sintomas, idade gestacional e peso ao nascer. Em relação ao sexo os meninos tiveram mais sepse do que as meninas ( $p = 0,022$ ).

Por meio da curva ROC (*Receiver Operative Curve*), o valor de coorte que conferiu as melhores combinações de sensibilidade e especificidade para a interleucina 6 foi  $\geq 45$  pg/mL.

As Tabelas 1 e 2 mostram os índices de S, E, VPP e VPN de cada teste, assim como da combinação entre eles.

Observou-se nesta casuística que, para a IL-6, a distância entre a média e a mediana era importante. Assim, com base neste fato e em outros trabalhos da literatura, foi calculada a mediana com 1º e 3º quartis, isto é, percentis 25 e 75. Acredita-se que o valor da mediana e seus quartis represente de maneira mais abrangente os resultados encontrados nesta casuística.

A análise comparativa entre a mediana dos três grupos encontra-se

**Tabela 2 – Sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos da interleucina 6 e da proteína C reativa em cada dias de evolução**

	Dias de Evolução															
	0				1				3				7			
	S	E	VPP	VPN	S	E	VPP	VPN	S	E	VPP	VPN	S	E	VPP	VPN
<b>IL-6/PCR</b>	100	64,0	66,7	100	100	72,0	72,0	100	88,9	84,0	80,0	91,3	61,1	100	100	78,1

S: sensibilidade, E: especificidade, VPP: valor preditivo positivo, VPN: valor preditivo negativo

**Tabela 3 – Distribuição dos três grupos de RN de acordo com a mediana dos valores e quartis (25%-75%) da interleucina 6 - análise estatística comparativa entre os três grupos**

VARIÁVEL	Grupos 1,2,3			Anova (p)
	Com sepse (n=18)	Com sepse presumível (n=19)	Sem sepse (n=6)	
IL-6 pg/mL				
Dia 0	860,4	134,9	86,5	0,0003*
(Q.1-Q.3)	(332,0-1437,0)	(48,1-674,9)	(16,7-159,5)	
Dia 1	654,8	97,1	58,2	0,0003*
(Q.1-Q.3)	(203,2-1525,0)	(32,7-447,0)	(20,0-154,0)	
Dia 3	317,7	61,0	37,0	0,0013*
(Q.1-Q.3)	(117,0-832,0)	(20,8-117,0)	(6,61-142,0)	
Dia 7	133,7	35,9	26,1	0,04*
(Q.1-Q.3)	(65,0-504,0)	(18,0-90,0)	(5,68-94,8)	

Mediana e quartis (percentis 25-75) e valores de p entre os três grupos \*p < 0,05

**Tabela 4 – Análise comparativa dos valores evolutivos da IL-6 entre os grupos 1 e 2 nos dias 0, 1, 3 e 7 de evolução**

Dias de Evolução	Grupos	
	Com sepse (n=18) versus com sepse presumível (n=19)	
0	p = 0,016*	
1	P = 0,0019*	
3	P = 0,003*	
7	P = 0,02*	

\*p < 0,05

**Tabela 5 – Análise paramétrica e não-paramétrica da interleucina 6, efeito do tempo e comparações múltiplas**

	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
	AP	ANP	AP	ANP	AP	ANP
<b>Efeito de tempo</b>						
IL-6	<0,01*	0,002*	0,017*	0,012*	0,95	0,95
<b>Comparações múltiplas</b>						
IL-6						
Dia 0 versus dia 1	0,50	0,51	0,44	0,41	0,8	0,9
Dia 0 versus dia 3	0,01*	0,015*	0,03*	0,02*	0,75	0,93
Dia 0 versus dia 7	0,009*	0,002*	0,01*	0,008*	0,57	0,76
Dia 1 versus dia 3	0,006*	0,05*	0,06	0,06	0,92	0,66
Dia 1 versus dia 7	0,03*	0,006*	0,02*	0,019*	0,74	0,76
Dia 3 versus dia 7	0,64	0,23	0,40	0,58	0,84	0,90

AP: análise paramétrica, ANP: análise não-paramétrica \*p < 0,05

na Tabela 3 e apenas entre o grupo 1 e 2 na Tabela 4. Para analisar os valores da IL-6 ao longo do tempo, na Tabela 5 foram utilizadas duas abordagens: uma paramétrica (Anova com medidas repetidas para os valores médios) e outra não-paramétrica (teste de Friedman para a mediana). Verificou-se nesta análise que o efeito do tempo foi significativo para a IL-6, tanto para os valores médios como para a mediana, indicando que existe variação dos seus valores ao longo dos sete dias de evolução. Em relação à IL-6, não foi detectada diferença entre os dias 0 e 1 e entre os dias 3 e 7, porém, os valores medidos nos primeiros dias (dias 0 e 1) são significativamente maiores que aqueles dos dois últimos dias (dias 3 e 7). A média dos valores da PCR e a análise estatística dos RN dos três grupos encontram-se na Tabela 6.

## DISCUSSÃO

Podemos observar que nossa casuística é composta de RN com suspeita de sepse tardia. Isto se deve ao fato de o local de nosso estudo ser uma Unidade de Cuidados Intensivos Neonatal externa, que recebe RN de outras maternidades, chegando estes quase sempre com idade bem superior a quatro dias, tempo que, segundo Klein (2001)<sup>1</sup>, seria o limite para considerar a sepse como de início tardio. Verificamos também que esta casuística é composta por RN de termo, assim como pré-termos, pois embora estudos *in vitro* tenham mostrado que os monócitos dos RN produzem de maneira ineficiente as citocinas, *in vivo* tanto o RN pré-termo como o de termo conseguem aumentar sua produção e elevar seus níveis séricos em resposta à infecção<sup>21</sup>. No trabalho apresentado, não houve diferença entre RN de termo e pré-termo em relação à aquisição de sepse, provavelmente porque no local do estudo são internados mais RNT.

**Tabela 6 – Distribuição dos RN dos três grupos de acordo com os valores da PCR - comparação estatística**

VARIÁVEL	Grupos 1,2,3			Teste Exato de Fisher (p)
	Com sepse (n=18)	Com sepse premissível (n=19)	Sem sepse (n=6)	
PCR				
Dia 0	74,5(72,0)	10,0(12,9)	<3,5	<0,5*
Dia 1	54,1(57,7)	12,6(21,4)	<3,5	<0,05*
Dia 3	35,3(37,6)	4,7(11,9)	<3,5	<0,05*
Dia 7	22,2(42,6)	<3,5(0)	<3,5	---

Média e desvio padrão \* p &lt; 0,05

Como vários estudos da literatura já citaram, houve diferença estatisticamente significativa entre RN de sexo masculino e feminino em relação à aquisição de sepse ( $p=0,022$ ). Este conhecimento remonta à década de 60, quando alguns autores observaram maior infecção em RN de sexo masculino, fato que foi atribuído na época a uma menor produção de imunoglobulinas, o que os deixaria mais susceptíveis à infecção. Esta maior susceptibilidade não foi comprovada em estudos mais recentes<sup>4,6,7</sup>.

Já as IL têm a propriedade de responder seqüencialmente à infecção, e a elevação da IL-6 nos RN com sepse significa que o TNF e a IL-1 já estiveram presentes, uma vez que são seus principais estimuladores. Mais estes últimos medidores não são tão bons pois diminuem rapidamente. Comprovamos neste estudo, por meio da curva ROC e dos testes de S, E, VPP e VPN, que a IL-6 mostrou índices elevados já no dia 0 (dia da suspeita diagnóstica de sepse), fato que a torna muito útil como alarme precoce de infecção (Tabela 1).

Quando se determina o valor de coorte para um teste diagnóstico, é muito importante definir com qual objetivo vamos utilizá-lo, ou seja, o que é mais adequado à doença que se está estudando. Considerando que a sepse é uma doença com uma elevada mortalidade se não tratada nas primeiras horas, o teste deve ser o mais sensível possível para que todos os RN infectados sejam diagnosticados. Também é desejável, neste caso, que o VPN do exame seja o mais elevado possível para não tratar um paciente desnecessariamente.

No ponto de maior S, devemos esperar uma menor E e um VPP também inferior. No caso da sepse, isto é aceitável uma vez que se tratamos um RN com resultado falso-positivo a gravidade é menor do que não tratar um RN com resultado falso-negativo. Desta maneira, um teste adequado para sepse seria aquele que, segundo alguns autores, tivesse um valor de coorte que proporcione uma sensibilidade máxima, ou seja, de 100%, e uma especificidade pelo menos  $\geq$  50%<sup>22</sup>. Os trabalhos da literatura, tanto em sepse precoce como em sepse tardia, sempre realizam a curva ROC para obter o valor de coorte, pois apesar de ser possível diagnosticar níveis muito baixos de IL com o método Elisa, a maioria dos pesquisadores refere que cada serviço deve obter seu valor de coorte e trabalhar com ele para verificar se este é realmente adequado.

Foram utilizados como padrão ouro os RN do grupo com hemocultura positiva para a construção da curva ROC, uma vez que apenas este exame poderia inicialmente comprovar este diagnóstico.

Quando analisamos isoladamente a PCR, na Tabela 1,

verificamos que esta proteína atingiu seus melhores índices 24 horas após a IL-6, sendo superiores aos da IL-6 no dia 0, o que mostra que a PCR, apesar de aumentar depois da IL-6, é um importante indicador de sepse no RN.

Quando os medidores foram combinados entre si (Tabela 2), observou-se que a IL-6/PCR foi melhor pois apresentou S e VPN de 100% nos dias 0 e 1, com uma E e VPP de 64% e 66,7%, respectivamente, nesses mesmos dias. No dia 3, a E aumentou para 72% e o VPP também para 72%, porém a S e o VPN não são mais de 100%.

Os índices aqui encontrados com a combinação IL-6/PCR estariam de acordo com os desejados na literatura para a doença em questão, ou seja, os medidores atingiram uma sensibilidade de 100%, o que nos daria a possibilidade de utilizá-los para não deixar de tratar nenhum RN com sepse no dia da suspeita diagnóstica (dia 0) e até 24 horas após, assim como o VPN de 100% associado a um quadro clínico frustrado significaria que poderíamos suspender a terapêutica antimicrobiana até 24 horas após a suspeita.

Existem autores que suspendem a antibioticoterapia baseados apenas em resultados negativos da PCR. Acreditamos que, quando associamos mais marcadores de infecção, menos chance temos de errar.

O estudo de Ng et al., em 1997<sup>3</sup>, encontrou resultados semelhantes ao nosso estudo, já que também identificou com IL-6 e PCR todos os RN que tinham sepse.

A eficácia da IL-6 exclusivamente na sepse tardia tem sido determinada em alguns estudos. Paneroet al. (1997)<sup>23</sup> observaram que esta interleucina poderia ser o marcador ideal, pois analisando RN com sepse, definida por sinais clínicos presentes e hemocultura positiva, obtiveram valores de 100% em todos os índices. Já os resultados de Kuster et. al.(1998)<sup>24</sup>, que também mediram a IL-6 em RN com sepse tardia, consistem em valores de S de 96%, E de 83%, VPP de 65% e VPN de 94%, respectivamente, ou seja, mais de acordo com o estudo aqui apresentado.

Decidimos nesta pesquisa classificar os RN em três grupos, pois é muito difícil para o neonatologista frente a um RN que apresenta sinais clínicos de infecção, mesmo a hemocultura vindo negativa, negar que o RN tem ou teve uma sepse. Pretendemos, assim, verificar se este grupo de RN, que na prática diária representa a maioria, uma vez que a positividade da hemocultura é baixa e neste estudo foi de 18/43 RN (41,9%), poderia ser identificado por meio dos medidores inflamatórios utilizados.

Observamos que isto é possível, uma vez que os níveis dos medidores no grupo 2 estiveram acima do ponto de corte no dia da suspeita diagnóstica e foram diferentes dos outros dois grupos (Tabelas 3 e 4). Em relação ao grupo 3, sem sepse, podemos comentar que todos os medidores estiveram bem abaixo do ponto de corte, e realmente estes RN foram os menos sintomáticos (três apresentaram hipotermia e resíduo alimentar e dois letargia e apnéia, que melhoraram rapidamente, sendo possível, após resultado dos exames todos negativos e a melhora clínica muito rápida, suspender a terapêutica antibiótica).

Groll et al., em 1992<sup>25</sup>, estudando RN também com sepse tardia, observaram elevação da IL-6 em oito de dez RN no início da infecção nosocomial (88,9%), sendo que em sete destes os valores retornaram ao normal quando terminou a antibioticoterapia.

Na nossa casuística, de 18 RN do grupo 1 considerados com sepse, a mediana dos valores de IL-6 esteve acima do ponto de corte em 16 (88,9%) ou seja, igual ao encontrado por esses autores, e a evolução também foi semelhante, uma vez que esta IL foi diminuindo até que, no sétimo dia do controle, a mediana estava abaixo deste ponto (Tabela 3).

Nos 19 RNs do grupo 2, com sepse presumível, a mediana dos valores sempre se mostrou abaixo do ponto de corte, porém os valores do percentil 75 eram superiores a este valor no dia 0 e 1, diminuindo também no terceiro dia de evolução (Tabela 3).

DeBont et al. (1993)<sup>21</sup> mediram os níveis de TNF, IL-1 e IL-6 em RN admitidos com suspeita clínica de sepse. Neste estudo, sepse foi definida como suspeita clínica de infecção com hemocultura positiva ou suspeita clínica de infecção e provas de fase aguda alterada, ou seja, da mesma maneira que o delineamento de nosso estudo. Estes autores observaram que oito RN tiveram hemocultura positiva; dois RN apresentavam clínica com hemocultura negativa. Os níveis de TNF e IL-6 no plasma foram maiores nos dez RN considerados com sepse com e sem hemocultura positiva, embora a IL-1 estivesse pouco alterada. Estes autores não diferenciaram os valores do grupo com e sem hemocultura positiva. Após o início da antibioticoterapia e concomitante melhora clínica, o TNF, a IL-1 e a IL-6 diminuíram e se normalizaram em dois dias.

Quando verificamos a análise do efeito tempo, na Tabela 4, observamos que a IL-6 apresentou diminuição ao longo do tempo no grupo 1 e 2, tanto na análise paramétrica, que considera os valores médios, como na não-paramétrica, que analisa a mediana. Analisando estes resultados, esta IL também é eficaz para observar a evolução do RN em tratamento do quadro séptico.

Como comentamos anteriormente e podemos observar na Tabela 5, que compara os grupos 1 e 2, estes apresentam diferenças significantes entre si em relação à IL-6, quando apenas o que os diferencia são a hemocultura positiva e o nível mais elevado de medidores no grupo 1. Acreditamos que o grupo 2 seria o mais beneficiado pela realização de outros indicadores inflamatórios como os aqui estudados, pois mesmo a hemocultura estando negativa, a presença da IL-6 acima do ponto de corte auxiliaria no diagnóstico e não ficaria o paciente rotulado como portador de sepse clínica, muitas vezes pairando a dúvida se realmente o paciente apresentou esta doença, uma vez que os outros exames hematológicos ou imunológicos na maior parte das vezes não confirmam este diagnóstico.

Nos perguntamos porque os RN do grupo 1 com hemocultura positiva produzem níveis bem superiores de interleucina do que os do grupo 2. Suspeitamos que, com uma quantidade maior de bactérias (refletida pela positividade da hemocultura, uma vez que esta depende também do inoculo bacteriano), liberariam mais endotoxina, estimulando de maneira mais importante a produção de citocinas. O grupo 2, que apresenta sinais clínicos de sepse porém a hemocultura é negativa, produz uma quantidade menor de IL, no entanto também acima do ponto de corte, o que o faz portador desta doença e deve ser tratado como tal.

Outra suspeita é que, se o grupo 2 (com hemocultura negativa) tivesse colhido os exames mais tardiamente, estes seriam mais elevados, o que significaria que neles a infecção estava recentemente instalada e, no grupo 1, já estava plenamente desencadeada a cascata inflamatória. São necessárias mais pesquisas para podermos entender melhor o grupo 2, que representa a maioria dos RN rotulados como com sepse, sem agente etiológico isolado.

Nos seis RNs do grupo 3, sem sepse, observamos que a IL-6 está bem abaixo do ponto de corte, mesmo nos quartis 25% e 75%.

Em relação à proteína C reativa, esta é reconhecida como um marcador de infecção no período neonatal, por não atravessar a placenta. O encontro de um valor elevado no sangue colhido do RN representa sua própria produção. Ela pode ser sintetizada mesmo por RN muito prematuros com idade gestacional inferior a 34 semanas conforme comprovado por Ceccon<sup>6</sup>, em 1995, e Vaz<sup>7</sup> et al., em 1998, sendo que estes autores estudaram 60 e 57 RN com fatores de risco para sepse precoce, respectivamente, e encontraram níveis  $\geq 10$  mg/L nos RN que tiveram sepse comprovada com hemocultura.

Russel et al. (1992)<sup>26</sup> estudaram RN com idade gestacional média de 31 semanas, com suspeita de sepse tardia, e consideraram como valor significativo níveis de PCR superiores a 8 mg/L, medidos também por nefelometria, e como padrão ouro de infecção consideraram a hemocultura, fato também considerado por nós. Eles observaram que a PCR foi o melhor parâmetro indicativo de infecção quando comparada a valores de leucócitos, neutrófilos e IN.

Na casuística aqui apresentada, a PCR também esteve fortemente associada à sepse, já que os 18 RN que apresentavam hemocultura positiva tinham níveis elevados desta proteína, e também foi útil para diferenciar o segundo grupo do terceiro sem sepse (Tabela 6).

Os RNs pré-termos do grupo 1 e 2 conseguiram aumentar a proteína C reativa, mesmo sendo RN com idade gestacional muito baixa. Nesta casuística, observamos que um RN que tinha 29 semanas de idade gestacional e peso de nascimento de 860 g, pertencente ao grupo 1, com sepse, apresentou nível de PCR no dia 0 de 37 mg/L, diminuindo para < a 3,5 mg/L no sétimo dia.

O único paciente que evoluiu para óbito na casuística apresentada era um RN de termo com quadro de sepse bacteriana por *Staphylococcus aureus*, tinha múltiplos abscessos e osteomielite de quadril. Este paciente apresentou valores de PCR que foram aumentando no decorrer da evolução: dia 0: 97,8 mg/L, dia 1: 97,4 mg/L, dia 3: 123 mg/L e dia 7: 138 mg/L, mostrando uma má evolução do processo infeccioso, apesar da terapêutica utilizada.

A IL-6 é a que determina e inicia a maior resposta de proteínas hepáticas de fase aguda, principalmente da PCR, sendo inicialmente

liberada no local inflamatório, elevando-se na circulação 6 a 12 horas antes de agir especificamente nos seus receptores hepáticos. Desta maneira, a elevação da PCR é sempre posterior e, em alguns casos, se mantém elevada quando as IL já estão diminuindo seus títulos, como podemos exemplificar com um RN da nossa casuística, cujos níveis de IL-6 eram elevados no dia 0, com posterior diminuição, e o nível de PCR no dia 0 era de 13,3 mg/L, no dia 1 de 37 mg/L no dia 3 de 48 g/L e no dia 7 já eram < a 3,5 mg/L. Este achado está de acordo com os estudos<sup>7,8</sup> que mostram que, no paciente que apresenta uma boa evolução da sua doença, a PCR diminui seus níveis entre três e cinco dias.

Ng et al.(1997)<sup>3</sup>, estudando RN com peso de nascimento inferior a 1.500 gramas, portadores de sepse tardia, observaram que a PCR é um bom parâmetro para detecção da infecção e também para a suspensão da antibioticoterapia quando da sua dosagem seriada, principalmente se associada a outros medidores e, na casuística apresentada, verificamos que isto pode ser possível. Messer et al. (1996)<sup>9</sup>, associando a IL-6 e a PCR, observaram, da mesma maneira, no estudo apresentado uma sensibilidade de 100%.

Kallmam et al. (1999)<sup>27</sup>, associando também os mediadores IL-6 e PCR, obtiveram 97% de sensibilidade e 63% de especificidade. Concordamos com os estudos dos autores que observaram que as interleucinas são mais sensíveis e menos específicas que a PCR no dia da suspeita da infecção. A associação de IL-6/PCR melhora estes índices.

Um RN da nossa casuística que apresentou quadro clínico de sepse com pneumonia e com hemocultura negativa foi colocado no grupo 2 por ter os medidores alterados no dia da suspeita diagnóstica (IL-6: 1.062,5 pg/mL, IL-8: 244,7 pg/mL e PCR: 40 mg/L). Posteriormente, recebemos a cultura de secreção traqueal com isolamento do vírus sincicial respiratório e o mantivemos neste grupo, pois achamos que, além da infecção viral havia uma infecção bacteriana associada.

Com este exemplo, verificamos a necessidade de utilizar, além da PCR, outro marcador de infecção, pois mesmo conhecendo relatos da literatura de que a PCR nas infecções virais não ultrapassa níveis de 50 mg/L, na hora da decisão clínica é difícil de não introduzir antibioticoterapia em um RN com PCR superior a 10 mg/L.

Mais recentemente, Laborada et al., em 2003<sup>28</sup>, utilizando a IL-6 e PCR como marcadores de sepse tardia, chegaram às mesmas conclusões de que com o uso de ambos conseguiram diagnosticar sepse no primeiro dia de suspeita diagnóstica.

Chiesa et al., em 2003<sup>29</sup>, estudaram a IL-6, a PCR e a procalcitonina em 19 RN com sepse precoce e observaram a elevação destes três marcadores ao nascimento com 24 e com 48 horas de vida. No entanto, a procalcitonina mostrou maior sensibilidade e especificidade do que a IL-6 e a PCR. Eles também valorizam o fato de se obter um valor de coorte para estes medidores, pois podem se elevar até certo ponto com outros fatores de risco que não sepse.

## CONCLUSÃO

Desta maneira, a realização de dois medidores facilitaria a conduta médica. Para finalizar, acreditamos que determinações seriadas de IL-6 e de PCR (que é de muito mais fácil realização do que a

pro-calcitonina, que necessita de um aparelho especial) são de particular importância no diagnóstico e evolução clínica dos RN com sepse. A IL-6 por ser o medidor mais precoce e mais sensível no dia 0, e a PCR que, apesar de se elevar mais tardiamente, permanece mais tempo com bom índices. Assim, a combinação das duas nas primeiras 48 horas de infecção seria a ideal para um diagnóstico precoce, e sua dosagem seriada nos daria idéia da melhora do processo infeccioso.

Acreditamos que, se os resultados forem interpretados cuidadosamente em combinação com a clínica do paciente, poderemos realizar diagnósticos mais precisos de infecção e até reduzir a antibioticoterapia.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fapesp (Fundação do Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo auxílio a esta pesquisa.

**Conflito de interesse:** não há.

## SUMMARY

### INTERLEUKINS 6 AND C - REACTIVE PROTEIN FOR THE DIAGNOSIS OF LATE ONSET SEPSIS IN THE NEWBORN INFANT

*BACKGROUND.* Verify the accuracy of interleukin 6 (IL-6) and C-reactive protein (CRP) for diagnosis of late onset sepsis in newborn (NB) infants.

*METHODS.* a prospective cohort study with 43 NB infants hospitalized at the NICU with suspicion of late onset sepsis was carried out. Levels of IL-6 and of CRP were dosed with suspicion diagnoses; day (0) and sequentially on day 1, 3, and 7 of the evolution and the best cut-off values were calculated for the diagnoses. Indices of sensibility (S), specificity (SP), positive predictive value and negative predictive value (PPV, NPV) were calculated for each test as well as for the combination between them.

*RESULTS.* Levels of IL-6 and CRP were above the established cut-off values in the NB infants with sepsis and with presumed sepsis. There was a significant difference between both groups, where the only difference was the positive blood culture for the first group. Diagnosis could be rejected in 6 NB infants. The IL-6 showed better indices on the day of suspicion diagnosis, day 0 (S: 88.9%, Sp: 80.0%, PPV: 76.2%, NPV: 90.9%), followed by the C-reactive protein (S: 94.0%, Sp: 78.3%, PPV: 77.3%, NPV: 94.7%) 24 hours later. The combination of IL-6/CRP demonstrated to be adequate for early diagnosis of sepsis on day 0 and 24 hours later with S and NPV of 100%.

*CONCLUSION.* for diagnosis of sepsis the combination interleukin 6 / CRP presented accuracy. During the following days their development reflected the clinical evolution of the NB infants. [Rev Assoc Med Bras 2006; 52(2): 79-85]

**KEY WORDS:** Newborn infant. Late onset sepsis. Diagnosis. Interleukin 6. C-reactive protein.

## REFERÊNCIAS

1. Klein JO. Bacterial sepsis and meningitis. In: Remington JS, Klein JO, editors. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders; 2000. p.943-98.
2. Ng PC, Cheng SH, Chui KM, Fok TF, Wong MY, Wong W, et al. Diagnosis of late onset neonatal sepsis with cytokines, adhesion molecule and C-

- reactive protein in pre-term very low birth weight infants. *Arch Dis Child* 1997;77:221-7.
3. Stoll BJ, Gordon T, Korones SB, Shankaran S, Tyson J, Bauer CR, et al. Late onset sepsis in very low birth weight neonates. A report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *J Pediatr* 1996; 129:63-71.
  4. Shouten NYN, Teitvekd A, Moolenaar AJ, Bel FV. Clinical and laboratory observation. Influence of perinatal conditions for C-reactive protein production. *J Pediatr* 1992;120:621-4.
  5. Berger C, Uchlinger J, Ghelfi D, Blau N, Fanconi S. Comparison of C-reactive protein and white blood cell count with differential in neonates at risk of septicemia. *Eur J Pediatr* 1995;154:18-44.
  6. Ceccon MEJ. Marcadores imunológicos (imunoglobulinas: IgG, IgM, IgA, complemento total, proteínas reguladoras do complemento, proteína C-reativa) em recém-nascidos com fatores de risco para infecção precoce [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 1995.
  7. Vaz FAC, Ceccon MEJ, Diniz EMA. Marcadores imunológicos (IgM e Proteína C-reativa) nas infecções neonatais. *Rev Assoc Med Bras* 1988;44:185-95.
  8. Lehnbecher T, Schrod L, Kraus D, Roos T, Martius J, Von Stochausen HB. Interleukin-6 soluble interleukin-6 receptor in cord blood in the diagnosis of early onset sepsis in neonates. *Acta Paediatr* 1995;84:806-8.
  9. Messer J, Eyer D, Lionel D, Gallati H, Matis J, Simeone U. Evaluation of interleukin-6 soluble receptor of tumor necrosis factor for early diagnosis of neonatal infection. *J Pediatr* 1996;129:574-80.
  10. Doellner H, Arntzen KJ, Haereid PE, AAG S, Austgulen R. Interleukin 6 concentration in neonates evaluated for sepsis. *J Pediatr* 1998;132:295-9
  11. Silveira RC, Procianny RS. Evaluations of interleukin-6, tumor necrosis factor Alfa and interleukin 1 beta for early diagnosis of neonatal sepsis. *Acta Paediatr* 1999; 88:647-50.
  12. Santana C, Guindeo MC, Gonzales G, Muñoz G, Saavedra P, Domenhech E. Cord Blood levels of cytokines as predictors of early neonatal sepsis. *Acta Paediatr* 2001, 90:1176-81.
  13. Kilpatrick L, Harris MC. Cytokines and the inflammatory response. In Polin RA, Fox WW. *Fetal and neonatal physiology*. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: W B Saunders; 1998. p.1967-79.
  14. Sakamoto K, Arakawa H, Mita S, Ishiko T, Ikei S, Egami H, et al. Elevation of circulating interleukin 6 after surgery: factors influencing the serum level. *Cytokine* 1994;6:181-6.
  15. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med* 1991;115:457-69.
  16. Members of the American College of Chest Physicians Society of Critical Care Medicine Consensus Conference Committee. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 1992;20:864-74.
  17. Jafari HS, McCracken GH. Sepsis and septic Shoch: a review for clinicians. *Pediatr Infect Dis J* 1992;11:739-49.
  18. Soares JF, Siqueira AL. Teste Qui-quadrado, teste Exato de Fisher, curva ROC, sensibilidade, especificidade e valores preditivos. In Soares JF, Siqueira AL. *Introdução à estatística médica*. Belo Horizonte: UFMG; 1999. p.140.
  19. Ballard JL, Khoury JC, Wedig K, Wang L, Eilers-Wallsman BL, Lipp R. New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants. *J Pediatr* 1991;119:447-23.
  20. Capurro H, Konichezky S, Fonseca D, Caldeyro-Barcia RA. A simplified method for diagnosis of gestational age in the newborn infant. *J Pediatr* 19078,93:120-2.
  21. De Bont ESJM, Martens A, Van Raan J, Samson G, Fetter WPF, Leij LHFH. Diagnostic value of plasma levels of tumor necrosis factor (TNF) and interleukin 6 (IL-6) in newborn with sepsis. *Acta Paediatr* 1994;83:696-9.
  22. Mehr S, Doyle LW. Cytokines as markers of bacterial sepsis in newborn infants: a review. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 9:879-87.
  23. Panero AA, Pacifico L, Rossi N, Mancuso G, Stegagno M, Chiesa C. Interleukin 6 in neonates with early and late onset infection. *Pediatr Infect Dis J* 1997;16:37-5.
  24. Kuster H, Weiss JML, Willeitnet AE, Detlefsen S, Jeremias I, Zbojan J, et al. Interleukin-1 receptor antagonist and interleukin 6 for early diagnosis of neonatal sepsis 2 days before clinical manifestation. *Lancet* 1998;352:1271-7.
  25. Groll E, Meisser A, Weisse M, Rettwitz VW, Von Loewenich V, Gussetis ES, et al. Interleukin-6 as early mediator in neonatal sepsis. *Pediatr Infect Dis J* 1992;11:496-8.
  26. Kaufman D, Kilpatrick L, Dulferian SJ, Costarino AJ, Corcoran L, Zirin S, et al. MC. Elevation of interleukin-8 in infants with bacterial sepsis. *Pediatr Res* 1996; 39: p.296A.
  27. Russell GAB, Smyth AM Cooke RW. Receiver operating characteristic curves for comparison of serial neutrophil band forms and C-reactive protein in neonates at risk of infection. *Arch Dis Child* 1992;808-12.
  28. Kallman J, Eklom L, Eriksson M, Malmstron B, Scholin J. Contribution of interleukin-6 distinguishing between mild respiratory disease and neonatal sepsis in the newborn infant. *Acta Paediatr* 1999;88:880-4.
  29. Laborada G, Rego M, Jain A, Guliano M, Stavola J, Ballabh P, et al. Diagnostic value of cytokines and C-reactive protein in the first 24 hours of neonatal sepsis. *Am J Perinatol* 2003;20:491-501
  30. Chiesa C, Pellegrini G, Panero A, Osborn JF, Signore F, Assumma M, et al. C-Reactive protein, interleukin 6, and procalcitonin in the immediate postnatal period: influence of illness severity, risk status, antenatal and perinatal complications, and infection. *Clin Chim* 2003;40:60-8.

---

Artigo recebido: 25/10/04

Aceito para publicação: 28/06/05

---