

Procalcitonina no diagnóstico de doenças infecciosas*

Procalcitonin for diagnosis of infectious diseases

Charles Martins de Castro¹, Rosemeri Maurici da Silva²

*Recebido do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Sul de Santa Catarina. Florianópolis, SC.

RESUMO

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS: O uso de antimicrobianos, em regimes ambulatoriais e nosocomiais, apresentam além dos custos diretos, um custo indireto, de grandes proporções, tanto pelo desenvolvimento de resistência antimicrobiana, quanto pela incidência de efeitos adversos do seu uso. A procalcitonina tem demonstrado ser útil como instrumento que permite o uso mais racional dos antimicrobianos em diversas situações clínicas, através de protocolos específicos. O objetivo deste estudo foi avaliar a utilidade da procalcitonina no diagnóstico de doenças infecciosas.

CONTEÚDO: A procalcitonina é um pró-hormônio sintetizado em diversos tecidos. Em pacientes hígidos, somente a procalcitonina produzida na tireoide apresenta uma função fisiológica propriamente dita, participando na homeostase do cálcio. Em pacientes sob diversos eventos agudos, principalmente infecções bacterianas, apresenta-se elevada, e serve de instrumento para auxiliar na estratificação de risco e decisão terapêutica.

CONCLUSÃO: A procalcitonina pode, em diversas situações clínicas, e baseadas em algoritmos específicos, ser utilizada como importante ferramenta diagnóstica. Ela permite maior acurácia no diagnóstico de processos infecciosos, principalmente os de etiologia bacteriana, levando a um uso mais racional dos antimicrobianos, além de obter economia em termos de custos totais e possibilita melhor evolução no perfil de resistência microbiana no futuro.

Descritores: Infecção, Marcadores biológicos, Prognóstico.

SUMMARY

BACKGROUND AND OBJECTIVES: The use of antimicrobials in both outpatient and hospitalized patients has, in addition to the direct costs, indirect costs of major proportions, due both for the development of antimicrobial resistance, and the incidence of adverse effects from its use. Procalcitonin has been shown to be useful as a tool that allows for more rational use of antimicrobial agents in various clinical situations, using specific protocols. The objective of this study was to assess the usefulness of procalcitonin for diagnosis of infectious diseases.

CONTENTS: Procalcitonin is a prohormone which is synthesized in various tissues. In healthy patients, only procalcitonin produced in the thyroid has a physiological function, participating in calcium homeostasis. In patients experiencing acute events, especially bacterial infections, increased procalcitonin levels are considered a risk stratification instrument to assist therapeutic decision.

CONCLUSION: Procalcitonin can, in many clinical situations, and based on specific algorithms, be used as an important diagnostic tool. It allows a higher diagnostic accuracy for infectious processes, especially bacterial infections, leading to a more rational use of antimicrobials. In addition to reducing total costs, the use of procalcitonin will certainly allow a better evolution of microbial resistance profile in the future.

Keywords: Biological markers, Infection, Prognosis.

INTRODUÇÃO

A calcitonina foi identificada pela primeira vez em 1962 em experiências com tireóides de cães, e denominada como hormônio calcitropico. Os precursores intracelulares da calcitonina apenas foram descritos em 1975 por Moya, Nieto e R-Candela¹. O principal precursor, a procalcitonina (PCT), teve sua exata estrutura conhecida apenas em 1981. Inicialmente havia dúvidas sobre sua real função, visto que em pessoas saudáveis, seus níveis estão abaixo do detectável pelos exames laboratoriais, e era inicialmente observado seu aumento apenas em pacientes com carcinoma medular da tireoide, e carcinomas de pequenas células do pulmão². Em 1993 surgiram relatos de aumento da PCT em pacientes com infecções, bem como a relação dos seus níveis com a gravidade da doença e com resposta à antibioticoterapia³.

Bioquimicamente, a PCT é uma proteína de 116 aminoácidos e peso molecular de 13 kdaltons. A sequência de 32 aminoácidos da calcitonina está localizada entre a 60^o e 91^o posição da cadeia da PCT². É sintetizada principalmente nas células "C" parafoliculares da tireoide⁴, e possui estrutura idêntica à PCT liberada no

1. Médico Cardiologista e Professor da Universidade do Sul de Santa Catarina; Aluno do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL). Tubarão, SC, Brasil

2. Médica Pneumologista e Professora da Universidade do Sul de Santa Catarina; Mestre em Ciências Médicas; Doutora em Ciências Pneumológicas; Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL). Tubarão, SC, Brasil

Apresentado em 28 de novembro de 2011

Aceito para publicação em 13 de agosto de 2012

Endereço para correspondência:

Profa. Dra. Rosemeri Maurici da Silva

Rodovia Virgílio Várzea, 2236/601-A – Residencial Villa Vernazza
Saco Grande II

88032-001- Florianópolis, SC

Fone: (48) 9982-2796

E-mail: rosemeri.silva@unisul.br

© Sociedade Brasileira de Clínica Médica

plasma durante os processos inflamatórios², mesmo sendo comprovadamente liberada de outros tecidos, conforme demonstrado em pacientes tireoidectomizados^{3,5}.

O produto original do gene CALC-1 (localizado no braço curto do cromossomo 11), que é o responsável pela produção da PCT nas células C da tireoide e, provavelmente durante a inflamação, é um peptídeo de 141 aminoácidos chamado pré-procalcitonina. Este, após clivagem por endopeptidases, resulta em PCT. A PCT após nova clivagem e adição de cisteínas nas posições 1 e 7, responsáveis por uma ponte dissulfídica, torna-se calcitonina, que pode se ligar ao receptor específico e ser secretada. Esta proteólise ocorre somente intracelularmente, pois não há enzimas capazes de clivar a PCT em calcitonina no meio extracelular, e, portanto, em indivíduos saudáveis não são detectados níveis séricos significativos da PCT. A PCT que escapa da proteólise intracelular e é secretada na circulação apresenta meia-vida de 25-30 horas, enquanto a calcitonina apresenta meia-vida de 4-5 minutos, visto não existir no plasma enzimas capazes de converter a PCT em calcitonina. Como não apresenta espacialmente o anel de 7 aminoácidos na terminação N (ponte dissulfídica), não apresenta influência no metabolismo do cálcio².

O objetivo deste estudo foi avaliar a utilidade da procalcitonina no diagnóstico de doenças infecciosas.

REGULAÇÃO DA PROCALCITONINA

A regulação dos níveis de PCT de origem tireoidiana e inflamatória é fundamentalmente diferente. As células "C" da tireoide respondem a níveis séricos de cálcio elevados, bem como dos glicocorticóides, glucagon, gastrina, estimulação beta-adrenérgica e peptídeos gene - relacionados da calcitonina (CGRP). A somatostatina e a vitamina D suprimem a produção da PCT e calcitonina. Durante os processos inflamatórios, nenhum dos estímulos descritos está relacionado aos níveis de PCT, sendo estes níveis mais relacionados às citocinas inflamatórias e endotoxinas⁶. Em 1994 Dandona e col.⁷ em estudo com voluntários saudáveis, após a injeção por via venosa de endotoxina de *E. coli*, analisou amostras de sangue obtidas após 1, 2, 4, 6, 8 e 24h da injeção. Os pacientes desenvolveram arrepios, calafrios, mialgia e febre entre 1 e 3h. Os níveis de fator de necrose tumoral alfa (TNF α) aumentaram acentuadamente em uma hora e atingiram o pico em 90 minutos, retornando à concentração basal em 6 horas. Os níveis de interleucina 6 (IL-6) aumentaram de forma mais gradual, atingindo um máximo em 3h, retornando ao basal em 8h. A concentração de procalcitonina, que foi indetectável (< 10 $\mu\text{g/L}$) em 0, 1 e 2h, foi detectada em 4h, e atingiu o pico em 6 horas, mantendo um platô de 8 até 24h (4 $\mu\text{g/L}$)⁷.

Diversos tecidos parenquimatosos diferenciados, incluindo o adiposo, são capazes de produzir a PCT. Durante infecções bacterianas, uma estimulação combinada de produtos microbianos, dentre eles lipopolissacarídeos (LPS), e de mediadores pró-inflamatórios (TNF, IL-1, IL-2 e IL-6) resultam na indução do RNA mensageiro da calcitonina (RNAm-CT), e consequente secreção dos precursores da calcitonina, incluindo a PCT⁸.

Contudo, em contraste com o TNF e IL-6, a PCT aumenta seletivamente em processos bacterianos, demonstrando a existência de diversos processos modulatórios da sua secreção². Experimen-

tos utilizando IL-1 β (potente indutor do RNAm-CT), revelaram que o IFN γ age como um potente inibidor da IL-1 β , mediada pela indução do gene CALC I. Interferons, incluindo IFN γ , desempenham um papel crucial no início de mecanismos de defesa antiviral, o que pode explicar os baixos níveis de PCT neste tipo de infecção^{8,9}.

A importância da produção tecidual também foi comprovada em pacientes com sepse bacteriana que apresentaram níveis elevados de PCT, apesar da quase completa erradicação dos leucócitos após quimioterapia¹⁰⁻¹². Contudo, em pacientes avaliados até o 15º dia após transplante de medula óssea, a PCT não foi capaz de diferenciar infecção de reação inflamatória¹³.

O problema

A implementação bem sucedida de biomarcadores no diagnóstico de diferentes doenças (D-dímeros na embolia pulmonar, peptídeos natriuréticos na insuficiência cardíaca aguda, troponina no infarto agudo do miocárdio, dentre outros) tem permitido um diagnóstico preciso e precoce, porém, nas infecções bacterianas este marcador continua sendo um desafio. Este desafio não influencia apenas no desfecho do paciente em si, mas tem repercussão na saúde pública, devido a emergente resistência bacteriana aos antimicrobianos, em grande parte pelo uso excessivo destes fármacos. A era antibiótica está ameaçada pela convergência de três circunstâncias adversas: altos níveis de resistência entre os patógenos prevalentes, uma oferta desigual de novas classes de antibióticos, e uma dramática redução no número de empresas farmacêuticas envolvidas com a descoberta e desenvolvimento de agentes antibacterianos. Em comunidades dos EUA, em torno de 50% dos pneumococos isolados expressam resistência intermediária ou elevada à penicilina. Em hospitais, 50% dos *S. aureus* são resistentes à metilina, e 30% dos enterococos são resistentes à vancomicina. Dentre as cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, 20% são resistentes às quinolonas, e 15% resistentes ao imipenem¹⁴. Revendo a evolução dos antimicrobianos, nas décadas de 1930 e 1940, quatro novas classes foram aprovadas: sulfonamidas, betalactâmicos, aminoglicosídeos e cloranfenicol. Nas décadas de 1950 e 1960, mais seis novas classes: tetraciclina, macrolídeos, glicopeptídeos, rifampicinas, quinolonas e trimetoprim. Porém, nas décadas de 1970, 1980 e 1990, não foram licenciadas novas classes. Desde 2000, apenas duas novas classes de antibióticos foram aprovadas para o tratamento de bactérias Gram-positivas: oxazolidinonas (linezolida), e os lipopeptídeos cíclicos (daptomicina)¹⁴.

Além da indução de multiresistência bacteriana, Shehab e col.¹⁵ baseado em registros do *National Electronic Injury Surveillance System – Cooperative Adverse Drug Event Surveillance* (NEISS-CADES) estimou que aproximadamente 140.000 visitas aos serviços de emergência dos EUA eram devidas a reação adversas a antibióticos.

Neste sentido, existe um interesse considerável em programas de manuseio de antibióticos que visam reduzir o seu uso excessivo, adequando a antibioticoterapia às necessidades individuais dos pacientes. Parâmetros clínicos e/ou microbiológicos confiáveis e fáceis ainda são insuficientes. As principais desvantagens de muitos dos atuais métodos microbiológicos são a demora no diagnóstico (métodos de cultura), a sensibilidade abaixo do ideal (hemoculturas) e a baixa especificidade, devido à contaminação

(culturas de escarro), enquanto outros não são passíveis para o diagnóstico de rotina devido à sua natureza invasiva (biópsia pulmonar). Marcadores inflamatórios, como proteína C-reativa (PCR), ou de leucócitos (leucograma), carecem de especificidade para as infecções bacterianas. Isto é em parte explicado pela heterogeneidade das diferentes infecções, e complexa interação de diferentes mediadores pró e anti-inflamatórios, das respostas do hospedeiro destinadas a combater patógenos invasores durante infecções sistêmicas⁹.

A PCT mostra um perfil favorável para uso como um marcador clínico: aumenta de 4 a 12h após a estimulação, e os níveis circulantes diminuem pela metade ao dia, quando a infecção é controlada. Demonstra relação direta com a carga bacteriana e gravidade da infecção, apresentando portanto, implicações prognósticas em pacientes com sepse⁹. Outra vantagem da PCT, é que o perfil de liberação não se altera com o tratamento prévio com corticosteróide em pacientes hígidos estimulados com a injeção de lipossacarídeos de *E. coli*¹⁶.

PNEUMONIAS

A indicação mais frequente para prescrições de antibióticos nos países desenvolvidos são as infecções do trato respiratório inferior (ITRI), que variam em gravidade, da bronquite aguda autolimitada até graves exacerbações agudas da doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), e pneumonias adquiridas na comunidade (PAC) bacterianas com risco de vida. Os sintomas e sinais clínicos, bem como marcadores laboratoriais comumente utilizados, não são confiáveis em distinguir a etiologia viral da bacteriana. Mais de 75% dos pacientes com ITRI são tratados com antibióticos, apesar da predominância da etiologia viral¹⁷.

A PAC é a principal causa de morte de origem infecciosa nos países desenvolvidos. Aproximadamente 10% a 20% dos pacientes internados com PAC são admitidos em unidade de terapia intensiva, onde haverá de 20% a 50% de mortalidade¹⁸.

Na PAC bacteriana, o início imediato de antibioticoterapia é fundamental, e atrasos superiores a 4h estão associados com aumento da mortalidade. A duração ótima do tratamento com antibióticos na PAC é desconhecida¹⁸.

A duração da terapêutica antimicrobiana pode ser guiada por sinais e sintomas clínicos, tais como defervescência, diminuição da expectoração e da tosse, ou melhora do estado geral. No entanto, a interpretação da resposta clínica carece de padronização e de validação, e é propensa a variabilidade interobservador¹⁸.

Em estudo clínico aleatório¹⁸ com 302 pacientes, foram incluídos pacientes adultos (maiores de 18 anos de idade, 88% com comorbidades) com PAC como diagnóstico principal na admissão, definidos por um novo infiltrado na radiografia do tórax e a presença de um ou mais dos seguintes sinais ou sintomas respiratórios agudos: tosse, produção de escarro, dispnéia, temperatura corporal superior a 38° C, ausculta pulmonar com estertores, e contagem de leucócitos superior a 10.000 ou menor do que 4.000 células/mL. Foram excluídos pacientes com fibrose cística ou tuberculose pulmonar ativa, com pneumonia hospitalar e imunodeprimidos. Níveis menores de 0,1 µg/L sugeriram a ausência de infecção bacteriana e o início ou a continuação de antibióticos foi fortemente desencorajada. Níveis entre 0,1 e 0,25 µg/L

indicavam que a infecção bacteriana era improvável, e o início ou continuação de antibióticos foi desencorajado. Valores entre 0,25 e 0,5 µg/L foram considerados para indicar possível infecção bacteriana e o início ou a continuação da terapia antibiótica foi encorajado. Níveis superiores a 0,5 µg/L sugeriram fortemente a presença de infecção bacteriana, e o tratamento com antibióticos e/ou a continuação foi fortemente incentivada. Reavaliação do estado clínico e medição dos níveis séricos de PCT foram recomendadas após 6 a 24h em todos os pacientes que não receberam antibióticos. Níveis de PCT foram reavaliados após 4, 6 e 8 dias. Antibióticos foram interrompidos de acordo com os cortes definidos acima. Em pacientes com valores muito altos de PCT na admissão (por exemplo, mais de 10 µg/L), a suspensão dos antibióticos foi incentivada se os níveis diminuíssem para níveis inferiores a 10% do valor inicial (por exemplo, 1 µg/L, ou menos de 0,25 µg/L). O seguimento foi de 6 semanas. Quanto aos desfechos: em comparação com o grupo controle, a duração de antibióticos foi reduzido em 55% no grupo PCT (mediana de 12 versus 5 dias; $p < 0,001$). Níveis de PCT aumentaram com a gravidade da PAC, conforme definido pelo *Pneumonia Severity Index* (PSI) ($p < 0,001$). A terapia antibiótica empírica inicial foi adequada em 97%, sendo similar em ambos os grupos. Comparando sobreviventes e não sobreviventes na admissão, a PCT ($p = 0,02$) e PSI ($p < 0,001$) foram diferentes, enquanto a PCR ($p = 0,57$) e o leucograma foram semelhantes¹⁸.

Estudo multicêntrico¹⁷, analisou a abordagem baseada na PCT versus a abordagem padrão sobre o uso de antibióticos em infecções respiratórias, em 1825 pacientes com diagnóstico primário de ITRI. Foram incluídos pacientes maiores de 18 anos e ITRI aguda com menos de 28 dias de evolução. Pelo menos um sintoma respiratório (tosse, produção de escarro, dispnéia, taquipnéia, dor pleurítica), além alteração na ausculta pulmonar (estertores), ou um sinal de infecção (temperatura corporal central maior 38° C, calafrios, ou contagem de leucócitos superior a 10.000/mL ou < 4.000/mL), independente de pré-tratamento com antibiótico. A PAC foi definida como um novo infiltrado na radiografia de tórax. DPOC foi definida por critérios espirométricos pós-broncodilatador, de acordo com as Diretrizes da Iniciativa Global para DPOC. Em pacientes com história clínica de DPOC e tabagismo, testes de função pulmonar no momento da inclusão não eram obrigatórios. Bronquite aguda foi definida como ITRI, na ausência de doença pulmonar subjacente ou sinais focais na ausculta e infiltrados na radiografia do tórax. Os critérios de exclusão foram o uso de fármacos por via venosa, a imunossupressão grave (exceto o uso de corticosteróides), comorbidades com risco de morte iminente, pacientes com pneumonia hospitalar ou internação nos últimos 14 dias, e os pacientes com infecção crônica necessitando de tratamento antimicrobiano. O início ou continuação de antibióticos foram baseados em valores semelhantes ao do estudo anterior (fortemente desencorajada se PCT < 0,1 µg/L, desencorajado se < 0,25 µg/L, início/continuação fortemente incentivado se > 0,5 µg/L, e incentivado se > 0,25 µg/L). Se os antibióticos não fossem iniciados, os pacientes internados eram clinicamente reavaliados, e a PCT repetida após 6 a 24h. Todos os pacientes internados foram reavaliados para acompanhar a resolução da infecção nos dias 3, 5 e 7 e na alta. No grupo PCT com valores aumentados de PCT e antibioticotico-

terapia, medidas de PCT foram repetidas após 3, 5 e 7 dias e tratamento com antibiótico foi interrompido usando os mesmos intervalos de corte. Em pacientes com valores elevados de PCT à admissão (ou seja, > 10 µg/L), o algoritmo recomendado foi suspender os antibióticos se os níveis de PCT diminuíram 80%, e é altamente recomendada se os níveis diminuíram em 90% do valor inicial. Em pacientes ambulatoriais, o início e a duração do tratamento com antibiótico foi baseado no valor PCT inicial e os pacientes foram reavaliados apenas em caso de agravamento da doença¹⁷. A redução nas taxas de prescrição de antibióticos foi de 87,7% para 75,4% para todas as ITRIs; de 99,1% para 90,7% nas PAC; de 69,9% para 48,7% para DPOC exacerbada; e de 50% para 23,2% para bronquite aguda. Redução na duração média da terapia antimicrobiana por via venosa foi de 3,8 para 3,2 dias para todas as ITRI (-17,1%, IC 95% -26,6% a -6,5%; $p < 0,001$); de 4,8 para 4,1 dias para PAC; de 1,9 para 1,3 dias para DPOC exacerbada; e de 1,0 para 0,6 dias para bronquite. Da mesma forma, a redução na duração média de antibioticoterapia oral foi de 4,9 para 2,5 dias para todas as ITRI (-48,5%, IC 95% -54,7% a -41,5%; $p < 0,001$); de 5,9 para 3,1 dias para PAC; 3,2 para 1,3 dias para exacerbações de DPOC; e 1,8 para 0,4 dias para bronquite. Tanto o desfecho primário quanto a mortalidade foram similares, ou tenderam a ser mais baixos para o grupo guiado pela PCT para todos os subgrupos¹⁷. Outro estudo, em hospital dinamarquês, com 223 pacientes, o tempo de internação em pacientes com DPOC descompensada foi de 7,1 dias no grupo-controle, e de apenas 4,8 dias no grupo PCT ($p = 0,009$)¹⁹. Portanto, em pacientes com PAC, DPOC descompensada e bronquite aguda, a conduta baseada na PCT tem repetidamente demonstrado que o uso de antibióticos, bem como a duração do tratamento foram reduzidos em pacientes admitidos na sala de emergência, sem lesões aparentes, e com tendência à redução nos custos diretos e indiretos (efeitos colaterais dos antibióticos, multirresistência bacteriana)^{9,17-20}.

PNEUMONIA ASSOCIADA À VENTILAÇÃO MECÂNICA

A pneumonia associada à ventilação mecânica (PAVM) é a principal causa de morte por infecção nosocomial nos EUA. A mortalidade atribuível tem sido relatada na faixa entre 24% e 50%. O custo adicional estimado para um episódio de PAVM é em torno de US\$ 40.000/paciente. Baseado em uma estimativa de 250.000 casos de PAV por ano, o custo do tratamento facilmente atinge US\$ 10 bilhões, somente nos EUA²¹⁻²³.

A reavaliação sistemática dos antibióticos em 48 a 72h, a suspensão deve ser avaliada se o paciente está melhorando e as culturas são negativas. Caso o resultado da cultura seja positivo e o paciente melhorou, então os antibióticos devem ser adaptados à cultura, incluindo a possibilidade de monoterapia. Lamentavelmente, este algoritmo de tratamento muitas vezes não é respeitado na prática clínica diária, e alguns autores têm sugerido que a dificuldade para obter secreções do trato respiratório inferior confiáveis, e as pressões para o tratamento de uma população cada vez mais doente são alguns dos fatores que limitam a adesão à esta abordagem^{21,24}. Pacientes de unidade de terapia intensiva (UTI) em ventilação mecânica (VM) por mais de 48h foram elegíveis para o estudo, se apresentassem todos os seguintes critérios: 1) > 18

anos; 2) com diagnóstico clínico de PAVM, tal como definido pelas diretrizes da ATS (infiltrados novos ou persistentes na radiografia de tórax associada a pelo menos dois dos seguintes: secreção traqueal purulenta, temperatura > 38° C, contagem de leucócitos > 11.000/mL ou < 3.000/mL). Foram excluídos se: gestação, se recebiam imunossuppressores ou corticoterapia de longa data, se eram imunossuprimidos, incluindo síndrome da imunodeficiência adquirida, ou se tiveram uma infecção extrapulmonar coexistente necessitando de antibioticoterapia. Na PAVM, a antibioticoterapia baseada nos níveis de PCT acarretou aumento significativo nos número de dias livres de antibiótico ao 28° dia (13 [2-21] versus 9,5 [1,5-17] dias). Isso resultou numa redução na duração total do tratamento de 27% no grupo procalcitonina ($p = 0,038$). Mesmo após ajuste para idade, microbiologia, e efeito do centro do estudo, a taxa de interrupção do antibiótico no 28° dia permaneceu mais elevado no grupo procalcitonina em comparação com pacientes tratados de acordo com as orientações (RR 1,6, IC 95% 1,02-2,71). No entanto, o número de dias sem VM, tempo de permanência em UTI e hospitalar, e as taxas de óbito, foram semelhantes para os dois grupos²¹.

Hillas e col.²⁵ também publicaram um estudo em que a PCT do 1° dia discriminava os sobreviventes dos não sobreviventes ($p = 0,001$) e a evolução para choque séptico ($p = 0,001$).

TUBERCULOSE

A tuberculose (TB) é responsável por elevadas taxas de infecção respiratória, com quadros clínicos e laboratoriais que em muito se assemelham aos das pneumonias por *Streptococcus pneumoniae* e outras bactérias²⁶. Esta semelhança torna-se mais importante em populações com baixas condições sanitárias, bem como nos imunocomprometidos, principalmente os pacientes com vírus da imunodeficiência humana positivo²⁷. Apesar da sensibilidade e especificidade apresentada em infecções bacterianas, a PCT não tem apresentado o mesmo valor na TB, tanto pulmonar quanto extrapulmonar²⁸. O comportamento da PCT na TB tende a normalidade, com valores médios abaixo de 0,25 µg/L, apresentando, portanto, valor para diferenciá-la de infecções bacterianas. Quando na TB apresenta valores mais elevados (> 0,5 µg/L), está associada à aumento significativo da mortalidade^{29,30}.

PEDIATRIA

A distinção entre pielonefrite aguda e infecção do trato urinário (ITU) sem envolvimento renal é muito importante, principalmente na população pediátrica, porque a infecção renal parenquimatosa pode causar cicatrizes e, portanto, exige uma investigação mais agressiva e seguimento mais intenso. No entanto, esta distinção não é fácil entre as crianças, porque achados clínicos e parâmetros laboratoriais comuns são inespecíficos. Na tentativa de diferenciar pielonefrite aguda da ITU febril, sem lesões renais em crianças, foram analisadas 100 crianças entre um mês e 13 anos. A PCT média foi significativamente maior na pielonefrite aguda (4,48 ± 5,84 µg/L) do que na ITU sem lesões renais (0,44 ± 0,30 µg/L). Os níveis da PCR foram 106 ± 68,8 µg/L e 36,4 ± 26 µg/L, a velocidade de hemossedimentação (VHS) foram de

79,1 ± 33 mm/h e 58,5 ± 33 mm/h, e o leucograma de 18.492 ± 6.839 células/mL e 16.741 ± 5.302 células/mL, respectivamente. Para a predição de pielonefrite aguda, a PCT apresentou sensibilidade de 83,3% e especificidade de 93,6%; a PCR apresentou sensibilidade de 94,4%, mas uma especificidade de apenas 31,9%. O valor preditivo positivo e negativo para a previsão de envolvimento renal, com a PCT, foi de 93,7% e 83%, e com a PCR foram 61,4% e 83,3%, respectivamente³¹.

Em recém-nascidos de muito baixo peso (RNMBP), com mais de 72h de vida (peso médio ao nascimento de 1.100 g, e 30 semanas de gestação), com critérios clínicos e laboratoriais de sepse, com e sem hemoculturas positivas e controles, a PCT foi significativamente maior nos pacientes com sepse confirmada (5,0 µg/L) que nos pacientes com sepse clínica (0,5 µg/L) ($p < 0,05$). Todos os óbitos ocorreram no grupo com hemoculturas positivas, e destes, 75% foram decorrentes de patógenos Gram-negativos³². Em recém-nascidos a termo, foram encontrados resultados similares, onde a PCT apresentou no *cut-off* de $\geq 0,65$ µg/L, uma sensibilidade de 85%, especificidade de 80%, e área sob a curva ROC de 0,849, em prever sepse nosocomial³³.

Atenção especial deve ser dada aos recém-nascidos com menos de 72h, pois está demonstrado que aumentos na concentração sérica da PCT nestes pacientes está relacionada a fatores diferentes da sepse neonatal. Níveis elevados da PCT foram detectados 12-24h após o nascimento em recém-nascidos assintomáticos. Apesar de a PCT poder atravessar a barreira placentária, os resultados de concentrações mais elevadas de PCT em soro do cordão umbilical quando comparada com amostras maternas, e com diferenças ainda maiores em 24 à 48h de vida, refuta a hipótese da simples transferência placentária. Portanto, a PCT no pós-parto provavelmente representa a síntese endógena em resposta ao estresse direto do período perinatal, ou para a adaptação ao ambiente extrauterino. O processo de parto normal e a adaptação extrauterina estimulam uma reação de fase aguda com liberação de PCR, IL-6 e amiloide A sérico. Então, apenas deve-se ressaltar que os limiares para a PCT como preditor de sepse variam nas primeiras 72h de vida³⁴.

PACIENTES CIRÚRGICOS

Em estudo com 130 pacientes cirúrgicos, com dosagem da PCT pré-operatória e até o 5º dia de pós-operatório (PO), 117 evoluíram sem complicações, porém, em 32% das cirurgias pequenas e assépticas as concentrações de PCT foram moderadamente aumentadas, em 59% das cirurgias cardíacas e torácicas, e em 95% dos pacientes após a cirurgia do intestino. Nos pacientes com complicações pós-operatórias, a PCT estava aumentada em 12 dos 13 pacientes, em especial, nas cirurgias intestinais (mediana de 1,5 µg/L e máxima de 5,15 µg/L)³⁵.

Trauma é a maior causa de síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS) não infecciosa³⁶, tornando o diagnóstico de quadros de infecção associados um desafio clínico frequente. Esta diferenciação torna-se mais problemática, principalmente na fase tardia (final da primeira semana), quando uma grande gama de possíveis processos infecciosos adquiridos na fase de estresse agudo do trauma começa a manifestar-se, porém a maioria dos marcadores (PCR, leucograma) ainda pode estar alterada pela lesão

inicial³⁷. Benoist e col.³⁸ demonstraram que a PCT é um ótimo discriminador entre pacientes com sepse, daqueles com apenas SIRS pós-traumática, e também sem SIRS.

A PCT também se apresenta elevada precocemente em casos de peritonite, conforme relato de Suverviola Cañas e col.³⁹ podendo servir como marcador de infecção, como também, da sua melhora, permitindo a suspensão dos antimicrobianos, bem como alta do paciente mais precoce.

Em cirurgias cardíacas com circulação extracorpórea (revascularização do miocárdio ou troca valvar), a análise de 208 pacientes consecutivos por sete dias no PO demonstrou que a PCT superior a 2 µg/L no 1º e 2º dia ($n = 55$) apresentou associação com maior incidência de anormalidades (infecciosas ou não infecciosas) no PO (95%), do que nos pacientes com PCT mais baixa (59%). Especificamente, a incidência de três ou mais critérios da SIRS foi de 45% *versus* 4% (área sob a curva ROC = 0,866); necessidade de suporte inotrópico positivo foi de 65% *versus* 9% (área sob a curva ROC = 0,870); insuficiência respiratória ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 200$), 38% *versus* 12% (área sob a curva ROC = 0,704); infecção comprovada e suspeita de infecção bacteriana, 9% *versus* 1% (área sob a curva ROC = 0,900) e 24% *versus* 1% (área sob a curva ROC = 0,897), respectivamente⁴⁰. Na população pediátrica, a PCT também demonstrou ser um preditor de sepse em pós-operatório de cirurgias cardíacas que utilizaram circulação extracorpórea⁴¹.

A PCT pode ser usada no PO para diagnóstico de complicações infecciosas, porém necessitando observar o intervalo de tempo e concentrações de PCT durante o curso normal da cirurgia³⁵.

MALÁRIA

A malária continua a ser um grave problema de saúde global, com mais de 40% da população mundial (2,4 milhões de pessoas) expostas a diferentes graus de risco de malária em mais de 100 países. Além disso, com os rápidos meios de transporte, grande número de pessoas de áreas não endêmicas estão sendo expostos à infecção (16 mil casos/ano diagnosticados na Europa, 5 mil/ano na França e 1,3 mil/ano nos EUA)⁴². A doença poderá se manifestar gravemente apenas após eles terem retornado para suas regiões de origem, onde a familiaridade com o diagnóstico, estratificação e tratamento pode ser limitado. O *Plasmodium falciparum* causa a forma mais grave da doença, e é comum nos trópicos. Infecções com esse parasita podem ser fatais na ausência do seu reconhecimento imediato, bem como de suas complicações, pelo retardo no tratamento apropriado imediato. A situação é complicada pela ocorrência crescente de parasitas *P. falciparum* que são resistentes à cloroquina e outros antimaláricos. Uma ação imediata é especialmente importante para grupos de alto risco, como crianças pequenas e mulheres grávidas⁴³.

Em áreas de alta transmissão, o risco de desenvolvimento de malária falcipara grave é maior entre as crianças, e nos visitantes (de qualquer idade) de áreas não endêmicas. Em áreas de não transmissão ou baixa transmissão o risco é maior entre os viajantes que retornam, com infecção não diagnosticada, a partir de qualquer área onde ocorre alta transmissão de *P. Falciparum*⁴³.

Pelas altas taxas de mortalidade da malária grave, é recomendado

o seu manuseio em ambiente de UTI⁴³. Pela necessidade de auxiliar na triagem de pacientes em regiões não endêmicas, onde o diagnóstico é incomum, e na definição dos recursos terapêuticos, múltiplos estudos foram realizados na pesquisa de preditores de complicações na malária. Estes preditores também são importantes nas áreas endêmicas, porém nestes ambientes, a familiaridade e a probabilidade do diagnóstico são maiores. Normalmente os recursos são direcionados para os recursos terapêuticos, muitas vezes escassos nessas regiões. Ao considerar a realidade destas populações, são deparados com realidades diferentes dos estudos de áreas não endêmicas, visto que em alguns estudos, a maior causa (79%) de mortalidade, inicialmente estratificados como baixo risco foi devido à insuficiência renal aguda e, que apenas 36% destes receberam tratamento dialítico⁴⁴.

Concentrações da PCT pré-tratamento foram estreitamente correlacionados com a parasitemia. As concentrações foram menores em pacientes com malária não complicada, sendo mais alta em casos graves e complicados⁴⁵⁻⁴⁷. Em um ponto de corte de 10 µg/L, a PCT apresentou sensibilidade de 0,67, especificidade de 0,94, com valor preditivo negativo (VPN) de 0,97 para malária falcipara grave. Para o corte de 2 µg/L, a PCT apresentou sensibilidade de 1,00, especificidade de 0,60, com VPN de 1,0 para malária falcipara grave⁴⁷. Em outro estudo, em um ponto de corte de 0,9 µg/L, teve um valor preditivo positivo (VPP) = 0,30 e VPN = 1,00⁴⁶.

As concentrações da PCT diminuíram no 2º dia de tratamento em pacientes sobreviventes, mas não em pacientes com desfecho fatal⁴⁵. A PCT também apresenta valor como marcador no recrudescimento da doença⁴⁸. Assim, medidas repetidas de PCT podem fornecer informação prognóstica útil, especialmente em centros médicos que não têm experiência na determinação da densidade do parasita⁴⁵.

A PCT na admissão, além da diferença entre a malária grave e não grave, apresentou níveis inferiores nos casos de malária não falcipara⁴⁷.

Quando comparado crianças assintomáticas, com ou sem parasitemia, com crianças com malária falcipara não complicada e crianças com doença grave, os níveis de PCT foram muito elevadas em ambos os grupos com malária aguda, mas não discriminou entre doença não complicada da grave⁴⁹. Quanto a predição de mortalidade, existe discordância na literatura, em outro estudo africano, a PCT foi um bom preditor de mortalidade nesta faixa etária (área sob curva ROC = 0,72; IC 0,62-0,80)⁵⁰.

Infelizmente, um fator confundidor em pacientes com malária, é a presença de infecção concomitante, como demonstrada em uma série francesa de 1988 a 1999, onde 14% dos pacientes com malária grave e 6% dos com malária não grave apresentavam infecção bacteriana concomitante na admissão⁴².

Para avaliar a PCT para diferenciar em regiões endêmicas de malária, a pneumonia viral da pneumonia bacteriana invasiva em crianças menores de 5 anos internadas com pneumonia clínica grave (PCG) em zonas rurais de Moçambique (área de malária endêmica), com alta prevalência de HIV, foi realizado estudo com 835 crianças com PCG. Na ausência de parasitas da malária, os níveis de PCT foram menores no grupo viral quando comparado com o grupo bacteriana invasiva (PCT 0,21 versus 8,31 µg/L, p = 0,001). No entanto, o mesmo não ocorreu na presença

de parasitas da malária (PCT 23,1 versus 21,75 µg/L, p = 0,825) e não foi preditor de mortalidade⁵¹.

Situação especial também é a malária terçã, onde a maioria dos pacientes pré-tratamento apresentam níveis normais ou ligeiramente elevados de PCT (< 2,5 µg/L), mas a PCT foi marcadamente elevada (4,8-47 µg/L) em um terço da população. Estes dois grupos não diferiram por qualquer outro dos parâmetros avaliados. O curso de pós-tratamento da PCT foi semelhante ao da malária *falciparum*. Portanto, a falta de correlação entre a gravidade da doença e níveis pré-tratamento da PCT é intrigante e, ainda esta em estudo, sugerindo caminhos fisiopatológicos distintos da malária terçã⁵².

Diversos escores clínico-laboratoriais também foram desenvolvidos, utilizando diversos parâmetros tais como: anemia grave, insuficiência renal aguda, desconforto respiratório, malária cerebral (sensibilidade = 89,9%, VPP = 94,1%)⁵³; ou esquizotemia, gamcitemia, desnutrição, sobrepeso, frequência cardíaca, duração de febre, albumina, história de malária (sensibilidade = 88,8% e especificidade = 88,4%)⁵⁴. O CAM (*Coma Acidosis Malaria*) escore que utiliza o déficit de base e a escala de coma de Glasgow em três níveis cada (normal, alterado e muito alterado). A pontuação CAM 2 previu a sobrevivência com um VPP de 95,8% (IC 95%, 93% - 97,7%)⁴⁴.

Portanto, apesar do valor diagnóstico limitado da PCT, o alto valor preditivo negativo pode ser útil para uma exclusão rápida da malária grave na admissão, principalmente na triagem de viajantes que retornaram de regiões endêmicas de malária e que necessitam decidir sobre subsequente tratamento antimalária oral ou encaminhamento para um centro especializado e/ou UTI. Se utilizado conjuntamente com escores clínicos, provavelmente, tanto o VPN e VPP aumentarão, porém ainda carecem de estudos específicos para este fim^{42-43,45-47}.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A PCT pode, em diversas situações clínicas, baseada em algoritmos específicos, ser utilizada como uma importante ferramenta diagnóstica. Ela permite maior acurácia no diagnóstico de processos infecciosos, principalmente os de etiologia bacteriana, levando ao uso mais racional dos antimicrobianos. Isto além de acarretar economia em termos de custos totais, possibilitará melhor evolução no perfil de resistência microbiana no futuro.

REFERÊNCIAS

1. Moya F, Nieto A, R-Candela JL. Calcitonin biosynthesis: evidence for a precursor. *Eur J Biochem.* 1975;55(2):407-13.
2. Maruna P, Nedelnikova K, Gurlish P. Physiology and genetics of procalcitonin. *Physiol Res.* 2000;49(Suppl 1):S57-61.
3. Assicot M, Gendrel D, Carsin H, et al. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet.* 1993;341(8844):515-8.
4. Shin KC, Lee YJ, Kang SW, et al. Serum procalcitonin measurement for detection of intercurrent infection in febrile patients with SLE. *Ann Rheum Dis.* 2001;60(10):988-9.
5. Russwurm S, Wiederhold M, Oberhoffer M, et al. Molecular aspects and natural source of procalcitonin. *Clin Chem Lab Med.* 1999;37(8):789-97.

6. Christ-Crain M, Müller B. Procalcitonin in bacterial infections - hype, hope, more or less? *Swiss Med Wkly.* 2005;135(31-32):451-60.
7. Dandona P, Nix D, Wilson MF, et al. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;79(6):1605-8.
8. Linscheid P, Seboek D, Nylen ED, et al. In vitro and in vivo calcitonin I gene expression in parenchymal cells: a novel product of human adipose tissue. *Endocrinology.* 2003;144(12):5578-84.
9. Schuetz P, Albrich W, Mueller B. Procalcitonin for diagnosis of infection and guide to antibiotic decisions: past, present and future. *BMC Med.* 2011;9:107.
10. Massaro KS, Costa SF, Leone C, et al. Procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) as severe systemic infection markers in febrile neutropenic adults. *BMC Infect Dis.* 2007;7:137.
11. Jimeno A, García-Velasco A, del Val O, et al. Assessment of procalcitonin as a diagnostic and prognostic marker in patients with solid tumors and febrile neutropenia. *Cancer.* 2004;100(11):2462-9.
12. Giamarellos-Bourboulis EJ, Grecka P, Poulakou G, et al. Assessment of procalcitonin as a diagnostic marker of underlying infection in patients with febrile neutropenia. *Clin Infect Dis.* 2001;32(12):1718-25.
13. Blijlevens NM, Donnelly JP, Meis JF, et al. Procalcitonin does not discriminate infection from inflammation after allogeneic bone marrow transplantation. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2000;7(6):889-92.
14. Wenzel RP. The antibiotic pipeline--challenges, costs, and values. *N Engl J Med.* 2004;351(6):523-6.
15. Shehab N, Patel PR, Srinivasan A, et al. Emergency department visits for antibiotic-associated adverse events. *Clin Infect Dis.* 2008;47(6):735-43.
16. de Kruif MD, Lemaire LC, Giebelen IA, et al. The influence of corticosteroids on the release of novel biomarkers in human endotoxemia. *Intensive Care Med.* 2008;34(3):518-22.
17. Schuetz P, Christ-Crain M, Thomann R, et al. Effect of procalcitonin-based guidelines vs standard guidelines on antibiotic use in lower respiratory tract infections: the ProHOSP randomized controlled trial. *JAMA.* 2009;302(10):1059-66.
18. Christ-Crain M, Stolz D, Binggiss R, et al. Procalcitonin guidance of antibiotic therapy in community-acquired pneumonia: a randomized trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;174(1):84-93.
19. Kristoffersen KB, Sogaard OS, Wejse C, et al. Antibiotic treatment interruption of suspected lower respiratory tract infections based on a single procalcitonin measurement at hospital admission - a randomized trial. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15(5):481-7.
20. Long W, Deng X, Zhang Y, et al. Procalcitonin guidance for reduction of antibiotic use in low-risk outpatients with community-acquired pneumonia. *Respirology.* 2011;16(5):819-24.
21. Stolz D, Smyrniotis N, Eggmann P, et al. Procalcitonin for reduced antibiotic exposure in ventilator-associated pneumonia: a randomized study. *Eur Respir J.* 2009;34(6):1364-75.
22. Rello J, Ollendorf DA, Oster G, et al. Epidemiology and outcomes of ventilator-associated pneumonia in a large US database. *Chest.* 2002;122(6):2115-21.
23. Warren DK, Shukla SJ, Olsen MA, et al. Outcome and attributable cost of ventilator-associated pneumonia among intensive care unit patients in a suburban medical center. *Crit Care Med.* 2003;31(5):1312-7.
24. American Thoracic Society; Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171(4):388-416.
25. Hillas G, Vassilakopoulos T, Plantza P, et al. C-reactive protein and procalcitonin as predictors of survival and septic shock in ventilator-associated pneumonia. *Eur Respir J.* 2010;35(4):805-11.
26. Polzin A, Pletz M, Erbes R, et al. Procalcitonin as a diagnostic tool in lower respiratory tract infections and tuberculosis. *Eur Respir J.* 2003;21(6):939-43.
27. Scott JA, Hall AJ, Muyodi C, et al. Aetiology, outcome, and risk factors for mortality among adults with acute pneumonia in Kenya. *Lancet.* 2000;355(9211):1225-30.
28. Porcel JM, Vives M, Cao G, et al. Biomarkers of infection for the differential diagnosis of pleural effusions. *Eur Respir J.* 2009;34(6):1383-9.
29. Ugajin M, Miwa S, Shirai M, et al. Usefulness of serum procalcitonin levels in pulmonary tuberculosis. *Eur Respir J.* 2011;37(2):371-5.
30. Baylan O, Balkan A, Inal A, et al. The predictive value of serum procalcitonin levels in adult patients with active pulmonary tuberculosis. *Jpn J Infect Dis.* 2006;59(3):164-7.
31. Pecile P, Miorin E, Romanello C, et al. Procalcitonin: a marker of severity of acute pyelonephritis among children. *Pediatrics.* 2004;114(2):249-54.
32. Betanzo ROB. Procalcitonina, proteína C reactiva y recuento leucocitario en recién nacidos de muy bajo peso con sepsis neonatal tardía [carta]. *An Pediatr (Barc).* 2007;66(5):541-2.
33. Pérez Solís D, López Sastre JB, Coto Cotallo GD et al. Procalcitonina para el diagnóstico de sepsis neonatal de origen nosocomial. *An Pediatr (Barc).* 2006;64(4):349-53.
34. López Sastre JB, Solís DP, Serradilla VR, et al. Evaluation of procalcitonin for diagnosis of neonatal sepsis of vertical transmission. *BMC Pediatr.* 2007;7:9.
35. Meisner M, Tschakowsky K, Hutzler A, et al. Postoperative plasma concentrations of procalcitonin after different types of surgery. *Intensive Care Med.* 1998;24(7):680-4.
36. Brun-Buisson C. The epidemiology of the systemic inflammatory response. *Intensive Care Med.* 2000;26(Suppl 1):S64-74.
37. Mimoz O, Benoist JF, Edouard AR, et al. Procalcitonin and C-reactive protein during the early posttraumatic systemic inflammatory response syndrome. *Intensive Care Med.* 1998;24(2):185-8.
38. Benoist JF, Mimoz O, Assicot M, et al. Serum procalcitonin, but not C-reactive protein, identifies sepsis in trauma patients. *Clin Chem.* 1998;44(8 Pt 1):1778-9.
39. Suverviola Cañas B, González Castro A, Fernández Miret B, et al. Procalcitonin: an allied in the management of the patient submitted to abdominal surgery. *Rev Esp Enferm Dig.* 2009;101(7):513-4.
40. Meisner M, Rauschmayer C, Schmidt J, et al. Early increase of procalcitonin after cardiovascular surgery in patients with postoperative complications. *Intensive Care Med.* 2002;28(8):1094-102.
41. Arkader R, Troster EJ, Lopes MR, et al. Procalcitonin does discriminate between sepsis and systemic inflammatory response syndrome. *Arch Dis Child.* 2006;91(2):117-20.
42. Bruneel F, Hocqueloux L, Alberti C, et al. The clinical spectrum of severe imported falciparum malaria in the intensive care unit: report of 188 cases in adults. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;167(5):684-9.
43. World Health Organization. Management of severe malaria: a practical handbook. 2nd ed. Geneva: World Health Organization, 2000.
44. Hanson J, Lee SJ, Mohanty S, et al. A simple score to predict the outcome of severe malaria in adults. *Clin Infect Dis.* 2010;50(5):679-85.
45. Chiwakata CB, Manegold C, Bönicke L, et al. Procalcitonin as a parameter of disease severity and risk of mortality in patients with Plasmodium falciparum malaria. *J Infect Dis.* 2001;183(7):1161-4.
46. Witt R, van Wolfswinkel ME, Petit PL, et al. Neopterin and procalcitonin are suitable biomarkers for exclusion of severe Plasmodium falciparum disease at the initial clinical assessment of travellers with imported malaria. *Malar J.* 2010;9:255.

47. Hesselink DA, Burgerhart JS, Bosmans-Timmerarends H, et al. Procalcitonin as a biomarker for severe *Plasmodium falciparum* disease: a critical appraisal of a semi-quantitative point-of-care test in a cohort of travellers with imported malaria. *Malar J.* 2009;8:206.
48. Hollenstein U, Looareesuwan S, Aichelburg A, et al. Serum procalcitonin levels in severe *Plasmodium falciparum* malaria. *Am J Trop Med Hyg.* 1998;59(6):860-3.
49. Braun N, Marfo Y, Von Gärtner C, et al. CTLA-4 positive T cells in contrast to procalcitonin plasma levels discriminate between severe and uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in Ghanaian children. *Trop Med Int Health.* 2003;8(11):1018-24.
50. Erdman LK, Dhabangi A, Musoke C, et al. Combinations of host biomarkers predict mortality among Ugandan children with severe malaria: a retrospective case-control study. *PLoS One.* 2011;6(2):e17440.
51. Díez-Padrisa N, Bassat Q, Machevo S, et al. Procalcitonin and C-reactive protein for invasive bacterial pneumonia diagnosis among children in Mozambique, a malaria-endemic area. *PLoS One.* 2010;14(10):e13226.
52. Manegold C, Schmiedel S, Chiwakata CB, et al. Procalcitonin serum levels in tertian malaria. *Malar J.* 2003;2:34.
53. Mishra SK, Panigrahi P, Mishra R, et al. Prediction of outcome in adults with severe *falciparum* malaria: a new scoring system. *Malar J.* 2007;6:24.
54. Tangpukdee N, Krudsood S, Thanachartwet V, et al. Predictive score of uncomplicated *falciparum* malaria patients turning to severe malaria. *Korean J Parasitol.* 2007;45(4):273-82.