

Níveis de proteína C reativa no soro e líquido cefalorraquidiano para o diagnóstico de meningite bacteriana neonatal

C-reactive protein levels in serum and cerebrospinal fluid for the diagnosis of neonatal bacterial meningitis

Elza Harumi Yonekura Hashimoto¹, Jaqueline Dario Capobiango², Ana Berenice Ribeiro de Carvalho³, Tiemi Matsuo⁴, Edna Maria Vissoci Reiche⁵

¹Pediatra Neonatologista e Plantonista da UTI Neonatal do Hospital Universitário de Londrina/Londrina, Paraná.

²Docente do Departamento de Clínica Médica, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, Setor de Doenças Transmissíveis do Hospital Universitário de Londrina.

³Docente do Departamento de Pediatria, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina e Setor de Neonatologia do Hospital Universitário de Londrina

⁴Docente do Departamento de Estatística, Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Londrina,

⁵Docente do Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina e Setores de Imunologia Clínica e Diagnóstico Molecular, Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Londrina.

Resumo

Introdução: As alterações bioquímicas e celulares observadas no líquido cefalorraquidiano (LCR) no período neonatal exibem amplas variações, o que dificulta o diagnóstico de meningite bacteriana. Entre os marcadores laboratoriais de inflamação aguda, a proteína C reativa (PCR) pode ser utilizada no auxílio do diagnóstico de meningite. **Objetivo:** Determinar os níveis de PCR em amostras de soro e LCR de recém-nascidos (RNs) com diagnóstico de meningite neonatal. **Metodologia:** Foram avaliados 48 RNs com diagnóstico de meningite bacteriana e de 37 RNs com sepse tardia sem meningite associada atendidos na Unidade Neonatal do Hospital Universitário de Londrina, Paraná. A dosagem da PCR no soro foi realizada por imunoturbidimetria e no LCR por imunonefelometria ultra-sensível. **Resultados:** Os níveis de PCR entre os RNs com meningite bacteriana variaram de 0,4 a 170mg/L (média $35,1 \pm 40,2$ e mediana 22,5) no soro e de 0,0 a 10,8mg/L (média $1,1 \pm 2,0$ e mediana 0,5) no LCR. Em 27/38 (71,0%) pacientes com meningite bacteriana e em 14/29 (48,3%) com sepse tardia, houve elevação dos níveis de PCR no LCR ($p=0,0580$). Porém, quando os valores de PCR no soro e no LCR foram categorizados (<3, 3-19, 20- 40 e >40mg/L para o soro e <0,175, 0,175- 4 e > 4 mg/L para o LCR), não houve diferença entre os dois grupos ($p=0,1375$ e $p=0,1645$, respectivamente). **Conclusão:** A elevação da PCR no LCR sugere a presença de meningite bacteriana; porém, a passagem da PCR sérica pela barreira hematoencefálica em RNs com meningite bacteriana e em RNs com sepse sem meningite limita a sua utilização como marcador laboratorial de diagnóstico de meningite neonatal.

Palavras-chave: Recém-nascido. Meningite. Sepse. Proteína C-Reativa. Líquido cefalorraquidiano.

Abstract

Introduction: The biochemical and cellular changes observed in the cerebrospinal fluid (CSF) during the neonatal period show wide range of values and difficult their use to the diagnosis of bacterial meningitis. Among the laboratory markers of acute phase response, the C reactive protein can be useful to the early diagnosis of meningitis. **Objective:** To determine the CRP levels in serum and CSF samples from newborn with diagnosis of neonatal meningitis. **Methodology:** The study included 48 newborns with bacterial meningitis and 37 newborns with late sepsis without associated meningitis admitted to the neonatal intensive care unit at University Hospital of Londrina, Paraná. The CRP levels were measured in serum samples using immunoturbidimetry and in CSF samples using high sensitive nephelometry. **Results:** Among the newborns with bacterial meningitis, the CRP levels ranged from 0.4 to 170,0mg/L (mean 35.1 ± 40.2 and median 22.5) in serum samples and from < 0.175mg/L to a 10.8mg/L (mean 1.1 ± 2.0 and median 0.5) in CSF samples. Among the 38 patients with bacterial meningitis and 29 with late sepsis, 27 (71.0%) and 14 (48.3%), respectively, the levels of CRP were increased in CSF samples ($p=0,0580$). However, when the CRP values obtained in serum and CSF were categorized (<3, 3-19, 20- 40, and >40mg/L for sera and <0,175, 0,175- 4, and > 4 mg/L for CSF), the difference between the two groups was not observed ($p=0.1375$ and $p=0.1645$, respectively). **Conclusion:** The increased values of CRP in serum and CSF samples suggest the diagnosis of bacterial meningitis; however, the high permeability of the blood-CSF barrier in newborns with bacterial meningitis and sepsis without meningitis limits the useful application of CRP as a laboratory marker for diagnosis of neonatal meningitis.

Keywords: Newborn. Meningitis. C-Reactive Protein. Cerebrospinal Fluid.

INTRODUÇÃO

A meningite bacteriana é mais comum no primeiro mês de vida, com mortalidade de 17,0% a 29,0% nos diferentes centros de tratamento e taxas de sequelas de 15,0% a 68,0% nos sobreviventes¹.

Os achados clínicos na meningite neonatal são frequentemente inespecíficos e os sintomas neurológicos costumam surgir quando a infecção está em estágio avançado. Portanto, o diagnóstico precoce é um dos recursos mais importantes para melhorar o prognóstico dos pacientes acometidos¹.

A sepse é a infecção mais frequente no período neonatal e 30,0 - 50,0% dos recém-nascidos (RNs) têm meningite associada². Portanto, em todo RN com sepse deve-se incluir a coleta do líquido cefalorraquidiano (LCR) para o diagnóstico da meningite neonatal³. Os valores de referência para o LCR no período neonatal exibem amplas variações, o que torna difícil a sua interpretação⁴. O diagnóstico de certeza da meningite neonatal é o isolamento do microrganismo na cultura do LCR; entretanto, para o início da terapia empírica, as alterações dos valores no exame citológico do LCR indicam o acometimento meníngeo³.

Vários são os métodos laboratoriais que auxiliam no diagnóstico de sepse no período neonatal tais como contagem de leucócitos periféricos, contagem de plaquetas e dosagem de proteína C reativa (PCR), porém ainda o padrão ouro é o isolamento do microrganismo em hemocultura^{2,5,6}.

A PCR, descrita inicialmente como uma globulina que forma um precipitado quando combinada com o polissacarídeo C do *Streptococcus pneumoniae*⁷, é uma proteína de fase aguda, produzida no fígado em resposta a uma injúria tecidual, particularmente quando causada por um processo inflamatório agudo^{2,6,8,9}. Outros marcadores de resposta inflamatória que têm sido utilizados para o diagnóstico de sepse no período neonatal são a procalcitonina, interleucinas 6 e 8 (IL-6, IL-8), fator de necrose tumoral (TNF- α) e antígenos leucocitários de superfície (CD11b e CD64)^{6,8,9}.

Os níveis de PCR em RNs a termo e prematuros saudáveis variam de 2 a 10mg/L durante os primeiros dias de vida. Alguns autores têm relatado níveis de PCR na sepse neonatal de 6 a 20 mg/L. Em prematuros, os níveis de PCR podem não ultrapassar 10 mg/L, em decorrência da imaturidade hepática. Portanto, valores conflitantes de PCR têm levado à confusão diagnóstica na prática clínica⁶.

A dosagem de PCR associada à de IL-6 foi avaliada em amostras de soro para o diagnóstico de sepse e acompanhamento do tratamento em RNs, melhorando a acurácia diagnóstica da sepse^{8,10}. Poucos autores relataram a elevação da PCR no LCR de RNs com meningite, enquanto vários são os relatos de concentração elevada de PCR no LCR de crianças com meningite com mais de quatro semanas de vida^{2,11,12,13,14}.

Até o presente momento, não há dados publica-

dos de análise da PCR no LCR de RNs brasileiros. Em virtude da necessidade de um método laboratorial que auxilie no diagnóstico de meningite neonatal, este trabalho se propõe a determinar os níveis de PCR no soro e no LCR de RNs com diagnóstico de meningite bacteriana ou sepse tardia sem meningite, além de comparar os valores de PCR encontrados no soro e no LCR nestes dois grupos de RNs.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina (UEL).

Estudo retrospectivo de 48 RNs com meningite bacteriana tardia e 37 com sepse tardia sem meningite, internados na Unidade Neonatal do Hospital Universitário de Londrina (HU), no Paraná/Brasil, no período de janeiro de 2008 a julho de 2010. A maternidade do HU é referência para atendimento de gestantes de risco da região norte do estado.

Os dados foram obtidos a partir dos prontuários e das fichas de infecção hospitalar da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar do HU. Para o diagnóstico de meningite neonatal tardia e sepse neonatal tardia foram seguidos os critérios da ANVISA⁵.

A metodologia utilizada para a dosagem da PCR no soro foi a imunoturbidimetria (Dimension[®]; SIEMENS; valor de referência: < 3 mg/L) e no LCR a nefelometria ultrasensível (CardioPhase[®] hsCRP; SIEMENS; valor de referência: < 0,175 mg/L). Os valores do PCR no soro foram categorizados como: < 3 mg/L; 3 - 19 mg/L; 20 - 40 mg/L e > 40 mg/L. No LCR, os valores categorizados foram: < 0,175 mg/L, 0,175 - 4 mg/L e > 4 mg/L.

Os valores de PCR no soro foram comparados aos do PCR no LCR do mesmo RN, se coletados dentro de 48 horas de intervalo.

Foram utilizados os programas Epi Info (versão 3.5.2 de 2010) e SPSS (15.0 for Windows Evaluation Version) para o registro e análise dos dados. Para as variáveis categóricas foram utilizados o teste do x² ou exato de Fisher, quando apropriado. Para as variáveis contínuas foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Os resultados foram considerados significativos quando o p < 0,05.

RESULTADOS

Foram analisados 48 RNs com diagnóstico de meningite bacteriana e 37 RNs com diagnóstico de sepse tardia não associada a meningite. A distribuição da idade gestacional (IG) e do peso de nascimento dos RNs analisados encontra-se na Tabela 1.

A maioria dos RNs (75/88,3%) avaliados tinha IG menor que 38 semanas e 71 (83,6%) apresentaram peso ao nascer < 2500 g.

A frequência de meningite bacteriana em RNs prematuros não diferiu da observada em RN a termo (p=0,406). Não houve diferença entre a IG e os valores de PCR no soro (p=0,392) e no LCR (p=0,259).

Entre os 48 RNs com diagnóstico de meningite bacteriana, 33 (68,7%) preencheram também os critérios para o diagnóstico de sepse secundária à meningite bacteriana.

Entre os 48 pacientes com meningite bacteriana, 10 (20,8%) não tinham valores de PCR no LCR, e dos 37 pacientes com sepse tardia, 8 (21,6%) não tinham valores de PCR no LCR, devido a dificuldade de coleta ou material insuficiente, restando 67 amostras para análise da PCR no LCR (38 casos de meningite bacteriana e 29 de sepse tardia).

Em pacientes com meningite bacteriana, os valores de PCR no soro variaram de 0,4 a 170,0 mg/L (média = $35,1 \pm 40,2$; mediana = 22,5). Os valores de PCR no LCR destes RNs variaram de 0,0 a 10,8 mg/L (média = $1,1 \pm 2,0$; mediana = 0,5).

Em pacientes com sepse os valores de PCR no soro foram de 0,0 a 122,0 mg/L (média = $32,7 \pm 35,9$; mediana = 15,4); enquanto que os valores de PCR no LCR foram de 0,0 a 1,9 mg/L (média = $0,3 \pm 0,5$; mediana = 0,2).

Conforme a Tabela 2, a frequência de elevação de PCR no soro de pacientes com meningite bacteriana e com sepse tardia sem meningite não diferiu significativamente ($p=0,4420$). No entanto, a frequência de elevação da PCR no LCR variou significativamente entre os grupos ($p=0,0580$).

Os níveis categorizados de PCR no soro não diferiram entre pacientes com meningite bacteriana e com sepse tardia sem meningite ($p=0,1375$) (Tabela 3). Ao analisar os valores de PCR no LCR categorizados em $< 0,175$; $0,175-4,0$ e > 4 mg/L de pacientes com meningite e com sepse, não houve diferença estatisticamente significativa entre os 2 grupos ($p=0,1645$) (Tabela 3). Em 11 (28,9%) de 38 pacientes com meningite, os valores do PCR no LCR foram normais ($< 0,175$ mg/L) e em 15 (51,7%) dos 29 pacientes com sepse os valores do PCR no LCR foram alterados ($> 0,175$ mg/L) (Tabela 3).

Tabela 1 - Distribuição dos recém-nascidos quanto à idade gestacional e peso de nascimento, atendidos na Unidade Neonatal do Hospital Universitário de Londrina.

Características	nº. de amostras (n)	Porcentagem (%)
Idade gestacional (semanas)		
< 28	13	15,3
28 – 32	36	42,4
33 – 37	26	30,6
≥ 38	10	11,8
Peso ao nascer (gramas)		
< 700	6	7,1
701 – 999	8	9,4
1000 – 1500	31	36,5
1501 – 2500	26	30,6
> 2500	14	16,5
Total	85	100%

Tabela 2 - Comparação dos valores de Proteína C reativa (PCR) obtidos no soro e no líquido cefalorraquidiano (LCR) em pacientes com meningite bacteriana ou sepse tardia.

Variáveis analisadas	Meningite bacteriana		Sepse tardia		p*
	n	%	n	%	
PCR no soro**	40/48	83,3	33/37	89,2	0,4420
≥ 3,0 mg/L					
PCR no LCR***	27/38	71,0	14/29	48,3	0,0580
≥ 0,175 mg/L					

*Teste χ^2 ; **PCR = proteína C reativa quantificada por nefelometria; ***PCR avaliada por nefelometria ultrasensível.

Tabela 3 - Distribuição dos pacientes com meningite bacteriana ou sepse tardia de acordo com os valores categorizados de proteína C reativa (PCR) no soro e líquido cefalorraquidiano (LCR).

Valores de PCR	Meningite bacteriana (%)	Sepse tardia (%)	Valor de p
PCR no soro (mg/L)			
< 3	10 (20,8)	4 (10,8)	0,1375 *
3 – 19	13 (27,1)	19 (51,3)	
20 – 40	8 (16,7)	5 (13,5)	
> 40	17 (35,4)	9 (24,3)	
Total	48	37	
PCR no LCR (mg/L)			
< 0,175	11 (28,9)	14 (48,3)	0,1645 **
0,175 – 4,0	24 (63,2)	15 (51,7)	
> 4,0	3 (7,9)	0 (0,0)	
Total	38	29	

* Teste χ^2 ; ** Teste Exato de Fisher

DISCUSSÃO

No presente trabalho avaliamos a dosagem de PCR no soro e no LCR obtidos de 48 RNs com diagnóstico de meningite bacteriana e 37 RNs com sepse tardia sem meningite. Os resultados demonstraram que a PCR está elevada na maioria das amostras de soro e LCR de RNs com meningite bacteriana.

Um estudo prévio¹³ avaliou somente 11 RNs com meningite, 5 RNs com sepse e 7 RNs normais e não demonstrou uma relação entre a elevação da PCR no soro e no LCR em pacientes com e sem meningite neonatal; porém, 10 RNs com meningite não tinham a PCR avaliada no soro e em 8 RNs, a meningite foi causada por *Streptococcus* do grupo B, portanto foram infecções precoces, diferente do presente estudo que excluiu as infecções precoces. Estes autores¹³ ainda questionam dois casos de RNs sem meningite que apresentaram valores alterados de PCR no soro e normais no LCR, o que indicaria a necessidade de haver uma inflamação da barreira hematoencefálica para permitir a passagem da PCR sérica para o LCR¹³.

À semelhança de Phillip e Baker¹³, também não encontramos diferença entre os níveis de PCR no soro e no LCR de pacientes com meningite e de pacientes com sepse tardia, em função do peso de nascimento e IG. Statz¹⁵ e Felgenhauer¹⁶ avaliaram os valores da PCR no LCR de 185 pacientes entre 27 semanas de IG a 16 anos de idade e demonstraram uma maior permeabilidade da barreira hematoencefálica no primeiro ano de vida, principalmente no período neonatal e em prematuros.

Ben Gershôm et al.¹² examinaram o valor diagnóstico da PCR no LCR de 126 pacientes com suspeita de meningite, sendo 30 RNs (pré-termos e termos) e 96 lactentes e crianças até 13 anos. Vinte pacientes tiveram o diagnóstico de meningite bacteriana (somente 3 RNs) e 25 foram considerados meningite viral. Nos lactentes e nas crianças, um ponto de corte da PCR em 4 mg/L obteve uma sensibilidade de 100,0%, especificidade de

96,0%, valor preditivo positivo de 95,0% e valor preditivo negativo de 100,0% para a diferenciação de meningite bacteriana e meningite viral. Porém, segundo os autores, para os RNs este corte da PCR não pode ser determinado, devido a imaturidade da barreira hematoencefálica. Os autores ainda afirmaram que a maior permeabilidade da barreira hematoencefálica nos RNs pré-termos e termos impede a aplicação da PCR como recurso diagnóstico nos casos de meningite. Porém, um valor de PCR no LCR menor que 4 mg/L, torna menos provável o diagnóstico de meningite bacteriana, pois até mesmo RNs pré-termos demonstraram ser capazes de produzir a resposta de elevação da PCR¹².

Como há passagem da PCR do soro para o LCR em RN com meningite, os resultados deste estudo foram insuficientes para determinar o ponto de corte dos valores da PCR no LCR que contribua para o diagnóstico de meningite nestes pacientes. A dosagem de albumina sérica e no LCR destes pacientes poderia auxiliar na determinação de um ponto de corte para diferenciar a elevação da PCR no LCR por passagem pela barreira hematoencefálica dos casos de meningite bacteriana^{15,16}.

Uma limitação do presente estudo foi a não confirmação bacteriológica por pesquisa direta e coloração Gram e/ou cultura das amostras de LCR dos pacientes com diagnóstico de meningite, pois somente um RN apresentou cultura positiva de LCR, com isolamento de *Escherichia coli* na amostra analisada. Outra dificuldade foi a exclusão da meningite na evolução dos RNs com sepse, pois na maioria dos RNs com sepse, somente uma amostra de LCR foi coletada no dia da suspeita diagnóstica.

Corral e colaboradores¹¹ encontraram valores normais de PCR no LCR em 31,0% dos pacientes com meningite bacteriana confirmada e em tratamento com antibiótico endovenoso há mais de 48 a 72 horas antes da coleta do LCR. No presente estudo o uso de antibiótico prévio, há mais de 48 horas, ocorreu na maioria dos

RNs (79%) com meningite bacteriana quando submetidos à coleta de LCR, o que pode ter interferido nos resultados obtidos.

CONCLUSÃO

Mais estudos são necessários para definir a relação da PCR no soro e no LCR em RNs e determinar o melhor ponto de corte dos níveis de PCR para prever o diagnóstico de meningite bacteriana. Os resultados deste trabalho confirmam que RNs a termo e prematuros com meningite bacteriana apresentam valores elevados de PCR no LCR. Um valor de PCR < 0,175 mg/L no LCR sugere a ausência de meningite bacteriana no período neonatal.

REFERÊNCIAS

1. KREBS, R.L.J.; TARICO, L.D. Fatores de risco para meningite bacteriana no recém-nascido. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, São Paulo, v.62, n.3-A, p.630-634, 2004
2. PALAZZI D.L. Bacterial sepsis and meningitis. In: Remington J.S., Klein J.O. **Infectious diseases of the fetus and newborn infant**, 6th. ed. Philadelphia: Saunders, p. 247-295, 2006.
3. HAUSSEN D.C., et al. Meningite neonatal: aspectos associados. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**. São Paulo, v. 63, n. 3-A, p.625-631, 2005.
4. FARIA S.M., FARHAT C.K., Meningites bacterianas - diagnóstico e conduta. **J. Pediatr. (Rio J.)**, Porto Alegre, v. 75, supl. 1, p. 46-56, 1999.
5. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Neonatologia: critérios nacionais de infecções relacionadas à assistência à saúde**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/aa863580492e0b81b23ab314d16287af/manual_neonatologia-%2B03-09-2010-%2Bnovo.pdf?MOD=AJPERES> Acesso em: 01 mai. 2011.
6. HEHGST, J.M. The Role of C-Reactive Protein in the evaluation and Management of Infants With Suspected Sepsis. **Adv. Neonatal Care.**, Philadelphia, v. 3, n. 1. p. 3-13, 2003. Disponível em: < http://www.medscape.com/viewarticle/450937_print > Acesso em: 31 jul.2007.
7. TILLET W.S., FRANCIS R. Serological reaction in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. **J.Exp.Med.**, New York, v. 52, n. 4, p. 561-571, 1930.
8. CELIK I.H. et. al. What are the Cut-Off Levels for IL-6 and CRP in Neonatal Sepsis? **J.Clin. Lab. Anal.**, New York, 2010, v. 24, p. 407-412, 2010.
9. CECCON M.E.J.R., VAZ F.A.C. Os mediadores inflamatórios no diagnóstico de sepse no recém-nascido. **Pediatria (São Paulo)**. São Paulo, v. 26, n. 2, p. 110-119, 2004.
10. CECCON, M.E.J.R., et al. Interleucina 6 e proteína C reativa no diagnóstico de sepse tardia no recém-nascido. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 52, n. 2, p.79-85, 2006.
11. CORRALL C.J., PEPPLER M.J., MOXON E.R., HUGHES W.T. C-Reactive protein in spinal fluid of children with meningitis. **The Journal of Pediatrics**, Philadelphia, v. 99 n. 3, p.365-369, 1981.
12. BENGERSHO, M E.; BRIGGEMAN-MOL, G.J.J.; ZEGHER, F. Cerebrospinal fluid C-Reactive protein in meningitis: diagnostic value and pathophysiology. **European Journal of Pediatrics**, Cham, v. 145, n. 4, p. 246-249, 1986.
13. PHILIP A,G.S.; BAKER, C.J. Cerebrospinal fluid C-protein in neonatal meningitis. **The Journal of Pediatrics**, Philadelphia, v. 102, n. 5, p. 715-718, may-1983.
14. REICHE E.,M.V. et. al. Avaliação da dosagem da Proteína C Reativa no soro e no líquido cefalorraquidiano para o diagnóstico diferencial das meningites bacterianas e meningites de etiologia presumivelmente viral. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 1, p. 43-47, 2000.
15. STATZ, A.; FELGENHAUER, K. Development of the Blood-CSF Barrier. **Developmental Medicine and Child Neurology**, New York, v. 25, n. 2, p. 152-161, 1983.
16. FELGENHAUER K., SCHLIEP G., RAPIC N. Evaluation of the blood-CSF barrier by protein gradients and the humoral immune response within the Central Nervous System. **Journal of Neurological Sciences.**, Amsterdam, v. 30, n. 1, p. 113-128, 1976.

Submetido em 03.12.2012;

Aceito em 04.04.2013.