

M

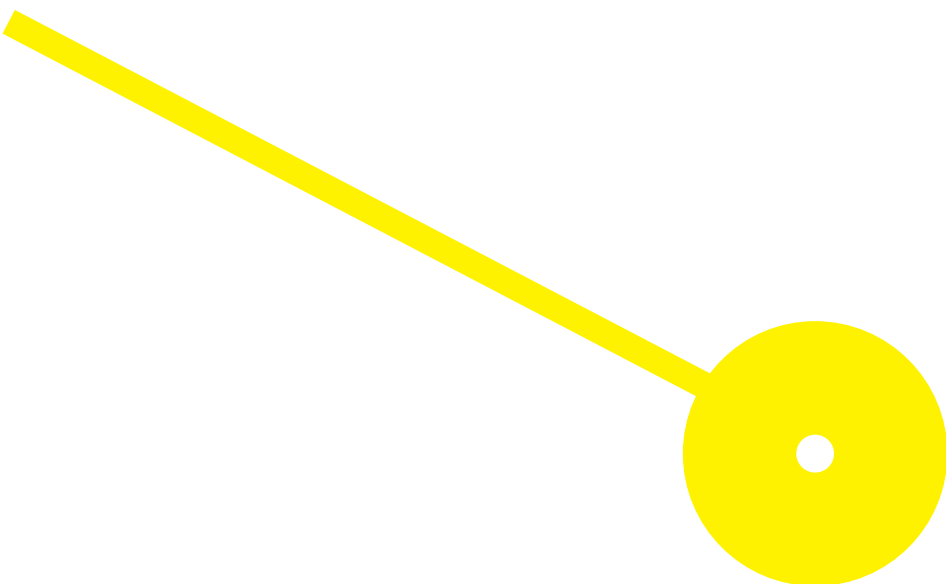
MESTRADO

MESTRADO EM BIOQUÍMICA EM SAÚDE – RAMO BIOQUÍMICA APLICADA

Relação entre marcadores de resposta inflamatória no diagnóstico de processos infecciosos

Bárbara Silva

09/2023





**Relação entre os marcadores de resposta inflamatória no diagnóstico de processos
infecciosos**

Autor

Bárbara Andreia Leite da Silva

Orientadores

Dr.^a Maria Calle, CHTS

Prof.^a Dr.^a Mónica Vieira, ESS

Relatório de Estágio apresentado para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em **Bioquímica em Saúde** – Ramo em **Bioquímica Aplicada** pela Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto.

Agradecimentos

À minha família, pelo apoio incondicional nas minhas decisões académicas e de vida.

Aos meus professores e colegas de caminhada, pela entreaajuda, pela compreensão e espírito de equipa demonstrado.

Aos colegas de trabalho, que facilitaram em trocas de horários para exames e ouviram as lamentações de variados assuntos nestes últimos meses.

Aos médicos patologistas que ajudaram na recolha de dados, discussão do assunto e apoiaram este projeto.

À minha amiga, colega de mestrado e colega de trabalho, Ana Isabel, por se aventurar comigo, por partilhar comigo, apoiar, incentivar e criticar sempre que foi preciso. Este percurso ficará sempre marcado pela sua presença.

À curiosidade, que nasce connosco e não devemos deixar extinguir.

Resumo

Com o avanço do conhecimento, na área da medicina, de inúmeras patologias, surge a necessidade de técnicas de diagnóstico, prevenção e tratamento mais precisas. No contexto de diagnóstico laboratorial, os biomarcadores desempenham um papel fundamental.

De entre os variados biomarcadores, a proteína c reativa (PCR), produzida pelo fígado em resposta à inflamação e/ou estímulos infecciosos, tornou-se um importante biomarcador recorrente na prática clínica. Tendo em conta a sua baixa especificidade é, preferencialmente, utilizada em combinação com outro biomarcador sérico, nomeadamente a procalcitonina (PCT).

Com este trabalho pretende-se verificar a que nível a implementação de novas técnicas na área da bioquímica traz benefícios, num contexto hospitalar. Pretende-se verificar se a utilização de biomarcadores mais específicos auxilia no diagnóstico clínico, e se a sua implementação a nível laboratorial é aceite pelos clínicos em contexto de serviços de urgência.

Palavras-chave: procalcitonina; proteína c reativa; sépsis; biomarcador

Abstract

With the progression of knowledge regarding numerous pathologies, the need for more accurate diagnosis, prevention and treatment techniques arises. In the context of laboratory diagnosis, biomarkers play a key role.

Among the various biomarkers, C-reactive protein (CRP), produced by the liver in response to inflammation and/or infectious stimuli, has become an important recurrent biomarker in clinical practice. Considering its low specificity, it is preferably used in combination with another serum biomarker, namely procalcitonin (PCT).

The aim of this work is to verify at what level the implementation of new techniques in the field of biochemistry brings benefits in a hospital context. It is intended to verify whether the use of more specific biomarkers helps in clinical diagnosis, and whether its implementation at laboratory level is accepted by clinicians in the context of emergency services.

Keywords: procalcitonin; c-reactive protein; sepsis; biomarker

Índice

1.	Instituição e contextualização do estágio	1
1.1.	Caracterização do laboratório	1
1.2.	Objetivo do estágio	2
2.	Setor de bioquímica	2
2.1.	Setor Química Clínica.....	3
2.1.1.	Sensibilidade	7
2.1.2.	Valores de referência.....	7
2.1.3.	Interferências.....	7
2.1.4.	Calibrações e controlos de qualidade.....	7
2.1.5.	Manutenções	8
2.2.	Imunoensaios.....	8
2.2.1.	Sensibilidade	11
2.2.2.	Valores de referência.....	11
2.2.3.	Interferências.....	11
2.2.4.	Calibrações e controlos de qualidade.....	11
2.2.5.	Manutenções	12
2.3.	Análise de resultados.....	12
2.4.	Biomarcadores	12
2.5.	Procalcitonina	13
2.6.	Proteína C reativa	14
2.7.	PCT <i>vs</i> PCR.....	14
3.	Estudo de caso: Relação entre os marcadores de resposta inflamatória no diagnóstico de processos infecciosos	15
3.1.	Implementação da técnica na rotina laboratorial.....	15
3.2.	Metodologia	15
3.3.	Resultados e discussão	16
4.	Conclusão.....	20
	Referências Bibliográficas.....	21

Lista de siglas e abreviaturas

β-hCG	Gonadotrofina Coriônica Humana
ADA	Adenosina Desaminase
ALP	Fosfatase Alcalina
ALT	Alanina Aminotransferase
ASP	Antiestreptolisina-O
AST	Aspartato Aminotransferase
BNP	Peptídeo Natriurético Cerebral
CHTS	Centro Hospitalar Tâmega E Sousa
CPK	Creatinina Fosfoquinase
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
FSH	Hormona Foliculoestimulante
GGT	Gama Glutamil Transferase
HCL	Ácido Clorídrico
HSA	Hospital Santo António
Ig	Imunoglobulina
IL-6	Interleucina 6
LDH	Lactato Desidrogenase
LH	Hormona Luteinizante
PCR	Proteína C Reativa
PCT	Procalcitonina
PSA	Antigénio Específico Da Próstata
PTH	Paratormona
rpm	Rotações por minuto
SPC	Serviço Patologia Clínica
SU	Serviço De Urgência
TPO	Antiperoxidase Tiroideia
TSDT	Técnico Superior De Diagnóstico E Terapêutica
TSH	Hormona Estimulante Da Tiroide
UCIP	Unidade De Cuidados Intensivos Polivalente

Índice de figuras

Figura 1 Cadeia de equipamentos Beckman Coulter: DxC 700 AU (à esquerda); sistema PowerLink (ao centro) e UniCel Dxl 800 (à direita).	3
Figura 2 Esquema da reação química do doseamento da PCR.....	7
Figura 3 Gráfico do número de análises pedidas de PCR e PCT entre os anos 2020 a 2023.....	18

Índice de quadros

Quadro 1 – Análises efetuadas nos respectivos equipamentos, metodologias utilizadas para doseamento e principal funcionalidade no diagnóstico.	4
Quadro 2 – Resumo de testes efetuados nos equipamentos Dxl, metodologias utilizadas e efeito de diagnóstico.....	9

Índice de tabelas

Tabela 1 Valores de referência do HSA.....	15
Tabela 2 Valores de referência adotados no SPC do CHTS.....	16
Tabela 3 Dados obtidos no ano 2020.....	16
Tabela 4 Dados obtidos no ano 2021.....	17
Tabela 5 Dados obtidos no ano 2022.....	17

1. Instituição e contextualização do estágio

O presente trabalho foi realizado no âmbito de um estágio curricular para cumprimento da obtenção de grau Mestre do curso de Bioquímica em Saúde – Ramo da Bioquímica Aplicada, pela Escola Superior de Saúde do Porto. O estágio decorreu no laboratório do Serviço de Patologia Clínica (SPC) do Centro Hospitalar Tâmega e Sousa (CHTS), nomeadamente na unidade Hospital Padre Américo – Vale do Sousa, em Penafiel.

Este relatório foca-se em descrever a aprendizagem realizada ao longo do tempo de estágio, tendo como ponto central a implementação de novas técnicas num laboratório, procedimentos e rotinas laboratoriais, a comparação de técnicas implementadas e a importância das mesmas no diagnóstico clínico.

1.1. Caracterização do laboratório

O serviço de patologia clínica situa-se no terceiro piso do hospital, assim como as colheitas de produtos biológicos e o serviço de imuno-hemoterapia, tratando-se de serviços independentes que trabalham em conjunto no apoio a exames complementares de diagnóstico e terapêutica indispensáveis no diagnóstico e monitorização dos pacientes. O serviço é composto por várias áreas laboratoriais, nomeadamente hematologia, imunologia, microbiologia, biologia molecular e química clínica.

Numa primeira fase, fase pré-analítica, as amostras dão entrada no laboratório acompanhadas das respetivas requisições médicas e, nesta fase, são verificadas todas as condições das amostras em relação às análises a efetuar, ou seja, se a colheita foi efetuada nos tubos corretos, a identificação correta do doente, entrega de todos os produtos solicitados, temperatura do transporte das amostras e proteção da luz, uma vez que todas estas variáveis poderão afetar, posteriormente, a qualidade e veracidade do resultado final.

Neste primeiro setor, designado por integração, encontra-se um equipamento automático designado de *Automate 2500*, da *Beckman Coulter*. Este equipamento integra automaticamente as amostras e separa-as por setores laboratoriais. As amostras para o setor da bioquímica são primeiramente colocadas num suporte que indica ao utilizador, neste caso ao técnico superior de diagnóstico e terapêutica (TSDT), a necessidade de centrifugar as amostras. Após uma centrifugação de 10 minutos a 3500 rotações por minuto (rpm), o TSDT volta a colocar as amostras no equipamento e este é capaz de as distribuir pelos suportes dos respetivos

equipamentos (urgência ou rotina) e/ou fazer alíquotas das análises que não são efetuadas todos os dias no setor, alíquotas de amostras enviadas ao exterior e alíquotas de amostras do setor de imunologia.

Com vista a minimizar erros na fase analítica, o laboratório executa manutenções dos equipamentos, calibrações e controlos internos diários dos analitos, permitindo monitorizar a qualidade de todas as reações e as boas práticas de todos os profissionais envolvidos no processo. Todos os reagentes, controlos e calibradores pertencem à casa comercial dos respetivos equipamentos instalados.

1.2. Objetivo do estágio

O estágio teve como objetivos compreender a importância dos biomarcadores num contexto laboratorial, a sua implementação numa rotina e comparação de métodos e consequências na prestação do serviço.

2. Setor de bioquímica

O setor da bioquímica clínica constitui uma grande parte da maioria dos testes efetuados na patologia, sendo o suporte no diagnóstico de variadas patologias e nos cuidados dos pacientes. Durante a rotina laboratorial, inúmeros biomarcadores diferentes são testados diariamente dependendo do quadro clínico e histórico do doente. Estas análises variam de testes simples que avaliam a função hepática e renal do paciente, a testes mais complexos que permitem avaliar o desequilíbrio hormonal, deteção de marcadores tumorais ou a eficácia/sobredosagem de drogas terapêuticas.

As amostras do setor da bioquímica, na sua maioria, são colhidas em tubo seco contendo ativador do coágulo e gel separador, por forma a uma manipulação mais facilitada do soro do doente.(1)

No setor da bioquímica existem dois tipos distintos de testes de diagnóstico, nomeadamente a química clínica e os imunoenaios. Estas técnicas são executadas pelos equipamentos automatizados *DxC 700 AU* e *UniCel/Dxl 800* e ligados entre si pelo *PowerLink*, da casa comercial *Beckman Coulter*.



Figura 1 Cadeia de equipamentos Beckman Coulter: *DxC 700 AU* (à esquerda); sistema *PowerLink* (ao centro) e *UniCel Dxl 800* (à direita).

2.1. Setor Química Clínica

O setor da química clínica encontra-se equipado com dois equipamentos *DxC 700 AU*, similares, mas equipados distintamente em relação aos reagentes a bordo. Um dos equipamentos encontra-se preparado para análises de rotina, ou seja, maioritariamente análises colhidas pela consulta e consideradas não urgentes, e o outro equipado para doseamentos de carácter urgente. O equipamento da rotina permite o doseamento do perfil lipídico, ou seja, colesterol total, colesterol HDL e LDL e triglicédeos, imunoglobulinas (Ig) A, IgG e IgM, complementos, fator reumatoide, bicarbonatos, treponema *pallidum* e análises complementares na avaliação da cinética do ferro, nomeadamente a transferrina e o ferro.

Em contrapartida, o equipamento destinado para análise de amostras urgentes, essencialmente provenientes do serviço de urgência e internamento, apesar de não se encontrar equipado para o doseamento dos analitos supracitados, possui a bordo reagentes para doseamento de drogas terapêuticas, vancomicina, carbamazepinas, ácido valpróico, fenitoína, fenobarbital e gentamicina. Estes doseamentos são de extrema importância na monitorização dos fármacos na corrente sanguínea dos pacientes, de forma a manter a sua concentração dentro dos limites padronizados. Neste equipamento também se encontra a bordo o reagente para análise da amónia. O doseamento de amónia no plasma dos doentes é recomendado em todos os pacientes

com alteração do estado de consciência ou doença neurológica inexplicada, insuficiência hepática, suspeita de quadros de sépsis ou intoxicações. Para uma determinação correta da amônia, a fase pré-analítica torna-se essencial, uma vez que após a colheita ser realizada, o tubo de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) deve ser imediatamente colocado num suporte com gelo e enviado ao laboratório no tempo máximo de 30 minutos. No SPC, de forma a minimizar possíveis erros nesta fase, aquando do pedido desta análise pelos clínicos, os auxiliares de ação médica tem de se dirigir ao serviço, solicitar os termoacumuladores, e no espaço de meia hora entregar a amostra em mãos ao TSDT responsável pela receção de produtos. Após a receção da amostra, esta é imediatamente centrifugada a 4°C, durante 10 minutos a 3500 rpm, sendo no final separado o plasma do concentrado de eritrócitos. No setor da bioquímica é emitida uma etiqueta de triagem com a extensão correta da análise e a alíquota é colocada na posição STAT do equipamento. O equipamento encontra-se programado para priorizar a análise das amostras colocadas em STAT.

Apesar destas distinções, os dois equipamentos possuem reagentes em comum. Todos os analitos que sejam comumente pedidos pelos serviços de consulta e urgência encontram-se duplicados nos equipamentos, ou seja, análises de função renal, como a creatinina e ureia, avaliação da função hepática, através das transaminases, gama glutamil transferase (GGT), fosfatase alcalina (ALP) e bilirrubina total e direta, avaliação da inflamação pancreática através da análise da amilase e lipase, perfil cardíaco pelo doseamento da creatinina fosfoquinase (CPK), doseamento de glicose e de eletrólitos através do ionograma (sódio, cloro e potássio).

Sendo a bioquímica uma das mais extensas áreas do serviço de patologia e por forma a resumir todos os doseamentos efetuados, elaborou-se o quadro abaixo.

Quadro 1 – Análises efetuadas nos respetivos equipamentos, metodologias utilizadas para doseamento e principal funcionalidade no diagnóstico.

Equipamento	Teste	Metodologia	Diagnóstico
DxC Rotina e Urgência	Ácido úrico	Colorimétrico enzimático	Função renal
	Creatinina	Colorimétrico cinético	
	Ureia	Cinético	

Equipamento	Teste	Metodologia	Diagnóstico
	Alanina aminotransferase (ALT) e Aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (ALP)	Cinético	Função hepática
	Gama glutamil transferase (GGT)	Cinético enzimático	
	Bilirrubina direta e total	Colorimétrico	
	Amilase e lipase	Cinético enzimático	Função pancreática
	Cloro, potássio e sódio (ionograma)	Potenciometria indireta	Perfil eletrolítico
	Creatinina fosfoquinase (CPK)	Cinético	Função cardíaca
	Proteína c reativa (PCR)	Imuno-turbidimétrico	Infeção/inflamação
	Proteínas totais e albumina	Colorimétrico	Gamapatias monoclonais
	Fósforo	Colorimétrico cinético	Inespecífico
	Cálcio e magnésio	Colorimétrico	
	Lactato desidrogenase (LDH) e glicose	Cinético	
	DxC Rotina	Antiestreptolisina-O (ASO)	Turbidimétrico cinético
C3 e C4 do complemento		Imuno-turbidimétrico	
Imunoglobulinas A, G e M		Turbidimétrico	
Capacidade total de fixação do ferro e ferro		Colorimétrico	Cinética do ferro
Transferrina		Imuno-turbidimétrico	
Colesterol total, HDL e LDL		Colorimétrico	Perfil lipídico
Triglicerídeos		Colorimétrico enzimático	
Fator reumatoide		Turbidimétrico	Artrite reumatóide
Treponema <i>pallidum</i>		Imuno-turbidimétrico	Sífilis

Equipamento	Teste	Metodologia	Diagnóstico
	Bicarbonato	Enzimático	Perfil eletrolítico
DxC Urgência	Ácido valpróico	Imunoensaio enzimático	Drogas terapêuticas
	Carbamazepina		
	Fenitoína		
	Fenobarbital		
	Gentamicina		
	Vancomicina		
	Amónia	Enzimático	Função hepática
	Colinesterase	Colorimétrico	Intoxicações
	Adenosina desaminase (ADA)	Colorimétrico cinético	Tuberculose
	Álcool	Cinético enzimático	Intoxicação

Os ensaios colorimétricos enzimáticos utilizam um espectrofotómetro para determinar a concentração de um composto químico numa solução, medindo a absorvância do composto num comprimento de onda específico. Há formação de cor durante a reação do produto químico de deteção e a substância alvo.

No método cinético, o progresso da reação é medido continuamente à medida que os substratos são convertidos em produtos. Mudanças na concentração do substrato e do produto causam mudanças nas medições.

Para o doseamento da PCR o equipamento utiliza um ensaio turbidimétrico diretamente proporcional e de reação ascendente, ou seja, na reação, uma partícula revestida com anticorpo anti-PCR liga-se à proteína C reativa na amostra do paciente, resultando na formação de agregados insolúveis, que causam turbidez. O equipamento pipeta automaticamente os volumes apropriados de amostra e reagente para a cuvette de reação, sendo esta uma parte de amostra para 50 partes de reagente. A leitura é realizada a 600 nanómetros, sendo uma alteração na leitura da absorvância a este ponto proporcional à concentração de PCR na amostra. A absorvância registada é utilizada pelo equipamento para calcular e expressar a concentração do analito com base numa curva de calibração pré-determinada. (2)

Este método é utilizado pelo equipamento para doseamento de outros analitos, tais como o fator reumatoide, transferrina, ASO C3 e C4 do complemento, entre outros mencionados no quadro acima.



Figura 2 Esquema da reação química do doseamento da PCR

2.1.1. Sensibilidade

A sensibilidade é definida como a concentração mensurável mais baixa que pode ser distinguida de zero com 95% de confiança. A sensibilidade para determinação da PCR é de 0,5 mg/dL (5,0 mg/L).

2.1.2. Valores de referência

As unidades internacionais usadas são miligrama por litro (mg/L), sendo um resultado <5 mg/L considerado negativo e ≥ 5 mg/L a valorizar em contexto clínico.

2.1.3. Interferências

Existem alguns fatores capazes de influenciar a veracidade dos resultados apresentados, nomeadamente a presença de bilirrubina na amostra (40 mg/dL), triglicérides (3000 mg/dL) e hemoglobina (5g/L).

2.1.4. Calibrações e controlos de qualidade

Em condições normais, o *pack* de reagente PCR deve ser calibrado a cada 30 dias ou a cada mudança de lote. O calibrador utilizado é *CRP Latex Calibrator* que contém seis níveis. Ao realizar a calibração de um dado analito, pretende-se verificar se o resultado obtido pelo equipamento é compatível com o esperado e definido pela casa comercial.(3)

Os controlos de qualidade são realizados diariamente alternando os níveis segundo um esquema definido pelo serviço, existindo 3 níveis de controlo. (4) Enquanto os calibradores atuam para ajustar o sistema, os controlos têm a função de monitorizar o sistema e avaliar a sua reprodutibilidade. Os resultados obtidos são automaticamente anexados a uma carta com todo o histórico de controlos do reagente e equipamento, e analisados segundo as regras de *Westgard*.

2.1.5. Manutenções

As manutenções baseiam-se em limpezas manuais e automáticas, com *cleaning solution* ou uma solução preparada de ácido clorídrico (HCL), descritas pela casa comercial. Estes procedimentos incluem a limpeza das pipetas de amostra e reagentes, os sistemas de agitadores de reação, mudança de lâmpada, fotocalibrações e qualquer componente que implique diretamente a prestação do equipamento e, conseqüentemente, a qualidade dos resultados obtidos.

2.2. Imunoensaios

O setor da imunquímica é constituído por dois equipamentos *UniCel DxI 800*, distinguindo-se entre si pelas mesmas características mencionadas no setor da química. O equipamento preparado para análises de rotina inclui parâmetros realizados em dias específicos, por forma a rentabilizar os reagentes utilizados e a dinâmica do serviço. Desta forma, de todos os tubos primários que possuam estas análises são realizadas alíquotas que são congeladas até ao dia de execução das mesmas. Às segundas-feiras são realizados os doseamentos de insulina, às terças e quintas-feiras são processadas todas as amostras que contenham análises de vitamina D, antiperoxidase tiroideia (TPO) e paratormona (PTH). Estes doseamentos são importantes na avaliação da função tiroideia, juntamente com as análises da hormona estimulante da tiroide (TSH), T4 e T3 livres e totais, sendo estas realizadas todos os dias. Às quartas e sextas são realizados os doseamentos dos marcadores tumorais, nomeadamente CA 19.9, CEA e CA125 e análises de fertilidade, como progesterona, hormona foliculoestimulante (FSH) e hormona luteinizante (LH) e de seguimento de infeções nas gestantes, tais como a rubéola e toxoplasmose. Este equipamento possui também reagentes de doseamentos diários tais como, a troponina e mioglobina para despiste de anomalias cardíacas e o doseamento do antígeno específico da próstata (PSA). O equipamento de urgência encontra a bordo apenas reagentes de análises de carácter urgente, nomeadamente marcadores cardíacos (troponina e mioglobina), digoxina (droga terapêutica utilizada em pacientes com insuficiência cardíaca), o peptídeo natriurético cerebral (BNP) e análise da gonadotrofina coriônica humana (β -hCG) utilizada como teste de gravidez ou despiste de algumas neoplasias.

O quadro 2 resume as análises efetuadas nos dois equipamentos.

Quadro 2 – Resumo de testes efetuados nos equipamentos Dxl, metodologias utilizadas e efeito de diagnóstico

Equipamento	Teste	Metodologia	Diagnóstico
Dxl Rotina e Urgência	Mioglobina	Imunoenzimático "sandwich" quimioluminiscência	Função cardíaca
	Troponina		
Dxl Rotina	Ácido fólico e vitamina B12	Imunoenzimático competitivo quimioluminiscência	Anemia
	Ferritina	Imunoenzimático "sandwich" quimioluminiscência	
	Alfafetoproteína	Imunoenzimático "sandwich" quimioluminiscência	Marcadores tumorais
	CA 15.3, CA 19.9 e CEA		
	PSA total e livre		
	T3 e T4 livre, T3 e T4 Total	Imunoenzimático competitivo quimioluminiscência	Função tiroideia
	TPO e TSH	Imunoenzimático "sandwich" quimioluminiscência	
	Estradiol, progesterona, testosterona	Imunoenzimático competitivo quimioluminiscência	Fertilidade
	FSH, LH, prolactina	Imunoenzimático "sandwich" quimioluminiscência	
	Procalcitonina (PCT)	Imunoenzimático "sandwich" quimioluminiscência	Infeções

Equipamento	Teste	Metodologia	Diagnóstico
	Rubéola IgG e Toxoplasma IgG	Imunoenzimático indireto	
	Rubéola IgM e Toxoplasma IgM	Imunoenzimático por imunocaptura	
	Cortisol	Imunoenzimático competitivo quimiluminiscência	Inespecíficas
	Vitamina D		
	Interleucina 6 (IL-6)	Imunoenzimático	
	Insulina	"sandwich"	
Paratormona	quimiluminiscência		
Dxl Urgência	BNP	Imunoenzimático não competitivo quimiluminiscência	
	Digoxina	Imunoenzimático competitivo quimiluminiscência	
	β -hCG	Imunoenzimático "sandwich" quimiluminiscência	Fertilidade

O ensaio imunoenzimático é utilizado para detetar a presença de uma molécula ligante numa amostra utilizando anticorpos específicos ligados a uma fase sólida. O método de quimiluminiscência baseia-se na quantidade de luz emitida durante a reação química.

A PCT é doseada no equipamento *Dxl* através de um ensaio imunoenzimático "sandwich" sequencial de duas etapas por quimiluminiscência, diretamente proporcional, isto é, o anticorpo monoclonal anti-PCT conjugado com fosfatase alcalina é adicionado à cuvette de reação juntamente com um tampão e a amostra. Após uma curta incubação, são adicionadas partículas paramagnéticas revestidas com anticorpo monoclonal anti-PCT. A PCT liga-se ao anticorpo anti-PCT na fase sólida, enquanto o conjugado anticorpo anti-PCT-fosfatase alcalina reage com

diferentes locais antigénicos nas moléculas de PCT. Após a incubação, os materiais ligados à fase sólida são mantidos num campo magnético enquanto os materiais não ligados são lavados. Em seguida, o substrato quimiluminescente é adicionado ao recipiente e a luz gerada pela reação é medida com um luminímetro. A produção de luz é diretamente proporcional à concentração do analito na amostra. A concentração do analito é determinada automaticamente a partir de uma calibração.(5)

2.2.1. Sensibilidade

A sensibilidade é definida como a concentração mensurável mais baixa que pode ser distinguida de zero com 95% de confiança. A sensibilidade para determinação da PCT é de 0,01 mg/dL.

2.2.2. Valores de referência

As unidades convencionais usadas são miligrama por decilitros (mg/dL), sendo um resultado <0,5 mg/dL considerado baixo risco, risco moderado entre $\geq 0,5$ a $\leq 2,0$ mg/dL e risco elevado se >2,0 mg/dL.

2.2.3. Interferências

Existem alguns fatores capazes de influenciar a veracidade dos resultados apresentados, nomeadamente a presença de bilirrubina na amostra (40 mg/dL), triglicerídeos (3000 mg/dL) e hemoglobina (400 mg/dL).

2.2.4. Calibrações e controlos de qualidade

As calibrações e controlos de qualidade são realizadas sob as mesmas condições e servindo para os mesmos efeitos mencionados no ponto 2.1.4. deste trabalho. No caso do reagente da PCT cada pack contém dois cartuchos de 50 testes cada.(6)Os calibradores usados, *Access PCT Calibrator*, encontram-se liofilizados, sendo necessária a sua reconstituição com 2 mL de água destilada e aguardar 30 minutos para estabilizar. Após a reconstituição devem manter-se armazenados entre -30°C a -15°C no máximo 90 dias. (7) Os resultados obtidos são automaticamente anexados a uma carta com todo o histórico de controlos do reagente e equipamento, e analisados segundo as regras de *Westgard*.

2.2.5. Manutenções

De forma a garantir a melhor performance dos equipamentos, são realizadas manutenções diárias e semanais. Nos equipamentos de imunquímica são utilizadas soluções distintas, sendo estas o *Contrad 70*, *Citranox* diluído, tratando-se estes de produtos concentrados de limpeza e abrillantador de metais, livres de fosfato, para remoção de metais oxidados, sais e resíduos inorgânicos e metanol a 70%.

2.3. Análise de resultados

Todos os resultados das análises efetuadas são integrados no sistema *Remiso*/que comunica os resultados entre os equipamentos e o *Clinidata XXI*. Neste último, os valores quantificados são gravados pelos TSDT e validados pelo patologista do setor de bioquímica. A avaliação destes resultados prende-se na sua comparação com o histórico do paciente e informação clínica.

2.4. Biomarcadores

Os biomarcadores podem ser importantes no diagnóstico de quadros de sépsis, auxiliando no diagnóstico diferencial de doenças não infecciosas e na tomada de decisão no tratamento inicial.(8,9)

O conceito de melhorar biomarcador depende da nossa capacidade de combinar o biomarcador mais apropriado à situação/caso a resolver permitindo uma maior rapidez, eficiência e precisão no desenvolvimento de tecnologias e estratégias diagnósticas e terapêuticas úteis, além de beneficiar o desenvolvimento e implementação de políticas de saúde pública.(9)

Um biomarcador de diagnóstico deteta ou confirma a presença de uma doença ou condição de interesse. À medida do avanço na medicina, este tipo de biomarcador encontra-se a evoluir consideravelmente. (8,9) Estes biomarcadores podem ser usados não apenas para identificar pessoas com uma doença, mas também para redefinir a classificação da doença. Quando um biomarcador pode ser medido em série para avaliar o estado de uma patologia para evidência de exposição a um antibiótico ou agente microbiológico, denomina-se de biomarcador de monitorização. A monitorização é um conceito amplo, pelo que existe sobreposição com outras categorias de biomarcadores. Existem biomarcadores preditivos, ou seja, na presença ou

alteração no doseamento do biomarcador prevê-se se o indivíduo tem maior probabilidade de experimentar um efeito favorável ou desfavorável à exposição a um produto médico ou agente ambiental.(9,10)

2.5. Procalcitonina

O doseamento da procalcitonina foi iniciado em 2020, aquando da pandemia Covid-19, uma vez que este analito surgiu em variados estudos associado à infeção por SARS-CoV2. Tratando-se de uma infeção com rápida disseminação, tornou-se importante a categorização rápida dos pacientes em grupos de risco de forma a garantir uma alocação ideal dos recursos materiais e humanos.(11) Neste sentido, foram necessários novos biomarcadores para identificar os pacientes que sofreram uma progressão rápida da patologia e com maior risco de complicações e comorbilidades associadas, e até mesmo, a morte.(11,12)

Os níveis de PCT não se encontram alterados, ou sofrem aumentos moderados numa resposta inflamatória sistémica a estímulos virais ou não infecciosos. Desta forma, a PCT torna-se mais discriminativa em relação a outros biomarcadores como a contagem leucocitária e o doseamento da PCR na distinção de uma infeção bacteriana ou outro processo inflamatório que possa estar a ocorrer. (12–15) Em pacientes com COVID-19, os casos mais graves de doença apresentam um aumento acentuada da PCT em comparação a casos menos graves. Os valores de PCT tornaram-se importantes para distinguir pacientes positivos para SARS-CoV2, quando apresentavam um ligeiro aumento no doseamento, ou negativos para o mesmo agente. Valores aumentados foram associados a um risco maior de infeção por SARS-CoV2. A elevação da PCT também foi encontrada em casos pediátricos com infeção do trato respiratório inferior, refletindo a coinfeção bacteriana.(11,16)

A PCT trata-se de uma proteína constituída por 116 aminoácidos e é o peptídeo precursor da calcitonina produzida pelos monócitos e hepatócitos. A calcitonina é inicialmente biossintetizada como PCT que, em condições normais, é encontrada em níveis baixos na circulação. (17,18) Após a exposição à endotoxina bacteriana, os níveis de PCT dentro de 2 a 4 horas aumentam acentuadamente, dentro de 6 a 8 horas atingem um platô e, em seguida, retornam aos níveis normais após 24 horas. (11) Este biomarcador surge relacionado com a presença, eliminação e erradicação de infeções, preditor de mortalidade e auxílio na gestão mais adequada do uso de antibióticos no tratamento de doentes. (15,17,19,20)

2.6. Proteína C reativa

De entre os variados biomarcadores, a PCR, produzida pelo fígado em resposta à inflamação e/ou estímulos infecciosos, sendo, portanto, considerada uma proteína de fase aguda, tornou-se um importante biomarcador recorrente na prática clínica. (12,21) É sintetizada principalmente pelo fígado, mas pode também ser produzida pelos rins e tecidos ateroscleróticos. Esta proteína é libertada em apenas algumas horas após ocorrer lesão tecidual e promoção da secreção de interleucina 6 e citocinas pró-inflamatórias.(22) A correlação entre a concentração de PCR e a gravidade de várias doenças ainda é ambígua, no entanto, um alto nível de PCR na corrente sanguínea é uma evidência clara de inflamação após dano tecidual, uma vez que os níveis de PCR no sangue são normalmente muito baixos e de difícil detecção em indivíduos saudáveis. A semivida da PCR no soro é de cerca de 19 horas e a sua concentração retorna rapidamente aos valores basais após a eliminação dos estimuladores. (23–26)

Tendo em conta a sua baixa especificidade é preferencialmente utilizada em combinação com outro biomarcador sérico, nomeadamente a procalcitonina. (27,28)

2.7. PCT vsPCR

Os biomarcadores mais amplamente estudados em pacientes com suspeita de sépsis são a proteína c reativa e a procalcitonina. Tanto a PCR como a PCT são comumente usadas na prática clínica, mas têm capacidade limitada para distinguir a sépsis bacteriana de outras condições inflamatórias.(21,29)

A variação lenta dos níveis de PCR constitui outra grande limitação em relação à PCT. (30,31)

Em comparação com a PCR, a PCT tem um melhor valor preditivo na tomada de decisão de internamento em unidades de cuidados especiais e na duração do uso de antibióticos intravenosos. (20,30,32,33) Outro fator a considerar é o custo a PCT é substancialmente mais caro do que PCR.(34)

3. Estudo de caso: Relação entre os marcadores de resposta inflamatória no diagnóstico de processos infecciosos

No presente estudo de caso pretende-se verificar se a utilização de biomarcadores mais específicos auxilia no diagnóstico clínico, se a sua implementação a nível laboratorial é aceite pelos clínicos em contexto de serviço de urgência e internamento e comparar a especificidade de dois biomarcadores (PCR e PCT) perante quadros de processos infecciosos.

3.1. Implementação da técnica na rotina laboratorial

Para implementação de uma nova técnica no laboratório é necessária a comparação dos resultados com outros laboratórios. A análise da procalcitonina antes de ser internalizada no CHTS era realizada no laboratório do Hospital Santo António (HSA).

3.2. Metodologia

De forma a comparar resultados, foram separadas 24 amostras com pedido de PCT e realizadas alíquotas em duplicado. Uma das alíquotas foi enviada para análise no HSA e outra utilizada para análise interna. Os valores de referência padronizados no HSA encontram-se exemplificados na tabela 1.

Tabela 1 Valores de referência do HSA

mg/dL	Sépsis
<0,50	Sépsis pouco provável
0,50 a 2,00	Risco moderado sépsis
2,00 a 10	Risco elevado sépsis
>10	Sépsis grave provável

Os valores adotados no CHTS foram os abaixo indicados (tabela 2).

Tabela 2 Valores de referência adotados no SPC do CHTS

mg/dL	Sépsis
<0,50	Risco baixo septicémia grave e/ou choque séptico
≥0,50 a ≤2,0	Risco moderado de progressão para septicémia grave e/ou choque séptico
>2,0	Risco elevado de septicémia grave e/ou choque séptico

Das 24 amostras comparadas em 12 obteve-se resultados >0,50 mg/dL, 5 amostras obtiveram valores entre ≥0,50 a ≤2,0 mg/dL e 7 das amostras demonstraram resultados >10 mg/dL nos dois hospitais.

Sendo os resultados concordantes na sua totalidade, a internalização da análise foi procedida. Para este processo é contactada a casa comercial para realizar uma formação sobre a nova análise a ser realizada na rotina laboratorial. A casa comercial tem a responsabilidade de instalar o teste no equipamento e definir todos os valores de referência, fatores de diluição, possíveis interferências, de forma que, ao ser processada uma amostra no equipamento, ele passe automaticamente todos os resultados e alertas para o sistema do utilizador, neste caso do TSDT. Uma vez reunidas todas as condições favoráveis ao processamento das amostras internamente, ou seja, fornecimento de *packs* de reagente, controlos e calibradores, a direção clínica emite um comunicado aos chefes de equipa por forma a informar da disponibilidade da análise no SPC.

3.3. Resultados e discussão

Por forma a avaliar o impacto da implementação da nova técnica no laboratório, procedeu-se à recolha de pedidos entre os anos de 2020 e 2022 dos analitos separada e simultaneamente, nos serviços de urgência (SU) e na Unidade de Cuidados Intensivos Polivalente (UCIP).

Tabela 3 Dados obtidos no ano 2020

2020	PCT	PCR	PCT/PCR	
SU	2	11	543	556
UCIP	2	3	1880	1885

A tabela 3 apresenta os resultados para o número de pedidos de procalcitonina (n=2), PCR (n=11) e as duas análises combinadas (n=543), num universo de 556 pedidos realizados no ano de 2020, no SU. No serviço da UCIP foram pedidas 1885 análises, das quais 1880 têm simultaneamente PCR e PCT.

Estes resultados demonstram que, no primeiro ano de internalização da análise da procalcitonina, a maioria dos pedidos foram combinados de PCT/PCR, caindo em desuso o pedido isolado da PCR em suspeitas de infeção.

A tabela 4 apresenta os resultados para o número de pedidos do SU de procalcitonina (n=4), PCR (n=12) e as duas análises combinadas (n=2211), num universo de 2227 pedidos realizados no ano de 2020 neste serviço. No serviço da UCIP foram pedidas 4360 análises, das quais 4353 representam o pedido das duas análises combinadas.

Tabela 4 Dados obtidos no ano 2021

2021	PCT	PCR	PCT/PCR	
SU	4	12	2211	2227
UCIP	5	2	4353	4360

Ao analisar os dados de 2021, nota-se um aumento no número total de pedidos das análises, contudo o pedido individual de cada não difere muito em relação ao ano anterior. É de salientar o aumento no pedido de PCT na UCIP, demonstrando a importância do doseamento deste analito na monitorização de doentes de cuidados intensivos.

Tabela 5 Dados obtidos no ano 2022

2022	PCT	PCR	PCT/PCR	
SU	1	6	2802	2809
UCIP	0	2	4364	4366

A tabela 5 apresenta os resultados referentes aos pedidos de 2022, sendo que no SU do total de 2809 análises pedidas, 2802 são PCR e PCT e na UCIP dos 4366 pedidos, não há registo de pedidos de PCT isoladamente (n=0), apenas dois pedidos de PCR (n=2) e 4364 análises dos dois analitos em conjunto.

A análise dos dados obtidos no ano de 2022 demonstra um contínuo aumento nos pedidos das duas análises ao longo do tempo, mas principalmente a consciencialização dos clínicos para a importância da análise combinada dos dois analitos, sendo o ano com menor número de pedidos isolados de cada uma das análises.

Analisando total de pedidos realizados nos serviços ao longo dos três anos em estudo, obteve-se o gráfico abaixo representado.

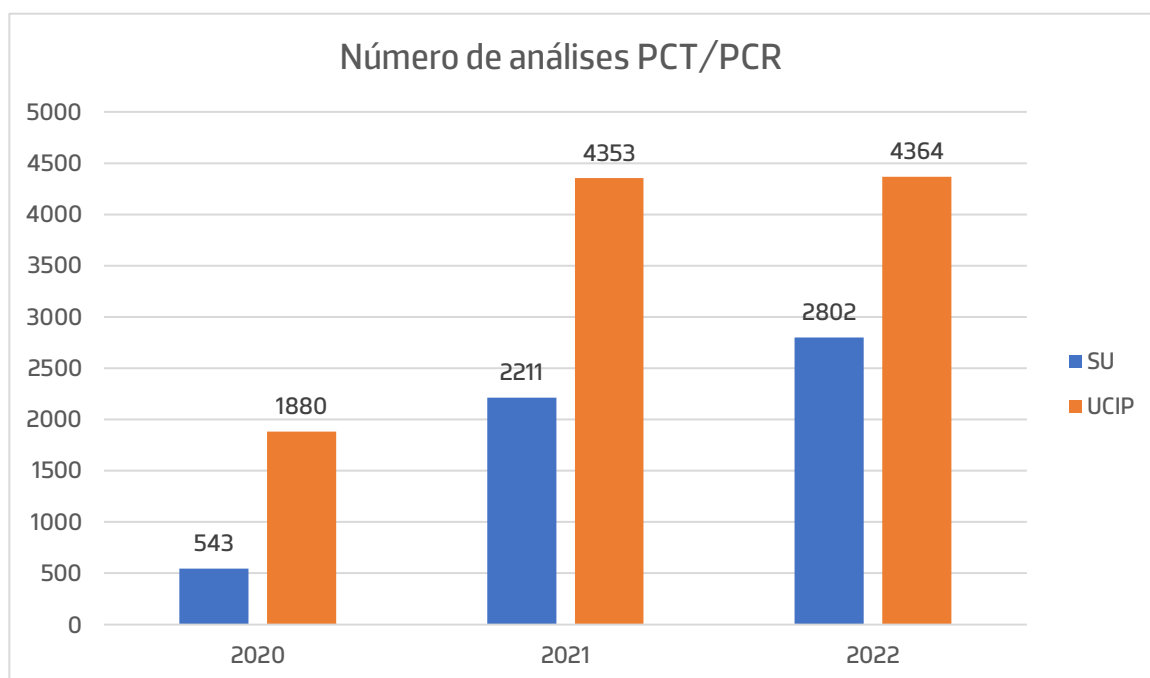


Figura 3 Gráfico do número de análises pedidas de PCR e PCT entre os anos 2020 a 2023

Entre os anos de 2020 e 2021 verificou-se um aumento de 314% de pedidos e entre os anos de 2021 e 2022 um aumento de 26,7%, no SU.

Na unidade UCIP o aumento de pedidos foi de 131,5% entre os primeiros dois anos, e em 2022 de 0,25% em relação ao ano anterior.

De forma global, o serviço de urgência teve um acréscimo de 424,7% de pedidos de PCT/PCR e a UCIP 132,1%, nos últimos três anos.

A análise destes resultados demonstra a importância do doseamento no apoio ao diagnóstico no SU e na monitorização dos pacientes na UCIP.

De seguida, procedeu-se à análise dos dados provenientes da UCIP nos três anos, após remoção de duplicados, ou seja, considerando apenas o primeiro doseamento de PCT e PCR de cada

doente internado nesta unidade. Dos dados obtidos, no ano de 2020, constata-se que, em 110 resultados de PCT positivas, 109 tinham uma PCR positiva, em contrapartida 319 amostras obtiveram resultado negativo para PCT, mas positivo para PCR.

No ano de 2021 em 267 amostras positivas para PCT, 263 são positivas também para a análise da PCR, mas existem 856 resultados negativos de PCT com resultado de PCR positivo.

Em relação ao ano de 2022, os dados revelam 334 PCT com resultado positivo das quais 331 também obtiveram resultado positivo para PCR e 1032 amostras negativas para PCT com resultado positivo para a análise PCR. Em suma, existe uma concordância nos resultados da PCR aquando de resultados positivos de PCT, demonstrando a importância das duas em diagnósticos relacionados com infeções. No entanto, para muitas amostras com resultado negativo de PCT, a PCR apresentou doseamentos elevados, revelando o seu interesse na distinção de processos inflamatórios.

Estes dados revelam-se concordantes com a literatura e estudos previamente realizados que demonstram a inespecificidade da análise PCR e a sua importância como biomarcador de fase aguda durante um processo inflamatório.(25,27)

4. Conclusão

O exponencial aumento do número de pedidos destas duas análises nos serviços SU e UCIP demonstram a importância que estas têm no apoio ao diagnóstico e monitorização dos doentes, correspondentemente.

A comparação da técnica implementada no SPC comparativamente ao laboratório externo de referência, permite-nos um grau de confiança quer nos equipamentos ao dispor do serviço, como na manipulação das amostras e processamento por parte técnica.

Pela análise dos resultados obtido neste estudo percebe-se a importância da utilização das duas análises em combinado para distinção de quadros de septicémia (resultados de procalcitonina positivo) de processos infecciosos/inflamatórios (resultados de proteína c reativa positivos).

Inicialmente este estudo pretendia associar estas duas análises a quadros identificados de septicémia e, em particular interesse na UCIP, averiguar o comportamento dos resultados de PCT em doentes em antibioterapia, por forma a corroborar outros estudos já efetuados. A recolha de dados pelos sistemas informáticos em vigor no SPC não permitiu que esta análise se tornasse possível, sendo a única opção uma recolha manual de dados em dois sistemas distintos, *Clinidata XXI* e *SClinic*. Num universo mais de 10.000 amostras por ano, a recolha manual não poderia ser tida como opção de análise.

Como previsto na literatura a análise da PCT tem um custo muito elevado em comparação à PCR, especificamente 14,20€ para doseamento de PCT e 3,17€ para a PCR. Tendo em conta os valores mencionados, torna-se importante a avaliação da necessidade de pedidos de PCT, principalmente nos serviços de urgência. É de extrema importância que os clínicos, aquando da realização dos pedidos, façam uma avaliação correta e consciente do quadro clínico apresentado pelo doente, por forma a minimizar custos excessivos de análises sem interesse para o diagnóstico final do doente.

Referências Bibliográficas

1. BD Advancing the world of health. <https://www.bd.com/pt-br/our-products/blood-and-urine-collection/venous-collection/vacutainer-blood-collection-tubes/sst-ii-advance-gel-tube>. 2023. BD.
2. Beckman Coulter. SYNCHRON System(s) C-RP Chemistry Information Sheet. 2020.
3. Beckman Coulter. AU/DxC AU SPMC 1 Instructions For Use Serum Protein Multi-Calibrator. 2022.
4. Beckman Coulter. AU/DxC AU ITA 1 Instructions For Use [Internet]. 2022. Available from: www.beckmancoulter.com
5. Beckman Coulter. ACCESS Immunoassay Systems ACCESS PCT Instructions For Use. 2022.
6. Beckman Coulter. ACCESS Immunoassay Systems ACCESS PCT Instructions For Use. 2022.
7. Beckman Coulter. ACCESS Immunoassay Systems ACCESS PCT CALIBRATOR Instructions For Use Procalcitonin C22594 FOR PROFESSIONAL USE ONLY Rx Only ANNUAL REVIEW Reviewed by Date Reviewed by Date PRINCIPLE. 2019.
8. Pierrakos C, Velissaris D, Bisdorff M, Marshall JC, Vincent JL. Biomarkers of sepsis: Time for a reappraisal. *Crit Care*. 2020 Jun 5;24(1).
9. Califf RM. Biomarker definitions and their applications. *Exp Biol Med*. 2018 Feb 1;243(3):213–21.
10. Califf RM. Biomarker definitions and their applications. *Exp Biol Med*. 2018 Feb 1;243(3):213–21.
11. Ponti G, Maccaferri M, Ruini C, Tomasi A, Ozben T. Biomarkers associated with COVID-19 disease progression. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. Taylor and Francis Ltd.; 2020. p. 389–99.
12. Mierzchała-Pasierb M, Lipinska-Gediga M. Sepsis diagnosis and monitoring - Procalcitonin as standard, but what next? Vol. 51, *Anaesthesiology Intensive Therapy*. Termedia Publishing House Ltd.; 2019. p. 299–305.
13. Delèvaux I, André M, Colombier M, Albuisson E, Meylheuc F, Bègue RJ, et al. Can procalcitonin measurement help in differentiating between bacterial infection and other kinds of inflammatory processes? [Internet]. Available from: www.annrheumdis.com

14. Paudel R, Dogra P, Montgomery-Yates AA, Yataco AC. Procalcitonin: A promising tool or just another overhyped test? Vol. 17, *International Journal of Medical Sciences*. Ivyspring International Publisher; 2020. p. 332–7.
15. Procalcitonin and sepsis in the Emergency Department an update.
16. Ruan L, Chen GY, Liu Z, Zhao Y, Xu GY, Li SF, et al. The combination of procalcitonin and C-reactive protein or presepsin alone improves the accuracy of diagnosis of neonatal sepsis: A meta-analysis and systematic review. *Crit Care*. 2018 Nov 21;22(1).
17. Hamade B, Huang DT. Procalcitonin: Where Are We Now? Vol. 36, *Critical Care Clinics*. W.B. Saunders; 2020. p. 23–40.
18. Azevedo JRA, Torres OJM, Czczeko NG, Tuon FF, Nassif PAN, Souza GD. Procalcitonin as a prognostic biomarker of severe sepsis and septic shock. 2012.
19. Singer M, Deutschman CS, Seymour C, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). Vol. 315, *JAMA – Journal of the American Medical Association*. American Medical Association; 2016. p. 801–10.
20. Wirz Y, Meier MA, Bouadma L, Luyt CE, Wolff M, Chastre J, et al. Effect of procalcitonin-guided antibiotic treatment on clinical outcomes in intensive care unit patients with infection and sepsis patients: A patient-level meta-analysis of randomized trials. Vol. 22, *Critical Care*. BioMed Central Ltd.; 2018.
21. Ruan L, Chen GY, Liu Z, Zhao Y, Xu GY, Li SF, et al. The combination of procalcitonin and C-reactive protein or presepsin alone improves the accuracy of diagnosis of neonatal sepsis: A meta-analysis and systematic review. *Crit Care*. 2018 Nov 21;22(1).
22. Helzlsouer KJ, Erlinger TP, Platz EA. C-reactive protein levels and subsequent cancer outcomes: Results from a prospective cohort study. *Eur J Cancer*. 2006 Apr;42(6):704–7.
23. Sohrabi H, kholafazad Kordasht H, Pashazadeh-Panahi P, Nezhad-Mokhtari P, Hashemzaei M, Majidi MR, et al. Recent advances of electrochemical and optical biosensors for detection of C-reactive protein as a major inflammatory biomarker. Vol. 158, *Microchemical Journal*. Elsevier Inc.; 2020.
24. Lee S, Choe JW, Kim HK, Sung J. High-sensitivity C-reactive protein and cancer. *J Epidemiol*. 2011;21(3):161–8.
25. Sohrabi H, kholafazad Kordasht H, Pashazadeh-Panahi P, Nezhad-Mokhtari P, Hashemzaei M, Majidi MR, et al. Recent advances of electrochemical and optical

- biosensors for detection of C-reactive protein as a major inflammatory biomarker. Vol. 158, *Microchemical Journal*. Elsevier Inc.; 2020.
26. Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection. Vol. 9, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media S.A.; 2018.
 27. Godínez-Vidal AR, Alcántara-Gordillo R, Aguirre-Rojano VI, López-Romero SC, González-Calatayud M, González-Pérez LG, et al. Evaluation of C-reactive protein, procalcitonin and the PCR/ PCT index as indicators of mortality in abdominal sepsis. *Cirugía y Cirujanos (English Edition)*. 2023 Feb 23;88(2).
 28. Sakyi SA, Enimil A, Adu DK, Ephraim RD, Danquah KO, Fondjo L, et al. Individual and combined bioscore model of presepsin, procalcitonin, and high sensitive C - reactive protein as biomarkers for early diagnosis of paediatric sepsis. *Heliyon*. 2020 Sep 1;6(9).
 29. Godínez-Vidal AR, Alcántara-Gordillo R, Aguirre-Rojano VI, López-Romero SC, González-Calatayud M, González-Pérez LG, et al. Evaluation of C-reactive protein, procalcitonin and the PCR/ PCT index as indicators of mortality in abdominal sepsis. *Cirugía y Cirujanos (English Edition)*. 2023 Feb 23;88(2).
 30. Paudel R, Dogra P, Montgomery-Yates AA, Yataco AC. Procalcitonin: A promising tool or just another overhyped test? Vol. 17, *International Journal of Medical Sciences*. Ivyspring International Publisher; 2020. p. 332–7.
 31. Liu D, Su L, Han G, Yan P, Xie L. Prognostic value of procalcitonin in adult patients with sepsis: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2015 Jun 15;10(6).
 32. Godínez-Vidal AR, Alcántara-Gordillo R, Aguirre-Rojano VI, López-Romero SC, González-Calatayud M, González-Pérez LG, et al. Evaluation of C-reactive protein, procalcitonin and the PCR/ PCT index as indicators of mortality in abdominal sepsis. *Cirugía y Cirujanos (English Edition)*. 2023 Feb 23;88(2).
 33. Kyriazopoulou E, Liaskou-Antoniou L, Adamis G, Panagaki A, Melachroinou N, Drakou E, et al. Procalcitonin to reduce long-term infection-associated adverse events in sepsis a randomized trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2021 Jan 15;203(2):202–10.
 34. AMPATHCHAT. CHAT CRP vs PCT: which one to choose and when? 2018.