

## A dosagem de biomarcadores no diagnóstico e prognóstico de sepse neonatal: uma revisão de literatura

### *The measurement of biomarkers in the diagnosis and prognosis of neonatal sepsis: a review of the literature*

Yngrid Carneiro de Aguiar<sup>1</sup>, Pedro Henrique Bersan Menezes<sup>1</sup>, Sarah Godoi de Carvalho<sup>1</sup>, Danielle Braz Amarílio da Cunha<sup>1</sup>, Beatriz Moraes Gonçalves<sup>1</sup>, Juliana Barrozo Fernandes Borges<sup>1</sup>, Camila Nakamura Perissê Pereira<sup>1</sup>, Júlia Pinheiro São Pedro<sup>1</sup>, Flávia Alves Neves Mascarenhas<sup>2</sup>

De Aguiar YC, Menezes PHB, De Carvalho SG, Da Cunha DBA, Gonçalves BM, Borges JBF, Pereira CNP, São Pedro JP, Mascarenhas FAN. A dosagem de biomarcadores no diagnóstico e prognóstico de sepse neonatal: uma revisão de literatura / *The measurement of biomarkers in the diagnosis and prognosis of neonatal sepsis: a review of the literature*. Rev Med (São Paulo). 2021 set.-out.;100(5):494-502.

**RESUMO:** *Introdução:* A sepse neonatal (SN) é importante causa de morbimortalidade em recém-nascidos apesar dos avanços. Possuindo uma fisiopatologia complexa, a SN apresenta diferentes formas clínicas e, eventualmente, sintomas ou sinais norteadores escassos; o que dificulta o diagnóstico, a análise da gravidade e a terapêutica oportuna. *Objetivo:* Analisar o uso de biomarcadores para o diagnóstico precoce e avaliação prognóstica da SN. *Método:* Revisão bibliográfica com busca nas bases de dados PubMed/MEDLINE, Scielo e BVS, realizada entre fevereiro e março de 2021, com análise de 21 artigos publicados de janeiro de 2010 a dezembro de 2020. *Resultados e Discussão:* Os biomarcadores usados na análise da SN, como a proteína C reativa (PCR), procalcitonina (PCT), interleucinas (IL-6, IL-8), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e marcadores de superfície celular, são importantes no diagnóstico e assistência mais céleres, viabilizando um melhor prognóstico para os casos neonatais. *Conclusão:* O estudo dos biomarcadores com o conhecimento acerca da modificação de seus níveis séricos durante a progressão da doença pode facilitar a análise e predizer a gravidade da SN, além de orientar a instauração de um protocolo precoce, aumentando a proporção de pacientes que recebem um tratamento eficaz e obtêm melhores prognósticos.

**Palavras-chave:** Sepse neonatal; Biomarcadores; Recém-nascido.

**ABSTRACT:** *Introduction:* Neonatal sepsis (NS) is an important cause of morbidity and mortality in newborns despite advances. Possessing a complex pathophysiology, NS presents different clinical forms and eventually scarce guiding symptoms or signs; which makes diagnosis, severity analysis and timely therapy difficult. *Objective:* To analyze the use of biomarkers for the early diagnosis and prognostic evaluation of SN. *Method:* Literature review with search in PubMed/MEDLINE, Scielo and VHL databases, conducted between February and March 2021, with analysis of 21 articles published from January 2010 to December 2020. *Results and Discussion:* The biomarkers used in SN analysis, such as C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT), interleukins (IL-6, IL-8), tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) and cell surface markers, are important for faster diagnosis and assistance, enabling better prognosis for neonatal cases. *Conclusion:* The study of biomarkers with the knowledge about the modification of their serum levels during disease progression can facilitate the analysis and predict the severity of SN, besides guiding the establishment of an early protocol, increasing the proportion of patients who receive an effective treatment and obtain better prognoses.

**Keywords:** Neonatal sepsis; Biomarkers; Newborn.

1. Faculdade de Ciências e Educação em Saúde do Centro Universitário de Brasília – FACES-UniCEUB. Brasília, DF. ORCID: De Aguiar YC - <https://orcid.org/0000-0002-0570-4635>; Menezes PHB - <https://orcid.org/0000-0002-9757-200X>; De Carvalho SG - <https://orcid.org/0000-0001-9896-6804>; Da Cunha DBA - <https://orcid.org/0000-0001-6291-0278>; Gonçalves BM - <https://orcid.org/0000-0001-6338-269X>; Pereira CNP, <https://orcid.org/0000-0002-0306-5833>; São Pedro JP - <https://orcid.org/0000-0002-1898-4410>; Borges JBF - <https://orcid.org/0000-0002-3088-6485>. E-mail: yngrid.carneiro@sempreceub.com, pedroberson@sempreceub.com, sarah.godoi@sempreceub.com, danielle.brazc@sempreceub.com, beatriz.mg@sempreceub.com, juliana.bb@sempreceub.com, camilaprss@sempreceub.com, julia.pinheiro@sempreceub.com.
2. Docente da Faculdade de Ciências e Educação em Saúde do Centro Universitário de Brasília – FACES-UniCEUB. Brasília, DF. <https://orcid.org/0000-0003-4970-1812>. E-mail: flavia\_neves@hotmail.com

**Endereço para correspondência:** Yngrid Carneiro de Aguiar. SQS 404, bloco E, apt. 213. Brasília, DF. CEP: 70238-050. E-mail: yngrid.carneiro@sempreceub.com

## INTRODUÇÃO

A sepse neonatal (SN) é a causa mais importante de morbimortalidade em recém-nascidos apesar dos avanços da tecnologia diagnóstica selecionada para tal função. Segundo os dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), essa disfunção representa um relevante problema de saúde em recém-nascido (RN) internadas em Unidades de Terapia Intensiva Neonatal ou mistas (neonatais e pediátricas) e é uma das principais causas de morte neonatal no mundo, sendo responsável por 60% a 80% das vidas perdidas na infância<sup>1-3</sup>. A incidência da SN é cada vez maior a cada ano, o que acende um alerta na comunidade médica, pois tal fato se contrapõe aos evidentes avanços na área da antibioticoterapia, da microbiologia e das técnicas de suporte de vida<sup>4</sup>.

Em relação à definição de sepse, o pioneiro Roger Bone, no ano de 1980, definiu o conceito de “síndrome séptica”, e, posteriormente, no consenso de 1991, foi utilizado o conceito de “sepse” (sepse-1), incluindo ainda a diferenciação em quatro estágios: síndrome inflamatória sistêmica (SIRS), sepse, sepse grave e choque séptico<sup>4</sup>. Atualmente, encontra-se em vigor o Terceiro Consenso Internacional para a Definição de Sepse e Choque Séptico (Sepse-3), que levou em consideração a heterogeneidade dessa síndrome em decorrência da resposta imune, e passou a caracterizá-la como uma disfunção orgânica sistêmica, potencialmente fatal, decorrente de uma resposta inflamatória desregulada do organismo à infecção<sup>2</sup>. Essa disfunção orgânica é tradicionalmente identificada através do aumento de dois ou mais parâmetros da escala de gravidade SOFA (Sequential Organ Failure Assessment), a qual ainda é amplamente utilizada nas unidades de terapia intensiva (UTIs)<sup>2,4</sup>.

A SN possui uma fisiopatologia complexa, o que acarreta diferentes formas clínicas, que podem se apresentar sem sintomas ou sinais norteadores, ou com manifestações inespecíficas; o que acaba por dificultar a conduta diagnóstica e a análise da gravidade da patologia<sup>4</sup>. Por outro lado, ao se analisar a fisiopatologia da SN, é sabido que, após a identificação de um sinal oriundo do patógeno ou de algum dano causado por ele, tem-se um aumento na geração de mediadores inflamatórios e anti-inflamatórios das mais diversas classes, podendo ser de fase aguda ou não, interleucinas (IL), marcadores, dentre outras moléculas mediadoras, sendo possível mensurar estrategicamente essas substâncias e utilizá-las a seguir numa análise mais acurada do desenvolvimento da SN<sup>4,5</sup>.

Essa análise é de extrema importância, pois os biomarcadores a ela relacionados mostram-se como importantes parâmetros visando um melhor e mais rápido diagnóstico, estratificação, triagem, emprego racional de antibióticos e monitoramento do prognóstico, provocando uma significativa redução da mortalidade, uma vez que suas variações indicam os níveis de resposta inflamatória

a injúria infecciosa das mais diversas formas e estágios evolutivos da disfunção<sup>1,4,5</sup>. Esses biomarcadores ainda são relevantes nesse processo visto que podem ajudar a estimar a gravidade do quadro e permitem a diferenciação e caracterização de infecções virais, bacterianas e fúngicas; além da identificação de disseminação ou não do processo disfuncional infeccioso<sup>6</sup>.

Considerando a relevância dessas informações e sua célere disponibilidade ao se utilizar os biomarcadores, a busca por essas moléculas na avaliação da sepse levou a identificação de um pouco mais de 170 biomarcadores; incluindo procalcitonina (PCT), proteína C reativa (PCR), citocinas como interleucina (IL) 1 $\beta$ , IL-8, IL-6, interferon (IFN- $\gamma$ ), fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), quimiocinas e marcadores de superfície celular<sup>1,4</sup>. Nesse sentido, diversos estudos foram publicados recentemente analisando o papel dos mais variados biomarcadores em pacientes sépticos, sendo essas descobertas um grande avanço para a ciência<sup>7-9</sup>.

Esse fato é fundamental, uma vez que as práticas diagnósticas tradicionais têm como padrão ouro, por exemplo, a hemocultura, que apresenta muitos fatores limitantes, tais como: risco de obtenção de pequenos volumes sanguíneos, a variação da bacteremia, o uso de antibióticos pela mãe antes da coleta da amostra no RN, o alto custo e a demora do resultado por esse método (disponibilidade em 48-72 horas). Essas situações podem acarretar alguns casos de infecções verdadeiras que não tenham sido confirmadas por hemoculturas falso-negativas<sup>10,11</sup>. Dessa maneira, nota-se que a hemocultura carece da sensibilidade e seletividade necessárias nesse cenário, tornando a confirmação da SN um desafio.

Em contrapartida, nota-se a importância na precisão diagnóstica, destacando-se que a brevidade e exatidão na caracterização do patógeno, é de grande valia em meio a uma demanda urgente de início de antibióticos para a otimização do tratamento da sepse em RN. Além disso, o uso excessivo de antimicrobianos é uma situação muito frequente em unidades neonatais, sendo necessário que o início da antibioticoterapia seja demasiadamente controlado e analisado, uma vez que as condutas empíricas podem acabar por criar ambientes favoráveis ao surgimento de resistência bacteriana. Dessa forma, com a modificação da microbiota do RN levando a possíveis consequências a curto e longo prazo, poderá acarretar um potencial pior prognóstico o que levanta a importância de uma discussão mais aprofundada a respeito do uso indiscriminado de antibióticos empíricos nessa faixa etária<sup>10,11</sup>.

Tendo em vista que o uso isolado dos biomarcadores descritos não se mostra suficiente mediante a ausência de sinais e sintomas compatíveis com a sepse na rotina da prática clínica, objetiva-se analisar a combinação das características clínicas com os biomarcadores para o diagnóstico precoce e avaliação prognóstica, visto que juntos se tornam essenciais para acelerar o diagnóstico e assim reduzir a morbimortalidade da SN.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo refere-se a uma revisão bibliográfica na qual se empregou os DeCS/BVS: “Biomarkers”, “prognosis”, “sepsis”, “neonatal” com combinações associados ao operador booleano AND. Para a elaboração do estudo foi realizada uma busca nas bases de dados PubMed/MEDLINE, Scielo e BVS, entre o período de fevereiro e março de 2021. Dividiu-se em etapas a construção dessa revisão, iniciando-se com a identificação da temática proposta, seleção dos artigos a serem analisados, seguida de exclusão daqueles não disponíveis na íntegra, duplicados ou que não se encaixavam no objetivo proposto, restringindo a busca para publicações entre o período de janeiro de 2010 a dezembro de 2020. Por fim, foi realizada a avaliação e interpretação dos dados coletados e elaboração dos resultados obtidos.

De um total de 173 artigos publicados entre o período supracitado, selecionou-se 22 artigos que se configuram em artigos originais, revisões sistemáticas e editoriais nos idiomas inglês, português e espanhol, com enfoque no objetivo proposto.

## RESULTADOS

Dos 22 artigos delimitados na metodologia, todos foram lidos na íntegra e 18 deles foram selecionados para compor o presente estudo, sendo excluídos 4 que após a

leitura integral abordavam conteúdo total não consoante com o objetivo proposto. Dos 18 artigos selecionados, o mais antigo foi publicado no ano de 2012 e o mais recente, em 2020, confirmando a delimitação proposta nas metodologias de análise científica a respeito do tema nos últimos 10 anos. Todos os trabalhos foram separados por título, autoria, ano de publicação, delineamento do estudo e biomarcadores analisados, conforme disposto no Quadro 1.

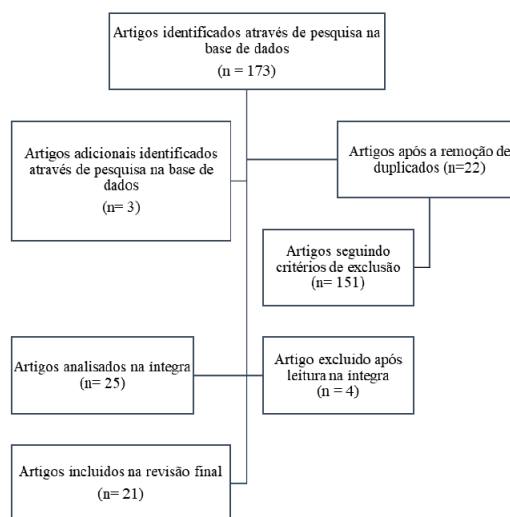


Figura 1: Fluxograma de seleção de estudos.

Quadro 1: Estudos sobre a relação da dosagem de biomarcadores no prognóstico e diagnóstico de sepse neonatal

Título	Autores	Ano	Delineamento do estudo	Biomarcadores analisados
Presepsin (Soluble CD14 Subtype): Reference Ranges of a New Sepsis Marker in Term and Preterm Neonates	Pugni L, et al.	2015	Estudo observacional	PCR; PCT; Presepsina;
A Systemic Inflammation Mortality Risk Assessment Contingency Table for Severe Sepsis	Carcillo JA, et al.	2018	Estudo de coorte prospectivo	PCR; PCT; IL; TNF- $\alpha$ ;
Serum Calprotectin: A Potential Biomarker for Neonatal Sepsis	Decembrino L, et al.	2015	Estudo transversal prospectivo	Calprotectina sérica; PCR; nCD64;
Comparative Assessment of Cytokines and Other Inflammatory Markers for the Early Diagnosis of Neonatal Sepsis—A Case Control Study	Prashant A, et al.	2013	Estudo de caso-controle	IL-6; IL-8; TNF- $\alpha$ ; sCD163; PCR;
Evaluation of New Diagnostic Biomarkers in Pediatric Sepsis: Matrix Metalloproteinase-9, Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1, Mid-Regional Pro-Atrial Natriuretic Peptide, and Adipocyte Fatty-Acid Binding Protein	Alqahtani MF, et al.	2016	Estudo observacional prospectivo	TIMP-1; mrProANP; A-FaBPs; MMP9; PCR;
Diagnostic value of mean platelet volume for neonatal sepsis: A systematic review and meta-analysis	Wang J, et al.	2020	Meta análise	PCR; PCT; VPM;
Presepsin as a diagnostic marker of sepsis in children and adolescents: a systemic review and meta-analysis	Yoon S, et al.	2019	Meta análise	PCT; PCT; Presepsina;

**Quadro 1:** Estudos sobre a relação da dosagem de biomarcadores no prognóstico e diagnóstico de sepse neonatal *continuação*

Título	Autores	Ano	Delineamento do estudo	Biomarcadores analisados
Neonatal Sepsis and Inflammatory Mediators	Machado RJ, et al.	2014	Artigo de revisão	TNF- $\alpha$ ; IL-1; IL-1 $\beta$ IL-4; IL-6; IL-7; IL-8; IL-10; IL-12TGF- $\beta$ ; IFN- $\gamma$ ;
Use of biomarkers in pediatric sepsis: literature review	Lanziotti VS, et al.	2016	Artigo de Revisão	PCR; PCT; IL-6; IL-8; IL-18; NGAL; proADM;
Biomarkers of endothelial dysfunction predict sepsis mortality in young infants: a matched case-control study.	Wright JK, et al.	2018	Estudo de caso-controle pareado	Ang-1; Ang-2; ICAM-1; sICAM;
Sepse neonatal: aspectos fisiopatológicos e biomarcadores	Cortes JS, et al.	2019	Revisão de literatura	PCR; PCT; ASA; PUL; Hepsidina; IL-6; IL-8; TNF- $\alpha$ ; IL-10; CD64; Resistina;
Clinical value of plasma soluble urokinase-type plasminogen activator receptor levels in term neonates with infection or sepsis: a prospective study.	Siahanidou T, et al.	2014	Estudo caso-controle	PCR; SuPAR;
Procalcitonin as a Biomarker for Sepsis in Children	González-Rangel D, et al.	2016	Estudo retrospectivo, observacional e descritivo	PCR; PCT;
Identificación de los factores de bajo riesgo en el lactante pequeño con fiebre sin foco evidente	Cisneros BG, et. al	2018	Artigo De Revisão	PCR; PCT; Neutrófilos totais;
Valor predictivo de la procalcitonina en niños con sospecha de sepsis.	Bustos R, et al.	2015	Estudo prospectivo	PCR; PCT; Lactato;
Serious bacterial infections in febrile young children: Lack of value of biomarkers.	Karsas M, et al.	2016	Estudo transversal prospectivo	PCR; PCT;
Procalcitonina para el diagnóstico de la sepsis tardía en recién nacidos de muy bajo peso de nacimiento	Bustos R, et al.	2012	Estudo prospectivo, observacional	PCR; PCT; IL-6; IL-10; IL-8;
El paradigma de la sepsis: en busca del biomarcador perfecto	Ledesma CA, et al.	2018	Editorial	PCR; PCT; IL-1;

**Legenda:** A-FaBPs = Proteínas de ligação a ácidos graxos de adipócitos; Ang-1 = Angiopietina-1; Ang-2 = Angiopietina-2; ASA = Amiloide Sérico A; CAM-1 = Molécula de adesão intercelular-1; IFN-  $\gamma$  = interferon-  $\gamma$ ; IL = interleucina; MMP-9 = metaloproteinase-9 de matriz; mrProANP = peptídeo natriurético pró-atrial médio regional; NGAL = gelatinase de neutrófilos humanos; PCR = proteína C reativa; PCT = procalcitonina; proADM = Adrenomedulina; PUL = Proteína de união a lipopolissacarídeo; sCD163 = CD163 solúvel; sICAM = Molécula de adesão intercelular solúvel-1; SuPAR = Receptor ativador de plasminogênio do tipo uroquinase solúvel; TGF-  $\beta$  = fator de crescimento transformador-beta; TIMP-1 = inibidor de tecido de metaloproteinase-1; TNF- $\alpha$  = Fator de Necrose Tumoral Alfa; VPM = volume plaquetário médio;

## DISCUSSÃO

A sepse é definida pelo Terceiro Consenso Internacional para a Definição de Sepse e Choque Séptico (Sepse-3) como uma disfunção orgânica que acarreta risco de morte causada por uma desregulação da resposta do hospedeiro à infecção<sup>2,12</sup>. Em RN, ela continua a ser uma patologia com prevalência crescente, elevada morbimortalidade, sendo caracterizada como um grande problema de saúde pública. De acordo com dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), a SN é responsável por cerca de cinco milhões de mortes anuais. Tendo em vista a possível ausência de sintomas ou sinais que norteiam a conduta e análise do quadro de forma acurada, a SN acaba tendo um diagnóstico difícil e a gravidade da doença subestimada<sup>1</sup>.

Na SN, para confirmação de diagnóstico, faz-se necessário a presença de um quadro de infecção bacteriana suspeita ou confirmada por hemocultura ou outros métodos complementares de diagnóstico, como o uso de biomarcadores. Por fim, a análise dos achados clínicos como petéquias e púrpura, febre, tosse também auxiliam no diagnóstico<sup>13</sup>. Esses fatores são inespecíficos e muitas vezes se apresentam um estágio mais avançado da infecção, dificultando o diagnóstico precoce do quadro. Dessa forma, o desenvolvimento de biomarcadores capazes de antecipar o diagnóstico da sepse poderia, eventualmente, incrementar uma melhoria na proporção de pacientes que recebem tratamento empírico em tempo oportuno, assim, acarretar uma melhora no prognóstico<sup>7</sup>.

### Proteína C Reativa (PCR)

A proteína C reativa (PCR) foi o primeiro receptor de reconhecimento de padrão identificado na literatura científica, sendo um dos biomarcadores utilizados há mais tempo na análise na SN<sup>14,15</sup>. É definida como uma proteína reagente de fase aguda, inespecífica, que possui níveis plasmáticos elevados em doenças inflamatórias agudas ou crônicas. Sua produção é efetuada pelo fígado após uma resposta inflamatória ou lesão tecidual, tendo como estímulo a presença da IL-6<sup>7</sup>.

Em análise mais acurada dos seus níveis de produção, observam-se em estudos que ela tem seu aumento entre 4 a 6 horas após a interação com um gatilho inflamatório, podendo ser infeccioso ou não, sendo capaz de atingir um pico em 48–72 horas após o início do evento<sup>14,16</sup>. Essa elevação do nível de PCR em 72 horas mostrou-se associada a uma inadequada resposta à antibioticoterapia na sepse em adultos, o que poderia refletir um descontrole no combate à doença também relacionados aos casos em RN. Em oposição, níveis normais de PCR por um período maior do que 72 horas poderiam indicar a interrupção do uso de antibióticos em pacientes recém-nascidos com sepse<sup>15</sup>. Por fim, em um estudo de caso-controle, composto por 150 RN, concluiu-se que os níveis de PCR mostram-se elevados não só em RN infectados como também no grupo não infectado no momento do diagnóstico, o que seria um indicativo de que o aumento dos níveis poderia ser visto tanto em quadros infecciosos quanto inflamatórios, endossando que a PCR se apresenta como um biomarcador inespecífico em quadros de infecções não confirmadas, porém possui alta sensibilidade em prever mortalidade<sup>17</sup>.

Considerando-se que a dosagem dos níveis de PCR tem seu uso consolidado na prática clínica, é prontamente disponível e de baixo custo, ela se reafirma como um biomarcador de bom uso na análise da resposta à antibioticoterapia. Entretanto, esta afirmativa só se encontra correta quando é realizada de forma dinâmica, tendo em vista que o valor preditivo dos níveis de PCR aumenta com a dosagem seriada. Isso se deve ao fato de que a PCR não é um biomarcador específico para distinguir uma infecção de uma inflamação, nem mesmo permite a análise precisa do agente infeccioso. Sendo assim ela deve ser associada aos demais biomarcadores e à avaliação clínica do paciente<sup>14</sup>.

### Procalcitonina (PCT)

A procalcitonina é um pró-peptídeo precursor do hormônio calcitonina produzido nas células neuroendócrinas parafoliculares dos pulmões e do intestino<sup>18</sup>. Ela não apresenta atividade hormonal, mas mostra-se em níveis elevados quando na presença de quadros infecciosos sistêmicos sendo considerada um biomarcador confiável para diferenciar quadros sépticos da síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS) não infecciosa<sup>7,9,14</sup>. Em resposta a endotoxinas ou mediadores inflamatórios liberados por bactérias, como citocinas, a elevação de seus

níveis encontra-se relacionada à responsividade à gravidade do quadro infeccioso<sup>7,9</sup>.

Em análise sobre sua especificidade, a PCT é vista como útil para identificação de infecções bacterianas já que, no curso de uma infecção viral, sua produção é restringida pela ação do interferon gama (IFN- $\gamma$ )<sup>14,19</sup>. Contudo, seus valores podem depender de fatores como a idade gestacional e a idade pós-natal, principalmente nos primeiros dias de vida, além de poder aumentar em causas não infecciosas, como na SRIS, trauma e cirurgia cardíaca de grande porte, de modo fisiológico, durante os primeiros dias de vida<sup>19</sup>.

Sendo assim, a PCT apresenta melhor sensibilidade, especificidade e valores preditivos do que a PCR, IL-6 e INF-alfa, visto que, assim como relatado anteriormente, ela permanece em níveis reduzidos em infecções virais e processos inflamatórios<sup>18</sup>. Em uma meta-análise, a PCT apresentou boa sensibilidade (combinada, 0,78) e baixa especificidade (combinada, 0,57), num valor de corte de < 2,0 ng/mL em pacientes pediátricos fora do período neonatal<sup>(16)</sup>. Os resultados analisados corroboram a relevância do uso combinado de biomarcadores na abordagem do diagnóstico de SN<sup>7,14</sup>.

Tida como um reagente de fase aguda, em resposta a estímulos inflamatórios, principalmente bacteriano, a PCT inicia sua síntese de 2-4 horas, atingindo valores máximos entre 24-36 horas a partir do desenvolvimento da infecção<sup>16</sup>. Em análise de um estudo prospectivo, a permanência diária de altas concentrações de PCT mostrou-se associada à alta mortalidade em UTI neonatal, sendo que a redução desses níveis em 48 horas teve relação com um prognóstico favorável<sup>7</sup>.

### Citocinas e quimiocinas

As citocinas designam um grupo de moléculas de tamanho pequeno que apresenta meia vida sérica curta, podendo ser encontradas em dosagens feitas em minutos até poucas horas. Elas dispõem de uma função central na resposta imunológica em RN com sepse. No início da década de 1990, estudos sobre a sepse levantaram uma forte associação dessa patologia com uma liberação exacerbada de citocinas pró-inflamatórias, dentre elas: fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), interleucina (IL-6, IL-8) e interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )<sup>13</sup>. Juntamente com as quimiocinas, as citocinas mostram-se como importantes biomarcadores de SN visto que apresentam potencial superior ao PCT no diagnóstico precoce de sepse, além de contribuir na avaliação da gravidade dos quadros sépticos. Contudo, apesar de suas características favoráveis, o uso desses mediadores encontra barreiras nas rotinas de UTI neonatal, pois apresentam elevados custos e pouca praticidade na execução de sua análise<sup>11</sup>.

### Interleucina-6

A interleucina-6 (IL-6) é uma citocina de grande evidência na literatura a respeito da SN. Estimulada por contato do sistema imune aos produtos microbianos, sua importância se deve a sua propriedade de atuar sinalizando a ativação do sistema imunológico e, desta forma, influenciar a liberação de outras citocinas, como TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Esta citocina indica uma resposta precoce ao quadro inflamatório presente na sepse, podendo anteceder a elevação dos níveis de PCR por interferir em sua produção durante a infecção bacteriana<sup>13</sup>. O aumento da concentração sérica da IL-6 pode preceder o surgimento dos sinais e sintomas da infecção, além de ser associada a casos mais graves na SN. Ademais, sua acurácia pode aumentar se usada em combinação com outros biomarcadores diagnósticos. Assim, entende-se que seu uso clínico é de grande relevância como preditor da sepse grave nesses pacientes<sup>1,14</sup>.

Um estudo de caso-controle, com análise da morbimortalidade nos casos de SN em comparação com casos de desfecho mórbido, reverbera a ideia central dessa citocina ser um bom preditor para a evolução da sepse, pois mostrava um aumento significativo dos níveis séricos de IL-6 mediante quadro séptico grave<sup>17</sup>.

Quanto a variação dos níveis de IL-6, ela apresenta seu aumento inicial entre 2-6 horas, com pico de 36 horas após a instalação da infecção. E em pacientes com antibioticoterapia eficaz e boa resposta terapêutica, ela mostra declínio em 24 horas. Dessa forma, esta citocina é útil como marcador precoce contribuindo para análise evolutiva assertiva da doença e de seu tratamento<sup>1,13</sup>.

### Interleucina-8

Pertencente à classe das quimiocinas pró-inflamatórias, a IL-8 é uma molécula produzida em células placentárias e imunológicas (monócitos e macrófagos), sendo gerada a partir de um estímulo infeccioso originado no útero. Na década 1990, esta interleucina foi amplamente discutida e investigada na literatura científica como biomarcador preditivo de SN precoce. Analogamente a IL-6, a IL-8 mostra um padrão de desenvolvimento cujas características limitam o papel dessa molécula como biomarcador de uso rotineiro na prática clínica para análise de evolução do quadro séptico, visto que apresenta níveis séricos limitados para detecção, embora possa ser útil na investigação diagnóstica inicial e condução de tratamento<sup>13</sup>.

Tendo como função a orientação do processo da quimiotaxia e ativação de neutrófilos, ela pode ser importante no uso para estratificação de risco. Essa afirmativa é corroborada por estudos de análise de níveis séricos de IL-8, nos quais os pacientes com histórico séptico com níveis mais elevados dessa interleucina apresentaram menores taxas de sobrevivência se comparados com aqueles com menores níveis<sup>14,17</sup>. Quando combinado com outros biomarcadores, como IL-6 e PCR, a IL-8 obteve níveis mais elevados em neonatos infectados quando comparados com

os não infectados em estudo de caso-controle, sugerindo sua influência nos casos infecciosos e não inflamatórios<sup>17</sup>. No que se refere a variação dos níveis séricos de IL-8, ela mostra-se como de alta especificidade e sensibilidade na confirmação infecciosa em 24-48 horas, além de predizer o risco de mortalidade neste período. Ademais, cabe ressaltar que ela apresenta um aumento inicial em 90 minutos sendo atingido o pico em 120 minutos após a instalação do quadro infeccioso, tendo, por fim, seu declínio por volta de 48 horas após o nascimento desses neonatos<sup>13,17</sup>.

### Fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ )

O TNF- $\alpha$  é tido como um dos principais biomarcadores séptico em neonatos, além de ser indicador de lesão tecidual e atuar na regulação da secreção IL-1 $\beta$ . Por meio de sua liberação sistêmica, provoca vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, o que acaba por gerar edema sistêmico e redução do volume sanguíneo e outras alterações que contribuem para a evolução do quadro séptico. Tendo em vista seu mecanismo de ação, esta IL mostra-se como um “fator de perigo” uma vez que seus níveis elevados levam a formação de coágulos intravasculares que de forma disseminada podem acarretar falência de múltiplos órgãos, devido a adesão leucocitária e plaquetária. Sendo assim, seus altos níveis se apresentam como um bom preditor avaliativo da gravidade do quadro, mostrando maior sensibilidade, de 95%, ao ser combinado com a IL-6, em comparação quando utilizada isoladamente<sup>13,17</sup>.

Ao avaliar os níveis séricos de TNF- $\alpha$ , nota-se uma liberação inicial em cerca de 30 min após estímulo imunológico frente ao quadro inflamatório, atingindo pico em 1 hora e meia, tendo meia vida curta estimada de cerca de 70 minutos. Por fim, seu declínio se inicia chegando a concentrações próximas a zero após 3 horas do estímulo inicial<sup>13</sup>.

### Marcador de superfície celular

Ao analisar a fisiopatologia da SN, diversos fatores mostram-se ativos dentro do processo infeccioso, que poderiam ser usados como importantes biomarcadores no estudo do desenvolvimento da SN, dentre eles cabe ressaltar os marcadores de superfície celular. Em meio a resposta inflamatória à infecção, é possível notar que ocorre um aumento da expressão de antígenos e de outras proteínas na membrana de células imunológicas, como os leucócitos. Dentre essas, observa-se a presença mais acentuada do receptor Fc $\gamma$  I expresso nas membranas de neutrófilos, onde atua promovendo o processo fagocitário, sendo notável sua ação e expressão mediante a instalação do quadro de infecção bacteriana<sup>1</sup>.

Dentre outros marcadores, cabe citar o receptor ativador de plasminogênio do tipo uroquinase solúvel

(uPAR). Este receptor de membrana apresenta atividade protease ao promover a transdução das vias de sinalização intracelular, sendo encontrada sua expressão na superfície de células imunológicas que participam do desenvolvimento do processo inflamatório, como monócitos e linfócitos. Em sua forma solúvel, suPAR é usado como biomarcador de infecções em adultos tendo suas propriedades ainda pouco exploradas nos quadros infecciosos neonatais. Ao analisar seus níveis séricos em fluidos biológicos como sangue, urina e fluido cerebrospinal, foram detectadas elevações em resposta não só em adultos, mas também em recém-nascidos, nos quais suas propriedades como marcador de infecção foram analisadas em imunoenaios promovidos com neonatos prematuros infectados, mostrando esse biomarcador como um possível preditor do prognóstico em sepse<sup>8</sup>.

Em um estudo de caso-controle, no qual foram analisados os níveis plasmáticos de suPAR em neonatos a termo com quadro de infecção (viral e bacteriana), a importância desse marcador foi demonstrada. Os níveis basais médios de suPAR mostraram-se maiores no grupo contendo neonatos infectados (casos) em comparação com os níveis nos controles, o que pode sugerir que esse pode ser um biomarcador utilizado no diagnóstico. Contudo, ele não promove a distinção entre infecções bacterianas e virais; e os valores de suPAR não mostraram declínio após a remissão completa da infecção, sendo observados valores significativos até mesmo 7 a 10 dias após a recuperação, o que leva a crer que este marcador possui liberação ou produção continuada mesmo após a melhoria do quadro infeccioso<sup>8</sup>. Tais resultados levantaram questionamentos na literatura sobre seu uso na análise da resposta ao tratamento instituído.

### A análise do uso futuro dos biomarcadores na sepse neonatal

A calprotectina é uma proteína antimicrobiana que pode ser utilizada como um marcador da ativação de granulócitos e fagócitos mononucleares. Ela vem sendo proposta para o diagnóstico de condições inflamatórias e estudada recentemente como um biomarcador da SN. Dados de um estudo transversal demonstraram a utilização da calprotectina sérica como um marcador no diagnóstico precoce da SN, considerando-a um exame promissor, específico e sensível em RN com quadro de sepse, devido a importante ação exercida por essa proteína no sistema imunológico<sup>19</sup>.

Outros biomarcadores que têm sido detalhadamente investigados na sepse em adultos, são: os ácidos graxos de adipócitos (A-FaBPs), as metaloproteinase-9 de matriz (MMP-9), o inibidor de tecido de metaloproteinase-1 (TIMP-1) e os peptídeo natriurético pró-atrial médio regional (mrProANP). Considerando a ausência de relatos na literatura em crianças e RN, um recente estudo

prospectivo e observacional analisou as concentrações desses elementos em um grupo de pacientes sépticos e menores de 18 anos, identificando a presença desses biomarcadores na população infantil durante o quadro infeccioso<sup>20</sup>.

Um achado presente nesse estudo foi a relação entre a MMP-9/TIMP-1 mais baixa, associada a maior gravidade da sepse e risco de mortalidade. Enquanto isso, os níveis de A-FaBP e mrProANP estavam mais elevados em crianças sépticas quando comparadas a crianças saudáveis; sendo que essas moléculas citadas foram consideradas biomarcadores diretamente associados com maior morbidade e tempo de internação. A pesquisa concluiu que se deve promover a realização de mais estudos desses biomarcadores não só na população adulta, como também na pediátrica e, mais especificamente, nos neonatos<sup>20</sup>.

Além dos biomarcadores apresentados, vários estudos abordaram acerca da utilização do volume plaquetário médio (VPM) como um marcador preditivo para a SN, uma vez que as plaquetas, depois de ativadas, liberam elevadas quantidades de citocinas e mediadores inflamatórios que atuam como importantes sinalizadores da resposta imune. Já foi constatado que com o aumento do VPM, ocorre maior ativação plaquetária, que desencadeará o desenvolvimento precoce de trombos, promovendo a adesão e agregação dessas moléculas. Assim, a mensuração do VPM pode ser um indicativo de grave risco para complicações e morte. Embora diversas pesquisas tenham reconhecido a concordância entre a sepse neonatal e o VPM, a relação exata ainda é incompreensível<sup>21</sup>.

Em um estudo de meta-análise, foi concluído que a dosagem de VPM pode ser usada como sinalizador de diagnóstico precoce da SN durante análise clínica, visto que os valores do VPM se mostraram mais elevados em pacientes com SN em comparação aos controles. Dessa forma, cabe salientar que novos estudos a respeito da alteração dinâmica do VPM promoverão maior validade sobre esse achado<sup>21</sup>.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando a fisiopatologia da SN, após um sinal promovido por um patógeno ou dano endógeno, há uma elevação dos níveis de produção de diversas classes de mediadores inflamatórios e anti-inflamatórios, como PCR, PCT, IL, TNF-alfa, dentre outros; sendo alguns já descritos detalhadamente na literatura, enquanto outros estão em fase de desenvolvimento. Com isso, um estudo mais aprofundado desses biomarcadores, com o conhecimento acerca da modificação de seus níveis séricos ao longo do tempo de progressão da doença, poderia melhorar a assistência, facilitar o diagnóstico e prever a gravidade da SN. A utilização prática desses biomarcadores poderá orientar a instauração de um protocolo precoce, aumentando a proporção de pacientes que recebem um

tratamento eficaz e num momento oportuno, atingindo, dessa forma, melhores prognósticos.

A partir da análise detalhada e isolada das concentrações dos biomarcadores por tempo, observando suas variações e picos, é possível obter importantes dados que complementam e sinalizam a progressão da SN. Em resumo, a PCR possui seu aumento entre 4-6 horas com pico entre 48-72 horas após o início da infecção, sendo classificado atualmente como um importante biomarcador, enquanto a PCT obtém sua elevação entre 2-4 horas com seu pico entre 24-36 horas, também demonstrando sua eficácia. Por sua vez, as interleucinas 6 e 8 e a TNF- $\alpha$  detêm sua importância ao predizer o desenvolvimento da infecção, visto que a elevação de seus níveis séricos ocorre precocemente, nos estágios mais iniciais da doença. Assim, a IL-6 apresenta um período entre 2-6 horas para o início do seu aumento, enquanto seu pico se estabelece após 36 horas da infecção. A IL-8 eleva-se após 90 minutos a partir da instalação do quadro infeccioso, com seu pico após 120 minutos. Já a TNF- $\alpha$ , demonstra seu acréscimo em cerca

de 30 minutos, com pico após 1 hora e meia, decorrente do estímulo imunológico frente ao quadro inflamatório causado pela SN.

Logo, é de suma importância que haja o empenho por parte da comunidade científica para o desenvolvimento de técnicas que permitam a utilização prática e difundida dos biomarcadores em conjunto e seu reconhecimento precoce, uma vez que o uso isolado dos biomarcadores não se mostra suficiente para o estabelecimento de um diagnóstico fidedigno ao caso de SN, pois até o momento somente mediante o uso combinado destes é possível uma análise acurada. Dessa forma, tendo em vista os ótimos resultados apresentados com a implementação e uso de biomarcadores o auxílio no diagnóstico, condução do tratamento e prognóstico da SN, entende-se que a dosagem dessas moléculas pode ser de grande valia quando implementados para tal finalidade, uma vez que a sepse é tida como uma patologia marcada por elevadas taxas de morbimortalidade e permanência hospitalar na população neonatal.

**Participação dos autores:** De Aguiar YC, Menezes PHB, Da Cunha DBA, De Carvalho SG, Gonçalves BM, Borges JBF, Pereira CNP, São Pedro JP: contribuiu com a elaboração, pesquisa e análise de dados e revisão crítica do artigo, tradução do texto para língua inglesa; Mascarenhas FAN: orientação, revisão docente do texto e aprovação final da versão a ser publicada.

## REFERÊNCIAS

- Cortés JS, Cruz LXF, Zúñiga EB, Narváez CF, Fonseca-Becerra CE. Sepsis neonatal: aspectos fisiopatológicos y biomarcadores. *Mélicas UIS*. 2019;32(3):35-47. doi: <https://doi.org/10.18273/revmed.v32n3-2019005>
- Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, Brunkhorst FM, Rea TD, Scherag A, et al. Assessment of clinical criteria for sepsis: for the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016;315(8):762-74. doi: 10.1001/jama.2016.0288
- Kissoon N, Carcillo JA, Espinosa V, Argent A, Devictor D, Madden M, et al. World Federation of Pediatric Intensive Care and Critical Care Societies: Global Sepsis Initiative. *Pediatr Crit Care Med*. 2011;12(5):494-503. doi: 10.1097/PCC.0b013e318207096c
- Andrés Ledesma C, Calvo Nieves MD, Andaluz-Ojeda D. El paradigma de la sepsis: en busca del biomarcador perfecto. *Rev Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta*. 2018;11(2):61-3. Disponível em: <http://revzoiolmarinello.sld.cu/index.php/zmv/article/view/1930>
- Wright JK, Hayford K, Tran V, Al Kibria GM, Baqui A, Manajjir A, et al. Biomarkers of endothelial dysfunction predict sepsis mortality in young infants: a Matched Case-Control Study. *BMC Pediatr*. 2018;18(1):118. doi: <https://doi.org/10.1186/s12887-018-1087-x>
- Pierrakos C, Vincent J-L. Sepsis biomarkers: a review. *Crit Care*. 2010;14(1):R15. doi: <https://doi.org/10.1186/cc8872>
- Bustos B R, Padilla P O. Valor predictivo de la procalcitonina en niños con sospecha de sepsis. *Rev Chil Pediatría*. 2015;86(5):331-6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rchipe.2015.07.006>
- Siahanidou T, Margeli A, Tsirogianni C, Charoni S, Giannaki M, Vavourakis E, et al. Clinical value of plasma soluble urokinase-type plasminogen activator receptor levels in term neonates with infection or sepsis: a prospective study. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:375702. doi: 10.1155/2014/375702.
- González-Rangel D, Camacho-Moreno G, Quintero-Guevara O. Procalcitonin as a biomarker for sepsis in children. *Rev Fac Med*. 2016;64(2):215-21. doi: <https://doi.org/10.15446/revfacmed.v64n2.50585>
- Karsas M, Becker PJ, Green RJ. Serious bacterial infections in febrile young children: lack of value of biomarkers. *South Afr J Child Health*. 2016;10(1):33-6. doi: 10.7196/SAJCH.2016.v10i1.980
- Bustos B R, Araneda C H. Procalcitonina para el diagnóstico de la sepsis tardía en recién nacidos de muy bajo peso de nacimiento. *Rev Chil Infectol*. 2012;29(5):511-6. doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182012000600005>
- Mickiewicz B, Thompson GC, Blackwood J, Jenne CN, Winston BW, Vogel HJ, et al. Biomarker phenotype for early diagnosis and triage of sepsis to the Pediatric Intensive Care Unit. *Sci Rep*. 2018;8(1):16606. doi: 10.1038/s41598-018-35000-7.
- Reis Machado J, Soave DF, Silva MV, Menezes LB, Etchebehere RM, Monteiro MLGR, et al. Neonatal sepsis and inflammatory mediators. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:269681. doi: 10.1155/2014/269681.
- Lanziotti VS, Póvoa P, Soares M, Silva JRL, Barbosa AP, Salluh JIF. Use of biomarkers in pediatric sepsis: literature review. *Rev Bras Ter Intens*. 2016;28(4):472-82. doi: <https://doi.org/10.5935/0103-507X.20160080>



15. Carcillo JA, Sward K, Halstead ES, Telford R, Jimenez-Bacardi A, Shakoory B, et al. A systemic inflammation mortality risk assessment contingency table for severe sepsis. *Pediatr Crit Care Med*. 2017;18(2):143–50. doi: 10.1097 / PCC.0000000000001029
16. Yoon SH, Kim EH, Kim HY, Ahn JG. Presepsin as a diagnostic marker of sepsis in children and adolescents: a systemic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2019;19(1):760. doi: <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4397-1>
17. Prashant A, Vishwanath P, Kulkarni P, Sathya Narayana P, Gowdara V, Nataraj SM, et al. Comparative assessment of cytokines and other inflammatory markers for the early diagnosis of neonatal sepsis—a case control study. *PLoS ONE*. 2013;8(7):e68426. doi: 10.1371/journal.pone.0068426.
18. Cisneros BG, Benítez PJC. Identificación de los factores de bajo riesgo en el lactante pequeño con fiebre sin foco evidente. *Acta Méd Grupo Ángeles*. 2018;16(3):219–25. Disponível em: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-72032018000300219&lng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-72032018000300219&lng=es).
19. Decembrino L, De Amici M, Pozzi M, De Silvestri A, Stronati M. Serum calprotectin: a potential biomarker for neonatal sepsis. *J Immunol Res*. 2015;2015:147973. doi: <https://doi.org/10.1155/2015/147973>
20. Alqahtani MF, Smith CM, Weiss SL, Dawson S, Ranaivo HR, Wainwright MS. Evaluation of new diagnostic biomarkers in pediatric sepsis: matrix metalloproteinase-9, tissue inhibitor of metalloproteinase-1, mid-regional proatrial natriuretic peptide, and adipocyte fatty-acid binding protein. *PLOS ONE*. 2016;11(4):e0153645. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153645>
21. Wang J, Wang Z, Zhang M, Lou Z, Deng J, Li Q. Diagnostic value of mean platelet volume for neonatal sepsis: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(32):e21649. doi: 10.1097 / MD.00000000000021649

Submetido: 08.06.2021

Aceito: 14.10.2021