



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA
SAÚDE
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

FLÁVIA OLIVEIRA DA COSTA

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES EM PACIENTES
PEDIÁTRICOS NEUTROPÊNICOS COM LEISHMANIOSE
VISCERAL E ONCO-HEMATOLÓGICOS**

**ARACAJU
2013**

FLÁVIA OLIVEIRA DA COSTA

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES EM PACIENTES
PEDIÁTRICOS NEUTROPÊNICOS COM
LEISHMANIOSE VISCERAL E ONCO-
HEMATOLÓGICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe, para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de Concentração: Estudo das Endemias e Doenças Crônicas de Impacto Regional

Orientadora: Prof. Dra. Ângela Maria da Silva

**ARACAJU
2013**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA
SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

C837a Costa, Flávia Oliveira da
Avaliação de biomarcadores em pacientes
pediátricos neutropênicos com leishmaniose visceral e
onco-hematológicos / Flávia Oliveira da Costa. --
Aracaju, 2013.
00 f. : il.

Orientador (a): Profa. Dra. Ângela Maria da Silva.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) –
Universidade Federal de Sergipe, Pró-Reitoria de Pós-
Graduação e Pesquisa, Núcleo de Pós-Graduação em
Medicina.

1. Neutropenia 2. Biomarcadores 3. Crianças 4.
Leishmaniose visceral 5. Infectologia 6. Oncologia 7.
Hematologia I. Título.

CDU 616.993.161-053.2

FLÁVIA OLIVEIRA DA COSTA

AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES EM PACIENTES PEDIÁTRICOS NEUTROPÊNICOS COM LEISHMANIOSE VISCERAL E ONCO- HEMATOLÓGICOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe, para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Aprovada em: ____/____/____

Orientadora: Profa. Dra. Ângela Maria da Silva

1º Examinador: Prof. Dr. Roque de Almeida Pacheco

2º Examinador: Prof. Dr. Francisco de Assis Pereira

PARECER

This image shows a full page of white paper with horizontal black ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page, providing a template for handwriting practice or general writing. There are no margins, text, or other markings on the page.

AGRADECIMENTOS

A minha mãe Martha Lúcia, por ter me tornado o que sou.

A Dagmar, Vittor, Sabrina e Sabrina, por todo amor, apoio, compreensão e ensino de TI.

A minha orientadora, Profa Dra Ângela Maria da Silva, exemplo de caráter, que torna orgulhosos todos aqueles no convívio diário, seja como mestre, médica, dirigente, por ter me ensinado, sobretudo, que nada disso é importante se você não cultiva valores humanos. E pela paciência neste aprendizado.

A minha família, irmã, cunhado, sobrinhos, tios, primos, pelo apoio sempre presente, apesar da distância.

Aos diretores do HU, pela compreensão e ajuda.

A Carmélia e Cândida, parceiras deste processo, pela generosidade e risos.

A Dra Rosana Cipolotti, por fazer parte da minha vida desde minha vinda para Aracaju, primeiro como pediatra dos meus filhos, depois como professora nesta jornada, muito obrigada.

Aos integrantes do Núcleo de Pós-graduação em Saúde, Dr. Ricardo Gurgel, Jolinda, professores e demais funcionários, pelo acolhimento e aprendizado, especialmente a Martha Suzana, pelo constante exemplo e incentivo.

A Enfermeira Rute, coordenadora do serviço de oncologia, sempre disposta a me ajudar, desde sempre, muito obrigada.

A equipe de médicas da oncologia do HUSE, nas presenças gentis de Dra Pérola e Dra Simone.

Ao Prof. Dr. Roque Pacheco, por todo o aprendizado.

Ao Prof. Dr. Manuel Hermínio de Aguiar, pelo despertar para a pesquisa.

As meninas da biologia molecular, Luana e Larissa, pela disponibilidade da ajuda.

As minhas amigas e amigos queridos, Graça, Maristela, Rossana, Barreto e Benetti, pelo incentivo constante.

A Márcia bibliotecária, pelo apoio em tudo.

Aos pacientes, personagens principais e de maior importância nesta pesquisa.

A minha equipe do laboratório, família que a vida me deu, pelo apoio incondicional nas horas em que mais precisei.

Aos colegas do HU, tantos que não caberia aqui, meu muito obrigado pelo constante apoio.

A Juliana, Monique e Tâmara, equipe de farmacêuticas fantásticas, que fizeram parte desse mestrado desde o início.

A Cristina, técnica de laboratório do HUSE pela inestimável ajuda.

Ao Deus de cada um, que possibilita o cumprimento de infinitos planos e aos mestres da luz, nossos guias e anjos guardiões, companheiros de jornada, obrigada.

“Andei.
Por caminhos difíceis, eu sei.
Mas olhando o chão sob meus pés, vejo a vida correr.
E, assim, cada passo que der, tentarei fazer o melhor que puder.
Aprendi.
Não tanto quanto quis, mas vi que, conhecendo
o universo ao meu redor, aprendo a me conhecer melhor,
e assim escutarei o tempo, que ensinará
a tomar a decisão certa em cada momento.
E partirei, em busca de muitos ideais.
Mas sei, que hoje se encontram meu passado, futuro e presente.
Hoje sinto em mim a emoção da despedida.
Hoje é um ponto de chegada e, ao mesmo tempo,
ponto de partida...
Se em horas de encontros pode haver tantos desencontros, que a
hora da separação seja, tão somente, a hora de um verdadeiro,
profundo e coletivo encontro. De tudo ficarão três coisas: a certeza
de estar sempre começando, a certeza de que é preciso continuar e a
certeza de ser interrompido antes de terminar. Fazer da queda um passo
de dança, do medo uma escada, do sonho uma ponte,
da procura um encontro.”

Encontro Marcado
(Fernando Sabino)

RESUMO

AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES EM PACIENTES PEDIÁTRICOS NEUTROPÊNICOS COM LEISHMANIOSE VISCERAL E ONCO-HEMATOLÓGICOS. Flávia Oliveira da Costa, Aracaju/SE, 2013.

A infecção constitui a maior complicação para o paciente neutropênico, sendo causa de morbidade e mortalidade. Sinais clínicos são inespecíficos e febre pode ser um marcador tardio para início do uso de antibióticos, podendo complicar o prognóstico. As abordagens da maioria dos protocolos focam-se em pacientes adultos. Desta forma, para reforçar a segurança na abordagem clínica em pacientes neutropênicos pediátricos, foi realizado este trabalho com o objetivo de avaliar os biomarcadores envolvidos na resposta inflamatória em pacientes pediátricos. No período de 2010 a 2012 foram incluídos 70 crianças portadoras de neutropenia, com contagem de neutrófilos $\leq 1000 \text{ cel/mm}^3$, sendo 35 pacientes pediátricos portadores de Leishmaniose visceral (LV) e 35 portadores de doença onco-hematológica, com idade variando de 0 a 18 anos, oriundos do serviço de oncologia do Hospital de Urgência de Sergipe e da enfermaria de Pediatria do Hospital Universitário de Sergipe. Os níveis séricos dos seguintes biomarcadores foram avaliados: Interferon gamma (IFN- γ), Interleucina-5 (IL-5), interleucina-6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10), lactato, Proteína C Reativa ultrasensível (PCR-US), procalcitonina (PCT) e Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α). Os resultados mostraram que na média dos grupos estudados houve diferença significativa com os biomarcadores IFN- γ , IL-10 e TNF- α com $p < 0,001$, IL-5 com $p = 0,020$, lactato com $p = 0,002$ e PCT com $p = 0,011$. A PCR-US e a IL-6 não apresentaram estatisticamente significância. Correlacionando a CAN dos grupos com a média dos biomarcadores, não foi observado significância estatística. Este trabalho sugere que os biomarcadores que os biomarcadores IFN- γ , IL-5, IL-10, lactato, procalcitonina e TNF- α , apresentaram valores laboratoriais com diferença significativa entre o grupo de pacientes neutropênicos portadores de LV e doença onco-hematológica, o mesmo não acontecendo com os resultados apresentados pelos biomarcadores IL-6 e a PCR-US, levando-nos a observar que apesar dos grupos terem a neutropenia em comum, a interpretação destes biomarcadores deve ser realizada de forma distinta para cada grupo. Excetuando-se o lactato e a procalcitonina, todos os demais biomarcadores apresentaram resultados aumentados quando comparadas as médias dos dois grupos, fato que nos faz concluir que estudos com um número maior de indivíduos são importantes para verificar o uso dos biomarcadores IFN- γ , IL-5, IL-6, IL-10 e TNF- α no diagnóstico de infecção em pacientes neutropênicos.

Palavras-chave: Biomarcadores. Criança. Leishmaniose Visceral. Neutropenia. Onco-hematologia.

ABSTRACT

EVALUATION OF BIOMARKERS IN PEDIATRIC PATIENTS WITH LEISHMANIOSIS AND ONCO-HEMATOLOGICAL. Flávia Oliveira da Costa, Aracaju/SE, 2013.

Infection is the major complication for neutropenic patients, and cause of morbidity and mortality. Clinical signs are nonspecific and fever may be a late marker for the early use of antibiotics, which may complicate the prognosis. The approaches of most protocols focus on adult patients. Thus, to improve safety in the clinical approach in pediatric neutropenic patients, this work was performed in order to evaluate biomarkers involved in the inflammatory response in pediatric patients. In the period 2010 to 2012 were included 70 children with neutropenia with neutrophil count ≤ 1000 cells / mm³, 35 pediatric patients with visceral leishmaniasis (VL) and 35 patients with onco-hematological disease, ranging in age from 0 to 18, from the oncology service of the Hospital Emergency ward Segipe and Pediatrics Diseases, University Hospital of Sergipe. Serum levels of biomarkers were evaluated following: Interferon gamma (IFN- γ), interleukin-5 (IL-5), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), lactate, ultrasensitive CRP (hsCRP), nprocalcitonina (PCT) and Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α). The results showed that the average of the groups was no significant difference with biomarkers IFN- γ , IL-10 and TNF- α with $p < 0.001$, IL-5 and $p = 0.020$, $p = 0.002$ with lactate and $p = 0.011$ PCT. The hsCRP and IL-6 did not show statistical significance. Correlating CAN groups with the average of biomarkers, there was no statistical significance. This study suggests that biomarkers that IFN- γ , IL-5, IL-10, lactate, procalcitonin and TNF- α , laboratory values showed a significant difference between the group of patients neutropenic patients with LV disease and onco- hematologic, this is not happening with the results presented by biomarkers IL-6 and hsCRP, leading us to observe that although the groups have in common neutropenia, interpretation of these biomarkers should be performed separately for each group. Except for lactate and procalcitonin, all other biomarkers showed increased results when comparing the mean of the two groups, which leads us to conclude that studies with larger numbers of subjects are important to verify the use of IFN- γ biomarkers, IL- 5, IL-6, IL-10 and TNF- α in the diagnosis of infection in neutropenic patients.

Key words: Neutropenia, Biomarkers, child, Visceral Leishmaniasis, Onco-hematology

LISTA DE ABREVIATURAS

CAN	-	Contagem Absoluta de Neutrófilos
EORTC	-	European Organization for Research and Treatment of Câncer
FOI	-	Febre de Origem Indeterminada
HU	-	Hospital Universitário
HUSE	-	Hospital de Urgência de Sergipe
IDSA	-	Infectious Disease Society of America
IFN- γ	-	Interferon gamma
IHS	-	Immunocompromised Host Society
IL-10	-	Interleucina 10
IL-5	-	Interleucina 5
IL-6	-	Interleucina 6
LAC	-	Laboratório de Análises Clínicas
LV	-	Leishmaniose Visceral
MASCC	-	Multinational Association for Supportive Care in Cancer
NF	-	Neutropenia Febril
PCR-US	-	Proteína C Reativa Ultrassensível
PCT	-	Procalcitonina
SIRS	-	Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica
TNF α	-	Fator de Necrose Tumoral Alfa

LISTA DE SÍMBOLOS

$\pm \Delta$	desvio padrão
$<$	menor do que
$>$	maior do que
$\leq$	menor ou igual do que
$\geq$	maior ou igual do que
$^{\circ}\text{C}$	grau celcius
ng/ml	nanograma/mililitro
mg/dl	miligrama/decilitro
mm	milímetro
p	probabilidade de significância
pg/ml	picograma por mililitro
%	porcentagem

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Critérios para o estabelecimento de SIRS.....	18
Tabela 2	Dados demográficos dos pacientes pediátricos neutropênicos portadores de com LV e doença Onco-hematológica, 2012.....	41
Tabela 3	Dosagem de Biomarcadores lactato, PCR-US e procalcitonina – em pacientes portadores de LV e doença Onco-hematológica - Aracaju 2012.....	45
Tabela 4	Hemograma dos pacientes pediátricos neutropênicos portadores de LV e doença Onco-Hematológica – Aracaju 2012.....	47
Tabela 5	Correlações entre Neutrófilos e Biomarcadores nos pacientes pediátricos neutropênicos portadores de LV e doença Onco-hematológica – Aracaju 2012.....	48
Tabela 6	Característica Infeciosa nos pacientes pediátricos neutropênicos portadores de LV e doença Onco-hematológica – Aracaju 2012.....	48
Tabela 7	Microorganismos Isolados em Cultura de Corrente Sanguínea nos pacientes pediátricos neutropênicos portadores de LV e doença Onco-hematológica – Aracaju – 2012.....	49
Tabela 8	Característica dos pediátricos neutropênicos portadores de doença Onco-hematológica – Aracaju 2012.....	49

GRÁFICOS

Gráfico 1	Dosagem de TNF- α em pacientes portadores de LV e Doença Onco-hematológica – Aracaju – 2012.....	42
Gráfico 2	Dosagem de IFN- γ , em pacientes portadores de LV e Doença Onco-hematológica – Aracaju – 2012.....	42
Gráfico 3	Dosagem de IL-5, em pacientes portadores de LV e Doença Onco-hematológica – Aracaju – 2012.....	43
Gráfico 4	Dosagem de IL-6, em pacientes portadores de LV e Doença Onco-hematológica – Aracaju – 2012.....	44
Gráfico 5	Dosagem de IL-10, em pacientes portadores de LV e Doença Onco-hematológica – Aracaju – 2012.....	45

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 NEUTROPENIA -DEFINIÇÃO	15
2.2 NEUTROPENIA E FEBRE.....	16
2.3 CLASSIFICAÇÕES DA NEUTROPENIA.....	17
2.4 CONCEITOS IMPORTANTES NA NEUTROPENIA: SIRS E SEPSE.....	18
2.5 EPIDEMIOLOGIA NA NEUTROPENIA.....	19
2.6 ETIOLOGIA E FATORES DE RISCO NA NEUTROPENIA.....	21
2.7 ESTRATIFICAÇÃO DE RISCO NA NEUTROPENIA.....	23
2.8 DIAGNÓSTICO NA NEUTROPENIA.....	24
2.9 RESPOSTA IMUNE NA LV.....	26
2.10 BIOMARCADORES BIOLÓGICOS.....	28
3 JUSTIFICATIVA.....	35
4 OBJETIVOS.....	36
4.1 OBJETIVO GERAL.....	36
4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	36
5 CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	37
5.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	37
5.2 LOCAL DO ESTUDO.....	37
5.3 POPULAÇÃO ALVO.....	37
5.4 SELEÇÃO DOS PARTICIPANTES.....	37
5.5 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	37
5.6 COLETA DOS DADOS.....	38
5.7 COLETA DAS AMOSTRAS.....	38
5.8 DADOS LABORATORIAIS.....	38
5.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40
5.10 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	40
6 RESULTADOS.....	41
7 DISCUSSÃO.....	50
8 CONCLUSÕES.....	54

REFERENCIAS.....	55
APENDICE A	63
APENDICE B.....	65
APENDICE C.....	66
APENDICE D	72
ANEXO A - PARECER DO CEP.....	73
ANEXO B – VALORES DE REFERÊNCIA LABORATÓRIO.....	74

1 INTRODUÇÃO

A neutropenia é caracterizada pela redução do número de neutrófilos circulantes (GROTTO, 2009). É definida quando a CAN é menor ou igual a 500 cél/mm^3 , ou menor ou igual a 1000 cél/mm^3 declinando para 500 cél/mm^3 ou menos, nas últimas 24 ou 48 horas. A incidência, severidade e melhora da infecção estão inversamente proporcionais ao grau da neutropenia (BELESSO et al., 2010)

A neutropenia febril é uma síndrome que ocorre frequentemente em pacientes onco-hematológicos em tratamento quimioterápico e em algumas patologias infectoparasitárias. Apresenta incidência de 10 a 30 % em pacientes com tumores sólidos e mais de 80 % em pacientes com tratamento agressivo para neoplasias hematológicas e nos portadores de leishmaniose visceral. Em 60% dos casos pode se apresentar como Febre de Origem Indeterminada (FOI), devido à baixa resposta inflamatória, o que pode ocultar uma bacteremia por gram negativo, sendo, por isso, considerada uma emergência médica, devido à alta mortalidade (ANTONIADOU; GIAMARELLOU, 2007). A leishmaniose visceral (LV) também ocorre com quadro semelhante, embora poucos trabalhos relatem os sinais e sintomas associados à evolução clínica desfavorável de pacientes (BRASIL, 2011).

A conduta para neutropenia febril (NF), nestas últimas três décadas é o início rápido de terapia empírica antimicrobiana, para reduzir a mortalidade. Os grandes desafios são: a administração do mais adequado tratamento empírico baseando-se nas alterações do perfil biológico dos agentes infecciosos ao longo do tempo, nas mudanças epidemiológicas das infecções em pacientes neutropênicos, e na frequência de resistência. (ANTONIADOU; GIAMARELLOU, 2007)

A LV nos últimos 20 anos ressurgiu no mundo de forma preocupante. Apesar dos esforços no controle de vetores e reservatórios, no Brasil a LV encontra-se em rápida expansão territorial, acometendo indivíduos de diferentes grupos de idades, sendo as complicações infecciosas e as hemorragias os principais fatores associados à morte, o que torna a identificação precoce dos pacientes que possam evoluir com gravidade de fundamental importância para reduzir a letalidade por meio da instituição de medidas profiláticas e terapêuticas oportunas (BRASIL, 2011).

Nos pacientes onco-hematológicos, a infecção é a principal complicação observada e pode ser de difícil identificação devido à inespecificidade das alterações clínicas. Essas intercorrências são comumente graves e potencialmente fatais, sendo o diagnóstico precoce e o tratamento empírico prontamente instituído com antibioticoterapia de largo espectro as melhores estratégias para mudar a história natural da neutropenia febril (BELLESSO et al., 2010).

Biomarcadores que possibilitem identificar de maneira mais rápida os critérios que indiquem precocemente os quadros de sepse contribuem de forma significativa para melhorar o prognóstico destes pacientes (STANDAGE; WONG, 2011). A detecção prematura do quadro séptico é difícil, principalmente numa população heterogênea como no caso dos neutropênicos febris. (ARANGO; MONTOYA; ARISTIZÁBAL, 2009)

São estratégias importantes o desenvolvimento de métodos para diagnósticos precoce em infecções bacterianas e fúngicas severas, a estratificação de risco para os pacientes, a criação de políticas para a utilização racional de antimicrobianos, e o desenvolvimento de medidas de controle de infecção, como a higiene das mãos por exemplo. (ANTONIADOU; GIAMARELLOU, 2007)

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 NEUTROPENIA - DEFINIÇÃO

Os neutrófilos são a primeira defesa contra agentes infecciosos, por serem o primeiro componente celular da resposta inflamatória e peça fundamental na imunidade inata e o risco de infecção aumenta significativamente quando a Contagem Absoluta de Neutrófilos (CAN) é menor que 500 cel/mm³. (FLEISCHHACK et al., 2000)

Neutropenia é definida quando a CAN é menor ou igual a 500 cél/mm³, ou menor ou igual a 1000 cél/mm³ declinando para 500 cél/mm³ ou menos, nas últimas 24 ou 48 horas. A incidência, severidade e melhora da infecção estão inversamente proporcionais ao grau da neutropenia (BELESSO et al., 2010). É característica de pacientes imunocomprometidos sob uso de quimioterapia para tratamento onco-hematológico, ou para neoplasias hematológicas, associando à alta mortalidade e ao comprometimento do tratamento, implicando redução de doses quimioterápicas e atraso no mesmo. (ANTONIADOU; GIAMARELLOU, 2007)

A neutropenia facilita a invasão e a multiplicação bacterianas, mascarando a clínica da resposta inflamatória, não mascarando o sinal da febre. (CRAWFORD; DALE; LYMAN, 2004). Sickles, Greene e Wiernick (1975) demonstraram que pacientes neutropênicos apresentavam pouca manifestação de infecção: 84% dos pacientes com pneumonia produziam expectoração purulenta, e só 8% dos pacientes com pneumonia e neutropênicos a produziam.

Em estudo prospectivo com 1001 pacientes, 45 % dos pacientes com bacteremia documentada apresentaram outro sinal de infecção além de febre e quando CAN < 100 cel/mm³, 22% dos pacientes com faringite apresentaram exudato purulento; 44%, 33% e 11% apresentaram disúria, aumento da frequência miccional e piúria, respectivamente, em pacientes com infecção de trato urinário; sinais clínicos de inflamação meníngea estavam ausentes em pacientes com meningite e flutuação de abscesso perineal. (PIZZO, 1993; SICKLES; GREENE; WIERNICK, 1975)

2.2 NEUTROPENIA E FEBRE

Febre é definida como a elevação da temperatura corporal acima do nível normal mantido pelo indivíduo, com mudança nos níveis termorreguladores centrais do hipotálamo. É um mecanismo adaptativo de benefício para o organismo, estimulando o sistema imune e acarretando aumento da migração de neutrófilos e mais produção de citocinas. Constitui, portanto, um marcador útil de inflamação e valores mais elevados de temperatura reflete mais gravidade do processo inflamatório. (MENDES; SAPOLNIK; MENDONÇA, 2007)

A febre pode ser o único sinal de infecção e 60% dos episódios febris em pacientes neutropênicos são considerados como Febre de Origem Indeterminada (FOI), mas como 70% destes pacientes respondiam à terapia empírica, era mais provável que tais episódios fossem por causa de infecções indetectadas, que se não tratadas aumentam a mortalidade, principalmente se representarem bacteremia oculta por gram negativos. (BODEY et al., 1996)

A IHS (Immunocompromised Host Society) define como critérios de febre a presença de temperatura oral maior ou igual a 38°C aferidas duas vezes nas ultimas 12 horas. A febre como uma manifestação de infecção ou inflamação não é clara em pacientes neutropênicos já que as citocinas pro inflamatórias e necessárias para a manifestação dela são bloqueadas por várias células, como por exemplo: macrófagos, linfócitos, fibroblastos, células epiteliais e endoteliais (OUDE et al., 2002).

Em relação à definição de febre, nossos conceitos brasileiros são distintos aos publicados devido ao método de mensuração da temperatura corporal. No Brasil não temos o hábito de medir a temperatura oral ou timpânica como nas principais referências, as quais definem febre como temperatura oral ou timpânica através de uma única medida superior a 38,3°C ou a duração da temperatura $\geq 38^{\circ}\text{C}$ por mais de uma hora (CHERIF et al., 2006; GIRMENIA et al, 2007). No Brasil aferimos a temperatura axilar, portanto seus parâmetros são inferiores à temperatura oral. Souza Viana et al. (2008), ao analisarem adultos brasileiros neutropênicos febris, definiram febre como temperatura axilar $\geq 38^{\circ}\text{C}$. Em estudo realizado no Japão foi definido febre como temperatura axilar $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$ (MATSUOKA et al., 2006). Em recente estudo de revisão, não foi encontrado consenso em relação ao conceito de febre

utilizando a mensuração da temperatura axilar, entendendo-se que a temperatura axilar que representa febre encontra-se entre 37,5° e 38°C, por isto muitos usam 37,8°C. (BELESSO et al., 2010)

Neutropenia febril (NF) é uma síndrome que cursa com dois componentes (febre e neutropenia), segundo IDSA (Infectious Disease Society of America) e IHS (Immunocompromised Host Society). Febre é definida como uma temperatura oral maior ou igual a 38.3°C, em uma única aferição ou maior ou igual a 38°C durante uma hora. (ANTONIADOU; GIAMARELLOU, 2007)

No contexto da NF, deve-se procurar descartar todas as outras causas de febre não infecciosa, como drogas, transfusões, entre outras. A medida da temperatura retal deve ser evitada, assim como exames retais, colonoscopias, enemas, pois pode ser porta de entrada de patógenos em pacientes com mucosite, hemorróidas, entre outras lesões tóxicas. Lembrar que a presença de febre pode também ser bloqueada por uso de terapias, como corticosteróides, idade avançada, choque. (ROLSTON, 2004)

2.3 CLASSIFICAÇÕES DA NEUTROPENIA

A neutropenia é classificada em leve, moderada e grave, com base nos valores do número absoluto de neutrófilos. Valores entre 1.000 e 1.500 células/mm³ são considerados neutropenia leve; entre 500 e 1.000 células/mm³, moderada; e valor inferior a 500 células/mm³ forma grave (MENDES; SALPONIK; MENDONÇA, 2007). Essa classificação é útil em predizer o risco de infecção bacteriana grave.

Hoje, The Common Toxicity Criteria of National Cancer Institute classifica em 4 graus a neutropenia relacionada à terapia anti-neoplásica: 0: limites normais (CAN é maior ou igual a 2000 cél/mm³); 1: CAN está entre 1500 e 2000 cél/mm³; 2: CAN está entre 1000 e 1500 cél/mm³; 3: CAN está entre 500 e 1000 cél/mm³; 4: CAN é menor que 500 cél/mm³. (ANTONIADOU; GIAMARELLOU, 2007)

A duração da neutropenia é outra variável que se relaciona com o risco da infecção. Estima-se que paciente classificado como grau 4 evolua para infecção com 3 semanas de neutropenia e a duração da NF após o início do episódio febril afeta a resposta ao tratamento clínico e a incidência de complicações. (ANTONIADOU; GIAMARELLOU, 2007)

2.4 CONCEITOS IMPORTANTES NA NEUTROPENIA: SEPSE E SIRS

Outro conceito importante a ser descrito é a sepse, que é um conjunto de sinais e sintomas que traduz a reação do organismo à presença da infecção. É uma Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS) com evidências de ser secundária a uma infecção, visto que existem SIRS desencadeados por processo não infeccioso, como pancreatite, grandes queimaduras, trauma. A presença de dois ou mais critérios de SIRS secundária a uma infecção definem um paciente com quadro séptico (TABELA 1) (MENDES; SAPOLNIK; MENDONÇA, 2007) . A sepse grave manifesta-se quando um paciente séptico desenvolve qualquer manifestação desencadeada, obrigatoriamente, pela própria sepse. As principais são: a) cardiovascular (hipotensão arterial); b) respiratória (lesão pulmonar grave levando à hipoxemia); c) renal (oligúria e/ou creatinina elevada); d) hepática (hiperbilirrubinemia direta); e) hematológica (plaquetopenia) e f) sistema nervoso central (encefalopatia – alteração do estado mental). Portanto, pode-se definir choque séptico como uma condição de hipotensão persistente, refratária a reposição volêmica, sendo necessário o uso de drogas vasopressoras para estabilização da pressão arterial. (SILVA, 2006)

Tabela 1 - Critérios para o estabelecimento de SIRS (dois ou mais critérios)

Temperatura	> 37,8°C ou < 36°C
Frequência cardíaca	> 90 bpm (ou > percentil 95 para a idade*)
Frequência respiratória	> 20 rpm (ou > percentil 95 para a idade*)
Hipocapnia	PaCO ₂ < 32mmHg ou paciente sob ventilação mecânica
Número de leucócitos [†]	>12.000/mm ³ ou < 4.000/mm ³ ou presença de >10% de bastões

[†] Não foi considerado na maioria dos estudos com pacientes neutropênicos febris.

Tem-se visto um duplo papel dos neutrófilos no mecanismo da sepse. Apesar de eles serem essenciais na erradicação dos patógenos, a excessiva inibição dos oxidantes e proteases pelos neutrófilos também é responsável pela injúria dos órgãos na sepse. Devido ao seqüestro pulmonar dos neutrófilos e à freqüente complicação da síndrome da resposta inflamatória sistêmica em pacientes com sepse, esta ligação entre a resposta exacerbada da ativação neutrofílica e a injúria orgânica era vista como prejudicial aos pulmões. Apesar disso, outros estudos em que fatores de estimulação às colônias granulocíticas eram usados a fim de aumentar o nº de neutrófilos e melhorar sua função, foi demonstrado melhora na sobrevida de pacientes com sepse. (RICHARD; HOTCHKISS; KARL, 2003)

2.5 EPIDEMIOLOGIA NA NEUTROPENIA

A febre é a principal e, muitas vezes, a única manifestação de infecção no paciente neutropênico. Relata-se que até 60% dos pacientes com NF poderão estar infectados e até 20% poderão apresentar bacteremia, mesmo sem outras evidências clínicas de infecção. (SOUZA et al., 2008)

Pacientes neutropênicos severos apresentam difícil avaliação devido à baixa resposta inflamatória, principalmente se acompanhados de anemia. Logo, os sinais clássicos de inflamação estão suprimidos, necessitando especial cuidado por parte do médico na história clínica e no exame. (HUGHES et al., 2002)

Antes de 1986, organismos gram-negativos eram os patógenos mais encontrados. Entretanto, desde então os organismos gram-positivos predominam. Comparando os dois períodos, o índice de resposta à terapia antimicrobiana empírica foi semelhante (69% vs. 68%, respectivamente); mas, a porcentagem de episódios com resposta máxima à terapia ascendeu nos últimos anos, de 86% antes de 1986 para 94% a partir desse ano ($p < 0,0001$). (ELTING et al., 1997)

Em uma série de estudos controlados e randomizados conduzidos pelo EORTC (*“European Organization for Research and Treatment of Câncer”*), a freqüência de bacteremia com germe gram-positivo elevou de 29% em um estudo conduzido entre 1973 e 1976, para 41% entre 1983 e 1986, 64% entre 1986 e 1988, 67% entre 1991 e 1992, e 69%

entre 1993 e 1994, enquanto o índice de bacteremia por agente gram-negativo isolado reduziu de 71% para 31%. (PAUL et al., 2007)

Atribui-se essa modificação do padrão epidemiológico das infecções a fatores distintos, entre os quais podemos mencionar: o uso profilático de antimicrobianos contra bacilos gram-negativos endógenos; o uso de cateteres venosos centrais de duração prolongada; e o dano à mucosa oral e gastrointestinal produzida pela toxicidade de altas doses de quimioterápicos, que favorecem a translocação de microorganismos, antes incomuns, para a corrente sanguínea. (LECHUGA; JAQ; PB, 2007)

Em contraste, países em desenvolvimento, os organismos gram-negativos, incluindo *P. aeruginosa*, *E.coli* e *Klebsiella* spp. ainda predominam, com um padrão similar ao dos Estados Unidos e Europa dos anos 60 e 70. (PIZZO, 1999)

Em uma metanálise com a seleção de 10 estudos randomizados contendo pacientes com câncer e neutropenia, demonstrou-se o impacto da variação da CAN onde pacientes com níveis em ascensão obtinham taxas de resposta melhores (96%) em comparação com número de neutrófilos em redução ou inalteráveis (87%; $p < 0,0001$). Essa diferença foi mais evidente quando avaliado em pacientes com bacteremia complexa complicada por profunda neutropenia ($CAN < 100$ células/mm³), onde houve uma diferença de 23% no índice de resposta quando comparando pacientes com elevação no número de neutrófilos (86% de resposta) com aqueles com níveis inalterados (63%; $p = 0,04$). Além disso, verificou-se que o índice de resposta à terapia antimicrobiana inicial foi menor nos pacientes que se submeteram ao transplante de medula óssea comparado aos que não se submeteram (59% vs. 71%; $p = 0,002$). (ELTING et al., 1997)

Em um estudo realizado com 253 crianças com neutropenia febril de baixo risco induzida por quimioterapia, totalizando 580 episódios da doença, foi observado que em 330 episódios apenas 21 (6,0%) foram associados com re-internação por recidiva de febre após sete dias. Em apenas seis desses 21 casos (ou 2% dos 330 episódios) havia evidência de restabelecimento da medula e em nenhum dos casos a hemocultura foi positiva na re-hospitalização. (AQUINO; TKACZEWSKI; BUCHAMAN, 1997)

Informações epidemiológicas específicas devem ser consideradas com atenção em pacientes pediátricos: contato com outras crianças portadoras de infecções comuns da

infância, erupções sazonais, viagens, contatos com animais de estimação, uso recente de medicações imunobiológicas como vacinas contendo microorganismos atenuados. (PICAZO, 2004)

A estratificação da neutropenia febril pode auxiliar na escolha da terapia antimicrobiana a ser empregada, assim como a via de administração e a possibilidade de tratamento ambulatorial, além da provável etiologia. (MENDES; SAPOLNIK; MENDONÇA, 2007)

2.6 ETIOLOGIA E FATORES DE RISCO NA NEUTROPENIA

Durante os anos 50, o agente etiológico mais prevalente entre os pacientes com neutropenia febril era o *S. aureus*. Porém, nas duas décadas subseqüentes bactérias gram-negativas emergiram, sendo a infecção por *P. aeruginosa* e enterobactérias (*E. coli* e *Klebsiella spp.*) particularmente comuns, associadas a um alto índice de mortalidade. Já no final dos anos 80 e início dos anos 90, acompanhamos um crescente aumento nas infecções documentadas com etiologia gram-positiva. Na atualidade, os mais comuns agentes infecciosos são os estafilococos coagulase-negativo, embora enterococos e *S. aureus* também estão presentes (PICAZO, 2004). Há relatos de outras bactérias como pneumococos e *S. viridans* poderem causar infecções graves nos pacientes neutropênicos febris. (MENDES; SALPONIK; MENDONÇA, 2007)

Um estudo sobre o efeito da bacteremia em pacientes com câncer apontou o *S. aureus* metilino-resistente (MRSA) como um germe isolado incomum (3%), entretanto, 62% dos casos documentados de *Staphylococcus* cogulase-negativa foram resistentes à metilina. Entre os pacientes com bacteremia devido a este germe, o índice de resposta à terapia antimicrobiana inicial foi menor com episódios causados por organismos metilino-resistente (55%) do que aqueles causados por organismos metilino-suscetível (73%; $p=0,06$). (ELTING et al., 1997). Um padrão similar foi evidenciado nas bacteremias causadas por *Streptococcus* α -hemolíticos; 91% dos pacientes com bacteremia causadas por organismos sensíveis à penicilina responderam ao regime antimicrobiano inicial, comparados com somente 61% dos pacientes com bacteremias por organismos resistentes à penicilina ($p = 0,0004$). (ELTING et al., 1997)

“Guidelines” de países orientais e europeus (como pelo grupo alemão Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology of Oncology (DGHO)) têm mostrado a tendência de predomínio de cocos gram-positivos no estudo microbiológico confirmado dos casos. (MENDES; SALPONIK; MENDONÇA, 2007)

O aparecimento e rápida disseminação de cepas de enterococos com alto grau de resistência aos aminoglicosídeos têm provocado preocupação no meio médico porque são responsáveis pelas doenças mais severas e com pior prognóstico. A resistência desses agentes etiológicos a múltiplas drogas pode ser atribuída à beta-lactamase cromossômicas induzidas pelo uso freqüente de cefalosporinas de 3ª geração. (PICAZO, 2004)

Os fungos, principalmente *Candida albicans* e *Aspergillus spp*, são responsáveis por 30 a 40% dos agentes infecciosos confirmados após o 5º dia de neutropenia, sendo responsáveis pelas mais severas infecções. (MENDES; SALPONIK; MENDONÇA, 2007)

A freqüência da neutropenia é muito influenciada pela intensidade e o tipo de quimioterapia usada, do tipo e das comorbidades da doença (transplante de células-tronco periférico, transplante e medula óssea, indução quimioterápica de leucemia mielóide aguda), uso concomitante de radioterapia, fase da terapia (maior risco em ciclos iniciais, principalmente no primeiro), grau de envolvimento de medula óssea, e fatores específicos do paciente, como idade, estado geral e comorbidades. (SCOTT, 2002)

Episódios de febre em períodos neutropênicos pós terapia anti-neoplásica, não só em FOI, mas também em infecções documentadas, afetam o índice de sobrevida do paciente, tanto pelo atraso no tratamento quanto pela necessidade de redução da dose quimioterápica. . (SCOTT, 2002) O risco de episódios febris aumenta quando após o 10º dia do primeiro ciclo de quimioterapia, os neutrófilos caem para menos de 500 cél/mm³. (SILBER et al., 1998)

Há outros fatores que pioram o quadro dos pacientes neutropênicos aumentando o risco e o espectro de complicações possíveis, como: quebra da barreira mecânica por mucosite induzida por quimioterapia, alterações sanguíneas (plaquetopenia, por exemplo), métodos invasivos, como cateter venoso central implantado ou não; alteração da flora bacteriana do paciente devido às diversas hospitalizações e grande uso de antimicrobianos e antifúngicos; alterações das funções orgânicas causada por co-morbidades (insuficiências renal e hepática, por exemplo); medicações que alteram outras linhas da defesa imunológica, como função

fagocitária ou resposta humoral (anticorpos monoclonais, corticosteróides, fludarabina) (SCOTT, 2002). Recentes estudos mostram fatores genéticos relacionados ao risco e resposta ao tratamento em pacientes com neutropenia (NETH; TURNER; KLEIN, 2001).

Lembrar que pacientes neutropênicos sem ser por causa oncológica, mas sim por toxicidade de drogas ou doença viral, não apresentam o mesmo risco de infecção aguda, possivelmente devido à integridade à mucosa. Menores riscos também são vistos em pacientes com anemia aplástica ou neutropenia congênita. Pacientes HIV – positivos apresentam certo risco relativo de provável infecção, que é menor, quando comparado a pacientes neutropênicos após quimioterapia citotóxica (PIZZO, 1999).

NF em pacientes com alto risco de complicações infecciosas é uma emergência médica e em 50% dos pacientes apresentando febre e neutropenia, pode haver infecção oculta, apesar de 20% destes com grau 4 de neutropenia, terem bacteremia por pseudomonas, se não tratada, agrava o prognóstico aumentando a mortalidade de 33% para 75%, nas primeiras 24-48 horas. (ANTONIADOU; GIAMARELLOU, 2007). Em decorrência disso, desde 1971 que se preconiza tratamento empírico intravenoso com antibiótico de amplo espectro imediatamente em pacientes com NF. (HUGHES et al., 2002). Recentemente foi introduzido o tratamento com fatores de crescimento e pacientes com baixo risco para complicações infecciosas devido ao tratamento, aumentam em 70% a chance de serem tratados ambulatorialmente, com prescrição oral de antibióticos de amplo espectro, aumentando assim, o conforto do tratamento e reduzindo os custos. (ANTONIADOU; GIAMARELLOU, 2007; SCOTT, 2002; VIDAL et al., 2004)

2.7 ESTRATIFICAÇÃO DE RISCO NA NEUTROPENIA

Talcott et al.(1992) elaboraram um modelo clínico com fatores de risco avaliados nas primeiras 24 horas de admissão, dividindo os pacientes em quatro categorias , sendo que as categorias I, II e III são pacientes de alto risco, e categoria IV é para pacientes sem fatores de risco presente (ANTONIADOU; GIAMARELLOU, 2007).

Categoria I: pacientes hospitalizados com presença de NF.

Categoria II: pacientes ambulatoriais que apresentam alguma co-morbidade aguda, em decorrência da hospitalização independentemente da febre ou leucopenia.

Categoria III: pacientes sem co-morbidade aguda, mas com câncer incontrolado, como por exemplo: leucemia em remissão incompleta ou progressão do câncer mesmo em regime quimioterápico.

Depois, foi elaborado um sistema de escores com modelo preditivo, apresentando sete variáveis com escore máximo de 26, baseado no Multinational Association for Supportive Care in Cancer (MASCC). (ANTONIADOU; GIAMARELLOU 2007):

1. Presença de doença com sintomatologia moderada (escore 3), média (escore 5) ou ausente (escore 5)
2. Ausência de hipotensão (escore 5)
3. Ausência de doença pulmonar obstrutiva crônica (escore 4)
4. Presença de tumor sólido (escore 4) ou ausência de história pregressa de infecção fúngica em caso de neoplasia hematológica (escore 4)
5. Estado ambulatorial (escore 3)
6. Ausência de desidratação (escore 3)
7. Idade menor que 60 anos para adultos (escore 2)

Escore maiores ou iguais a 21 predizem um risco menor que 5% de complicações severas durante um episódio de NF e um risco muito menor de mortalidade (<1%) (ANTONIADOU; GIAMARELLOU, 2007). Ainda é um desafio para esse sistema de escore discriminar o paciente de alto risco que apresenta escore menor que 21, pois escores entre 7 e 14 bloqueiam a mortalidade, que é duas vezes maior que a mortalidade de pacientes com escore de 19 a 20. (KLASTERSKY, 2002)

2.8 DIAGNÓSTICO NA NEUTROPENIA

Apesar de febre de origem indeterminada (FOI) geralmente cursar com ausência de sinais de infecção localizada, a avaliação clínica de pacientes com NF deve ser diária e

repetida, com bases nos episódios febris, e na duração deles. Mesmo com sinais mínimos, os principais sítios de infecção em pacientes portadores de NF, são: pulmões (25%); orofaringe (25%); partes moles, pele e sítios de cateter venoso central (15%); períneo (10%); e os sítios menos frequentes de porta de entrada para patógenos são os tratos gastrointestinal e urinário (5%) juntamente com os seios nasais (5%). (ANTONIADOU; GIAMARELLOU, 2007)

Na avaliação inicial, atentar para uma possível infecção oculta. Colher minuciosamente a história do paciente, condições de vida. Ver a existência ou pré-existência de quimioterapia anti-neoplásica e tempo de tratamento; contato com pessoas com infecção viral; uso de antibióticos ou anti-fúngicos para profilaxia ou tratamento de infecção prévia; pesquisar existência de alergias, interações medicamentosas, transfusão sanguínea ou derivados sanguíneos. (ANTONIADOU; GIAMARELLOU, 2007)

No exame físico, pesquisar possíveis sítios de infecção, como orofaringe, pele e seus orifícios, axila, períneo, unhas, olhos, seios nasais, locais de acesso vascular, pulmões. Se FN estiver como FOI, pesquisar nódulos cutâneos, úlceras, ectima gangrenosa, escaras, dores em períneo e em seios paranasais, hiperemia conjuntival, documentando a etiologia da infecção. Sinais vitais, débito urinário, função respiratória, estado mental, devem ser analisados e monitorados em decorrência da instabilidade hemodinâmica, hipoxemia, confusão mental, implicando piora clínica e complicação no tratamento da infecção. (GIAMARELLOU; ANTONIADOU, 2001)

Uma das mais importantes decisões do paciente imunocomprometido é se a febre apresenta rápida evolução, necessitando de intervenção com terapia antimicrobiana empírica. Pacientes com $CAN < 500 \text{ cél/mm}^3$ e histórico de esplenectomia, apresentam maior probabilidade de infecção por patógenos agressivos, com grande risco de letalidade dentro dos pacientes imunodeprimidos febris (PIZZO, 1999).

A) DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

A avaliação laboratorial na neutropenia febril deve constar de hemograma completo e testes bioquímicos com duas amostras de hemocultura (ANTONIADOU; GIAMARELLOU, 2007). Se cateter venoso central está presente, deve-se fazer cultura, tanto de veias periféricas quanto do lúmen do cateter venoso central, como critérios diagnósticos de infecção relacionada ao cateter, principalmente se há diferença de tempo para a positividade

do cateter (por exemplo: hemocultura de cateter venoso central torna-se positiva 120 minutos antes que uma cultura simples de acesso periférico). (MERMEL et al., 2001). A urocultura também é importante, pois a NF pode diminuir a disúria e a piúria nas infecções do trato urinário. Também se deve fazer cultura de outros locais em que haja suspeita clínica de infecção presente. Lembrar a presença dos patógenos resistentes, como *S. aureus* resistente à meticilina, enterococos resistentes à vancomicina, quando houver controle de infecção (HUGHES et al., 2002).

B) DIAGNÓSTICO POR IMAGEM

Radiografia de tórax, mesmo não sendo anormal em presença de pneumonia, deve ser feita para comparações posteriores, e se febre de origem indeterminada persiste, a radiografia deve ser repetida, e acompanhada de uma TC de tórax de alta resolução, podendo revelar sinais precoces de pneumonia de etiologia fúngica, através do « sinal do halo », nas hifomicoses pulmonares, por exemplo, (ANTONIADOU; GIAMARELLOU, 2007). Dor em hemi-abdomen direito sugere uma TC de abdome, podendo revelar um espessamento da parede intestinal (maior do que quatro mm), sugerindo uma enterocolite neutropênica ou típica (CAILLOT et al., 2001; HAUHHAARD; ELLIS; EKELUND, 2002). A TC e a ultrassonografia de abdome também são úteis em caso de persistência de febre de origem indeterminada pós normalização da contagem neutrofílica, e em caso de lesões hipodensas em fígado ou baço, pode ser sugestivo de candidíase disseminada crônica, na forma hepato-esplênica, condição sem sinais ou sintomas, exceto pela presença de febre, aumentos séricos da fosfatase alcalina, hemocultura negativa, necessitando de tratamento anti-fúngico durante os ciclos quimioterápicos, e por mais 6 meses pós termino dos ciclos. (GORSCHLUTER et al., 2005; KONTOYIANNIS et al., 2000)

2.9 RESPOSTA IMUNE NA LV E NO CANCER

As infecções por *Leishmania* levam a uma ativação específica da resposta imunológica por parte do hospedeiro. Há uma expansão de vários tipos de células, que pode ser caracterizada pelo aumento de células T CD4+, apresentando um perfil de citocinas Th1 ou Th2. Se a resposta for do tipo Th1, citocinas como IL-2, IFN- γ , TNF- α e IL-12 serão produzidas, ativando os macrófagos e, conseqüentemente, levando a destruição dos parasitos.

(HOLZMULLER; BRAS-GONÇALVES; LEMESRE, 2006; REIS et al., 2006). Tipicamente LV está associada com o aumento da produção de múltiplas citocinas essencialmente pró-inflamatórias, e quimiocinas. Níveis plasmáticos elevados de IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-15, IFN- γ , proteína indutível-10 (IP-10), monocinas induzida por IFN- γ e TNF- α são encontradas em portadores de LV. Níveis elevados RNA-m de IFN- γ foi encontrado no baço e na medula óssea durante a fase aguda da infecção. (KUMAR; NYLÉN, 2012). Em pacientes com LV ativa, a forma clínica da doença será determinada de acordo com a resposta imune apresentada pelo indivíduo. Logo, a infecção sistêmica é caracterizada pela disseminação da *Leishmania* pelos linfonodos, baço, fígado, medula óssea e outros órgãos e aumento na quantidade de anticorpos circulantes. Além disso, há a ausência da resposta mediada por células Th1, uma diminuição na produção de IL-12, IFN- γ e alta produção de IL-4 e IL-10. Sendo assim, apresentam o aumento do fígado e do baço (hepatoesplenomegalia), que são sinais característicos da doença e consequências da elevação da carga parasitária nesses órgãos (PERUHYPE-MAGALHÃES et al., 2005; TRIPATHI; SINGH; NAIK, 2007).

No câncer, a complexidade das interações entre as células tumorais e o sistema imune do hospedeiro envolve diversas linhagens celulares e mediadores, além disso, respostas imunológicas podem se comportar de maneiras diferentes em cada indivíduo. A resposta imune em alguns hospedeiros pode inibir o crescimento tumoral levando a remissões espontâneas ou pode promover inflamação crônica induzindo a progressão tumoral e angiogênese (DOUGAN et al., 2009). A imunidade inata é a primeira linha de defesa do hospedeiro contra patógenos e células tumorais e os principais tipos celulares envolvidos incluem células NK e macrófagos, e a resposta imune adaptativa está envolvida na eliminação de microorganismos invasores e na defesa do hospedeiro em fases mais tardias do crescimento tumoral, sendo o linfócito T o tipo celular mais específico contra os antígenos tumorais e responsáveis pela memória imunológica (VAN DE WIELE, 2009). O reconhecimento e a lise de células tumorais por células NK também são de extrema relevância na imunidade inata contra tumores. Células NK podem ser ativadas por citocinas, como a IL-2 e o IFN- γ , desencadeando um processo de destruição da célula-alvo. Adicionalmente, a IL-12 produzida por macrófagos e outras células apresentadoras de antígenos, possui participação importante na fase inicial da ativação de células NK estimulando-as a exercerem citotoxicidade e a produzirem mais IFN- γ que, por sua vez, aumenta o potencial tumoricida dos macrófagos (De VISSER et al., 2006). Algumas citocinas são prontamente produzidas em resposta a sinais de alerta e podem alterar substancialmente a função das células

dendíticas, por induzir a diferenciação, ativação, migração e maturação dessas células como, por exemplo, fator estimulador de colônia de granulócito-macrófago (GM-CSF), IFN- γ , IL-4, IL-5, IL-12 e TNF (SERAFINI et al., 2004). Após a indução da primeira linha de defesa do hospedeiro, o ambiente é organizado para uma resposta imune mais sofisticada onde interações entre células apresentadoras de antígenos maduras e citocinas levam a uma resposta imune mais eficiente e direcionada. As células da resposta imune adquirida, como os linfócitos B e linfócitos T, são diferenciadas dos leucócitos da imunidade inata pela expressão de receptores antigênicos, produzidos por rearranjos genéticos, que permitem um repertório de ação mais vasto do que as células da imunidade inata (De VISSER et al., 2006).

2.10 BIOMARCADORES

Um biomarcador é um indicador de um processo biológico normal, de um processo patogênico ou de uma resposta farmacológica a um tratamento; é uma medida quantificável de homeostase biológica que define o que é “normal” e fornece os subsídios para prever ou detectar o que é “anormal”. É usado para identificar pacientes com risco aumentado de desfechos desfavoráveis; para estabelecer um diagnóstico e informar o tratamento mais rápido, mais eficaz e menos dispendioso; para estratificar o risco atribuído a determinado subgrupo; para monitorar a resposta à intervenção e para prevenir os desfechos desfavoráveis. (MARSHALL; REINHART, 2009)

A) Biomarcadores Envolvidos na Resposta Inflamatória

Recentemente, o uso das concentrações plasmáticas de diversas citocinas e proteínas de fase aguda tem sido proposto como ferramenta diagnóstica e prognóstica nos pacientes neutropênicos após a ocorrência da febre. Vários estudos associaram níveis séricos de diferentes marcadores inflamatórios ao desenvolvimento de bacteremia, sepse ou até mesmo a estratificação do paciente com mínimo risco de complicações (STANDAGE; WONG, 2011)

Concentrações plasmáticas de PCR, PCT e citocinas pró-inflamatórias têm sido consideradas para avaliar a capacidade de identificar infecções bacterianas e fúngicas como causadoras de febre nos pacientes neutropênicos. A determinação dos níveis de IL-8 e IL-6,

mais do que a PCR ou da PCT, têm ganhado ampla aceitação na capacidade de prever infecções por gram-negativo. (STRYJEWSKI et al., 2005)

Considerando que infecções agudas, principalmente do tipo bacteremia, apresentam alta incidência de mortalidade, quando comparadas a FOI sem ser infecção oculta, há marcadores de episódios de febre em pacientes neutropênicos em caso de FOI e febre de origem bacteriana ou infecciosa. Altas concentrações séricas de proteínas de fase aguda (PCR-US), citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL1, γ -interferon, IL6, IL8) e moléculas de adesão solúvel têm sido investigadas quanto à possibilidade de contribuir na identificação de infecção como causa de febre em neutropenia (ANTONIADOU; GIAMARELLOU, 2007).

No presente estudo, escolheu-se avaliar os seguintes biomarcadores: Interferon gamma (IFN- γ), Interleucina-5 (IL-5), Interleucina-6 (IL-6), Interleucina-10 (IL-10), Lactato, Proteína C Reativa Ultrassensível (PCR-US), procalcitonina (PCT) e Fator de Necrose Tumoral – alfa (TNF- α).

Interferon gamma (IFN- γ)

O Interferon gamma (IFN- γ) é a principal citocina ativadora de macrófagos e exerce funções críticas na imunidade natural e adquirida mediada por células contra organismos intracelulares. O objetivo final é promover reações inflamatórias ricas em macrófagos. (STANDAGE; WONG, 2011)

Interleucina-5 (IL-5)

A Interleucina-5 (IL-5) é um ativador de eosinófilos e serve como a ligação entre a ativação das células T e a inflamação eosinofílica. As principais ações da IL-5 são ativar eosinófilos maduros e estimular o crescimento e a diferenciação de eosinófilos. (STANDAGE; WONG, 2011)

Interleucina-6 (IL-6)

A Interleucina-6 (IL-6) é um fator crítico no controle dos sistemas imune e hematopoiético. IL-6 faz com que as células B iniciem a proliferação e diferenciação nas células formadoras de anticorpos. A IL-6 também atua em conjunto com o IL-3 para induzir a proliferação de progenitores hematopoiéticos. Adicionalmente, esta citocina induz a produção

de proteínas de fase aguda. IL-6 é secretada pelas células T, B, macrófagos, monócitos, linfócitos, fibroblastos, células endoteliais, queratinócitos e muitas linhagens de células tumorais. (STANDAGE; WONG, 2011). A interleucina-6 (IL-6) é uma citocina com atuação tanto na resposta imune inata como na adaptativa. Ela é sintetizada por monócitos, células endoteliais, fibroblastos e outras células em resposta a microrganismos e também à estimulação por outras citocinas, principalmente interleucina-1 (IL-1) e TNF- α (SOUZA et al., 2008).

A IL-6 se constitui em importante marcador inflamatório. É uma citocina envolvida numa série de atividades imunológicas, em especial a síntese de substâncias de fase aguda pelo fígado, estando envolvida na regulação metabólica da própria PCR. Tal como o seu receptor (gp130), é amplamente expressa durante a reação inflamatória, produzindo efeitos indesejáveis em vários órgãos. (TONET et al., 2008). A IL-6 normalmente é expressa em níveis baixos, exceto durante infecção, trauma ou outros fatores estressantes. (ERSHLER; KELLER, 2000)

Recentes estudos com PCT e interleucina 6 (IL-6) mostraram resultados que variaram significativamente entre episódios bacterêmicos e não bacterêmicos, em FOI e NF, apesar de nenhuma diferença ter sido encontrada nas concentrações de proteína-C reativa, mostrando que IL-6 e PCT são marcadores mais confiáveis do que a proteína-C reativa, para prever bacteremia em pacientes neutropênicos. (PERSSON; SODERQUIST; ENGERVALL, 2005)

Interleucina-10 (IL-10)

A Interleucina-10 (IL-10) é um inibidor de macrófagos e células dendríticas ativados e está envolvida no controle das reações da imunidade natural e da imunidade mediada por células. A IL-10 age nos macrófagos ativados para terminar essas respostas e retornar o sistema ao seu estado de repouso à medida que a infecção microbiana é erradicada. (STANDAGE; WONG, 2011). A IL-10 é um polipeptídeo não glicosilado com cerca de 18 kDa, sintetizado em células imunológicas e tecidos neuroendócrinos neurais. Seu receptor (IL-10R) pertence à família de receptores de citocina de classe II, semelhante aos receptores para interferons. A produção de IL-10 é prejudicada por muitas citocinas, como IL-4, IL-13 e IFN γ , e também pela sua própria autorregulação. Inibe as citocinas pró-inflamatórias, principalmente TNF- α , IL-1 e IL-6, produzidas por macrófagos e monócitos ativados,

estimulando a produção endógena de citocinas antiinflamatórias. Além disso, aumenta a proliferação de mastócitos e impede a produção de IFN γ pelas células matadoras naturais. (SOMMER; WHITE, 2010)

Lactato

Os níveis de lactato do sangue têm sido utilizados em várias situações, entre elas como marcador de hipoperfusão tecidual em pacientes com choque, indicador de ressuscitação adequada após o choque, índice prognóstico pós ressuscitação, fator prognóstico em situações de doenças graves e como diagnóstico etiológico. A acidose metabólica pode ocorrer nos estados de choque e má perfusão orgânica. Em algumas leucemias e doença de Hodgkin, pode ocorrer acidose sem elevação de lactato, ou hipoperfusão sem uma explicação conhecida, daí a importância da sua dosagem sérica em pacientes neutropênicos onco-hematológicos e portadores de leishmaniose visceral, com possível risco de infecção. (STANDAGE; WONG, 2011)

Proteína C Reativa Ultrassensível

É uma protease dependente da vitamina K, com peso molecular de 115 a 135 kDa e derivada da proteína C, que em contato com a trombina forma o complexo trombomodulina, com múltiplas atividades biológicas e importante modulador da resposta sistêmica do hospedeiro à infecção. Exibe propriedades antitrombóticas, pela inibição dos fatores V e VIII ativados, e pró-fibrinolíticas, pela inibição do fator inibidor do plasminogênio 1 (PAI-1). Existem receptores para a proteína C reativa em células endoteliais (Endothelial Protein C Receptors - EPCR), neutrófilos, monócitos, eosinófilos e células epiteliais. (MACIAS et al., 2005). Existem evidências de que a PCR pode ter um efeito direto sobre as células endoteliais e a produção de citocinas inflamatórias, como a IL-6. (PÓVOA, 2010). A conversão periférica da proteína C em PCR está diminuída na sepse, o que contribui para a trombose microvascular. Tem papel importante na imunomodulação, com ações pró e anti-inflamatórias, modulando a cascata do complemento e regulando a opsonização e a fagocitose de bactérias. É uma proteína de fase aguda sintetizada principalmente pelos hepatócitos, mas também por macrófagos alveolares, pelo endotélio e por queratinócitos (XUE; CAMPBELL; JACKSON, 2007); sob estímulo do TNF- α e das IL-1 β , IL-6 e IL-8 (REZENDE JÚNIOR et al., 2005; SILVA; MACHADO, 2005), se liga a polissacarídeos bacterianos ou fragmentos de membranas celulares, impedindo a adesão dos neutrófilos às células endoteliais e a síntese de

superóxidos e estimulando a produção de antagonistas do receptor da IL-1 (PÓVOA, 2010; STANDAGE; WONG, 2011). É, pois, uma proteína anticoagulante, com atividade antitrombótica, antiinflamatória, antiapoptótica e pró-fibrinolítica (CINEL; OPAL, 2009).

Tem indução lenta, começa a ser secretada cerca de 6 horas após o estímulo, as concentrações duplicam-se a cada 8 horas, atingem pico máximo em 48 horas, e os níveis séricos decrescem após a cessação do estímulo (PÓVOA, 2010; SILVA; MACHADO, 2005; STANDAGE; WONG, 2011); tem meia-vida de 4 a 7 horas e faixa biológica estreita. Tem baixa especificidade, elevando-se em infecções por bactérias gram-positivas e gram-negativas e fungos, mesmo em imunossuprimidos, em doenças reumáticas e auto-imunes, em síndromes coronarianas agudas, queimaduras, pancreatites, neoplasias, após transplante de órgãos e pós-operatórios e não se correlaciona com a gravidade da infecção; mas a análise evolutiva dos seus níveis tem valor como guia para antibioticoterapia. (CINEL; OPAL, 2009; STANDAGE; WONG, 2011). É menos usada para discriminar infecção bacteriana em quadros de febre de origem indeterminada em pacientes com neutropenia febril. Correlaciona-se mais com o curso da febre do que com a infecção em si e seu valor pode ser afetado por comorbidades ou por doença do enxerto versus hospedeiro. A PCR-US aumenta tardiamente no curso da infecção (pelo menos 3 dias após o início da febre) e demora para normalizar, em virtude de sua elevada meia-vida plasmática. (STRYJEWSKI et al., 2005) .

Procalcitonina (PCT)

É um peptídeo de 13 kDa, pró-hormônio precursor da calcitonina, produzida principalmente pelas células C da tireóide (SILVA; MACHADO, 2005) que tem a função de regular a concentração sérica de cálcio (STANDAGE; WONG, 2011). Em condições normais apenas a tireóide produz procalcitonina, mas quando o organismo é agredido por um processo infeccioso há um aumento significativo da sua produção por tecidos não tireoidianos. Embora o exato mediador desse estímulo ainda seja desconhecido, evidências sugerem que sinalizadores precoces da inflamação, como o TNF- α , IL-1 β e IL-6, têm papel importante no incremento da sua produção. (STANDAGE; WONG, 2011)

Tem indução rápida, em 2 horas, com pico antes de 24 horas; tem alta biodisponibilidade e larga faixa biológica, com baixa sensibilidade para infecções locais, mas alta para sepse grave e choque séptico. As endotoxinas bacterianas, cirurgias de grande porte, traumas graves e queimaduras são estímulos para sua indução. É um marcador específico de

infecções bacterianas severas (HARBARTH et al., 2001) e sua dosagem seriada, com aumentos diários $\geq 1,0$ ng/ml, tem boa correlação com sepse e com a mortalidade. (JENSEN et al., 2006).

A Procalcitonina (PCT), precursora da calcitonina, tem se mostrado elevada em infecções sistêmicas, principalmente em sepse grave. Em pacientes onco-hematológicos neutropênicos com infecções sistêmicas graves seu aumento foi constatado durante todo o período da febre, sendo que níveis moderadamente elevados são observados em pacientes com bacteremia. (STRYJEWSKI et al., 2005)

Em estudo feito com 115 pacientes foi medido os níveis de PCT antes do início da febre e durante os episódios febris e constatou-se que os níveis de PCT elevaram-se logo, com valores médios no 1º dia de febre em pacientes bacterêmicos, cujo valor foi de 8.23 ng/mL, comparado com 0.86 ng/mL em pacientes com infecção localizada ($p < 0.17$); 2.62 ng/mL em pacientes com sepse grave e 0.57 ng/mL em pacientes com infecções diagnosticadas clinicamente ($p < 0.001$). (GIAMARELLOU; ANTONIADOU, 2001). Um grande decréscimo foi documentado após resolução do quadro febril, apesar de PCT se elevar em piora de quadros infecciosos, o que pode demonstrar que PCT pode ser um marcador a mais de rastreamento de pacientes com episódios febris. Níveis pronunciados de PCT eram encontrados em pacientes com FOI que respondiam à terapia antimicrobiana (indicando infecção oculta), ao contrário dos pacientes não responsivos à mesma. Em outros estudos, os níveis de PCT não se elevaram em bacteremias por estafilococos coagulase-negativa, apesar de em apenas um dos casos do estudo apresentar níveis maiores que 3 ng/mL em um paciente com transplante de medula óssea com invasão por aspergilose. Em decorrência da baixa sensibilidade e especificidade, níveis de PCT ainda não são confiáveis para diagnósticos de infecções fúngicas invasivas (ORTEGA et al., 2004; PERSSON et al., 2004).

PCT apresenta uma sensibilidade de 44-83% e uma especificidade de 64-100% a depender da severidade não desvendada das infecções e do valor de corte usado. Um valor prognóstico negativo é maior que 85% quando em infecções bacterianas os valores de PCT são menores que 0.5 ng/mL. PCT apresenta baixos valores em pacientes neutropênicos precisando de valores de corte mais baixos na estratificação de risco de infecção. (JIMENO et al., 2004)

Em estudo com 95 pacientes, valores de corte abaixo de 0.2 ng/mL falam muito a favor de febre de origem bacteriana (97.1-98.4%). (SCHUTTRUMPF et al., 2003). A avaliação com PCT é mais confiável se usada com medidas seriadas, ao invés de um valor isolado. O valor de PCT como prognóstico ou como mudança de plano terapêutico foi estudada de forma prospectiva em 101 pacientes com neutropenia febril induzida por quimioterapia em neoplasias hematológicas: valores menores ou iguais a 0.4 ng/mL 3 dias depois do início da febre tiveram prognóstico ruim na taxa de 91-100% na detecção de complicações, apesar de valores diários menores que 0.4 ng/mL nos primeiros 8 dias predizerem ausência de complicações posteriores. (PERSSON; SODERQUIST; ENGERVALL, 2005)

Fator de Necrose Tumoral – alfa (TNF- α)

O Fator de necrose tumoral (TNF) é o principal mediador da resposta inflamatória aguda a bactérias gram negativas e outros microorganismos infecciosos e é responsável por muitas complicações sistêmicas. A principal função fisiológica do TNF é estimular o recrutamento de neutrófilos e monócitos para locais de infecção e ativar essas células para erradicar microrganismos (STANDAGE; WONG, 2011). A principal atividade biológica do TNF é uma acentuada citólise e citoestase em diferentes linhagens neoplásicas, tendo ação antitumoral importantíssima. É o principal mediador na caquexia das neoplasias maligna. As demais ações do TNF são semelhantes às da IL-1. As alterações endoteliais, principalmente a perda da função de diminuição de coagulação, a atividade quimiotática e estímulo ao metabolismo oxidativo de fagócitos são ações do TNF compartilhadas com a IL-1. Tem também atividade de pirógeno endógeno, aumenta a reabsorção óssea, a atividade de adipócitos e a expressão de MHC-I e II. Diferentemente da IL-1, o TNF não tem ação em córtex da adrenal. Estimula a produção de IL-6 fazendo com que os hepatócitos produzam proteínas da fase aguda da inflamação. Altas concentrações de TNF no sangue de pacientes com septicemias correlacionam-se com a piora do prognóstico.

3 JUSTIFICATIVA

Diversos guidelines nos últimos 10 anos têm tentado fornecer diretrizes seguras e consolidadas para o diagnóstico e tratamento dos pacientes onco-hematológicos pediátricos com neutropenia febril, infecção, sepse, choque séptico e disfunção de órgãos e sistemas. A importância justifica-se, pois essas afecções constituem a principal causa de mortalidade em crianças com câncer e o principal motivo de indicação de terapia intensiva, tanto nas que se curam como nas que falecem da doença oncológica.

As abordagens da maioria dos protocolos geralmente focam-se em pacientes adultos e não se detêm em questões que envolvem de maneira peculiar a população pediátrica. Desta forma, para que seja segura, a abordagem clínica da neutropenia, da infecção e da sepse em LV e Doença Onco-hematológica e pediátrica, deve levar em consideração questões específicas que envolvem esta população.

Com relação à LV, os pacientes pediátricos neutropênicos necessitam de dados mais contundentes.

No Estado de Sergipe, assim como na literatura médica, são escassos os trabalhos focando o comportamento de biomarcadores IFN- γ , IL-5, IL-6, IL-10, lactato, PCR-US, procalcitonina e TNF- α em pacientes pediátricos neutropênicos portadores de LV e Doença Onco-hematológica.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os biomarcadores IFN- γ , IL-5, IL-6, IL-10, lactato, PCR-US, procalcitonina e TNF- α em pacientes pediátricos neutropênicos portadores de LV e Onco-hematológicos.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Observar os biomarcadores IFN- γ , IL-5, IL-6, IL-10, lactato, PCR-US, procalcitonina e TNF- α nos pacientes neutropênicos pediátricos portadores de LV e doença Onco-hematológica.
- Correlacionar a CAN com os biomarcadores IFN- γ , IL-5, IL-6, IL-10, lactato, PCR-US, procalcitonina e TNF- α nos pacientes pediátricos neutropênicos e portadores de LV e doença Onco-hematológica.

5 CASUÍSTICA E MÉTODOS

5.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Este é um estudo transversal descritivo.

5.2 LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi conduzido no Serviço de Onco-hematologia Pediátrica do Hospital de Urgência de Sergipe (HUSE) e na enfermaria de Pediatria e Infectologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe (HU-UFS). Esta pesquisa foi realizada em colaboração do Laboratório de Biologia Molecular através do Projeto Calazar Brasil-HU/UFS, Laboratório de Análises Clínicas - HU/UFS e equipe de coleta do HU/UFS e HUSE.

5.3 POPULAÇÃO ALVO

Pacientes portadores de neutropenia febril admitidos nestes serviços durante o período de Setembro de 2010 a Maio de 2012.

5.4 SELEÇÃO DOS PARTICIPANTES

Foram selecionados 60 pacientes portadores de LV e 51 pacientes portadores de doença Onco-hematológica. Destes, depois de aplicado os critérios de inclusão, foram selecionados 35 portadores de LV e 35 pacientes onco-hematológicos.

5.5 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Pacientes com Contagem Absoluta de Neutrófilos (CAN) $\leq 1000 \text{ cel/mm}^3$
- Pacientes com idade entre zero e 18 anos

5.6 COLETA DOS DADOS

Foi utilizada uma Ficha de Coleta de Dados (APÊNDICE A), na qual constam dados dos pacientes, retirados do prontuário médico, como gênero, idade, temperatura, exames laboratoriais, doença de base, se em uso de quimioterapia.

5.7 COLETA DAS AMOSTRAS

As amostras foram coletadas a partir da internação dos pacientes. Foram incluídas na coleta dos exames de sangue de rotina (para evitar necessidade de outra punção venosa) e foi realizada pela equipe de coletores do HU/UFS e HUSE. Foi coletado sangue para hemograma completo em tubo mini-collect de 1 ml tipo vacutainer com EDTA, duas amostras de hemocultura em frasco pediátrico e para as dosagens de lactato, PCR-US ultrasensível, PCT, IL-5, IL-6, TNF- α , Interferon- γ em tubo seco com gel. As amostras foram transportadas do HUSE para o laboratório de Análises Clínicas do HU em caixa térmica refrigerada com gelo seco. Para obtenção do soro, o tubo seco foi centrifugado a 3000 rpm a temperatura ambiente e depois acondicionado em eppendorfs, e congelados em freezer a -70°C .

5.8 DADOS LABORATORIAIS

O hemograma completo foi realizado no setor de hematologia do LAC/HU em aparelho automatizado da marca Sysmex 2000 XT – Roche - Suíça, que utiliza a metodologia de impedância associado à citometria de fluxo.

A dosagem PCR-US e do lactato foi realizada no setor de bioquímica do LAC/HU, no equipamento Vitros 5.1 – Johnson & Johnson - Canadá, que utiliza a metodologia da química seca. Considerou-se como referência o valor fornecido pelo fabricante, que é de $< 1,0 \text{ mg/dl}$ para a PCR-US e $0,7\text{-}2,1 \text{ mmol/L}$ para o lactato.

A hemocultura foi realizada no LAC/HU no laboratório de Microbiologia, com pesquisa de bactérias aeróbias, anaeróbias e leveduras no equipamento Bactec FX-Becton Dickson – EUA, a identificação microbiológica e o antibiograma foram realizados no equipamento Walk-way 40, pela metodologia Microscan-Siemens-Alemanha.

A PCT foi dosada no Instituto Genese de Pesquisa Científicas em São Paulo, utilizando a metodologia de ELISA com sensibilidade do kit=12.4 pg/mL. O limite de detecção de PCT em indivíduos saudáveis é geralmente $< 0,1$ ng/ml (< 100 pg/ml) (GENDREL et al., 1996). Valores de referencia encontrados na literatura para pacientes imunodeprimidos foram os seguintes: PCT $< 0,5$ ng/ml (< 500 pg/ml) – Febre de Origem Indeterminada, PCT de 0,5-1,0 ng/ml (500-1000pg/ml) – infecção localizada, PCT de 1,0-5,0 ng/ml (1000-5000pg/ml) – bacteremia ou sepse, PCT $> 5,0$ ng/ml (> 5000 pg/ml) – sepse grave (GIAMARELLOU; ANTONIADOU, 2001). Wanner et al. (2000) encontraram níveis de procalcitonina de $1,3 \pm 0,2$ ng/ml, $2,0 \pm 0$ ng/ml, $8,7 \pm 2,5$ ng/ml e $38,6 \pm 5,9$ ng/ml, respectivamente, em pacientes com SIRS, sepse, sepse grave e choque séptico. Níveis acima de 1,8 ng/ml têm se mostrado de alta sensibilidade e especificidade superior a 90% como marcador de infecção e identificam pacientes com alto risco de desenvolver sepse grave ou choque séptico; níveis acima de 10 ng/ml são registrados em pacientes com falência orgânica (CASTELI et al., 2009).

Os valores de referência das citocinas foram considerados os seguintes: IFN- γ (valor de referência: 0-5 pg/ml), IL-5 (valor de referência: 0-5 pg/ml), IL-6 (valor de referencia: 0-5 pg/ml), IL-10 valor de referência: 0-18 pg/ml) e TNF- α (valor de referência: 0 – 22 pg/ml) (MAYO MEDICAL LABORATORIES, 2012).

As dosagens de IFN- γ (sensibilidade=0,8pg/ml), IL-5 (sensibilidade=0,5pg/ml), IL-6 (sensibilidade=0,9 pg/ml), IL-10 (sensibilidade=1,1 pg/ml,) e TNF- α (sensibilidade=0,7 pg/ml) foram realizadas no Instituto Genese de pesquisa científicas em São Paulo, utilizando a Tecnologia Luminex. A Tecnologia Luminex™ x MAP envolve um processo exclusivo que cora microesferas de látex com dois fluoróforos. Utilizando proporções precisas de dois fluoróforos, podem ser criados 100 conjuntos diferentes de microesferas – cada uma delas com uma assinatura baseada em “código de cores” e que podem ser identificadas pelo instrumento Luminex. O kit utilizado foi o HCYTOMAG-60K-05, Millipore, Estados Unidos.

Os ensaios Milliplex foram desenvolvidos com estas microesferas e se fundamentam no imunoensaio. Anticorpos de captura específicos para cada analito estão imobilizados as microesferas através de ligações covalentes não reversíveis. Depois que o analito (amostra) se liga aos anticorpos de captura localizados na superfície das microesferas, a detecção final é feita através de um terceiro marcador fluorescente, ficoeritrina (PE) ligada ao anticorpo de detecção. O resultado final é um ensaio “sanduíche” realizado através de

microesferas. O equipamento Luminex 200 movimenta estas esferas em fila única através de feixes de dois lasers diferentes em um citômetro de fluxo. O primeiro feixe de laser detecta (classifica) a microesfera (o código de cor para o ensaio) e o segundo laser quantifica o sinal de reporte em cada microesfera. (GEN NEWS, 2010)

5.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram gerenciados no software EXCEL. Para o banco de dados foi utilizado o software SPSS for Windows versão 11.5. Para a estatística inferencial, foi utilizado o teste de Mann-Whitney, para comparação de médias o Teste t de Student, para variáveis categóricas o teste do Qui-Quadrado, para correlação das variáveis foi utilizado o Teste de Pearson, com I.C=95% e $p \leq 0.05$.

5.10 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Para a realização desta pesquisa foi obtido o prévio consentimento por escrito dos responsáveis dispondo-se a participação e realização dos exames necessários (APÊNDICE B). O estudo foi aprovado pelo CEP - Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos da Universidade Federal de Sergipe, processo nº CAAE 0040.0.107.000-07 (ANEXO A).

6 RESULTADOS

Foram incluídos no estudo 70 indivíduos, provenientes do HU e do HUSE sendo 35 indivíduos pertencentes ao grupo de LV e 35 indivíduos pertencentes ao grupo de onco-hematológicos. A descrição dos dados dos grupos LV e Onco-hematológicos encontram-se no apêndice três.

Os dados relativos ao gênero dos pacientes encontram-se na Tabela 2. Observamos que não houve homogeneidade com relação ao gênero entre os dois grupos ($p=0,016$), havendo predominância do gênero feminino no grupo LV (57%), e gênero masculino no grupo Onco-hematológico (71%).

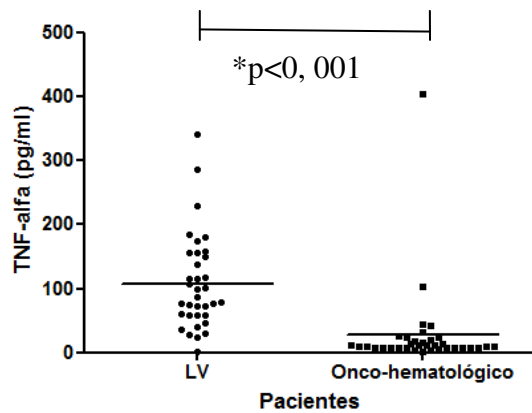
Tabela 2 - Dados demográficos dos pacientes pediátricos neutropênicos portadores de com LV e doença Onco-hematológica, 2012

	GRUPO		Total	Valor p
	LV	Onco-hematológico		
Gênero				
Masculino	15 (43%)	25 (71%)	40 (57%)	0,016
Feminino	20 (57%)	10 (29%)	30 (43%)	
Total	35 (100%)	35 (100%)	70 (100%)	

Teste do χ^2 IC = 95% - LV-Leishmaniose Visceral – valor de $p \leq 0,05$

Com relação à média da dosagem sérica do fator de necrose TNF- α , observamos que houve significância estatística entre os dois grupos, com $p < 0,001$, estando à média do grupo de LV, igual a 108,26 pg/ml mais elevada do que a média do grupo de onco-hematológicos, igual a 27,27 pg/ml, estando ambas as médias acima do valor de referência.

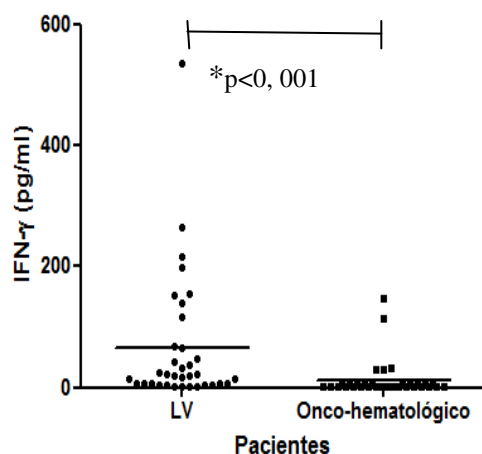
Gráfico 1- Dosagem de TNF- α em pacientes portadores de LV e Doença Onco-hematológica – Aracaju – 2012



LV (n=35) IC=95% [82,71-133,8] e Onco-hematológicos (n=35) IC=95% [3,82-50,68]. *Mann-Whitney.

Quando comparado a média da dosagem sérica do IFN- γ , houve significância entre os dois grupos, com $p<0,001$, mostrando que a média do grupo dos pacientes portadores de LV, igual a 65,26 pg/ml está mais elevada que no grupo dos pacientes onco-hematológicos, que apresentou valor igual a 15,85 pg/ml, embora os dois valores encontrem-se aumentados com relação ao valor de referência.

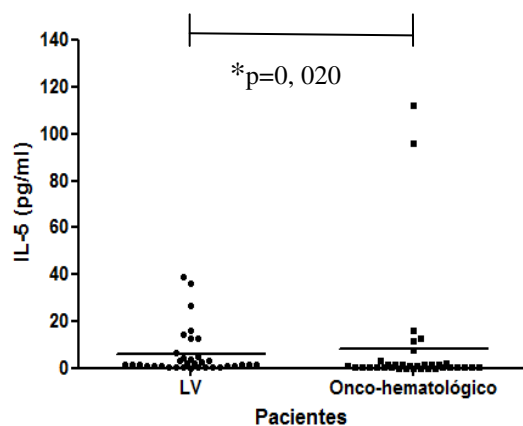
Gráfico 2- Dosagem de IFN- γ , em pacientes portadores de LV e Doença Onco-hematológica – Aracaju – 2012



LV (n=35) IC=95% [28-100] e Onco-hematológicos (n=35) IC=95% [1,7-23]. *Mann-Whitney.

Houve significância entre os dois grupos na média da dosagem sérica de IL-5, com $p=0,020$, com o grupo LV apresentando média de 7,92 pg/ml superior ao grupo dos pacientes onco-hematológico que tem média de 5,83 pg/ml, observando que os valores das médias nos dois grupos estão ligeiramente acima do valor de referência.

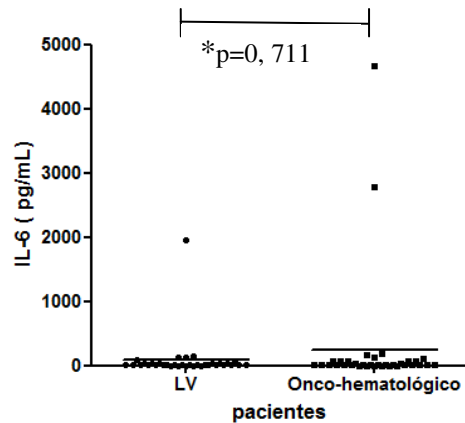
Gráfico 3- Dosagem de IL-5, em pacientes portadores de LV e Doença Onco-hematológica – Aracaju – 2012



LV (n=35) IC=95% [2,46-9,19] e Onco-hematológicos (n=35) IC=95% [0 – 16,30]. *Mann-Whitney.

O valor médio da dosagem sérica de IL-6 não teve variação estatística ($p=0,711$), mas os valores encontraram-se aumentado nos dois grupos quando comparados com a referência. O grupo LV apresentou valores mais elevados com média de 246,96 pg/ml, mediana de 14,13 e desvio-padrão de 901,57 e o grupo onco-hematológico apresentou média de 83,89 pg/ml, mediana de 12,02 e desvio-padrão de 329,57.

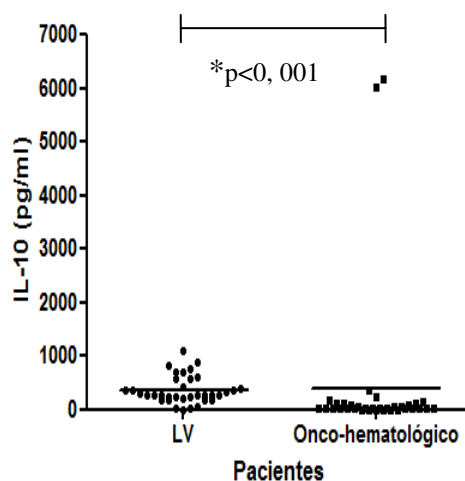
Gráfico 4 - Dosagem de IL-6, em pacientes portadores de LV e Doença Onco-hematológica – Aracaju – 2012



LV (n=35) IC=95% [0 - 200] e Onco-hematológicos (n=35) IC=95% [0 - 560]. *Mann-Whitney.

A média da dosagem da IL-10 teve significância com $p < 0,001$, com o grupo dos pacientes onco-hematológicos apresentando valores superiores quando comparado com o grupo de LV, com média de 401,76 pg/ml, mediana igual a 277, e desvio-padrão de 1426. O grupo LV apresentou média de 366,83, mediana igual a 20,95 e desvio-padrão de 258,49. A média dos grupos encontra-se aumentada quando comparada com o valor de referência.

Gráfico 5 - Dosagem de IL-10, em pacientes portadores de LV e Doença Onco-hematológica – Aracaju – 2012



LV (n=35) IC=95% [278-455,6] e Onco-hematológicos (n=35) IC=95% [0 - 891,10]. *Mann-Whitney.

Na Tabela 3 encontram-se os dados referentes à idade e aos valores das dosagens laboratoriais dos biomarcadores.

A idade variou de 0,66 a 18 anos nos dois grupos, com uma média de $7,4 \pm 5,05$ anos, não havendo significância estatística, com $p=0,093$.

Na dosagem sérica do lactato houve uma diferença significativa entre os dois grupos, com $p = 0,002$, observando-se, porém que a média dos grupos está abaixo do valor de referência, com o grupo de onco-hematológicos apresentando média de $1,72 \text{ mmol/L}$ e o grupo de LV apresentando média de $1,15 \text{ mmol/L}$.

Na dosagem sérica da PCR-US, não houve significância entre os grupos estudados, com $p=0,860$, embora em ambos os valores encontrem-se aumentados.

A dosagem sérica de PCT teve uma variação significativa entre os dois grupos com $p = 0,011$, observando-se que o valor encontrado na média dos grupos encontra-se abaixo do valor de referência.

Tabela 3 – Dosagem de lactato, PCR-US, procalcitonina – em pacientes portadores de LV e doença Onco-hematológica-Aracaju - 2012.

	Grupo						Mann-Whitney	Valor de p
	LV (n=35)			Onco-hematológico (n=35)				
	Média	± DP	Mediana	Média	±DP	Mediana		
Idade (anos)	6,34	4,6	4	8,41	5,3	8	469,5	0,093
Lactato (mmol/L)	1,15	0,52	1,1	1,72	0,77	1,7	348	0,002
PCR-US (mg/dl)	6,50	5,67	5,43	6,54	5,73	5,76	597,5	0,860
PCT (pg/ml)	37,07	59,14	12,4	13,58	6,95	12,4	470	0,011

IC=95% com P=0,05 - PCR-US= Proteína C Reativa Ultrassensível – PCT - Procalcitonina – pg/ml=picogramas por mililitro – mmol/L+milimol por litro – mg/dl=miligramas por decilitro.

O hemograma completo foi analisado pelo Teste t de Student, onde a média dos parâmetros dos grupos, excetuando-se a média do número de eosinófilos, com $p=0,867$, e a média dos monócitos, com $p=0,140$ teve significância estatística (TABELA 4).

Com relação à série vermelha, hemácias e hemoglobina, observamos que houve diferença significativa na média dos dois grupos, com $p=0,028$ e $p=0,022$ respectivamente, embora os valores da média encontrem-se abaixo do valor de referência nos dois grupos.

O número de leucócitos totais encontra-se abaixo da normalidade quando comparado à média dos dois grupos. Observamos que houve significância entre os dois grupos, com $p<0,001$.

A CAN teve significância de $p<0,001$, com a média do grupo de LV =583 cel/mm³ superior à média encontrada no grupo onco-hematológicos=241 cel/mm³.

A contagem dos linfócitos e plaquetas quando comparadas as médias dos grupos apresentaram diferença significativa, com $p<0,001$.

Tabela 4 - Hemograma dos pacientes pediátricos neutropênicos portadores de LV e doença Onco-hematológica – Aracaju – 2012

	GRUPO				Teste t	Valor de p	IC 95%	
	LV (n=35)		Onco-hematológico (n=35)					
	Média	± DP	Média	±DP			Mínimo	Máximo
Hemácias	3,61	0,601	3,24	0,758	2,25	0,028	0,04	0,69
Hemoglobina	8,38	1,81	9,49	2,13	-2,34	0,022	-2,05	-0,16
Leucócitos	2.899	1.222,6	1.440	1350,1	4,74	<0,001	844	2073
Neutrófilos	583	290,6	241	234,3	5,39	<0,001	215	469
Eosinófilos	39	71,90	43	105,5	-0,17	0,867	-47	39
Linfócitos	1.759	987,30	863	896	3,97	<0,001	446	1.345
Monócitos	408	209,30	282	450,5	1,50	0,140	-43	295
Plaquetas	164.171	91.455,40	92.909	57.887,10	3,90	<0,001	34.634	107.892

IC=95% com p=0,05-LV-Leishmaniose Visceral – DP-Desvio-padrão – n- número de pacientes

Na Tabela 5 foi verificada a correlação entre o número dos neutrófilos e as dosagens dos biomarcadores, observando-se que não houve significância nos dois grupos LV e Onco-hematológicos.

Tabela 5 – Correlações entre Neutrófilos e Biomarcadores nos pacientes pediátricos neutropênicos portadores de LV e doença Onco-hematológica – Aracaju-2012.

Neutrófilos				
	GRUPO LV		GRUPO Onco-hematológico	
	Correlação de Pearson	Valor p	Correlação de Pearson	Valor p
PCR	-0,22	0,207	-0,14	0,436
LACT	0,05	0,779	-0,15	0,381
IFN	-0,15	0,401	-0,05	0,761
IL10	-0,05	0,762	-0,01	0,960
IL5	0,08	0,668	-0,09	0,625
IL6	-0,19	0,264	-0,24	0,172
TNF	-0,04	0,833	-0,20	0,243
Procalcitonina	0,27	0,123	-0,01	0,948

IC = 95% COM $p \leq 0,05$ – LV- Leishmaniose Visceral

As características relacionadas à infecção dos pacientes são descritas na Tabela 6, onde se observa que todos os pacientes do estudo encontravam-se com febre, e que 25,6% desenvolveram infecção na corrente sanguínea.

Tabela 6 – Característica Infecçiosa nos pacientes pediátricos neutropênicos portadores de LV e doença Onco-hematológica – Aracaju - 2012

Característica infecciosa	Pacientes LV		Pacientes Onco-hematológicos	
	n	%	n	%
Febre	35	100	35	100
Infecção na corrente sanguínea	1	2,8	8	22,8

n = n° de pacientes

Nas culturas sanguíneas, das bactérias isoladas 66,6% de bactérias eram gram positivas e 33% gram negativas, conforme demonstrado na Tabela 7.

Tabela 7 – Microorganismos Isolados em Cultura de Corrente Sanguinea nos pacientes pediátricos neutropênicos portadores de LV e doença Onco-hematológica – Aracaju – 2012

Microorganismos isolados	LV	Onco-hematológicos
Gram Positivos		
Staphylococcus epidermidis		3
Staphylococcus saprophyticus		1
Staphylococcus haemolyticus	1	1
Gram Negativos		
Burkholderia cepacia		1
Klebsiella pneumoniae		1
Pseudomonas aeruginosa		1

As características do grupo onco-hematológico com relação à doença de base e uso de quimioterápico estão descritos na Tabela 8.

Tabela 8 – Característica dos pediátricos neutropênicos portadores de doença Onco- hematológica- Aracaju-2012

Grupo Onco-hematológico (n=35)		
Doença de Base	n	%
Leucemia Linfoide Aguda	24	68,6
Osteossarcoma	3	8,6
Sarcoma	2	5,7
Aplasia medula óssea	1	2,8
Doença de Castleman	1	2,8
Linfoma de Hodgkin	1	2,8
Linfoma não Hodgkin	1	2,8
Neuroblastose	1	2,8
Uso de Quimioterápicos	35	100

n = número - %= por cento

7 DISCUSSÃO

Na literatura médica pesquisada, não foram encontrados estudos comparando os biomarcadores, IFN- γ , IL-10, IL-5, IL-6, lactato PCR-US, procalcitonina, e TNF- α nos pacientes neutropênicos pediátricos portadores de LV e de doenças Onco-hematológicas.

A dosagem do TNF- α no presente estudo apresentou valores elevados, bem acima do valor de referência, caracterizando uma rica resposta imune celular em ambos os grupos, sendo que o grupo LV apresentou uma resposta imune diferente do grupo onco-hematológico. Em um trabalho realizado com portadores de Leishmaniose cutânea, foi observado que os níveis de TNF- α eram elevados em pacientes não tratados e em outro estudo, com pacientes portadores de LV em que se associaram os níveis desta citocina e as manifestações clínicas da doença, o TNF- α também se mostrou elevado (D'OLIVEIRA JUNIOR et al., 2002; MEDEIROS ET AL., 1998). Na literatura médica, são escassos os trabalhos que sugerissem o uso deste biomarcador como preditor de infecção na neutropenia febril pediátrica.

O IFN- γ , apresentou no nosso trabalho níveis aumentados nos dois grupos, sendo a média nos portadores de LV mais elevada do que no grupo dos portadores de doença onco-hematológica, que apresentou nível pouco acentuado quando comparado ao valor de referência, caracterizando um perfil imune mais fraco do que os pacientes de LV. KHOSDEL (2009), em um trabalho realizado comparando os níveis de IFN- γ entre 32 pacientes portadores de LV com doença ativa, um grupo familiar com 29 indivíduos e 23 indivíduos normais, verificou que os níveis destas citocinas foram significativamente maiores nos pacientes com LV ativa do que nos controles e que a normalização do IFN- γ pode servir como parâmetro confiável para considerar o paciente curado. Em outro trabalho, os níveis de IFN- γ eram elevados durante a doença ativa, atingindo $470 \pm 143,4$ pg/ml, enquanto que os indivíduos normais exibiam níveis de $15,4 \pm 3,8$ pg/ml (CALDAS et al., 2005).

No nosso estudo, a IL-5 apresentou nível pouco alterado quando comparado ao valor de referência, com o valor do grupo dos pacientes onco-hematológicos, ligeiramente maior do que no grupo LV, caracterizando uma baixa resposta imunológica. Porém, um recente estudo envolvendo cinquenta e oito episódios de neutropenia febril ocorrendo em 47 crianças concluiu que os aumentos de IL-5 e MCP-1 são preditivos de bacteremia em pacientes com neutropenia febril (AQUINO et al, 2012)

A IL-6 no presente trabalho apresentou valores aumentados, sendo bem mais elevados nos pacientes onco-hematológicos, que o grupo LV, demonstrando nesse grupo uma maior resposta imune. Em outro estudo, Kowata et al. (2009), relata níveis elevados em 39% nos pacientes com câncer de pulmão ou câncer de cólon. DIEPOLD et al.(2008), em um estudo prospectivo realizado para avaliar o valor potencial de IL-6, IL-8 e os níveis de proteína C reativa de soro para prever infecção bacteriana grave ou bacteremia em crianças neutropênicas febris com câncer durante a quimioterapia, concluíram que os níveis plasmáticos de IL-6 e IL-8 permitiram definir um grupo de curta duração do episódio de febre e um grupo com infecção grave ou mesmo sepse hemocultura positiva, considerando a IL-6 como o melhor marcador biológico. Apesar disso, outro estudo envolvendo 37 crianças com neutropenia febril portadoras de doença onco-hematológica, em que os biomarcadores IL-6 e IL-8 foram avaliados para mensurar infecção precoce, concluíram que apesar de não ter havido significância estatística, a dosagem destas interleucinas poderiam ser utilizadas como uma ferramenta de rastreio para a rejeição de sépsis ou bacteremia no primeiro dia de febre em crianças neutropênicas com câncer e estudos sobre o uso de IL-6 e IL-8, precisam ser consolidados (URBONAS et al,2012).

A IL-10 caracterizou-se nesse trabalho com uma elevada resposta imune moduladora, observando-se que os valores mensurados estão bem acima do valor de referência tanto nos portadores de LV, como nos portadores de doença onco-hematológica. Em outro estudo, ao avaliar-se 24 crianças neutropênicas portadoras de doença onco-hematológica, correlacionando a IL-10 com sepse e bacteremia, concluiu-se que o biomarcador pode ser usado inicialmente como preditor de infecção bacteriana, como também funciona como um indicador precoce para curso complicado de neutropenia febril após quimioterapia intensiva em pacientes hematológicos. Já em pacientes portadores de LV ,estudos concluíram que os níveis plasmáticos de IL-10 ficam elevados durante a doença

ativa, enquanto são indetectáveis em indivíduos normais na mesma área endêmica(URBONAS et al.,2012)(VANSKA et al, 2012)(CALDAS et.al,2005).

Na literatura médica estudada, são escassos os estudos sobre Lactato, Procalcitonina e PCR nos pacientes de LV. Este biomarcadores são bem estudados nos casos de sepse graves e nos casos de neutropenia febril em pacientes onco-hematológicos (BYUKBERBER et al. ,2009; LILIENFIELD et al.,2004).

A dosagem do lactato nos dois grupos, quando comparado com o valor de referência, não apresentou alteração nos valores mensurados neste trabalho, com o grupo dos pacientes onco-hematológicos apresentando uma tendência para o limite superior da normalidade. Apesar disso, em um trabalho realizado com 75 crianças em uma UTI pediátrica, existe a sugestão que o lactato é um biomarcador que possa ser utilizado como marcador prognóstico. Outros trabalhos demonstram que o aumento ou a manutenção do lactato em níveis elevados indica que o prognóstico dos pacientes piora (KOLISKI et al.,2007; JANSEN et al., 2009; JONES et al., 2009; MACHADO et al., 2009; MIKKELSEN et al., 2009).

A procalcitonina não teve relevância clínica no presente trabalho, onde a média dos valores dos grupos foram bem abaixo do valor de referência, possivelmente por se tratar de uma proteína envolvida na sepse, como demonstra um estudo que avaliou a capacidade da procalcitonina como preditor de quadro séptico em 90 crianças internas em UTI, concluindo que o marcador é válido no diagnóstico auxiliar de quadros sépticos em crianças e como indicador de gravidade dos pacientes(FIORETTO et al 2007). Também em outros estudos recentes, ao se avaliar a procalcitonina como biomarcador precoce em doenças infecciosas, concluiu-se que este marcador pode ser utilizado como importante ferramenta diagnóstica. Ela permite maior acurácia no diagnóstico de processos infecciosos, principalmente os de etiologia bacteriana. (CASTRO et al 2012).

A PCR-US teve importância quanto ao valor diagnóstico no presente estudo, apresentando valores na dosagem acima do valor de referência nos dois grupos, caracterizando a presença de infecção, possivelmente por ser uma proteína de fase aguda (BYUKBERBER et al.,2009)(ARAÚJO,2011). Apesar disso, outros estudos demonstram que a PCT é melhor que a PCR como preditor da severidade da doença e que as concentrações da PCT se alteram mais

precocemente que as de PCR em resposta à infecção (STANDAGE et al., 2011; MASSARO et al., 2007). Outro trabalho reforça a importância da procalcitonina na sepse, quando comparada com a dosagem do PCR-US, observando que a procalcitonina é especialmente útil para fazer a distinção entre sepse e SIRS não-infecciosa (CASTELI et al., (2009).

Com relação ao estudo do hemograma nos dois grupos, por se tratar de pacientes pancitopênicos foi observado níveis baixos nas séries vermelha, série branca e plaquetas, onde o número total de leucócitos e valores absolutos dos neutrófilos, linfócitos monócitos e plaquetas apresentaram valor mais baixo no grupo dos pacientes onco-hematológicos fato ocorrido possivelmente pela citotoxicidade da quimioterapia em relação à medula óssea ter sido mais efetiva como efeito adverso do que a infestação por leishmania nos portadores de LV.

Na correlação da média do número de neutrófilos com a média dos biomarcadores não foi observado significância nos dois grupos.

Neste estudo, ao se comparar a infecção na corrente sanguínea, o grupo de pacientes onco-hematológicos apresentou maioria com 22,8% de positividade contra 2,8% do grupo LV. Houve predomínio das bactérias gram positivas (66,6%) sobre as gram negativas (33%), com prevalência de estafilococos coagulase-negativo, demonstrando que na atualidade os agentes infecciosos mais comuns são os estafilococos coagulase- negativo, como cita em um trabalho PICAZO et. al(2004).

A importância deste trabalho foi mostrar a comparação dos biomarcadores na neutropenia destes dois perfis de pacientes neutropênicos pediátricos. Apesar dos grupos terem a neutropenia em comum, a interpretação destes biomarcadores deve ser realizada de forma distinta para cada grupo. Os níveis de IL-6, IL-10, TNF- α e PCR-US demonstram ser mais significantes como possíveis marcadores precoces de infecção em pacientes neutropênicos pediátricos do que a IL-5, IFN- γ , lactato e procalcitonina neste estudo. Estudos com um número maior de indivíduos são importantes para verificar o uso dos biomarcadores no diagnóstico de infecção em pacientes neutropênicos pediátricos.

8 CONCLUSÕES

- Os biomarcadores IFN- γ , IL-5, IL-10, lactato, procalcitonina e TNF- α , apresentaram valores laboratoriais com diferença significativa entre o grupo de pacientes neutropênicos portadores de LV e doença onco-hematológica, o mesmo não acontecendo com os resultados apresentados pelos biomarcadores IL-6 e a PCR-US. Os biomarcadores IFN- γ , IL-5, IL-6, IL-10 e TNF- α apresentaram resultados acima dos valores de referência quando comparadas as médias dos dois grupos, com exceção do lactato e procalcitonina.

- Não houve correlação entre o número de neutrófilos e os biomarcadores IFN- γ , IL-5, IL-6, IL-10, lactato, PCR-US, procalcitonina e TNF- α nos pacientes neutropênicos portadores de LV e doença onco-hematológica.

REFERÊNCIAS

- ANTONIADOU, A.; GIAMARELLOU, H. Fever of Unknown Origin in Febrile Leukopenia. **Infect Dis Clin N Am**, v.21, p. 1055–1090, 2007.
- AQUINO, V.M.; TKACZEWSKI, I.; BUCHAMAN, G.R. Early Discharge of Low-Risk Febrile Neutropenic Children and Adolescents with Cancer. **Infect Dis Clin N Am** 25:74-78, 1997.
- AQUINO, V.M. et al. Predictive Value of Interleukin-5 and Monocyte Chemotactic Protein-1 for Bacteremia in Children With Febrile Neutropenia. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, v.34, p. 241-245, 2012.
- ARANGO, C.J.; MONTOYA, I.C.V.; ARISTIZÁBAL, M. A. Neutropenia febril en pacientes pediátricos: un enfoque diagnóstico y terapéutico. **ATREIA**, v.22, n.3, sept. 2009.
- ARAÚJO, J.F.: **Escore Clínico e Biomarcadores da Resposta Inflamatória Aguda em Pacientes com Sepsis**. Sergipe. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Sergipe. 2011.p.41
- BELLESO, M. et al. Triagem para o tratamento ambulatorial da neutropenia febril. **Rev. Bras. Hematol. Hemot**, São Paulo, v.32, n.5, 2010.
- BODEY, G.P. et al. Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. **Ann Intern Med**, v.64, n.2, p.328–340, 1966.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Leishmaniose Visceral: Recomendações clínicas para redução da letalidade**. Brasília: MS, 2011.
- BUYUKBERBER, N. et al. Cytokine concentrations are not predictive of bacteremia in febrile neutropenic patients. **Med Oncol**, v.26, p.55-61, 2009.
- CAILLOT, D. et al. Increasing volume and changing characteristics of invasive pulmonary aspergillosis on sequential thoracic computed tomography scans in patients with neutropenia. **J Clin Oncol**, v.19, n.1, p.253–259, 2001.
- CALDAS, A. et al. Balance of IL-10 and Interferon- γ plasma level in human visceral leishmaniasis: Implications in the pathogenesis. **BCM Infect Dis**, v.5, p.113-121, 2005.
- CASTELI, G. P. et al. Procalcitonina as a prognostic and diagnostic tool for septic complications after major trauma. **Crit Care Med**, v.37, n.6, p.1845-1849, Jun. 2009.

CASTRO, C.M.; SILVA, R.M. **Procalcitonina no diagnóstico de doenças infecciosas**, Rev Bras Clin Med, São Paulo, v.10, n.6, p.521-528, nov./dez. 2012.

CHARLES, P.E. et al. Serum procalcitonin measurement contribution to the early diagnosis of candidemia in critically ill patients. **Intensive Care Med**, v.32, p.1577-1583, 2006.

CHERIF, H. et al. The feasibility of early hospital discharge with oral antimicrobial therapy in low risk patients with febrile neutropenia following chemotherapy for hematologic malignancies. **Haematologica**, v.91, n.2, p.215-222, 2006.

CINEL, I.; OPAL, S. M. Molecular biology of inflammation and sepsis: A primer. **Crit Care Med**, v.37, n.1, p.291-304, 2009.

CRAWFORD, J.; DALE, D.C.; LYMAN, G.H. Chemotherapy-induced neutropenia: risks, consequences, and new directions for its management. **Cancer**, v.100, n.2, p.228-237, 2004.

De VISSER, K.E., EICHTEN, A., COUSSENS, L.M. Paradoxical Roles of the Immune System During Cancer Development. **Nature Reviews. Cancer**. v. 6, n. 1, p. 24-37, 2006.

DIEPOLD, M.; NOELLKE, P.; BERNER, R. Performance of Interleukin-6 And Interleukin-8 Serum Levels in Pediatric Oncology Patients with Neutropenia and Fever for The Assessment of Low-Risk. **BMC INFECT DIS**, V.8, P.28, 2008.

D'OLIVEIRA JUNIOR, Argemiro et al. Avaliação de IFN-gama e TNF-alfa como marcadores imunológicos da evolução clínica na leishmaniose cutânea. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v 35, n. 1, Feb. 2002

DOUGAN, M.; DRANOFF, G. Immune therapy for cancer. **Annual Review of Immunology**. v. 27, p. 83-117, 2009.

ELTING, L.S. et al. Outcomes of Bacteremia in Patients with Cancer and Neutropenia: Observations from Two Decades of Epidemiological and Clinical Trials. **Infect Dis Clin N Am**, v.25, p.247-259, 1997.

ERSHLER, W.B.; KELLER, E.T. Age-associated increased interleukin-6 gene expression, late-life diseases, and frailty. **Annu Rev Med**, v.51, p.245-270, 2000.

FIORETTO, J.R. et al. Procalcitonina em crianças com sepse e choque séptico. **J. Pediatr. (Rio J.)**, Porto Alegre, v.83, n.4, Aug. 2007.

FLEISCHHACK, G. et al. 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**, v. 111, n. 4, p. 1093-102, Dec. 2000.

GEN NEWS – Informativo GENESE Nº1- Fev./Mar. 2010.

GENDREL, D. et al. Medição dos níveis de procalcitonina em crianças com meningite bacteriana ou viral. **Clin Infect Disv**, v. 24, p.1240-1242, 1997.

GIAMARELLOU, H.; ANTONIADOU, A. Infectious complications of febrile leukopenia. **Infect Dis Clin North Am**, v.15, n.2, p.457-482, 2001.

GIRMENIA, C. et al. Early hospital discharge with oral antimicrobial therapy in patients with hematologic malignancies and low-risk febrile neutropenia. **Ann Hematol.**, v.86, n.4, p.263-270, 2007.

GORSCHLUTER, M. et al. Neutropenic enterocolitis in adults: systematic analysis of evidence quality. **Eur J Haematol**, v.75, n.1, p.1-13, 2005.

GROTTO, H.Z.W. O hemograma: importância para a interpretação da biópsia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.31, n.3, p.178-182, 2009.

HARBARTH, S. et al. Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. **Am J Respir Crit Care Med**, v.164, p.396-402, 2001.

HAUHHAARD, A.; ELLIS, M.; EKELUND, L. Early chest radiography and CT in the diagnosis, management and outcome of invasive pulmonary aspergillosis. **Acta Radiol**, v.43, n.3, p.292-298, 2002.

HOLZMULLER, P.; BRAS-GONÇALVES, R.; LEMESRE, J. R. Phenotypical characteristics, biochemical pathways, molecular targets and putative role of nitric oxide-mediated programmed cell death in Leishmania. **Parasitology**, London, v. 132, p. S19-S32, 2006.

HUGHES, W.T. et al. Guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. **Infect Dis Clin N Am**, v.34, n.6, p.730-751, 2002.

JANSEN, T. C.; VAN BOMMEL, J.; BAKKER, J. Blood lactate monitoring in critically ill patients: A systematic health technology assessment. **Crit Care Med**, v.37, n.10, p.2827-2839, 2009.

JENSEN, J.U. et al. Procalcitonin increase in early identification of critically ill patients at highrisk of mortality. **Crit Care Med**, v.34, p.2596-2602, 2006.

JIMENO, A. et al. Assessment of procalcitonin as a diagnostic and prognostic marker in patients with solid tumors and febrile neutropenia. **Cancer**, v.100, n.11, p.2462-2469, 2004

JONES, A. E.; TRZECIAK, S.; KLINE, J. A. The Sequential Organ Failure Assessment score for predicting outcome in patients with severe sepsis and evidence of hypoperfusion at the time of emergency department presentation. **Crit Care Med**, v.37, n.5, p.1649-1654, 2009.

KHOSHDEL, A. et al. IL-10, IL-12, and IFN- γ Levels in Visceral Leishmaniasis Patients. **BJID**, v.13 Feb. 2009.

KLASTERSKY, J. Management of fever in neutropenic patients with different risk of complications. **Infect Dis Clin N Am**, v.39, n.1, p.S32–S37, 2002.

KOLISKI, A. et al. Lactato sérico como marcador prognóstico em crianças gravemente doentes. **Rev. Chil. Pediatr.**, Santiago, v. 78, n. 3, jun. 2007

KONTOYIANNIS, D.P. et al. Hepatosplenic candidiasis. **Infect Dis Clin North Am**, v.14, n.3, p.721–739, 2000.

KOWATA, C. H.; BENEDETTI, G. V.; TRAVAGLIA, T.; ARAÚJO, E. J. A. Fisiopatologia da caquexia no câncer: uma revisão. **Arq.Ciênc. Saúde UNIPAR**, Umuarama, v. 13, n. 3, p. 267-272, set/dez. 2009.

KUMAR, R.; NYLÉN, S. Immunobiology of visceral leishmaniasis; *Frontiers in Immunology*. **Microbial Immunology**, Article 251, Aug. 2012.

LECHUGA, M.A.; JAQ, B.; PB, C. Neutropenia febril en niños con cáncer en un centro asistencial en Santiago, Chile. **Revista Chilena de Infeccion**, v.24, n.1, p.27-32, 2007.

LILIENFIELD-TOAL, M. et al. Markers of bacteremia in febrile neutropenic patients with hematological malignancies: procalcitonin and il6 are more reliable than C-reactive protein. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v.23, p.539-544, 2004.

MACHADO, R. L. et al. Análise exploratória dos fatores relacionados ao prognóstico em idosos com sepse grave e Choque séptico. **Rev Bras Ter Intens**, v.21, n.1, p.9-17, 2009.

MACIAS, W. L et al. New insights into the protein C pathway: potential implications for the biological activities of drotrecogin alfa (activated). **Critical Care**, v.9, (suppl 4), p.S38-45, 2005.

MARSHALL, J. C.; REINHART, K. Biomarkers of sepsis. **Crit Care Med**, v.37, n.7, p.2290-2299, 2009.

MASSARO, K. S. R. et al. PCT and CRP as severe systemic infection markers in febrile neutropenic adults. **BMC Infectious Diseases**, v.7, p.137-144, 2007.

MATSUOKA, H. et al. Hematology Organization for Treatment (K-HOT) Study Group, Fukuoka, Japan. Efficacy of intravenous ciprofloxacin in patients with febrile neutropenia refractory to initial therapy. **Leuk Lymphoma**, v.47, n.8, p.1618-1623, 2006.

MAYO, Clinica. Disponível em:

<http://www.mayomedicallaboratories.com/testcatalog/Clinical+and+Interpretive/57356>.

Acesso em: 15/01/2013.

MEDEIROS, Iara Marques de; CASTELO, Adauto; SALOMAO, Reinaldo. Presença de níveis circulantes de Interferon- γ , a interleucina-10 e Fator de Necrose Tumoral em pacientes com leishmaniose visceral. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, São Paulo, v 40, n. 1, Jan. 1998

MENDES, A.V.A.; SAPOLNIK, R.; MENDONÇA, N. New Guidelines for the Clinical Management of Febrile Neutropenia and Sepsis in Pediatric Oncology Patients. **Jornal de Pediatria**, v.83, (S2), p.54-63, 2007.

MERMEL, L.A. et al. Guidelines for the management of intravascular catheter-related infection. **Infect Dis Clin N Am**, v.32, n.9, p.1249–1272, 2001.

MIKKELSEN, M. E. et al. Serum Lactato is associated with mortality in severe sepsis independent of organ failure and shock. **Crit Care Med**, v.37, n.5, p.1670-1677, 2009.

NETH, O.; TURNER, M.W.; KLEIN, N.J. Deficiency of mannose-binding lectin and burden of infection in children with malignancy: a prospective study. **Lancet**, v.358, n.9282, p.614–618, 2001.

ORTEGA, M. et al. Measurement of C-reactive protein in adults with febrile neutropenia after hematopoietic cell transplantation. **Bone Marrow Transplant**, v.33, n.7, p.741–744, 2004.

OUDE, N.C.S. et al. Fever and neutropenia in cancer patients: the diagnostic role of cytokines in risk assessment strategies. **Crit Rev Oncol Hematol**, v.44, n.2, p.163–174, 2002.

PAUL, M. et al. The Epidemiology of Bacteremia with Febrile Neutropenia: Experience from a Single Center, 1998-2004. **Israel Medical A Journal**, v.9, p.424-429, 2007.

PERSSON, L. et al. Use of inflammatory markers for early detection of bacteraemia in patients with febrile neutropenia. **Scand J Infect Dis**, v.36, n.5, p.365–371, 2004.

PERSSON, L.; SODERQUIST, B.; ENGERVALL, P. Assessment of systemic inflammation markers to differentiate a stable from a deteriorating clinical course in patients with febrile neutropenia. **Eur J Haematol**, v.74, n.4, p.297–303, 2005.

PERUHYPE-MAGALHÃES, V. et al. Immune response in human visceral leishmaniasis: analysis of the correlation between innate immunity cytokine profile and disease outcome. **Scandinavian Journal of Immunology**, Brasil, v. 62, n.5, p.487-495, nov. 2005.

PICAZO, J.J. Management of the Neutropenic Patient: A Consensus Conference. **Infect Dis Clin N Am**, v.39, n.1, p.S1-S6, 2004.

PIZZO, P.A. Fever in Immunocompromised Patients. **N Engl J Med**, v.341, p.893-900, 1999.

_____. Management of fever in patients with cancer and treatment induced neutropenia. **N Engl J Med**, v.328, n.18, p.1323–1332, 1993.

POVOA, P. Biomarcadores em Infecção e Sepses. **Rev Port Med Int**, v.17, n.), p.25 2010.

PRAT, C. Evaluation of procalcitonin, neopterin, C-reactive protein, IL-6 and IL-8 as a diagnostic marker of infection in patients with febrile neutropenia. **Leukemia & lymphoma**, v.49, n.9, p.1752-1761, 2008.

REIS, L.C. et al. Mecanismos imunológicos na resposta celular e humoral na leishmaniose tegumentar americana. **Revista de Patologia Tropical**, São Paulo, v.35, n.2, p.103-115, maio/ago. 2006.

RICHARD, S.; HOTCHKISS, M.D.; KARL, I.E. Ph.D. The Pathophysiology and Treatment of Sepsis. **N Engl J Med**, v.248, n.2, p.138-150, 2003.

ROLSTON, K.V. The Infectious Diseases Society of America 2002 guidelines for the use of antimicrobial agents in patients with cancer and neutropenia: salient features and comments. **Infect Dis Clin N Am**, v.39, n.1, p.44–48, 2004.

SCHÜTTRUMPF, S. et al. Procalcitonin: a useful discriminator between febrile conditions of different origin in hemato-oncological patients? **Ann Hematol**, v.82, n.2, p.98–103, 2003.

SCOTT, S. Identification of cancer patients at high risk of febrile neutropenia. **Am J Health-Syst Pharm**, v.59, n.4, p.S16–19, 2002.

SERAFINI, P.; CARBLEY, R.; NOOMAN, K.A.; BORRELLO, I. High-Dose Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor-Producing Vaccines Impair the Immune Response through the Recruitment of Myeloid Suppressor Cells. **Cancer Research**. v. 64, p. 6337-6343, 2004.

SICKLES, E.A.; GREENE, W.H.; WIERNICK, P.H. Clinical presentation of infection in granulocytopenic patients. **Arch Intern Med**, v.135, n.5, p.715–719, 1975.

SILBER, J.H. et al. First-cycle blood counts and subsequent neutropenia, dose reduction, or delay in early-stage breast cancer therapy. **J Clin Oncol**, v.16, n.7, p.2392–2400, 1998.

SILVA, E. **Sepse: Manual**. São Paulo: Atheneu: Latin American Sepsis Institute, 2006.

SILVA, A.V.R.; MACHADO, F.S. Procalcitonina e Proteína C Reativa como Indicadores da Sepsis. **Rev Bras Ter Intens**, v.17, n.3, p.212-216, 2005.

SOMMER, C.; WHITE, F. Cytokines, Chemokines, and Pain. In: BEAULIEU, P. et al. **Pharmacology of Pain**. 1st Ed. Seattle: IASP Press, 2010. p.279-302.

SOUZA, J.R.M. et al. Níveis séricos de interleucina-6 (IL-6), interleucina-18 (IL-18) e proteína-C reativa (PCR) na síndrome coronariana aguda sem supradesnívelamento do ST em pacientes com diabetes tipo 2. **Arq Bras Cardiol**, v.90, n.2, p.94-99, 2008.

SOUZA VIANA, L. et al. Performance of a modified MASCC index score for indentifying low-risk febrile neutropenic cancer patients. **Support Care Cancer**, v.16, n.7, p.841-846, 2008.

STANDAGE, S.W.; WONG, H.R. Biomarkers for pediatric sepsis and septic shock; Expert Review of Anti-infective Therapy; **Pediatr Crit Care Med**, v.9, n.1, p.71-79, Jan. 2011.

STRYJEWSKI, G.R. et al. Interleukin-6, interleukin-8, and a rapid and sensitive assay for calcitonin precursors for the determination of bacterial sepsis in febrile neutropenic children. **Pediatr Crit Care Med**, v.6, n.2, p.129-135, Mar. 2005.

TALCOTT, J.A. et al. Risk assessment in cancer patients with fever and neutropenia: a prospective, two-center validation of a prediction rule. **J ClinOncol**, v. 10, n. 2, p. 316-22, Feb. 1992.

TONET, A.C. et al. Association between the -174 G/C promoter polymorphism of the interleukin-6 gene and cardiovascular disease risk factors in Brazilian older women. **Braz J Med Biol Res**, v.41, n.1, p.47-53, 2008.

TRIPATHI, P.; SINGH, V.; NAIK, S. Immune response to leishmania: paradox rather than paradigm. **Immunology and Medical Microbiology**, Índia, v.51, n.2, p. 229-242, nov. 2007.

URBONAS, V.; EIDUKAITE, A.; TAMULIENE, I. Increased interleukin-10 levels correlate with bacteremia and sepsis in febrile neutropenia pediatric oncology patients, **Cytokine**, v.57, p.313–315, 2012a.

_____. The Diagnostic Value of Interleukin-6 and Interleukin-8 for Early Prediction of Bacteremia and Sepsis in Children With Febrile Neutropenia and Cancer. **Journal of Pediatric Hematology Oncology**, v.34, n.2, p.122, 2012b.

VAN DE WIELE, C. LOOSE, D.; The immune system and cancer. **Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals**. v. 24. N. 3, p. 369-376, 2009.

VÄNSKÄ, M. et al. IL-10 combined with procalcitonin improves early prediction of complications of febrile neutropenia in hematological patients. **Elsevier**, v.60, p.787-792, 2012.

VIDAL, L. et al. Oral versus intravenous antibiotic treatment for febrile neutropenia in cancer patients. **Cochrane Database Syst Rev**, v.18, n.4, p.CD003992, 2004.

VISCOLI, C.; VARNIER, O.; MACHETTI, M. Infections in patients with febrile neutropenia: epidemiology, microbiology, and risk stratification. **Infect Dis Clin N Am**, v.40, n.4, p.S240–S245, 2005.

WANNER, G. A. et al. Relationship between procalcitonin plasma levels and severity of injury, sepsis, organ failure, and mortality in injured patients. **Crit Care Med**, v.28, p.950-957, 2000.

XUE, M.; CAMPBELL, D.; JACKSON, C. J. Protein C is an autocrine growth factor for human skin keratocytes. **J Biol Chem**, v.282, p.13610-13616, 2007.

APÊNDICE A

Protocolo de Avaliação de Biomarcadores em pacientes pediátricos Neutropênicos portadores de Leishmaniose visceral e Onco-hematológicos



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
NÚCLEO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROJETO: Avaliação de Biomarcadores em Pacientes Pediátricos Neutropênicos com Leishmaniose Visceral e Onco-hematológicos

PESQUISADOR: Flávia Oliveira da Costa

ORIENTADOR: Dra. Ângela Maria da Silva

1. IDENTIFICAÇÃO

NOME: _____

Nº PRONTUÁRIO: _____

DATA DE ADMISSÃO: _____

Gênero: () F () M IDADE: _____ DN: ____ / ____ / ____

COR: () BRANCA () PARDA () NEGRA () NI

2. DOENÇA

() LEISHMANIOSE VISCERAL

() DOENÇA HEMATOLÓGICA Tipo: _____

() TUMOR SÓLIDO Tipo: _____

() DOENÇA AUTO-IMUNE Tipo: _____

() NI

3. FEBRE: () S () N () NI

4. TAX: _____

5. EXAMES COMPLEMENTARES

EXAME	Valores
Hm	
Hb	
Ht	
Leuco total	
Eosinófilos (abs)	
Basófilos (abs)	
Monócitos (abs)	
Linfócitos (abs)	
Neutrófilos (abs)	
Plaquetas	
Ácido láctico	
PCR	
Procalcitonina	
IFN- γ	
IL-5	
IL-6	
IL-10	
TNF- α	

Hemocultura: a) Positiva () b) Negativa ()

() gram+ _____ () b) gram _____ () c) fungo _____

6. TERAPÊUTICA

Quimioterápicos: () S () N () NI _____

APÊNDICE B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O (a) filho (a) do (a) sr. (sra) está sendo convidado a participar, como voluntário, da pesquisa “Comportamento de Biomarcadores na Neutropenia Febril em Pediatria”. A participação nessa pesquisa não é obrigatória e o sr. (sra) poderá desistir e retirar seu consentimento a qualquer momento que desejar. Sua recusa não trará prejuízo ao seu tratamento ou em sua relação com qualquer membro da pesquisa. A participação nessa pesquisa não gera qualquer implicação legal, nem traz nenhum mal ao filho (a) do (a) sr. (sra.). Os critérios adotados obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme resolução número 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

Caso concorde com os termos, favor assinar ao final do documento. O sr. (sra.) receberá uma cópia desse termo, onde constam nome do pesquisador e telefone para contato. O sr. (sra.) poderá ligar para obter informações sobre a pesquisa ou sobre sua participação ou pelo telefone informado ou através do Comitê de Ética em Pesquisa localizado no Campus da Saúde Prof. João Cardoso Nascimento Júnior pelo telefone (0XX79) 2105-1744.

Assinatura, _____ Aracaju, ____/____/____

Orientadora: Dra. Ângela Maria da Silva Endereço: Rua Cláudio Batista S/N – Sanatório. Telefone: 2105-1744	Pesquisadora: Flávia Oliveira da Costa Endereço: Rua Gervásio Araújo de Souza, 586 Atalaia Telefone: 3243-3120/9988-0928
---	---

APÊNDICE C

➤ Dados dos grupos de LV e Doenças onco-hematológicas

Grupo 1 – Dado do grupo LV

Nº	Idade	Gênero	Hem	Hb	Leucócito	Neutrófilo	Eosinófilo	Linfócito	Monócito	Plaquetas
1	3	2	3,3	8,9	5,040	70	30	3440	56	216.000
2	2	2	3,48	6,5	3,480	250	0	2010	380	132.000
3	2	2	3,49	7,8	5,800	410	0	4675	841	162.000
4	18	1	3,34	9,1	2,400	690	110	1320	250	274.000
5	6	1	2,09	5	2,390	170	0	1630	520	76.000
6	5	2	3,38	8,5	2,700	232	5	1674	480	200.000
7	11	2	3,44	7,5	2,500	665	30	1440	373	172.000
8	16	1	3,5	9	3,300	772	13	1854	636	167.000
9	3	2	3,52	5,6	5,000	990	95	2995	870	140.000
10	3	1	3,91	10,2	3,520	749	0	2270	489	32.000
11	10	2	3,52	8,1	1,900	919	19	689	258	165.000
12	10	1	3,36	9,2	2,400	864	0	1464	48	136.000
13	4	2	3,11	7,3	1,900	395	2	1197	281	34.000
14	2	2	3,93	4,4	2,800	582	0	1856	336	170.000
15	14	1	3,77	8,5	2,800	560	14	1736	364	244.000
16	15	1	4,26	10,7	1,800	610	0	892	270	157.000
17	2	2	2,91	6,7	2,000	136	38	1428	352	165.000
18	3	1	3,04	8	4,100	828	24	2443	762	139.000
19	4	2	4,59	9,54	3,470	645	31,2	2380	312	153.000
20	2	2	3,36	6,62	3,190	893	2	1952	295	97.000
21	13	1	3,64	8,64	2,900	829	145	1496	362	207.000
22	8	1	2,78	7,43	1,940	388	0	1280	232	166.000
23	3	1	4,89	12,7	2,900	870	0	1276	493	178.000
24	9	1	3,62	8,77	2,650	882	79,5	1089	524	249.000
25	3	2	4,17	10	3,950	553	0	2775	513	179.000
26	5	2	2,4	5,53	1,110	152	4,4	723	197	240.000
27	3	1	3,92	9,08	1,860	924	6,8	855	279	223.000
28	3	2	4,32	9,96	3,260	292	4,5	2099	772	116.000
29	4	2	3,14	7,04	2,990	603	14,9	1985	346	188.000
30	5	2	3,71	10,8	1,190	119	283	438	350	150.000
31	10	1	3,56	7,77	1,160	407	6	431	282	70.000
32	9	2	3,76	8,89	753	284	2,1	305	128	225.000
33	2	2	4,75	11,4	3,780	995	123	2050	498	190.000
34	3	2	4,3	9,4	5,700	621	0	4246	786	224.000
35	7	1	3,99	8,67	2,820	1000	282	1156	338	110.000

Gênero: 1= Masculino/2=Feminino

Grupo 1 – Dados do grupo LV

Nº	Hemocultura	Microorganismo	PCR-US (mg/dl)	Lactato (mmol/L)	IFN- γ (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)
1	2		0,35	1,1	1.67	27.23
2	2		26,31	1,6	141	1098
3	2		0,53	0,8	0.97	1.45
4	2		1,37	1,5	2.12	184
5	2		5,77	2,0	3.43	50.12
6	2		25,30	1,3	13.58	595
7	2		4,29	0,9	3.35	189.5
8	2		12,74	1,8	68.22	362
9	2		11,40	0,7	18.92	382
10	2		2,86	0,9	5.93	277
11	1	S. haemolyticus	0,58	0,7	33.51	276
12	2		6,30	0,8	36.72	574
13	2		8,32	1,4	536	750
14	2		4,86	0,5	7.8	435
15	2		3,64	1,9	1.97	181
16	2		1,87	1,2	5.74	321
17	2		2,86	1,0	22.9	195
18	2		5,87	1,8	7.41	820
19	2		4,12	0,7	66.9	32.16
20	2		6,19	2,1	152	358
21	2		5,45	0,4	3.61	182
22	2		4,82	1,2	23.1	560
23	2		2,53	0,5	215.6	882
24	2		9,21	1,5	4.13	230
25	2		5,43	0,6	266	232
26	2		8,64	0,9	46.85	712
27	2		4,67	1,4	14.17	266
28	2		10,15	1,3	17.23	281
29	2		7,65	0,8	19.91	350
30	2		8,56	0,3	156	252
31	2		7,32	1,7	199	284
32	2		3,65	0,6	116	704
33	2		4,86	2,2	42.51	245.46
34	2		3,42	1,4	24	277
35	2		5,65	0,8	5.74	273

Hemocultura: 1=Positivo / 2=Negativo

Grupo 1 – Dados do grupo LV

Nº	IL-5 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	Pró-calcitonina (pg/ml)	Febre
1	1.25	2.9	27.8	12.4	1
2	0.61	1965	156	12.4	1
3	1.4	10.83	1.86	12.4	1
4	12.49	9.52	23.6	12.4	1
5	2.28	2.07	29.81	17.326	1
6	3.55	9.98	175	12.4	1
7	39.04	5.46	100	12.4	1
8	12.65	25.98	72.86	95.075	1
9	0.66	12.02	74.83	70.957	1
10	15.95	9.87	57.44	1.681	1
11	0.68	21.58	57.38	83.254	1
12	2.34	17.27	116	116.416	1
13	0.09	90.37	287	12.4	1
14	0.72	7.05	150.3	174.087	1
15	1.4	10.46	46.64	12.4	1
16	3.16	37.25	230	12.4	1
17	0.68	12.02	86.84	12.4	1
18	0.37	13.09	71.76	12.4	1
19	0.78	1.65	78.87	12.4	1
20	0.30	131	138	12.4	1
21	0.32	5.78	59.47	12.4	1
22	0.41	22.02	76.74	27.142	1
23	5.11	126.84	340.76	298.221	1
24	35.97	9.01	118	10.549	1
25	1.30	69.18	158.52	12.4	1
26	4.01	40.66	156	12.4	1
27	<0.65	22.78	76.12	12.4	1
28	6.76	24.49	115	12.4	1
29	1.22	5.95	101	12.4	1
30	3.09	14.02	35.09	12.4	1
31	26.46	151	184	89.874	1
32	14.46	37.06	180	12.4	1
33	1.95	1.26	107.31	12.4	1
34	0.33	1.41	58.73	12.4	1
35	1.49	9.29	40.4	12.4	1

Febre: 1 = Presença

Grupo 2 – Dados dos portadores de Doença Onco- hematológica

Nº	Idade	Gênero	Hem	Hb	Leucócito	Neutrófilo	Eosinófilo	Linfócito	Monócito	Plaquetas
1	5	1	3,83	11,4	750	100	0	590	60	116.000
2	7	1	4,8	13,8	5,500	850	130	2370	2070	34.000
3	17	2	3,77	11	500	160	10	340	20	51.800
4	6	2	3,09	12,7	3,090	671	61	2010	315	184.000
5	1	1	4,24	12,1	390	10	10	360	10	8.000
6	3	1	3,06	7,9	1,500	30	0	1390	80	58.000
7	4	1	3,7	9,1	2,100	241	0	1520	320	222.000
8	4	1	3,72	11,3	800	270	60	430	30	183.000
9	11	1	3,4	9,6	1400	225	60	425	675	68.000
10	11	2	3,44	10,4	490	290	0	190	10	39.000
11	8	1	3,46	7,7	6000	420	0	4680	846	169.000
12	12	1	3,19	9,7	2830	990	0	520	1310	260.000
13	13	1	3,12	8,1	3120	700	10	1670	630	78.000
14	18	1	3,27	10	700	110	0	580	10	67.000
15	17	1	2,84	8,5	1000	120	0	730	150	7.000
16	8	1	3,62	10,1	580	190	0	380	10	48.000
17	0,83	2	3,97	11,3	1070	290	0	530	250	130.000
18	4	2	3,53	11,9	2430	210	290	760	1130	275.000
19	13	1	3,41	9,8	580	130	0	440	10	6.000
20	8	1	4,4	9,1	2170	220	40	1730	130	53.000
21	4	1	2,84	9,3	1,010	4	510	340	110	29.000
22	13	1	3	8,6	1,270	10	0	860	40	351.000
23	5	2	2,03	6,5	420	120	20	270	10	52.000
24	11	1	2,1	7,5	800	280	0	504	16	4.000
25	16	1	2,5	7,8	300	30	0	190	80	28.000
26	16	2	2,6	7,7	900	396	0	405	99	128.000
27	12	2	3	9,5	270	30	0	170	70	6.000
28	11	1	1,79	5,4	1,300	221	0	962	117	76.000
29	2	1	4,2	12,9	1,900	100	10	1770	10	59.000
30	2	1	2,73	8,1	400	90	10	110	210	40.000
31	4	1	4,5	13,2	800	140	10	640	10	89.000
32	2	1	3,6	9,8	840	210	260	250	100	273.000
33	14	2	1,73	5,3	1,000	280	0	550	530	20.000
34	11	1	2,6	7,8	100	20	0	50	30	14.000
35	0,66	2	2,3	7,1	2,100	260	0	1490	370	26.000

Gênero: 1= Masculino/2=Feminino

Grupo 2 – Dados dos portadores de Doença Onco- hematológica

Nº	Hemocultura	Microorganismo	PCR-US (mg/dl)	Lactato (mmol/L)	IFN- γ (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)
1	1	S. epidermidis	3,61	2,6	1.74	182
2	1	S.saprophyticus	2,81	1	1.52	4.19
3	2		16,92	0,8	3.01	9.58
4	1	S. epidermidis	6,72	2,8	114	33.56
5	1	K. pneumoniae	8,39	2	1.52	54.79
6	2		28,99	2,1	4.75	110
7	2		0,79	2,5	0.6	0.54
8	2		4,72	2,3	7.23	21.96
9	2		5,76	0,5	4.13	9.29
10	2		0,78	1,2	1.38	93.05
11	2		1,58	2,6	1.24	1.66
12	2		0,74	0,9	1.03	6.62
13	2		16,64	0,4	5.2	148
14	1	S. haemolyticus	8,88	1,7	0.97	20.95
15	2		0,46	2,2	0.72	0.54
16	2		10,57	1,3	30.75	6020
17	2		9,45	0,8	32.1	6171
18	2		1,53	0,8	1.1	1.66
19	2		0,79	0,8	1.38	6.21
20	2		8,99	1,2	0.72	20.23
21	2		1,28	1,7	1.24	4.85
22	1	B. cepacea	7,65	2,6	10.27	373
23	2		5,54	1,4	3.1	52.93
24	2		6,23	2,4	1.3	5.66
25	2		6,32	2,0	0.97	10.15
26	2		4,76	3,2	3.31	22.03
27	2		9,29	1,3	6.76	128
28	2		4,81	1,2	2.28	19.37
29	2		3,32	1,5	1.97	13.89
30	2		2,65	2,4	0.6	7.6
31	2		1,95	1,9	1.38	8.72
32	1	S. epidermidis	7,94	1,5	28.7	128
33	2		10,12	2,0	1.24	90.92
34	2		9,3	1,2	147	51.59
35	1	P. aeruginosas	8,76	3,4	6.85	229

Hemocultura: 1=Positivo / 2=Negativo

Grupo 2 – Dados dos portadores de Doença Onco- hematológica

Nº	IL-5 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	Pró-calcitonina (pg/ml)	Febre	Doença Onco- hematológica
1	112	64	14.64	12.4	1	LLA
2	0.71	3.56	11.28	12.4	1	LMA
3	96.16	62.03	7.38	12.4	1	LLA
4	15.95	9.75	23.99	12.4	1	LLA
5	0.07	4.81	6.51	12.4	1	LLA
6	0.11	78.59	104	12.4	1	LLA
7	0.11	0.42	7.97	12.4	1	LLA
8	12.69	6.12	8.21	12.4	1	LLA
9	0.07	121	9.46	53, 540	1	LLA
10	1.76	7.11	24.74	12.4	1	LLA
11	1.58	13.76	9.01	12.4	1	Osteossarcoma
12	1.52	1.38	8.21	12.4	1	LLA
13	1.95	68.36	3.1	12.4	1	LLA
14	0.33	20.73	7.97	12.4	1	Linfoma Hodgkin
15	0.09	1.19	7.9	12.4	1	Aplasia Medula Óssea
16	0.30	161	41.91	12.4	1	Doença de Castleman
17	0.24	184	44.21	12.4	1	LLA
18	1.52	13.2	31.02	12.4	1	LLA
19	1.7	1.3	12.88	12.4	1	LLA
20	0.5	18.87	7.45	12.4	1	Neuroblastose
21	1.7	1.17	11.28	12.4	1	LLA
22	3.34	4675	405	12.4	1	LLA
23	0.14	17.18	25.38	12.4	1	LLA
24	0.09	28.01	9.25	12.4	1	Osteossarcoma
25	0.43	14.13	11.62	12.4	1	LLA
26	7.37	11.27	5.77	12.4	1	Linfoma não Hodgkin
27	0.54	32.41	10.21	12.4	1	LLA
28	0.68	103	8.07	12.4	1	LLA
29	0.05	11.2	1.67	12.4	1	LLA
30	0.59	14.41	8.07	12.4	1	Sarcoma
31	0.26	9.89	3.82	12.4	1	LLA
32	0.94	10.92	12.13	12.4	1	LLA
33	0.04	1.76	19.18	12.4	1	Sarcoma
34	11.57	2793	18.02	12.4	1	Osteossarcoma
35	0.11	78.92	12.68	12.4	1	LLA

Febre: 1 = Presença/LLA-Leucemia Linfoide Aguda/LMA-Leucemia Mieloide Aguda

APÊNDICE D

- Dosagem de Biomarcadores IFN- γ , IL-5, IL-6, IL-10 e TNF- α – em pacientes portadores de LV e doença Onco-hematológica-Aracaju - 2012.

	Grupo						Mann-Whitney	Valor de p
	LV (n=35)		Mediana	Onco-hematológico (n=35)		Mediana		
	Média	± DP		Média	±DP			
IFN-γ (pg/ml)	65,26	107,7	19,91	15,85	30,89	1,76	248	< 0,001
IL-5 (pg/ml)	5,83	9,79	1,40	7,92	24,4	0,59	415	0,020
IL-6 (pg/ml)	83,89	329,57	12,02	246,96	901,57	14,13	581	0,711
IL-10 (pg/ml)	366,83	258,46	20,95	401,76	1424,0	277	165,5	< 0,001
TNF-α (pg/ml)	108,26	74,39	84,84	27,26	68,20	10,21	103	< 0,001

ANEXO A - PARECER DO CEP



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS
CAMPUS DA SAÚDE PROF. JOÃO CARDOSO NASCIMENTO JR
Rua Cláudio Batista S/N – Prédio Centro de Pesquisas Biomédicas - Bairro
Sanatório
CEP: 49060-100 Aracaju -SE – Fone: (79) 2105-1805
E-mail: cephu@ufs.br

DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa intitulado: **“COMPORTAMENTO DE BIOMARCADORES NA NEUTROPENIA FEBRIL EM PEDIATRIA”**, nº CAAE 0040.0.107.000-07 e Protocolo CEP 71/2007, sob a orientação da Prof. Dra. Ângela Maria da Silva, aprovado em 06/07/2007, tem autorização do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Federal de Sergipe - CEP/UFS, para extensão da pesquisa.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEP/UFS, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Res. CNS 196/96).

Aracaju, 14 de dezembro de 2011.

Anita Hermínia
Prof. Ms. Anita Hermínia Oliveira Souza
Coordenadora do CEP/UFS

ANEXO B - VALORES DE REFERÊNCIA - LABORATÓRIO

Hemograma completo

VALORES NORMAIS DE SÉRIE VERMELHA ($\pm 2dp$).

Idade	Hb (g/dl) ($\pm 2dp$)	Ht (%) ($\pm 2dp$)	Hm ($10^{12}/l$) ($\pm 2dp$)	VGM (fl) ($\pm 2dp$)	HGM (pg) ($\pm 2dp$)	CHGM (g/dl) ($\pm 2dp$)
Nascimento (cordão)	16,5 (13,5 – 19,5)	51 (42 – 60)	4,7 (3,9 – 5,5)	108 (98 – 118)	34 (31 – 37)	33 (30 – 36)
1 a 3 dias	18,5 (14,5 – 22,5)	56 (45 – 67)	5,3 (4,0 – 6,6)	108 (95 – 121)	34 (31 – 37)	33 (29 – 37)
1 semana	17,5 (13,5 – 21,5)	54 (42 – 66)	5,1 (3,9 – 6,3)	107 (88 – 126)	34 (28 – 40)	33 (28 – 38)
2 semanas	16,5 (12,5 – 20,5)	51 (39 – 63)	4,9 (3,6 – 6,2)	105 (86 – 124)	34 (28 – 40)	33 (28 – 38)
1 mês	14,0 (10,0 – 18,0)	43 (31 – 55)	4,2 (3,0 – 5,4)	104 (85 – 123)	34 (28 – 40)	33 (29 – 37)
2 meses	11,5 (9,0 – 14,0)	35 (28 – 42)	3,8 (2,7 – 4,9)	96 (77 – 105)	30 (26 – 34)	33 (29 – 37)
3 a 6 meses	11,5 (9,5 – 13,5)	35 (29 – 42)	3,8 (3,1 – 4,5)	91 (74 – 108)	30 (25 – 35)	33 (30 – 36)
0,5 a 2 anos	12,0 (10,5 – 13,5)	36 (33 – 39)	4,5 (3,7 – 5,3)	78 (70 – 86)	27 (23 – 31)	33 (30 – 36)
2 a 6 anos	12,5 (11,5 – 13,5)	37 (34 – 40)	4,6 (3,9 – 5,3)	81 (75 – 87)	27 (24 – 30)	34 (31 – 37)
6 a 12 anos	13,5 (11,5 – 15,5)	40 (35 – 45)	4,6 (4,0 – 5,2)	86 (77 – 95)	29 (25 – 33)	34 (31 – 37)
12 a 18 anos						
Mulheres	14,0 (12,0 – 16,0)	41 (36 – 46)	4,6 (4,1 – 5,1)	90 (78 – 102)	30 (25 – 35)	34 (31 – 37)
Homens	14,5 (13,0 – 16,0)	43 (37 – 49)	4,9 (4,5 – 5,3)	88 (78 – 98)	30 (25 – 35)	34 (31 – 37)
18 a 49 anos						
Mulheres	14,0 (12,0 – 16,0)	41 (36 – 46)	4,6 (4,0 – 5,2)	90 (80 – 100)	30 (26 – 34)	34 (31 – 37)
Homens	15,5 (13,5 – 17,5)	47 (41 – 53)	5,2 (4,5 – 5,9)	90 (80 – 100)	30 (26 – 34)	34 (31 – 37)

LEUCOGRAMA

VALORES DE REFERÊNCIA EM CRIANÇAS

Idade	Até 1 dia (/ mm ³)	2 a 7 dias (/ mm ³)	8 a 14 dias (/ mm ³)	15 a 30 dias (/ mm ³)	31 a 90 dias (/ mm ³)	91 a 180 dias (/ mm ³)	0,5 a 2 anos (/ mm ³)	2 a 3 anos (/ mm ³)	3 a 6 anos (/ mm ³)	6 a 13 anos (/ mm ³)	> 13 anos (/ mm ³)
Leucócitos	9000 a 30000	5000 a 21000	5000 a 20000	5000 a 19500	6000 a 17500	6000 a 17500	6000 a 17000	5500 a 15500	5000 a 14500	5000 a 13000	5000 a 10000
Neutrófilos	6000 a 26000	1500 a 10000	1000 a 9500	1000 a 9000	1000 a 9000	1000 a 8500	1500 a 8500	1500 a 8500	1500 a 8000	1800 a 8000	1800 a 10000
Metamielócitos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bastões	1600	800	600	500	500	500	300	300	300	200	0 a 1000
Segmentados	9400	4700	3900	3300	3300	3300	3200	3500	4000	4200	1800 a 7000
Eosinófilos	20 a 850	70 a 1100	70 a 1000	70 a 900	70 a 800	70 a 750	40 a 650	20 a 650	20 a 650	0 a 600	0 a 600
Basófilos	0 a 640	0 a 250	0 a 230	0 a 200	0 a 200	0 a 200	0 a 200	0 a 200	0 a 200	0 a 200	0 a 200
Linfócitos	2000 a 11000	2000 a 17000	2000 a 17000	2500 a 16500	3500 a 14500	4000 a 13500	3000 a 9500	2000 a 8000	1500 a 7000	1200 a 6000	1000 a 5000
Monócitos	400 a 3100	300 a 2700	200 a 2400	200 a 2400	150 a 1500	150 a 1500	150 a 1300	150 a 1300	150 a 1300	150 a 1300	80 a 1200

PLAQUETAS

VALORES DE REFERÊNCIA EM CRIANÇAS

Idade	Valor normal
Recém nascidos	300.000 a 600.000/ mm ³
2 a 7 dias	250.000 a 550.000/ mm ³
8 a 14 dias	250.000 a 500.000/ mm ³
15 a 90 dias	250.000 a 500.000/ mm ³
91 dias a 2 anos	200.000 a 500.000/ mm ³
> 13 anos	140.000 a 400.000/ mm ³

Referências:

Wintrobe - Hematologia Clínica, Editora Manole - 9a Edição, 1998.