

*Teresa Jackowska^{1,2}, Joanna Anyszka^{1,2}, Katarzyna Pawlik^{1,2}, Barbara Czarnočka³

Porównanie stężenia prokalcytoniny w różnicowaniu przyczyn gorączki u dzieci w zależności od zastosowanej metody diagnostycznej**

Comparison of procalcitonin levels in differentiating the causes of fever in children, depending on the diagnostic method

¹Klinika Pediatrii Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego w Warszawie
Kierownik Kliniki: dr hab. med. Teresa Jackowska, prof. nadzw. CMKP

²Kliniczny Oddział Pediatryczny, Szpital Bielański im. ks. J. Popieluszki w Warszawie
Ordynator Oddziału: dr hab. med. Teresa Jackowska, prof. nadzw. CMKP

³Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej, Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego, Warszawa
Kierownik Zakładu: prof. dr hab. med. Barbara Czarnočka

Streszczenie

Wprowadzenie. W diagnostyce stanów gorączkowych u dzieci, szczególnie przydatne mogą być szybkie testy diagnostyczne. Pozwalają one na wczesne rozpoznanie choroby oraz wdrożenie odpowiedniego leczenia.

Cel pracy. Porównanie dwóch metod diagnostycznych (półilościowej i ilościowej), oceniających stężenie prokalcytoniny w surowicy krwi u gorączkujących dzieci.

Materiał i metoda. Badaniem objęto 201 dzieci (121 chłopców i 80 dziewcząt) w wieku 1/12-17 lat (średnio 3,8 lat), hospitalizowanych w Klinicznym Oddziale Pediatrycznym Szpitala Bielańskiego w okresie dwóch kolejnych lat (2007-2009). Kryterium włączenia do badania była temperatura ciała $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$. U 129 dzieci (64%) badanie wykonano szybkim testem płytkowym (PCT-Q), u 177 dzieci (88%) metodą immunoluminometryczną (ILMA). U 105 dzieci (52%) badanie wykonano zarówno PCT-Q, jak i PCT-ILMA. Pacjentów przydzielono do jednej z czterech grup zależnie od stężenia PCT: grupa 1 PCT < 0,5 ng/ml, grupa 2 $\geq 0,5 < 2$ ng/ml, grupa 3 $\geq 2 < 10$ ng/ml i grupa 4 ≥ 10 ng/ml.

Wyniki. Dodatni szybki test PCT-Q ($\geq 0,5$ ng/ml) stwierdzono u 48/129 dzieci (37%), z tego u 30 (23%) mieścił się w grupie 2 (PCT-Q 0,5-2 ng/ml), u 9 (7%) w grupie 3 (PCT-Q 2-10 ng/ml) i u kolejnych 9 (7%) w grupie 4 (PCT-Q > 10 ng/ml). U 81 dzieci (63%) test był ujemny (< 0,5 ng/ml). Oznaczenia stężeń prokalcytoniny przy użyciu metody immunoluminometrycznej (PCT-ILMA) wykonano u 177/201 (88%) dzieci, uzyskując dodatnie stężenia PCT ($\geq 0,5$ ng/ml) u 76/177 (43%). Stwierdzono znamiennej zależność w stężeniach PCT-ILMA ($p = 0,04$) w surowicy krwi pomiędzy zakażeniami bakteryjnymi (średnia wartość 34,27 ng/ml), a wirusowymi (0,57 ng/ml), czy o nieustalonej etiologii (2,9 ng/ml). Wykazano znamiennej korelację pomiędzy poszczególnymi parametrami ($p < 0,0001$) w całej badanej grupie pomiędzy CRP, WBC a PCT-ILMA. Nie stwierdzono korelacji w zakażeniach wirusowych, a w bakteryjnych znamiennej korelacja występowała tylko pomiędzy CRP a PCT-ILMA ($p < 0,0005$). U 105/201 (52%) dzieci prokalcytonię oznaczono obiema metodami. Pełną zgodność pomiędzy metodą półilościową (PCT-Q) a ilościową (ILMA) stwierdzono w 59% (62/105), a częściową w 94% przypadków (99/105). Wyniki oceny czułości (55%) i swoistości (84%) testu PCT-Q, wskazują na większą przydatność testu do potwierdzenia choroby niż jej wykluczenia. Co też odzwierciedla uzyskana dodatnia wartość predykcyjna (PPV) – 79%, mówiąca o prawdopodobieństwie uzyskania wyniku prawdziwie dodatniego.

Wnioski. Test PCT-Q może być wykorzystywany do szybkiego oznaczania prokalcytoniny w surowicy krwi i stosowany jako test przesiewowy u dzieci z wysoką gorączką w diagnostyce ambulatoryjnej zakażeń.

Słowa kluczowe: prokalcytonina, PCT-Q, PCT-ILMA

Summary

Introduction. In the diagnosis of fevers in children fast diagnostic tests are particularly valuable. They enable an early diagnosis of a disease and the implementation of appropriate treatment.

Aim of the study. Comparison of two diagnostic methods (semi-quantitative and quantitative) of assessing the procalcitonin concentration in blood serum in children with fever.

**Praca finansowana w ramach projektu CMKP nr 501-1-20-32/10.

Material and methods. The study included 201 children (121 boys and 80 girls) aged from 1 month to 17 years (average 3.8 years), hospitalized at the Clinical Department of Pediatrics, Bielański Hospital in Warsaw, in the period of two subsequent years (2007-2009). The criterion to include the child in the study was a body temperature $\geq 38.5^{\circ}\text{C}$. In 129 (64%) children the assessment was carried out using the rapid test (PCT-Q), in 177 (88%) children using the immunoluminometric method (ILMA). In 105 out of 201 (52%) children both tests were performed (PCT-Q and PCT-ILMA). The patients were categorised into one of four groups, depending on the level of PCT: group 1 PCT < 0.5 ng/ml, group 2 $\geq 0.5 < 2$ ng/ml, group 3 $\geq 2 < 10$ ng/ml and group 4 ≥ 10 ng/ml.

Results. A positive PCT-Q (≥ 0.5 ng/ml) rapid test result occurred in 48 out of 129 (37%) children, of which in 30 (23%) the result belonged to group 2 (PCT-Q 0.5-2 ng/ml), in 9 (7%) to group 3 (PCT-Q 2-10 ng/ml) and in the remaining 9 (7%) to group 4 (PCT-Q > 10 ng/ml). In 81 (63%) children the test was negative (< 0.5 ng/ml). The procalcitonin level was determined using the immunoluminometric method (PCT-ILMA) in 177 out of 201 (88%) children, with positive PCT (≥ 0.5 ng/ml) levels in 76 out of 177 (43%) cases. A significant dependence was observed for the PCT-ILMA ($p = 0.04$) levels in blood serum between bacterial infections (average value/level 34.27 ng/ml) and viral ones (0.57 ng/ml) or of an unspecified etiology (2.9 ng/ml). A considerable correlation was also found between the particular parameters ($p < 0.0001$), in the whole group under investigation, between the CRP, WBC, and PCT-ILMA. A correlation was not observed in viral infections, while in bacterial ones a significant correlation occurred only between CRP and PCT-ILMA ($p < 0.0005$). In 201 children the procalcitonin level determined using both methods. A full accordance between the semi-quantitative method (PCT-Q) and the quantitative one (ILMA) was observed in 59% (62 out of 105) cases, and a partial one in 94% (99 out of 105). Results of the sensitivity assessment (55%) and of the specificity (84%) for the PCT-Q test confirm a greater usefulness of the test to confirm a disease rather than to exclude it. This is also reflected in the positive predictive (PPV) value obtained – 79% – which indicates a probability of obtaining a true positive result.

Conclusions. The PCT-Q test may be used for a rapid determination of procalcitonin level in blood serum and used as a screening test in children with high fever, as well as in outpatient diagnostics of infections.

Key words: procalcitonin, PCT-Q, PCT-ILMA

WPROWADZENIE

W codziennej praktyce pediatrycznej często występują trudności diagnostyczne w ustaleniu przyczyny gorączki, która jest częstym objawem chorób wieku dziecięcego, a co za tym idzie w zastosowaniu odpowiedniego leczenia. Problemy pojawiają się również przy poszukiwaniu przyczyny pogorszenia stanu ogólnego pacjenta z już wcześniej ustalonym rozpoznaniem (1, 2).

Obecnie znanych jest kilka wskaźników, które są używane w diagnostyce procesu zapalnego i odpowiedzi immunologicznej ustroju tj. liczba leukocytów z oceną odsetka granulocytów i limfocytów, odczyn Biernackiego, stężenie białka C-reaktywnego (CRP), prokalcytonina, czy rzadziej oznaczane IL-6, $\text{TNF}\alpha$, $\alpha 1$ -antytrypsyna. Są one jednak mało swoiste i nie różnicują przyczyn zapalenia. Ze względu na dynamikę procesu chorobowego, szczególne znaczenie w diagnostyce stanów gorączkowych u dzieci mają szybkie testy diagnostyczne, dostępne także w warunkach ambulatoryjnych. Pozwalają one ustalić wczesną diagnozę, zróżnicować etiologię oraz zastosować odpowiednie leczenie. Testy przesiewowe powinny charakteryzować się wysoką specyficznością i czułością, a jednocześnie być tanie i łatwe do wykonania.

Najwięcej nadziei pokłada się w prokalcytoninie (PCT), nad jej przydatnością w codziennej diagnostyce zakażeń u dzieci, a nie tylko w badaniach naukowych.

Prokalcytonina jest białkiem prekursorowym kalcytoniny, zbudowanym ze 116 aminokwasów o ciężarze cząsteczkowym około 13 KD. Powstaje w wyniku odcięcia od preprokalcytoniny peptydu sygnałowego. W wyniku dalszej proteolizy ulega ona rozszczepieniu

na trzy peptydy: kalcytoninę oraz N-prokalcytoninę i katakalcynę (3, 4). W warunkach fizjologicznych PCT jest syntezowana w komórkach parafolikularnych C tarczycy, a jej stężenie w surowicy krwi jest bardzo niskie. W zależności od metody oznaczania nie przekracza wartości 0,5-0,7 ng/ml (5-7). Przy zastosowaniu immunoluminometrycznych metod stężenie PCT jest zwykle poniżej granicy wykrywalności ($< 0,1$ ng/ml) (7). U noworodków w pierwszych 2. dobach życia wartości stężenia PCT są fizjologicznie podwyższone i zmieniają się w ciągu kilku godzin (8). Wartości referencyjne dorosłych stosuje się dopiero od 3. doby życia dziecka.

Badania wykazały, że PCT wytwarzana podczas ostrej reakcji zapalnej zbudowana jest ze 114 aminokwasów, bowiem brak N-końcowego dipeptydu (4). Nie podlega ona również proteolizie. Uważa się, że syntetyzowana jest poza gruczołem tarczowym i uwalniana do krwi w postaci niezmienionej. Dowodem jest wzrost stężenia PCT u osób po tyreoidectomii (10). Sugeruje się, że PCT powstaje w komórkach neuroendokrynych różnych narządów, takich jak płuca, jelita, trzustka oraz w komórkach krwi obwodowej (11), a także w makrofagach i monocytach wątroby (12). Głównym czynnikiem pobudzającym bezpośrednio lub pośrednio komórki do produkcji PCT są endotoksyny bakteryjne (13), cytokiny prozapalne, takie jak IL-2, IL-6 i $\text{TNF}\alpha$ (14). Dandona i wsp. (13) potwierdzili, że wzrost stężenia PCT następuje bardzo wcześnie po zadziałaniu toksyn bakteryjnych. Maksymalny poziom wystąpił między 6. a 8. godziną po iniekcji i utrzymywał się przynajmniej przez 24 godziny. Również nie bez znaczenia w diagnostyce jest obserwowana duża

dynamika wzrostu stężeń PCT z przyrostem stężeń ok. 50 ng/ml/godzinę.

W celu oznaczenia stężenia prokalcytoniny w badanej próbce początkowo posługiwano się metodą radioimmunologiczną (RIA) (6). Dopiero test immunoluminometryczny pozwolił na szersze zastosowanie oceny PCT w praktyce klinicznej i jest do dziś najczęściej stosowany. Do tej pory znanych jest kilka immunotestów, które służą do ilościowego oznaczania stężenia PCT. Dostępny jest również szybki, płytkowy test półilościowy PCT-Q, który ze względu na łatwość i szybkość wykonania oraz szczególną dynamikę procesu chorobowego u dzieci może mieć duże znaczenie praktyczne w diagnostyce.

CEL PRACY

Celem pracy było porównanie dwóch metod diagnostycznych (półilościowej i ilościowej), oceniających stężenie PCT w surowicy krwi u gorączkujących dzieci.

MATERIAŁ

Badaniem objęto 201 dzieci (121 chłopców i 80 dziewcząt) w wieku od 1 miesiąca do 17 lat (średnio 3,8 lat), hospitalizowanych w Klinicznym Oddziale Pediatricznym Szpitala Bielańskiego (Klinika Pediatrii Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego) w okresie kolejnych dwóch lat (od grudnia 2007 do listopada 2009 roku). Kryterium włączenia do badania była, stwierdzona przy przyjęciu, temperatura ciała dziecka równa lub wyższa niż 38,5°C.

Próbki krwi pochodziły od: 116/201 (58%) dzieci z zakażeniem układu oddechowego (71 było z zakażeniem górnych dróg oddechowych, 39 z zapaleniem płuc, 5 z zapaleniem oskrzeli, jednego z zapaleniem oskrzelików), 34 (17%) z zakażeniem przewodu pokarmowego, 31 (15%) z zakażeniem układu moczowego oraz 20 (10%) dzieci przyjętych do szpitala z powodu innych przyczyn (stan po drgawkach gorączkowych, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów, pokrzywka, stan po ugryzieniu owada, rumień nagły, zapalenie napletka, zespół gorączek nawrotowych, choroba Schönleina-Henocha). Spośród dzieci włączonych do badania u 7 (3,5%) rozpoznano zakażenie uogólnione (tab. 1). Stężenie PCT metodą immunochromatograficzną oznaczono u 129 dzieci (64%) grupy badanej, a PCT z zastosowaniem testu immunoluminometrycznego u 177 (88%) dzieci. U 105/201 (52%) możliwe było wykonanie obu testów.

METODA

U każdego dziecka przy przyjęciu do oddziału, po zebraniu wywiadu i badaniu przedmiotowym, pobierano krew na zaplanowane przez lekarza indywidualnie dla każdego dziecka badania laboratoryjne. Ze względu na gorączkę i podejrzenie zakażenia u każdego pobierano krew do badań morfologii krwi obwodowej,

Tabela 1. Charakterystyka grupy badanej.

Grupa badana		N-201
Wiek		1/12-17 lat średnio 3,8 lat
Płeć	chłopcy	121 (60,2%)
	dziewczeta	80 (39,8%)
Zakażenie układu oddechowego	Górne drogi oddechowe	71 (35%)
	Dolne drogi oddechowe w tym zapalenie płuc oskrzeli oskrzelików	45 (22%)
		39 (20%)
		5 (2%)
	1	
Zakażenie przewodu pokarmowego		34 (17%)
Zakażenie układ moczowy		31 (15%)
Inne przyczyny gorączek		20 (10%)
Etiologia	bakteryjna	53 (26%)
	wirusowa	18 (9%)
	nieustalona	130 (65%)
Czas hospitalizacji		1-24 dni średnio 8 dni

stężenia białka C-reaktywnego (CRP) i prokalcytoniny (metodą immunochromatograficzną oraz immunoluminometryczną).

Stężenie prokalcytoniny metodą immunochromatograficzną, półilościową było oznaczone w surowicy natychmiast po przyjęciu dziecka na oddział za pomocą szybkiego testu PCT-Q firmy BRAHMS Diagnostica, Niemcy. W teście zastosowano monoklonalne, mysie przeciwciała przeciw katakalcynie połączone z koloidalnym złotem (znacznik) oraz poliklonalne owcze przeciwciała przeciw kalcytoninie (faza stała). Po dodaniu surowicy lub osocza na płytkę testową znacznik łączy się z PCT obecną w badanej próbce, tworząc kompleks między znakowanym przeciwciałem i antygenem. Siłą ssącą kapilar kompleks ten przesuwają się przez system w kierunku prążka testowego. W tym miejscu, znakowany kompleks antygen – przeciwciała przyłącza się do (unieruchomionego na fazie stałej) przeciwciała przeciw kalcytoninie, tworząc kompleks typu „sandwich”. Powstaje różowy prążek, a intensywność jego barwy jest wprost proporcjonalna do stężenia PCT w próbce. Porównuje się go ze skalą barw na karcie referencyjnej, co pozwala ustalić przedział wartości, w jakim zawiera się otrzymany wynik: 1) < 0,5 ng/ml, 2) ≥ 0,5 ng/ml < 2,0 ng/ml, 3) ≥ 2 ng/ml < 10,0 ng/ml, 4) ≥ 10 ng/ml. Niezwiązana część znacznika przesuwają się dalej, tworząc pasek kontrolny o mocnym czerwonym zabarwieniu. Określa on sprawność funkcjonalną testu. Jeżeli brak jest paska kontrolnego test jest nieważny i nie podlega ocenie. Do wykonania badania wystarczy 6 kropeł (około 300 µl) surowicy lub osocza. Płytkę jest używana jednorazowo, indywidualnie do każdego oznaczenia. Każdorazowo dodawano 6 kropeł

surowicy na wyznaczone miejsce na płytce testowej za pomocą załączonej do zestawu pipety. Po 30 minutach inkubacji w temperaturze pokojowej oceniano zabarwienie paska testowego i porównywano go z załączoną skalą barwną. **Pacjentów przydzielono do jednej z czterech grup zależnie od otrzymanego wyniku testu PCT-Q:** grupa 1 PCT < 0,5 ng/ml, grupa 2 $\geq 0,5 < 2$ ng/ml, grupa 3 $\geq 2 < 10$ ng/ml i grupa 4 ≥ 10 ng/ml. Badania wykonywano w gabinecie zabiegowym, na oddziale, a czas od pobrania do otrzymania wyniku wynosił maksymalnie 60 minut.

Do oceny ilościowej stężenia PCT w surowicy zastosowano test immunoluminometryczny (ILMA). W metodzie tej użyto dwa swoiste antygenowo przeciwciała monoklonalne, wiążące prokalcytoninę (antygen) w dwóch różnych miejscach (segmenty katakalcyny i kalcytoniny). Jedno przeciwciało jest znakowane luminescencyjnie (znanek), drugie umocowane wewnątrz próbek. Podczas inkubacji oba przeciwciała reagują z cząsteczkami prokalcytoniny tworząc tak zwany „sandwich”, co w rezultacie prowadzi do przytwierdzenia przeciwciała znakowanego luminescencyjnie do powierzchni próbki. Po zakończeniu reakcji zbędny nadmiar znacznika jest usuwany z próbki. Następnie ilość znacznika pozostałego na ściankach próbki określa się za pomocą pomiaru natężenia luminescencji za pomocą luminometru i odczytników z zestawu B·R·A·H·M·S Basiskit LIA. Intensywność sygnału luminescencyjnego (RLU) jest wprost proporcjonalna do stężenia PCT w danej próbce. Wartości prawidłowe, zgodnie z zaleceniem producenta, uznawano poniżej 0,5 ng/ml. Natomiast wartości wyższe ($\geq 0,5$ ng/ml) są dodatnie, przy czym wartość PCT ≥ 10 ng/ml świadczy o bardzo wysokim prawdopodobieństwie ciężkiego zakażenia bakteryjnego lub sepsy. Do badania PCT metodą immunoluminometryczną konieczne było zbieranie próbek surowicy, tak że oznaczenie otrzymywano po wypisaniu dziecka z oddziału. Badania wykonywano w Zakładzie Biochemii i Biologii Molekularnej, Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego.

Pomiary uważano za zgodne, jeżeli wyniki obu metod mieściły się w tym samym przedziale. Brano także pod uwagę częściową zgodność, jeżeli wyniki mieściły się w sąsiednich przedziałach. Zgodność pomiarów obliczono dla poszczególnych grup, jak i dla wszystkich pacjentów.

W każdej grupie pacjentów obliczono średnią arytmetyczną, odchylenie standardowe i medianę. Dla porównania stężeń PCT-Q i PCT-ILMA w zależności od zakażenia przeprowadzono analizę za pomocą nieparametrycznych testów dla wielu prób: ANOVA Kruskala-Wallisa i mediany. Wyliczono czułość, specyficzność oraz dodatnią i ujemną wartość predykcyjną dla PCT-Q. Analizy statystyczne wykonywano w programie Statistica 9.0. Za statystycznie znamienne uznawano wyniki przy poziomie istotności $p < 0,05$.

WYNIKI

Dodatni szybki test PCT-Q ($\geq 0,5$ ng/ml) stwierdzono u 48/129 dzieci (37%), z tego u 30 dzieci (23%) potwierdzono w grupie 2 (PCT-Q 0,5-2 ng/ml), u 9 (7%) w grupie 3 (PCT-Q 2-10 ng/ml) i u kolejnych 9 (7%) w grupie 4 (PCT-Q > 10 ng/ml). U 81 dzieci (63%) test był ujemny (< 0,5 ng/ml) (tab. 2).

Tabela 2. Wyniki PCT metodą PCT-Q.

Prokalcytonina ng/ml		PCT-Q	
		N=129	%
Grupa	1. < 0,5	81	63%
	2. $\geq 0,5 < 2$	30	23%
	3. $\geq 2 < 10$	9	7%
	4. ≥ 10	9	7%

Spośród 30 dzieci z miernie dodatnim testem PCT-Q (grupa 2-0,5-2 ng/ml) u 4 dzieci rozpoznano ostre zapalenie gardła i migdałków, u 7 zapalenie płuc, u 10 zakażenie przewodu pokarmowego, u 6 zakażenie układu moczowego, u dwojga mononukleozę, a u jednego na podstawie obrazu klinicznego zakażenie uogólnione, bez potwierdzenia bakteriologicznego. U 10 rozpoznano zakażenie bakteryjne: u czworga przewodu pokarmowego (*Salmonella* i *Yersinia enterocolitica*), u sześciorga zakażenia układu moczowego. U pięciorga dzieci potwierdzono zakażenie wirusowe (3 – rotawirusowe, 2 – mononukleozę zakaźną). U 15 dzieci badaniami laboratoryjnymi nie potwierdzono zarówno etiologii wirusowej, jak i bakteryjnej zakażenia.

Wysoki poziom prokalcytoniny (grupa 3, z PCT-Q 2-10 ng/ml) stwierdzono u 9 (7%) dzieci. U trójga rozpoznano zakażenie górnych dróg oddechowych (ucha, zatok, gardła), u dwojga zapalenie płuc, u trójga zakażenie układu moczowego, w tym u jednego urosepsę i u jednego uogólnioną pokrzywkę. Badaniami mikrobiologicznymi u trójga dzieci potwierdzono zakażenie układu moczowego (w tym u jednego zarówno posiewem krwi, jak i moczu). U jednego pacjenta rozpoznano bakteryjne zapalenie płuc o etiologii *Mycoplasma pneumoniae*. U pozostałych pięciu pacjentów na podstawie przebiegu klinicznego podejrzewano etiologię bakteryjną, jednak nie uzyskano dodatknych wyników badań mikrobiologicznych.

Z 9 dzieci ze znacznie podwyższonym stężeniem PCT-Q (grupa 4, PCT-Q > 10 ng/ml) u trójga rozpoznano zakażenie układu moczowego, u pięciorga zapalenie płuc, a u jednego zakażenie uogólnione o etiologii *Yersinia enterocolitica*. Etiologię zapalenia płuc ustalono u 2/5 pacjentów. Były to atypowe zapalenia płuc u jednego o etiologii *Mycoplasma pneumoniae*, a u drugiego *Chlamydomphila pneumoniae*.

Ujemny test PCT-Q stwierdzono u 81/129 (63%) dzieci, u których w zdecydowanej większości rozpoznawano zakażenie dróg oddechowych (52/81; 64%), w tym u pięciorga było to zapalenie płuc, u 14/81 (17%) przewodu pokarmowego, u 6/81 (7,5%) zakażenie układu moczowego, u 3/81 (4%) stan po

drgawkach gorączkowych. U pozostałych pięciu (6%) były to pojedyncze rozpoznania, takie jak guz w jamie brzusznej, pokrzywka, reakcja alergiczna po ugryzieniu przez osę, zapalenie napletka, choroba Shönleina-Henocha. Natomiast u 2,4-letniego dziecka (1/81) z ujemnym test PCT-Q rozpoznano zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych o etiologii *Neisseria meningitidis*. U chłopca nie wykonano oznaczenia prokalcytoniny metodą ilościową (PCT-ILMA).

U 21/81 (26%) dzieci z ujemnym test PCT-Q potwierdzono czynnik etiologiczny zakażenia. U 12 dzieci potwierdzono etiologię bakteryjną zakażenia. W sześciu przypadkach było to zakażenie układu moczowego, w dwóch przewodu pokarmowego, w kolejnych dwóch zapalenie gardła i migdałków (dodatni test Strep A), po jednym zapaleniu płuc i zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych (*Neisseria meningitidis*). U 9 były to zakażenia wirusowe, w tym u siedmiorga przewodu pokarmowego (1 biegunka norowirusowa, 6 rotawirusowych), a u dwójki rozpoznano mononukleozę zakaźną. U pozostałych 60/81 (74%) dzieci nie ustalono etiologii zakażenia.

Oznaczenia stężeń prokalcytoniny przy użyciu metody immunoluminometrycznej (PCT-ILMA) wykonano u 177/201 (88%) dzieci uzyskując dodatnie stężenia PCT ($\geq 0,5$ ng/ml) u 76/177 (43%). Średnie stężenia PCT-ILMA w zakażeniach o etiologii wirusowej wynosiły 0,57 ng/ml (0,16-1,28 ng/ml), bakteryjnych 34,27 ng/ml (0,0-572,3 ng/ml), o nieustalonej etiologii 2,9 ng/ml (0,0-231,2 ng/ml). U 23/76 (30%) dzieci rozpoznano zakażenie bakteryjne potwierdzone mikrobiologicznie (dodatnie posiewy krwi, moczu, kału, wymazu z gardła). U 8/76 (10,5%) rozpoznano zakażenie wirusowe (4 – rotawirusowe, 4 – mononukleozę zakaźną). U pozostałych 45/76 (59,5%) dzieci nie ustalono etiologii zakażenia zarówno wirusowego, jak i bakteryjnego. Jednak na podstawie obrazu klinicznego i przebiegu choroby wysunięto podejrzenie zakażenia bakteryjne-

go (przewodu pokarmowego, górnych dróg oddechowych, zapalenie ucha środkowego, zapalenie płuc). U 101/177 (57%) dzieci stężenie PCT-ILMA było w normie. Jednak na podstawie uzyskanych wyników posiewów (moczu, kału) lub obrazu klinicznego w powiązaniu z podwyższonym CRP, czy WBC u 21/101 (21%) podejrzewano etiologię bakteryjną zakażenia. U 9/101 (9%) ustalono etiologię wirusową, a u 71/101 (70%) nie udało się ustalić przyczyny zakażenia.

Średnie wartości białka ostrej fazy (CRP) były znamienne wyższe w zakażeniach bakteryjnych niż wirusowych, czy o nie ustalonej etiologii i wynosiły odpowiednio 109,9 mg/L; 26,6 mg/L; 47,7 mg/L ($p < 0,05$). Średnie liczby krwinek białych (WBC) były znamienne wyższe w zakażeniach bakteryjnych niż wirusowych, czy o nieustalonej etiologii i wynosiły odpowiednio $17,75 \times 10^9/\text{ml}$; $9,74 \times 10^9/\text{ml}$; $13,0 \times 10^9/\text{ml}$ ($p < 0,05$). Także stwierdzono znamiennej zależność w stężeniach PCT-ILMA ($p = 0,04$) w surowicy krwi pomiędzy zakażeniami bakteryjnymi, gdzie średnie wartości PCT wynosiły 34,27 ng/ml, w porównaniu do wirusowych (0,57 ng/ml), czy o nieustalonej etiologii (2,9 ng/ml) (tab. 3).

U dzieci z dodatnim posiewem bakteryjnym ($n = 44$) stwierdzano zarówno prawidłowe (21 oznaczeń), mierne (19 oznaczeń), jak i znacznie podwyższone stężenia PCT-ILMA (4 oznaczenia). U 17/177 dzieci, u których potwierdzono zakażenie wirusowe stężenie PCT-ILMA było mierne podwyższone w siedmiu przypadkach z maksymalnym poziomem 1,3 ng/ml. U dzieci ($n = 116$), u których nie ustalono bakteryjnej, jak i wirusowej etiologii zakażenia stężenie PCT-ILMA było podwyższone u 46 (40%) dzieci, z tego u dziewięciorga było wysokie (powyżej 2 ng/ml). Maksymalny poziom PCT-ILMA (231,2 ng/ml) stwierdzono u pacjenta z ciężkim prawostronnym zapaleniem płuc.

Wykazano znamiennej korelację pomiędzy poszczególnymi parametrami ($p < 0,0001$) w całej badanej

Tabela 3. Białko ostrej fazy (CRP), poziom krwinek białych (WBC) i prokalcytoniny oznaczonej testem immunoluminometrycznym (PCT-ILMA) w zależności od etiologii zakażenia.

Parametry laboratoryjne, a rodzaj zakażenia	Ogółem Średnia arytmetyczna (min; max) (\pm SD) mediana	Wirusowe	Bakteryjne	Nieustalone	p
		Średnia arytmetyczna (min; max) (\pm SD) mediana			
CRP (mg/l)	N=201 62,0 (0,1-381,0) (\pm 77,2) 32,3	N=18 26,6 (0,3-146,8) (\pm 38,0) 10,4	N=53 109,9 (1,5-337,6) (\pm 85,2) 101,5	N=130 47,3 (0,1-381,0) (\pm 69,3) 20,2	0,0000
WBC ($\times 10^9/\text{ml}$)	N=201 14 (2,8-39,9) (\pm 7,3) 12,5	N=18 9,74 (4,4-16,6) (\pm 3,96) 8,85	N=53 17,75 (5,7-33,9) (\pm 6,57) 18,0	N=130 13,0 (2,8-39,9) (\pm 7,3) 11,4	0,001
PCT-ILMA (ng/ml)	N=177 10,5 (0,0-572,3) (\pm 66,3) 0,4	N=17 0,57 (0,16-1,28) (\pm 0,35) 0,4	N=44 34,27 (0,0-572,3) (\pm 126,45) 0,76	N=116 2,9 (0,0-231,2) (\pm 21,5) 0,35	0,04

grupie pomiędzy CRP, WBC a PCT-ILMA. W przypadku zakażeń wirusowych nie stwierdzono korelacji, natomiast w zakażeniach o ustalonej etiologii bakteryjnej znamienne korelacja występowała tylko pomiędzy CRP, a PCT-ILMA ($p < 0,0005$).

Spośród 201 dzieci zakwalifikowanych do badania, prokalcytonię obiema metodami: półilościową (PCT-Q) i ilościową (ILMA) oznaczono u 105/201 (52%) pacjentów. Pełną zgodność wszystkich wyników badań, wykonanych za pomocą obydwu metod, stwierdzono w 62/105 (59%), a częściową (przy uwzględnieniu błędu odczytu w zakresie jednego przedziału) w 99 (94%) przypadkach. W poszczególnych grupach pełną zgodność uzyskiwano w 50-63%, a częściową od 63 do 100%. W grupie 2 ($PCT-Q \geq 0,5 < 2$ ng/ml) maksymalne wartości PCT-ILMA wynosiły 2,91 ng/ml. W grupie 4 ($PCT-Q \geq 10$) – 211,22 ng/ml i u czworga dzieci były powyżej 230 ng/ml, a u trójga powyżej 1,2 ng/ml. Tylko u jednego dziecka z sepsą o etiologii *Yersinia enterocolitica* stwierdzono PCT-ILMA 0,15 ng/ml. Nie można wykluczyć, że było to wynikiem błędu laboratoryjnego, bowiem u tego dziecka poziom prokalcytoniny wykonany testem półilościowym był zaliczony do grupy 4 ($PCT-Q \geq 10$) (tab. 4).

Przy założeniach, że wyniki ujemne stanowią wartości prokalcytoniny $< 0,5$ ng/ml w metodzie PCT-ILMA, a wyniki dodatnie stanowią wartości $\geq 0,5$ ng/ml czułość ocenianego testu PCT-Q wynosi 55%, a swoistość 84%. Dla uzyskanych wyników oceniono dodatnią wartość predykcyjną (PPV), która wyniosła 79%, a ujemna wartość predykcyjna (NPV) – 62% (tab. 5).

DYSKUSJA

Gorączka jest najczęstszym objawem patologicznym u dzieci, a zarazem dużym problemem diagnostycznym, bowiem często objawy kliniczne są niewystarczające, aby rozpoznać zakażenie bakteryjne, a co za tym idzie podjąć właściwą decyzję co do włączenia odpowiedniego leczenia (podania antybiotyku). Ponadto posiewy krwi często są negatywne, pomimo podejrzewanej na podstawie obrazu klinicznego, CRP, WBC etiologii bakteryjnej zakażenia.

Tabela 5. Ocena czułości, swoistości, dodatniej oraz ujemnej wartości predykcyjnej testu PCT-Q w odniesieniu do PCT-ILMA.

		PCT-ILMA	
		(+)	(-)
PCT-Q	(+)	31	8
	(-)	25	41

Czułość – 55%

Swoistość – 84%

PPV – dodatnia wartość predykcyjna – 79%

NPV – ujemna wartość predykcyjna – 62%

Prokalcytonina, jako wysoce specyficzne białko w zakażeniach bakteryjnych jest wykorzystywana w różnicowaniu zakażeń oraz diagnostyce inwazyjnych zakażeń bakteryjnych (15). Zgodnie z wynikami badań, sugeruje się, że PCT przewyższa inne markery stanu zapalnego pod względem czułości w diagnozowaniu i różnicowaniu, zwłaszcza stanów ciężkich.

Wyniki naszego badania także wykazały, że podwyższone stężenie prokalcytoniny przemawiało za bakteryjnym charakterem zapalenia. U pacjentów, u których szybki test diagnostyczny (PCT-Q) był dodatni (powyżej 0,5 ng/ml) u większości rozpoznano etiologię bakteryjną zakażenia i włączono do leczenia antybiotyki. U części pacjentów z miernie dodatnim testem PCT-Q (0,5-2 ng/ml) potwierdzono etiologię wirusową zakażenia. Dlatego też uważamy, że w tych wypadkach konieczna jest korelacja PCT-Q z CRP i WBC. Bardzo wysokie stężenie PCT-Q (> 10 ng/ml) potwierdzały ciężkie zakażenia bakteryjne, nawet z procesem uogólnionym.

Dlatego też tak jak inni autorzy uważamy, że wysokie stężenia prokalcytoniny korelują ze stanem klinicznym pacjentów, szczególnie w przypadku zakażeń uogólnionych, we wstrząsie septycznym, czy ropnym zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych (5, 6, 16, 17, 18). Niezwykle istotne w różnicowaniu miejscowych i uogólnionych zakażeń bakteryjnych są poziomy PCT-Q powyżej 2 ng/ml (19). Jednak należy pamiętać, że ujemny test PCT-Q nie wyklucza zakaże-

Tabela 4. Zgodność wyników badań wykonanych testem PCT-Q i PCT-ILMA.

PCT-ILMA ng/ml	PCT-Q (ng/ml)				Ogółem
	$< 0,5$	$\geq 0,5 < 2$	$\geq 2 < 10$	≥ 10	
N	66	25	6	8	105
Średnia	0,56	1,85	5,39	211,22	17,2
Mediana	0,36	0,90	2,05	117,82	0,5
Minimum	0,12	0,00	1,17	0,15	0,0
Maksimum	2,91	12,92	20,36	572,30	572,3
Odch. std	0,53	2,83	7,46	249,44	85,6
Pełna zgodność [N]	42	13	3	4	62
%	63	52	50	50	59
Częściowa zgodność* [N]	64	24	6	5	99
%	97	96	100	63	94

*Zgodność przy uwzględnieniu błędu odczytu w zakresie jednego przedziału.

nia bakteryjnego. W naszym materiale w 12 przypadkach potwierdzono etiologię bakteryjną zakażenia (w sześciu układu moczowego, w dwóch przewodu pokarmowego, w kolejnych dwóch zapalenie gardła i migdałków, po jednym zapalenie płuc). Przykładem może być także pacjent z zakażeniem uogólnionym w przebiegu ropnego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych o etiologii *Neisseria meningitidis*, u którego przy przyjęciu stężenie PCT-Q było prawidłowe przy znacznie podwyższonych CRP (96 mg/l) i WBC ($25,7 \times 10^3/\text{ml}$, z 92,6% granulocytów). Dlatego zawsze należy odnosić uzyskane wyniki do stanu klinicznego pacjenta oraz innych wyników badań jak CRP. Potwierdzono znamiennej korelację w zakażeniach o etiologii bakteryjnej pomiędzy CRP, a PCT-ILMA ($p < 0,0005$).

Średnie stężenia oznaczenia prokalcytoniny metodą ilościową (PCT-ILMA) były znamiennej wyższe w zakażeniach o etiologii bakteryjnej (34,27 ng/ml) niż wirusowej (0,57 ng/ml), czy o nieustalonej etiologii (2,9 ng/ml). U 43% gorączkujących dzieci wyniki PCT-ILMA były dodatnie. Spośród nich tylko u 10,5% (8/76) potwierdzono zakażenie wirusowe (rotawirusowe, mononukleozę zakaźną), natomiast u 89,5% bakteryjne lub o nieustalonej etiologii. Jednak w tej ostatniej grupie na podstawie obrazu klinicznego i przebiegu choroby wysunięto podejrzenie zakażenia bakteryjnego (przewodu pokarmowego, górnych dróg oddechowych, zapalenie ucha środkowego, zapalenie płuc). Spośród pacjentów z prawidłowym wynikiem PCT-ILMA na podstawie uzyskanych wyników posiewów (mocz, kał) lub obrazu klinicznego w powiązaniu z podwyższonym CRP, czy WBC u 21% (21/101) podejrzewano etiologię bakteryjną zakażenia.

Wyniki innych badań także potwierdzają, że miejscowe zakażenie o niewielkim nasileniu może dawać umiarkowany wzrost stężenia prokalcytoniny w surowicy krwi, a więc niskie stężenie PCT nie wyklucza zakażenia bakteryjnego i konieczności podania antybiotyku (6, 7, 20). Monitorowanie stężenia prokalcytoniny wykorzystywane jest do oceny skuteczności antybiotykoterapii. Niedreman (21) wykazał, że przy PCT $< 0,25$ ng/ml u pacjentów bez objawów klinicznych ciężkiej choroby można wstrzymać się z podaniem antybiotyku. Postulowane jest, aby wytyczne leczenia antybiotykami były uzupełnione o oznaczenie prokalcytoniny, co mogłoby zmniejszyć zużycie antybiotyków w ostrych zakażeniach układu oddechowego (22, 23) i zredukować koszty leczenia (24).

Zakażenia układu oddechowego są najczęstszą przyczyną gorączki u dzieci i często przyczyną nadużywania antybiotyków. Różnicowanie etiologii zapalenia płuc (bakteryjne, wirusowe, atypowe) często jest trudne w oparciu o badanie przedmiotowe pacjenta, wyniki podstawowych badań laboratoryjnych czy zdjęcie radiologiczne klatki piersiowej. Zastosowanie szybkiego testu, umożliwiającego ustalenie ciężkości zakażenia mogłoby pomóc w

podjęciu ważnych decyzji terapeutycznych. Spośród dzieci, u których stwierdzono ujemny test PCT-Q u 64% (52/81) rozpoznawano zakażenia górnych dróg oddechowych.

Zakażenia układu moczowego są częstą przyczyną gorączki u dzieci, a niespecyficzne objawy powodują trudności diagnostyczne, także w różnicowaniu między zakażeniem dolnych dróg moczowych a znacznie poważniejszym zapaleniem odmiedniczkowym nerek. Jest to ważne, gdyż może to prowadzić do przewlekłego uszkodzenia narządów, rozwoju nadciśnienia i niewydolności nerek (25, 26).

W naszym badaniu u 31 pacjentów z zakażeniem układu moczowego średnie stężenie prokalcytoniny wyniosło 33,7 ng/ml (0-551,9 ng/ml). Najwyższe stężenia PCT-ILMA były u dwójki dzieci z ostrym odmiedniczkowym zapaleniem nerek o etiologii *Pseudomonas aeruginosa*. W dwóch przypadkach (2/14) u pacjentów z zakażeniem układu moczowego nie potwierdzono zgodności PCT-Q z PCT-ILMA, natomiast w pozostałych uzyskano pełną zgodność wyników, wysokie stężenie PCT-ILMA korelowało z dodatnim lub ujemnym PCT-Q. Jest to istotne, bowiem zgodnie z badaniami Prat i wsp. (27) istnieje znacząca korelacja pomiędzy wysokim poziomem prokalcytoniny a stopniem uszkodzenia nerek. Natomiast niski poziom prokalcytoniny wskazuje na małe ryzyko wystąpienia blizn pozapalnych w nerkach (28, 29).

W przypadku zakażeń przewodu pokarmowego stężenia prokalcytoniny w surowicy były niskie (0,7 ng/ml) co potwierdza, że u dzieci najczęstszą przyczyną nieżytów żołądkowo-jelitowych są wirusy.

Spośród 201 dzieci zakwalifikowanych do badania, prokalcytonię obiema metodami: półilościową (PCT-Q) i ilościową (ILMA) oznaczono u 105/201 (52%) pacjentów. Pełną zgodność stwierdzono w 59% (62/105), a częściową w 94% przypadków (99/105). Wyniki oceny czułości (55%) i swoistości (84%) testu PCT-Q, potwierdzają większą przydatność testu do potwierdzenia choroby (mniejsze ryzyko wyników fałszywie dodatnich) niż jej wykluczania. Co też odzwierciedla uzyskana dodatnia wartość predykcijna (PPV) – 79%, mówiąca o prawdopodobieństwie uzyskania wyniku prawdziwie dodatniego.

Warto podkreślić, że ogromną zaletą testu PCT-Q jest łatwość wykonania oraz krótki czas oczekiwania na wynik (30 minut). Jest to niezwykle istotne ze względu na dynamikę procesu chorobowego u dzieci, możliwość wczesnego rozpoznania zakażenia, a tym samym szybkie wdrożenie właściwego leczenia.

WNIOSKI

Prokalcytonina jest dobrym wskaźnikiem różnicującym zakażenia bakteryjne i wirusowe. Szybki test PCT-Q może być wykorzystywany do oznaczania prokalcytoniny w surowicy krwi, a tym samym stosowany jako test przesiewowy u dzieci z wysoką gorączką w diagnostyce zakażeń bakteryjnych.

PIŚMIENNICTWO

1. Galetto-Lacour A, Zamora SA, Gervais A: Bedside procalcitonin and C-reactive protein tests in children with fever without localizing signs of infection seen in a referral center. *Pediatrics* 2003; 112 (5): 1054-60.
2. Rossum AM, Wulkan RW, Oudesluys-Murphy AM: Procalcitonin as an early marker of infection in neonates and children. *Lancet Infect Dis* 2004; 4 (10): 620-30.
3. Le Moullec JM, Jullienne A, Chenais J et al.: The complete sequence of human preprocalcitonin. *FEBS Letters* 1984; 167: 93-97.
4. Weglohner W, Struci J, Fischer-Schulz C et al.: Isolation and characterization of serum procalcitonin from patients with sepsis. *Peptides* 2001; 22: 2099-103.
5. Ming Jin, Adil I, Khan: Procalcitonin: uses in the clinical laboratory for the diagnosis of sepsis. *LABMEDICINE* 2010; 41: 173-177.
6. Assicot M, Gendrel D, Carsin H et al: High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet* 1993; 341: 515-18.
7. Morgenthaler NG, Struck J, Fischer-Schulz C et al.: Detection of procalcitonin (PCT) in healthy controls and patients with local infections by a sensitive ILMA. *Clin Lab* 2002; 48: 263-70.
8. Chiesa C, Panero A, Rossi N et al.: Reliability of procalcitonin concentrations for the diagnosis of sepsis in critically ill neonates. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 664-72.
9. Meisner M, Tschaikowsky K: Procalcitonin – influence of temperature, storage, anticoagulation and arterial or venous asseveration of blood samples on procalcitonin concentrations. *Eur J Clin Chem Clin Biolchem* 1997; 35 (8): 597-601.
10. Nishikura T: Procalcitonin (PCT) production in a thyroidectomized patient. *Intensiva Care Med* 1999; 25: 1031.
11. Russwurm S, Stonans I: Procalcitonin and CGRP-1 mRNA expression in various human tissues. *Shock* 2001; 16 (2): 109-12.
12. Nijsten MW, Olinga P, The TH et al.: Procalcitonin behaves as a fast responding acute phase protein *in vivo* and *in vitro*. *Crit Care Med* 2000; 28 (2): 586-8.
13. Dandona P, Nix D, Wilson MF, et al.: Procalcitonin increase after endotoxin injection In normal subjects. *J Clin Endocrinol Metabol* 1994; 79: 1605-608.
14. Korczowski B: Prokalcytonina – przydatność diagnostyczna w pediatrii i neonatologii. Praca habilitacyjna. Uniwersytet Rzeszowski; 2004.
15. Maniaci V, Dauber A, Weiss S et al.: Procalcitonin in young febrile infants for the detection of serious bacterial infections. *Pediatrics* 2008; 122: 701-710.
16. Meisner M, Adina H, Schmidt J: Correlation of procalcitonin and C-reactive protein to inflammation, complications and outcome during the intensive care unit course of multiple-trauma patients. *Crit Care* 2006; 10: R1
17. Van der Kaay DC, De Klein ED, De Rilke YB et al.: Procalcitonin as a prognostic marker in meningococcal disease. *Intensive Care Med* 2002; 28: 1606-12.
18. Balci C, Sungurtekin H : Usefulness of procalcitonin for diagnosis of sepsis In the intensive care unit. *Critical Care* 2003; 7: 85-90.
19. Gendrel D, Raymond J, Coste J.: Comparison of procalcitonin with C-reactive protein, interleukin 6 and interferon – α for differentiation of bacterial vs viral infections. *Pediatr Infect Dis J* 1999; 18: 875-81.
20. Delevaux I, Andre M, Colombier M et al.: Can procalcitonin measurement help in differentiating between bacterial infection and other kinds of inflammatory processes? *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 337-340.
21. Niedreman MS.: Biological markers to determine eligibility in trials for community-acquired pneumonia: a focus on procalcitonin. *CID* 2008; 47: S127-32.
22. Briel M, Schuetz P, Mueller B et al.: Procalcitonin-guided Antibiotic use vs. a standard approach for acute respiratory tract infections in primary care. *Arch Intern Med* 2008; 168: 2000-2007.
23. Christ-Crain M, Stolz D, Bingisser R et al.: Procalcitonin guidance of antibiotic therapy in community-acquired pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174: 84-93.
24. Nobre V, Harbarth S, Graf JD et al.: Use of procalcitonin to shorten antibiotic treatment duration in septic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 177: 498-505.
25. Smellie JM, Poulton A, Prescott NP: Retrospective study of children with renal scarring associated with reflux and urinary infection. *BMJ* 1994; 308: 1193-1196.
26. Glauser MP, Lyons JM, Braude AI: Prevention of chronic experimental pyelonephritis by suppression of acute suppuration. *J Clin Invest* 1978; 61: 403-407.
27. Prat C, Dominguez J, Rodrigo C et al.: Elevated serum procalcitonin values correlate with renal scarring in children with urinary tract infection. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22: 438-42.
28. Gervais A, Galetto-Lacour A, Gueron T et al.: Usefulness of procalcitonin and C-reactive protein rapid test for the management of children with urinary tract infection. *Pediatr Infect Dis* 2001; 20: 507-11.
29. Bressan S, Andreola B, Zucchetta P et al.: Prokalcytonin as a predictor of renal scarring in infants and young children. *Pediatr Nephrol* 2009; 24: 1199-1204.

otrzymano/received: 05.10.2011
zaakceptowano/accepted: 10.11.2011

Adres/address:
*Teresa Jackowska
Klinika Pediatrii
Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego
ul. Marymoncka 99/103, 01-813 Warszawa
tel.: (22) 864-11-67
e-mail: tjackowska@cmkp.edu.pl