

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

Vitor Félix Torres

Receptor Desencadeador Expresso nas Células Mielóides Tipo 1 (TREM-1) no  
Diagnóstico e Prognóstico na Meningite Bacteriana em Crianças.

Porto Alegre, Junho de 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

Receptor Desencadeador Expresso nas Células Mielóides Tipo 1 (TREM-1) no  
Diagnóstico e Prognóstico na Meningite Bacteriana em Crianças.

Vitor Félix Torres

Orientador: Marino Muxfeldt Bianchin

Tese apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Medicina: Ciências  
Médicas, UFRGS, como requisito para  
obtenção do título de doutor

Porto Alegre, Junho de 2015

### CIP - Catalogação na Publicação

FELIX TORRES, VITOR

Receptor Desencadeador Expresso nas Células  
Mielóides Tipo 1 (TREM-1) no Diagnóstico e Prognóstico  
na Meningite Bacteriana em Crianças / VITOR FELIX  
TORRES. -- 2015.  
79 f.

Orientador: MARINO MUXFELDT BIANCHIN.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-  
Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto  
Alegre, BR-RS, 2015.

1. sTREM-1. 2. meningite bacteriana. 3. meningite  
viral. 4. líquido cefalorraquidiano.. I. MUXFELDT  
BIANCHIN, MARINO, orient. II. Título.

## Dedicatória

A minha esposa **Rose Andréia** e meus filhos **Maria Clara e Arthur**, por quem anseio ser uma pessoa cada vez melhor.

## **Agradecimentos**

A execução do presente trabalho não foi o resultado do empenho isolado de uma pessoa, mas sim a decorrência de um esforço coletivo. A todos os colegas, manifesto minha gratidão. E de modo particular:

Ao **Prof. Dr. Marino Muxfeld Bianchin**, que inspirou este projeto desde o começo, através de seus ensinamentos o estímulo a fazer cada vez melhor. Obrigado pela confiança e paciência em mim depositada.

À **Dra. Simone Perez, Ana Luiza Louzada, Isabel Cristina Bandeira e Ana Lucia Abujamra** que foram fundamentais no auxílio e disponibilidade para realização deste trabalho.

A todos os membros do Serviço de Neurologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, que, sempre atenciosos e receptivos, deram o suporte logístico para problemas burocráticos.

À **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, pela oportunidade de qualificação e ao **Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas**, pela organização e estrutura que permitem a dezenas de profissionais da saúde alcançarem alto grau de qualificação todos os anos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul – FAPERGS pelo apoio financeiro.

“Palavra puxa palavra, uma idéia traz outra, e assim se faz um livro, um governo, ou uma revolução”

**Machado de Assis**

## RESUMO

**Base teórica:** A meningite bacteriana é uma causa importante de morbidade e mortalidade na infância. Análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) continua a ser a ferramenta de diagnóstico padrão ouro, porém novos biomarcadores para o diagnóstico e prognóstico ainda são necessários. Receptor Desencadeador Expresso nas Células Mielóides Tipo 1 (TREM-1) é um receptor transmembrana expresso em neutrófilos e monócitos, que desempenha um papel importante na modulação da resposta inflamatória. A sua fração solúvel (sTREM-1) também é aumentada na infecção, inflamação ou doenças imunológicas. Neste estudo nós avaliamos, prospectivamente, o valor do TREM-1 como um biomarcador de meningite bacteriana aguda em pacientes pediátricos e sua possível utilização como uma ferramenta de prognóstico neste cenário.

**Objetivos:** O objetivo primário do presente estudo é caracterizar os níveis líquidos solúveis de TREM-1 (sTREM-1) em pacientes admitidos por suspeita clínica de meningite. Analisamos também os níveis de sTREM-1 nos casos de meningite bacteriana e viral, além de medir a sensibilidade e especificidade deste biomarcador no LCR e estudar se esse biomarcador pode ser um fator associado ao prognóstico em meningite bacteriana aguda.

**Métodos:** Sessenta e um pacientes pediátricos, de 0 a 10 anos foram avaliados quanto à meningite e foram prospectivamente incluídos neste estudo. Na admissão, após a suspeita clínica de meningite foram submetidos à análise do LCR para o diagnóstico e uma amostra do LCR inicial foi utilizado também para análise do sTREM-1. Os pacientes foram acompanhados durante a sua internação com o registro de seu tratamento e desfecho clínico para posterior análise dos dados.

**Resultados:** Dentre os 61 pacientes, 38 (62%) foram negativos para a meningite, 7 (11%) pacientes foram diagnosticados com meningite viral e 16 (27%) pacientes foram diagnosticados com meningite bacteriana aguda e recebeu tratamento direcionado. Sexo ( $p = 0,15$ ), presença de fatores de risco identificados ( $p = 0,17$ ), presença de convulsões ( $p = 0,31$ ), outras

complicações clínicas ( $p = 0,11$ ) e mortalidade ( $p = 0,66$ ) não diferiram entre os grupos. Anormalidades sensoriais ( $p < 0,0001$ ) e presença de cefaléia ( $p = 0,003$ ) foram mais prevalentes em pacientes com meningite. Como esperado, a contagem de leucócitos, glicose e proteína no LCR foram significativamente diferentes entre pacientes com meningite e pacientes sem meningite. As concentrações de sTREM-1 no LCR de pacientes com meningite bacteriana foi superior quando comparada com pacientes com meningite viral e com controles (1204,67 pg/ml, 39,34 pg/ml e 12,09 pg/ml, respectivamente;  $p < 0,0001$ ). Quando sTREM-1 foi usado como um determinante de diferenciação entre pacientes com ou sem meningite bacteriana, a análise da área sob a curva ROC foi de 0,95 (IC de 95% = 0,89-1,00;  $p < 0,0001$ ). A presença de fatores de risco para a meningite bacteriana ( $p = 0,04$ ), anormalidades sensoriais ( $p < 0,0001$ ), contagem de leucócitos no LCR ( $p = 0,01$ ), níveis de glicose no LCR ( $p = 0,002$ ), níveis de proteína no LCR ( $p = 0,032$ ) e os níveis de sTREM-1 no LCR ( $p = 0,004$ ) foram associados com meningite bacteriana, incluindo os níveis sTREM-1 acima do ponto de corte estabelecido de 68,0 pg/ml ( $p < 0,0001$ ). A meningite bacteriana ( $p = 0,02$ ) e os valores de sTREM-1 maior do que o ponto de corte (68,0 pg/ml) ( $p = 0,04$ ) foram associados com sequelas neurológicas graves e morte neste grupo de pacientes.

**Conclusão:** Avaliamos os níveis sTREM-1 de crianças com suspeita clínica de meningite. Os níveis de s-TREM-1 foram aumentados nos casos de meningite bacteriana e correlacionados com o prognóstico. Os nossos resultados sugerem que níveis elevados de sTREM-1 no LCR podem ser utilizados como um biomarcador para o diagnóstico de meningite bacteriana aguda em crianças e que pode ser útil na determinação do prognóstico do paciente nesse cenário.

**Palavras chave:** sTREM-1, meningite bacteriana, meningite viral, líquido cefalorraquidiano.

## ABSTRACT

**Background:** Bacterial meningitis is an important cause of morbidity and mortality in infancy. Cerebrospinal fluid (CSF) analysis remains the gold standard diagnostic tool, however new biomarkers for diagnosis and prognosis are still required. Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (TREM-1) is a transmembrane receptor expressed on neutrophils and monocytes that plays an important role on the immune response. Its soluble fraction (sTREM-1) is also increased in infection, inflammation or immune diseases. In this study we evaluate the value of sTREM-1 as a biomarker of acute bacterial meningitis in pediatric patients and its possible use as a prognostic tool prospectively.

**Methods:** Sixty-one pediatric patients, from 0 to 10 years of age were evaluated for meningitis and were prospectively included in this study. At admission, following clinical hypothesis of meningitis patients were submitted to CSF analysis for diagnosis and a sample of initial CSF was also used for TREM-1 analysis. Patients were followed during hospitalization and clinical evaluation and treatment outcome were recorded for posterior analysis.

**Results:** Thirty-eight (62%) out of 61 patients were negative for meningitis, 7 (11%) patients were diagnosed with viral meningitis and 16 (27%) patients were diagnosed with and received treatment for acute bacterial meningitis. Sex ( $p = 0.15$ ), presence of identified risk factors ( $p = 0.17$ ), presence of seizures ( $p = 0.31$ ), other clinical complications ( $p = 0.11$ ), and mortality ( $p = 0.66$ ) did not differ among groups. Sensorial abnormalities ( $p < 0.0001$ ) and presence of headache ( $p = 0.003$ ) were more prevalent in patients with meningitis. As expected, leukocyte count, glucose, and protein levels were significantly different between patients with meningitis and patients without meningitis. Concentrations of sTREM-1 in CSF from patients with bacterial meningitis was higher when compared to patients with viral meningitis and with controls (1204.67 pg/ml, 39.34 pg/ml and 12.09 pg/ml, respectively;  $p < 0.0001$ ). When sTREM-1 was used as a determinant to differentiate between patients with or without bacterial meningitis, the analysis of the area under the ROC curve (AUC) was 0.95 (95% CI=0.89-1.00;  $p < 0.0001$ ). Presence of risk factors for bacterial meningitis ( $p = 0.04$ ), sensorial abnormalities ( $p < 0.0001$ ), CSF

leukocyte count ( $p = 0.01$ ), CSF glucose levels ( $p = 0.002$ ), CSF protein levels ( $p = 0.032$ ) and CSF sTREM-1 levels ( $p = 0.004$ ) were all associated with bacterial meningitis, including sTREM-1 levels above the established cut-off point of 68.0 pg/ml ( $p < 0.0001$ ). Bacterial meningitis ( $p = 0.02$ ) and values of sTREM-1 higher than the cut-off point (68.0 pg/ml) ( $p = 0.04$ ) were associated with death and severe neurological disabilities in this patient cohort.

**Conclusion:** We evaluated sTREM-1 levels in CSF of children with clinical hypothesis of meningitis. The sTREM-1 levels were increased in bacterial meningitis and correlated with prognosis. Our results suggest that CSF sTREM-1 levels can be used as a biomarker for diagnosis of acute bacterial meningitis in children and it might be useful in determining patient's prognosis in this scenario.

**Key Words:**

soluble triggering receptors expressed on myeloid cells-1, bacterial meningitis, viral meningitis, cerebrospinal fluid, outcome.

## **Lista de Figuras**

<b>Figura 1:</b> Diagrama de estratégias para localizar e selecionar informações.....	15
<b>Figura 2:</b> Ilustração da quebra da barreira mucosa na nasofaringe.....	18
<b>Figura 3:</b> Ilustração da aderência do pneumococo ao endotélio e quebra da barreira hematoencefálica com a multiplicação no LCR.....	19
<b>Figura 4:</b> Ciclo vicioso de alterações fisiopatológicas que levam à lesão neuronal durante a meningite bacteriana.....	20
<b>Figura 5:</b> Algoritmo diagnóstico para meningite bacteriana aguda.....	22
<b>Figura 6:</b> Adaptação da incidência de meningite bacteriana em crianças.....	26
<b>Figura 7:</b> Sinais clínicos da meningite neonatal.....	28

## **Lista de Tabelas**

**Tabela 1-** Adaptação da frequência relativa de patógenos causadores da meningite bacteriana em crianças de acordo a faixa etária.....25

**Tabela 2:** Autores e seus trabalhos relacionados a proteína sTREM-1.....32

## **LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS**

DPOC – Doença pulmonar obstrutiva crônica

DcR3 - *Decoy receptor 3*

Hib - vacina contra o *Haemophilus influenzae* do tipo b conjugada

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV)

HMGB1 - high mobility group box-1

IL-1- Interleucina 1

IL-6 - interleucina 6

LCR - líquido céfalo raquidiano

LPS - Lipopolissacarídeo

SIRS - *systemic inflammatory response syndrome*

sTREM 1- *Soluble triggering receptors expressed on myeloid cells 1*

TNF - Fator de necrose tumoral

TREM - *Triggering receptors expressed on myeloid cells*

PAF - Fator ativador de plaquetas

PAMPs - moléculas patogênicas

PCR - Reação em cadeia da polimerase

ROC – Receiver Operating Characteristics

## Sumário

<b>1. Introdução.....</b>	<b>14</b>
<b>2. Revisão da Literatura.....</b>	<b>14</b>
<b>2.1 Estratégias de busca sistemática da informação.....</b>	<b>14</b>
<b>2.2 Meningite.....</b>	<b>16</b>
<b>2.3 Epidemiologia da Meningite e impacto do problema.....</b>	<b>16</b>
<b>2.4 Fisiopatologia e microbiologia aplicada.....</b>	<b>17</b>
<b>2.5 Características clínicas.....</b>	<b>21</b>
<b>2.6 Características laboratoriais.....</b>	<b>23</b>
<b>2.7 Meningite em crianças.....</b>	<b>25</b>
<b>2.8 Fatores prognósticos da Meningite.....</b>	<b>29</b>
<b>3. TREM-1.....</b>	<b>31</b>
<b>3.1 TREM-1 nas infecções em geral.....</b>	<b>32</b>
<b>3.2 TREM-1 e meningite.....</b>	<b>42</b>
<b>3.3 TREM-1 como parâmetro para a prática clínica.....</b>	<b>43</b>
<b>4. Justificativa.....</b>	<b>45</b>
<b>5. Objetivos.....</b>	<b>45</b>
<b>5.1 Objetivo Principal.....</b>	<b>45</b>
<b>5.2 Objetivos Secundários.....</b>	<b>45</b>
<b>6. Referências Bibliográficas da Revisão.....</b>	<b>46</b>
<b>7. Artigo.....</b>	<b>60</b>
<b>8. Considerações Finais.....</b>	<b>76</b>

## **1. Introdução**

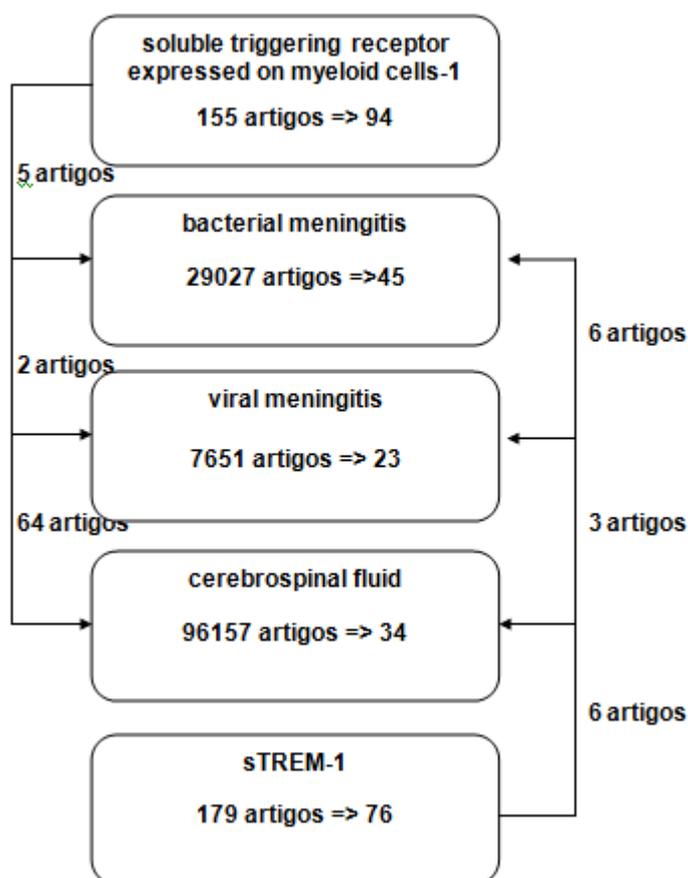
Dentre as doenças infecciosas que ocorrem no sistema nervoso central, as meningites são prevalentes e acometem todas as faixas etárias da população. Muitas vezes, as meningites apresentam desafio significativo às equipes médicas tanto em termos diagnósticos quanto prognósticos. A meningite bacteriana adquirida na comunidade ainda é um pesado fardo nos países desenvolvidos, com uma taxa de incidência de cinco casos para cada 100 mil adultos por ano, podendo ser até 10 vezes maior nos países em desenvolvimento (van de Beek et al. 2006; Brouwer et al. 2010). No Brasil, desde meados da década de 70, já vem sendo tomadas medidas frente às epidemias de meningite, tais como as campanhas de vacinação, em uma tentativa de reduzir a morbidade e letalidade da doença (Moraes et al. 2004). Os diversos avanços da medicina referente ao diagnóstico preciso e precoce das meningites, associados às terapias antimicrobianas, trouxeram maior eficácia ao tratamento das meningites, melhorando o prognóstico do indivíduo acometido pela doença. Todavia, levantam-se novos desafios às especialidades médicas como o uso racional dos antimicrobianos e a resistência de determinados agentes infecciosos a essa classe de medicamentos.

Em decorrência da maior atenção reservada aos casos de meningite, surge cada vez mais a necessidade de incremento de ferramentas diagnósticas e prognósticas mais acuradas na busca de diferenciar as formas de apresentação das meningites. Como exemplo, podemos citar métodos para diferenciar melhor os diversos tipos de meningites e formas de identificar indivíduos com doenças mais grave. Esses avanços podem levar à redução da morbimortalidade da doença, auxiliando também na diminuição do tempo de cuidados e internação hospitalar, eventualmente auxiliando em um melhor uso dos recursos empregados nos cuidados da saúde das pessoas.

## **2. Revisão da Literatura**

### **2.1 Estratégias de busca sistemática da informação**

Esta revisão de literatura está focada no estudo dos principais aspectos relacionados à meningite bacteriana e soluble triggering receptors expressed on myeloid cells 1 (sTREM-1). A forma de busca empregada envolveu as bases de dados MEDLINE (Pubmed), SciELO e LILACs no período de 1980 a 2015. A bibliografia de artigos selecionados também foi examinada e os resultados de estudos relevantes adicionais foram incorporados a presente revisão. Também foi consultado livros-texto. Nos sites Pubmed, SciELO e LILACs as palavras chaves usadas foram soluble triggering receptors expressed on myeloid cells-1, sTREM-1, bacterial meningitis, viral meningitis e cerebrospinal fluid havendo combinação destes termos (**Figura 1**).



**Figura 1:** Diagrama de estratégias para localizar e selecionar informações: tendo como fator de estudo: “soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1”; “sTREM-1”; “bacterial meningitis”; “viral meningitis”; “cerebrospinal fluid”.

## **2.2 Meningite**

A meningite é um processo inflamatório que acomete as leptomeninges, tecidos que cobrem o cérebro e a medula espinhal, este processo inflamatório pode ser desencadeado por micro-organismos como as bactérias, fungos e vírus, todavia o processo inflamatório pode ser também desencadeado por substâncias químicas e tumores (Heckenberg et al. 2014). Anatomicamente, as meninges são compostas por três membranas de tecido conjuntivo conhecidas como dura-mater, aracnoide e pia-mater em sua porção externa para a interna respectivamente (VanDemark 2013). As meninges apresentam papel crucial na proteção das estruturas por ela envolvida, cérebro e medula espinhal. Desta forma, a quebra desta “barreira” de proteção reflete numa inflamação as estruturas aracnoides e ventrículos determinando a migração de número anormal de células leucocitárias do sangue periférico para o líquido céfalo-raquidiano (LCR) tendo como definição da meningite (Ku et al. 2015).

## **2.3 Epidemiologia da Meningite e impacto do problema**

Antes do advento da terapia antimicrobiana, na década de 1930, a meningite bacteriana causava a morte de virtualmente todos os indivíduos afetados (Francis F. Schwentker 1937).

Mesmo com a eficácia dos antibióticos atuais nos processo infeccioso do LCR, as meningites continuam a causar elevada morbidade e mortalidade no mundo. Exemplo da gravidade desta doença evidencia-se na publicação de Durand et al. que em uma revisão de casos de meningite bacteriana aguda, em adultos, durante período de vinte e sete anos evidenciou uma taxa de mortalidade nos casos de meningite comunitária na faixa de 25% e de morbidade (complicações neurológicas focais) na faixa de 28% dos sobreviventes (Durand, Calderwood et al.1993). Reforçando estes dados entre 1970 e 1995 Aronin et al. analisaram 269 casos de meningite bacteriana adquiridas na comunidade com taxas de mortalidade durante as internações hospitalares de 27%, com 21% dos pacientes sobreviventes apresentando sequelas neurológicas (Aronin, Peduzzi et al. 1998).

Dados sobre a situação epidemiológica no Brasil, através do Portal de Saúde do SUS, evidencia que em 2013 foram confirmados e notificados

nacionalmente 18.602 casos de meningite, na sua totalidade e não especificado a sua etiologia, com uma taxa de incidência de 9,6 casos por 100.000 habitantes, alcançando uma taxa de letalidade (óbitos) de 9,3% (Fonte: GT – Meningite/UVRI-SINAN/DEVIT/SVS/MS).

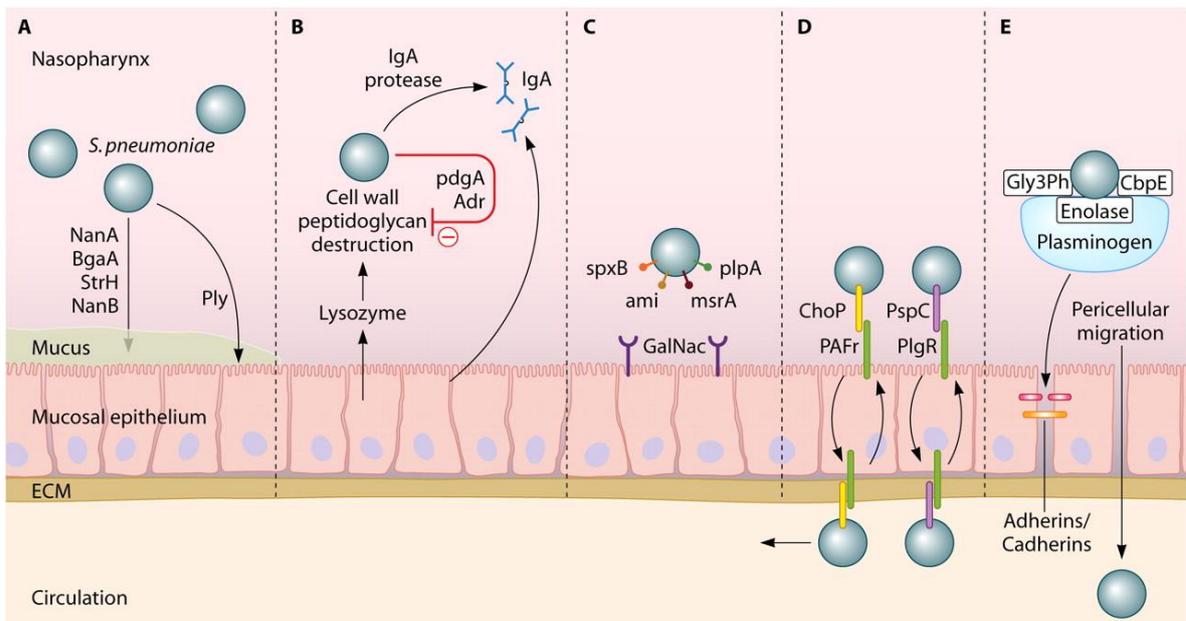
O Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) norte americano analisou o perfil epidemiológico na sua população. Thigpen et al., durante o período de 1998 a 2007, observaram que a faixa etária média da população notificada sofrera um aumento etário de 30, durante o período de 1998 a 1999, para aproximadamente 41 anos em 2006 a 2007, fato este justificado pelas campanhas de vacinação conjugada pneumocócica e vacina contra o *Haemophilus influenzae* do tipo b (Hib) conjugada na população gestacional e infantil respectivamente (Thigpen, Whitney et al. 2011). Todavia a letalidade da meningite nos casos estudados não se alterou significativamente, continuando elevada (14,3%).

Dentre os patógenos mais frequentemente encontrados na população, um estudo multicêntrico norte americano observou que a frequência dos principais patógenos variou com a idade, sendo que em adultos de até 60 anos o agente *Streptococcus pneumoniae* era responsável por 60% dos casos, seguido por *Neisseria meningitidis* com 20% dos casos, *Haemophilus influenzae* (10%), *Listeria monocytogenes* (6%) e por últimos o agente *Streptococcus* do grupo B com 4% dos casos (Schuchat, Robinson et al. 1997). Em adultos com 60 anos ou mais, o *Streptococcus pneumoniae* é o patógeno mais frequente, encontrado em 70% das vezes. Os casos devidos a *Listeria monocytogenes* aumentam, sendo responsáveis por até 20% das ocorrências (Schuchat, Robinson et al. 1997). Na população neonatal, o *Streptococcus* do grupo B foi o patógeno predominante. Entre crianças, nas faixas etárias de 2 a 18 anos, a *Neisseria meningitidis* foi a mais prevalente (59% dos casos).

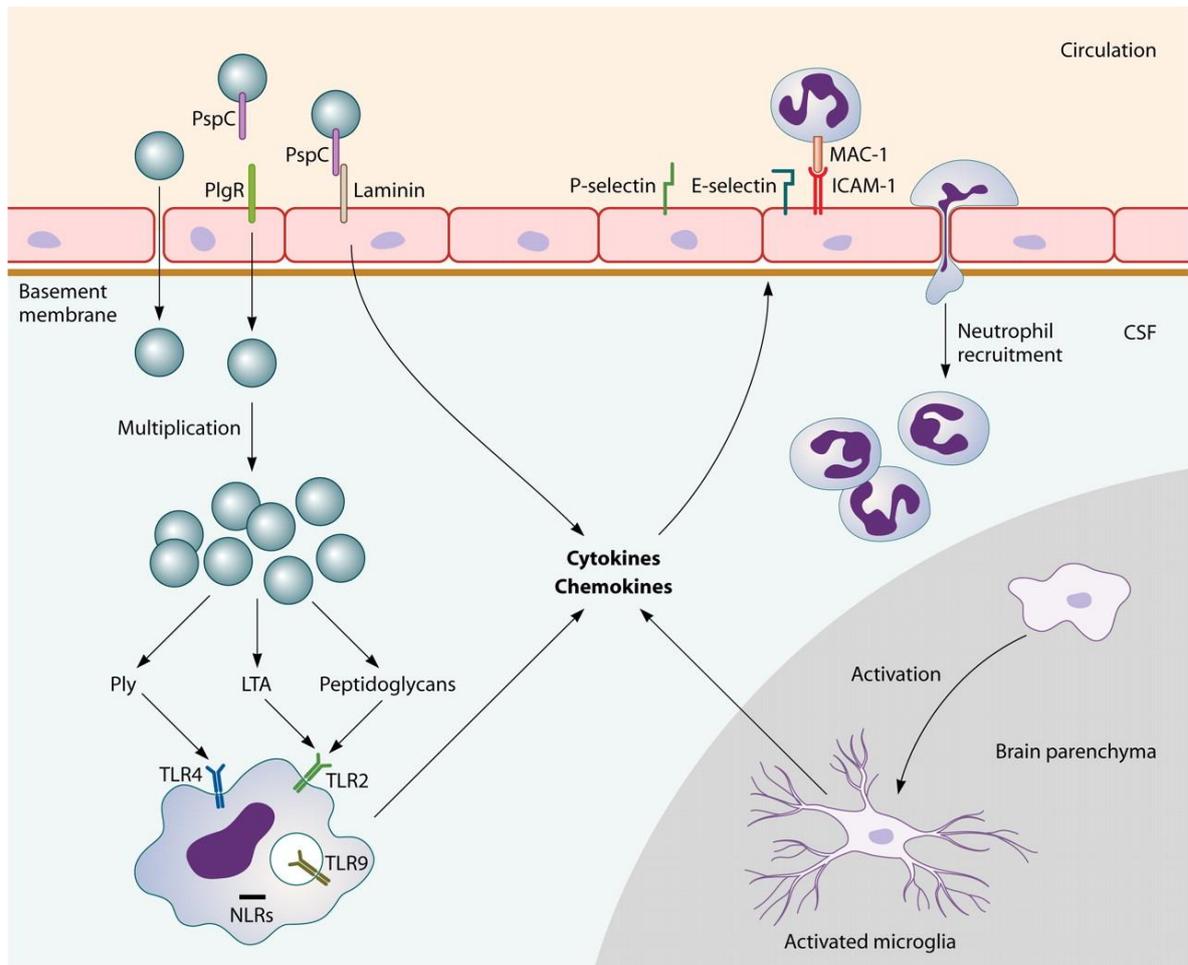
#### **2.4 Fisiopatologia e microbiologia aplicada**

Meningite bacteriana é o processo inflamatório secundário à infecção bacteriana das leptomeninges. Para que o processo fisiopatogênico da meningite ocorra, são necessários uma série de fatores intimamente relacionados à virulência do patógeno e a resposta imune do hospedeiro

**(Figuras 2 e 3).** Dentre estes fatores, podemos citar primariamente relacionados ao patógeno a capacidade de aderência microbiana à superfície do trato respiratório, a invasão da barreira mucosa, tropismo tecidual, ruptura de barreira hematoencefálica e bacteremia (Mook-Kanamori, Geldhoff et al. 2011).



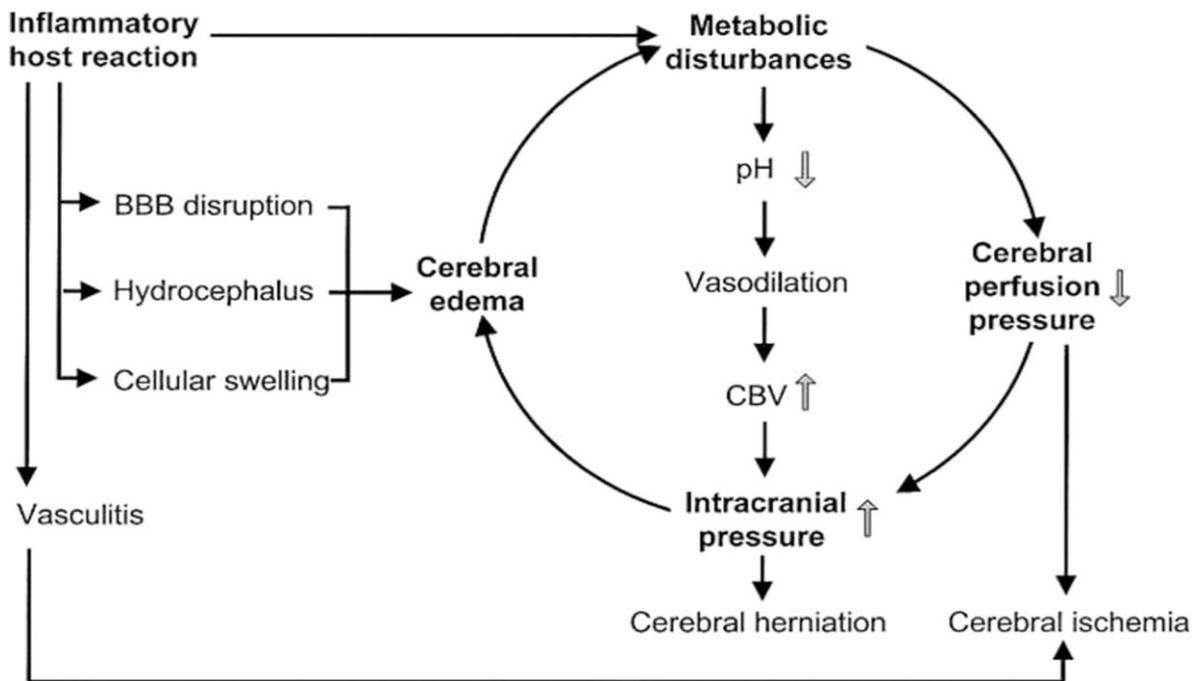
**Figura 2** – Ilustração da quebra da barreira mucosa na nasofaringe. Extraído de Mook-Kanamori et al. Pathogenesis and pathophysiology of pneumococcal meningitis. Clin Microbiol Rev. 2011 Jul;24(3):557-91.



**Figura 3** – Ilustração da aderência do pneumococo ao endotélio e quebra da barreira hematoencefálica com a multiplicação no LCR. Extraído de Mook-Kanamori et al. Pathogenesis and pathophysiology of pneumococcal meningitis. Clin Microbiol Rev. 2011 Jul;24(3):557-91.

O efeito imediato da presença de bactérias no espaço subaracnóide é o desencadeamento de orquestrada reação inflamatória da pia e da aracnóide, que se estende habitualmente para o LCR (**Figura 4**)(Scheld et al. 2002). A inflamação resulta em hiperemia das vênulas meníngeas e dos capilares meníngeos, levando a um estado de maior permeabilidade destes vasos, que por sua vez resulta na exsudação de proteínas e na migração de leucócitos para a pia-máter e para o espaço subaracnóide (Barichello, Generoso et al. 2012). Se não iniciado o tratamento, o exsudato do espaço subaracnóide aumenta rapidamente, em particular sobre as convexidades e base do encéfalo. O exsudato pode se estender às bainhas dos nervos cranianos e

espinhais e, por curtas distâncias, nos espaços perivasculares do córtex (Mook-Kanamori, Geldhoff et al. 2011).



**Figura 4** - Ciclo vicioso de alterações fisiopatológicas que levam à lesão neuronal durante a meningite bacteriana. Extraído de W. Michael Scheld et al. *J Infect Dis.* 2002;186:S225-S233.

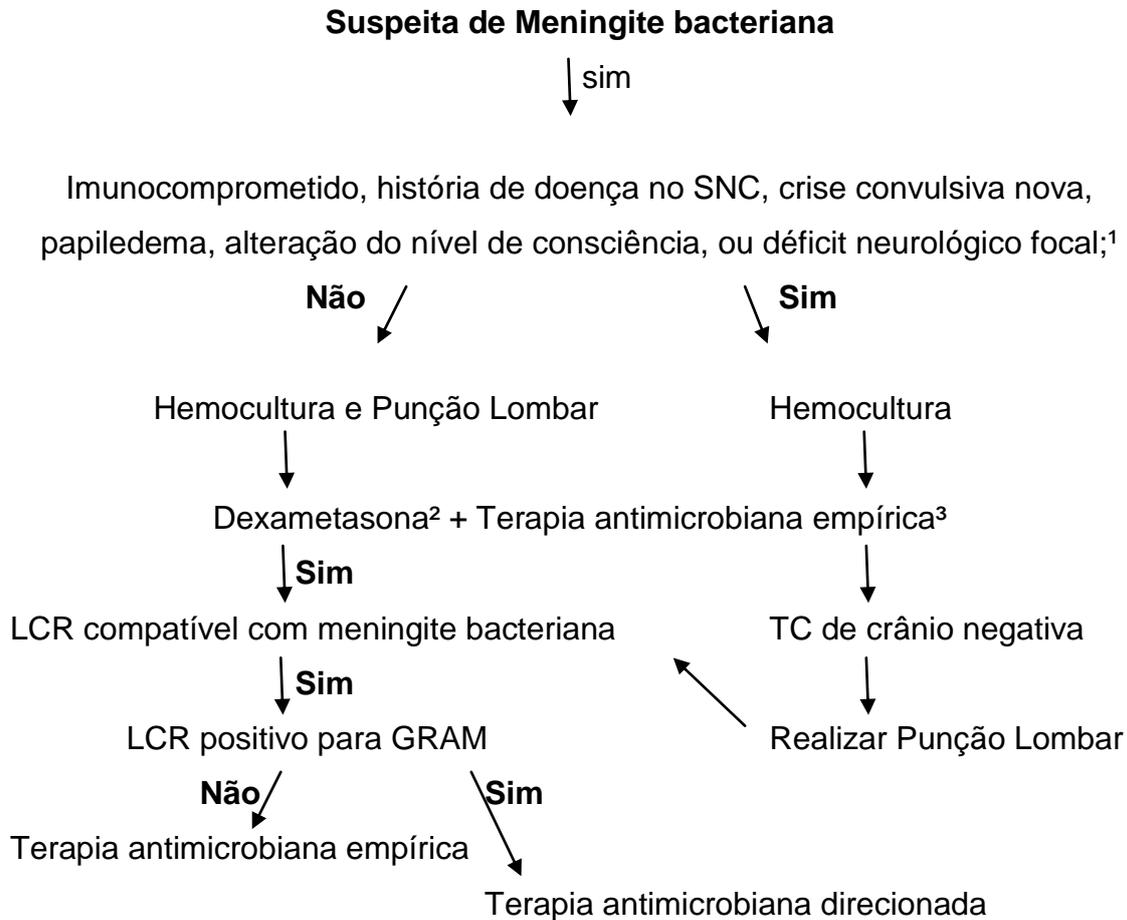
A lise das células bacterianas leva à liberação de mediadores inflamatórios que compõem a parede celular e a membrana plasmática (endotoxinas, ácido teicóico). Esses marcadores inflamatórios estimulam as células da glia e do endotélio capilar a aumentarem a produção e liberação de citocinas, como a interleucina 1 (IL-1) e interleucina 6 (IL-6), fator de necrose tumoral (TNF), fator ativador de plaquetas (PAF) e metabólitos do ácido araquidônico, entre outros (Scheld et al. 2002).

Durante os primeiros dias, o infiltrado tende a apresentar predomínio de polimorfonucleares (Brandt 2010). Gradualmente linfócitos e histiócitos aumentam em número relativo e absoluto. Embora já exista proliferação de fibroblastos precocemente, ela não é relevante até estágios mais avançados, quando eles assumem a função de organizar o exsudato, através de loculação dos bolsões exsudativos (Barichello, Generoso et al. 2012).

Durante o processo de resolução, as células inflamatórias desaparecem da mesma forma ordenada em que apareceram (Brandt 2010). Todo o processo inflamatório e sua resolução dependem de complexa interação entre microorganismo, células inflamatórias, mediadores celulares e drogas antimicrobianas. De fato, o grau de extensão da resolução do processo depende em qual estágio a infecção é efetivamente contida (Prasad, Rai et al. 2012).

## **2.5 Características clínicas**

O diagnóstico precoce e a rápida iniciação da terapia apropriada são vitais no tratamento dos pacientes com meningite bacteriana (Heckenberg, Brouwer et al. 2014). Thompson et al., através de uma sistemática revisão sobre a sequencia e o desenvolvimento dos sintomas iniciais em crianças e adolescentes com meningite meningocócica antes da sua admissão no hospital, observaram que sintomas iniciais de sepsis como dores nas pernas, mãos e pés frios e coloração anormal da pele antecede aos sintomas clássicos de meningite em crianças (Thompson, Ninis et al. 2006). Nestas situações a meningite bacteriana é frequentemente considerada, porém difícil de ser reconhecida. Tunkel et al., em artigo propôs um algoritmo diagnostico para casos de suspeita de meningite bacteriana (**Figura 5**) (Tunkel, Hartman et al. 2004) .



**Figura 5** - Algoritmo diagnóstico para meningite bacteriana aguda. <sup>1</sup>Inclui aqueles associados com derivações do LCR, hidrocefalia, trauma, aqueles que ocorrem após neurocirurgia, ou lesões ocupando espaço. <sup>2</sup>Dexametasona deve ser administrada imediatamente depois que a LCR for coletado. Adaptado de Tunkel et al. Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. Clin Infect Dis. 2004 Nov 1;39(9):1267-84.

As manifestações clínicas da meningite em adultos apresentam-se através da presença de sinais de rigidez do pescoço ao exame clínico como também a história clínica de sintomas como febre, dor de cabeça e alteração do estado mental, estes achados foram encontrados por van de Beek et al. em estudo prospectivo em apenas 44% dos pacientes(van de Beek, de Gans et al.

2004). A presença de pelo menos dois dos sinais acima citados levantam a hipótese de meningite a ser descartada.

Cabe salientar que na população idosa, em especial aqueles portadores de doenças subjacentes como diabetes mellitus e doença cardiopulmonar, podem apresentar somente discretos sinais de alteração do estado de consciência como letargia e obnubilação, sem sinais febris ou alterações clínicas de inflamação das meninges (Choi C. 2001). Alterações cutâneas como a erupção petequiral são presentes predominantemente nas meningites causadas pela *Neisseria meningitidis* (Durand ML, Calderwood et al. 1993.; van de Beek, de Gans et al. 2004).

Além dos sinais e sintomas típicos da meningite, muitos casos podem apresentar complicações neurológicas concomitantes. Aronin et al., analisaram casos de meningite adquirida na comunidade e observaram que a presença de convulsões, déficits neurológicos focais e edema de papila estão independentemente associados ao prognóstico de evolução clínica desfavorável (Aronin, Peduzzi et al. 1998).

## **2.6 Características laboratoriais**

Para o diagnóstico da meningite, a análise laboratorial encontra-se como ferramenta auxiliar para confirmação nos casos clínicos identificados ou sugestivos de meningite. Os estudos laboratoriais iniciam pela análise do sangue periférico através da contagem de células brancas no sangue que geralmente encontram-se elevadas nos processos infecciosos e muitas vezes com presença de células brancas imaturas, todavia a presença de leucopenia e plaquetopenia podem estar associados a formas graves de infecção (Kaplan 1999). O cultivo do sangue periférico em casos de meningite, idealmente antes da instituição de terapia antimicrobiana, são frequentemente positivo e auxiliam no direcionamento terapêutico. O rendimento das culturas de sangue periférico diminuem em torno de 20% naqueles pacientes na qual receberam pré-tratamento com antibióticos (Brouwer, Tunkel et al.2010).

O exame do LCR é essencial para o estabelecimento do diagnóstico da meningite, pois através desta análise permite a identificação do microrganismo e conseqüente realização de testes de suscetibilidade do agente identificado. Diferentemente das culturas de sangue periférico, na qual são suscetíveis a

administração de antimicrobianos, não se observa no LCR gerando efeitos mínimos sobre a bioquímica e citologia do líquido (Brouwer, Thwaites et al. 2012).

De uma forma geral, a análise do LCR incluiu a pesquisa direta de microrganismos através da coloração de Gram e a pesquisa indireta na qual se refere ao cultivo em meios especiais que propiciam o crescimento de potencial microrganismo, esta simples análise auxilia na diferenciação entre as formas de meningite bacteriana e viral (Geiseler, Nelson et al. 1980). A cultura do LCR ainda permanece como “padrão ouro” para o diagnóstico, assim como a sua obrigatoriedade de se obter *in vitro* a suscetibilidade do microorganismo para uma abordagem terapêutica racional (Brouwer, Tunkel et al.2010).

A análise das células brancas, glicose e da concentração de proteínas no LCR são também medidas que auxiliam na diferenciação entre as formas de meningite, caracteristicamente a presença de níveis de glicose abaixo dos padrões da normalidade no LCR (concentração usualmente menor que 40% da concentração plasmática), níveis de proteínas elevadas no LCR (usualmente acima de 50mg/dl) e número de células brancas elevados (tipicamente acima 1000 células/ $\mu$ L) associado a percentual elevado de neutrófilos sugerem fortemente a forma de meningite bacteriana (van de Beek et al. 2004; Brouwer, Tunkel et al.2010). A dosagem do lactato no LCR apresenta, juntamente com os demais testes laboratoriais, potencial fator de auxílio na diferenciação da meningite bacteriana da viral. Huy et al., através de uma revisão sistemática e meta-análise, chegaram a conclusão que a dosagem do lactato no líquido apresenta um bom indicador singular na diferenciação da meningite bacteriana da meningite viral e como também melhor biomarcador quando comparado com a análise da glicose no líquido, o quociente da glicose no LCR/plasma, proteínas no líquido e a contagem de leucócitos no líquido (Huy, Thao et al. 2010).

Marcadores séricos de inflamação, com o objetivo de diferenciar os casos de meningite bacteriana e meningite viral, podem auxiliar no diagnóstico. Os estudos retrospectivos de Dubos et al. e Heckenberg et al. evidenciaram que o aumento dos níveis séricos da Procalcitonina (>0,5ng/ml) e da Proteína C reativa (>20mg/L) estavam associados com meningite bacteriana (Dubos, Korczowski et al. 2008; Heckenberg, Brouwer et al.2014).

Dentre os testes auxiliares, podemos citar a análise da reação em cadeia da polimerase (PCR) que busca, através da amplificação dos ácidos nucleicos, a identificação de microrganismos como bactérias, fungos e vírus específicos. Trata-se de uma ferramenta de grande utilidade quando a pesquisa através do Gram e as culturas foram negativas. A análise por PCR também auxilia na rápida detecção de patógenos, quando comparado a análise de culturas de bactérias (Backman, Lantz et al. 1999). Entre pacientes expostos a terapia antimicrobiana antes da coleta do LCR, a análise por PCR apresenta maior índice de detecção do patógeno em comparação a análise por cultura (58% VS 29%) (Chiba, Murayama et al. 2009). Todavia, deve-se reconhecer que existem muitas exceções e que a decisão diagnóstica deve levar em conta todos os fatores clínicos e paraclínicos (laboratoriais).

## 2.7 Meningite em crianças

A meningite em lactentes e crianças acima de um ano é uma emergência médica e necessita de medidas imediatas diagnósticas de sua etiologia e terapêutica. O índice de mortalidade na meningite bacteriana não tratada beira a 100% dos casos. Mesmo com acesso a terapia ideal, as taxas de mortalidade e morbidade podem ocorrer e associado a sequelas neurológicas nos sobreviventes. Nas últimas décadas, a morbidade associado à meningite neonatal tem permanecido inalterada (Heath, Okike et al. 2011).

Dentre os organismos causadores da meningite bacteriana em crianças observa-se que com a introdução no calendário de vacinas como a Hib e a vacina pneumocócica conjugada houve uma redução na taxa de incidência de meningite bacteriana pelos agentes *Haemophilus influenzae* do tipo b e o pneumococo, exceto nas crianças abaixo de 2 meses que apresenta pico de incidência elevada. Os trabalhos de Thigpen et al., realizado nos Estados Unidos no período de 2006 a 2007, elucidaram que a taxa de incidência de meningite bacteriana varia conforme a faixa etária (**Figura 6**) (Thigpen, Whitney et al. 2011).

**Figura 6** – Adaptação da incidência de meningite bacteriana em crianças nos Estados Unidos no período de 2006 e 2007 (Thigpen, Witney et al. 2011)

- <2 meses - 80,69 por 100.000 habitantes
- 2 a 23 meses - 6,91 por 100.000 habitantes
- 2 a 10 anos - 0,56 por 100.000 habitantes
- 11 a 17 anos - 0,43 por 100.000 habitantes

Os organismos responsáveis pela meningite bacteriana em crianças dependem primariamente da rota de aquisição e dos fatores predisponentes do hospedeiro. Anteriormente à introdução da vacina contra o Hib, este agente era o mais prevalente na população infantil, com queda significativa de sua incidência. Da mesma forma, houve queda na incidência de casos de meningite por *Streptococcus pneumoniae*, numa porcentagem maior que 55%, com o advento da vacinação em larga escala da vacina pneumocócica conjugada. Entretanto, a meningite bacteriana causada pelo pneumococo continua sendo a causa mais frequente e determinando elevada morbidade e mortalidade, mesmo com uso de terapia adequada. Nigrovic et al. através de revisão retrospectiva de 203 casos de meningite bacteriana em crianças no período de 2001 e 2004 observou os agentes mais prevalentes de acordo a com faixa etária (**Tabela 1**), posteriormente estes dados foram reproduzidos por Thigpen et al. (Nigrovic, Kuppermann et al. 2008; Thigpen, Witney et al. 2011).

**Tabela 1-** Adaptação da frequência relativa de patógenos causadores da meningite bacteriana em crianças de acordo a faixa etária (Nigrovic, Kuppermann et al. 2008; Thigpen, Whitney et al. 2011).

Faixa etária	Estreptococos do grupo B	Bacilos Gram-negativos	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
>1 mês e < 3 meses	39%	32%	14%	12%
>3 meses e < 3 anos	11%	9%	45%	34%
>3 anos e < 10 anos			47%	32%
>10 anos e < 19 anos				55%

Além dos fatores predisponentes como determinados agentes específicos para causar a meningite bacteriana, como por exemplo o *Streptococcus pneumoniae*, outros fatores também podem aumentar o risco de adquirir a meningite bacteriana. Chávez-Bueno et al. através de seu artigo de revisão identificou vários fatores predisponentes que aumentam o risco para adquirir a meningite bacteriana, sendo eles: A exposição a indivíduos com meningite meningocócica ou por *Haemophilus influenzae* do tipo b; Histórico recente de viagens a áreas endêmicas como a África sub-saarina; Infecções respiratórias ou otológicas recentes na qual facilita a porta de entrada a infecção; Traumatismos crânio-encefálicos como também procedimentos neurocirúrgicos ou otorrinolaringológicos (colocação de implante coclear) (Chávez-Bueno, McCracken et al. 2005).

O curso da meningite bacteriana pode apresentar dois padrões de apresentação. No primeiro tipo de apresentação a meningite desenvolve-se de forma progressiva ao longo de um ou vários dias e pode ser precedida por

quadro febril. A segunda forma de apresentação apresenta curso de instalação fulminante, juntamente com manifestações de sepse e meningite com rápido desenvolvimento ao longo de horas (van Furth, Roord et al. 1996).

As características clínicas da apresentação da meningite bacteriana em crianças são muito variadas e relacionadas à idade do paciente. A maioria dos casos de meningite em crianças apresenta-se com febre e sinais de inflamação das meninges (náuseas, vômitos, irritabilidade, inapetência, cefaleia, alteração do estado de consciência e rigidez de nuca), todavia a presença destes sinais irritativos das meninges são claramente observadas tardiamente à instalação do quadro infeccioso que muitas vezes estão associados a desfechos desfavoráveis (Roos et al. 2011).

Na população neonatal a apresentação clínica da meningite pode ser súbita e inespecífica (Galiza, Heath et al. 2009; Ku, Boggess et al. 2015) com presença de sinais clínicos muitos variados (**Figura 7**).

- 1- Febre ou hipotermia
- 2- Irritabilidade ou letargia
- 3- Hipotonia
- 4- Intolerância alimentar ou vômito
- 5- Dificuldade respiratória
- 6- Apneia
- 7- Bradicardia
- 8- Hipotensão
- 9- Pobre perfusão
- 10-Convulsões
- 11-Abaulamento da fontanela anterior
- 12-Rigidez de nuca
- 13-Icterícia
- 14-Hipoglicemia ou hiperglicemia
- 15-Diarreia

**Figura 7** - Sinais clínicos da meningite neonatal: Adaptado de: Ku LC, Boggess KA, Cohen-Wolkowicz M. Bacterial meningitis in infants. Clin Perinatol.2015Mar;42(1):29-45,vii-viii.

Os achados neurológicos mais comumente encontrados nas crianças com meningite são as alterações do estado de consciência, evidenciado pela presença de comportamento letárgico ou sonolento como também as formas mais graves como a obnubilação e coma (Feigin, McCracken et al. 1992). O aumento da pressão intracraniana manifesta-se através das queixas de dores de cabeça em crianças maiores e a presença do abaulamento da fontanela ao exame clínico observado nas crianças menores (Curtis, Stobart et al.2010). As convulsões tanto generalizadas como focais são também encontradas nos casos de meningite. A presença de sinais deficitários neurológicos como hemiparesia, tetraparesia, paralisia facial e alterações do campo visual encontram-se presentes nos casos de meningite na sua admissão e muitas vezes correlacionam-se com persistência do exame neurológico anormal no final do tratamento da meningite como potencial complicação neurológica (Kaplan 1999).

## **2.8 Fatores prognósticos da Meningite**

A meningite historicamente constitui-se de uma patologia com elevado índice de mortalidade e morbidade, que com o advento da terapia antimicrobiana e a instituição de vacinas na população infantil sofreu marcante redução destes índices, porém ainda resulta em casos de morte. Exemplo disto podemos citar as meningites causada pelo *Streptococcus pneumoniae*, que alcançam o mais alto índice de fatalidade, com frequência de 19% a 37% de morte (Brouwer, Tunkel et al.2010; van de Beek, de Gans et al. 2006).

Dentre os princípios gerais de prognóstico na meningite bacteriana podemos afirmar que a prevenção do atraso na administração da antibioticoterapia adequada pode ter um efeito de bom prognóstico sobre os resultados da doença (Ku, Boggess et al. 2015). O segundo princípio geral nos casos de meningite bacteriana é a determinação do esquema antibiótico ideal que se constitui nas características do fármaco em apresentar efeito bactericida contra o organismo infectante e que este agente seja capaz de penetrar a barreira hemato-encefálica para que atinja uma concentração ideal no LCR (Lutsar, McCracken et al. 1998).

Os autores Thigpen et al. observaram que na análise da taxa de mortalidade apresenta um crescimento linear para a população idosa, sugerindo que a faixa etária do indivíduo acometido pela meningite seja fator relevante no desfecho da doença (Thigpen, Witney et al. 2011).

O prognóstico da meningite também tem variado de acordo com o microrganismo existente. Durand et al., identificaram que na sua população estudada a mortalidade foi maior entre os indivíduos com infecção por *Streptococcus pneumoniae* e *Listeria monocytogenes* em relação aos casos de infecção por *Neisseria meningitidis*. Também observaram que os casos de meningite nosocomial apresentou maior mortalidade em comparação aos casos de meningite adquirida na comunidade (Durand, Calderwood et al.1993).

As complicações neurológicas, como a presença de alteração do estado de consciência na admissão à emergência e a presença de crises convulsivas nas primeiras 24 horas, foram relatadas como fatores de risco isolados para morte na população com meningite bacteriana adquirida na comunidade (van de Beek, de Gans et al.2004).

Os autores Aronin et al. através do seguimento de coorte identificaram que as três características clínicas (hipotensão, alteração do estado de consciência e crises convulsivas) resultam em fatores de risco independentes associado aos desfechos de déficit neurológico pós alta hospital e morte (Aronin, Peduzzi et al. 1998).

A terapia antimicrobiana precoce e direcionada ao agente causador da meningite bacteriana é claramente reconhecida como fator favorável no desfecho da doença. Em particular o uso concomitante de dexametasona aos antibióticos, nos casos de meningite pneumocócica aguda, observou-se significativa redução na taxa de mortalidade (de Gans, van de Beek et al. 2002).

Recentemente os autores Weisfelt et al. construíram e validaram um modelo simples com a capacidade de avaliar o desfecho de casos de meningite bacteriana em adultos através do uso de seis variáveis rotineiramente verificadas após uma hora da admissão dos pacientes (idade, frequência cardíaca, score da Escala de Coma de Glasgow, presença ou ausência de paralisia de nervos cranianos, contagem de leucócitos no LCR acima da 1000/mL e a presença de cocos GRAM positivos no LCR). Este modelo

conseguiu identificar os casos de meningite bacteriana com potencial risco de desfecho desfavorável após uma hora da sua chegada a emergência, trazendo importantes informações para os pacientes e seus familiares (Weisfelt, van de Beek et al. 2008).

### 3. TREM-1

Proteínas TREM (*triggering receptors expressed on myeloid cells*) são uma família de receptores celulares de superfície amplamente expressos nas células mielóides. O primeiro dos receptores do tipo TREM, e por isso denominado TREM-1, foi caracterizado como um amplificador da resposta imunológica. Ele potencializa fortemente a ativação dos leucócitos frente a produtos bacterianos. Após a descoberta do TREM-1, outras proteínas com função homóloga foram descritas e são expressas em monócitos, macrófagos, micróglia, células dendríticas, osteoclastos e plaquetas (Ford and McVicar 2009).

A proteína TREM-1 é expressa em neutrófilos e monócitos e serve como um modulador da resposta inflamatória (Bouchon, Dietrich et al. 2000; Bouchon, Hernandez-Munain et al. 2001; Paloneva, Manninen et al. 2002). Embora a TREM-1 seja um receptor órfão, com ligantes ainda não completamente definidos, estudos iniciais mostraram que essa proteína tem sua expressão bastante aumentada em resposta ao lipopolissacarídeo (LPS). Muitos estudos têm sugerido que TREM-1 seja altamente expressa em reações inflamatórias causadas por bactérias e fungos, mas não em processos inflamatórios não infecciosos (Colonna, Facchetti et al. 2003; Bouchon, Hernandez-Munain et al. 2001).

Estudos funcionais sugerem que a TREM-1 atua de modo sinérgico com outras moléculas que são ativadas em resposta a padrões associadas a moléculas patogênicas (PAMPs), incluindo receptores do tipo Toll e Nod (Fukata, Vamadevan et al. 2009). A co-ativação dos receptores TREM-1 e PAMPs produz uma resposta inflamatória sistêmica muito maior do que a ativação isolada de TREM-1 ou de PAMPs. Essa ativação parece ter um papel importante na inflamação associada a infecções bacterianas, particularmente

naqueles pacientes com quadros de resposta inflamatória severa e no desenvolvimento dos quadros de sepse (Klesney-Tait et al., 2007).

### **3.1 TREM-1 nas infecções em geral**

Um dos primeiros estudos clínicos realizados, avaliando um possível papel da proteína TREM-1 no diagnóstico das infecções bacterianas, foi realizado em pacientes em ventilação mecânica para diagnóstico de pneumonia bacteriana em Unidade de Terapia Intensiva. A proteína TREM-1 solúvel (sTREM-1), quando presente no lavado broncoalveolar, foi o fator isolado independente mais fortemente associado com pneumonia bacteriana (OR = 41.5; IC 95% = 20.9-77.6). Esse estudo mostrou que, nos pacientes em ventilação mecânica, a detecção de TREM-1 no lavado broncoalveolar pode ser útil em estabelecer ou excluir o diagnóstico de pneumonia bacteriana ou fúngica (Gibot, Cravoisy et al. 2004).

Os autores Richeldi et al. demonstraram aumento de TREM-1 em lavado broncoalveolar de pacientes com pneumonia bacteriana, em contraste com pacientes com tuberculose ou doença pulmonar intersticial. Esses achados confirmaram que o TREM-1 pode ser um marcador específico e sensível para doenças bacterianas pulmonares (Richeldi, Mariani et al. 2004).

Tais achados foram replicados e ampliados posteriormente. Autores como Determann et al., Horonenko et al. e Liu et al. demonstraram aumento de sTREM-1 em derrame pleural associado a infecções pulmonares bacterianas e em pacientes com neoplasias, quando comparados com aqueles pacientes que apresentavam apenas transudato. Esses autores sugeriram ainda que níveis muito elevados de sTREM-1 seriam capazes de excluir derrame pleural associado a tuberculose (Determann, Millo et al. 2005; Horonenko, Hoyt et al. 2007; Liu, Hsieh et al. 2007).

Para estudar melhor a regulação da proteína nas respostas inflamatórias, Knapp et al. estudaram a expressão da sTREM-1 após a administração de LPS em voluntários humanos saudáveis. Esse estudo demonstrou que o LPS aumenta inequivocamente os níveis de sTREM-1 em humanos (Knapp, Gibot et al. 2004). Esses dados estão em linha com estudos

que sugerem que além de infecções pulmonares, outros tipos de infecções bacterianas em pacientes clínicos podem levar ao aumento de expressão da sTREM-1. Nessas, a expressão de sTREM-1 e/ou aumento sérico de sTREM-1 parecem ser úteis para o diagnóstico ou como fator prognóstico.

Os autores Dupuy et al. e Henriquez-Camacho et al. em artigos de revisão ressaltam a aplicabilidade clínica da TREM-1 como ferramenta de valor diagnóstico nas infecções agudas como a pneumonia, meningite e sepsis e também valor prognóstico em gravidade da sepsis (Dupuy, Philippart et al. 2013; Henriquez-Camacho and Losa 2014). Além das observações realizadas em pacientes com processos infecciosos, aumentos de TREM-1 também têm sido descritos em processos inflamatórios não infecciosos. Nessa linha, Schenk et al. relataram aumento de TREM-1 em células mielóides em modelos de ratos com doença intestinal inflamatória e os autores Jung et al. observaram que níveis elevados da sTREM-1 foi o biomarcador que mais se correlacionou com a atividade inflamatória intestinal pela endoscopia nos casos de colite ulcerativa, sugerindo que a proteína sTREM-1 seja uma ferramenta complementar da avaliação endoscópica (Schenk, Bouchonet al. 2007; Jung, Park et al. 2012). Adib-Conquy et al. relataram aumento nos níveis séricos de sTREM-1 após parada cardiorrespiratória, sugerindo que a proteína sTREM-1 pode apresentar-se em processos inflamatórios agudos sem infecção (Adib-Conquy, Monchi et al. 2007). Da mesma forma os trabalhos de Ferat-Osorio et al. descreveram que a expressão da proteína sTREM-1 encontrou-se elevada nos casos de pancreatite aguda grave e que estes achados também não se correlacionam com infecção e sim com o processo inflamatório (Ferat-Osorio, Wong-Baeza et al. 2009). Min et al. relataram aumento do sTREM-1 em monócitos no período imediato após queimaduras. Estes autores sugeriram que este aumento pode estar relacionado com o desenvolvimento de resposta inflamatória aguda em grandes queimados (Min, Zhang et al. 2007).

Portanto, algumas questões envolvendo aumento de TREM-1, no curso de inflamação ou infecção, permanecem completamente não elucidadas. A **tabela 2** elucida de forma temporal autores e seus trabalhos relacionados a proteína sTREM-1.

**Tabela 2:** Autores e seus trabalhos relacionados a proteína sTREM-1.

<b>Autores</b>	<b>Ano</b>	<b>Tecido utilizado</b>	<b>Conclusões sobre sTREM-1</b>
Gibot et al.	2004	Fluidos biológicos	Uso potencial para diagnóstico de infecções bacterianas.
Gibot et al.	2004	Lavado broncoalveolar	Diagnóstico de pneumonia bacteriana ou fúngica em casos de ventilação mecânica.
Richeldi et al.	2004	Lavado broncoalveolar	Expressão seletiva em casos de pneumonia causada por bactéria (potencial marcador em diagnóstico diferencial).
Gibot et al.	2005	Sangue periférico	Preditor prognóstico em pacientes com sepsis.
Determann et al.	2005	Sangue periférico e lavado broncoalveolar	Potencial biomarcador diagnóstico em pneumonia associado a ventilação mecânica.
Gibot et al.	2005	Sangue periférico	Elevada especificidade em infecções. Utilidade no acompanhamento da sepsis durante o curso da doença.
Gibot et al.	2006	Fluidos biológicos	Ferramenta diagnóstica durante casos de sepsis grave e pneumonias.
Determann et al.	2006	Liquor	Diagnóstico e prognóstico na meningite bacteriana.
Bishara et al.	2007	Liquor	Elevada especificidade no diagnóstico da meningite bacteriana.

<b>Autores</b>	<b>Ano</b>	<b>Tecido utilizado</b>	<b>Conclusões sobre sTREM-1</b>
Liu et al.	2007	Líquido pleural	Níveis elevados em derrame pleural do tipo exudato parapneumônico e neoplásico. Elevada concentração de sTREM-1 pode excluir a hipótese de tuberculose pleural.
Radsak et al.	2007	Sangue periférico	Potencial marcador de doença em pacientes com DPOC.
Tejera et al.	2007	Sangue periférico	Utilidade diagnóstica e prognóstica nos casos de Pneumonia adquirida na comunidade.
Gibot et al.	2007	Lavado broncoalveolar	Auxílio na detecção de sepsis nosocomial e a diferenciação de pneumonia associado a ventilação mecânica da pneumonia extrapulmonar.
Chan et al.	2007	Líquido pleural	Importante marcador no estabelecimento da etiologia do derrame pleural.

<b>Autores</b>	<b>Ano</b>	<b>Tecido utilizado</b>	<b>Conclusões sobre sTREM-1</b>
Horonenko et al.	2007	Lavado broncoalveolar e fluido coletado da “armadilha” expiratória do ventilador	Detecção de sTREM-1 no “condensado exalado do ventilador”. Possibilidade de estabelecer ou excluir o diagnóstico de Pneumonia associado a ventilação mecânica.
Yasuda et al.	2008	Sangue periférico	Níveis de sTREM-1 foram significativamente aumentados e correlacionados com a gravidade da doença e disfunção orgânica precoce em pacientes com pancreatite aguda.
El Solh et al.	2008	Sangue periférico e lavado broncoalveolar	Potencial marcador nas síndromes aspirativas pulmonares.
Giamarellos-Bourboulis et al.	2008	Sangue periférico	Participação da sTREM-1 na cascata da síndrome da resposta inflamatória sistêmica pós-traumática.
Bishara et al.	2009	Líquido pleural	Potencial auxílio na diferenciação de efusão pleural bacteriana da não bacteriana, particularmente no derrame pleural pós-toracotomia.
How et al.	2009	Sangue periférico	TREM-1 e Proteína C Reativa são similares como marcadores diagnósticos da sepsis.
Liao et al.	2009	Sangue periférico	Níveis de sTREM-1 foram significativamente aumentados e correlacionados com sepsis associado a colangite aguda.

<b>Autores</b>	<b>Ano</b>	<b>Tecido utilizado</b>	<b>Conclusões sobre sTREM-1</b>
Collins et al.	2009	Líquido sinovial	A expressão de sTREM-1 no líquido sinovial é aumentada na artrite séptica e artrite reumatoide.
Park et al.	2009	Sangue periférico	Potencial marcador de atividade das doenças inflamatórias intestinais, em especial a colite ulcerativa.
Miao et al.	2009	Sangue periférico	Níveis de sTREM-1 elevados na colangite supurativa obstrutiva aguda, sugerindo provável importância de sTREM-1 no desenvolvimento da doença.
Kuai et al.	2009	Líquido sinovial	Níveis elevados de sTREM-1 pode contribuir no desenvolvimento ou na manutenção da artrite reumatoide. Potencial indicador de atividade da doença.

<b>Autores</b>	<b>Ano</b>	<b>Tecido utilizado</b>	<b>Conclusões sobre sTREM-1</b>
How et al.	2010	Sangue periférico	Em pacientes recém-admitidos com pneumonia adquirida na comunidade, a determinação dos níveis de sTREM-1 podem fornecer informações diagnósticas sobre a etiologia bacteriana.
Bingold et al.	2011	Sangue periférico e lavado broncoalveolar	Níveis elevados de sTREM-1 correlaciona-se com casos de contusão pulmonar e a sua gravidade.
Erdman et al.	2011	Sangue periférico	sTREM-1 como potencial biomarcados diagnóstico de casos pediátricos de malária e prognóstico de gravidade.
Hirayama et al.	2011	Sangue periférico	sTREM-1 como potencial marcador de detecção de complicações infecciosas nos casos de MPO-ANCA associada a vasculite.
Jung et al.	2011	Sangue periférico	Potencial indicador de atividade da doença em pacientes com doença intestinal por Behcet.
Tintinger et al.	2011	escarro	Concentrações de sTREM-1 no escarro pode predizer gravidade da doença em pacientes com pneumonia adquirida na comunidade.

<b>Autores</b>	<b>Ano</b>	<b>Tecido utilizado</b>	<b>Conclusões sobre sTREM-1</b>
Su et al.	2012	Sangue periférico	sTREM-1, Procalcitonina e Proteína C reativa demonstraram papel no diagnóstico inicial da sepsis. Níveis de sTREM-1 pode refletir prognóstico da bacteremia.
Su et al.	2012	Sangue periférico	Alterações dinâmicas no polimorfismo de sTREM-como potencial uso na avaliação prognóstica da sepsis.
Saurer et al.	2012	Tecido colônico	sTREM-1 como um potencial marcador substituto de atividade da doença em pacientes com doenças inflamatórias do intestino.
Jeong et al.	2012	Sangue periférico	Níveis de sTREM-1 na admissão como marcador prognóstico de gravidade na sepsis.
Jung et al.	2012	Sangue periférico	Níveis de sTREM-1 podem representar um marcador complementar para avaliação de atividade endoscópica na colite ulcerativa.
Bostanci et al.	2013	Saliva e sangue periférico	Níveis de sTREM-1 podem representar um marcador entre as infecções periodontais e resposta inflamatória sistêmica.
Oku et al.	2013	Sangue periférico	Possível utilidade de sTREM-1 em avaliar a gravidade da doença e a sobrevida de em pacientes com SIRS ou sepsis.

<b>Autores</b>	<b>Ano</b>	<b>Tecido utilizado</b>	<b>Conclusões sobre sTREM-1</b>
Suchankova et al.	2013	Lavado broncoalveolar	sTREM-1 como um potencial marcador de doença inflamatória com poder de auxiliar no diagnóstico e monitoramento da sarcoidose pulmonar.
Dopheide et al.	2013	Sangue periférico	sTREM-1 como um potencial biomarcador de inflamação e com poder de avaliar a gravidade da doença arterial periférica.
Horst et al.	2013	Sangue periférico	sTREM-1 como marcador de gravidade para infecção por <i>S. pyogenes</i> e possível alvo no tratamento da sepsis estreptocócica.
van Bremen et al.	2013	Sangue periférico	sTREM-1 como via no papel da adequada doença inflamatória e resposta bactericida frente a sepsis bacteriana.
Matsuno et al.	2013	Lavado bronco alveolar, sangue periférico e fluido coletado da “armadilha” expiratória do ventilador	Medidas de sTREM-1 no “condensado exalado do ventilador” podem ser útil para o diagnóstico de Pneumonia associado a ventilação mecânica após cirurgia cardíaca.
Grover et al.	2014	Sangue periférico e lavado broncoalveolar	A incorporação da sTREM-1 no marcador bioescore 7 discrimina com precisão casos de pneumonia associado a ventilação de infecções não pulmonares.

<b>Autores</b>	<b>Ano</b>	<b>Tecido utilizado</b>	<b>Conclusões sobre sTREM-1</b>
Kim et al.	2014	Sangue periférico	A expressão aumentada da sTREM-1 dentre outros biomarcadores colaboram com o entendimento da patogênese do colesteatoma.
Adly et al.	2014	Sangue periférico	Níveis elevados de sTREM-1 pode ser considerado marcador precoce em casos de sepsis neonatal e refletir a gravidade e prognóstico desfavorável.
Sato et al.	2014	Sangue periférico	Níveis de sTREM-1 pode ser útil como marcador de atividade na policondrites remissiva.
Dai et al.	2015	Urina e sangue periférico	A expressão da sTREM-1 dentre outros biomarcadores podem ser usados como ferramenta diagnóstica e preditora de agravação em casos de injúria renal aguda em pacientes críticos com sepsis.
Zhang et al.	2015	Sangue periférico	sTREM-1 como um potencial marcador de monitoramento da atividade da doença em pacientes com colite ulcerativa.
Lemarié et al.	2015	Sangue periférico	sTREM-1 como um potencial marcador para diagnóstico e prognóstico de sepsis e infecções localizadas.

### 3.2 TREM-1 e meningite

Apenas três estudos avaliaram os níveis de TREM-1 no líquido em pacientes com meningite bacteriana. Determann et al. em um estudo retrospectivo de acurácia, avaliaram os níveis de sTREM-1 no líquido de 92 pacientes adultos com diagnóstico de meningite bacteriana. Os resultados foram comparados com os achados obtidos em nove pacientes com meningite viral e em oito pacientes controles saudáveis, com líquido normal. Estes autores especificaram que em adultos, o nível de acurácia do sTREM-1 para diagnóstico de meningite bacteriana no líquido foi de 0.82. Além disto, estes autores sugeriram que em adultos, níveis muito aumentados de sTREM-1 no líquido possam prever mortalidade. Os autores concluíram que sTREM-1 em líquido pode ser um bom marcador diagnóstico e prognóstico para pacientes com meningite bacteriana e sugeriram que estudos prospectivos, tais como o proposto neste projeto são necessários para melhor definição desses aspectos (Determann, Weisfelt et al. 2006).

Em outro estudo realizado em adultos, Bishara et al. confirmaram os achados iniciais de Determann et al. No entanto, esses autores conduziram um estudo prospectivo, avaliando os níveis de sTREM-1 no líquido de pacientes com suspeita de meningite ou encefalite, comparando os valores obtidos com aqueles de pacientes normais que realizaram estudo de líquido para diagnósticos de doenças não infecciosas. Esses autores encontraram níveis aumentados de sTREM-1 no líquido de sete pacientes com culturas positivas para meningite bacteriana (78% dos casos de um total de nove pacientes) e em nenhum dos 12 pacientes com culturas negativas. Esses autores sugeriram, portanto, que dosagens de sTREM-1 no líquido podem ser úteis para o diagnóstico das meningites bacterianas, com sensibilidade e especificidade de 78% e 100%, respectivamente. Através de uma curva ROC, estes autores estabeleceram que o uso de sTREM-1 como preditor de meningite bacteriana foi de 0.889. Baseados nesses dados, esses autores sugeriram que o sTREM-1 pode ser útil para os clínicos no diagnóstico das meningite bacteriana (Bishara, Hadari et al. 2007).

O terceiro estudo, publicado por Liu et al, analisou a combinação de dois biomarcadores (sTREM-1 e Decoy receptor 3 (DcR3)) no LCR em pacientes com suspeita de meningite bacteriana nosocomial. Conduziram um estudo retrospectivo com 123 pacientes recrutados, com 80 casos confirmados de meningite bacteriana nosocomial na qual ambos biomarcadores apresentaram níveis significativamente elevados nos casos confirmados de meningite bacteriana. No entanto os autores relataram a discrepância dos resultados de sensibilidade e especificidade do sTREM-1 na população estudada em comparação as publicações anteriores de Determann et al. (sensibilidade de 73% e especificidade de 77%) e Bishara et al. (sensibilidade de 77,8% e especificidade de 100%), com valor de sensibilidade de 60% e especificidade de 88,37%. Esses autores sugeriram, portanto, que a adição da combinação dos biomarcadores sTREM-1 e DcR3 parece aumentar o rendimento diagnóstico em diferenciar casos de meningite bacteriana nosocomial daqueles sem meningite bacteriana, em comparação ao seu uso individualizado (Liu, Shao et al. 2015).

Carrol et al. Publicaram, em 2009, um estudo prospectivo realizado no Malauí, onde acompanharam crianças admitidas no hospital com quadro de infecção bacteriana grave, associado a sinais e sintomas de pneumonia ou meningite. Os autores avaliaram a utilidade de cinco biomarcadores de infecção analisados pelo sangue periférico (Proteína C Reativa, Procalcitonina, sTREM-1, CD163 e high mobility group box-1 (HMGB1) na tentativa de identificar crianças com elevado risco de morte . Concluíram que, dentre os cinco biomarcadores, a Procalcitonina é a que apresentou melhor desempenho diagnóstico e prognóstico nos casos de infecção bacteriana grave, tanto por pneumonia quanto por meningite bacteriana, inclusive nos casos portadores da infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Todavia nenhum dos biomarcadores estudados demonstraram valor de predizer morte na população infantil Africana estudada (Carrol, Mankhambo et al. 2009).

### **3.3 TREM-1 como parâmetro para a prática clínica**

Um marcador biológico para infecções bacterianas, especialmente em cenário de sepse severa, deve idealmente ser específico, sensível,

tecnicamente simples, rapidamente executado e de baixo custo (Gibot, Cravoisy et al. 2004). A dosagem plasmática de sTREM-1 parece preencher os critérios de sensibilidade e especificidade. O processo de mensuração é também rapidamente executado, ao custo estimado de 30,00 reais por amostra. Acreditamos, no entanto, que esse valor poderá diminuir muito, uma vez que, eventualmente no futuro, a dosagem de sTREM-1 possa ter seu custo reduzido à medida que o seu uso torne-se mais disseminado ou eventualmente que a dosagem de sTREM-1 seja de uso clínico rotineiro.

Dupuy et al. em artigo de revisão avalia os potenciais biomarcadores capazes de auxiliar no uso racional de antibióticos em casos de infecções agudas na prática clínica. Dentre os biomarcadores citados, o sTREM-1 fora considerado promissora ferramenta com experiência clínica em casos de sepsis, pneumonia e meningite. Todavia os autores reforçam a necessidade de novos estudos clínicos (Dupuy, Philippart et al. 2013).

Obviamente, dosagens de sTREM-1 não tem poder de diagnosticar os agentes causais em infecções bacterianas. No entanto, o valor clínico real do sTREM-1 poderá permitir aos clínicos um uso mais acurado de antibioticoterapia precoce e empírica, antes que os culturais possam estar disponíveis (Carrol, Mankhambo et al. 2009). Da mesma forma, pode-se evitar o uso desnecessário de antibióticos, minimizando os custos e a exposição do paciente a fármacos e riscos desnecessários (Liu, Shao et al. 2015).

A aplicação da dosagem de imunomediadores de infecções bacterianas, tais como o sTREM-1, pode favorecer em muito o uso mais racional de antibioticoterapia, eventualmente prevenindo resistência bacteriana, principalmente em ambientes de CTI (van Bremen, Drömann et al. 2013). No entanto, para que isto ocorra, mais pesquisas em diferentes tipos de infecção e populações, tais como a proposta por esse projeto, são necessárias.

#### **4. Justificativa**

Não existe, na literatura médica corrente, nenhum estudo que avaliou o papel da sTREM-1 no LCR nos casos de meningite na população pediátrica. São também escassos os estudos que a avaliaram seu papel no LCR.

Ao se considerar as dúvidas diagnósticas frequentes, a morbimortalidade e os elevados custos ao sistema de saúde decorrentes dessas infecções, é desejável o desenvolvimento de métodos que tenham capacidade de discernimento diagnóstico e prognóstico.

Pelas diversas evidências já expostas, acreditamos que a mensuração dos níveis de TREM-1 em pacientes com suspeição clínica de meningite bacteriana tenha relevância biológica e possa vir a ser uma valiosa ferramenta para a prática clínica.

#### **5. Objetivos**

##### **5.1 Objetivo Principal**

O objetivo primário do presente estudo é caracterizar os níveis líqüóricos da proteína sTREM-1 em pacientes pediátricos, admitidos por suspeita clínica de meningite, avaliando se ele pode ser utilizado como marcador de meningite bacteriana aguda.

##### **5.2 Objetivos Secundários**

- a) Comparar os níveis de sTREM-1 dos casos de meningite bacteriana com os níveis de sTREM-1 dos casos de meningite viral e controles;
- b) Determinar indicadores de sensibilidade e especificidade que auxiliem na diferenciação entre meningite bacteriana e meningite viral e controles;
- c) Comparar os níveis de sTREM-1 entre casos de meningite bacteriana com desfecho favorável e não favorável;
- d) Analisar o TREM-1 e outros fatores como possíveis preditores para meningite bacteriana em crianças.

## 6. Referências Bibliográficas da Revisão

Adib-Conquy M, Monchi M, Goulenok C, Laurent I, Thuong M, Cavaillon JM, Adrie C. Increased plasma levels of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1 and procalcitonin after cardiac surgery and cardiac arrest without infection. *Shock*. 2007 Oct;28(4):406-10.

Adly AA, Ismail EA, Andrawes NG, El-Saadany MA. Circulating soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1) as diagnostic and prognostic marker in neonatal sepsis. *Cytokine*. 2014 Feb;65(2):184-91.

Anand NJ, Zuick S, Klesney-Tait J, Kollef MH. Diagnostic implications of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in BAL fluid of patients with pulmonary infiltrates in the ICU. *Chest*. 2009 Mar;135(3):641-7.

Barichello T, Generoso JS, Collodel A, Moreira AP, Almeida SM. Pathophysiology of acute meningitis caused by *Streptococcus pneumoniae* and adjunctive therapy approaches. *Arq Neuropsiquiatr*. 2012 May;70(5):366-72. Review.

Bingold TM, Pullmann B, Sartorius S, Geiger EV, Marzi I, Zacharowski K, Wissing H, Scheller B. Soluble triggering receptor on myeloid cells-1 is expressed in the course of non-infectious inflammation after traumatic lung contusion: a prospective cohort study. *Crit Care*. 2011;15(2):R115.

Bishara J, Goldberg E, Ashkenazi S, Yuhaz Y, Samra Z, Saute M, Shaked H. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 for diagnosing empyema. *Ann Thorac Surg*. 2009 Jan;87(1):251-4.

Bishara J, Hadari N, Shalita-Chesner M, Samra Z, Ofir O, Paul M, Peled N, Pitlik S, Molad Y. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 for distinguishing bacterial from aseptic meningitis in adults. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2007 Sep;26(9):647-50.

Bostanci N, Oztürk VÖ, Emingil G, Belibasakis GN. Elevated oral and systemic levels of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1) in periodontitis. *J Dent Res*. 2013 Feb;92(2):161-5.

Bouchon A, Hernandez-Munain C, Cella M, Colonna M. A DAP12-mediated pathway regulates expression of CC chemokine receptor 7 and maturation of human dendritic cells. *J Exp Med* 2001; 194:1111–22.

Brandt CT. Experimental studies of pneumococcal meningitis. *Dan Med Bull*. 2010 Jan;57(1):B4119. Review.

Brouwer MC, Heckenberg SG, de Gans J, Spanjaard L, Reitsma JB, van de Beek D. Nationwide implementation of adjunctive dexamethasone therapy for pneumococcal meningitis. *Neurology*. 2010 Oct 26;75(17):1533-9.

Brouwer MC, Thwaites GE, Tunkel AR, van de Beek D. Dilemmas in the diagnosis of acute community-acquired bacterial meningitis. *Lancet*. 2012 Nov 10;380(9854):1684-92.

Brouwer MC, Tunkel AR, van de Beek D. Epidemiology, diagnosis, and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis. *Clin Microbiol Rev*. 2010 Jul;23(3):467-92. doi: 10.1128/CMR.00070-09. Review.

Bundy DG. Several clinical signs and symptoms are associated with the likelihood of bacterial meningitis in children; the most reliable diagnostic combination is uncertain. *Evid Based Med*. 2011 Jun;16(3):89-90.

Cantey JB, Doern CD. "A Defective and Imperfect" Method: H. Christian Gram and the History of the Gram Stain. *Pediatr Infect Dis J*. 2015 May 8.

Carrol ED, Mankhambo LA, Jeffers G, Parker D, Guiver M, Newland P, Banda DL; IPD Study Group, Molyneux EM, Heyderman RS, Molyneux ME, Hart CA. The diagnostic and prognostic accuracy of five markers of serious bacterial infection in Malawian children with signs of severe infection. *PLoS One*. 2009 Aug 13;4(8):e6621.

Chan MC, Chang KM, Chao WC, Lin LY, Kuo BI, Hsu JY, Wu CL. Evaluation of a new inflammatory molecule (triggering receptor expressed on myeloid cells-1) in the diagnosis of pleural effusion. *Respirology*. 2007 May;12(3):333-8.

Chávez-Bueno S, McCracken GH Jr. Bacterial meningitis in children. *Pediatr Clin North Am*. 2005 Jun;52(3):795-810, vii. Review.

Choi C. Bacterial meningitis in aging adults. *Clin Infect Dis*. 2001 Oct 15;33(8):1380-5.

Collins CE, La DT, Yang HT, Massin F, Gibot S, Faure G, Stohl W. Elevated synovial expression of triggering receptor expressed on myeloid cells 1 in patients with septic arthritis or rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2009 Nov;68(11):1768-74.

Colonna M, Facchetti F. TREM-1 (triggering receptor expressed on myeloid cells): a new player in acute inflammatory responses. *J Infect Dis*. 2003 Jun 15;187 Suppl 2:S397-401.

Curtis S, Stobart K, Vandermeer B, Simel DL, Klassen T. Clinical features suggestive of meningitis in children: a systematic review of prospective data. *Pediatrics*. 2010 Nov;126(5):952-60.

Dai X, Zeng Z, Fu C, Zhang S, Cai Y, Chen Z. Diagnostic value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin, cystatin C and soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in critically ill patients with sepsis-associated acute kidney injury. *Crit Care*. 2015 May 6;19(1):223.

De Cauwer HG, Eykens L, Hellinckx J, Mortelmans LJ. Differential diagnosis between viral and bacterial meningitis in children. *Eur J Emerg Med.* 2007 Dec;14(6):343-7.

Determann RM, Millo JL, Gibot S, Korevaar JC, Vroom MB, van der Poll T, Garrard CS, Schultz MJ. Serial changes in soluble triggering receptor expressed on myeloid cells in the lung during development of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med.* 2005 Nov;31(11):1495-500.

Determann RM, Weisfelt M, de Gans J, van der Ende A, Schultz MJ, van de Beek D. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1: a biomarker for bacterial meningitis. *Intensive Care Med.* 2006 Aug;32(8):1243-7.

Dopheide JF, Doppler C, Scheer M, Obst V, Radmacher MC, Radsak MP, Gori T, Warnholtz A, Fottner C, Münzel T, Daiber A, Espinola-Klein C. Critical limb ischaemia is characterised by an increased production of whole blood reactive oxygen species and expression of TREM-1 on neutrophils. *Atherosclerosis.* 2013 Aug;229(2):396-403.

Dubos F, Korczowski B, Aygun DA, Martinot A, Prat C, Galetto-Lacour A, Casado-Flores J, Taskin E, Leclerc F, Rodrigo C, Gervaix A, Leroy S, Gendrel D, Bréart G, Chalumeau M. Serum procalcitonin level and other biological markers to distinguish between bacterial and aseptic meningitis in children: a European multicenter case cohort study. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2008 Dec;162(12):1157-63.

Dupuy AM, Philippart F, Péan Y, Lasocki S, Charles PE, Chalumeau M, Claessens YE, Quenot JP, Guen CG, Ruiz S, Luyt CE, Roche N, Stahl JP, Bedos JP, Pugin J, Gauzit R, Misset B, Brun-Buisson C; Maurice Rapin Institute Biomarkers Group. Role of biomarkers in the management of antibiotic therapy: an expert panel review: I - currently available biomarkers for clinical use in acute infections. *Ann Intensive Care.* 2013 Jul 9;3(1):22.

Durand ML, Calderwood SB, Weber DJ, Miller SI, Southwick FS, Caviness VS Jr, Swartz MN. Acute bacterial meningitis in adults. A review of 493 episodes. *N Engl J Med*. 1993 Jan 7;328(1):21-8.

El Solh AA, Akinnusi ME, Peter M, Berim I, Schultz MJ, Pineda L. Triggering receptors expressed on myeloid cells in pulmonary aspiration syndromes. *Intensive Care Med*. 2008 Jun;34(6):1012-9.

Erdman LK, Dhabangi A, Musoke C, Conroy AL, Hawkes M, Higgins S, Rajwans N, Wolofsky KT, Streiner DL, Liles WC, Cserti-Gazdewich CM, Kain KC. Combinations of host biomarkers predict mortality among Ugandan children with severe malaria: a retrospective case-control study. *PLoS One*. 2011 Feb 25;6(2):e17440.

Feigin RD, McCracken GH Jr, Klein JO. Diagnosis and management of meningitis. *Pediatr Infect Dis J*. 1992 Sep;11(9):785-814. Review.

Ferat-Osorio E, Wong-Baeza I, Esquivel-Callejas N, Figueroa-Figueroa S, Duarte-Rojo A, Guzmán-Valdivia-Gómez G, Rodea-Rosas H, Torres-González R, Sánchez-Fernández P, Arriaga-Pizano L, López-Macías C, Robles-Díaz G, Isibasi A. Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 expression on monocytes is associated with inflammation but not with infection in acute pancreatitis. *Crit Care*. 2009;13(3):R69.

Fukata M, Vamadevan AS, Abreu MT. Toll-like receptors (TLRs) and Nod-like receptors (NLRs) in inflammatory disorders. *Semin Immunol*. 2009 Aug;21(4):242-53.

Galiza EP, Heath PT. Improving the outcome of neonatal meningitis. *Curr Opin Infect Dis*. 2009 Jun;22(3):229-34.

Gámez-Díaz LY, Enriquez LE, Matute JD, Velásquez S, Gómez ID, Toro F, Ospina S, Bedoya V, Arango CM, Valencia ML, De La Rosa G, Gómez CI,

García A, Patiño PJ, Jaimes FA. Diagnostic accuracy of HMGB-1, sTREM-1, and CD64 as markers of sepsis in patients recently admitted to the emergency department. *Acad Emerg Med*. 2011 Aug;18(8):807-15.

Geiseler PJ, Nelson KE, Levin S, Reddi KT, Moses VK. Community-acquired purulent meningitis: a review of 1,316 cases during the antibiotic era, 1954-1976. *Rev Infect Dis*. 1980 Sep-Oct;2(5):725-45. Review.

Giamarellos-Bourboulis EJ, Mouktaroudi M, Tsaganos T, Koutoukas P, Spyridaki E, Pelekanou A, Kotzampassi K. Evidence for the participation of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in the systemic inflammatory response syndrome after multiple trauma. *J Trauma*. 2008 Dec;65(6):1385-90.

Gibot S. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells and the diagnosis of pneumonia and severe sepsis. *Semin Respir Crit Care Med*. 2006 Feb;27(1):29-33.

Gibot S, Cravoisy A. Soluble form of the triggering receptor expressed on myeloid cells-1 as a marker of microbial infection. *Clin Med Res*. 2004 Aug;2(3):181-7.

Gibot S, Cravoisy A, Dupays R, Barraud D, Nace L, Levy B, Bollaert PE. Combined measurement of procalcitonin and soluble TREM-1 in the diagnosis of nosocomial sepsis. *Scand J Infect Dis*. 2007;39(6-7):604-8.

Gibot S, Cravoisy A, Kolopp-Sarda MN, Béné MC, Faure G, Bollaert PE, Levy B. Time-course of sTREM (soluble triggering receptor expressed on myeloid cells)-1, procalcitonin, and C-reactive protein plasma concentrations during sepsis. *Crit Care Med*. 2005 Apr;33(4):792-6.

Gibot S, Cravoisy A, Levy B, Bene MC, Faure G, Bollaert PE. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells and the diagnosis of pneumonia. *N Engl J Med*. 2004 Jan 29;350(5):451-8.

Gibot S, Le Renard PE, Bollaert PE, Kolopp-Sarda MN, Béné MC, Faure GC, Lévy B. Surface triggering receptor expressed on myeloid cells 1 expression patterns in septic shock. *Intensive Care Med.* 2005 Apr;31(4):594-7.

Grover V, Pantelidis P, Soni N, Takata M, Shah PL, Wells AU, Henderson DC, Kelleher P, Singh S. A biomarker panel (Bioscore) incorporating monocytic surface and soluble TREM-1 has high discriminative value for ventilator-associated pneumonia: a prospective observational study. *PLoS One.* 2014 Oct 7;9(10).

Heath PT, Okike IO, Oeser C. Neonatal meningitis: can we do better? *Adv Exp Med Biol.* 2011;719:11-24.

Heckenberg SG, Brouwer MC, van de Beek D. Bacterial meningitis. *Handb Clin Neurol.* 2014;121:1361-75.

Henriquez-Camacho C, Losa J. Biomarkers for sepsis. *Biomed Res Int.* 2014;2014:547818.

Hirayama K, Nagai M, Ebihara I, Shimohata H, Kobayashi M, Koyama A. Serum ratio of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 to creatinine is a useful marker of infectious complications in myeloperoxidase-antineutrophil cytoplasmic antibody-associated renal vasculitis. *Nephrol Dial Transplant.* 2011 Mar;26(3):868-74.

Horonenko G, Hoyt JC, Robbins RA, Singarajah CU, Umar A, Pattengill J, Hayden JM. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cell-1 is increased in patients with ventilator-associated pneumonia: a preliminary report. *Chest.* 2007 Jul;132(1):58-63.

Horst SA, Linnér A, Beineke A, Lehne S, Höltje C, Hecht A, Norrby-Teglund A, Medina E, Goldmann O. Prognostic value and therapeutic potential of TREM-1 in *Streptococcus pyogenes*-induced sepsis. *J Innate Immun.* 2013;5(6):581-90.

How CK, Chern CH, Wu MF, Wang LM, Huang CI, Lee CH, Hsieh SL. Expression of the triggering receptor expressed on myeloid cells-1 mRNA in a heterogeneous infected population. *Int J Clin Pract*. 2009 Jan;63(1):126-33.

How CK, Hou SK, Shih HC, Yen DH, Huang CI, Lee CH, Tang GJ. Usefulness of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in differentiating between typical and atypical community-acquired pneumonia. *Am J Emerg Med*. 2011 Jul;29(6):626-31.

Huy NT, Thao NT, Diep DT, Kikuchi M, Zamora J, Hirayama K. Cerebrospinal fluid lactate concentration to distinguish bacterial from aseptic meningitis: a systemic review and meta-analysis. *Crit Care*. 2010;14(6):R240.

Jeong SJ, Song YG, Kim CO, Kim HW, Ku NS, Han SH, Choi JY, Kim JM. Measurement of plasma sTREM-1 in patients with severe sepsis receiving early goal-directed therapy and evaluation of its usefulness. *Shock*. 2012 Jun;37(6):574-8.

Jung YS, Kim SW, Yoon JY, Lee JH, Jeon SM, Hong SP, Kim TI, Kim WH, Cheon JH. Expression of a soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1) correlates with clinical disease activity in intestinal Behcet's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2011 Oct;17(10):2130-7.

Jung YS, Park JJ, Kim SW, Hong SP, Kim TI, Kim WH, Cheon JH. Correlation between soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1) expression and endoscopic activity in inflammatory bowel diseases. *Dig Liver Dis*. 2012 Nov;44(11):897-903.

Kaplan SL. Clinical presentations, diagnosis, and prognostic factors of bacterial meningitis. *Infect Dis Clin North Am*. 1999 Sep;13(3):579-94, vi-vii.

Kim MG, Park DC, Oh IH, Kim YI, Choi SA, Jung SY, Kang HM, Yeo SG. Increased expression of Dec-205, Bcl-10, Tim-3, and Trem-1 mRNA in chronic otitis media with cholesteatoma. *Acta Otolaryngol.* 2014 May;134(5):475-80.

Klesney-Tait J, Colonna M. Uncovering the TREM-1-TLR connection. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2007 Dec;293(6):L1374-6.

Ku LC, Boggess KA, Cohen-Wolkowicz M. Bacterial meningitis in infants. *Clin Perinatol.* 2015 Mar;42(1):29-45. Review.

Kuai J, Gregory B, Hill A, Pittman DD, Feldman JL, Brown T, Carito B, O'Toole M, Ramsey R, Adolfsson O, Shields KM, Dower K, Hall JP, Kurdi Y, Beech JT, Nanchahal J, Feldmann M, Foxwell BM, Brennan FM, Winkler DG, Lin LL. TREM-1 expression is increased in the synovium of rheumatoid arthritis patients and induces the expression of pro-inflammatory cytokines. *Rheumatology (Oxford).* 2009 Nov;48(11):1352-8.

Lemarié J(1), Barraud D, Gibot S. Host response biomarkers in sepsis: overview on sTREM-1 detection. *Methods Mol Biol.* 2015;1237:225-39.

Liao R, Liu Z, Wei S, Xu F, Chen Z, Gong J. Triggering receptor in myeloid cells (TREM-1) specific expression in peripheral blood mononuclear cells of sepsis patients with acute cholangitis. *Inflammation.* 2009 Jun;32(3):182-90.

Liu CL, Hsieh WY, Wu CL, Kuo HT, Lu YT. Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in pleural effusions: a marker of inflammatory disease. *Respir Med.* 2007 May;101(5):903-9.

Liu YJ, Shao LH, Zhang J, Fu SJ, Wang G, Chen FZ, Zheng F, Ma RP, Liu HH, Dong XM, Ma LX. The combination of decoy receptor 3 and soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 for the diagnosis of nosocomial bacterial meningitis. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2015 Mar 23;14(1):17.

Lutsar I, McCracken GH Jr, Friedland IR. Antibiotic pharmacodynamics in cerebrospinal fluid. *Clin Infect Dis*. 1998 Nov. Review.

Matsuno AK, Carlotti AP. Role of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 for diagnosing ventilator-associated pneumonia after cardiac surgery: an observational study. *BMC Cardiovasc Disord*. 2013 Dec 1;13:107.

Miao Y, Liu ZJ, Gong JP, Wei SD, Xu FL, Chen ZZ. Expression of human triggering receptor expressed on myeloid cells 1 in peripheral blood mononuclear cells of patients with acute obstructive suppurative cholangitis. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2009 Nov;29(11):2179-81.

Min AJ, Zhang PH, Xiao MZ, Ren LC, Zhang MH, Yue LQ, Huang XY. Expression of myeloid cell triggering receptor-1 in monocytes at early post-burn stage. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*. 2007 Aug;23(4):276-9.

Mook-Kanamori BB, Geldhoff M, van der Poll T, van de Beek D. Pathogenesis and pathophysiology of pneumococcal meningitis. *Clin Microbiol Rev*. 2011 Jul;24(3):557-91.

Moraes JC, Barata RCB, Fonseca C. O livro da Meningite, uma doença sob a luz da cidade. [editora Segmento Farma];2004.

Oku R, Oda S, Nakada TA, Sadahiro T, Nakamura M, Hirayama Y, Abe R, Tateishi Y, Ito M, Iseki T, Hirasawa H. Differential pattern of cell-surface and soluble TREM-1 between sepsis and SIRS. *Cytokine*. 2013 Jan;61(1):112-7.

Paloneva J, Manninen T, Christman G, et al. Mutations in two genes encoding different subunits of a receptor signaling complex result in an identical disease phenotype. *Am J Hum Genet* 2002; 71:656–62.

Park JJ, Cheon JH, Kim BY, Kim DH, Kim ES, Kim TI, Lee KR, Kim WH. Correlation of serum-soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 with clinical disease activity in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci.* 2009 Jul;54(7):1525-31.

Prasad K, Rai NK, Kumar A. Use of corticosteroids and other adjunct therapies for acute bacterial meningitis in adults. *Curr Infect Dis Rep.* 2012 Aug;14(4):445-53.

Radsak MP, Taube C, Haselmayer P, Tenzer S, Salih HR, Wiewrodt R, Buhl R, Schild H. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1 is released in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Dev Immunol.* 2007;2007:52040.

Richeldi L, Mariani M, Losi M, Maselli F, Corbetta L, Buonsanti C, Colonna M, Sinigaglia F, Panina-Bordignon P, Fabbri LM. Triggering receptor expressed on myeloid cells: role in the diagnosis of lung infections. *Eur Respir J.* 2004 Aug;24(2):247-50.

Roos KL, Greenlee JE. Meningitis and encephalitis. *Continuum (Minneap Minn).* 2011 Oct;17(5 Neurologic Consultation in the Hospital):1010-23.

Sato T, Yamano Y, Tomaru U, Shimizu Y, Ando H, Okazaki T, Nagafuchi H, Shimizu J, Ozaki S, Miyazawa T, Yudoh K, Oka H, Suzuki N. Serum level of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 as a biomarker of disease activity in relapsing polychondritis. *Mod Rheumatol.* 2014 Jan;24(1):129-36.

Saurer L, Rihs S, Birrer M, Saxer-Seculic N, Radsak M, Mueller C. Elevated levels of serum-soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in patients with IBD do not correlate with intestinal TREM-1 mRNA expression and endoscopic disease activity. *J Crohns Colitis.* 2012 Oct;6(9):913-23.

Scheld WM, Koedel U, Nathan B, Pfister HW. Pathophysiology of bacterial meningitis: mechanism(s) of neuronal injury. *J Infect Dis.* 2002 Dec 1;186 Suppl 2:S225-33. Review.

Schenk M, Bouchon A, Seibold F, Mueller C. TREM-1--expressing intestinal macrophages crucially amplify chronic inflammation in experimental colitis and inflammatory bowel diseases. *J Clin Invest.* 2007 Oct;117(10):3097-106.

Suchankova M, Bucova M, E T, Demian J, Majer I, Novosadova H, Tedlova E, Durmanova V, Paulovicova E. sTREM-1 in bronchoalveolar lavage fluid in patients with pulmonary sarcoidosis, effect of smoking and inflammation. *Bratisl Lek Listy.* 2013;114(12):702-7.

Schwentker FF, Gelman S, Long PH. Landmark article April 24, 1937. The treatment of meningococcic meningitis with sulfanilamide. Preliminary report. By Francis F. Schwentker, Sidney Gelman, and Perrin H. Long. *JAMA.* 1984 Feb 10;251(6):788-90.

Su L, Han B, Liu C, Liang L, Jiang Z, Deng J, Yan P, Jia Y, Feng D, Xie L. Value of soluble TREM-1, procalcitonin, and C-reactive protein serum levels as biomarkers for detecting bacteremia among sepsis patients with new fever in intensive care units: a prospective cohort study. *BMC Infect Dis.* 2012 Jul 18;12:157.

Su L, Liu C, Li C, Jiang Z, Xiao K, Zhang X, Li M, Yan P, Feng D, Xie L. Dynamic changes in serum soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1(sTREM-1) and its gene polymorphisms are associated with sepsis prognosis. *Inflammation.* 2012 Dec;35(6):1833-43.

Tejera A, Santolaria F, Diez ML, Alemán-Valls MR, González-Reimers E, Martínez-Riera A, Milena-Abril A. Prognosis of community acquired pneumonia (CAP): value of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (TREM-1) and other mediators of the inflammatory response. *Cytokine.* 2007 Jun;38(3):117-23.

Thompson MJ, Ninis N, Perera R, Mayon-White R, Phillips C, Bailey L, Harnden A, Mant D, Levin M. Clinical recognition of meningococcal disease in children and adolescents. *Lancet*. 2006 Feb 4;367(9508):397-403.

Tintinger GR, van der Merwe JJ, Fickl H, Rheeder P, Feldman C, Anderson R. Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells in sputum of patients with community-acquired pneumonia or pulmonary tuberculosis: a pilot study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012 Jan;31(1):73-6.

Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL, Kaufman BA, Roos KL, Scheld WM, Whitley RJ. Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis*. 2004 Nov 1;39(9):1267-84.

Weisfelt M, van de Beek D, Spanjaard L, Reitsma JB, de Gans J. A risk score for unfavorable outcome in adults with bacterial meningitis. *Ann Neurol*. 2008 Jan;63(1):90-7.

Valmari P, Peltola H, Ruuskanen O, Korvenranta H. Childhood bacterial meningitis: initial symptoms and signs related to age, and reasons for consulting a physician. *Eur J Pediatr*. 1987 Sep;146(5):515-8.

van Bremen T, Drömann D, Luitjens K, Dodt C, Dalhoff K, Goldmann T, Schaaf B. Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (Trem-1) on blood neutrophils is associated with cytokine inducibility in human *E. coli* sepsis. *Diagn Pathol*. 2013 Feb 15;8:24.

van Furth AM, Roord JJ, van Furth R. Roles of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in pathophysiology of bacterial meningitis and effect of adjunctive therapy. *Infect Immun*. 1996 Dec;64(12):4883-90. Review.

van de Beek D, de Gans J, Tunkel AR, Wijdicks EF. Community-acquired bacterial meningitis in adults. *N Engl J Med*. 2006 Jan 5;354(1):44-53. Review.

van de Beek D, de Gans J, Spanjaard L, Weisfelt M, Reitsma JB, Vermeulen M. Clinical features and prognostic factors in adults with bacterial meningitis. *N Engl J Med*. 2004 Oct 28;351(18):1849-59.

VanDemark M. Acute bacterial meningitis: current review and treatment update. *Crit Care Nurs Clin North Am*. 2013 Sep;25(3):351-61.

Yasuda T, Takeyama Y, Ueda T, Shinzeki M, Sawa H, Takahiro N, Kamei K, Ku Y, Kuroda Y, Ohyanagi H. Increased levels of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in patients with acute pancreatitis. *Crit Care Med*. 2008 Jul;36(7):2048-53.

Zhang S, Luo J, Shen B, Li L, Hu C, Li P, Deng C, Zhang F, Qian J, Li Y. Correlation between triggering receptor expressed on myeloid cells-1 and clinical disease activity in Chinese patients with ulcerative colitis. *Int J Clin Exp Med*. 2015 Feb 15;8(2):2147-5

## 7. Artigo

### **TREM-1 is increased in bacterial meningitis and predicts treatment outcome**

Vitor Félix Torres (1,2)

Ana Lucia Abujamra (1,2)

Ana Cláudia de Souza (2,3)

Kelin Cristine Martin (2,3)

Simone Perez (2)

Marino Muxfeldt Bianchin (1,2,3)

1. Post-Graduate Program in Medicine: Medical Sciences, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
2. Basic Research and Advanced Investigations in Neurology (B.R.A.I.N.), Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil.
3. Division of Neurology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil.

#### **Address correspondence to:**

Marino M. Bianchin, [mmbianchin@hotmail.com](mailto:mmbianchin@hotmail.com)

B.R.A.I.N.; Experimental Research Centre

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Ramiro Barcelos, 2350,

Porto Alegre, RS, Brazil, 90035-903

#### **Abstract**

**Introduction:** Bacterial meningitis is an important cause of morbidity and mortality in infancy. Cerebrospinal fluid analysis remains the gold standard

diagnostic tool, however new biomarkers for diagnosis and prognosis are still required. Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (TREM-1) is a transmembrane receptor expressed on neutrophils and monocytes that plays an important role on the immune response. Its soluble fraction (sTREM-1) is also increased in infection, inflammation or immune diseases. In this study we evaluate prospectively the value of TREM-1 as a biomarker of acute bacterial meningitis in pediatric patients and its possible use as a prognostic tool in this scenario.

**Methods:** Sixty-one pediatric patients, from 0 to 10 years old were evaluated for meningitis and were prospectively included in this study. At admission, after clinical hypothesis of meningitis patients were submitted to CSF analysis for diagnosis and a sample of initial CSF was used also for TREM-1 analysis. Patients were followed during hospitalization and clinical evaluation and treatment outcome were recorded for posterior analysis.

**Results:** Out of 61 patients, 38 (62%) were negative for meningitis, 7 (11%) patients were diagnosed with viral meningitis and 16 (27%) patients were diagnosed with, and received treatment for, acute bacterial meningitis. Sex ( $p = 0.15$ ), presence of identified risk factors ( $p = 0.17$ ), presence of seizures ( $p = 0.31$ ), other clinical complications ( $p = 0.11$ ), and mortality ( $p = 0.66$ ) did not differ among groups. Sensorial abnormalities ( $p < 0.0001$ ) and presence of headache ( $p = 0.003$ ) were more prevalent in patients with meningitis. As expected, leukocyte count, glucose, and protein levels were significantly different between patients with meningitis and patients without meningitis. Concentrations of sTREM-1 in CSF from patients with bacterial meningitis was higher when compared to patients with viral meningitis and with controls (1204.67 pg/mL, 39.34 pg/mL and 12.09 pg/mL, respectively;  $p < 0.0001$ ). When sTREM was used as a determinant to differentiate between patients with or without bacterial meningitis, the analysis of the area under the ROC curve (AUC) was 0.95 (95% CI=0.89-1.00;  $p < 0.0001$ ). Presence of risk factors for bacterial meningitis ( $p = 0.04$ ), sensorial abnormalities ( $p < 0.0001$ ), CSF leukocyte count ( $p = 0.01$ ), CSF glucose levels ( $p = 0.002$ ), CSF protein levels ( $p = 0.032$ ), and CSF sTREM-1 levels ( $p = 0.004$ ) were all associated with bacterial meningitis, including sTREM levels above the established cut-off point of 68.0 pg/mL ( $p < 0.0001$ ). Bacterial meningitis ( $p = 0.02$ ) and values of TREM-1

higher than the cut-off point (68.0 pg/ml) ( $p = 0.04$ ) were associated with death and severe neurological disabilities in this patient cohort.

**Conclusion:** We evaluated s-TREM-1 levels in CSF of children with clinical hypothesis of meningitis. The s-TREM-1 levels were increased in bacterial meningitis and correlated with prognosis. Our results suggest that CSF s-TREM-1 levels can be used as a biomarker for diagnosis of acute bacterial meningitis in children and it might be useful in determining patient's prognosis in this scenario.

## Introduction

Bacterial meningitis is an important cause of morbidity and mortality in infancy (Thigpen et al., 2011). Cerebrospinal fluid (CSF) analysis remains the gold standard diagnostic tool, however new biomarkers for diagnosis and prognosis are still warranted and remain the subject of several lines of research. Recently, new biomarkers have been linked to bacterial meningitis in children and adults, and, therefore, could serve as potential diagnostic and prognostic tools. These include, but are not limited to, interleukin 6 (IL-6; García-Hernández et al., 2015), procalcitonin (Mahajan et al., 2014; Morales-Casado et al., 2014), C reactive protein (Morales-Casado et al., 2015), presepsin (Stubljár et al., 2015), calprotectin and lactoferrin (Datych et al., 2015), tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) and interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ; Panato et al., 2014), lipocalin 2 (Guiddir et al., 2014) and matrix metalloproteinases-1 and -9 (MMP-1 and MMP-9; Roine et al., 2014).

Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (TREM-1) is a transmembrane receptor expressed on neutrophils and monocytes that plays an important role on the immune response (Bouchon et al., 2000). Receptor activation upon ligand engagement leads to inflammatory responses, cytokine production, degranulation of neutrophils, and phagocytosis. Besides its immunomodulatory functions, TREM-1 expression is also associated with other conditions. For example, upregulation of TREM-1 is related to an increased cytokine response during septic shock (Bouchon et al., 2001), hypoxic stress

(Mishra et al., 2014), hepatocellular carcinoma (Duan et al., 2014), and preeclampsia (Lim et al., 2014). Its soluble fraction (sTREM-1) is also increased in infection, inflammation or immune diseases. Several studies have tested the diagnostic value of acute infections such as pneumonia (Gibot and Cravoisy, 2004; Gibot et al., 2004), meningitis and sepsis, and because sTREM-1 measurements can be obtained easily from serum samples, efforts have been made to verify whether sTREM-1 levels can correlate positively with severity of disease (Gamez-Diaz et al., 2011; Suarez-Santamaria et al., 2010; Jeong et al., 2012).

sTREM-1 can also be detected in CSF, besides being present in blood serum. To date, three previous studies observed that sTREM-1 levels in CSF samples were higher among patients with bacterial meningitis, indicating that sTREM-1 may be used as a diagnostic tool as well as a potential outcome predictor (Bishara et al., 2007; Determann et al., 2006; Liu et al., 2015). However, either these studies included a small number of patients, collected data retrospectively, or focused on the adult population.

We describe here results of a prospective cohort study measuring sTREM1 levels in CSF of children with clinical suspicion of meningitis. sTREM-1 values were analyzed in the CSF of confirmed cases of bacterial meningitis and evaluated if sTREM-1 could be a prognosis biomarker for this clinical condition. It is possible that the results presented here may improve the knowledge of sTREM-1 aspects in meningitis and provide more evidence for a useful diagnostic and prognostic biomarker for bacterial meningitis during childhood.

## **Methods**

### **Ethical considerations**

This study was approved by the Research Ethics Committee of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, and was conducted according to the principles expressed in the Declaration of Helsinki. Parents or the legal guardian of each patient gave written informed consent before participating in the study.

## Methods

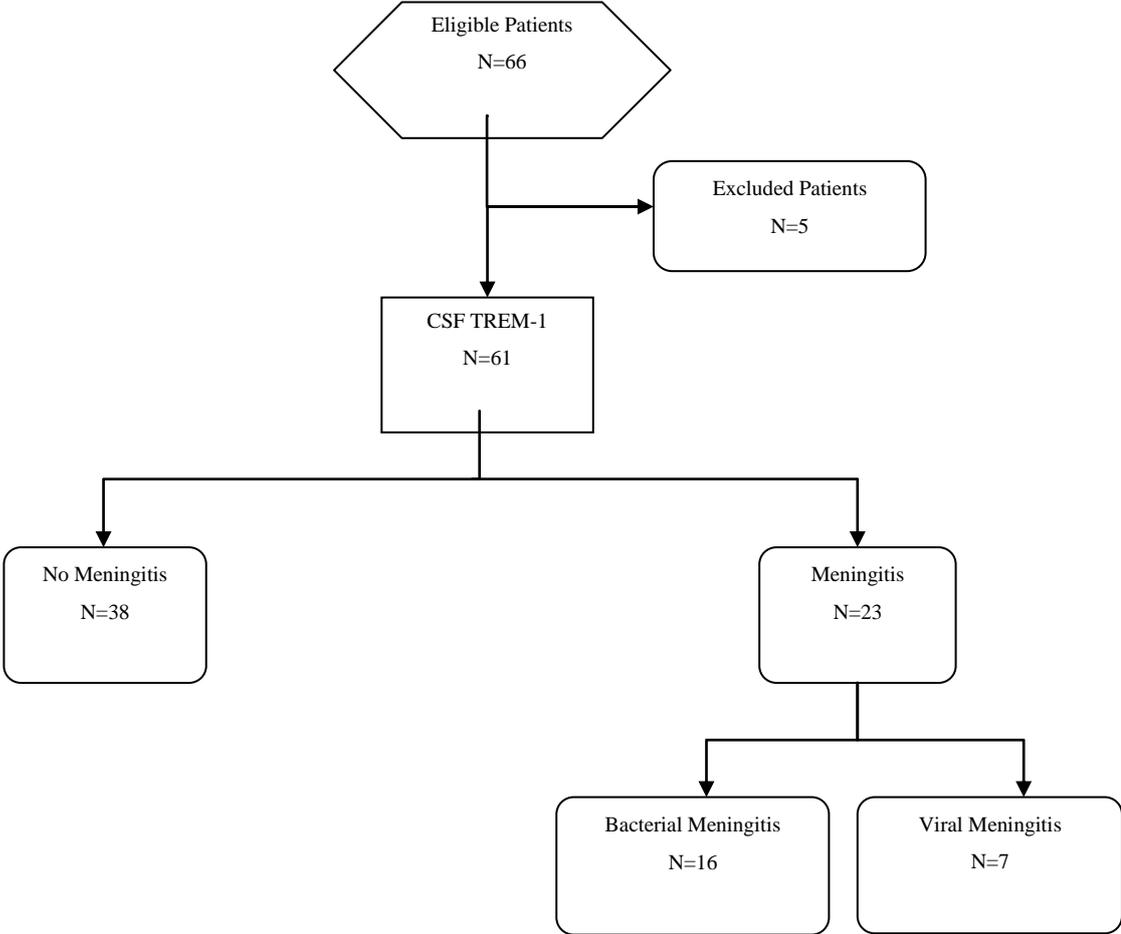
Sixty-six patients were included in this prospective study and were evaluated for meningitis between January 2009 and December 2010. Collection of CSF was obtained via lumbar puncture. Leukocyte count, glucose and protein measurements were performed, according to the clinical laboratory parameters of the institution. A 2 mL sample was separated for further analysis, being kept at  $-70^{\circ}\text{C}$  until time of analysis. Each patient's clinical data was recorded in a databank for posterior comparisons.

Categorical variables were studied using the Fisher's exact test or Chi-square test. Continuous variables were analyzed by the Student's t-test. Receiver operating characteristic (ROC) curve was employed to determine the optimal cut-off value, and area under the curve (AUC) was calculated for each variable. A p value  $<0.05$  was considered significant. Statistical analysis was performed using SPSS v.18. Patients were followed until hospital discharge and during follow-up visits at the outpatient clinic. Any complications or clinical alterations were recorded for further evaluation.

## Results

Sixty-six patients arrived at the hospital with signs and symptoms of acute meningitis during the study period. Five patients were excluded because of insufficient material. The remaining patients were worked up for analysis. Out of 61 patients, 38 (62%) were negative for meningitis, 7 (11%) patients were diagnosed with viral meningitis and 16 (27%) patients were diagnosed with, and received treatment for, acute bacterial meningitis. Figure 1 illustrates the patient cohort for this study. Clinical characteristics of all patients included in the study, and in accordance with final diagnosis, can be seen in Table 1. Sex ( $p = 0.15$ ), presence of identified risk factors ( $p = 0.17$ ), presence of seizures ( $p = 0.31$ ), other clinical complications ( $p = 0.11$ ), and mortality ( $p = 0.66$ ) did not differ among groups. Sensorial abnormalities ( $p < 0.0001$ ) and presence of headache ( $p = 0.003$ ) was more prevalent in patients with meningitis.

**Figure 1. Patient flow and eligibility chart.**



**Table 1. Clinical Characteristics of Patients**

	<b>No Meningitis</b>	<b>Viral</b>	<b>Bacterial</b>	<b>p value</b>
<b>Number of Patients</b>	38	07	16	
<b>Age (months)</b>	17.5 (41.23)	51.57 (37.13)	45.81(57.56)	0.05
<b>Duration of Symptoms (hours)</b>	18.03 (31.02)	42.86 (27.59)	31.44 (26.69)	0.08
<b>Sex</b>				
<b>Male</b>	20 (52.6%)	07 (100%)	09 (56.3%)	
<b>Female</b>	18 (47.4%)	0 (0%)	07 (43.8%)	0.15
<b>Risk Factors</b>				
<b>Yes</b>	06 (15.8%)	01 (14.3%)	07 (43.8%)	
<b>No</b>	32 (84.2%)	06 (85.7%)	09 (56.3%)	0.17
<b>Headache</b>				
<b>Yes</b>	03 (7.9%)	05 (71.4%)	04 (25.0%)	
<b>No</b>	35 (92.1%)	02 (28.6%)	12 (75.0%)	0.003
<b>Irritability</b>				
<b>Yes</b>	03 (7.9%)	01 (14.3%)	04 (25.0%)	
<b>No</b>	35 (92.1%)	06 (85.7%)	12 (75.0%)	0.96
<b>Sensorial Abnormalities</b>				
<b>Yes</b>	0 (0%)	01 (14.3%)	08 (50.0%)	
<b>No</b>	38 (100%)	06 (85.7%)	08 (50.0%)	<0.0001
<b>Seizures</b>				
<b>Yes</b>	04 (10.5%)	01 (14.3%)	05 (31.3%)	
<b>No</b>	34 (89.5%)	06 (85.7%)	11 (68.8%)	0.31
<b>Complications</b>				
<b>Yes</b>	07 (18.4%)	01 (14.3%)	08 (50.0%)	
<b>No</b>	31 (81.6%)	06 (85.7%)	08 (50.0%)	0.11
<b>Death</b>				
<b>Yes</b>	01 (2.6%)	00 (0%)	02 (12.5%)	
<b>No</b>	37 (97.4%)	07 (100%)	14 (87.5%)	0.66

Cerebrospinal fluid (CSF) findings are presented in Table 2. As expected, leukocyte count, glucose, and protein levels were significantly different between patients with meningitis and patients without meningitis. Patients with bacterial meningitis showed a significant increase in CSF leukocyte count (1610.94 cels/ $\mu$ L;  $p= 0.001$ ) and protein levels (338.44 mg/dL;  $p= 0.001$ ), and a significant decrease in glucose levels (30.87 mg/dL;  $p = 0.004$ ) when compared with patients diagnosed with viral meningitis (leukocytes: 75.43 cels/ $\mu$ L; protein: 51.29 mg/dL; glucose: 62.42 mg/dL) or without meningitis (leukocytes: 4.32 cels/ $\mu$ L; protein: 70.58 mg/dL; glucose: 46.92 mg/dL). Concentrations of sTREM-1 in CSF from patients with bacterial meningitis was higher when compared to patients with viral meningitis (1204.67 pg/mL vs 39.34 pg/mL;  $p<0.0001$ ).

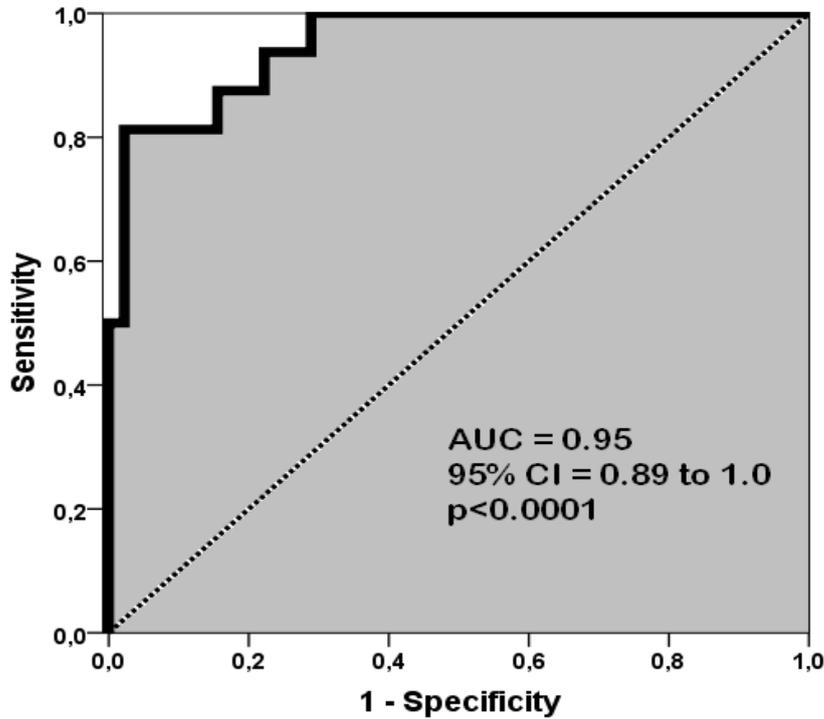
**Table 2. Cerebrospinal Fluid Findings**

	<b>Controls</b>	<b>Viral</b>	<b>Bacterial</b>	<b>p value</b>
<b>Number of Patients</b>	38	07	16	
<b>Mean CSF Leukocytes (cels/<math>\mu</math>L)</b>	4.32 (5.40)	75.43 (50.12)	1610.94 (2206.25)	0.001
<b>Mean CSF Glucose (mg/dL)</b>	46.92 (17.39)	62.42 (10.04)	30.87 (31.10)	0.004
<b>Mean CSF Protein (mg/dL)</b>	70.58 (45.96)	51.29 (40.98)	338.44 (471.45)	0.001
<b>Mean CSF TREM-1 (pg/mL)</b>	12.09 (30.79)	39.34 (20.17)	1204.67 (1387)	<0.0001

Numbers within parenthesis indicate standard deviation.

When sTREM was used as a determinant to differentiate between patients with or without bacterial meningitis, the analysis of the area under the ROC curve (AUC) was 0.95 (95% CI=0.89-1,0;  $p<0.0001$ ) (Figure 2). These values were chosen as the sTREM-1 cut-off value for diagnosis of bacterial meningitis.

**Figure 2. ROC curve for TREM-1 in meningitis**



Predictors of bacterial meningitis are presented in Table 3. Presence of risk factors for bacterial meningitis ( $p = 0.04$ ), sensorial abnormalities ( $p < 0.0001$ ), CSF leukocyte count ( $p = 0.01$ ), CSF glucose levels ( $p = 0.002$ ), CSF protein levels ( $p = 0.032$ ), and CSF sTREM-1 levels ( $p = 0.004$ ) were all associated with bacterial meningitis, including sTREM levels above the established cut-off point of 68.0 pg/mL ( $p < 0.0001$ ).

Table 4 presents clinical status of each patient at the time of hospital discharge, associated with patient outcome. Bacterial meningitis ( $p = 0.02$ ) and values of TREM-1 higher than the cut-off point established by this study ( $p = 0.04$ ) were associated with death and severe neurological disabilities in this patient cohort.

**Table 3. Predictors of Bacterial Meningitis**

	<b>Non Bacterial</b>	<b>Bacterial Meningitis</b>	<b>O.R. 95% CI</b>	<b>p value</b>
<b>Number of Patients</b>	<b>45</b>	<b>16</b>		
<b>Sex</b>				
<b>Male</b>	27 (60%)	09 (56.3%)		
<b>Female</b>	18 (40%)	07 (43.7%)	0.857 (0.27-2.72)	1.00
<b>Risk Factors</b>				
<b>Yes</b>	07 (15.6%)	07 (43.8%)		
<b>No</b>	38 (84.4%)	09 (56.3%)	4.22 (1.18-15.11)	0.04
<b>Duration of Symptoms (hours)</b>	21.89 (±31.56)	31.44 (±26.70)	-	0.28
<b>Headache</b>				
<b>Yes</b>	08 (17.8%)	04 (25%)		
<b>No</b>	37 (82.2%)	12 (75%)	1.54 (0.39-6.04)	0.71
<b>Meningism</b>				
<b>Yes</b>	02 (4.4%)	03 (18.8%)		
<b>No</b>	43 (95.6%)	13 (81.3%)	4.96 (0.75-32.96)	0.11
<b>Irritability</b>				
<b>Yes</b>	04 (8.9%)	04 (25%)		
<b>No</b>	41 (91.1%)	12 (75%)	3.42 (0.74-15.75)	0.19
<b>Sensorial Abnormalities</b>				
<b>Yes</b>	01 (2.2%)	08 (50%)		
<b>No</b>	44 (97.8%)	08 (50%)	44 (4.82-401.55)	<0.0001
<b>Seizures</b>				
<b>Yes</b>	05 (11.1%)	05 (31.3%)		
<b>No</b>	40 (88.9%)	11 (68.8%)	3.64 (0.89-14.86)	0.11
<b>Mean Peripheral Leukocyte Count cels/<math>\mu</math>L (<math>\pm</math>SD)</b>	11470 (±5101)	13418 (±6797)	-	0.23
<b>Mean CSF Leukocyte cels/<math>\mu</math>L (<math>\pm</math>SD)</b>	(±32.31)	1611 (±2206.26)	-	0.01
<b>Mean CSF Glucose mg/dL (<math>\pm</math>SD)</b>	49.33 (±17.34)	26.47 (±23.54)	-	0.002

<b>Mean CSF Protein mg/dL (±SD)</b>	67.52 (±45.33)	344.94 (±470.21)	-	0.032
<b>Mean CSF sTREM-1 pg/mL (±SD)</b>	16.33 (±30.87)	1204.67 (±1387.91)	-	0.004
<b>sTREM-1 Increase</b>				
<b>Yes</b>	01 (2.2%)	13 (81.3%)		
<b>No</b>	44 (97.8%)	03 (18.8%)	190.67 (18.25-1991.71)	<0.0001

**Table 4. Patients Outcome**

	<b>Favorable Outcome</b>	<b>Unfavorable Outcome</b>	<b>O.R. 95% CI</b>	<b>p value</b>
<b>Age (months)</b>	29.04 (±45.24)	28.37 (±54.09)	-	0.96
<b>Sex</b>				
<b>Male</b>	26 (57.8%)	10 (62.5%)		
<b>Female</b>	19 (42.2%)	6 (37.5%)	1.22 (0.38-3.94)	0.78
<b>Risk Factors</b>				
<b>Yes</b>	10 (22.2%)	4 (25%)		
<b>No</b>	35 (77.8%)	12 (75%)	1.17 (0.30-4.42)	1.0
<b>Duration of Symptoms (hours) (±SD)</b>	24.98 (±31.57)	22.75 (±27.90)	-	0.80
<b>Headache</b>				
<b>Yes</b>	9 (20%)	3 (18.8%)		
<b>No</b>	36 (80%)	13 (81.3%)	0.92 (0.22-3.95)	1.00
<b>Sensory Abnormalities</b>				
<b>Yes</b>	6 (13.3%)	3 (18.8%)		
<b>No</b>	39 (86.7%)	13 (81.3%)	1.5 (0.33-6.87)	0.69
<b>Mean Peripheral Leukocyte Count cels/μL (±SD)</b>	11747.3 (±5493.75)	12638.1 (±6032.38)	-	0.59
<b>CSF White cells cels/μL (±SD)</b>	204.77 (±824.86)	1078.25 (±2068.26)	-	0.12
<b>CSF Glucose mg/dL (±SD)</b>	46.11 (±19.96)	35.53 (±24.28)	-	0.09
<b>CSF Protein mg/dL (±SD)</b>	110.54 (±182.38)	223.94 (±424.26)	-	0.15

<b>CSF TREM-1 pg/ml (±SD)</b>	278.73 (± 796.94)	466.65 (±1072.15)	-	0.46
<b>Increased TREM-1</b>				
<b>Yes</b>	7 (15.6 %)	7 (43.8%)		
<b>No</b>	38 (84.4%)	9 (56.3%)	4.22 (1.18 – 15.11)	0.04
<b>Bacterial Meningitis</b>				
<b>Yes</b>	8 (17.8%)	8 (50%)		
<b>No</b>	37 (82.2%)	8 (50%)	4.62 (1.33 – 16.03)	0.02

## Discussion

Our findings show that sTREM-1 levels measured in the CSF of pediatric patients may be helpful as an additional diagnostic tool for bacterial meningitis, and that sTREM-1 levels serve as a predictor of outcome as well. The incidence and prevalence of bacterial meningitis in children, especially in developing countries, remains high, in spite of efforts to reach global vaccination targets (WHO, 2015). Clinical signs and symptoms for bacterial meningitis in young children include fever, irritability, impaired consciousness, vomiting, and neck rigidity (Valmari et al., 1987). Curtis and colleagues (2010) analyzed the accuracy of clinical features for the diagnosis of bacterial meningitis and concluded that no isolated clinical feature is diagnostic, and that the most accurate diagnostic combination is unclear, which was further confirmed by Bundy (2011) in a systematic review with meta-analysis.

The gold standard diagnostic tool for bacterial meningitis is CSF bacterial cultures, in which one is able to not only confirm the etiology of the disease, but also isolate the bacterial species. However, culture results may take days, a time span which is unrealistic with disease course and progression. For this reason, even though there are scores for aiding in the differential diagnosis of bacterial and viral meningitis (De Cauwer et al., 2007), clinical laboratory findings of decreased glucose levels and increased protein levels in CSF, along with patient's clinical presentation, is enough to urge physicians to take empiric measures according to the worst-case scenario (Cantey et al., 2015). Even so, neonates with bacterial meningitis may present with unremarkable CSF parameters (Ku et al., 2015), which may hinder decisive therapeutic efforts. For

this reason, quick and precise diagnostic tools for bacterial meningitis are still warranted.

We have carried out a prospective study, analyzing clinical presentation and laboratory parameters of 61 children, to demonstrate that CSF sTREM-1 levels may have an additional value to routine CSF laboratory findings in this patient population. Moreover, sTREM-1 levels also correlated with clinical outcome, demonstrating that sTREM-1 may not be only useful in diagnosis of bacterial meningitis, but also serve as a prognostic factor, and perhaps it can be used in identifying patients who might require additional care. Other groups have already explored sTREM-1 as a diagnostic tool and predictor of outcome in bacterial meningitis, albeit in different patient populations and/or with different study designs (Determann et al., 2006; Bishara et al., 2007; Liu et al., 2015).

Determann and colleagues (2006) carried out a retrospective study analyzing the CSF of 92 adult patients with community-acquired bacterial meningitis, including analysis of CSF from 8 patients with viral meningitis and from 9 healthy controls. Besides being a retrospective study, Determann and collaborators also found that there was a considerable overlap in CSF sTREM-1 values in patients with bacterial meningitis and viral meningitis, which brings the sensitivity of the assay to question. This was not the case in our study, in which patients diagnosed with viral meningitis presented with mean sTREM-1 levels of 39.34 pg/mL ( $\pm 20.17$ ), compared to patients diagnosed with bacterial meningitis, who presented with mean sTREM-1 levels of 1204.67 pg/mL ( $\pm 1387$ ).

Bishara and collaborators (2007) evaluated 21 patients aged 18 or older to determine whether sTREM-1 was present in the CSF of patients with meningitis, and whether its presence could predict bacterial infection. Of these 21 patients, 12 were negative for CSF bacterial cultures, whilst 9 were positive. Seven of the 9 culture-positive CSF samples also demonstrated elevated sTREM-1 levels, indicating that sTREM should be further investigated as a possible diagnostic tool.

Carrol and collaborators (2009) evaluated retrospectively plasma levels of TREM-1, C-reactive protein, procalcitonin, haemoglobin scavenger receptor and High Mobility Group Box 1 (HMGB1) as markers of serious bacterial infection in 377 children presenting with a signs of meningitis or pneumonia,

190 of them HIV+. In this study, sTREM-1 was higher in patients with invasive pneumococcal disease and in patients with pneumonia, but there were no significant differences for serious bacterial infections or survival rates. This study is not in accordance with our results, but authors evaluated s-TREM-1 plasma levels and we s-TREM-1 CSF levels and part of patients studied by Carrol and colleges were HIV+ or had malaria, comorbidities that might influence sTREM-1 levels in ways not yet known.

Recently, Liu and colleagues (2015) proposed a score, which they named “bioscore”, in which both sTREM-1 and decoy receptor 3 (DcR3) were utilized to predict whether or not patients had bacterial meningitis. This was a rather elegant study, in which sTREM and DcR3 levels were correlated with microorganism species and other putative markers for bacterial meningitis. Cut-off values were established for both markers, and sensitivity and specificity increased significantly when taken together. However, this is a retrospective study, in which the mean age of the 80 patients with bacterial meningitis was  $43.75 \pm 16.46$ , which does not necessarily include children and neonates. The mean age of our study subjects, in months, was of  $17.5 \pm 41.23$ ,  $51.57 \pm 37.13$ , and  $45.81 \pm 57.56$  for patients without meningitis, with viral meningitis, and with bacterial meningitis, respectively, meaning that this study focused solely in the pediatric population.

Our study also established a cut-off value for sTREM-1 increase in bacterial meningitis. This cut-off was associated with several neurological disabilities or death in children with acute bacterial meningitis.

In this study we evaluated s-TREM-1 levels in CSF of children with clinical hypothesis of meningitis. The s-TREM-1 levels were increased in bacterial meningitis and correlated with prognosis. Our results suggest that CSF s-TREM-1 levels can be used as a biomarker for diagnosis of acute bacterial meningitis in children and it might be useful in determining patient’s prognosis in this scenario.

## **Disclosure**

This study was fully supported by the Brazilian Government research grant agencies CNPq, FAPESP and FAPERGS. Bianchin MM is further supported by CNPq (#485423/2012-0, #307084/2014-0) and PRONEM-FAPERGS/CNPq

(#11/2043.0). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. None of the authors has any conflict of interest to disclose. We confirm that we have read the Journal's position on issues involved in ethical publication and affirm that this report is consistent with those guidelines.

## References

1. Thigpen, M. C., et al. (2011). "Bacterial meningitis in the United States, 1998-2007." N Engl J Med **364**(21): 2016-2025.
2. Bouchon, A., et al. (2000). "Cutting edge: inflammatory responses can be triggered by TREM-1, a novel receptor expressed on neutrophils and monocytes." J Immunol **164**(10): 4991-4995.
3. Gibot S, Cravoisy A "Soluble form of the triggering receptor expressed on myeloid cells-1 as a marker of microbial infection." Clin Med Res 2004, **2**:181–187.
4. Gibot S, Cravoisy A, Levy B, Bene MC, Faure G, Bollaert PE "Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells and the diagnosis of pneumonia." N Engl J Med 2004, **350**:451–458.
5. Gamez-Diaz LY, Enriquez LE, Matute JD, Velasquez S, Gomez ID, Toro F, Ospina S, Bedoya V, Arango CM, Valencia ML, et al "Diagnostic accuracy of HMGB-1, sTREM-1, and CD64 as markers of sepsis in patients recently admitted to the emergency department." Acad Emerg Med 2011, **18**:807–815.
6. Suarez-Santamaria M, Santolaria F, Perez-Ramirez A, Aleman-Valls MR, Martinez-Riera A, Gonzalez-Reimers E, de la Vega MJ, Milena A "Prognostic value of inflammatory markers (notably cytokines and procalcitonin), nutritional assessment, and organ function in patients with sepsis." Eur Cytokine Netw 2010, **21**:19–26.

7. Jeong SJ, Song YG, Kim CO, Kim HW, Ku NS, Han SH, Choi JY, Kim JM "Measurement of plasma sTREM-1 in patients with severe sepsis receiving early goal-directed therapy and evaluation of its usefulness." *Shock* 2012, 37:574–578.
8. Bishara J, Hadari N, Shalita-Chesner M, Samra Z, Ofir O, Paul M, Peled N, Pitlik S, Molad Y "Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 for distinguishing bacterial from aseptic meningitis in adults." *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007, 26:647–650.
9. Determann RM, Weisfelt M, de Gans J, van der Ende A, Schultz MJ, van de Beek D "Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1: a biomarker for bacterial meningitis." *Intensive Care Med* 2006, 32:1243–1247.
10. Carrol ED, Mankhambo LA, Jeffers G, Parker D, Guiver M, Newland P, Banda DL; IPD Study Group, Molyneux EM, Heyderman RS, Molyneux ME, Hart CA. The diagnostic and prognostic accuracy of five markers of serious bacterial infection in Malawian children with signs of severe infection. *PLoS One*. 2009 Aug 13;4(8):e6621. doi:10.1371/journal.pone.0006621.

## 8. Considerações Finais

O presente trabalho evidenciou que a proteína sTREM-1 dosada no LCR pode ser uma ferramenta útil como diagnóstico adicional de meningite bacteriana na população pediátrica, assim como também servir como preditor de desfecho da doença.

Apesar dos esforços em alcançar as metas de vacinação global, a incidência e a prevalência da meningite bacteriana em crianças, especialmente nos países em desenvolvimento, continua elevada (OMS 2015). Valmari et al. descreveu os sinais e sintomas clínicos encontrados em crianças admitidas na emergência e que subsequentemente foram diagnosticadas com meningite bacteriana, e os sinais e sintomas encontrados foram febre, irritabilidade, alterações da consciência, vômitos e rigidez de nuca. Alertando a classe médica a respeito da necessidade da identificação destes sinais e sintomas como possível quadro de meningite para que a terapia direcionada não seja retardada (Valmari, Peltola et al. 1987). Da mesma forma os autores Curtis et al. e Bundy analisaram a precisão destes sinais e sintomas clínicos para o diagnóstico de meningite bacteriana e concluíram que nenhum diagnóstico clínico é construído de forma isolada a partir de um sinal ou sintoma, e que a combinação destes sinais e sintomas clínicos ainda não são totalmente claros para um coerente diagnóstico de meningite em crianças (Curtis, Stobart et al. 2010; Bundy 2011).

A análise cultural do LCR para bactérias é a ferramenta diagnóstica padrão ouro na meningite bacteriana, sendo não somente capaz de diagnosticar como também isolar a espécie bacteriana. No entanto, os resultados da cultura podem levar dias, fator que interfere na conduta e evolução natural da doença. Por esta razão, De Cauwer et al. em sua publicação apresentou um escore para auxiliar no diagnóstico de meningite bacteriana, levando-se em conta os valores laboratoriais como os níveis séricos da proteína C reativa, níveis reduzidos de glicose no LCR e aumento dos níveis de proteína no LCR e que estes achados poderiam auxiliar médicos a tomar medidas empíricas de tratamento de acordo com o cenário do caso (De Cauwer, Eykens et al. 2007; Cantey e Doern 2015). Mesmo assim, recém-nascidos com meningite bacteriana podem apresentar parâmetros do LCR

inexpressivos, prejudicando a decisão terapêutica (Ku, Boggess et al. 2015). Por estas razões, ferramentas de diagnóstico rápido e preciso para meningite bacteriana ainda são necessários.

Realizamos um estudo prospectivo, analisando os parâmetros de apresentação clínica e laboratorial de 61 crianças, para demonstrar que os níveis da proteína sTREM-1 no LCR podem apresentar um valor adicional aos achados laboratoriais de rotina do LCR nesta população de pacientes. Além disso, os níveis de sTREM-1 também se correlacionou com os resultados clínicos, demonstrando que sTREM-1 não é apenas útil no diagnóstico da meningite bacteriana, mas também pode servir como um fator de prognóstico, e, talvez, possa ser utilizado como ferramenta preditora em pacientes doentes que possam requerer cuidados adicionais . Outros grupos já têm explorado a proteína sTREM-1 como uma ferramenta de diagnóstico e preditor de desfecho na meningite bacteriana, embora em diferentes populações de pacientes e com diferentes desenhos de estudo (Determann et al. 2006; Bishara et al. 2007; Liu et al . 2015).

Determann et al. em 2006 realizaram um estudo retrospectivo analisando o LCR de 92 pacientes adultos com meningite bacteriana adquirida na comunidade, incluindo a análise do LCR de oito pacientes com meningite viral e de nove controles saudáveis. Além de ser um estudo retrospectivo, Determann et al. também descobriram que havia uma sobreposição considerável nos valores de sTREM-1 no LCR em pacientes com meningite bacteriana e meningite viral, que leva o ensaio a questionar a sensibilidade. Este achado não ocorreu em nosso estudo, em que os pacientes com diagnóstico de meningite viral apresentaram níveis de sTREM-1 médio de 39,34 pg/ml ( $\pm 20,17$ ), em comparação com os pacientes com diagnóstico de meningite bacteriana, que apresentaram níveis de sTREM-1 médio de 1.204,67 pg/mL ( $\pm 1,387$ ).

Bishara et al. em 2007 avaliaram 21 pacientes maiores de 18 anos para determinar se a proteína sTREM-1 estava presente no LCR nos casos com meningite, e se a sua presença poderia prever infecção bacteriana. Desses 21 pacientes, 12 apresentaram culturas bacterianas negativas no LCR, enquanto que nove foram positivos. Sete das nove amostras de LCR com cultura positiva

também demonstraram elevados níveis sTREM-1, indicando que sTREM-1 no LCR deve ser investigado como uma possível ferramenta de diagnóstico.

Carrol et al. avaliaram prospectivamente os níveis plasmáticos dos seguintes biomarcadores: sTREM-1, proteína C reativa, procalcitonina, CD163 e HMGB1 como marcadores de infecção bacteriana grave em 377 crianças apresentando sinais e sintomas de meningite ou pneumonia, 190 deles eram portadores do HIV. Neste estudo a proteína sTREM-1 apresentou níveis maiores em pacientes com doença pneumocócica invasiva e em pacientes com pneumonia, mas não houve diferenças significativas para infecções bacterianas graves ou taxas de sobrevivência (Carrol, Mankhambo et al. 2009). Este presente estudo não está de acordo com nossos resultados, sendo que os autores citaram que parte dos pacientes estudados por Carrol et al. apresentavam outras comorbidades como HIV e malária que potencialmente podem influenciar nos níveis da proteína sTREM-1 de forma ainda não conhecida.

Recentemente, Liu et al. propôs uma pontuação, que nomeou "bioscore", no qual tanto sTREM-1 e DcR3 foram utilizados como ferramenta preditora para meningite bacteriana. Este foi um estudo bastante elegante, em que os níveis de DcR3 e sTREM-1 foram correlacionados com espécies de micro-organismos e outros marcadores putativos para a meningite bacteriana. Foram estabelecidos valores-limite para ambos os marcadores, e, em conjunto, a sensibilidade e a especificidade aumentaram significativamente. No entanto, este é um estudo retrospectivo, em que a média de idade dos 80 pacientes com meningite bacteriana foi de  $43,75 \pm 16,46$  meses, o que não necessariamente inclui crianças e recém-nascidos (Liu, Shao et al. 2015). A idade média dos nossos pacientes estudados, em meses, foi de  $17,5 \pm 41,23$ ,  $51,57 \pm 37,13$  e  $45,81 \pm 57,56$  para os pacientes sem meningite, com meningite viral, e com meningite bacteriana, respectivamente, o que significa que esse estudo se concentrou unicamente na população pediátrica.

Nosso estudo também estabeleceu um valor de corte para os níveis de sTREM-1 na meningite bacteriana. Este corte foi associada a variáveis como sequela neurológica ou morte em crianças com meningite bacteriana aguda. Concluindo, neste presente estudo, foram avaliados os níveis da proteína sTREM-1 no LCR de crianças com suspeita clínica de meningite. Os níveis de

sTREM-1 foram elevados nos casos confirmados de meningite bacteriana e também correlacionados com o prognóstico. Os nossos resultados sugerem que a proteína sTREM-1 no LCR pode ser utilizada como um biomarcador para o diagnóstico de meningite bacteriana aguda em crianças e que pode ser útil na determinação do prognóstico do paciente nesse cenário.