



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

---



**VALOR DIAGNÓSTICO E PROGNÓSTICO DA  
PROCALCITONINA SÉRICA NA ADMISSÃO EM  
CRIANÇAS COM PNEUMONIA ADQUIRIDA NA  
COMUNIDADE**

Taiane S. Fonseca

Dissertação de Mestrado

Salvador (Bahia), 2016



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**



**VALOR DIAGNÓSTICO E PROGNÓSTICO DA  
PROCALCITONINA SÉRICA NA ADMISSÃO EM  
CRIANÇAS COM PNEUMONIA ADQUIRIDA NA  
COMUNIDADE**

Taiane Siraisi Fonseca

Professora-orientadora: Cristiana M.  
Nascimento-Carvalho

Dissertação apresentada ao Colegiado do  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
CIÊNCIAS DA SAÚDE, da Faculdade de  
Medicina da Universidade Federal da Bahia,  
como pré-requisito obrigatório para a obtenção  
do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Salvador (Bahia), 2016

## Ficha Catalográfica

F676 Fonseca, Taiane Siraisi

Valor diagnóstico e prognóstico da procalcitonina sérica na admissão em crianças com pneumonia adquirida na comunidade / Taiane Siraisi Fonseca – Salvador: T. S. Fonseca, 2016.

vii, 87p. il.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.

1. Doença respiratória; 2. Pneumonia; 3. Diagnóstico; 4. Prognóstico I. Título.

CDU: 616.2-053.2

## COMISSÃO EXAMINADORA

### Membros titulares:

- Eitan N. Berezin - Professor-doutor da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo
- Ana Luisa Vilas-Boas - Professora-doutora da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública
- Regina Terse Trindade Ramos - Professora-doutora da Universidade Federal da Bahia

### Membro suplente:

- Cristiana M. Nascimento-Carvalho (Professora-Orientadora), professor associado, doutora, livre Docente em Infectologia Pediátrica da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.

*“Isso de querer ser exatamente aquilo que  
se é ainda vai nos levar além”*

Paulo Leminski

Dedico a minha sobrinha e afilhada, Larinha, que nos presenteou com sua chegada em 2015, unindo ainda mais nossa família com a alegria e leveza que uma criança possui. Aos meus pais, Constâncio e Tiemi, pelo apoio e torcida incondicionais. Aos meus irmãos, Tamy e Alan, pelo amor que sempre encontro neles.

## FONTE DE FINANCIAMENTO

Bolsa de mestrado CAPES

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB)

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora, professora Cristiana M. Nascimento Carvalho, por me ensinar a “procurar com perseverança” (em latim, *perquirere*; palavra da qual origina o termo pesquisa). Agradeço a ela também por me ensinar a aplicar este conhecimento na minha prática clínica, tentando amenizar o sofrimento de crianças doentes, que é o propósito final de toda minha dedicação.

Agradeço a doutora Ângela Vasconcellos, por me auxiliar na análise e interpretação dos dados, e ao grupo de pesquisa em infectologia pediátrica pelas inúmeras colaborações no andamento desta dissertação.



## ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS, GRÁFICOS E TABELAS .....	2
I. RESUMO .....	3
II. OBJETIVOS .....	5
III. INTRODUÇÃO .....	6
IV. REVISÃO DA LITERATURA	
IV.1. Epidemiologia da pneumonia adquirida na comunidade .....	8
IV.2. Definição, manifestações clínicas e diagnóstico .....	8
IV.3. Aspectos microbiológicos .....	11
IV.4. Tratamento .....	12
IV.5. Complicações .....	14
IV.6. A procalcitonina .....	14
V. ARTIGOS	
V.1. Pleural Effusion Increases Serum Procalcitonin Values in Children with Community-acquired Pneumonia .....	17
V.2. Prognostic Value of Serum Procalcitonin Levels upon Admission of Children Hospitalized With Community-Acquired Pneumonia .....	20
VI. DISCUSSÃO	
VI.1. Procalcitonina e derrame pleural .....	57
VI.2. Valor diagnóstico e prognóstico da procalcitonina .....	58
VI.3. Limitações .....	61
VII. PERSPECTIVA DE ESTUDOS .....	63
VIII. CONCLUSÕES .....	64
IX. SUMMARY .....	65
X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	67
XI. ANEXOS .....	73

## INDICE DE FIGURAS, TABELAS E GRÁFICOS

### TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Definição de pneumonia adquirida na comunidade em crianças..... 9

Figura 1. Performance diagnóstica dos sinais e sintomas considerados diagnósticos em 4 estudos ou mais..... 10

### TABELAS E FIGURAS DO ARTIGO 2

Table 1. Clinical characteristics and duration of symptoms on admission of children hospitalized with community-acquired pneumonia and of the subgroup with pneumococcal infection..... 50

Table 2. Comparison of clinical characteristics of children hospitalized with community-acquired pneumonia with or without fever after 48 hours of treatment..... 52

Table 3. Diagnostic characteristics of serum PCT levels  $\geq 0.25\text{ng/ml}$  to diagnose pneumococcal infection among children hospitalized with community-acquired pneumonia ..... 53

Figure 1. Flow chart to compose the study group ..... 54

Figure 2. Distribution of etiologies between patients who became or did not become afebrile after 48 hours of treatment ..... 55

Figure 3. ROC curve for serum PCT levels and pneumococcal infections on CAP ..... 56

## I. RESUMO

### VALOR DIAGNÓSTICO E PROGNÓSTICO DA PROCALCITONINA SÉRICA NA ADMISSÃO EM CRIANÇAS COM PNEUMONIA ADQUIRIDA NA COMUNIDADE

A pneumonia adquirida na comunidade (PAC) continua sendo uma das maiores causas de morbimortalidade e o diagnóstico etiológico permanece um grande desafio. Objetivo: Avaliar o valor diagnóstico e prognóstico da procalcitonina (PCT) sérica na admissão de crianças com PAC, em relação a: 1) presença ou não de derrame pleural (DP); 2) resposta terapêutica a penicilina G cristalina, estratificado por etiologia; Desenho do estudo: trata-se de uma coorte prospectiva; Materiais e métodos: Crianças menores de 5 anos hospitalizadas com PAC foram avaliadas entre 2003 e 2005. Na admissão, dados clínicos e radiológicos foram coletados, assim como aspirado nasofaríngeo e sangue para investigar 19 agentes etiológicos e dosar PCT. Evolução e desfecho foram registrados em formulários pré-definidos. Os níveis séricos de PCT foram analisados primeiro comparando a presença ou não de DP. Numa segunda análise, crianças com derrame pleural e que não foram tratadas com penicilina G cristalina foram excluídas. Resultados: Em relação ao DP, 128 crianças foram estudadas, dentre as quais 13 (10,2%) tinham DP. A mediana da PCT (ng/mL) no grupo com DP foi 1,68 (1,19; 6,56) comparado a 0,69 (0,12; 2,53) naqueles sem DP (P=0,021). Não houve diferença nos agentes etiológicos encontrados. A segunda análise foi composta por 89 pacientes. Nesse grupo, infecção viral (49,4%), de bactéria atípica (12,4%) e de bactéria típica (38,2%) foram diagnosticadas. Dessas, 25,8% eram infecções pneumocócicas. No total, 75 (84,3%) crianças tornaram-se afebris nas primeiras 48h de tratamento. A mediana do nível sérico de PCT na admissão era maior em 14 crianças que permaneceram febris após 48h de tratamento (2,1 [0,8–3,7] *versus* 0,6 [0,1–2,2]; P=0,025). Nessas crianças,

infecção pneumocócica foi mais comum (71,4% versus 17,3%;  $P < 0,001$ ). Níveis de PCT na admissão foram mais altos em crianças com pneumonia pneumocócica (2 [0,7–4,2] *versus* 0,5 [0,08–2,1];  $P = 0,002$ ). A curva ROC encontrou que 0,25ng/ml de PCT sérica tinha um alto valor preditivo negativo (93% [95%CI: 80%–99%]) para infecção pneumocócica; Conclusões: DP aumenta os níveis de PCT e deve ser pesquisado em crianças com altos níveis de PCT. É possível que infecção viral aumente a PCT quando há DP. Ainda, PCT sérica  $\geq 0,25$ ng/ml prediz uma resposta lenta ao uso de antibiótico e a etiologia pneumocócica.

Palavras-chave: 1. Doença respiratória; 2. Pneumonia; 3. Diagnóstico; 4. Procalcitonina

## **II. OBJETIVOS**

### **GERAIS**

1. Avaliar o valor diagnóstico e prognóstico da procalcitonina (PCT) sérica na admissão de crianças hospitalizadas com pneumonia adquirida na comunidade (PAC).

### **ESPECÍFICOS**

1. Comparar o valor diagnóstico e prognóstico da PCT em crianças hospitalizadas com PAC entre os diferentes grupos etiológicos, quais sejam, infecção por bactéria típica, por bactéria atípica ou por vírus;
2. Avaliar o valor preditivo da PCT em crianças hospitalizadas com PAC quanto à resposta terapêutica à penicilina G cristalina.
3. Comparar o valor da PCT sérica quanto a presença ou ausência de derrame pleural (DP);

### III. INTRODUÇÃO

A pneumonia adquirida na comunidade (PAC) permanece uma das causas mais importantes de morbimortalidade em crianças menores que 5 anos (Liu L et al, 2015). Na prática clínica, o diagnóstico etiológico é raramente estabelecido nesse grupo de pacientes porque existe uma grande dificuldade de obter amostra biológica do trato respiratório inferior de forma apropriada (Cardinale et al, 2013). Além disso, métodos diagnósticos invasivos não podem ser rotineiramente usados (Esposito et al, 2012). Atualmente, existem duas importantes ferramentas diagnósticas: hemocultura e reação de cadeia em polimerase (PCR, da sigla em inglês) no sangue que, no entanto, apresentam baixa taxa de positividade (Clark, 2015). Desse modo, antibioticoterapia empírica é frequentemente usada em crianças hospitalizadas com PAC (Nascimento-Carvalho et al, 2013). As penicilinas são os antibióticos de primeira escolha porque *Streptococcus pneumoniae* é o agente bacteriano mais frequentemente encontrado e sensível a esse esquema terapêutico (Nascimento-Carvalho, 2001; Bradley et al, 2011; Harris et al, 2011). Em país desenvolvido, entre crianças com bacteremia pneumocócicas, 94% tornaram-se afebris nas primeiras 48h de uso de antimicrobiano (Toikka et al, 1999). Por causa disso, a resolução da febre tem sido considerada o equivalente a resposta clínica a antibioticoterapia (Toikka et al, 1999; Cohen et al, 2012).

Derrame pleural (DP) é a complicação mais frequente em crianças com PAC e sua incidência vem aumentando nos últimos anos (Yu et al, 2014). DP tem sido classicamente associado a infecção bacteriana (Michelow et al, 2004). Esses pacientes frequentemente são excluídos de estudos longitudinais, porque eles apresentam uma resposta mais lenta ao uso de antibiótico (Cohen et al, 2012).

Procalcitonina (PCT) é um marcador inflamatório que tem sido estudado em crianças com PAC como um preditor de infecção bacteriana (Cohen et al, 2012), bem como para guiar o uso de antibiótico (Esposito et al, 2011).

## **IV. REVISÃO DA LITERATURA**

### **IV.1. Epidemiologia da pneumonia adquirida na comunidade**

Cerca de metade das mortes em crianças abaixo de 5 anos ainda são por causas infecciosas, dentre as quais se destacam pneumonia, diarreia e malária (Liu L et al, 2015). Segundo a Organização Mundial de Saúde (2015), a pneumonia é responsável por cerca de 15% das mortes em crianças menores de 5 anos. Nos países desenvolvidos, essa não é uma infecção grave e os pacientes apresentam rápida recuperação após o início do tratamento antimicrobiano (Juven et al, 2004). No entanto, tem sido demonstrado que residir em área rural, ter baixa renda familiar e ter dificuldade de acesso ao sistema de saúde são todos fatores de risco associados a gravidade da infecção (Azab et al, 2014). Nesse contexto, nos países em desenvolvimento, a PAC permanece ainda como uma das maiores causas de morbidade e mortalidade em crianças menores de 5 anos de idade (Liu L et al, 2015). Nesses países, mais de 25% das crianças irão apresentar um episódio da infecção em algum momento dos primeiros 5 anos de vida (Scott et al, 2008).

### **IV.2. Definição, manifestações clínicas e diagnóstico de pneumonia adquirida na comunidade**

PAC é a infecção do parênquima pulmonar em crianças previamente híginas que adquiriram a infecção na comunidade, diferenciando assim da pneumonia nosocomial (adquirida no ambiente hospitalar) (Harris et al, 2011; Bradley et al, 2011). Sua definição diagnóstica em crianças, no entanto, não é um consenso entre as diversas



organizações de saúde (tabela 1), o que já é o primeiro desafio encontrado no manejo da doença.

**Tabela 1. Definição de pneumonia adquirida na comunidade em crianças**

Organização Mundial de Saúde (2014)	Tosse ou dificuldade de respirar + Tiragem subcostal ou taquipneia: 2-12 meses: $\geq 50$ ipm/min 12-60 meses: $\geq 40$ ipm/min
Sociedade Torácica Britânica (2011)	Febre persistente ou repetida $> 38.5^{\circ}\text{C}$ associado a tiragem intercostal e aumento da frequência respiratória
Sociedade Americana de Doenças Infeciosas (2011)	Presença de sinais e sintomas de pneumonia em criança previamente hígida causada por uma infecção adquirida fora do hospital

Essa divergência acontece porque sinais e sintomas da PAC são pouco sensíveis e específicos, sobrepondo-se a outras doenças do trato respiratório inferior, como bronquiolite (Wallihan & Ramilo, 2014).

Manifestações clínicas de crianças com PAC abrangem uma gama de sinais e sintomas que variam de acordo com a idade da criança (Iroh Tam, 2013). Rambaud-Althaus et al publicaram em 2015 a primeira metanálise de preditores clínicos de pneumonia em crianças menores que 5 anos. Nessa revisão, os achados considerados como diagnóstico nos diversos estudos foram: taquipneia, tiragem intercostal, batimento de asa do nariz, temperatura elevada, crepitação, história de febre e chiado. Baseado nesses critérios, foi estimado o valor diagnóstico (sensibilidade e especificidade) de cada sinal e sintoma (figura 1). Apesar de ter sido encontrado um performance diagnóstica ruim para a maioria das características clínicas, alguns sinais de perigo

apresentaram uma especificidade maior que 80%, a saber: cianose, estridor e gemido. Nessa revisão, o aumento da frequência respiratória, principal aspecto diagnóstico para os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS), mostrou-se pouco útil para prática clínica, se usado isoladamente. De fato, um estudo anterior mostrou que, nos 3 primeiros dias de doença, este é um sinal pouco sensível e específico (Palafox et al, 2000). Baseando o diagnóstico na presença de alterações na ausculta ou anormalidades na radiografia de tórax, mais da metade das crianças acima de 35 meses não terão frequência respiratória alterada (Cherian et al, 1988).

	Number of studies	Total population (n)	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)	Positive likelihood ratio (95% CI)	Negative likelihood ratio (95% CI)	1/negative likelihood ratio (95% CI)
<b>Symptoms</b>							
History of fever	6	8260	0.94 (0.88-0.97)	0.12 (0.06-0.23)	1.06 (1.00-1.12)	0.53 (0.41-0.69)	1.89 (1.46-2.45)
Cough	5	6421	0.96 (0.91-0.98)	0.14 (0.03-0.46)	1.12 (0.90-1.39)	0.30 (0.09-0.96)	3.37 (1.04-10.89)
Difficult breathing	4	6070	0.60 (0.35-0.81)	0.52 (0.19-0.84)	1.26 (0.84-1.91)	0.76 (0.64-0.90)	1.32 (1.11-1.56)
Rapid breathing	4	4474	0.79 (0.75-0.82)	0.31 (0.17-0.49)	1.14 (0.88-1.46)	0.69 (0.39-1.25)	1.44 (0.80-2.60)
Poor feeding	7	4984	0.64 (0.39-0.83)	0.52 (0.3-0.73)	1.34 (1.17-1.54)	0.69 (0.55-0.86)	1.46 (1.16-1.83)
Vomiting	5	6723	0.36 (0.22-0.52)	0.7 (0.55-0.82)	1.17 (1.06-1.29)	0.93 (0.86-0.99)	1.08 (1.01-1.16)
<b>Signs</b>							
Nasal flaring	8	2813	0.47 (0.28-0.66)	0.73 (0.52-0.87)	1.75 (1.20-2.56)	0.73 (0.59-0.89)	1.38 (1.12-1.69)
Grunting	5	1251	0.24 (0.10-0.47)	0.87 (0.65-0.96)	1.78 (1.10-2.88)	0.88 (0.78-0.99)	1.13 (1.01-1.28)
Temperature >38°C*	5	4631	0.56 (0.39-0.71)	0.55 (0.40-0.70)	1.25 (1.14-1.37)	0.80 (0.70-0.91)	1.26 (1.10-1.43)
Respiratory rate >40 breaths per min	4	1058	0.78 (0.54-0.91)	0.51 (0.38-0.63)	1.58 (1.37-1.84)	0.43 (0.23-0.83)	2.30 (1.20-4.41)
Respiratory rate >50 breaths per min	7	1834	0.53 (0.30-0.74)	0.72 (0.58-0.83)	1.90 (1.45-2.48)	0.65 (0.45-0.95)	1.53 (1.05-2.24)
Age-related fast breathing†‡	6	3320	0.62 (0.26-0.89)	0.59 (0.29-0.84)	1.55 (0.44-5.42)	0.63 (0.16-2.55)	1.59 (0.39-6.42)
Crepitations	7	2510	0.53 (0.37-0.69)	0.58 (0.48-0.67)	1.26 (0.99-1.60)	0.81 (0.61-1.08)	1.23 (0.93-1.63)
Rales	4	1158	0.49 (0.32-0.67)	0.45 (0.22-0.70)	0.90 (0.42-1.90)	1.13 (0.48-2.62)	0.89 (0.38-2.06)
Rhonchi	4	1543	0.19 (0.04-0.57)	0.67 (0.24-0.93)	0.57 (0.36-0.91)	1.21 (0.88-1.67)	0.83 (0.60-1.14)
Decreased breath sounds	5	1364	0.22 (0.12-0.38)	0.76 (0.29-0.96)	0.93 (0.15-5.67)	1.02 (0.58-1.80)	0.98 (0.55-1.72)
Wheezing	6	4825	0.22 (0.18-0.25)	0.75 (0.66-0.82)	0.86 (0.63-1.17)	1.05 (0.95-1.16)	0.95 (0.86-1.06)
Lower chest indrawing‡	4	1870	0.48 (0.16-0.82)	0.72 (0.47-0.89)	1.76 (0.86-3.58)	0.71 (0.38-1.35)	1.40 (0.74-2.65)

\* Rectal temperature >38.0°C or axillary temperature >37.5°C. † Respiratory rate >60 breaths per min in children aged <2 months, >50 breaths per min in children 2-11 months, and >40 breaths per min in children aged 12-59 months. ‡ WHO criteria for pneumonia.

Figura 1. Performance diagnóstica dos sinais e sintomas considerados diagnósticos em 4 estudos ou mais  
Fonte: Rambaud-Althaus et al, 2015

A radiografia de tórax ainda é o padrão ouro para diagnóstico na PAC em crianças. O benefício da utilização deste método rotineiramente, no entanto, é questionável. A Sociedade Torácica Britânica e a Academia Americana de Doenças Infecciosas não recomendam rotineiramente a realização da radiografia (Harris et al, 2011; Bradley et al, 2011), reservando este método para aqueles pacientes com esforço

respiratório importante ou quando se suspeita de complicações. Por outro lado, o diagnóstico de pneumonia baseado apenas em critérios clínicos pode levar a um diagnóstico excessivo da doença e, por consequência, um uso excessivo de antimicrobiano (Korppi, 2012a). Para evitar este erro e o aumento de resistência a antimicrobianos, recomenda-se que só sejam tratadas crianças com consolidação pulmonar bem visualizada a radiografia de tórax (Korppi, 2012b).

### **IV.3. Aspectos microbiológicos da pneumonia adquirida na comunidade**

Nenhuma das manifestações clínicas, achados radiológicos ou laboratoriais, como contagem de leucócitos ou proteína C reativa, puderam ser associados ao diagnóstico etiológico na PAC (Clark, 2015). Dessa forma, a identificação do agente causador da doença ainda permanece um grande desafio à prática clínica, dificultando a escolha do antibiótico mais apropriado ao tratamento. A obtenção de material do trato respiratório inferior não é facilmente disponível e a análise da secreção retirada de vias aéreas superiores tem limitações quanto a interpretação de resultados, uma vez que algumas bactérias colonizam esta região sem causar doença. Outro método disponível é a hemocultura que, embora tenha uma alta especificidade, apresenta uma baixa sensibilidade no sangue (Clark, 2015). Sorologia também é disponível para detecção de vírus e bactérias, no entanto, a acurácia desses testes variam muito e são necessárias amostra do quadro agudo e da convalescência, o que dificulta a aplicação rotineira (Wallihan & Ramilo, 2014). Se as diversas técnicas de detecção forem somadas, a frequência de diagnóstico realizado chega a 86% nas crianças hospitalizadas (Wallihan & Ramilo, 2014).

A frequência dos agentes etiológicos variam de acordo com a idade do paciente. Infecção viral é, no entanto, a mais comum em todas as faixas etárias a partir do primeiro mês de vida até o 5º ano de vida (Cardinale et al, 2013). A real proporção que os agentes virais ocupam dentro das infecções do trato respiratório inferior ainda não são claras, devido às limitações de identificação do agente, mas podem chegar a até 85% dos casos, como mostrado por Ruuskanen et al (2011). Entre os vírus mais comumente encontrados pode se destacar o vírus sincicial respiratório (VSR), seguido do rinovírus, metapneumovírus humano e bocavírus humano e só então do influenza e adenovírus (Clark, 2015).

Outro dado interessante que vem crescendo em visibilidade ao longo dos anos, é em relação a coinfeção de vírus e bactéria na PAC. Foi observado que em até 45% do casos são encontrados agentes virais e bacterianos, sendo a bactéria mais encontrada nesses casos o *Streptococcus pneumoniae* (Ruuskanen et al, 2011). De fato, *S. pneumoniae* é o agente mais encontrado entre as infecções bacterianas, o que justifica a antibioticoterapia empírica indicada na maioria dos guidelines (Cardinale et al, 2013). Outros agentes importantes são o *Haemophilus influenzae* não tipável, *Staphylococcus aureus* e *Chlamydia pneumoniae*.

#### **IV.4. Tratamento da pneumonia adquirida na comunidade**

Existe uma dificuldade no estabelecimento de uma diretriz objetiva para guiar o tratamento da PAC. Isso se dá pelas controvérsias já vistas que envolvem o estabelecimento da etiologia nos variados grupos.

As características clínicas da criança na admissão são os fatores mais importantes para decidir quando e como iniciar a antibioticoterapia (Esposito et al,

2012). Os *guidelines* da Sociedade Torácica Britânica e da Sociedade de Doenças Infecciosas Pediátricas (Bradley et al, 2011; Harris et al, 2011) já reconhecem que nem toda criança irá se beneficiar do uso de antibiótico, de modo que aquelas sem sinais sugestivos de doença bacteriana e com doença leve possa receber apenas sintomáticos. Não existe atualmente, no entanto, nenhum dado clínico, de imagem ou laboratorial, tais quais contagem de leucócitos, proteína C reativa, velocidade de hemossedimentação ou procalcitonina, que ajudem a distinguir a etiologia da infecção e dessa forma qual classe de antibiótico que deva ser iniciado (Esposito et al, 2012).

Quando decidido pelo tratamento com a introdução do antimicrobiano, alguns dados devem ser levados em consideração. A idade do paciente é o primeiro fator a ser considerado devido ao espectro variado de doença nas diferentes faixas etárias, seguido da epidemiologia local, taxas de resistência antimicrobiana e características clínicas do paciente, em especial a presença de sinais de gravidade (Lassi et al, 2014). Apesar de não existir evidência que a distribuição dos agentes etiológicos em crianças com PAC grave seja diferente que nas demais crianças, é necessário ponderar que este grupo de pacientes possui menor tempo para observação da resposta ao tratamento, necessitando possivelmente de uma abordagem mais agressiva (Nascimento-Carvalho et al, 2015).

Penicilinas são a primeira linha de tratamento nas pneumonias adquiridas na comunidade já que o *S. pneumoniae* é o agente mais frequentemente encontrado (Nascimento-Carvalho, 2001; Bradley et al, 2011; Harris et al, 2011). Essa escolha pode variar, no entanto, de acordo com a faixa etária e determinadas condições do paciente (Iroh Tam, 2013).

Ao longo dos anos, a resposta terapêutica ao tratamento instituído tem sido a resolução da febre em 48 horas (Toikka et al, 1999; Cohen et al, 2012). Foi visto que 94% das crianças com pneumonia pneumocócica a febre entrava em remissão neste

período (Toikka et al, 1999). Caso não haja melhora neste período, guidelines sugerem que seja levantado a hipótese de outro agente causador e investigado complicações da doença.

#### **IV.5. Derrame pleural e pneumonia adquirida na comunidade**

Derrame pleural (DP) é a complicação mais comum. Tem sido observado que a incidência dessa complicação vem crescendo nos últimos anos (Yu et al, 2014). DP tem sido classicamente relacionado a infecção bacteriana (Michelow et al, 2004).

Pacientes com DP tem sido excluídos de estudos longitudinais relacionados ao tratamento e prognóstico de pneumonia adquirida na comunidade, porque eles apresentam uma resposta mais lenta ao uso de antibióticos (Cohen et al, 2012), necessitando por vezes de intervenção adicional.

#### **IV.6. A procalcitonina**

A procalcitonina foi mencionada pela primeira vez na literatura médica em 1975, quando Moya et al descobriram precursores intracelulares do hormônio tireoidiano calcitonina – a pré-procalcitonina e seus produtos de clivagem. Em 1981, o termo retornou à literatura médica após a identificação de sua estrutura por Jacobs et al. Foi em 1993, no entanto, que níveis elevados de procalcitonina foram relacionados a infecção bacteriana (Assicot et al, 1993).

A procalcitonina é uma proteína precursora do hormônio calcitonina, que está envolvido no metabolismo do cálcio. O gene calcitonina-I (CALC-I) é o responsável pela expressão destes produtos e encontra-se no braço curto do cromossomo 11 e

originalmente expressa a pré-procalcitonina. Este é clivado e dá origem a procalcitonina que, por sua vez, produz a calcitonina dentro das células da tireoide. A calcitonina é liberada na corrente sanguínea apenas após sua formação final estar completa, de modo que muito baixos níveis de procalcitonina entram na circulação sanguínea e não são detectáveis em indivíduos saudáveis (Maruna et al, 2000).

Apesar da estrutura da PCT encontrada nos processos inflamatórios ser idêntica àquela produzida no tecido tireoidiano, os mecanismos envolvidos na produção deste hormônio são diferentes, uma vez que mesmo indivíduos tireoidectomizados apresentam aumentos de PCT durante processos inflamatórios. Durante uma infecção, particularmente naquelas sistêmicas, a expressão do gene CALC-I é aumentada e a PCT é lançada na corrente sanguínea de vários tecidos diferentes. Não existe um consenso sobre o local de produção da PCT nessas circunstâncias, visto que os estudos incluem dosagem de momentos diferentes de infecção (Liu HH et al, 2015).

Na presença de infecção bacteriana, a PCT começa a se elevar de forma precoce, cerca de 4 horas do início da infecção, atingindo seu níveis plasmáticos mais alto até 6 horas. Como na corrente sanguínea não existe enzima responsável pela sua degradação, a PCT permanece com níveis altos na corrente sanguínea por cerca de 24h, equivalente a sua meia vida.

A liberação de PCT no sangue durante processos infecciosos está relacionada a endotoxina bacteriana e a citocinas inflamatórias. Dandona et al (1994) demonstraram um rápido aumento dos níveis séricos de PCT após injeção de endotoxinas bacterianas em modelos experimentais. A administração de TNF, IL-1, IL-2 e IL-6 também levam a um aumento de PCT. Os mecanismos ainda são desconhecidos, mas podem influenciar no entendimento do porquê, em infecções virais, os níveis deste biomarcador são detectáveis, ainda que baixos.

Neste contexto, a PCT vem sendo estudada com o objetivo de auxiliar no diagnóstico, na instituição do tratamento e no prognóstico de doenças infecciosas. Na pneumonia adquirida na comunidade em crianças, a PCT tem sido considerada um preditor de infecção bacteriana (Cohen et al, 2012) e também utilizada para guiar o uso de antibioticoterapia (Esposito et al, 2011).



## **V. ARTIGOS**

### **V.1. ARTIGO 1**

#### **Pleural Effusion Increases Serum Procalcitonin Values in Children with Community-acquired Pneumonia**

*The Pediatric Infectious Disease Journal* 34: 914-915, 2015.

10–60) and AST 610 IU/L (normal range 15–45). Two had a normal echocardiography, and the third patient was not circulatory compromised. Thus, myocarditis was not suspected. Unfortunately, troponin and pro-brain natriuretic peptide levels were not measured.

Myocarditis has been described as a feature of HPeV-1 (former echovirus 22) infection in infants.<sup>2–4</sup> We have searched relevant articles and failed to find any description of myocarditis associated with HPeV-3. In a study comparing infantile enterovirus and HPeV infection, myocarditis was detected in 19% (4 of 21) of those with enterovirus and in none with HPeV (0 of 11).<sup>5</sup> In cases of infantile deaths associated with HPeV-3, central nervous and pulmonary, and not myocardial, inflammation was highlighted in the autopsy reports.<sup>6–8</sup>

Myocarditis in not established as a common feature of infantile HPeV-3 infection. Nevertheless, we agree with Dr. Eisenhut that clinicians should be aware of this severe complication in children with HPeV infection and circulatory impairment.

**Marius Kurås Skram, MD**

Department of Paediatrics  
Oslo University Hospital  
Oslo, Norway

**Svein Arne Nordbø, MD**

Department of Medical Microbiology  
Norwegian University of Science and  
Technology  
Trondheim, Norway

**Henrik Dollner, MD, PhD**

Department of Paediatrics  
Norwegian University of Science and  
Technology  
Trondheim, Norway

## REFERENCES

- Skram MK, Skanke LH, Krokstad S, et al. Severe parechovirus infection in Norwegian infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2014;33:1222–1225.
- Russell SJ, Bell EJ. Echoviruses and carditis. *Lancet*. 1970;1:784–785.
- Maller HM, Powars DF, Horowitz RE, et al. Fatal myocarditis associated with ECHO virus, type 22, infection in a child with apparent immunological deficiency. *J Pediatr*. 1967;71:204–210.
- Wildenbeest JG, Wolthers KC, Straver B, et al. Successful IVIG treatment of human parechovirus-associated dilated cardiomyopathy in an infant. *Pediatrics*. 2013;132:e243–e247.
- Verboon-Macialek MA, Krediet TG, Gerards LJ, et al. Severe neonatal parechovirus infection and similarity with enterovirus infection. *Pediatr Infect Dis J*. 2008;27:241–245.
- Schuffenecker I, Javouhey E, Gillet Y, et al. Human parechovirus infections, Lyon, France, 2008–10: evidence for severe cases. *J Clin Virol*. 2012;54:337–341.
- Sedmak G, Nix WA, Jentzen J, et al. Infant deaths associated with human parechovirus

infection in Wisconsin. *Clin Infect Dis*. 2010;50:357–361.

- van Zwol AL, Lequin M, Aarts-Tesselaar C, et al. Fatal neonatal parechovirus encephalitis. *BMJ Case Rep*. 2009;2009.

## Pleural Effusion Increases Serum Procalcitonin Values in Children with Community-acquired Pneumonia

To the Editors:

Community-acquired pneumonia (CAP) remains one of the most important causes of morbidity and mortality in children younger than 5 years. Pleural effusion (PE) is the most frequent complication of CAP, and its incidence has been rising recently.<sup>1</sup> PE has been classically associated with bacterial infection.<sup>2</sup> Those patients are usually excluded from longitudinal studies because they show a delayed response to antibiotics.<sup>3</sup> Procalcitonin (PCT) is an inflammatory biomarker that has been studied in children with CAP to support bacterial etiology and to guide the length of antibiotic use.<sup>3,4</sup> No study has compared PCT serum values in children with CAP with or without PE.

This was a prospective study conducted at the Emergency Room of the Federal University of Bahia Hospital. Children younger than 5 years diagnosed with CAP admitted in a 21-month period were evaluated. On admission, clinical and radiologic data were collected as were aspirates and blood to investigate etiologic agents and serum PCT values. All chest radiographs were read by a pediatric radiologist blinded to patient's clinical data. Eleven viruses and 8 bacteria were investigated. PCT concentration was measured by an immunoluminometric assay

(LUMitest PCT, BRAHMS Diagnostica, Berlin, Germany), and the detection limit was 0.02 ng/mL. The study was conducted in accordance with the principles of the Helsinki Declaration, and it was approved by the Ethics Committee of the Federal University of Bahia.

From 128 CAP patients included in this evaluation, 75 (59%) were boys. The median (interquartile range) age was 17 (9; 27) months. PE was detected in 13 (10.2%) cases. The median (interquartile range) PCT serum concentration on admission was 1.68 (1.19; 6.56) ng/mL in those with PE compared with 0.69 (0.12; 2.53) ng/mL in those without PE ( $P = 0.021$ ; Mann–Whitney U test). In the PE group, evidence of viral (46.2%), bacterial (30.8%) and mixed viral–bacterial (23.0%) infections were detected, of which 30.8% were caused by pneumococci (7.7% invasive disease all with positive blood culture) and 7.7% by *Mycoplasma pneumoniae*. In the CAP group, viral (47%), bacterial (19.1%) and mixed viral–bacterial (33.9%) were detected, of which 26.1% were pneumococcal [7.8% invasive disease with positive blood culture (6.1%) and positive blood PCR (1.7%)] and 8.7% were because of *M. pneumoniae*. PCT serum level on admission  $\geq 1.0$  ng/mL was associated with PE (85% vs. 44%;  $P = 0.005$ ,  $\chi^2$  test) for which the area under the ROC curve for PE was 0.7, sensitivity was 85% (95% confidence interval: 58–97%) and the negative predictive value was 97% (95% confidence interval: 90–99%). The diagnostic criteria for PE and for the etiology in each case are presented in Table (Supplemental Digital Content 1, <http://links.lww.com/INF/C143>).

Our findings show that serum PCT values are higher in children with CAP and PE than in children with CAP without PE. Interestingly, the frequency of the etiologic groups and of pneumococcal infection was similar among cases with or without PE.

One study concluded that serum PCT concentration  $\geq 3$  ng/mL is suggestive of pneumococcal etiology, and it is the best predictor of response to beta-lactam treatment.<sup>3</sup> Another investigation found that it is possible to reduce unnecessary antibiotic therapy using antibiotic therapy only for cases with PCT levels  $\geq 0.25$  ng/mL.<sup>4</sup> Both studies excluded children with CAP and PE from their study groups.

The relationship between pleural inflammation and biomarkers has not been well established in children. One study<sup>5</sup> suggested that pleural inflammation associated with CAP is a continuous process, and inflammatory cytokines are significantly higher

This study was supported by the Bahia State Agency for Research Funding (FAPESB; grant number 52/2004) and the Brazilian Council for Scientific and Technological Development (CNPq; grant number 303551/2011–9) in Brazil and the Pediatric Research Foundation, in Finland. C.M.N.-C. is an investigator at the Brazilian Council for Scientific and Technological Development (CNPq). The authors have no other conflicts of interest to disclose.

Address for Correspondence: Taiane S. Fonseca, MD; E-mail: taianesf@hotmail.com.

Supplemental digital content is available for this article. Direct URL citations appear in the printed text and are provided in the HTML and PDF versions of this article on the journal's website ([www.pidj.com](http://www.pidj.com)).

Copyright © 2015 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

ISSN: 0891-3668/15/3408-0914

DOI: 10.1097/INF.0000000000000763

according to the stage of disease in the evaluated children. In the study of Lahti et al,<sup>6</sup> C-reactive protein values were higher among children with PE than among those with uncomplicated CAP.

It is important to stress that some bacterial infection may not have been detected by the tests employed in this investigation, either in cases with PE or in cases without PE.

**Taiane S. Fonseca, MD**

Postgraduate Program in Health Sciences  
Federal University of Bahia School of  
Medicine  
Salvador, Brazil

**Dominique Gendrel, MD, PhD**

Department of Pediatrics  
Saint-Vincent-de-Paul and Necker-Enfants-  
Malades Hospital  
AP-HP, Université Paris-Descartes  
Paris, France

**Olli Ruuskanen, MD, PhD**

Department of Pediatrics  
University of Turku  
Turku, Finland

**Cristiana M. Nascimento-Carvalho,  
MD, PhD**

Postgraduate Program in Health Sciences  
Federal University of Bahia School of  
Medicine  
Salvador, Brazil  
Department of Pediatrics  
Federal University of Bahia School of  
Medicine  
Salvador, Brazil

**REFERENCES**

1. Yu D, Buchvald F, Brandt B, et al. Seventeen-year study shows rise in parapneumonic effusion and empyema with higher treatment failure after chest tube drainage. *Acta Paediatr.* 2014;103:93–99.
2. Michelow IC, Olsen K, Lozano J, et al. Epidemiology and clinical characteristics of community-acquired pneumonia in hospitalized children. *Pediatrics.* 2004;113:701–707.
3. Cohen JF, Leis A, Lecarpentier T, et al. Procalcitonin predicts response to beta-lactam treatment in hospitalized children with community-acquired pneumonia. *PLoS One* 2012;7:e36927.
4. Esposito S, Tagliabue C, Piccioli I, et al. Procalcitonin measurements for guiding antibiotic treatment in pediatric pneumonia. *Respir Med.* 2011;105:1939–1945.
5. Chiu CY, Wong KS, Huang JL, et al. Proinflammatory cytokines, fibrinolytic system enzymes, and biochemical indices in children with infectious para-pneumonic effusions. *Pediatr Infect Dis J.* 2008;27:699–703.
6. Lahti E, Peltola V, Virkki R, et al. Development of parapneumonic empyema in children. *Acta Paediatr.* 2007;96:1686–1692.

## Resistance of Bacterial Isolates from Neonates with Suspected Sepsis to Recommended First-Line Antibiotics in Fiji

To the Editors:

We performed a retrospective descriptive study involving a review of the Infection Control Unit register and the patient folders in the neonatal intensive care unit (NICU) at the Colonial War Memorial Hospital, Fiji's largest public hospital. Our study population was all neonates admitted to the Colonial War Memorial Hospital's NICU during a 1-year period (January 1 to December 31, 2012) who had clinically suspected sepsis and a positive bacteriologic culture result from a sample obtained screening for sepsis. Ethics approval was provided by the Ethics Advisory Group of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease and the Fiji National Health Research Committee.

Of the 418 newborns admitted to the NICU ward, 103 neonates with a positive bacteriologic culture were identified from the register during the study period. The commonest reason for admission to the NICU was respiratory abnormalities occurring in 47% (48 of 103). The majority, 92% (95 of 103) had early-onset sepsis, that is, <7 days after birth.

Bacteria were cultured from a range of specimens including rectal swabs (n = 49), endotracheal tube tips (n = 32), urine (n = 12) and blood (n = 6). Gram-negative organisms accounted for the majority of bacteria isolated with the commonest of these being *Escherichia coli* (n = 24), *Klebsiella pneumoniae* (n = 20) and *Acinetobacter baumannii* (n = 15). Coagulase negative *staphylococcus* was the commonest Gram-positive organism isolated (n = 23) followed by *Streptococcus* species (n = 3). Table 1 shows in vitro resistance data to the 5 commonly used antibiotics. Inpatient mortality for the 103 neonates with clinical suspected sepsis and a bacterial isolate was 19% (n = 20). Mortality was highest in those that had bacteria isolated from blood (2 of 6 or 33% died) or from an endotracheal tube (14 of 32 or 44% died).

Our study provides original data from Fiji on bacteria isolated in the NICU from neonates with a diagnosis of suspected sepsis. Gram-negative bacteria were the commonest isolates identified, and mortality of neonates was high. These findings are consistent with previous studies of neonatal sepsis in developing countries and resource limited settings.<sup>1–3</sup> The data indicate high rates of resistance to ampicillin and gentamicin, the first-line antimicrobial agents recommended by WHO for treatment of serious infections in young infants,<sup>4</sup> as well as emerging resistance to the commonly used second-line drugs, ceftriaxone and ciprofloxacin.

**TABLE 1. The Prevalence of In Vitro Resistance to First-line and Second-line Antibiotics Among Bacterial Isolates from the Neonatal Intensive Care, Suva, Fiji Islands**

Antibiotic	Proportion with In Vitro Resistance (number resistant/total isolates tested)	
	Gram-positive Isolates	Gram-negative Isolates
Penicillin	80% (20/25)	31% (4/13)
Gentamicin	—	45% (34/77)
Ampicillin	67% (2/3)	87% (64/74)
Ceftriaxone	64% (9/14)	48% (27/56)
Ciprofloxacin	73% (11/15)	25% (15/59)

Funding for the course was provided by the Global Fund to fight AIDS, TB and Malaria, with cofunding by The Union; the Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR); Public Health Division of the Secretariat of the Pacific Community, New Caledonia; Centre for International Child Health, the University of Melbourne, Australia; School of Population Health, University of Queensland, Australia.

The authors have no conflicts of interest to disclose. Address for correspondence: Shanel Kumar, Grad-DipClinPharm; E-mail: shanel.kumar@fnu.ac.fj. Copyright © 2015 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

ISSN: 0891-3668/15/3408-0915  
DOI: 10.1097/INF.0000000000000764

Our study has important limitations that include its retrospective design and low numbers of neonates with microbiologically confirmed invasive sepsis. A prospective study is required to provide more comprehensive data regarding the causes of invasive neonatal sepsis in Fiji to inform appropriate antibiotic guidelines for management. In the meantime, there must be ongoing attention to practices known to reduce the risk of hospital-acquired sepsis, such as the promotion of hand hygiene and antibiotic stewardship.<sup>5</sup>

**V.2. ARTIGO 2****Prognostic Value of Serum Procalcitonin Levels upon Admission of Children  
Hospitalized With Community-Acquired Pneumonia**

*Respiratory Medicine* [submetido, *vide* e-mail de confirmação de submissão no Anexo  
5]

Elsevier Editorial System(tm) for  
Respiratory Medicine  
Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: Recovery from childhood community-acquired pneumonia in a developing country: prognostic value of serum procalcitonin

Article Type: Research paper

Section/Category: Pulmonary Infections

Keywords: acute respiratory infection; child; lower respiratory tract infection; pneumonia

Corresponding Author: Miss. Taiane Fonseca,

Corresponding Author's Institution: Federal University of Bahia

First Author: Taiane Fonseca

Order of Authors: Taiane Fonseca; Ângela Vasconcellos; Dominique Gendrel; Olli Ruuskanen; Cristiana Nascimento-Carvalho

Abstract: Childhood community-acquired pneumonia (CAP) is a common and potentially life-threatening illness in developing countries. The prognostic value of serum procalcitonin (PCT) level on admission on clinical response to antibiotic treatment is not known. Children <5-years-old hospitalized with CAP were evaluated during 21 months. On admission, clinical and radiological data, nasopharyngeal aspirates and blood were collected to investigate 19 possible etiologic agents and PCT concentrations. Recovery after onset of penicillin G treatment was registered in standardized forms. The study group comprised 89 patients. The median age was 18 months and 53 (60%) were boys. Viral (49.5%), typical bacterial (38%) and atypical bacterial (12.5%) infections were diagnosed. Evidence of pneumococcal infections was detected in 26% of the cases. Seventy-five (84%) children became afebrile within 48h after the onset of antibiotic treatment. In 14 children, who continued to be febrile after 48h of antibiotic treatment, median serum PCT (ng/ml) level on admission was higher than in those with rapid recovery (2.1 [0.8-3.7] versus 0.6 [0.1-2.2]; P=0.025). In the slow-responding children pneumococcal infections were more common (71% versus 17%; P<0.001). PCT concentrations on admission were higher in children with pneumococcal pneumonia compared to nonpneumococcal pneumonia (2 [0.7-4.2] versus 0.5 [0.08-2.1]; P=0.002). The ROC curve found that <0.25ng/ml of serum PCT had a high negative predictive value (93% [95%CI:80%-99%]) for pneumococcal infection. All children that remained febrile after 48h of treatment had PCT>0.25ng/ml on admission. The majority of children with CAP in a developing country become afebrile within 48h after onset of antibiotic treatment. Serum PCT≥0.25ng/ml predicted delayed clinical response and pneumococcal etiology.

Suggested Reviewers: Susanna Esposito MD  
Universita degli Studi di Milano  
susanna.esposito@unimi.it  
Expert in the field

Julia E Clark Dr  
Royal Children's Hospital  
julia.clark@health.qdl.gov.au

Ian C Michelow MBBCh, DTM&H  
Division of Pediatric Infectious Diseases  
imichelow@partners.org  
Expert in the field

Samir S Shah MD, MSCE  
Cincinnati Children's Hospital Medical Care  
samir.shah@cchmc.org  
Expert in the field

Salvador, February 28th 2016

To  
Respiratory Medicine  
Prof. J Virchow  
Editor-in-Chief

Dear Editor,

I am submitting the manuscript **Recovery from childhood community-acquired pneumonia in a developing country: prognostic value of serum procalcitonin** as a research paper to *Respiratory Medicine*.

The key message is that serum PCT level  $\geq 0.25$ ng/ml predicts delayed clinical response to antibiotic therapy as well as pneumococcal etiology. This threshold has been investigated in a clinical trial to guide antibiotic prescription among children with community-acquired pneumonia, which results were published in *Respiratory Medicine* (Esposito S, Tagliabue C, Picciolli I, et al. Procalcitonin measurements for guiding antibiotic treatment in pediatric pneumonia. *Respir Med* **2011**; 105:1939-45). That is why we chose *Respiratory Medicine* as home for our paper.

Each person listed as an author contributed significantly to the manuscript. Besides that, all of the authors have seen and approved the document. This manuscript reports original results that are unpublished and are not under consideration elsewhere. The investigation was conducted in accordance with the Ethics Principles of Helsinki and was approved by the Ethics Committee of the Federal University of Bahia. None of the authors declare any conflict of interest.

The frequencies of the etiological agents analyzed by age distribution without any information in regard to prognostic value of serum PCT levels have already been published in the following articles:

1. Nascimento-Carvalho CM, Ribeiro CT, Cardoso MR, Barral A, Araujo-Neto CA, Oliveira JR, Sobral LS, Viriato D, Souza AL, Saukkoriipi A, Paldanius M, Vainionpää R, Leinonen M, Ruuskanen O. The role of respiratory viral infections among children hospitalized for community-acquired pneumonia in a developing country. *Pediatr Infect Dis J*. 2008 Oct;27(10):939-41 doi: 10.1097/INF.0b013e3181723751.

2. Nascimento-Carvalho CM, Cardoso MR, Paldanius M, Barral A, Araújo-Neto CA, Saukkoriipi A, Vainionpää R, Leinonen M, Ruuskanen O. Simkania negevensis infection among Brazilian children hospitalized with community-acquired pneumonia. *J Infect.* 2009 Mar;58(3):250-3 doi: 10.1016/j.jinf.2009.01.008.
3. Nascimento-Carvalho CM, Cardoso MR, Ruuskanen O, Lappalainen M. Sole infection by human metapneumovirus among children with radiographically diagnosed community-acquired pneumonia in a tropical region. *Influenza Other Respir Viruses.* 2011 Jul;5(4):285-7 doi: 10.1111/j.1750-2659.2011.00206.x.
4. Nascimento-Carvalho CM, Cardoso MR, Meriluoto M, Kempainen K, Kantola K, Ruuskanen O, Hedman K, Söderlund-Venermo M. Human bocavirus infection diagnosed serologically among children admitted to hospital with community-acquired pneumonia in a tropical region. *J Med Virol.* 2012 Feb;84(2):253-8 doi: 10.1002/jmv.22268.

The results of the analysis with meteorological factors or biomarkers have been published in the following articles:

5. Nascimento-Carvalho CM, Cardoso MR, Barral A, Araújo-Neto CA, Oliveira JR, Sobral LS, Saukkoriipi A, Paldanius M, Vainionpää R, Leinonen M, Ruuskanen O. Seasonal patterns of viral and bacterial infections among children hospitalized with community-acquired pneumonia in a tropical region. *Scand J Infect Dis.* 2010 Dec;42(11-12):839-44. doi: 10.3109/00365548.2010.498020. Epub 2010 Jul 7.
6. Nascimento-Carvalho CM, Cardoso MR, Barral A, Araújo-Neto CA, Guerin S, Saukkoriipi A, Paldanius M, Vainionpää R, Lebon P, Leinonen M, Ruuskanen O, Gendrel D. Procalcitonin is useful in identifying bacteraemia among children with pneumonia. *Scand J Infect Dis.* 2010 Sep;42(9):644-9. doi: 10.3109/00365541003796775.
7. Fonseca, TS; Gendrel, D; Ruuskanen, O; Nascimento-Carvalho, CM. Pleural effusion increases serum procalcitonin values in children with community-acquired pneumonia. *Pediatr Infect Dis J.* 2015 Aug; 34(8):924-5.

The description of the etiological findings among those patients with pleural effusion is described in the paper below:

8. Nascimento-Carvalho CM, Oliveira JR, Cardoso MR, Araújo-Neto C, Barral A, Saukkoriipi A, Paldanius M, Leinonen M, Lappalainen M, Söderlund-Venermo M, Vainionpää R, Ruuskanen O. Respiratory viral infections among children with community-acquired



pneumonia and pleural effusion. *Scand J Infect Dis.* 2013 Jun;45(6):478-83. doi: 10.3109/00365548.2012.754106.

The association between bacterial infection and radiologically-confirmed pneumonia is described in the paper below:

9. Nascimento-Carvalho CM, Araújo-Neto CA, Ruuskanen O. Association between Bacterial Infection and Radiologically-confirmed Pneumonia among Children. *Pediatr Infect Dis J.* 2015 May; 34(5):490-3.

Our contact information is:

Corresponding: Taiane S. Fonseca, Postgraduate Program in Health Sciences, Federal University of Bahia School of Medicine, Praça XV de Novembro, s/n - Largo do Terreiro de Jesus, CEP 40025-010, Salvador, Bahia, Brazil (email: taianesf@hotmail.com); Tel.: +55 71 999794669, Fax.: + 55 71 32835580

Yours truly,

Taiane S. Fonseca, MD

Tel: +55 71 9 99794669

E-mail: taianesf@hotmail.com

## Please wait...

If this message is not eventually replaced by the proper contents of the document, your PDF viewer may not be able to display this type of document.

You can upgrade to the latest version of Adobe Reader for Windows®, Mac, or Linux® by visiting [http://www.adobe.com/go/reader\\_download](http://www.adobe.com/go/reader_download).

For more assistance with Adobe Reader visit <http://www.adobe.com/go/acreader>.

Windows is either a registered trademark or a trademark of Microsoft Corporation in the United States and/or other countries. Mac is a trademark of Apple Inc., registered in the United States and other countries. Linux is the registered trademark of Linus Torvalds in the U.S. and other countries.

## Please wait...

If this message is not eventually replaced by the proper contents of the document, your PDF viewer may not be able to display this type of document.

You can upgrade to the latest version of Adobe Reader for Windows®, Mac, or Linux® by visiting [http://www.adobe.com/go/reader\\_download](http://www.adobe.com/go/reader_download).

For more assistance with Adobe Reader visit <http://www.adobe.com/go/acreader>.

Windows is either a registered trademark or a trademark of Microsoft Corporation in the United States and/or other countries. Mac is a trademark of Apple Inc., registered in the United States and other countries. Linux is the registered trademark of Linus Torvalds in the U.S. and other countries.

## Please wait...

If this message is not eventually replaced by the proper contents of the document, your PDF viewer may not be able to display this type of document.

You can upgrade to the latest version of Adobe Reader for Windows®, Mac, or Linux® by visiting [http://www.adobe.com/go/reader\\_download](http://www.adobe.com/go/reader_download).

For more assistance with Adobe Reader visit <http://www.adobe.com/go/acreader>.

Windows is either a registered trademark or a trademark of Microsoft Corporation in the United States and/or other countries. Mac is a trademark of Apple Inc., registered in the United States and other countries. Linux is the registered trademark of Linus Torvalds in the U.S. and other countries.

## Please wait...

If this message is not eventually replaced by the proper contents of the document, your PDF viewer may not be able to display this type of document.

You can upgrade to the latest version of Adobe Reader for Windows®, Mac, or Linux® by visiting [http://www.adobe.com/go/reader\\_download](http://www.adobe.com/go/reader_download).

For more assistance with Adobe Reader visit <http://www.adobe.com/go/acreader>.

Windows is either a registered trademark or a trademark of Microsoft Corporation in the United States and/or other countries. Mac is a trademark of Apple Inc., registered in the United States and other countries. Linux is the registered trademark of Linus Torvalds in the U.S. and other countries.

## Please wait...

If this message is not eventually replaced by the proper contents of the document, your PDF viewer may not be able to display this type of document.

You can upgrade to the latest version of Adobe Reader for Windows®, Mac, or Linux® by visiting [http://www.adobe.com/go/reader\\_download](http://www.adobe.com/go/reader_download).

For more assistance with Adobe Reader visit <http://www.adobe.com/go/acreader>.

Windows is either a registered trademark or a trademark of Microsoft Corporation in the United States and/or other countries. Mac is a trademark of Apple Inc., registered in the United States and other countries. Linux is the registered trademark of Linus Torvalds in the U.S. and other countries.

\*Manuscript

[Click here to view linked References](#)

**Recovery from childhood community-acquired pneumonia in a developing country: prognostic value of serum procalcitonin**

Taiane S. Fonseca,<sup>1</sup> Ângela G. Vasconcellos,<sup>1</sup> Dominique Gendrel,<sup>2</sup> Olli Ruuskanen,<sup>3</sup> and Cristiana M. Nascimento-Carvalho,<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Postgraduate Program in Health Sciences, Federal University of Bahia School of Medicine, Salvador, Brazil

<sup>2</sup>Department of Pediatrics, Saint-Vincent-de-Paul and Necker-Enfants-Malades Hospital, AP-HP, Université Paris-Descartes, Paris, France

<sup>3</sup>Department of Pediatrics, University of Turku, Turku, Finland

<sup>4</sup>Department of Pediatrics, Federal University of Bahia School of Medicine, Salvador, Brazil

**Keywords.** acute respiratory infection; child; lower respiratory tract infection; pneumonia.

**Running Title:** Prognostic value of procalcitonin levels

**Corresponding:** Taiane S. Fonseca, Postgraduate Program in Health Sciences, Federal University of Bahia School of Medicine, Praça XV de Novembro, s/n - Largo do Terreiro de Jesus, CEP 40025-010, Salvador, Bahia, Brazil (email: [taianesf@hotmail.com](mailto:taianesf@hotmail.com)); Tel.: +55 71 999794669, Fax.: + 55 71 32835580

**Alternate corresponding:** Cristiana M. Nascimento-Carvalho, Postgraduate Program in Health Sciences, Federal University of Bahia School of Medicine, Praça XV de

Novembro, s/ n - Largo do Terreiro de Jesus, CEP 40025-010, Salvador, Bahia, Brazil  
(email: [nascimentocarvalho@hotmail.com](mailto:nascimentocarvalho@hotmail.com)); Tel.: +55 71 999848648, Fax.: + 55 71  
33320725

---



**Abstract**

Childhood community-acquired pneumonia(CAP) is a common and potentially life-threatening illness in developing countries. The prognostic value of serum procalcitonin(PCT) level on admission on clinical response to antibiotic treatment is not known. Children <5-years-old hospitalized with CAP were evaluated during 21 months. On admission, clinical and radiological data, nasopharyngeal aspirates and blood were collected to investigate 19 possible etiologic agents and PCT concentrations. Recovery after onset of penicillin G treatment was registered in standardized forms. The study group comprised 89 patients. The median age was 18 months and 53(60%) were boys. Viral(49.5%), typical bacterial(38%) and atypical bacterial(12.5%) infections were diagnosed. Evidence of pneumococcal infections was detected in 26% of the cases. Seventy-five(84%) children became afebrile within 48h after the onset of antibiotic treatment. In 14 children, who continued to be febrile after 48h of antibiotic treatment, median serum PCT(ng/ml) level on admission was higher than in those with rapid recovery (2.1[0.8–3.7] *versus* 0.6[0.1-2.2];P=0.025). In the slow-responding children pneumococcal infections were more common (71% *versus* 17%;P<0.001). PCT concentrations on admission were higher in children with pneumococcal pneumonia compared to nonpneumococcal pneumonia (2[0.7–4.2] *versus* 0.5[0.08–2.1];P=0.002). The ROC curve found that <0.25ng/ml of serum PCT had a high negative predictive value (93%[95%CI:80%–99%]) for pneumococcal infection. All children that remained febrile after 48h of treatment had PCT>0.25ng/ml on admission. The majority of children with CAP in a developing country become afebrile within 48h after onset of antibiotic treatment. Serum PCT $\geq$ 0.25ng/ml predicted delayed clinical response and pneumococcal etiology.

Community-acquired pneumonia (CAP) remains an important causes of morbidity and mortality in children under-5 years of age in developing countries [1]. Etiologic diagnosis is rarely established in routine clinical settings because diagnostics from upper respiratory tract may not identify the causative pathogen and lower respiratory tract specimens are difficult to obtain [2]. Invasive diagnostic methods cannot be regularly used [3]. Currently, there are two diagnostic tools: blood culture and blood polymerase chain reaction (PCR), however, both of them have a low rate of positive results [4]. Thus, empiric antibiotic therapy is used in children hospitalized with CAP [5]. Penicillins are the first-line options because *Streptococcus pneumoniae* is the most frequent bacterial agent. [6-8]. In a developed country, among children with pneumococcal bacteremic CAP, 94% became afebrile within 48 hours after onset of antibiotic treatment [9]. As such, resolution of fever has been considered a proxy of clinical response to antibiotic therapy [9, 10].

Procalcitonin (PCT) is a widely used biomarker that has been studied in children with CAP as a predictor of bacterial infection [10]. Additionally, PCT has been investigated as a predictor to guide antibiotic use [11]. In this context, we studied the prognostic value of serum PCT concentration on admission in regard to therapeutic response to penicillin G, stratified by etiology, among children hospitalized with CAP.

## **METHODS**

### **Study Design**

This was a prospective study conducted at the Emergency Room of the Federal University of Bahia Hospital from September 2003 to May 2005. Children aged under-5 years diagnosed with CAP were enrolled. The diagnosis was based on respiratory complaints and fever or difficulty breathing plus pulmonary infiltrates on the chest

radiograph taken at admission. Exclusion criteria included refusal to give informed consent, child born to an HIV-infected woman, chronic lung disease except asthma, other concomitant infectious disease and suspected or diagnosed immunodeficiency. Additional exclusion occurred when etiology was undetermined, PCT was not measured on the serum sample collected upon admission, treatment comprised other antibiotics besides aqueous penicillin G or pleural effusion was present on admission.

On recruitment, clinical and radiological data were collected as well as nasopharyngeal aspirates (NPA) and blood to investigate etiologic agents and PCT serum levels. Clinical data were registered in a standardized form. All chest radiographs were read by a pediatric radiologist blinded to patients clinical data. Every recruited child was re-evaluated 2-4 weeks after admission when the second blood sample was collected and the follow-up clinical examination was carried out.

Daily evolution data were collected from medical charts by a researcher blinded to the etiologic diagnosis, serum PCT levels or final outcome and registered in a standardized form.

### **Clinical Definitions**

Fever was defined as axillary temperature  $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$  [12] and tachypnea as respiratory rate equal to or higher than 50 breaths/minute in children aged 2–11 months and respiratory rate equal to or higher than 40 breaths/minute in children from 12 months of age onwards [13].

### **Laboratory Procedures**

Respiratory virus investigation consisted of searching for viral antigens (influenza A and B viruses, respiratory syncytial virus, parainfluenza virus type 1, 2, and 3, and adenovirus) using a time-resolved fluoroimmunoassay with monoclonal antibodies in

NPA [14]. Virus-specific serum antibody titers in paired samples were determined using an enzyme-immunoassay (ELISA) with an antigen-coated solid phase and horseradish peroxidase conjugated rabbit anti-human IgG [14]. When a  $\geq 3$ -fold antibody titers increase on comparison of virus specific paired serum IgG titers was found, the respective viruses was considered a potential causative agent. Two reverse transcription (RT) PCR assays for the detection of rhinovirus and enterovirus were performed in NPA [15]. Human metapneumovirus (HMPV) RNA was detected by RT-PCR in NPA. Human bocavirus (HBoV) infection was searched for by measuring HBoV IgG in paired serum samples, specific IgM, IgG avidity, by ELISA, as well as quantitative PCR (qPCR) in serum [16]. The diagnostic criteria for an acute primary HBoV infection were the presence of 2 or more of the following markers: presence of IgM, a 4-fold or greater increase or conversion of IgG in paired sera, low avidity of IgG, or positive qPCR in serum.

Blood culture was performed according to routine procedures at the same hospital where patients were enrolled (automated BACTEC/Organon) when infection by *S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* and *Staphylococcus aureus* was searched for. In addition to blood culture, bacterial infection caused by *S. pneumoniae*, non-typeable *H. influenzae* and *M. catarrhalis* were investigated by antibody assays in paired serum samples by ELISA. For pneumococcal infections, IgG antibodies to pneumococcal pneumolysin and pneumococcal C-polysaccharide were used; a  $\geq 2$ -fold or  $\geq 3$ -fold increase, respectively, in antibody titers was considered diagnostic [17]. For *H. influenzae* and *M. catarrhalis* infections, Ig (polyvalent) antibodies against whole bacterial cell antigens (a mixture of 10 different strains) was measured and a  $\geq 3$ -fold antibody increase was considered diagnostic. PCR was used for the detection of *S. pneumoniae* DNA in blood buffy-coat [18]. An in-house

microimmunofluorescence test was used to measure IgG, IgA, and IgM antibodies to *Chlamydia pneumoniae* and *Simkania negevensis*. The diagnosis was based on a  $\geq 4$ -fold increase in IgG or IgA antibodies between paired serum samples or on detection of IgM antibodies [19]. *Chlamydia trachomatis* IgG antibodies were measured using a commercial, solid-phase ELISA (AniLabsystems Ltd, Vantaa, Finland). The laboratory diagnosis was based on signal to cut-off values  $\geq 1.4$  [20]. IgM antibodies to *Mycoplasma pneumoniae* were searched for using a commercial ELISA kit (Platelia, Bio-Rad, Marnes La Coquette, France).

PCT concentration was measured by an immunoluminometric assay (LUMItest PCT, BRAHMS Diagnostica, Berlin, Germany) and the detection limit was 0.02 ng/ml.

### **Statistical Analyses**

For the purpose of analysis, the cases were classified into three groups: cases with viral, or atypical bacterial or typical bacterial infection. Viral infection was diagnosed when only viral infection was detected; atypical bacterial infection was diagnosed when infection by *M. pneumoniae*, *C. trachomatis*, *C. pneumoniae* or *S. negevensis* was detected irrespective of viral infection having also been detected, and bacterial infection was diagnosed when infection by *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* or *S. aureus* was found irrespective of other agents.

Due to non-parametric distribution, continuous variables were presented as median (interquartile range [IQR]). Clinical characteristics and the detected etiologies are presented as absolute and relative frequencies. Bivariate analysis was performed with Chi-Square test or Fisher's Exact test to compare proportions, as appropriate, and Mann-Whitney U test to compare medians.

All tests were 2-tailed with a significance level of 0.05. Sensitivity, specificity, positive and negative predictive values along with the respective 95% confidence interval (CI) were calculated. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to evaluate the ability of serum PCT concentrations to distinguish pneumococcal infection from non-pneumococcal infection. SPSS version 9.0 was used for analysis.

### **Ethical Approval**

The study was conducted in accordance with the principles of the Helsinki Declaration and it was approved by the Ethics Committee of the Federal University of Bahia.

### **Results**

Overall, 322 children were evaluated, out of which 277 were recruited. Probable etiology was established for 209 cases, out of which 113 had PCT measured on serum collected upon admission. Aqueous penicillin G was administered to 100 children, out of which 11 presented pleural effusion at admission. Figure 1 shows the step by step flow chart to compose the study group, which comprised 89 children.

The median (interquartile range) age of the patients was 21 (13 – 29) months and 53 (60%) were boys. Table 1 shows the clinical characteristics of the study group on admission. The most common symptoms were fever (97%), cough (96%), and difficult breathing (84%) and their respective durations [median (IQR)] were 5 (3-8), 6 (4-13), and 5 (2-7) days. The median duration of illness was 7 (5-10) days. The most frequent findings on physical examination were tachypnea (81%), crackles (72%), and fever (63%). Table 1 also shows the clinical characteristics on admission of children with pneumococcal pneumonia. Among them, the most common symptoms were fever (100%), cough (96%) and difficulty breathing (91%) and the respective durations were 5 (5-8), 12 (5-15), and 4 (3-5) days; the median duration of disease before admission

was 8 (5-14) days; the most frequent findings on physical examination group were tachypnea (83%), chest indrawing (70%), and fever (65%). Thoracic recession (61%) and crackles (61%) were also frequently found. Chest radiography findings were alveolar infiltrate (93%), alveolar-interstitial infiltrate (6%) and interstitial infiltrate (1%).

Viral (49.5%), atypical bacterial (12.5%), and typical bacterial (38%) infections were detected. Mixed viral-bacterial infection was detected in 29 (32%) patients. Overall, 23 (26%) patients had evidence of pneumococcal infection. Six of these patients had pneumococcal invasive disease (PID) – 4 detected by blood culture and 2 by PCR.

Seventy-five (84%) children became afebrile within 48 hours of antibiotic treatment with penicillin G which is considered a normal response.

Median (IQR) serum PCT level in all patients on admission was 0.8 (0.1 – 2.8) ng/ml. PCT concentrations were significantly lower in children who became afebrile within 48 hours after onset of the antibiotic treatment compared to those who continued to be febrile (0.6 ng/ml (0.1 – 2.2) vs 2.1 ng/ml (0.8 – 3.7) and, respectively;  $P=0.025$ ). Among 14 children with prolonged fever, 29% had evidence of viral infection and 71% of bacterial infection. All bacterial infections were caused by *S. pneumoniae*. Among 75 children with rapid response to antibiotic treatment, 53% had viral, 15% atypical bacterial and 32% typical bacterial infections. Among these children, pneumococcal infection was detected in 17%. Pneumococcal infection was significantly more common in children who continued to be febrile after 48 hours of treatment (71% vs. 17%;  $p < 0.001$ ) (Figure 2). Moreover, 10 (44%) patients out of all 23 cases with pneumococcal infection were febrile after 48 hours of treatment.

Serum PCT concentrations were higher in children with pneumococcal infection compared to those with nonpneumococcal pneumonia (2 [0.7 – 4.2] ng/ml and 0.5 [0.08 – 2.1 ng/ml]), respectively (p=0.002). Clinical characteristics on the third day of hospitalization of children who became or did not become afebrile within 48 hours of treatment are compared in Table 2.

The area under the receiver-operating-curve (ROC) for PCT to predict pneumococcal infection was 0.71 (95% CI: 0.60 – 0.82) (Figure 3). Diagnostic characteristics of serum PCT level  $\geq 0.25$ ng/ml to diagnose pneumococcal infection are presented in Table 3. None of the patients who remained febrile beyond 48 hours of treatment had serum PCT level upon admission  $< 0.25$ ng/ml.

## **Discussion**

Our observations show that 84% of the children with CAP in a developing country become afebrile within 48 h after onset of penicillin treatment. Serum PCT level on admission  $> 0.25$ ng/ml predicts slow response to treatment and predicts pneumococcal infection.

Classically, *S. pneumoniae* has been recognized as the most frequent bacterium among bacterial causative agents of CAP [21]. However, recent data from a prospective study about etiology of childhood CAP, conducted in the U.S. 10 years after the implementation of the conjugated pneumococcal vaccine, reported viral infection (66%) as much more frequent than bacterial infection (8%); viral-bacterial co-infection was found in 7% of the patients [22]. During the last years, the importance of respiratory viruses infection in children with CAP has been increasingly recognized [23]. Actually, the guidelines by the Pediatric Infectious Disease Society and Infectious Diseases Society of America have already recommended that antimicrobial should not routinely



be required for pre-school-aged children unless bacterial disease is suspected [7]. Likewise, the guidelines from the British Thoracic Society recommended no antibiotics for children < 2 years-old with mild symptoms of lower respiratory tract infection [8]. Both recommendations recognized that some patients do not benefit from receiving antimicrobials. However, the description of these cases is rather subjective, what leaves the decision to prescribe or not antimicrobials at the discretion of the attending pediatrician. Based on our results, serum PCT level < 0.25ng/ml is a potential biomarker to identify children who will not benefit from receiving antimicrobials. In a randomized clinical trial of CAP conducted in Italy, all of 155 (100%) children received antimicrobial; this decision was at the discretion of the attending pediatrician. On the other hand, 86% of 155 patients were given antimicrobial, in whom serum PCT level was measured; among these, serum PCT level was  $\geq 0.25$ ng/ml (intervention group). No difference in recurrence of respiratory symptoms and new antibiotic prescription in the month following enrollment was reported for those patients not treated with antimicrobial [11].

Interestingly, children who remained febrile after 48 hours of treatment also presented tachypnea, malaise and vomiting more frequently on the third day of treatment in regard to children who became afebrile within the first 48 hours of treatment (Table 2). It is important to recall that the vast majority (71%) of patients who remained febrile had pneumococcal infection (Figure 2). It has been shown that the improvement of children hospitalized with CAP is marked on the first day of antimicrobial use; however, on the third day of treatment, fever and tachypnea were detected in 14% and 48% of children hospitalized with CAP treated solely with aqueous penicillin G [24]. All those patients were discharged after full recovery without antibiotic change. Thus, despite the fact that appropriate antimicrobial is given, patients

with pneumococcal infection may respond slowly to therapy. In fact, 44% of the children with pneumococcal infection detected in our study remained with fever after 48 hours of treatment. It contrasts with the previous information that 94% of children with bacteremic pneumococcal pneumonia became afebrile within 48 hours of antibiotic use [9]. It is important to stress, however, essential clinical differences observed between both studies. The group of children studied by Toikka et al (1999), in Finland, had shorter duration of disease (median 3 days) and of fever (median 2 days) before admission; on the contrary, our patients with pneumococcal infection had longer duration of disease (median 8 days) and of fever (median 5 days). Besides that, cough (95.7% vs 55%), difficulty breathing (91.3% vs 11%), tachypnea (82.6% vs 19%), vomiting (60.9% vs 32%), and crackles (60.9% vs 14%) were more frequently found among our patients in comparison to Toikka et al's study group. Therefore, it is possible to observe that our patients had longer and more severe disease, what may be attributable to difficult access to the health care system in a developing country [25]. In fact, it was demonstrated that CAP in children in developed country is not a serious disease, with a rapid recovery after the onset of antimicrobial [26]. Differently, rural residency, low family income, and unavailability of adequate medical care are all significantly associated with the risk of severe CAP, in developing countries [27]. It had been shown that the course of an invasive pneumococcal infection might be much more severe in adult patients than in children in a developed country [28]. That study revealed that, despite the higher incidence of invasive pneumococcal infection in children, they are more likely to have less mortality, less necessity of intensive care assistance, and shorter length of hospital stay. Indeed, this study reaffirms that children with bacteremic pneumococcal pneumonia become afebrile within an average of 22 hours of starting antimicrobial treatment. On the other hand, it had been shown that adult patients with

pneumococcal pneumonia treated appropriately may respond slowly to therapy, up to 5 days [29], probably because of a more severe clinical profile and immunological response. Further studies into the immunological aspects of the differences of pneumococcal infections in children and adults might be helpful to elucidate the variances found in our study concerning the pneumococcal disease. It is possible to infer that patients with longer and more severe disease, which occurs in children in developing countries and adults in developed countries, may also respond more slowly. We also observed that children with viral infection responded unexpectedly fast to antimicrobial therapy. This finding may be due to the long duration of disease before admission. These children were probably hospitalized late, in the course of disease resolution.

It is important to point out some limitations in our study. Etiology was established based on probability, supported by the best techniques available, as lung tissue was not studied for ethical reasons. To try to decrease the chance to be mistaken, several microbiological techniques were used even to search the same pathogen. In addition, different observers evaluated patients over time, which leads to unguaranteed standardization. However, the study was conducted on a university hospital, where technical parameters are always being reviewed. Besides that, researchers were blinded to important variables until the data analyses. Still, rigorous selection criteria were employed, selecting an homogeneous study group.

### **Conclusion**

Our observations suggest that serum PCT concentration  $< 0.25\text{ng/ml}$  in children hospitalized with CAP predicts rapid response to antibiotic treatment. PCT concentrations  $\geq 0.25\text{ ng/ml}$  predict pneumococcal infection and slow response to

treatment. Children with pneumococcal pneumonia in a developing country may respond slower to treatment than those in a developed country.

**Funding.** This study was supported by the Bahia State Agency for Research Funding (FAPESB) [grant number 52/2004] and the Brazilian Council for Scientific and Technological Development (CNPq [grant number 303551/2011-9] in Brazil and the Pediatric Research Foundation, in Finland. C.M.N.C. is a senior investigator at CNPq.

**Acknowledgments.** The authors are thankful to the pediatricians of the Emergency Room of the Federal University of Bahia Hospital, in Salvador, Brazil.

**Author contributions.** T.S.F. collected and entered the data, took part in the analyses, and drafted the first version of the manuscript. C.M.N.C. and D.G. conceived the research question and designed the study. A.G.V. took part in the analysis. O.R. took part in the interpretation of the results. All authors contributed to the writing of the manuscript and have seen and approved the final draft of the manuscript.

**Disclaimer.** The funding source had no role in the design, analysis, decision to publish, or the righting of the manuscript.

**Potential conflict of interests.** None declared for all authors.

## References

1. Liu L, Oza S, Hogan D, et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2000-13, with projections to inform post-2015 priorities: an updated systematic analysis. *Lancet* **2015**; 385: 430-40.
2. Cardinale, F, Cappiello AR, Mastrotorataro MF, Pignatelli M, Esposito S. Community Acquired Pneumonia in children. *Early Hum Dev* **2013**; 89:S49-52.
3. Esposito S, Cohen R, Domingo JD, et al. Antibiotic therapy for pediatric community-acquired pneumonia: do we know when, what and for I how long to treat? *Pediatr Infect Dis J* **2012**; 31:e78-85.
4. Clark JE. Determining the microbiological cause of a chest infection. *Arch Dis Child* **2015**; 100: 193-7.
5. Nascimento-Carvalho CM, Madhi SA, O'Brien KL. Review of Guidelines for Evidence-based management for childhood Community-Acquired Pneumonia in Under-5 years From Developed and Developing Countries. *Pediatr Infect Dis J* **2013**; 32:1281-2.
6. Nascimento-Carvalho CM. Etiology of childhood community acquired pneumonia and its implications for vaccination. *Braz J Infect Dis*. **2001**; 5:87-97.
7. Bradley JS, Byington CL, Shah SS et al. The management of community-acquired pneumonia in infants and children older than 3 months of age: clinical practice guidelines by Pediatric Infectious Diseases Society and Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* **2011**; 53:25-76.

8. Harris M, Clark J, Coote N et al. British Thoracic Society guidelines for the management of community acquired pneumonia in children: update 2011. *Thorax* **2011**; 66:1-23.
9. Toikka P, Virkki R, Mertsola J, Ashorn P, Eskola J, Ruuskanen O. Bacteremic Pneumococcal Pneumonia in Children. *Clin Infect Dis.* **1999**; 29:568-72.
10. Cohen JF, Leis A, Lecarpentier T, Raymong J, Gendrel D, Chalumeau M. Procalcitonin predicts response to beta-lactam treatment in hospitalized children with community-acquired pneumonia. *PLoS One* 2012; 7:e36927.
11. Esposito S, Tagliabue C, Picciolli I, et al. Procalcitonin measurements for guiding antibiotic treatment in pediatric pneumonia. *Respir Med* **2011**; 105:1939-45.
12. El-Radhi AS, Barry W. Thermometry in paediatric practice. *Arch Dis Child* **2006**; 91:351-6
13. World, Health Organization. Integrated Management of Childhood Illness chart booklet. (WC 503.2). Geneva: WHO, **2008**. [WHO website]. Available at: [http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241597289\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241597289_eng.pdf). Accessed January 15, 2009.
14. Mäkelä MJ, Puhakka T, Ruuskanen O, et al. Viruses and bacteria in the etiology of the common cold. *J Clin Microbiol* **1998**; 36:539 – 42.
15. Hyypiä T, Puhakka T, Ruuskanen O, Mäkelä M, Arola A, Arstila P. Molecular diagnosis of human rhinovirus infection: comparison with virus isolation . *J Clin Microbiol* **1998**; 36:2081-3.

16. Soderlund-Venermo M, Lahtinen A, Jartti T, et al. Clinical assessment and improved diagnosis of bocavirus-induced wheezing in children, Finland. *Emerg Infect Dis* **2009**; 15:1423–30.
17. Nohynek H, Eskola J, Kleemola M, Jalonen E, Saikku P, Leinonen M. Bacterial antibody assays in the diagnosis of acute lower respiratory tract infection in children. *Pediatr Infect Dis J* **1995**; 14:478–84.
18. Saukkoriipi A, Palmu A, Kilpi T, Leinonen M. Real-time quantitative PCR for the detection of *Streptococcus pneumoniae* in the middle ear fluid of children with acute otitis media. *Mol Cell Probes* **2002**; 16:385–90.
19. Yamaguchi Y, Yamazaki T, Inoue M, et al. Prevalence of antibodies against *Simkania negevensis* in a healthy Japanese population determined by the microimmunofluorescence test. *FEMS Immunol Med Microbiol* **2005**; 43:21e7. doi:10.1016/j.femsim.2004.06.023.
20. Morré SA, Munk C, Persson K, et al. Comparison of three commercially available peptide-based immunoglobulin G (IgG) and IgA assays to microimmunofluorescence assay for detection of *Chlamydia trachomatis* antibodies. *J Clin Microbiol* **2002**; 40:584–7.
21. Michelow IC, Olsen K, Lozano J, et al. Epidemiology and clinical characteristics of community-acquired pneumonia in hospitalized children. *Pediatrics* **2004**; 113:701–7.
22. Jain S, Williams DJ, Arnold SR, et al. Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among U.S. children. *N Engl J Med* **2015**; 372:835–45.
23. Russkanen O, Lahti E, Jennings EL, Murdoch DR. Viral pneumonia. *Lancet*, **2011**; 377:1264–75.



24. Simbalista R, Araujo M, Nascimento-Carvalho CM. Outcome of children hospitalized with community-acquired pneumonia treated with aqueous penicillin G. *Clinics* **2011**; 66:95-100.
25. Izadnegahdar R, Cohen AL, Klugman KP, Qazi SA. Childhood pneumonia in developing countries. *Lancet Respir Med* **2013**; 1:574-84.
26. Juven T, Mertsola J, Waris M, Leinonen M, Ruuskanen O. Clinical response to antibiotic therapy for community-acquired pneumonia. *Eur J Pediatr* **2004**; 163:140-4.
27. Azab SFAH, Sherief LM, Saleh SH, Elsaheed WF, Elshafie MA, Abdelsalam SM. Impact of the socioeconomic status on the severity and outcome of community-acquired pneumonia among Egyptian children: a cohort study. *Infect Dis Poverty* **2014**; 3:14.
28. Renko M, Kukkola HL, Kauma H, Tapiainen T, Kaijalainen T, Uhari M. Comparison of the severity and outcome of invasive pneumococcal infections in children and adults. *Pediatr Infect Dis J.* **2012**; 31:785-8.
29. Austrian R, Gold J. Pneumococcal bacteremia with especial reference to bacteremic pneumococcal pneumonia. *Ann Intern Med* **1964**; 60:759-76.

**Table 1.** Clinical characteristics and duration of symptoms on admission of children hospitalized with community-acquired pneumonia and of the subgroup with pneumococcal infection

	Children with CAP (n = 89)	Children with pneumococcal CAP (n = 23)
<b>Symptoms</b>		
Fever <sup>1</sup>	86 (96.6)	23 (100)
Duration of fever <sup>2</sup>	5 (3 – 8)	5 (5 – 8)
Cough <sup>1</sup>	85 (95.9)	22 (95.7)
Duration of cough <sup>2</sup>	6 (4 – 13)	12 (5 – 15)
Difficulty breathing <sup>1</sup>	75 (84.3)	21 (91.3)
Duration of difficulty breathing <sup>2</sup>	5 (2 – 7)	4 (3 – 5)
Vomiting <sup>1</sup>	49 (55.1)	14 (60.9)
Duration of vomiting <sup>2</sup>	1 (1 – 2)	1 (1 – 2)
Wheezing <sup>1</sup>	37 (41.6)	8 (34.8)
Duration of wheezing <sup>2</sup>	4 (2 – 6)	4 (1 – 5)
Convulsion <sup>1</sup>	4 (4.5)	2 (8.7)
Duration of convulsion <sup>2</sup>	7 (3 – 8)	4 (1 – 7)
<b>Signs on physical examination</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>
Tachypnea	72 (80.9)	19 (82.6)
Crackles	64 (71.9)	14 (60.9)
Fever ( $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$ )	56 (62.9)	15 (65.2)
Chest indrawing	54 (60.7)	16 (69.6)
Thoracic recession	48 (53.9)	14 (60.9)
Rhonchi	28 (31.5)	8 (34.8)
Tubal murmur	5 (5.6)	4 (17.4)

Supraclavicular recession	2 (2.2)	1 (4.3)
---------------------------	---------	---------

---

<sup>1</sup>Data is shown as n (%)

<sup>2</sup>Data is shown as median (IQR) in days

**Table 2.** Comparison of clinical characteristics of children hospitalized with community-acquired pneumonia with or without fever after 48 hours of treatment

<b>Characteristics on 3<sup>rd</sup> day of treatment</b>	<b>Fever after 48h of treatment</b>		<i>P</i> *
	Yes (n = 14)	No (n = 75)	
Cough	10 (71.4)	38 (50.7)	0.24
Tachypnea	10 (71.4)	22 (29.3)	0.005
Difficulty breathing	9 (64.3)	23 (30.7)	0.07
Malaise	4 (28.6)	3 (4.0)	0.01
Chest indrawing	2 (14.3)	6 (8.0)	0.6
Vomiting	2 (14.3)	---	0.02
Thoracic recession	---	5 (6.7)	1
Grunting	---	1 (1.3)	1

Results n (%); None had cyanosis, nasal flaring or somnolence

\*Chi-Square test or Fisher's Exact test

**Table 3.** Diagnostic characteristics of serum PCT levels  $\geq$  0.25ng/ml to diagnose pneumococcal infection among children hospitalized with community-acquired pneumonia

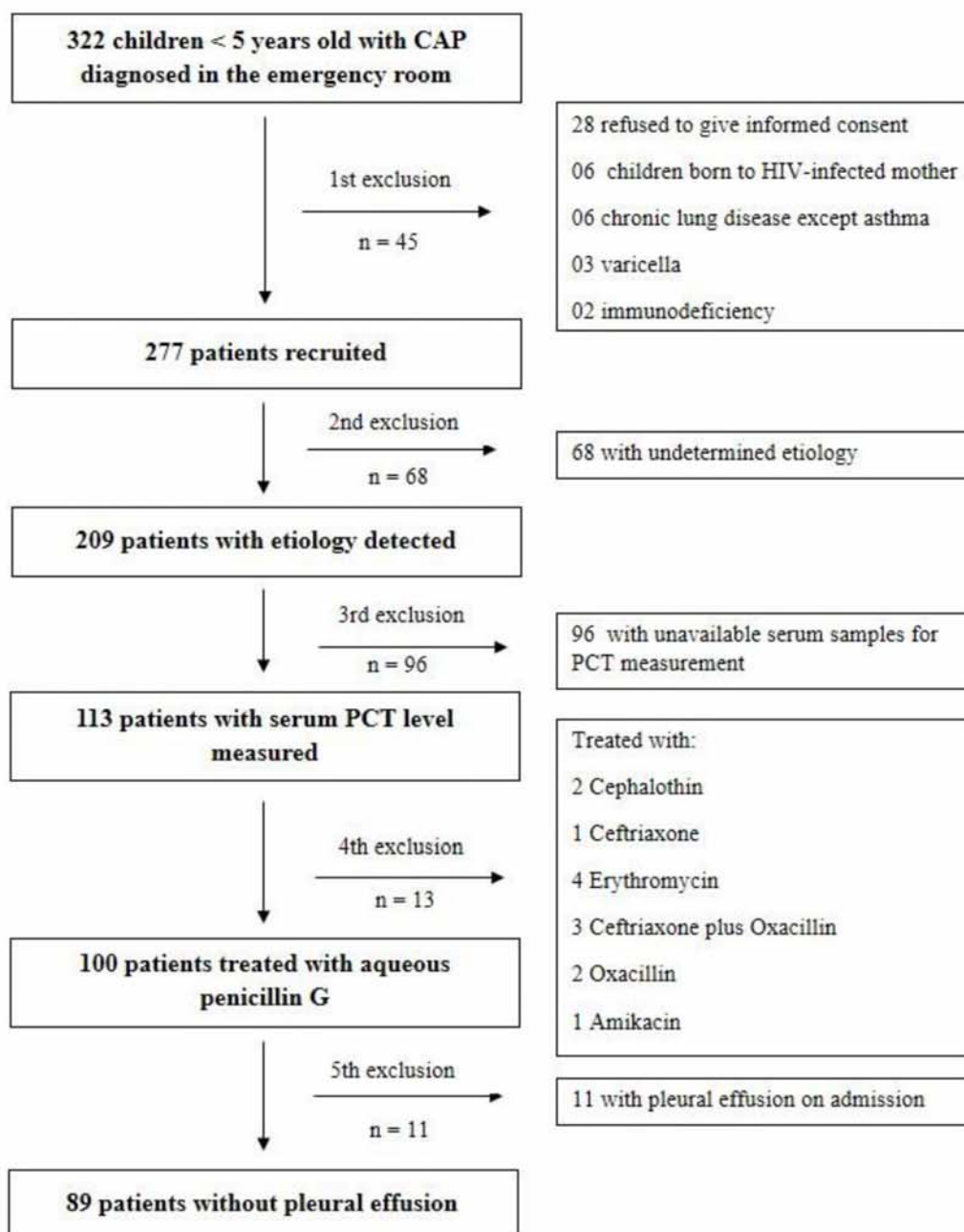
		Pneumococcal infection		Total
		Yes	No	
PCT $\geq$ 0.25 ng/ml	Yes	21	38	59
	No	2	28	30
Total		23	66	89

Sensitivity: 91% (95% CI: 74 – 99%)

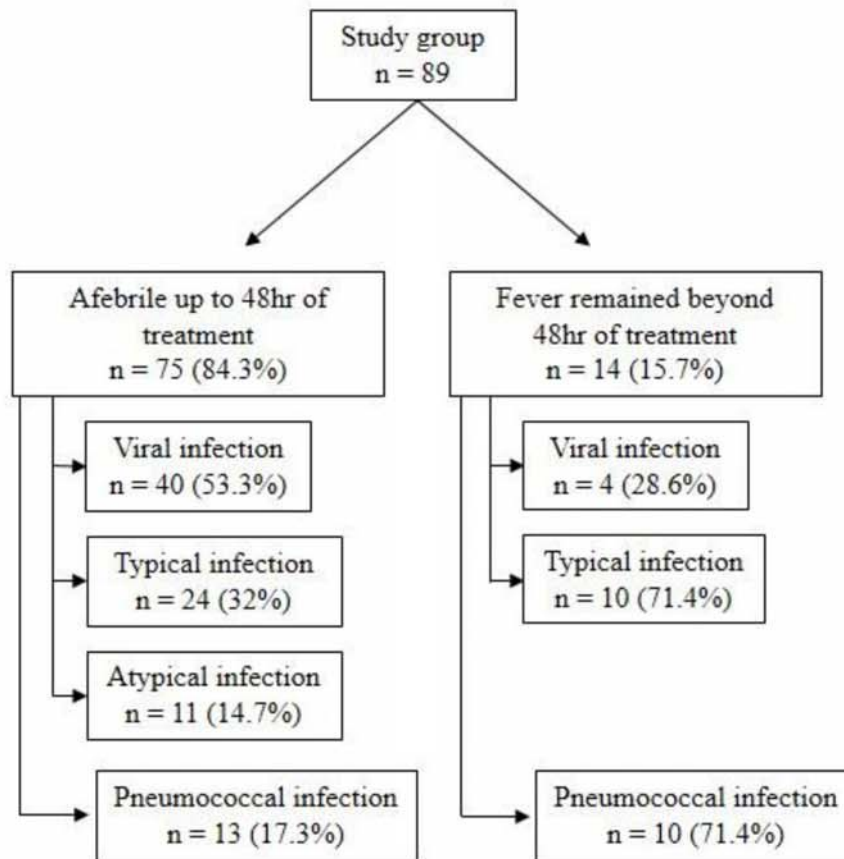
Specificity: 42% (95% CI: 31 – 55%)

Positive predictive value: 36% (95% CI: 24 – 48%)

Negative predictive value: 93% (95% CI: 80 – 99%)

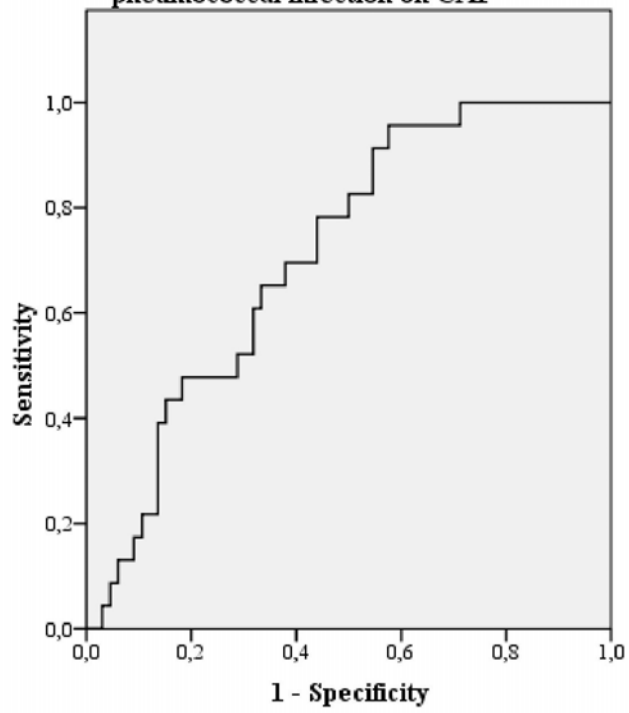


**Fig 1.** Flow chart to compose the study group



**Fig 2.** Distribution of etiologies between patients who became or did not become afebrile after 48hr of treatment

**Fig 3. ROC curve for serum PCT levels and pneumococcal infection on CAP**





## **VI. DISCUSSÃO**

### **VI.1. Procalcitonina e derrame pleural em crianças com pneumonia adquirida na comunidade**

Nosso estudo mostrou que os níveis séricos de procalcitonina são mais altos em crianças com PAC que apresentam DP na admissão do que naquelas que não apresentam DP. A frequência de agentes etiológicos encontrada foi, curiosamente, similar entre os grupos com e sem DP, bem como a frequência de infecção pneumocócica.

Os estudos prévios sobre o valor da PCT na PAC (Cohen et al, 2012; Esposito et al, 2011) excluíram crianças que apresentassem DP de sua análise sob o argumento de que, nesse grupo, a resposta ao tratamento instituído é mais lenta. De fato, a presença de DP pode demandar abordagem terapêutica diferenciada e controversa, além do uso de antibiótico (Balfour-Lynn et al, 2005). A relação entre inflamação da pleura e biomarcadores, no entanto, não está bem estabelecida entre crianças.

Um estudo sugeriu que a inflamação pleural é um processo inflamatório contínuo e citocinas estão significativamente mais altas conforme o avançar do estágio da doença em que crianças são avaliada (Chiu et al, 2008). No estudo de Lahti et al, níveis séricos de proteína C reativa foram mais altos entre crianças com DP do que aquelas sem esta complicação.

O derrame pleural tem sido uma complicação da pneumonia relacionada a etiologia bacteriana (Michelow et al, 2004), justificando a introdução imediata de antibióticos. Nosso estudo, no entanto, encontrou uma distribuição de frequência etiológica muito semelhante entre os grupos que apresentavam e não apresentavam DP à admissão, inclusive com uma alta frequência de infecção viral nos dois grupos (figura 2 do artigo 2).

## VI.2. Valor diagnóstico e prognóstico da procalcitonina

Foi demonstrado que níveis séricos de PCT na admissão  $< 0,25\text{ng/ml}$  apresentaram um alto valor preditivo negativo para infecção pneumocócica. De fato, níveis séricos de PCT na admissão foram estatisticamente mais altos em crianças com infecção pneumocócica. De modo semelhante, PCT sérica foi significativamente mais alta em crianças que permaneceram com febre após 48 horas de tratamento, bem como infecção pneumocócica foi mais frequente neste grupo de crianças. Nenhum dos pacientes que permaneceram com febre após 48 horas de tratamento tinha PCT  $< 0,25\text{ng/ml}$ . Dessa forma, crianças hospitalizadas com PAC e níveis séricos de PCT  $< 0,25\text{ng/ml}$  provavelmente não apresentam infecção pneumocócica e provavelmente se tornarão afebris nas primeiras 48 horas de tratamento, independente do uso de antimicrobiano.

O *S. pneumoniae* tem sido reconhecido como o agente bacteriano mais comum entre as bactérias causadoras de PAC. A introdução da vacina pneumocócica, no entanto, tem diminuído a importância deste agente, por conseguinte, de agentes bacterianos nesta doença. Um estudo feito nos E.U.A., após 10 anos de introdução da vacina, relatou uma frequência de infecção viral (66%) expressivamente maior que de infecção bacteriana (8%) (Jain et al, 2015). Durante os anos, o papel das infecções virais na PAC tem sido crescentemente reconhecido (Russkanen et al, 2011). Dessa forma, tem se criado diretrizes que apoiem o uso racional de antibiótico e ajudem a selecionar para uso de antimicrobiano apenas as crianças que irão se beneficiar do tratamento. A Sociedade de Doenças Infecciosas Pediátricas e a Sociedade de Doenças Infecciosas da América publicaram em 2011 que o tratamento antimicrobiano não deva ser instituído

rotineiramente em crianças em idade pré escolar; apenas em casos que haja uma suspeita de doença bacteriana (Bradley et al, 2011). A Sociedade Torácica Britânica também limita o uso de antibiótico entre crianças menores de 2 anos. A decisão, no entanto, ainda permanece bastante subjetiva, deixando a cargo do médico assistente a introdução ou não da medicação. Aliar um biomarcador, como a PCT, nesta decisão poderia minimizar esta subjetividade. Segundo nossos resultados, níveis séricos de PCT  $< 0,25$  ng/ml na admissão tem um alto potencial de identificar quais as crianças não se beneficiariam do uso de antibiótico. O estudo de Esposito et al (2011) utilizaram este valor para guiar o tratamento. Neste ensaio clínico randomizado, conduzido na Itália, um grupo de 155 (100%) crianças receberam antibióticos baseado nos guidelines disponíveis sobre PAC; no grupo de intervenção, apenas 85,8% dos 155 pacientes receberam antibióticos baseados no nível de PCT ( $\geq 0,25$  ng/ml). Não foi identificado diferenças em recorrência de sintomas respiratórios ou prescrição antimicrobiana no mês que se seguiu ao diagnóstico entre os grupos.

As crianças que permaneceram febris após 48 horas de tratamento também apresentaram mais frequentemente taquipneia, hipoatividade e vômitos no terceiro dia de tratamento em comparação aquelas crianças que ficaram afebris em até 48 horas. É importante ressaltar que a grande maioria (71,4%) dos pacientes que permaneceram febris tinham infecção pneumocócica. Tem sido provado que a melhora das crianças hospitalizadas com PAC acontece mais significativamente já no primeiro dia de tratamento; no terceiro dia, no entanto, febre e taquipneia ainda são detectadas em 13,7% e 47,7% de crianças hospitalizadas com PAC tratadas exclusivamente com penicilina G cristalina (Simbalista et al, 2011). Todos os pacientes desse estudo receberam alta após complete recuperação, sem necessidade de mudança de tratamento. Assim, apesar do tratamento adequado ser instituído, pacientes com infecção

pneumocócica podem responder mais lentamente ao tratamento. De fato, 43,5% das crianças com infecção pneumocócica encontradas no nosso estudo se mantiveram com febre após 48 horas de tratamento apesar do tratamento adequado. Essa informação é divergente daquela previamente encontrada na literatura em que 94% das crianças com pneumonia pneumocócica bacterêmica se tornaram afebris em até 48 horas de tratamento (Toikka et al, 1999). Algumas diferenças clínicas entre os dois estudos, entretanto, podem ser destacadas. O grupo estudado por Toikka et al (1999), na Finlândia, tinha uma menor duração da doença (mediana 3 dias) e de febre (mediana 2 dias) antes da admissão; por outro lado, nossos pacientes com infecção pneumocócica tinham uma maior duração da doença (mediana 8 dias) e de febre (mediana de 5 dias). Além disso, tosse (95,7% vs 55%), dificuldade de respirar (91,3% vs 11%), taquipneia (82,6% vs 19%), vômitos (60,9% vs 32%) e crépitos (60,9% vs 14%) foram mais frequentemente encontrados entre nossos pacientes em comparação ao grupo de estudo de Toikka et al. É possível observar, portanto, que nossos pacientes apresentavam um maior tempo de evolução e uma doença mais grave, o que pode ser atribuído a dificuldade de acesso ao sistema de saúde nos países em desenvolvimento (Izadnegahdar et al, 2013). De fato, foi demonstrado que a PAC em crianças num país desenvolvido não é uma doença grave, com rápida recuperação após introdução de antibiótico (Juven et al, 2004). Por outro lado, morar em zona rural, ter baixa renda familiar e a indisponibilidade de um sistema de saúde adequado são significativamente associados a PAC mais grave nos países em desenvolvimento (Azab et al, 2014). Tem sido demonstrado também que o curso da doença pneumocócica invasiva pode ser muito mais grave em adultos do que em crianças em países desenvolvidos (Renko et al, 2012). Esse estudo mostrou que, apesar da incidência mais alta de infecção pneumocócica invasiva em criança, eles apresentam menor mortalidade, menor

necessidade de unidade de tratamento intensivo e menor tempo de internamento. Esse estudo reafirma ainda que crianças com pneumonia pneumocócica bacterêmica tornam-se afebris precocemente após o início do antibiótico. Por outro lado, tem sido demonstrado que adultos com pneumonia pneumocócica tratados adequadamente respondem lentamente a terapia, em até 5 dias (Austrian & Gold, 1964), provavelmente por conta de uma apresentação clínica mais grave e uma resposta imunológica mais exacerbada. Maiores estudos relacionados aos aspectos imunológicos da infecção pneumocócica em crianças e adultos podem ajudar a elucidar essas variações encontradas no nosso estudo. É possível inferir que pacientes com maior duração de doença e doença mais grave, o que acontece em crianças de países em desenvolvimento e adultos de países desenvolvidos, possam responder mais lentamente ao tratamento. Foi observado também que crianças com infecção viral responderam mais rapidamente ao tratamento. Este achado pode ter acontecido devido a longa evolução de doença antes do internamento, de modo que essas crianças foram hospitalizadas já no processo de resolução da doença.

### **VI.3. Limitações do estudo**

Nosso estudo apresenta algumas limitações que são importantes destacar. A etiologia foi estabelecida baseada em probabilidade, com o suporte das melhores técnicas disponíveis, já que o tecido pulmonar não era disponível para estudo por razões éticas. Para tentar diminuir as chances de erro, algumas técnicas microbiológicas foram usadas concomitantemente inclusive para pesquisar o mesmo patógeno. Adicionalmente, diferentes observadores avaliaram os pacientes ao longo do período de coleta de dados, o que não garante uma padronização de técnica. No entanto, o estudo

foi conduzido em um hospital universitário, onde parâmetros técnicos estão sempre sendo revisados. Além disso, os pesquisadores eram cegos às variáveis mais importantes do estudo e um rigoroso critério de seleção foi empregado para selecionar um grupo de estudo mais homogêneo possível. Devido ao período de recrutamento de pacientes para o estudo (entre 2003 e 2005), nenhuma das crianças foi vacinada pela contra o pneumococo. Dessa forma, questiona-se a resposta imunológica contra pneumococo em crianças na era pós vacinação. Um estudo publicado em 2016 (Andrade, 2016), mostra que o status vacinal da criança não afeta a resposta imunológica do corpo contra *S. pneumoniae*, *H. influenzae* e *M. catarrhalis*.

## **VII. PERSPECTIVAS DO ESTUDO**

Realização de estudo que possa avaliar as características diagnósticas da PCT em crianças com DP em PAC.

Realização de ensaio clínico, em nosso meio, com crianças menores de 5 anos e diagnóstico de PAC que utilize o ponto de corte de 0,25ng/ml de PCT para decisão de iniciar tratamento com antimicrobiano.

Avaliar o custo-benefício da utilização rotineira da PCT para decisão terapêutica na PAC.

Avaliar evolução das crianças de acordo com etiologia e manutenção de febre após 48 horas de tratamento.

## VII. CONCLUSÕES

1. Os resultados do estudo mostraram também que crianças com níveis séricos de PCT  $< 0,25\text{ng/ml}$  na admissão são menos propensas a terem infecção pneumocócica. Assim, este valor pode ser considerado um ponto de corte para identificar crianças que se beneficiariam do uso empírico de antibiótico.
2. Níveis mais altos de PCT foi identificado entre crianças que permaneceram com febre após 48 horas de tratamento com penicilina G cristalina, cujo agente identificado foi o *S. pneumoniae*. Em nosso meio, crianças com infecção pneumocócica parecem responder mais lentamente a antibioticoterapia adequada, possivelmente explicado por uma maior gravidade de doença bem como por um curso mais longo da mesma.
3. Crianças com DP à admissão apresentaram níveis séricos de PCT maiores que aquelas sem esta complicação, de modo que DP deve ser pesquisado em crianças que apresentem altos níveis séricos de PCT. Foi possível observar também que DP foi encontrado mesmo entre indivíduos em que apenas infecção viral foi detectada.



## IX. SUMMARY

Community-acquired pneumonia (CAP) remains one of the most important causes of morbidity and mortality in children under-5 years and etiologic diagnosis still is a challenge. Objective: to evaluate the diagnostic and prognostic value of serum procalcitonin (PCT) levels on admission among children hospitalized with CAP in relation to: 1) presence or absence of pleural effusion (PE); 2) therapeutic response to aqueous penicillin G, stratified by etiology. Study design: it is a prospective coorte. Methods: Children under-5-years-old hospitalized with CAP were evaluated in a 21-month period. On admission, clinical and radiological data were collected as well as nasopharyngeal aspirates and blood to investigate 19 etiologic agents and serum PCT levels. Evolution and outcome were registered in standardized forms. PCT levels were evaluated first in relation to the presence or absence of PE. After that, children who had PE or receiver other antibiotic besides aqueous penicillin G were excluded. Results: In relation to PE, 128 children were studied. Among them, 13(10.2%) had PE. The median (IQR) PCT serum level on admission was 1.68 (1.19; 6.56) ng/mL in those with PE compared to 0.69 (0.12; 2.53) ng/mL in those without PE (P=0.021). The frequency of etiologic agents was similar. Second analysis comprised 89 patients. The median (interquartile range) age was 18(11-27) months and 53(60%) were boys. Viral (49.4%), typical bacterial (38.2%) and atypical bacterial (12.4%) infections were diagnosed. Overall, 25.8% were pneumococcal infections. In total, 75(84.3%) children became afebrile within 48hr of treatment. Median serum PCT (ng/ml) levels on admission was higher in 14 children who remained febrile after 48hr of treatment (2.1[0.8–3.7] *versus* 0.6[0.1-2.2];P=0.025). In these children, pneumococcal infections were more common (71.4% *versus* 17.3%;P<0.001). PCT levels on admission were higher in children with pneumococcal pneumonia (2[0.7–4.2] *versus* 0.5[0.08–2.1];P=0.002). The ROC curve

found that 0.25ng/ml of serum PCT had a high negative predictive value (93% [95%CI:80%–99%]) for pneumococcal infection. Conclusions: PE increases serum PCT levels. It is possible that PCT levels may be increased in sole viral pneumonia associated with PE. Serum PCT level  $\geq 0.25$ ng/ml predicted delayed clinical response to antibiotic therapy and pneumococcal etiology.

Key words: 1. Respiratory disease; 2. Pneumonia; 3. Diagnoses; 4. Prognosis

## X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andradade DC, Borges IC, Adrian PV et al. Effect of Pneumococcal Conjugate Vaccine on the Natural Antibodies and Antibody Responses Against Protein Antigens from *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* in Children with Community-Acquired Pneumonia. *Pediatr Infect Dis J*. 2016 (epub ahead of print).
2. Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Hohnon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet* 1993; 341: 515-8.
3. Austrian R, Gold J. Pneumococcal bacteremia with especial reference to bacteremic pneumococcal pneumonia. *Annals of Internal Medicine* 1964; 60:759-76.
4. Azab SFAH, Sherief LM, Saleh SH, Elsaeed WF, Elshafie MA, Abdelsalam SM. Impact of the socioeconomic status on the severity and outcome of community-acquired pneumonia among Egyptian children: a cohort study. *Infectious Disease of Poverty* 2014; 3:14.
5. Balfour-Lynn IM, Abrahamson E, Cohen G, et al. BTS guideline for management of pleural infection in children. *Thorax* 2005; 60: i1-21.
6. Bradley JS, Byington CL, Shah SS et al. The management of community-acquired pneumonia in infants and children older than 3 months of age: clinical practice guidelines by Pediatric Infectious Diseases Society and Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Disease* 2011; 53:25-76.
7. Cardinale, F, Cappiello AR, Mastrorotararo MF, Pignatelli M, Esposito S. Community Acquired Pneumonia in children. *Early Human Development* 2013; 89:S49-52.

8. Cherian T, John TJ, Simoes E, et al. Evaluation of simple clinical signs for the diagnosis of acute lower respiratory tract infection. *Lancet* 1988; 2: 125-8.
9. Chiu C-Y, Wong K-S, Huang J-L, Tasi M-H, Lin T-Y, Hsieh S-Y. Proinflammatory cytokines, fibrinolytic system enzymes, and biochemical indices in children with infectious para-pneumonic effusions. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 2008; 27; 699-703. doi: 10.1097/INF.0b013e318170b678.
10. Clark JE. Determining the microbiological cause of a chest infection. *Archives of Disease in Childhood* 2015; 100: 193-7.
11. Cohen JF, Leis A, Lecarpentier T, Raymond J, Gendrel D, Chalumeau M. Procalcitonin predicts response to beta-lactam treatment in hospitalized children with community-acquired pneumonia. *PLoS One* 2012; 7:e36927.
12. Dandona P, Nix D, Wilson MF, Aljada A, Assicot M, Bohuon C. Procalcitonin increases after endotoxin injection in normal subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1994; 79: 1605-8.
13. Esposito S, Cohen R, Domingo JD, et al. Antibiotic therapy for pediatric community-acquired pneumonia: do we know when, what and for how long to treat? *The Pediatric Infectious Disease Journal* 2012; 31:e78-85.
14. Esposito S, Tagliabue C, Piccioli I, et al. Procalcitonin measurements for guiding antibiotic treatment in pediatric pneumonia. *Respiratory Medicine* 2011; 105:1939-45.
15. Harris M, Clark J, Coote N et al. British Thoracic Society guidelines for the management of community acquired pneumonia in children: update 2011. *Thorax* 2011; 66:1-23.

16. Iroh Tam P. Approach to common bacterial infections: community-acquired pneumonia. *Pediatric Clinics of North America* 2013; 60:437-53.
17. Izadnegahdar R, Cohen AL, Klugman KP, Qazi SA. Childhood pneumonia in developing countries. *Lancet Respiratory Medicine* 2013; 1:574-84.
18. Jacobs JW, Goodman RH, Chin WW et al. Calcitonin messenger RNA encodes multiple polypeptides in a single precursor. *Science* 1981; 213:457-9.
19. Jain S, Williams DJ, Arnold SR, et al. Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among U.S. children. *New England Journal of Medicine* 2015; 372: 835–45.
20. Juven T, Metsola J, Waris M, Leinonen M, Ruuskanen O. Clinical response to antibiotic therapy for community-acquired pneumonia. *European Journal of Pediatrics* 2004; 164: 140-4.
21. Korppi M. Diagnosis and treatment of community-acquired pneumonia in children. *Acta Paediatrica* 2012b; 101: 702-4.
22. Korppi, M. Does solely clinical diagnostics leads to overdiagnoses and overtreatments? *The Pediatric Infectious Disease Journal* 2012a; 31: 885.
23. Lahti E, Peltola V, Virkki R, Alanen M, Ruuskanen O. Development of parapneumonic empyema in children. *Acta Paediatr* 2007;96:1686-1692.
24. Lassi ZS, Das JK, Haider SW, Salam RA, Qazi AS, Bhutta ZA. Systematic review on antibiotic therapy for pneumonia in children between 2 and 59 months of age. *Archives of Disease in Childhood* 2014; 99:687-93.
25. Liu HH, Guo JB, Su L. Procalcitonin: present and future. *The Irish Journal of Medical Science* 2015; 184: 597-605.

26. Liu L, Oza S, Hogan D, et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2000-13, with projections to inform post-2015 priorities: an updated systematic analysis. *Lancet* 2015; 385: 430-40.
27. Maruna P, Nedelnikova K, Gurlich R. Physiology and genetics of procalcitonin. *Physiological Research* 2000; 49: S57-61.
28. Michelow IC, Olsen K, Lozano J, et al. Epidemiology and clinical characteristics of community-acquired pneumonia in hospitalized children. *Pediatrics* 2004;113:701-707.
29. Moya F, Nieto A, R-Candela JL. Calcitonin biosynthesis: evidence for a precursor. *European Journal of Biochemistry* 1975; 55: 407-13.
30. Nascimento-Carvalho CM, Andrade DC, Vilas-Boas AL. An update on antimicrobial options for childhood community-acquired pneumonia: a critical appraisal of available evidence. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 2015
31. Nascimento-Carvalho CM, Madhi SA, O'Brien KL. Review of Guidelines for Evidence-based management for childhood Community-Acquired Pneumonia in Under-5 years From Developed and Developing Countries. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 2013; 32:1281-2.
32. Nascimento-Carvalho CM. Etiology of childhood community acquired pneumonia and its implications for vaccination. *Brazilian Journal of Infectious Disease* 2001; 5:87-97.
33. Organização Mundial de Saúde Pneumonia: fact sheet nº 331. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs331/en/>>. Acessado em 03 de Janeiro de 2015.

34. Palafox M, Guiscafre H, Reyes H, et al. Diagnostic value of tachypnea in pneumonia defined radiologically. *Archives of Disease in Childhood* 2000; 82: 41-5.
35. Rambaud-Althaus C, Althaus F, Genton B, D'Acremont V. Clinical features for diagnosis of pneumonia in children younger than 5 years: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infectious Disease* 2015; 15: 439–50.
36. Renko M, Kukkola HL, Kauma H, Tapiainen T, Kaijalainen T, Uhari M. Comparison of the severity and outcome of invasive pneumococcal infections in children and adults. *The Pediatric Infectious Disease Journal* 2012; 31:785-8.
37. Ruuskanen O, Lahti E, Jennings LC, Murdoch DR. Viral pneumonia. *Lancet* 2011; 377: 1264-75.
38. Scott JA, Brooks WA, Peiris JS, Holtzman D, Mulholland EK. Pneumonia research to reduce childhood mortality in the developing world. *Journal of Clinical Investigation* 2008;118: 1291-300.
39. Simbalista R, Araujo M, Nascimento-Carvalho CM. Outcome of children hospitalized with community-acquired pneumonia treated with aqueous penicillin G. *Clinics* 2011; 66:95-100.
40. Toikka P, Virkki R, Mertsola J, Ashorn P, Eskola J, Ruuskanen O. Bacteremic Pneumococcal Pneumonia in Children. *Clinical Infectious Disease* 1999; 29:568-72.
41. Wallihan R, Ramilo O. Community-acquired pneumonia in children: current challenge and future directions. *Journal of infection* 2014; 69: S87-S90.
42. Yu D, Buchvald F, Brandt B, Nielsen KG. Seventeen-year study shows rise in parapneumonic effusion and empyema with higher treatment failure after chest tube drainage. *Acta Paediatrica* 2014;103:93-99.

43. Yu D, Buchvald F, Brandt B, Nielsen KG. Seventeen-year study shows rise in parapneumonic effusion and empyema with higher treatment failure after chest tube drainage. *Acta Paediatr.* 2014;103:93-99. doi: 10.1111/apa.12426 [published Online First: 11 Nov 2013].



**XI. ANEXOS****XI.1. Anexo 1 – Modelo de Questionário****FORMULÁRIO PARA COLETA DE DADOS: EVOLUÇÃO**

Número de ordem: \_\_\_\_\_

SMART (prontuário): \_\_\_\_\_

Iniciais: \_\_\_\_\_

Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Data da admissão: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Data da alta: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Sexo: (1) masculino

(2) feminino

1. HMA: coletar dados da primeira avaliação em que há registro

Dado clínico	Sim	Não	SR	Há quantos dias (SR = 99)	Data avaliação
Tosse	1	2	9		/ /
Febre	1	2	9		/ /
Hipoatividade	1	2	9		/ /
Cianose	1	2	9		/ /
Coriza	1	2	9		/ /
Espirro	1	2	9		/ /
Obstrução nasal	1	2	9		/ /
Vômito	1	2	9		/ /
Cansaço	1	2	9		/ /

Piado	1	2	9		/ /
Convulsão	1	2	9		/ /
Sonolência	1	2	9		/ /
Ausência de ingestão de líquido	1	2	9		/ /
Outro 1:	1	2	9		/ /
Outro 2:	1	2	9		/ /
Outro 3:	1	2	9		/ /

2. EF: coletar dados da primeira avaliação em que há registro

Peso (Kg): \_\_\_\_\_ em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_ Est. (cm): \_\_\_ em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

FR: \_\_\_\_\_ em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_ FC: \_\_\_ em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

Temperatura (°C): \_\_\_ em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

Tempo de enchimento capilar: \_\_\_ em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

Dado clínico	Sim	Não	SR	Data avaliação
Hipoavidade	1	2	9	/ /
Cianose	1	2	9	/ /
Aleteo nasal	1	2	9	/ /
Crépito	1	2	9	/ /
Sibilo	1	2	9	/ /
Tiragem subcostal	1	2	9	/ /
Tiragem intercostal	1	2	9	/ /
Tiragem indeterminada	1	2	9	/ /
Convulsão	1	2	9	/ /

Sonolência	1	2	9	/	/
Estridor em repouso	1	2	9	/	/
Irritabilidade	1	2	9	/	/
Outro 1:	1	2	9	/	/
Outro 2:	1	2	9	/	/
Outro 3:	1	2	9	/	/

### 3. Tratamento

Antibiótico	SIM	NÃO	Data início	Data fim	Dose (mg)	Intervalo
Penicil. Cristalina	1	2	/ /	/ /		
Ampicilina	1	2	/ /	/ /		
Oxacilina	1	2	/ /	/ /		
Amicacina	1	2	/ /	/ /		
Gentamicina	1	2	/ /	/ /		
Tobramicina	1	2	/ /	/ /		
Cefotaxima	1	2	/ /	/ /		
Ceftriaxone	1	2	/ /	/ /		
Outro 1:	1	2	/ /	/ /		
Outro 2:	1	2	/ /	/ /		
Outro 3:	1	2	/ /	/ /		
Outro 4:	1	2	/ /	/ /		

Outros itens (tratamento)	SIM	NÃO	Data início	Data fim	Dose (mg)	Intervalo	Qual
Broncodilator	1	2	/ /	/ /			
Antitérmico	1	2	/ /	/ /			
Corticóide	1	2	/ /	/ /			
Hidratação parenteral	1	2	/ /	/ /			
Oxigênio	1	2	/ /	/ /			
Outro 1:	1	2	/ /	/ /			
Outro 2:	1	2	/ /	/ /			
Outro 3:	1	2	/ /	/ /			
Outro 4:	1	2	/ /	/ /			

## XI. Anexo 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

### TERMO DE CONSENTIMENTO:

Título do projeto de pesquisa: Estudo da Etiologia de Pneumonia Adquirida na Comunidade por Métodos Específicos e Não Invasivos em Crianças Brasileiras Hospitalizadas

A recusa à presente autorização em nada repercutirá sobre a assistência à saúde a ser prestada ao paciente.

**A qualquer momento poderei interromper para perguntar sobre qualquer dúvida que surgir durante a apresentação das informações abaixo**

Eu, ....., fui procurado(a) pela Profa. Cristiana Nascimento de Carvalho da Faculdade de Medicina do Estado da Bahia, CRM 9371, sobre o projeto de pesquisa com o título acima citado. O menor ....., sob a minha inteira responsabilidade, foi convidado a participar deste projeto.

Pneumonia é uma das principais causas de hospitalização e óbito em crianças menores que 5 anos nos países em desenvolvimento. Não há estudos que tenham investigado de forma ampla os agentes causais destas pneumonias. Este estudo busca realizar esta investigação através da análise de duas amostras de 3,0ml de sangue venoso coletadas com intervalo de 2 semanas e da análise de secreção do nariz, a qual será coletada com uma sonda fina, durando menos de 1 minuto esta coleta, procedimento considerado com mínima chance de provocar machucado. Para as crianças que estiverem participando deste estudo, serão fornecidos quatro vales-transportes para o retorno duas semanas após a primeira avaliação.

Se eu concordar, minha criança poderá participar deste estudo, e as informações clínicas e laboratoriais registradas do caso serão utilizadas de forma anônima para esta investigação. No entanto, a criança receberá o tratamento completo e os procedimentos padronizados clinicamente para diagnóstico e acompanhamento serão realizados independente da participação no estudo.

### CONSENTIMENTO

Autorizo a inclusão do menor \_\_\_\_\_ sob a minha responsabilidade no estudo intitulado Estudo da Etiologia de Pneumonia Adquirida na Comunidade por Métodos Específicos e Não Invasivos em Crianças Brasileiras Hospitalizadas

\_\_\_\_\_  
Assinatura de um dos pais / guardiões

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Médico

\_\_\_\_\_  
Assinatura da testemunha

\_\_\_\_\_  
Local e data

**DOCUMENTO EM DUAS VIAS, UMA PARA SER ENTREGUE A PESSOA OU RESPONSÁVEL QUE VAI PARTICIPAR DA PESQUISA**

# I. Anexo 3 – Ofício do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da MCO



MINISTÉRIO DA SAÚDE - Conselho Nacional de Saúde - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP  
**FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS**  
 (versão outubro/99) Para preencher o documento, use as indicações da página 2.

1. Projeto de Pesquisa: Estudo da Etiologia de Pneumonia Adquirida na Comunidade por Métodos Específicos e Não Invasivos em Crianças Brasileiras Hospitalizadas				
2. Área do Conhecimento (Ver relação no verso) Ciências da Saúde – Medicina		3. Código: 4.01	4. Nível: ( Só áreas do conhecimento 4 ) D, E	
5. Área(s) Temática(s) Especial (s) (Ver fluxograma no verso)		6. Código(s):	7. Fase: (Só área temática 3) I ( ) II ( ) III ( ) IV ( )	
8. Unitermos: ( 3 opções ) Pneumonia, Etiologia, <i>Streptococcus pneumoniae</i>				
<b>SUJEITOS DA PESQUISA</b>				
9. Número de sujeitos 300 No Centro : 300 Total: 300		10. Grupos Especiais: <18 anos ( x ) Portador de Deficiência Mental ( ) Embrião /Feto ( ) Relação de Dependência (Estudantes , Militares, Presidiários, etc ) ( ) Outros ( ) Não se aplica ( )		
<b>PESQUISADOR RESPONSÁVEL</b>				
11. Nome: Cristiana Maria Costa Nascimento de Carvalho				
12. Identidade: 1.771.521-09		13. CPF.: 242.644.315-49	19. Endereço (Rua, n.º): Prof. Aristides Novis	No. 105/ apto. 1201B São Lázaro
14. Nacionalidade: Brasileira		15. Profissão: Médica / Professor	20. CEP: 40.210-630	21. Cidade: Salvador
16. Maior Titulação: Doutor		17. Cargo Professor Adjunto	23. Fone: 71.2357869	24. Fax 71.2357869
18. Instituição a que pertence: Universidade Federal da Bahia			25. Email: <a href="mailto:nascimentocostacarvalho@ufba.br">nascimentocostacarvalho@ufba.br</a>	
<b>Termo de Compromisso:</b> Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Data: <u>18/02/2002</u> <i>Cristiana Maria Costa Nascimento de Carvalho</i> Assinatura				
<b>INSTITUIÇÃO ONDE SERÁ REALIZADO</b>				
26. Nome: Centro Pediátrico Professor Hosannah de Oliveira		29. Endereço (Rua, n.º): Rua Padre Feijó, s/n - Canela		
27. Unidade/Orgão: Pediatria		30. CEP: 40.110-160	31. Cidade: Salvador	32. U.F. Bahia
28. Participação Estrangeira: Sim ( x ) Não ( )		33. Fone: 71.3396102/6108	34. Fax: 71.3396100	
35. Projeto Multicêntrico: Sim ( ) Não ( x ) Nacional ( ) Internacional ( ) ( Anexar a lista de todos os Centros Participantes no Brasil )				
<b>Termo de Compromisso ( do responsável pela instituição )</b> : Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução Nome: <u>VANDA MA MOTA DE MIRANDA</u> Cargo: <u>Coordenadora do CPP/H.O.</u> Data: <u>18/02/2002</u> <i>Vanda Ma Mota de Miranda</i> Assinatura CPP/H.O.				
<b>PATROCINADOR Não se aplica (8) 249</b>				
36. Nome: PRODOC		39. Endereço Rua Basílio da Gama, 6 - Canela		
37. Responsável: Profa. Maria Hilda		40. CEP: 40.110-040	41. Cidade: Salvador	42. UF Bahia
38. Cargo/Função: Coordenador de Pesquisa		43. Fone: 71.3365151	44. Fax: 71.3363563	
<b>COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP</b>				
45. Data de Entrada: <u>05/03/02</u>	46. Registro no CEP: 050/02	47. Conclusão: Aprovado <input checked="" type="checkbox"/> Data: <u>05/06/02</u>	48. Não Aprovado ( ) Data: ___/___/___	
49. Relatório(s) do Pesquisador responsável previsto(s) para: _____ Data: ___/___/___				
Encaminhado a CONEP: 50. Os dados acima para registro ( ) 51. O projeto para apreciação ( ) 52. Data: ___/___/___		53. Coordenador/Nome <i>Maria Theresa de Medeiros</i> Profa. Maria Theresa de Medeiros Presidente Assinatura		
<b>COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA - CONEP</b>				
54. Nº Expediente :		56. Data Recebimento :		57. Registro na CONEP:
55. Processo :				
58. Observações:				

**APROVADO** pelo CEP.  
**HUPES/UFBA.**  
 05/06/02 *[Assinatura]*

**XI. Anexo 4 – Parecer do CONEP**

MINISTÉRIO DA SAÚDE  
Conselho Nacional de Saúde  
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

**PARECER Nº 1447/2003**

**Registro CONEP: 7129** (Este nº deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto )

**Registro CEP: 050/02**

**Processo nº 25000.159018/2002-18**

**Projeto de Pesquisa:** "Estudo da etiologia de pneumonia adquirida na comunidade por métodos específicos e não invasivos em crianças brasileiras hospitalizadas".

**Pesquisador Responsável :** DRª. Cristina Maria Costa Nascimento de Carvalho

**Instituição:** Hospital Universitário Prof. Edgard Santos / UFBA

**Área Temática Especial :** Cooperação estrangeira

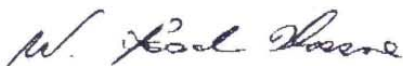
Ao se proceder à análise das respostas às considerações da CONEP no Parecer nº 257/2003, relativo ao projeto em questão, considerou-se que:

- a) foram atendidas as solicitações do referido parecer.;
- b) o projeto preenche, de modo geral, os requisitos fundamentais das Resoluções CNS 196/96 e 292/99, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos.;
- c) o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição supracitada .

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

**Situação :** Projeto aprovado

Brasília, 10 de setembro de 2003

  
WILLIAM SAAD HOSSNE  
Coordenador da CONEP/CNS/MS

## XI. Anexo 5 – E-mail de confirmação de submissão no *Respiratory Medicine*



Respiratory Medicine Editorial Office" (respiratorymedicine@elsevier.com) Adicionar aos contatos 16/03/2016 |▶  
Para: taianesf@hotmail.com ✕

Ações ▾

Respiratory Medicine

Ref: YRMED-D-16-00247

Title: Recovery from childhood community-acquired pneumonia in a developing country: prognostic value of serum procalcitonin

Authors: Taiane Fonseca; Ângela Vasconcellos; Dominique Gendrel; Olli Ruuskanen; Cristiana Nascimento-Carvalho

Article Type: Research paper

Dear Miss. Taiane Fonseca,

Your submission entitled "Recovery from childhood community-acquired pneumonia in a developing country: prognostic value of serum procalcitonin" has been assigned the following manuscript number: YRMED-D-16-00247.

You may check on the progress of your paper by logging on to the Elsevier Editorial System as an author. The URL is <http://ees.elsevier.com/yarmed/>.

Thank you for submitting your work to this journal. Please do not hesitate to contact me if you have any queries.

Kind regards,

Respiratory Medicine