

ANNA JĘDRZEJCZYK

ROZPRAWA NA STOPIEŃ DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH PT.

**ZNACZENIE STĘŻENIA PROKALCYTONINY W SUROWICY
KRWI WE WCZESNEJ DIAGNOSTYCE I MONITOROWANIU
ODPOWIEDZI NA LECZENIE POWIKŁAŃ INFEKCYJNYCH
U PACJENTÓW W NEUTROPENII.**

PROMOTOR: PROF. DR HAB. MED. ANNA BALCERSKA

**KLINIKA PEDIATRII, HEMATOLOGII, ONKOLOGII
I ENDOKRYNOLOGII AKADEMII MEDYCZNEJ W GDAŃSKU**

GDAŃSK 2007

***Pracę dedykuję
rodzicom i mężowi
w podziękowaniu za ich miłość.***

***Bardzo serdecznie dziękuję
Pani Profesor Annie Balcerskiej
za wiarę, wsparcie i okazaną pomoc***

oraz

***Panu Dr Alfredowi Sametowi
za życzliwość i cenne rady.***

SPIS TREŚCI

1. Wykaz skrótów	6
2. Wstęp	8
2.1. Czynniki ryzyka rozwoju powikłań infekcyjnych u pacjentów chorych na białaczkę i chłoniaki	8
2.2. Źródła i wrota zakażenia	9
2.3. Udokumentowany czynnik etiologiczny	11
2.4. Patogeneza odpowiedzi zapalnej organizmu	12
2.5. Klinika zakażenia	15
2.6. Trudności diagnostyczne zakażeń	17
2.7. Prokalcytonina	19
2.7.1. Budowa cząsteczki prokalcytoniny	19
2.7.2. Genetyka prokalcytoniny	20
2.7.3. Synteza prokalcytoniny	21
2.7.4. Źródło prokalcytoniny	23
2.7.5. Indukcja syntezy i kinetyka prokalcytoniny	24
2.7.6. Rola biologiczna prokalcytoniny	25
2.7.7. Zastosowanie kliniczne prokalcytoniny	27
3. Cel pracy	29
4. Materiał i metody	30
4.1. Pacjenci	30
4.2. Dane kliniczne	31
4.3. Podział epizodów	32
4.4. Diagnostyka laboratoryjna i obrazowa	36
4.5. Oznaczenie prokalcytoniny	37
4.6. Obliczenia statystyczne	40
4.7. Opinia NKEBN	41
5. Wyniki	42
5.1. Pacjenci z rozpoznąną neutropenią, u których nie stwierdzono gorączki	42

5.2. Etiologia gorączki a stężenie PCT i CRP	49
5.3. Lokalizacja procesu infekcyjnego a stężenie PCT i CRP	54
5.3.1. Zakażenia miejscowe	57
5.3.2. Bakteriemie, posocznice	60
5.3.2.1. Posocznice nie potwierdzone mikrobiologicznie	60
5.3.2.2. Bakteriemie i posocznice potwierdzone mikrobiologicznie	65
5.4. Stężenia prokalcytoniny a stan OUN pacjenta	83
5.5. Stężenia prokalcytoniny a stopień uszkodzenia śluzówek jamy ustnej chorego	84
5.6. Analiza stężeń prokalcytoniny w czasie incydentów neutropenii	86
5.7. Ciężkość powikłania infekcyjnego wg WHO a stężenie PCT i CRP	91
5.8. Stan ogólny pacjenta a stężenie PCT	93
5.9. Stężenie PCT i CRP u chorych z podejrzeniem zakażenia grzybiczego	95
6. Omówienie wyników i dyskusja	97
7. Wnioski	116
8. Streszczenie	117
9. Piśmiennictwo.....	119
10. Załączniki	137

1. WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

ACCP - Amerykańskie Towarzystwo Chorób Klatki Piersiowej
ALL – ostra białaczka limfoblastyczna
AML – ostra białaczka szpikowa
AML M4 – ostra białaczka mielomonocykowa
ARA-C – arabinozy cytozyny
BAK – bakteriemia
BZ – incydenty bez zaburzeń funkcjonowania OUN chorego
C – stan ogólny chorego ciężki
CD – kompleks różnicowania
CGPR – peptyd spokrewniony z genem kalcytoniny
CPOS – ciężka posocznica
CRP – białko C-reaktywne
D – stan ogólny chorego dobry
DD – stan ogólny chorego dość dobry
EORTC – Europejska Organizacja ds. Badania i Leczenia Nowotworów
ESβL – Extended Spectrum Beta-Lactamases – szczepy bakteryjne wytwarzające β-laktamazy o rozszerzonym spektrum działania
FUO – gorączka o nieustalonej etiologii
GASTR – zapalenie błony śluzowej żołądka
GCSF – czynnik stymulujący kolonii granulocytów
GCSF [NP(+GCSF)] – incydenty neutropenii, w trakcie których chorem podawano GCSF
GCSF [NP(-GCSF)] – incydenty neutropenii, w trakcie których chorem nie podawano GCSF
GN – grzybica nerek
GU – grzybica układu
GVHD – choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi
ICAM – cząsteczka adhezji międzykomórkowej
IDSA – Infectious Disease Society of America
IL – interleukina
INF PP – infekcja przewodu pokarmowego
i.v. – dożylna podaż leku
KK – krew pobrana z cewnika centralnego,
KŻ – krew pobrana z żyły,
LPS – lipopolisacharyd
LBP – białko wiążące LPS
M – posiew moczu

NER – zakażenie zlokalizowane w obrębie dróg moczowych
NHL – nieziarniczny chłoniak złośliwy
NMR – rezonans magnetyczny
NP. – neutropenia bez cech infekcji
ODD – zakażenie zlokalizowane w obrębie dróg oddechowych
OUN – ośrodkowy układ nerwowy
PAF – czynnik aktywujący płytki krwi
PCT – prokalcytonina
PH (+) – chromosom Philadelphia
POS – posocznica
PPOK – zakażenie zlokalizowane w obrębie przewodu pokarmowego,
RNA – kwas rybonukleinowy
RLU – względne jednostki światła, wartości sygnały odczytywane
w lumenometrze
RTG – zdjęcie rentgenowskie
S – stan ogólny średni
SCCM - Towarzystwo Intensywnej Terapii
SIRS – zespół uogólnionej odpowiedzi zapalnej
SSA – składnik surowicy amyloidu
ŚC – stan ogólny średnio-ciężki
TK M. – zakażenie zlokalizowane w obrębie tkanek miękkich
TNF – czynnik martwicy nowotworu
UK – powikłanie infekcyjne udokumentowane klinicznie,
UM – powikłanie infekcyjne potwierdzone mikrobiologicznie
USG – ultrasonografia
VRE – Vancomycin Resistant *Enterococcus* - szczepy *Enterococcus*
wankomycynooporne
WN – wymaz spod napletka
WO – wymaz z odbytu
WS – wstrząs septyczny
ZAK – neutropenia powikłana zakażeniem stwierdzonym klinicznie i/lub mikrobiologicznie
ZM – incydenty ze stwierdzonymi zaburzeniami funkcjonowania OUN
ZUM – zakażenie układu moczowego

2. WSTĘP

Choroby rozrostowe układu krwiotwórczego dominują wśród nowotworów wieku dziecięcego. Stanowią one obecnie ponad 40% rozpoznań onkologicznych w pediatrii. Na przestrzeni ostatnich dziesięcioleci uzyskano znaczący wzrost wyleczeń, co stało się możliwe dzięki intensyfikacji leczenia. W dzisiejszej dobie jedną z głównych przyczyn zgonów wśród tych pacjentów poza wznową i progresją procesu nowotworowego lub jego pierwotną chemoopornością, są powikłania infekcyjne w trakcie aktywnego leczenia przeciwnowotworowego [34, 94, 106].

2.1. CZYNNIKI RYZYKA ROZWOJU POWIKŁAŃ INFEKCYJNYCH U PACJENTÓW CHORYCH NA BIAŁACZKI I CHŁONIAKI

Podstawowe schorzenie u tych pacjentów dotyczy komórek należących do układu odpornościowego. Fakt ten w połączeniu z intensywnością stosowanej chemioterapii przyczynia się do występowania częstych incydentów neutropenii u tych chorych.

Neutropenia jest oceniana jako główny czynnik ryzyka rozwoju ciężkich, zagrażających życiu powikłań infekcyjnych [19,39,109,182]. Szczególnie narażeni są pacjenci, u których zastosowana chemioterapia wywołała mielosupresję lub, gdy istniejący rozrost komórek nowotworowych prowadzi do wypierania prawidłowych struktur układu krwiotwórczego (progresja choroby). Istniejący stan depresji szpiku uzależniony jest od choroby podstawowej występującej u dziecka.

Zagrożenie zakażeniem u chorego znacznie wzrasta przy liczbie granulocytów poniżej 0,5 G/l we krwi obwodowej, ale istotny jest nie tylko stopień nasilenia neutropenii u pacjenta, lecz również czas jej trwania [94,106]. Do rozwoju zakażeń dochodzi u ok. 23% pacjentów, u których agranulocytoza trwa do 7 dni. W przypadku dalszego jej przedłużania się następuje eskalacja ryzyka. Gdy stan ten utrzymuje się ponad 3 tygodnie niemal u wszystkich pacjentów,

u których liczba granulocytów jest niższa niż 0,1 G/l rozwija się powikłanie infekcyjne zagrażające życiu [92,106].

Oprócz neutropenii, rozpoznania histologicznego choroby rozrostowej, kolejnymi czynnikami zwiększającymi ryzyko rozwoju powikłania infekcyjnego są: współistniejące zaburzenia odporności humoralnej i komórkowej (upośledzenie funkcji fagocytów, spadek liczby limfocytów T) oraz inwazyjne procedury medyczne naruszające ciągłość powłok skórnych, błon śluzowych, stosowanie ciał obcych takich jak centralne cewniki dożylnie, moczowe. Dodatkowym czynnikiem ryzyka jest także uszkodzenie błon śluzowych stanowiące skutek uboczny stosowanej chemioterapii a w szczególności arabinozydu cytozyny. Także przewlekła sterydoterapia, osłabia naturalne mechanizmy obronne ustroju i ułatwia inwazję patogenów [20,62,92,109,187]. Za czynnik ryzyka należy także uznać obciążenie organizmu pacjenta chorobami współistniejącymi, a w szczególności cukrzycą.

2.2. ŹRÓDŁA I WROTA ZAKAŻENIA

U pacjentów leczonych z powodu białaczki będących w okresie neutropenii dominują zakażenia endogenne. Stanowią one 80% powikłań infekcyjnych [51,92]. Źródło patogenów może stanowić właściwie każda tkanka organizmu, najczęściej jednak jest to flora bakteryjna zasiedlająca błony śluzowe pacjenta [50]. Szczególne znaczenie ma endogenna mikroflora przewodu pokarmowego chorego. W rozwoju zakażenia i uogólnionej odpowiedzi zapalnej prawdopodobnie istotną rolę odgrywa zjawisko translokacji, czyli przechodzenie drobnoustrojów i/lub ich toksyn ze światła jelita, poprzez nabłonek śluzówki jelita do kręgowego układu chłonnego, a następnie do krwi, i innych narządów [37,51,82,176,186,196]. Jednak mechanizm tego zjawiska dotychczas nie jest wyjaśniony. Chorzy onkologiczni są grupą pacjentów szczególnie narażoną na wystąpienie translokacji bakteryjnej i grzybiczej [17,37,101]. Agresywna chemioterapia powodująca uszkodzenie śluzówek i zwiększenie ich przepuszczalności, co przy niewydolnych miejscowych mechanizmach

obronnych ułatwia inwazję drobnoustrojów wchodzących w skład zmienionej przez działanie szerokospektralnej antybiotykoterapii flory jelitowej. Stosowanie żywienia pozajelitowego, które zwalnia perystaltykę i pasaż jelitowy również przyczynia się do występowania translokacji flory bakteryjnej z przewodu pokarmowego [82,176]. Jama ustna ma bardzo bogatą i różnorodną florę endogenną i egzogenną, która w stanie zdrowia jest utrzymywana w równowadze. W trakcie procesu terapeutycznego choroby podstawowej dochodzi do zaburzenia tej homeostazy. Jama ustna może stać się ważnym źródłem czynników chorobotwórczych oraz wrotami zakażenia. Rezydujące w niej patogeny mogą przedostawać się do ogólnoustrojowego krążenia poprzez zmienione zapalnie pod wpływem działania leków cytostatycznych śluzówki wywołując bakteriemie, a następnie posocznice [82,85,174].

Wrotami inwazji bakteryjnej są również drogi oddechowe oraz skóra. W odróżnieniu od pacjentów dorosłych u dzieci rzadziej stwierdza się stany zapalne dolnych dróg oddechowych, natomiast częściej proces zapalny obejmuje górne drogi oddechowe, co wynika z faktu ogólnej predyspozycji do zakażeń wirusowych w okresie dzieciństwa [74].

Inwazyjne procedury medyczne jak: biopsje szpiku, liczne nakłucia lędźwiowe, czy implantacja cewników centralnych, jakim poddawani są pacjenci onkologiczni powodują naruszenie ciągłości skóry i tkanek, co przyczynia się do inwazji patogenów wchodzących w skład fizjologicznej flory powłok skórnych i rozwoju zakażeń oportunistycznych. Stwierdzono, że u gorączkujących pacjentów w okresie neutropenii najczęstsze wrota zakażenia w przypadku rozpoznania bakteriemii stanowią linie naczyniowe - 40-60% zakażeń krwi [50,170].

Bezobjawowe zakażenie układu moczowego, które dość często występuje u pacjentów poddanych chemioterapii może stanowić ryzyko rozwoju urosepsy.

U pacjentów pediatrycznych rzadziej niż u dorosłych udaje się zidentyfikować źródło oraz wrota zakażenia i częściej jest stawiane u nich rozpoznanie „gorączki o nieustalonej etiologii” [74].

2.3. UDOKUMENTOWANY CZYNNIK ETIOLOGICZNY

Zakażenia u pacjentów onkologicznych najczęściej mają etiologią bakteryjną.

Stan immunosupresji czyni tych chorych podatnymi na inwazję bakterii, które są powszechnie uważane za niepatogenne lub mało patogenne. Rozwijają się zatem infekcje oportunistyczne, mogące przebiegać piorunująco doprowadzając do śmierci pacjenta. W okresie lat sześćdziesiątych do osiemdziesiątych minionego wieku najczęstszą przyczyną zakażeń bakteryjnych były tlenowe pałeczki Gram-ujemne. W latach dziewięćdziesiątych dwudziestego wieku sytuacja epidemiologiczna uległa radykalnej zmianie [87,109,182,187]. Zaobserwowano wzrost częstości zakażeń bakteriami Gram-dodatnimi, które w okresie ostatnich dziesięcioleci są przyczyną 60-70% bakteriemii u pacjentów hematoonkologicznych [87,187]. Przyczyny tego zjawiska upatruje się w kilku czynnikach. Są nimi: stosowanie bardziej agresywnej chemioterapii, co wiąże się z ciężkimi uszkodzeniami błony śluzowej jamy ustnej i całego przewodu pokarmowego, wzrost implantacji długo utrzymywanych cewników centralnych. W literaturze wskazuje się również na szerokie używanie fluorochinolonów i cefalosporyn III generacji w profilaktyce gorączki neutropenicznej, co doprowadziło do redukcji zakażeń drobnoustrojami Gram-ujemnymi. Również nie bez znaczenia jest tak powszechne stosowanie blokerów receptora histaminowego i inhibitorów pompy protonowej, co zwiększa możliwość kolonizacji przez paciorkowce [83,88,182,187,188].

Ostatnie badania wskazują, iż dominacja określonych czynników etiologicznych zakażeń ponownie ulega zmianie. Sukcesywnie wzrasta odsetek zakażeń bakteriami Gram-ujemnymi, co być może wynika z ograniczenia stosowania fluorochinolonów, albo ze wzrostu oporności na tą grupę leków [187,188]. Za znaczący czynnik ryzyka rozwoju zakażeń patogenami Gram-ujemnymi uznano także czas trwania neutropenii u chorego powyżej 29 dni [83].

Konsekwencją stosowania szerokospektralnej antybiotykoterapii jest selekcjonowanie szczepów opornych co doprowadziło do pojawiania się szczepów *Enterococcus* wankomycynoopornych (VRE) i pałeczek

Gram-ujemnych wytwarzających β -laktamazy o rozszerzonym spektrum działania (ES β L) [82,162]. Udział tych patogenów w zakażeniach u chorych onkologicznych stanowi poważny problem i zagrożenie w ośrodkach hematoonkologicznych.

Analizując przyczyny zakażeń w ostatnich dziesięcioleciach na całym świecie odnotowuje się wzrost zakażeń grzybiczych. Wśród czynników szczególnie predysponujących chorych do inwazji grzybiczej należy wymienić obok długotrwałej neutropenii, stosowanie szerokospektralnej antybiotykoterapii i sterydoterapii oraz przebyte zakażenie grzybicze, a także ekspozycję środowiskową [29,187,193].

Dalsze miejsca w grupie czynników etiologicznych zajmują wirusy i pierwotniaki. Istotne znaczenie ma fakt, iż u prawie co trzeciego chorego występują zakażenia mieszane spowodowane kilkoma patogenami jednocześnie [50,82].

2.4. PATOGENEZA ODPOWIEDZI ZAPALNEJ ORGANIZMU

U pacjentów z zaburzeniami odporności drobnoustroje chorobotwórcze i ich toksyny nie napotykając na bariery ze strony układu immunologicznego bardzo szybko przedostają się do krwioobiegu i rozprzestrzeniają się po całym organizmie powodując zmiany ogólnoustrojowe. Ta inwazja może być jednorazowa, krótkotrwała powodując bakteriemie przejściową, lub też wysiew do krwioobiegu może być okresowy (bakteriemia przerywana) albo długotrwały (bakteriemia stała) jak to ma miejsce w przypadku zakażenia cewnika centralnego, czy zmienionych próchniczo zębów [82,163]. Dynamizm rozwoju zmian zależy od specyfiki patogenu oraz od stanu ogólnego chorego. Istotna jest: liczba, zjadliwość, inwazyjność i chorobotwórczość drobnoustroju oraz miejsce jego wtargnięcia. Na stan ogólny pacjenta wpływa jego choroba podstawowa, choroby współistniejące, genetycznie uwarunkowana wydolność układu odpornościowego, aktualny stan odżywienia oraz pośrednio wiek chorego.

W miejscu ogniska zapalnego występowanie endo- i egzotoksyn (lipopolisacharyd [LPS], peptydoglikan, kwasy lipotejcholowe, ..) oraz obecność tam drobnoustrojów są czynnikami zapoczątkowującymi kaskadę aktywacji mediatorów zapalnych, i dlatego są one nazywane substancjami zapłonowymi. Najlepiej poznane jest działanie endotoksyny – lipopolisacharydu (składowej ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych). Endotoksyna ta po przyłączeniu się do białka wiążącego LPS (LBP) tworzy kompleks, który poprzez receptor CD 14 obecny na powierzchni monocytów i makrofagów doprowadza do ich aktywacji. Wytwarzają one liczne mediatory reakcji zapalnej wśród nich TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, interferon, wolne rodniki tlenowe oraz metabolity lipidowe jak: leukotrieny, prostaglandyny, tromboksan, czynnik aktywujący płytki (PAF), które aktywują szybkie działanie obronne organizmu, zwiększają właściwości bójcze makrofagów oraz neutrofilii. Endotoksyna poza pobudzeniem makrofagów i granulocytów, aktywuje układ dopełniacza, krzepnięcia i fibrynolizy, pobudza metabolizm kwasu arachidonowego oraz syntezę mediatorów zapalnych. Kompleks LPS/LBP poprzez rozpuszczalne receptory CD14 aktywuje też komórki śródbłonna do wydzielania czynników pozapalnych [184].

TNF- α uważany jest za główny mediator posocznicy i wstrząsu septycznego. Jest ona cytokiną, która jako pierwsza po 15-30 minutach pojawia się w odpowiedzi na czynnik chorobotwórczy i rozpoczyna kaskadę aktywacji mediatorów zapalnych [51,172]. Łącznie z szybko pojawiającą się **IL-1** indukują ekspresję cząsteczek adhezyjnych ICAM-1, ICAM-2 na komórkach śródbłonna, integryn na neutrocytach oraz selekty na obu typach komórek, co umożliwia przyleganie granulocytów do ściany naczyń i ich toczenie się w kierunku wzrastającego stężenia czynników chemotaktycznych, a następnie transmigrację do miejsca zakażenia.

Zaktywowane przez TNF- α granulocyty gwałtownie zwiększają swój metabolizm tlenowy, co jest określane jako **zjawisko wybuchu tlenowego** i stają się źródłem wysoce reaktywnych związków tlenu. Szczególnie rodniki hydroksylowe wykazują dużą toksyczność, niszczą patogeny, ale doprowadzają również

do destrukcji komórek i narządów chorego, co może doprowadzić do zespołu uszkodzeń wielonarządowych [106]. Pobudzone neutrofile degranulując uwalniają enzymy proteolityczne (elastazę, kolagenazę, protezę) oraz tlenek azotu. Nadmierne wydzielanie tych substancji prowadzi do uszkodzeń otaczających tkanek. Po aktywacji neutrofile podlegają procesowi apoptozy.

Synergistyczne działanie z TNF- α wykazuje interleukina-1 (**IL-1**), która m.in. wspomaga wydzielanie innych cytokin. Aktywność tej interleukiny może być blokowana przez neutrofile posiadające na swej powierzchni antagonistę receptora IL-1. Po związaniu antagonisty z receptorem, IL-1 nie może oddziaływać na komórkę efektorową i dochodzi do hamowania odczynu zapalnego.

Pod wpływem stymulacji TNF- α , IL-1 następuje po kilku godzinach wydzielanie interleukiny-6 (**IL-6**), która wykazuje zarówno działanie prozapalne (nasila syntezę i aktywność białek ostrej fazy), jak i antyzapalne przez hamowanie wydzielania TNF- α [51,184]. IL-6 jest uważana za jeden z najlepszych wskaźników uogólnionej reakcji zapalnej niezależnie od jej przyczyny. Wzrost stężenia tej interleukiny obserwowany u chorych z uogólnionymi zakażeniami jest niepomysłny rokowniczo [82,149,154].

Za kolejny mediator posocznicy uważana jest interleukina-8 (**IL-8**) produkowana pod wpływem TNF- α , IL-1 przez monocyty, granulocyty, komórki endotelium oraz fibroblasty. Jest ona najsilniejszym czynnikiem chemotaktycznym dla neutrofilii, w których dodatkowo pobudza metabolizm tlenowy, degranulację i działanie cytotoksyczne. Oddziałuje ona również na komórki wątrobowe stymulując nasilenie produkcji i uwalniania białek ostrej fazy m.in. białka C-reaktywnego (CRP), amyloidu A, antyproteazy, fibrynogen, składniki dopełniacza [82,154,178].

Cytokiny są wczesnymi przekaźnikami reakcji zapalnej a monocyty, makrofagi, granulocyty, komórki śródbłonna i trombocyty stanowią ich komórki efektorowe. Natomiast mediatorami wtórnymi zwanymi końcowymi są metabolity kwasu

arachidonowego, wolne rodniki, proteazy i tlenek azotu. Powodują one bezpośrednie uszkodzenia komórek endotelium i komórek mięszkowych [167].

W celu zachowania równowagi i obrony przed destruktywnym wpływem kaskady mediatorów zapalnych na organizm człowieka dochodzi do zwrotnego uruchomienia cytokin i innych inhibitorów o działaniu przeciwzapalnym. Interlukina-10 (**IL-10**) zwana inhibitorem syntezy cytokin uwalniana przez limfocyty T, B, monocyty i makrofagi po około 24 godzinach od inicjacji kaskady przez LPS. Hamuje wydzielanie TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 oraz czynników stymulujących wzrost granulocytów i monocytów w szpiku [51,82,172]. Wyciszenie odpowiedzi odbywa się również przy udziale innych cytokin oraz receptorów wiążących czynniki zapalne np. receptor dla IL-1, czy dla TNF- α .

Zachowanie równowagi między działaniem prozapalnym a inhibitorami jest warunkiem eradykacji zakażenia i zachowania homeostazy organizmu [82,184].

Podstawę patomechanizmu rozwoju posocznicy stanowi zaburzenie równowagi pomiędzy działaniem czynników prozapalnych i ich inhibitorami w odpowiedzi na zakażenie. Cytokiny zapalne są wydzielane w nadmiarze i wykazują działanie bardziej destrukcyjne niż ochronne, co może doprowadzić do rozwoju niewydolności wielonarządowej [51,167,170,172,184].

Coraz częściej w literaturze prezentowany jest pogląd, wskazujący na podstawowe znaczenie pierwotnych i wtórnych zaburzeń funkcjonowania układu immunologicznego na przebieg kliniczny posocznicy u chorego [78,82].

2.5. KLINIKA ZAKAŻENIA

Przebieg zakażenia u pacjenta będącego w neutropenii najczęściej jest skąpoobjawowy. Jest to wynikiem niemożności wygenerowania właściwej odpowiedzi zapalnej oraz brakiem miejscowego odczynu zapalnego. Z tego powodu u pacjentów w agranulocytozie często nie stwierdza się zmian radiologicznych w przebiegu zapalenia płuc, ropomoczu w zakażeniu układu moczowego i innych objawów typowych dla zlokalizowanego procesu

zapalnego. Zauważalnym klinicznie objawem najczęściej jest gorączka, która często bywa jedynym jawnym objawem zakażenia [80,105,106]. Konsekwencją braku możliwości ograniczenia infekcji przez organizm jest szybkie rozprzestrzenianie się czynnika etiologicznego, co prowadzi do uogólnienia zakażenia, które może mieć piorunujący przebieg doprowadzając do zgonu pacjenta w ciągu kilku godzin. Mając świadomość ryzyka, jakim jest stan utrzymującej się neutropenii u większości pacjentów obecnie stosuje się czynniki stymulujące granulocytopoezę. Efekt terapeutyczny często uzyskuje się po okresie 2-3 tygodni stąd badania kliniczne wskazują, że u 20 - 30% gorączkujących chorych będących w neutropenii stwierdza się bakterię [106,182].

Aż w 30-50% przypadków gorączki neutropenicznej źródło zakażenia pozostaje nieznane [60,69,187]. Mimo iż odsetek uzyskiwanych dodatnich posiewów materiałów pobranych od gorączkujących pacjentów z neutropenią wynosi około 30%, to etiologia bakteryjna gorączki jest znacznie częstsza. Świadczy o tym ustąpienie gorączki u ponad 70 % chorych, u których nie udało się udokumentować zakażenia bakteryjnego po zastosowaniu empirycznej szerokospektralnej antybiotykoterapii [20,92,106].

W trakcie sterydoterapii (szczególnie intensywnej w okresie indukcji leczenia) rozpoznanie istnienia zakażenia i jego etiologii może być dodatkowo utrudnione, gdyż zwłaszcza w przypadku etiologii grzybiczej gorączka może nie wystąpić i proces zapalny toczy się bezobjawowo [20]. Także współistniejąca małopłytkowość jest dodatkowym utrudnieniem uzyskania materiału biologicznego od chorego, w oparciu o który można by udokumentować etiologię grzybiczą zapalenia.

Zakażenia u pacjentów będących w agranulocytozie mogą mieć również nietypową lokalizację. Neutropenia predysponuje do występowania stanu zapalnego zlokalizowanego w okolicy kątnicy, czasem obejmującego całe jelito, określanego terminem *typhlitis* – neutropeniczne zapalenie jelita [10,41,110]. Jest to schorzenie występujące w okresie agranulocytozy, po zastosowanej

chemioterapii niemal wyłącznie w ostrych białaczkach, szczególnie często u dzieci. Klinicznie stwierdza się gorączkę, ból ze wzdęciem brzucha, zwolnienie lub brak perystaltyki jelit oraz tkliwość dotykową znacznie nasiloną w prawym dole biodrowym chorego. Zmieniona zapalnie śluzówka przewodu pokarmowego powoduje, iż staje się ona wrotami zakażenia. Aż u 70% chorych, u których rozpoznano *typhlitis* stwierdza się stan septyczny, w którym czynnikiem etiologicznym są tlenowe pałeczki Gram-ujemne [20].

Inną specyficzną dla neutropenii lokalizacją procesu zapalnego są zakażenia okołodobytnicze, do których predysponowani są pacjenci z ostrą białaczką szpikową.

Zwykle skąpa demonstracja kliniczna infekcji utrudnia właściwe rozpoznanie i zlokalizowanie procesu zapalnego. Trzeba także mieć świadomość, że najczęstsza kliniczna oznaka istniejącego procesu zapalnego w ustroju chorego – gorączka, może być również uzależniona od przebiegu choroby podstawowej, związana z przetaczaniem preparatów krwiopochodnych, a w szczególności spowodowana rozpadem komórek nowotworowych w trakcie intensywnej chemioterapii.

W przypadku wystąpienia cech uogólnionej reakcji zapalnej (SIRS) bardzo dużą trudność stanowi ustalenie, czy aktualny stan pacjenta jest odpowiedzią na zakażenie (posocznica), czy jest on wywołany czynnikami niezakaźnymi. Opóźnienie wdrożenia antybiotykoterapii, może zakończyć się zgonem pacjenta z powodu zakażenia, którego przebieg może być gwałtowny. Natomiast zastosowanie takiej terapii w przypadku braku jego istnienia wiąże się z narażeniem chorego na działania toksyczne stosowanych leków, może to przedłużyć konieczny czas hospitalizacji oraz generuje koszty, a także stanowi dodatkowy czynnik ryzyka zakażenia grzybiczego.

2.6. TRUDNOŚCI DIAGNOSTYCZNE ZAKAŻEŃ

Bakterie, które dostają się do krążenia są z niego szybko usuwane i zwykle okres bakteriemii wyprzedza o około 30 – 90 minut wystąpienie gorączki, co jest

związane z wyrzutem cytokin prozapalnych w odpowiedzi na obecność drobnoustrojów we krwi [82,105,152]. Z tego powodu posiewy krwi powinny być pobierane około 30-60 minut przed szczytem gorączki, czyli w chwili, gdy w łożysku naczyniowym znajduje się największa liczba bakterii [51,82]. Stosowanie profilaktycznej antybiotykoterapii u pacjentów w agranulocytozie stanowi istotne ograniczenie możliwości identyfikacji czynnika etiologicznego, ponieważ obecny w pobranym materiale antybiotyk utrudnia hodowlę patogenu, co wiąże się z uzyskiwaniem fałszywie ujemnych wyników posiewów. Kolejną trudnością w diagnostyce mikrobiologicznej jest właściwa interpretacja uzyskanego wyniku: odróżnienie kolonizacji od infekcji, określenie istotności wyniku posiewu, w którym wyhodowano więcej niż jeden rodzaj bakterii oraz określenie roli patogenu powszechnie uznanego za mało zjadliwy [105]. W szczególności dotyczy to właściwej interpretacji obecności patogenu wyhodowanego z materiału pobranego z cewnika centralnego.

Przez lata podejrzenie bakteriemii, zakażenia centralnego dostępu żylnego było wskazaniem do jego usunięcia i wykonania posiewu z wewnątrznaczyniowej końcówki cewnika. Jednakże, podjęcie decyzji o usunięciu cewnika Hickmana szczególnie u pacjenta pediatrycznego, u którego planowana jest dalsza często wielomiesięczna chemioterapia nastrocza wiele trudności, bowiem w praktyce oznacza to ponowną implantację cewnika centralnego w krótkim przedziale czasowym. W literaturze dostępne są prace opisujące możliwości wykrywania zakażeń odcewnikowych bez pochopnego usuwania cewnika [114,117,187].

Testy serologiczne należy uznać za mało przydatne, gdyż podstawową trudnością w wykrywaniu swoistych przeciwciał jest zaburzenie odpowiedzi humoralnej u tych pacjentów.

Białko C-reaktywne (CRP) powszechnie wykorzystywany parametr, wskazuje na obecność procesu zapalnego w sposób mało swoisty [151,165].

Opublikowane wyniki badań wskazują, iż TNF- α i inne cytokiny prozapalne oraz rozpuszczalne receptory cytokinowe są wczesnymi i czułymi markerami ciężkiego zakażenia [54,75,172,177,191]. Jednakże ze względu na wysokie

koszty oznaczeń i krótki czas półtrwania parametry te mają bardzo ograniczoną możliwość wykorzystania w codziennej praktyce klinicznej. Inne parametry m.in.: neopteryna, składnik surowiczy amyloidu (SSA), E-selektyna, które mają udowodnioną przydatność w diagnostyce zakażeń mają ograniczoną wartość u pacjentów onkologicznych, gdyż choroba podstawowa, uszkodzenie toksyczne tkanek może zwiększać ich stężenie i dlatego nie mają one powszechnego zastosowania klinicznego [27,151].

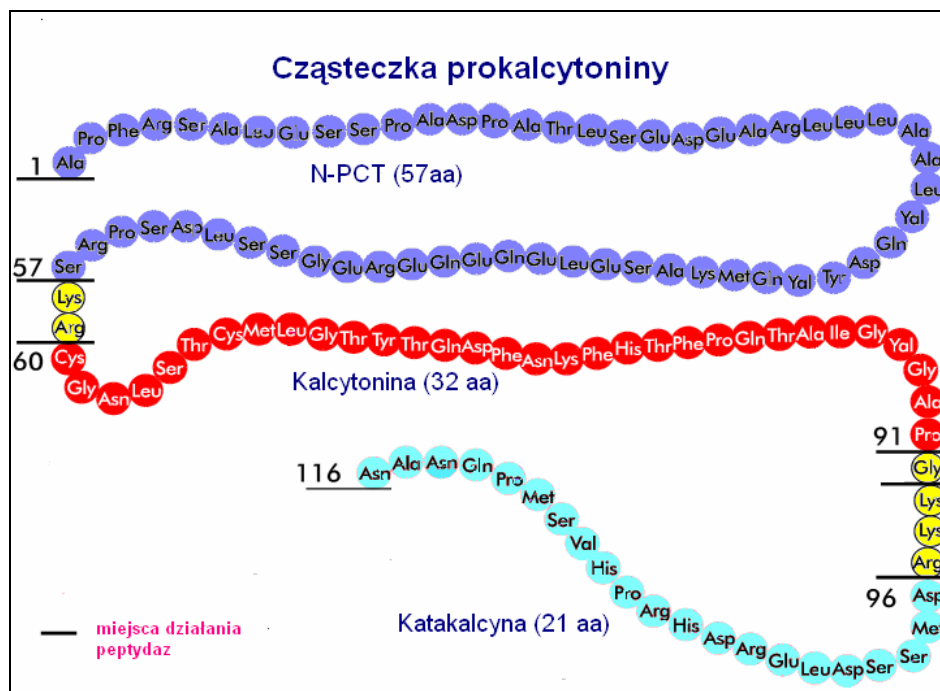
Przy skąpości symptomów klinicznych lekarz staje przed dużym problemem właściwego rozpoznania zakażenia i jak najszybszego ustalenia jego etiologii w celu podjęcia odpowiednich decyzji terapeutycznych. Pewne nadzieje wiązane są od kilkunastu lat z prokalcytoniną, która może ułatwić rozpoznanie uogólnionego zakażenia o etiologii bakteryjnej.

2.7. PROKALCYTONINA

Wzrost stężenia prokalcytoniny (PCT) u pacjentów z posocznicą po raz pierwszy opisał Assicota i wsp. w 1993r w czasopiśmie Lancet [7]. Od tego czasu zainteresowanie tym parametrem wzrastało, co doprowadziło do jego lepszego poznania i wdrożenia do praktyki klinicznej.

2.7.1. BUDOWA CZĄSTECZKI PROKALCYTONINY

Prokalcytonina (PCT) jest polipeptydem o masie cząsteczkowej około 13 kilodaltonów zbudowanym ze 116 aminokwasów (rys.1.), którego sekwencję opublikował Le Moullec w 1984 r. [98,113]. W cząsteczce PCT można wyróżnić rodnik azotowy – N-PCT, czyli N-prokalcytoninę, kalcytoninę oraz rodnik węglowy, czyli katalalcynę.



Rys. 1. Sekwencja aminokwasów w cząsteczce PCT [98].

2.7.2. GENETYKA PROKALCYTONINY

Gen kodujący prokalcytoninę CALC-I znajduje się na krótkim ramieniu chromosomu 11. Należy on do rodziny genów kalcytoniny, do której zaliczają się geny [108]:

- CALC-I – efektem jego ekspresji jest kalcytonina, PCT oraz peptyd spokrewniony z genem kalcytoniny (CGRP-I calcitonin-gene related peptide I),
- CALC-II – koduje prohormon zawierający pełną sekwencję kalcytoniny, która jednak w procesie obróbki potranskrypcyjnej jest usuwana i ostatecznie powstaje jedynie CGRP-II, który głównie pełni rolę neurotransmitera,
- CALC-III – jest pseudogenem, nie koduje peptydu,
- CALC-IV – koduje amylinę, jego największa ekspresja jest obecna w komórkach β wysp Langerhansa trzustki.

Kalcytonina i jej prekursorzy są produktami jedynie genu CALC-I, który składa się z 6 eksonów. Jego pierwotny transkrypt podlega zjawisku alternatywnego składania (*alternative splicing*), czyli łączeniu ze sobą różnych eksonów w obrębie informacyjnego mRNA, dzięki czemu mogą powstać 3 różne łańcuch mRNA [112,158]. W procesie translacji dwóch rodzajów mRNA CT-1 i CT-2 powstają dwa typy preprokalcytoniny różniące się jedynie sekwencją karboksykońcowego peptydu, a z nich dwa rodzaje cząsteczek prokalcytoniny PCT-I i PCT-II, które również różnią się jedynie sekwencją aminokwasów w obrębie łańcucha węglowego. Z trzeciego rodzaju mRNA, w którym ekson kodujący kalcytoninę został wycięty, po translacji powstaje peptyd spokrewniony z genem kalcytoniny (CGRP-I calcitonin-gene related peptide I) [7]. Typ peptydu, jaki powstaje w efekcie transkrypcji i translacji genu CALC-I zależy od rodzaju komórki, w której te procesy zachodzą, czynników aktywujących komórkę oraz wrażliwości samej komórki na działanie stymulantów [112].

CGRP jest peptydem, którego wysoką ekspresję stwierdzono w komórkach nerwowych mózgowia, przewodu pokarmowego oraz okołonaczyniowych zakończeniach nerwowych. Jest on krążącym mediatorem, neurotransmiterem oraz ma zdolność hamowania produkcji IFN- γ w limfocytach T [158]. Wykazuje on właściwości wazodylatacyjne, przez co ma znaczenie w regulacji mikrokrażenia [103].

1.7.3. SYNTEZA PROKALCYTONINY

Pierwotnym produktem posttranslacyjnym genu CALC-I jest preprokalcytonina zbudowana z 141 aminokwasów, której masa cząsteczkowa wynosi 16 kDa. W obrębie retikulum endoplazmatycznego endopeptydazy odszczepiają sekwencję sygnałowej zawierającą 25 aminokwasów i powstaje cząsteczka prokalcytoniny. W celu zwiększenia stabilności może dochodzić do glikozylacji asparaginy w obrębie sekwencji kalcytoniny, która znajduje się między 60 a 91 aminokwasem sekwencji cząsteczki PCT (rys.1). Prawdopodobnie proces

glikozylacji nie występuje w trakcie syntezy prokalcytoniny indukowanej przez proces zapalny [113].

W wyniku zadziałania proteolitycznego enzymu – konwertazy prohormonu (PC -prohormone convertase) w obrębie tak zwanych sekwencji flankujących znajdujących się po obu stronach kalcytoniny w cząsteczce prokalcytoniny (rys 1.), powstają trzy peptydy:

- aminokońcowy peptyd – N-prokalcytonina,
- kalcytonina,
- katakalcyna – peptyd karboksykońcowy.

Cząsteczka kalcytoniny podlega dalszym przemianom polegającym na wytworzeniu mostka dwusiarczkowego między cysteiną w pozycji 1 i 7, usunięciu glicyny i hydroksylacji proliny w obrębie C-końcowego fragmentu peptydu. Po uformowaniu drugo- i trzeciorzędowej struktury dojrzała kalcytonina jest uwalniana do krążenia.

W warunkach fizjologicznych w komórkach C tarczycy praktycznie cała ilość zsyntetyzowanej PCT ulega dalszej obróbce enzymatycznej, co prowadzi do powstania kalcytoniny, a cząsteczki prokalcytoniny nie są uwalniane do krążenia ogólnoustrojowego [108,113].

W zdrowej populacji stężenie tego peptydu pozostaje niskie i nie przekracza wartości 0,5 ng/ml [7], natomiast po stymulacji przez endotoksynę stężenie wzrasta nawet do 1000 ng/ml [113].

Gdy synteza PCT jest indukowana w wyniku uogólnionej odpowiedzi zapalnej na czynnik bakteryjny jej cząsteczka nie podlega działaniu proteolitycznemu enzymów i jako 116 aminokwasowy peptyd jest uwalniana do krążenia. Nieobecność endopeptydaz w surowicy krwi powoduje, iż prokalcytonina ma długi czas półtrwania wynoszący około 20-24 godzin [22,40,113], a według niektórych nawet do 30 godzin [108].

2.7.4. ŹRÓDŁO PROKALCYTONINY

W przypadku wystąpienia uogólnionej reakcji zapalnej wzrost stężenia prokalcytoniny wykryto również u pacjentów poddanych zabiegowi całkowitej tyroidektomii, co świadczy o pochodzeniu prokalcytoniny z innych źródeł niż komórki C tarczycy [7,133].

Komórki bardzo różnych tkanek i narządów mogą być zdolne do syntezy prokalcytoniny. Ekspresję mRNA dla PCT-I, PCT-II i CGPR-I mRNA oraz samych peptydów stwierdzono również poza tarczycą [125,128,157]. Największe ilości stwierdzono w komórkach wątroby, jąder, płuc, prostaty, nerek, nadnerczy i jelita cienkiego. Narządy różniły się między sobą ilością stwierdzanego mRNA jak i stosunkiem poszczególnych jego typów.

Kontrowersję budzi udział leukocytów w indukowanej zapaleniem syntezie prokalcytoniny. Stymulacja tych komórek endotoksyną lub TNF- α zwiększała wewnątrzkomórkowe stężenie prokalcytoniny [8,137] i autorzy tych badań wskazywali na leukocyty jako potencjalne, choć nie główne źródło PCT. Jednak badania *in vitro* nie potwierdziły tych danych [103,123]. Według jednej z hipotez monocyty i makrofagi nie produkują prokalcytoniny, ale w sposób pośredni indukują ekspresję jej genu CALC-I w innych komórkach m.in. w adipocytach [103].

Obserwacje u chorych będących w neutropenii również dostarczają sprzecznych informacji [2,179].

Dotychczas nie zostało jednoznacznie ustalone źródło prokalcytoniny jednak coraz więcej publikacji wskazuje na wątrobę jako główny narząd uwalniający prokalcytoninę w przebiegu posocznicy [93,112,115,132].

W modelu zwierzęcym wstrząsu septycznego, w surowicy pawianów, u których wykonano hepatektomię nie stwierdzono wzrostu stężenia prokalcytoniny po stymulacji endotoksyną, mimo bardzo wysokich poziomów cytokin zapalnych [115].

2.7.5. INDUKCJA SYNTEZY I KINETYKA PROKALCYTONINY

W stanie zdrowia jedynie w komórkach C-tarczycy stwierdza się wysoką aktywność transkrypcyjną genu CALC-I, co jest związane z produkcją kalcytoniny. W narządach poza tarczycą, ekspresja genu jest niska i u zdrowych osób stężenie prokalcytoniny w surowicy krwi pozostaje bardzo niskie rzędu 10-50 pg/ml [112].

Za najistotniejszy czynnik stymulujący wyrzut PCT uznawane jest ogólnoustrojowe zakażenie bakteryjne, stymulacja LPS [137].

Doświadczalnie udowodnił to Dantona [40], podając zdrowym ochotnikom endotoksynę *Escherichia coli* w dawce 4 ng/kg masy ciała. Po 90 minutach od wstrzyknięcia odnotowano w surowicy krwi badanych nagły wzrost poziomu TNF- α , a następnie po 180 minutach IL-6. Po 3-4 godzinach od podaży toksyny odnotowano wzrost stężenia PCT, której maksymalny poziom stwierdzono w 6-8 godzinie eksperymentu. Podwyższone stężenie prokalcytoniny utrzymywało się od 8 do 24 godziny. Podawanie kolejnych dawek toksyny nie powodowało dalszego narastania poziomu PCT. Stężenie prokalcytoniny wzrasta po pojawieniu się TNF- α , IL-6, ale przed wzrostem CRP.

Brunkhorst i wsp opisali przypadek jatrogennej posocznicy o etiologii *Acinetobacter baumani* u 76-letniej kobiety, u której w 3 godzinie po infuzji zakażonego płynu wystąpiły objawy kliniczne [22]. Autorzy odnotowali szybkie narastanie stężenia prokalcytoniny po 2,5 godzinach od wlewu, a jego najwyższe wartości (268 ng/ml), oznaczono po niespełna 14 godzinach, gdy stężenie białka C-reaktywnego dopiero zaczynało wzrastać.

Wyniki licznych badań zarówno *in vitro* i *in vivo* na zwierzętach, jak i z udziałem pacjentów wskazują na udział cytokin prozapalnych w stymulacji wydzielania prokalcytoniny. Podanie TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6 powoduje stymulację uwalniania PCT [7,113,131,132,137,194], natomiast IL-10 nie [137]. Wstrzyknięcie IL-3 mimo, że powoduje wzrost stężenia TNF- α i IL-6 nie wpływa na uwalnianie prokalcytoniny [90].

Niewielki wzrost stężenia peptydu obserwowano u pacjentów z niektórymi nowotworami m.in. z drobnokomórkowym rakiem płuc, białaczką, neuroblastomą, z guzem jądra, piersi, mięsakiem Ewinga [67,90,113].

Wysokie stężenia wykrywano u chorych z uogólnioną reakcją zapalną o etiologii pasożytniczej [1,32,107,185]. Podwyższone wartości są odnotowywane bezpośrednio po zabiegach operacyjnych [11,21,31,80,104,121,136,175], po rozległych urazach [114,119,129,139], w udarze cieplnym [57,113,134,136], oparzeniach [26,43,130,161,189], wstrząsie kardiogennym [5,65], po reanimacji [113] oraz u zdrowych noworodków w pierwszych dobach życia [72,113,160,183]. Opisywany jest również wzrost stężenia prokalcytoniny związany z podażą przeciwciał antylimfocytarnych [45,95,159].

Istnieją doniesienia dotyczące stymulacji uwalniania PCT w przebiegu inwazyjnych zakażeń grzybiczych. W niektórych przypadkach opisywano wzrost jej stężeń [44] nawet do poziomów stwierdzanych w przebiegu uogólnionej reakcji zapalnej o etiologii bakteryjnej [66]. Natomiast inni autorzy przedstawili prace, w których poziomy tego parametru pozostawały niskie lub tylko nieznacznie podwyższone u chorych z inwazyjnym zakażeniem grzybiczym [12,69].

Nie jest poznany czynnik indukujący uwalnianie prekursorów kalcytoniny w wyżej wymienionych sytuacjach. Dominuje koncepcja podwyższonego stężenia TNF α jako stymulanta produkcji PCT u takich pacjentów, jednak nie zawsze zwiększonej koncentracji TNF α towarzyszy zwiększone uwalnianie prokalcytoniny.

2.7.6. ROLA BIOLOGICZNA PROKALCYTONINY

Biologiczna rola tego polipeptydu nie jest wyjaśniona. Stwierdzone niewielkie różnice u różnych gatunków zwierząt w sekwencji DNA i aminokwasów prokalcytoniny mogą świadczyć o jej istotnej funkcji biologicznej, która nie została jeszcze poznana [108]. Doświadczenia oparte na modelach zwierzęcych lub badaniach *in vitro* sugerują, że może być ona związana

ze stymulacją syntezy tlenu azotu [77], modulacją przebiegu reakcji zapalnej [122,124,126], z regulacją metabolizmu wapnia [33,108,127]. Wykazano, iż ma ona wpływ na migrację monocytów oraz na ich wrażliwość na inne czynniki chemotaktyczne oraz stymuluje syntezę cyklicznego adenozynomonofosforanu [122,195]. W badaniach *in vitro* Monneret i wsp stwierdzili przeciwzapalne działanie PCT, która podobnie jak CGRP wykazywała działanie inhibicyjne wobec produkcji TNF α w modelu z użyciem komórek krwi człowieka [124].

Wiele cech prokalcytoniny pozwala postawić hipotezę, że jest ona białkiem ostrej fazy [132].

Neutralizacja PCT swoistymi przeciwciałami w doświadczeniach na chomikach i świniach zwiększała współczynnik przeżywalności zwierząt i łagodziła przebieg eksperymentalnie indukowanej posocznicy [13,135].

Czas półtrwania czyni PCT parametrem możliwym do zastosowania w praktyce klinicznej [7,108]. Oznaczenie stężeń prokalcytoniny ma zastosowanie w szybkiej identyfikacji prawdopodobnej etiologii bakteryjnej w zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych, w ciężkiej pneumonii, SIRS, w powikłanym zapaleniu trzustki. W zakażeniach bakteryjnych umożliwia różnicowanie procesu zlokalizowanego – stężenie pozostaje niskie, z uogólnionym. Zaletą prokalcytoniny jest jej dobra korelacja z nasileniem uogólnionej reakcji zapalnej - najwyższe stężenia są stwierdzane u chorych z ciężką posocznicą i we wstrząsie septycznym. Nadaje się ona zarówno do diagnostyki jak i monitorowania zakażeń bakteryjnych. Już po 6 godzinach od zadziałania czynnika indukującego obserwuje się narastanie jej stężenia. Gdy zastosowana terapia jest skuteczna bardzo szybko dochodzi do spadku poziomu peptydu, dalsze jego narastanie ułatwia podjęcie decyzji o konieczności modyfikacji leczenia i ma niepomyślne znaczenie rokownicze [64,96,173].

2.7.7. ZASTOSOWANIE KLINICZNE PROKALCYTONINY

Na podstawie licznych badań stwierdzono, że prokalcytonia jest parametrem, który odzwierciedla nasilenie uogólnionej odpowiedzi zapalnej, posocznicy i niewydolności wielonarządowej [23,30,33,79,153,166]. Umożliwia ona różnicowanie etiologii bakteryjnej od niebakteryjnej zapalenia w wielu schorzeniach, w których na podstawie dostępnych markerów ostrej fazy jest to trudne lub wręcz niemożliwe.

Jest ona przydatna m.in. w różnicowaniu etiologii zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych [25,48,64,86,89,113]. Wyższe poziomy PCT stwierdzano u dzieci z zakażeniem układu moczowego, gdy proces zapalny obejmował nerki [14,25,99,100]. Daje ona również szansę na odróżnienie sterylnej martwicy trzustki od nadkażenia bakteryjnego [25,33,57,150].

Niezwykle ważną grupą chorych, u których ten parametr ma szczególną wartość diagnostyczną są pacjenci po przeszczepach narządowych i tkankowych. W tej populacji stężenie peptydu nie wzrasta w przebiegu odrzucania przeszczepu, czy GVHD, a stosowane leczenie immunosupresyjne nie upośledza stymulacji jego syntezy i uwalniania w przebiegu zakażenia bakteryjnego [69,149]. U pacjentów dotkniętych chorobami autoimmunologicznym, u których wzrost stężenia białek ostrej fazy związany może być z nasileniem choroby podstawowej, trudno jest właściwie zidentyfikować zakażenie bakteryjne. PCT jest narzędziem ułatwiającym to zadanie w tej grupie chorych [52].

Również u pacjentów po zabiegach operacyjnych, mimo że sam zabieg powoduje wzrost stężenia tego peptydu, to stwierdzenie narastania jego poziomu w kolejnych dobach przemawia za procesem infekcyjnym [118].

Oznaczanie stężeń prokalcytoniny ma znaczenie również rokownicze, jej narastanie świadczy o niepomyślnym przebiegu powikłania infekcyjnego [153,166].

W literaturze jest stosunkowo niewielka liczba publikacji dotyczących zastosowania klinicznego oznaczeń stężeń prokalcytoniny u pediatrycznych

pacjentów onkologicznych będących w stanie neutropenii w przebiegu intensywnej chemioterapii [9,42,49,60,76,123,178].

W naszym ośrodku badania przeprowadzone przez Szalewską [180] udokumentowały przydatność tego znacznika w diagnostyce zakażeń występujących u pacjentów będących w okresie aktywnej chemioterapii, w oparciu o metodę półilościową przy użyciu testu B·R·A·H·M·S PCT[®]-Q (B·R·A·H·M·S –Diagnostica GmbH, Berlin, Niemcy). Stwierdziła ona także, że nawrót schorzenia nowotworowego u dzieci z rozpoznaniem onkohematologicznym nie powoduje wzrostu poziomu prokalcytoniny w ich surowicy krwi. Badając dzieci po dokonanym przeszczepie hematopoetycznych komórek macierzystych, bez klinicznych cech zakażenia, wykazała, iż oznaczone stężenie surowicze prokalcytoniny było niskie, tak jak w zdrowej populacji.

Skąpa symptomatologia kliniczna zakażeń uogólnionych u pacjentów będących w neutropenii oraz brak jednoznaczności poglądów, co do przydatności tego znacznika w diagnostyce zakażeń bakteryjnych w tej grupie chorych, a przede wszystkim poszukiwanie dodatkowego kryterium kwalifikującego chorych do antybiotykoterapii szerokospektralnej, stało się dla nas zachętą do kontynuacji badań nad przydatnością kliniczną oznaczeń osoczonego stężenia prokalcytoniny. Poza wczesną diagnostyką zakażenia bakteryjnego u pacjenta z rozpoznaniem choroby nowotworowej, będącego w stanie osłabienia funkcji układu immunologicznego, dla lekarza onkologa istotne znacznie ma uzyskanie odpowiedzi, co do skuteczności stosowanego leczenia przeciwbakteryjnego.

Te zagadnienia stały się celem dalszych badań.

Zadano sobie także pytanie, czy zastosowanie granulocytarnych czynników wzrostu wpływa na oznaczane stężenie prokalcytoniny w surowicy krwi.

3. CEL PRACY

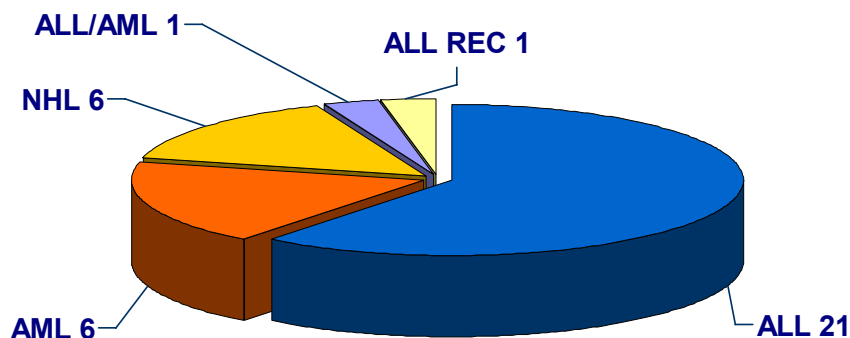
Celem pracy, było uzyskanie odpowiedzi na następujące pytania:

1. Czy w surowicy krwi dziecka będącego w stanie głębokiej neutropenii w przebiegu leczenia onkologicznego obserwowany jest wzrost stężenia prokalcytoniny w odpowiedzi na istniejące zakażenie bakteryjne w ustroju chorego?
2. Czy uzasadnione jest monitorowanie stężenia prokalcytoniny u dziecka będącego w głębokiej neutropenii?
3. Czy podaż czynników stymulujących granulocytopozę wpływa na stężenie PCT ?

4. MATERIAŁ I METODY

4.1. PACJENCI

Badania przeprowadzono w trakcie 62 epizodów neutropenii, które wystąpiły u 35 dzieci leczonych w Klinice Pediatrii, Hematologii, Onkologii i Endokrynologii Akademii Medycznej w Gdańsku z powodu chorób rozrostowych układu krwiotwórczego w latach 2003 - 2006. W grupie badanej było 17 chłopców i 18 dziewczynek, w wieku 1,8 – 18,5 lat (średnia $9,87 \pm 5,10$ lat). Pacjenci ci poddani byli intensywnej chemioterapii z powodu następujących schorzeń onkologicznych: ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL) - 22 pacjentów, a wśród nich jeden przypadek nawrotu schorzenia, ostrej białaczki nieлимfoblastycznej (ANLL) – 6 dzieci, chłoniaka nieziarniczego (NHL) – 6 chorych, ostrej białaczki bifenotypowej ALL/AML – 1 chłopiec rys 2.



Rys. 2 Rozpoznanie onkologiczne w badanej grupie pacjentów.

Do badań kwalifikowano chorych, u których stwierdzano:

- liczbę granulocytów obojętnochłonnych $\leq 0,1$ G/l
- liczbę granulocytów obojętnochłonnych $\leq 0,5$ G/l oraz współistniejące cechy kliniczne infekcji i/lub potwierdzenie badaniem mikrobiologicznym obecności czynnika infekcyjnego w ustroju chorego.

Obserwację pacjenta i pobieranie materiału biologicznego w celu oznaczenia prokalcytoniny prowadzono od momentu kwalifikacji do badań do dnia wzrostu liczby neutrocytów powyżej 0,1 G/l i/lub do czasu ustąpienia klinicznych cech toczącego się procesu zapalnego w ustroju chorego.

Liczba przeanalizowanych okresów neutropenii u jednego pacjenta wynosiła od 1 do 5 (tab. 1.)

Liczba okresów neutropenii analizowanych u pojedynczego chorego	1	2	3	4	5
Liczba chorych	20	8	3	3	1

Tab. 1. Liczba okresów neutropenii analizowanych u pojedynczych pacjentów

U 3 chorych (M.C., A.N., J.Z.), u których neutropenia trwała: 48, 48, 50 dni wyróżniono okresy gorączkowe oraz bez występowania wzrostu temperatury ciała. Poddano je analizie jako odrębne epizody. U poszczególnych chorych podzielono je odpowiednio na: 3, 2 i 3 incydenty neutropeniczne. Ze względu na dokonany (wyżej opisany), dodatkowy podział liczba analizowanych epizodów neutropenicznych wzrosła o 5 i łącznie **przeanalizowano 67 odrębnych incydentów neutropenii, które wystąpiły u 35 chorych.**

4.2. DANE KLINICZNE

Ocena kliniczna obejmowała: pomiary temperatury ciała oraz wielokrotnie wykonywane badania fizykalne chorego.

Gorączkę definiowano jako wzrost temperatury ciała mierzonej w dole pachowym $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$ przy jednokrotnym pomiarze lub $\geq 38,0^{\circ}\text{C}$ dwukrotnie w ciągu 12 godzin [69,165].

Aktywność życiową, stan świadomości, nasilenie zmian zapalnych w obrębie jamy ustnej oceniano w oparciu o zmodyfikowaną skalę toksyczności chemioterapii wg WHO – klasyfikację przedstawia tabela nr 2.

	STOPIEŃ TOKSYCZNOŚCI				
POWIKŁANIA	0	1	2	3	4
Aktywność życiowa (wg skali Karnofskyego)	prawidłowa (90 -100)	niewielkie ograniczenie aktywności (70 - < 90)	znacząco ograniczona aktywność (50 - < 70)	pacjent leżący wymaga pielęgnacji (30 - < 50)	ciężko chory wymaga specjalnej opieki i intensywnego leczenia (< 30)
Neurologiczne	przytomny	przejściowe zaburzenia świadomości, nerwowość	senność poniżej 50%godz. czuwania, osłabienie	senność powyżej 50% godz. czuwania, znaczne osłabienie, dezorientacja	śpiączka, porażenie centralne
Jama ustna	bez zmian	pieczenie zacerwienie	zacerwienie, owrzodzenia, może jeść pokarmy stałe.	owrzodzenia, wymaga diety płynnej	odżywianie doustne niemożliwe
Zakażenie	nie występuje	lekka infekcja	średnia infekcja, FUO, patogen niezidentyfikowany, antybiotyki <i>i.v.</i>	ciężka infekcja (zidentyfikowany patogen), antybiotyki <i>i.v.</i>	bardzo ciężkie, wstrząs septyczny

Tab. 2. Zmodyfikowana skala toksyczności chemioterapii wg WHO

4.3. PODZIAŁ EPIZODÓW

Incydenty neutropenii podzielono w oparciu o towarzyszącą temperaturę ciała chorego na: epizody bez gorączki i epizody z towarzyszącą gorączką.

Porównano pacjentów bez gorączki otrzymujących czynniki stymulujące granulocytopenię (G-CSF) z chorymi, którym ich nie podawano.

Epizody gorączki podzielono w oparciu o jej etiologię na:

- gorączkę o nieustalonej etiologii (FUO)
- epizody infekcyjne potwierdzone symptomatologią kliniczną występującą u chorego
- epizody infekcyjne o udokumentowanej mikrobiologicznie etiologii.

Gorączkę o nieustalonej etiologii (FUO) rozpoznawano, gdy w oparciu o symptomatologię kliniczną oraz przeprowadzoną diagnostykę mikrobiologiczną nie udało się ustalić ani etiologii, ani źródła zakażenia.

Do grupy **incydentów infekcyjnych potwierdzonych klinicznie** kwalifikowano epizody, w których na podstawie obserwacji klinicznej łącznie z diagnostyką obrazową stwierdzano lokalizację infekcji w ustroju chorego, ale nie uzyskano mikrobiologicznego potwierdzenia zakażenia.

Za **mikrobiologicznie udokumentowaną infekcję** uznawano przypadki, w których oprócz wyhodowania patogenu z pobranego materiału biologicznego od chorego (krew pobrana z żyły lub cewnika centralnego, mocz, kał, wymaz z gardła, z odbytu, lub materiał z innego potencjalnego źródła zakażenia) stwierdzano obecność klinicznie jawnych objawów zakażenia.

W przypadku wyizolowania drobnoustroju wywodzącego się ze skórnej flory bakteryjnej z krwi pobranej z dwuprzewodowego cewnika centralnego, uznawano go za czynnik etiologiczny infekcji jeśli chory demonstrował objawy kliniczne zakażenia, a patogen wyhodowano w materiale uzyskanym z jednego jak i drugiego wejścia cewnika. Natomiast, jeśli pacjent był w dość dobrym stanie ogólnym, a z krwi pobranej przez wejście centralne izolowano patogen należący do mikroflory skórnej, rozpoznawano kolonizację cewnika lub jego zanieczyszczenie.

Na podstawie lokalizacji procesu zapalnego lub jej braku epizody gorączki podzielono na:

- zakażenia zlokalizowane (jak np.: infekcja górnych bądź dolnych dróg oddechowych, zakażenia układu moczowego, zapalenie tkanek miękkich, *typhlitis*,...)
- bakteriamię, fungemię – w tym ciężką posocznicę oraz wstrząs septyczny
- gorączkę o nieustalonym pochodzeniu (FUO)

Incydenty, w których stwierdzono więcej niż jedno prawdopodobne lokalne ognisko procesu infekcyjnego, ale o odmiennej etiologii tak jak: prawdopodobna

grzybica płuc oraz zakażenie bakteryjne układu moczowego, czy też *typhlitis* z prawdopodobną grzybicą nerek, kwalifikowano do zakażeń miejscowych. Natomiast w jednym przypadku, gdy zmiany były wielonarządowe o prawdopodobnej etiologii grzybiczej, epizod zakwalifikowano jako fungemię i włączono do grupy bakteriemii.

Incydenty analizowano w oparciu o definicje przyjęte przez Towarzystwo Intensywnej Terapii (SCCM) i Amerykańskie Towarzystwo Chorób Klatki Piersiowej (ACCP) [3,102] zmodyfikowane dla pacjenta pediatrycznego[70].

Zespół uogólnionej odpowiedzi zapalnej (SIRS) rozpoznawano, gdy oprócz nieprawidłowej temperatury ciała (temperatura > 38,5°C lub < 36,0°C) stwierdzano minimum jeden z poniższych objawów:

- częstość tętna > 2 odchyłeń standardowych od normy dla wieku, nie wywołana zewnętrzną stymulacją, lekami, bądź też samym bólem
- częstość oddechów > 2 odchyłeń standardowych od normy dla wieku (tab. 3.)

Wiek	Tachykardia liczba uderzeń/min	Tachypnoe Liczba oddechów/min	Skurczowe ciśnienie tętnicze mmHg
1m.ż. – 1 r.ż.	> 180	> 34	< 100
2 – 5 r.ż.	> 140	> 22	< 94
6 – 12 r.ż.	> 130	> 18	< 105
13 - < 18 r.ż.	> 110	> 14	< 117

Tab. 3. Kryteria rozpoznawania tachykardii, tachypnoe oraz hipotensji z podziałem na grupy wiekowe [70].

Rozpoznanie **posocznicy** stawiano, gdy oprócz cech SIRS rozpoznano lub podejrzewano infekcję bez konieczności potwierdzenia mikrobiologicznego zakażenia [70].

Ciężka posocznica definiowana była jako posocznica z dysfunkcją układu krążenia lub układu oddechowego, lub gdy występowały cechy dysfunkcji ze strony co najmniej dwóch innych narządów [70].

Wstrząs septyczny rozpoznawano, gdy w przebiegu ciężkiej posocznicy stwierdzano niewydolność układu krążenia [70].

Kryteria dysfunkcji narządowej oraz zakresy wartości ocenianych parametrów dla poszczególnych grup wiekowych umieszczono w załączniku nr 2.

Po wykluczeniu epizodów, w których rozpoznano posocznicę lub podejrzewano uogólnioną grzybicę z wysokimi stężeniami prokalcytoniny, pozostałe incydenty neutropenii podzielono w oparciu o stopień nasilenia zapalenia błony śluzowej jamy ustnej na podstawie skali WHO (tab. 2.):

- grupa 1 – zmiany 0 -1 stopnia
- grupa 2 – zmiany 2 - 4 stopnia

Kolejną analizę przeprowadzono w oparciu o ocenę stanu ogólnego chorego w pierwszej dobie gorączki i w dobie maksymalnie nasilonych patologicznych objawów klinicznych wyróżniając:

- stan ogólny dobry i dość dobry
- średni
- średnio-ciężki i ciężki

Stężenia prokalcytoniny odnoszono także do stanu klinicznego centralnego układu nerwowego chorego, dzieląc incydenty w oparciu o skalę toksyczności WHO (tab. 2.) na trzy grupy:

- grupa 1 – bez zaburzeń ze strony OUN
- grupa 2 – z zaburzeniami ze strony OUN w stopniu 1-4
- grupa 3 – zaburzenia OUN 2-4 stopnia

Wszystkie incydenty neutropenii podzielono w oparciu o oznaczone maksymalne stężenie prokalcytoniny na 4 grupy:

- epizod neutropenii, FUO – PCT < 0,5 ng/ml
- zlokalizowany proces infekcyjny – PCT w przedziale 0,5 do 2,0 ng/ml
- bakteremia, posocznica – PCT > 2,0 do 5,0 ng/ml
- ciężka posocznica – PCT > 5,0 ng/ml

4.4. DIAGNOSTYKA LABORATORYJNA I OBRAZOWA

Z pośród badań laboratoryjnych wykonywanych u pacjentów analizie poddano wyniki rozmazu białokrwinkowego krwi obwodowej (liczbę granulocytów obojętnochłonnych) oraz stężenie białka C-reaktywnego (CRP). CRP oznaczane było metodą immunturbidymetryczną z wartościami referencyjnymi 0-5mg/l

Badania laboratoryjne przeprowadzano w Centralnym Laboratorium Klinicznym w Gdańsku (kierownik dr n. med. Anna Skibowska-Bielińska)

Badania mikrobiologiczne były wykonywane w Zakładzie Mikrobiologii Klinicznej SPSK Nr 1-ACK AM w Gdańsku (kierownik dr med. Alfred Samet).

W zakładzie tym wykonywano również oznaczenia w surowicy krwi krążących antygenów grzybiczych Candida i Aspergillus testem Pastorex® (Bio-Rad Laboratories). Jednokrotnie badanie antygenów przeprowadzono w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej IPCZD w Warszawie.

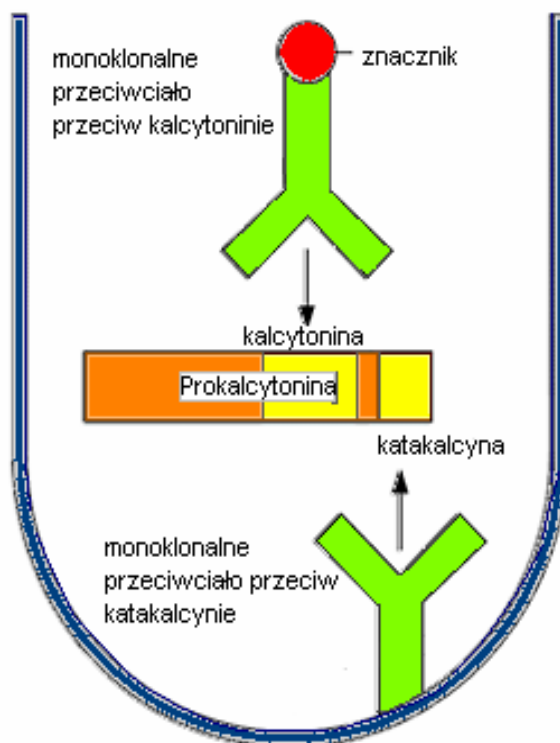
Diagnostykę obrazową (badania RTG i TK) przeprowadzano w Zakładzie Radiologii SPSK Nr 1-ACK AM w Gdańsku (kierownik prof. dr hab. Michał Studniarek). Badania ultrasonograficzne wykonywane były w Pracowni Ultrasonograficznej przy Klinice Nefrologii Dziecięcej Instytutu Pediatrii AMG (dr med. Wojciech Kosiak, dr med. Piotr Czarniak).

4.5. OZNACZENIA PROKALCYTONINY

Sposób pobierania materiału biologicznego do oznaczeń PCT oraz jego obróbkę i przechowywanie oparto na badaniach Meisnera i wsp. [116]. Zgodnie z ich wynikami przyjęto, iż zastosowana przez nas technika pobierania i przechowywania materiału diagnostycznego nie wpływa w sposób istotny na oznaczone stężenie prokalcytoniny. Krew pobierano codziennie przy okazji wykonywania rutynowych badań z cewników donaczyniowych do aseptycznych probówek z EDTA. Po odwirowaniu uzyskaną surowicę natychmiast zamrażano w temperaturze -20°C i przechowywano do czasu wykonania zbiorczych oznaczeń w 3 etapach. Badania przeprowadzono na terenie Centralnego Laboratorium Klinicznego SPSK Nr1 – ACK AMG.

Stężenie PCT mierzono ilościowo metodą immunoluminometryczną komercyjnym testem LUMItest[®]-PCT (B·R·A·H·M·S –Diagnostica GmbH, Berlin, Niemcy). Cząsteczka prokalcytoniny podczas inkubacji wiązana jest w dwóch, różnych miejscach. Mysie monoklonalne przeciwciała, które opłaszczają probówki testowe są skierowane przeciw katalalcynie, natomiast mysie monoklonalne przeciwciała znakowane luminescencyjnie (pochodną związków akrydynowych) reagują z kalcytoniną rys. 3. Po zakończeniu inkubacji nadmiar znacznika jest usuwany.

Sygnal luminescencyjny wysłany przez związane przeciwciała jest mierzony przy użyciu luminometru i odczytników LUMItest[®]-PCT Basiskit. Jego intensywność wyrażona w jednostkach RLU (Relative Light Units) jest logarytmicznie proporcjonalna do stężenia PCT w próbce. Przy użyciu zawartych w zestawie standardów (rekombinowana PCT), o znanych stężeniach prokalcytoniny, tworzona jest krzywa standardowej, na podstawie, której odczytywane są wartości prokalcytoniny w badanym materiale. Czułość analityczna testu wynosi 0,1 ng/ml.



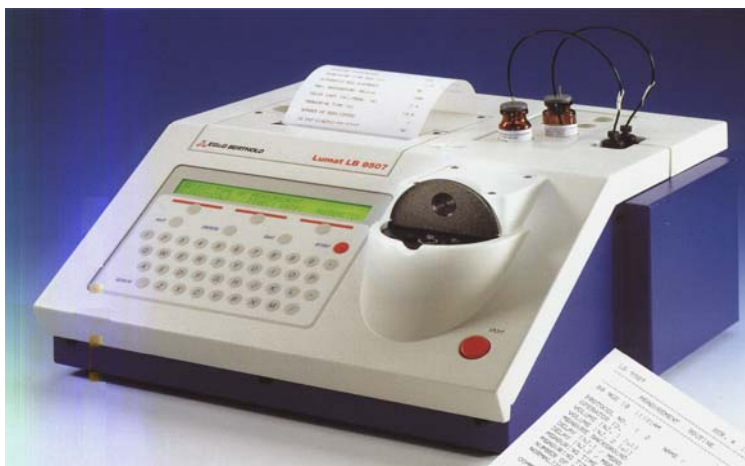
Rys. 3. Wiązanie cząsteczki prokalcytoniny w teście LUMItest®-PCT (B·R·A·H·M·S –Diagnostica GmbH, Berlin, Niemcy)

Przed rozpoczęciem oznaczeń wszystkie składniki zestawu oraz surowice pacjentów musiały osiągnąć temperaturę pokojową. Przy użyciu (každorazowo) 0,25 ml surowicy „zero” (odczynnik G) odtworzono zliofilizowane surowice standardowe (S1-S6) oraz surowice kontrolne (Ko1, Ko2). Liofilizat znacznika (odczynnik B) rozpuszczono przy użyciu buforu (odczynnik C). Płynne odczynniki oraz surowice pacjentów delikatnie wymieszano.

Testowe, opłaszczane przeciwciałami probówki numerowano zgodnie z odpowiadającymi im surowicom.

W celu przygotowania roztworu płuczącego rozcieńczano 11 ml koncentrat (odczynnik W) wodą destylowaną do objętości 550 ml.

Do oznaczeń wykorzystano luminometr - LUMAT LB 9507 (EG&G Berthold, Wildbad, Niemcy) rys. 4 udostępniony przez firmę NOBIPHARM Sp. z o.o. (Warszawa, Polska).



Rys.4. Luminometr LUMAT LB 9507 (EG&G Berthold, Bad Wildbad, Niemcy)

Po połączeniu odczynników Basiskit 1 (BR1) i Basiskit 2 (BR2 odczynnik inicjujący pomiar chemiluminescencji) system iniekcji luminometru był przepłukiwany kolejno roztworem BR1 i BR2.

Używając każdorazowo świeżej plastikowej końcówki mikropipety pipetowano 20 μ l standardów, kontroli oraz surowic pacjentów do odpowiednio oznaczonych probówek testowych. Następnie dodawano po 200 μ l znacznika. Zamieszane i zabezpieczone folią samoprzylepną probówki testowe inkubowano w temperaturze otoczenia przez 60 minut na poziomej wytrząsarce (180 obrotów/min), bez dostępu światła. Po zakończeniu inkubacji dodawano po 1 ml roztworu płuczącego do każdej probówki i dekantowano. Płukanie wykonywano następnie czterokrotnie, za każdym razem dodając po 1 ml roztworu płuczącego do probówek i dekantując. Zakończywszy proces płukania odwrócone probówki pozostawiano na ok. 5 minut na czystej bibule w celu osuszenia. Zgodnie z oznaczeniami probówki testowe wstawiano kolejno do luminometru, gdzie po automatycznym dodaniu 300 μ l odczynników BR1 i BR2 rozpoczynał się pomiar luminescencji. Czas pomiaru wynosił 1 sekundę dla 1 probówki.

Aparat wykreślił krzywą standardową na podstawie intensywności sygnałów luminescencyjnych wysyłanych ze standardów S1-S6.

Stężenia antygeny w standardach są dołączone do każdego zestawu LUMItest[®]-PCT i były każdorazowo wprowadzone do luminometru.

Koncentracja prokalcytoniny w badanych surowicach była oznaczana przez porównanie uzyskanych wartości testowych RLU z krzywą standardową i automatyczne przeliczenie na stężenie wyrażone w ng/ml.

Całkowity czas wykonania badania dla jednego zestawu (100 oznaczeń) wynosił ok. 140 minut.

Łącznie wykonano 744 oznaczenia stężeń prokalcytoniny w surowicy chorych.

4.6. OBLICZENIA STATYSTYCZNE

Dane kliniczne i wyniki badań własnych z immunologicznych zostały zgromadzone w bazie danych skonstruowanej w programie Microsoft Excel dla Windows XP (Microsoft).

Analiza statystyczna została przeprowadzona na zlecenie, przy pomocy programu Statistica dla Windows, wersja 7.1 (Statsoft, Inc., 2005) licencjonowanego dla Akademii Medycznej w Gdańsku. Właściwa analiza statystyczna poprzedzona została sprawdzeniem zgodności rozkładów wartości badanych parametrów z rozkładem normalnym za pomocą testu Shapiro-Wilka.

Porównanie cech mierzalnych i porządkowych w analizowanych podgrupach było wykonane przy użyciu testów parametrycznych lub nieparametrycznych w zależności od rozkładu analizowanej zmiennej. W przypadku dwóch analizowanych podgrup stosowano test t Studenta, test U Manna – Whitneya lub test znaków. W przypadku większej ilości podgrup niż dwie zastosowano test t, test mediany lub ANOVA Friedmana.

Związki w skalach jakościowych analizowano za pomocą testu chi-kwadrat Pearsona z poprawką Yatesa, dokładnym testem Fishera i testem V-kwadrat.

Cechy ilościowe scharakteryzowano podając ich wartość minimalną, maksymalną, medianę, średnią oraz odchylenie standardowe. Za poziom istotności przyjęto prawdopodobieństwo testowe $p=0,05$.

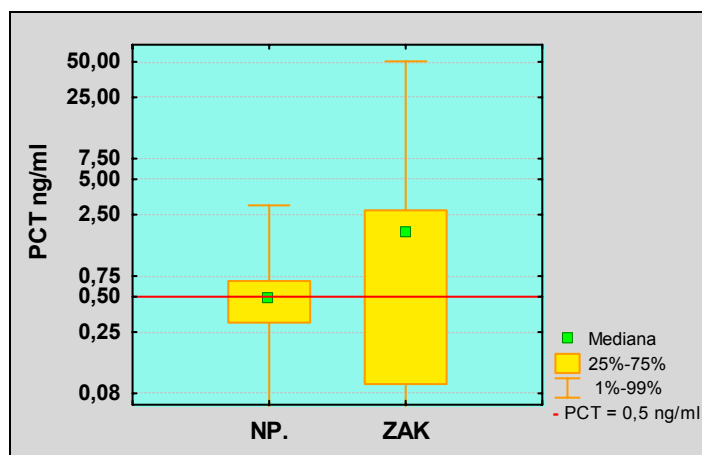
4.7. OPINIA NIEZALEŻNEJ KOMISJI BIOETYCZNEJ DO SPRAW BADAŃ NAUKOWYCH PRZY AKADEMII MEDYCZNEJ W GDAŃSKU.

Komisja wyraziła zgodę – nr NKEBN/145/2003 na przeprowadzenie badań.

5. WYNIKI

5.1. PACJENCI Z ROZPOZNANĄ NEUTROPENIĄ, U KTÓRYCH NIE STWIERDZONO GORĄCZKI.

W trakcie 21/67 incydentów neutropenii niepowikłanych gorączką w 15 z nich nie wykryto zakażenia. Natomiast w pozostałych 6 przypadkach neutropenii występującej u 5 chorych w oparciu o obraz kliniczny i/lub wynik badania mikrobiologicznego rozpoznano obecność procesu infekcyjnego w ustroju.

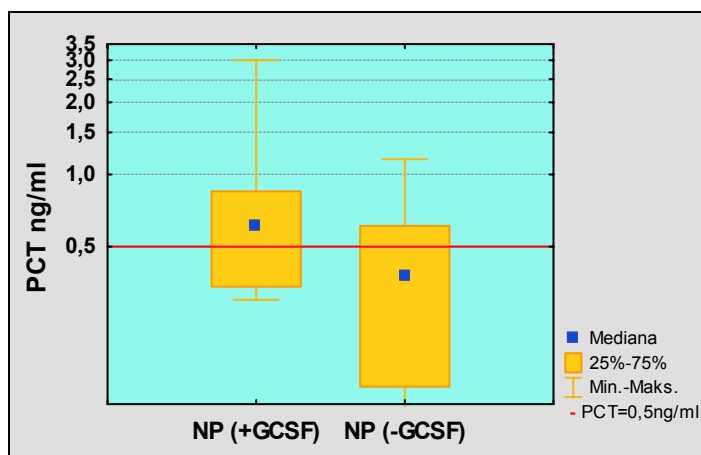


Rys.5. Maksymalne wartości PCT w trakcie okresów neutropenii bez towarzyszącej gorączki. NP. – neutropenia bez cech infekcji, ZAK- neutropenia powikłana zakażeniem stwierdzonym klinicznie i/lub mikrobiologicznie

W grupie 15 epizodów neutropenii, w przebiegu, których nie udokumentowano towarzyszącego zakażenia, liczba granulocytów obojętnochłonnych utrzymywała się poniżej 0,1 G/ średnio $6,9 \pm 7,1$ dnia. **Mediana maksymalnych poziomów prokalcytoniny wynosiła 0,49 ng/ml (zakres 0-3 ng/ml) w porównaniu z grupą chorych, u których stwierdzono zakażenie gdzie mediana wynosiła 1,7 ng/ml (0-50,53 ng/ml) rys.5.**

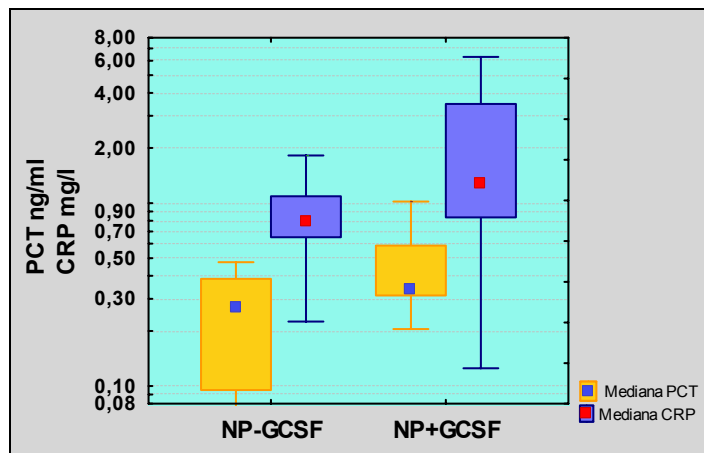
W trakcie epizodów niepowikłanych infekcją w 8 przypadkach chorym podawano czynniki stymulujące granulocytopoezę – GCSF (grupa NP(+GCSF)), a w 7 chorzy nie otrzymywali ich (grupa NP(-GCSF)) – wykaz pacjentów tej grupy jest w załączniku nr 3.

Różnice w medianie i zakresie uzyskanych maksymalnych wartości stężeń prokalcytoniny wynosiły odpowiednio 0,61 (0,3 - 3 ng/ml) i 0,38 (0-1,16 ng/ml) rys.6.



Rys.6. Maksymalne stężenia prokalcytoniny w czasie epizodów neutropenii, w których podawano GCSF [NP(+GCSF)] i bez podaży GCSF [NP(-GCSF)]

Na podstawie oznaczeń stężeń prokalcytoniny i białka C – reaktywnego w kolejnych dobach trwania neutropenii wyliczono medianę PCT i CRP dla każdego incydentu. Różnice między uzyskanymi wartościami w grupie, w której nie podawano GCSF a grupą z podażą chorym GCSF przedstawia rys.7, wynosiły one odpowiednio dla PCT: 0,27 ng/ml (0,205-1,02 ng/ml) vs 0,34 ng/ml (0-0,475 ng/ml) i dla CRP: 0,8 mg/l (0,225 – 1,8 mg/l) vs 1,26 mg/l (0,55 – 6,29 mg/l).



Rys.7. Mediany stężenia PCT i CRP w czasie epizodów neutropenii, w których podawano GCSF [NP(+GCSF)] i bez podaży GCSF [NP(-GCSF)]

W grupie epizodów neutropenii „bez gorączki” u pacjentów (tab. 4.) rozpoznano następujące powikłania infekcyjne:

- zakażenia układu moczowego – 4 incydenty u 3 chorych
- zapalenie błony śluzowej żołądka oraz podejrzenie grzybicy narządowej – 1 epizod
- prawdopodobne inwazyjne zakażenie *Candida* – 1 przypadek

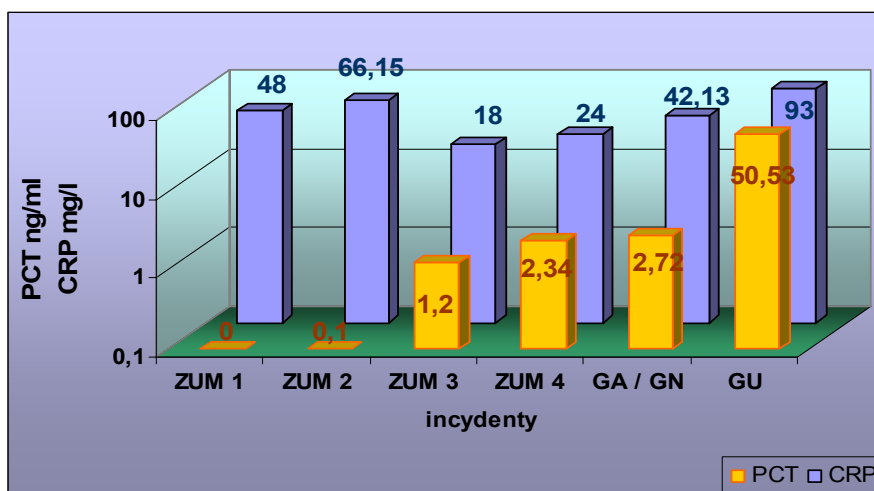
l.p.	nr pacjenta	I.D.	choroba podstawowa	nr incydentu neutropenii	powikłanie neutropenii
1	27	M.N.	NHL	54	ZUM 1
2	8	K.D.	AML	20	ZUM 2
3	29	J.P.	ALL	59	ZUM 3
4				58	ZUM4
5	35	J.Z	AML	67	zapalenie błony śluzowej żołądka oraz podejrzenie grzybicy narządowej
6	26	A.N	ALL	26	podejrzenie wielonarządowego zakażenia o etiologii <i>Candida</i>

Tab. 4. Pacjenci, u których w trakcie neutropenii nie stwierdzono gorączki a wystąpiło powikłanie infekcyjne. ZUM – zakażenie układu moczowego.

Dwa z 4 incydentów zakażeń układu moczowego (ZUM 1 i ZUM 2) wystąpiły u dwóch pacjentów.

W pierwszym przypadku pacjent (M.N.) był w dość dobrym stanie ogólnym, zgłaszał jedynie dolegliwości bólowe podbrzusza. Czynnikiem etiologicznym był *Enterobacter cloacae* ESBL(+).

U drugiego chorego (K.D.) doszło do zakażenia (ZUM 2) drobnoustrojem *Escherichia coli*, czemu nie towarzyszyły odchylenia w badaniu fizykalnym. W obu incydentach maksymalne stężenia prokalcytoniny pozostawały w zakresie < 0,5 ng/ml (odpowiednio 0 i 0,09 ng/ml) natomiast maksymalne wartości CRP wynosiły odpowiednio: 48 i 66,15 mg/l rys 8.



Rys. 8. Maksymalne stężenia CRP i PCT w trakcie bezgorączkowych incydentów neutropenii (ZUM – zakażenia układu moczowego, GASTR/GN – zapalenie błony śluzowej żołądka z grzybicą nerek, GU- grzybica układowa)

Pozostałe dwa incydenty zakażeń układu moczowego (ZUM 3 i ZUM 4) wystąpiły w trakcie dwóch epizodów neutropenii u jednego chorego (J.P.). Miał on predyspozycję do nawracających zakażeń dróg moczowych. ZUM 3 wywołane było patogenem *Enterobacter cloacae* ESBL(+). W badaniu fizykalnym chorego, którego stan ogólny oceniono jako dość dobry nie znajdowano istotnych odchyżeń od stanu prawidłowego.

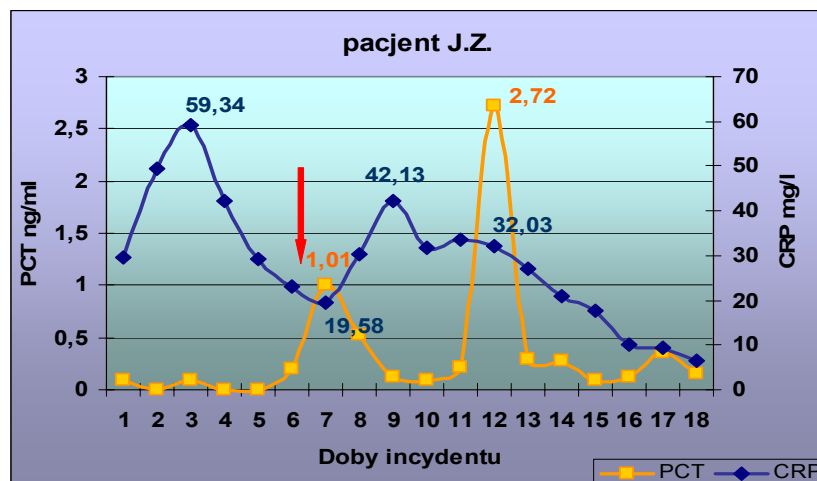
Podobnie było w ZUM 4, którego etiologię stanowiło zakażenie mieszane *Proteus mirabilis* i *Escherichia coli*. W obserwacji klinicznej pacjenta nie stwierdzano nieprawidłowości poza podwyższonymi parametrami stanu zapalnego.

W badaniach laboratoryjnych maksymalne stężenia CRP w ZUM 3 i ZUM 4 wynosiły odpowiednio 24 i 18 mg/l, natomiast wartości PCT przekroczyły w obu przypadkach wartość $>0,5$ ng/ml (1,2 i 2,34 ng/ml) rys. 8.

Neutropenia $< 0,1$ G/l powikłana zakażeniem układu moczowego bez towarzyszącej gorączki trwała 3-5 dni.

Szczegółnej uwagi i omówienia wymagają pozostałe dwa incydenty neutropenii bez towarzyszącej gorączki powikłane infekcją, które obserwowano u dwóch pacjentów (J.Z. i A.N.)

Okres 18 dni agranulocytozy wystąpił w trakcie chemioterapii u chorego J.Z., będącego w progresji choroby podstawowej - stransformowany zespół mielodysplastycznym w AML M4. W tym czasie pacjent był w średnim stanie ogólnym i skarżył się na utrzymujące się bóle głowy, którym towarzyszyły nudności oraz wymioty treścią pokarmową. Jako ich przyczynę podejrzewano stan zapalny komórek sitowia, ponieważ wykonane u chorego badanie NMR głowy wykazało pogrubienie śluzówek tej okolicy po stronie lewej. W 6 dobie trwania incydentu agranulocytozy u chorego **po podaniu przeciwciał monoklinalnych anty-CD33** (gentuzumab – Mylotarg[®]) wystąpiła uogólniona reakcja anafilaktyczna z gorączką, dreszczami, krótkotrwałym spadkiem ciśnienia tętniczego krwi, która ustąpiła po wdrożeniu przeciwwstrząsowego postępowania terapeutycznego. **W następnym dobie odnotowano jednorazowy wzrost stężenia prokalcytoniny do wartości 1,01 ng/ml przy niższym niż w poprzednich dobach stężeniu białka CRP – 19,58 mg/l** rys. 9.



Rys.9. Stężenia PCT i CRP w kolejnych dobach obserwacji u pacjenta J.Z.. w trakcie bezgorączkowego incydentu neutropenii, powikłanego infekcyjnie. Czerwona strzałka wskazuje dobę podaży Mylotargu.

W 11 dobie neutropenii dołączyły się dolegliwości bólowe w rzucie żołądka oraz krwawienie z nosa chorego, które zostało zaopatrzone tamponadą przednią -usuniętą po kolejnych 3 dobach. Oznaczone wówczas przeciwciała przeciw *Helicobacter pylori* były w mianie dodatnim, co zdecydowało o włączeniu leczenia eradykacyjnego.

W 13 dniu incydentu stan ogólny chorego nieco się pogorszył i wystąpił stan podgorączkowy. Po wykonanym w następnej dobie badaniu ultrasonograficznym jamy brzusznej ostatecznie rozpoznano zapalenie błony śluzowej żołądka z towarzyszącą prawdopodobnie grzybicą nerek (obustronną).

Najwyższe stężenie prokalcytoniny – 2,72 ng/ml odnotowano w 12 dobie obserwacji i nie towarzyszył mu wzrost stężenia białka CRP.

Drugi incydent powikłanej infekcyjnie neutropenii bez gorączki wystąpił u dziecka A.N. będącego w progresji choroby podstawowej (ALL Ph(+)). Dwa dni przed rozpoczęciem monitorowania stężeń prokalcytoniny na prawym podudziu pacjenta pojawił się niewielki tkliwy naciek z towarzyszącym zaczerwienieniem. W 4 dobie monitorowania, a zarazem w 6 dobie obserwacji zmiana była bardziej rozległa i na nacieku zapalnym stwierdzono liczne drobne

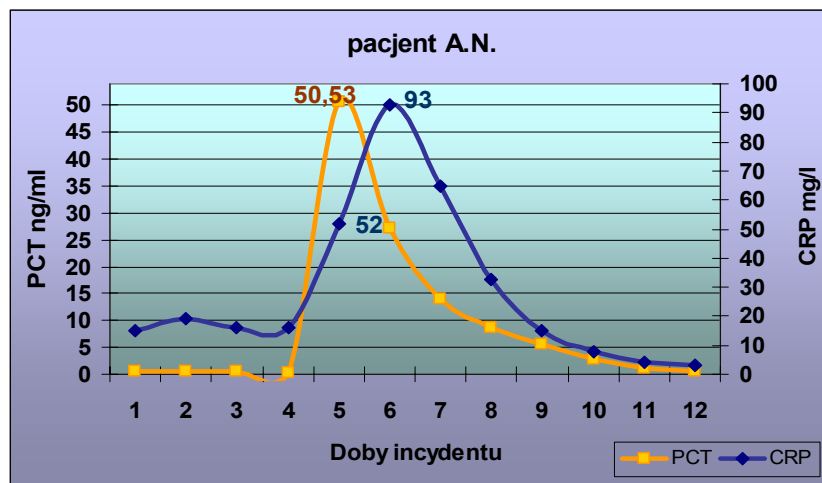
tkliwe guzki. Stan ogólny chorego był najcięższy w 4 i 5 dniu trwania incydentu neutropenii, pacjent był wówczas podsypiający, miał znacznie obniżoną aktywność życiową.

W wykonanym badaniu ultrasonograficznym zmienionej okolicy podudzia stwierdzono nacieki zapalne i rozważano możliwą etiologię grzybiczą zakażenia. Jednak badanie histopatologiczne i mikrobiologiczne wycinka pobranego ze zmiany skórnej nie udokumentowały etiologii grzybiczej zakażenia. Natomiast inne badania diagnostyczne przemawiały na rzecz istnienia w organizmie zakażenia grzybiczego, bowiem we krwi chorego wykryto krążące antygeny *Candida*. U pacjenta już wcześniej w wykonanym badaniu TK klatki piersiowej wykryto zmiany, których morfologia sugerowała obecność ropni grzybiczych w mięszu płucnym. Badania mikrobiologiczne nie ujawniły obecności zakażenia bakteryjnego.

Ostatecznie uznano, iż u chorego jest wysoce prawdopodobna obecność zakażenia wielonarządowego o etiologii grzybiczej i włączono leczenie empiryczne, a następnie wyprzedzające (kaspofungina, następnie liposomalna amfoteryczna B), uzyskując poprawę kliniczną stanu chorego.

Oznaczone stężenie prokalcytoniny osiągnęło maksymalną wartość w 5 dobie obserwacji 50 ng/ml i w kolejnych dobach intensywnego leczenia przeciwgrzybiczego połączonego z szerokospektralną antybiotykoterapią sukcesywnie obniżało się powracając do normy w 12 dobie obserwacji.

Stężenie białka C – reaktywnego swoje maksimum – 93 mg/l, osiągnęło w 6 dobie i następnie obniżało się uzyskując normalizację w 10 dobie incydentu rys.10. Ponieważ chory poza przeciwgrzybicznym leczeniem empirycznym i wyprzedzającym równocześnie otrzymywał szerokospektralną antybiotykoterapię, nie można wykluczyć mieszanej etiologii powikłania infekcyjnego.



Rys.10. Stężenia PCT i CRP w kolejnych dobach obserwacji u pacjenta A.N. w trakcie bezgorączkowego incydentu neutropenii powikłanego infekcyjnie.

5.2. ETIOLOGIA GORĄCZKI A STĘŻENIE PCT I CRP

Zgodnie z przyjętym podziałem epizodów neutropenicznych w oparciu o etiologię gorączki stwierdzono:

- 6 epizodów FUO
- 20 powikłań infekcyjnych udokumentowanych klinicznie
- 20 powikłań infekcyjnych potwierdzonych mikrobiologicznie

Wykaz chorych i incydentów jest umieszczony w załączniku nr 1.

W tab. 5. przedstawione są patogeny, które uznano za czynniki etiologiczne w trakcie 20 incydentów neutropenii z towarzyszącą gorączką.

Spośród 46 epizodów neutropenii powikłanej gorączką, w 43,5 % (20 przypadkach) udało się potwierdzić mikrobiologicznie zakażenie oraz ustalić czynnik etiologiczny. W przebadanej grupie chorych dominowały zakażenia o etiologii Gram-ujemnej i stanowiły one 65% udokumentowanych mikrobiologicznie incydentów. Najczęstszym patogenem była *Escherichia coli*, którą zidentyfikowano aż w 10 incydentach - w tym jednokrotnie wyizolowano szczep ESβL (+), a jednokrotnie jako zakażenie mieszane (z drobnoustrojem

Enterobacter cloacae). Dominującą postacią kliniczną zakażenia tym patogenem była posocznica, która rozwinęła się w 6 przypadkach, dwukrotnie doprowadzając do wstrząsu septycznego tab.6.

W grupie patogenów Gram -dodatnich należy zwrócić uwagę na obecność maczugowca jako czynnika etiologicznego.

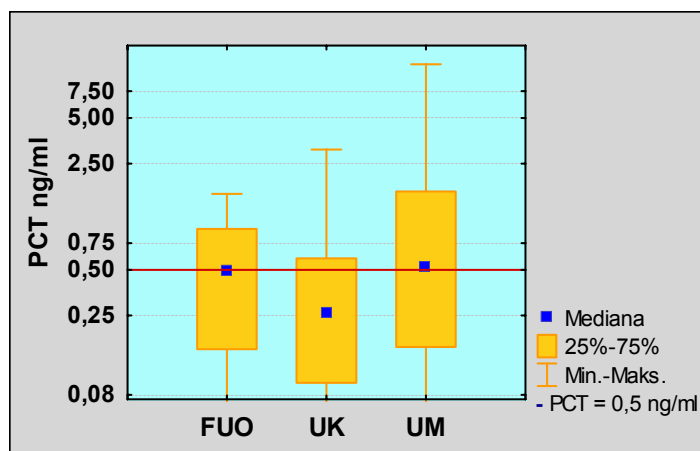
Wyizolowany patogen	Liczba incydentów	Materiał, z którego został wyizolowany	Demonstracja kliniczna	Nr incydentów neutropenii
Patogeny Gram-dodatnie	7			
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	1	KK	POS	12
<i>Enterococcus faecium</i>	1	M	ZUM	23
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	KK	POS	33
<i>Staphylococcus eoidermidis</i>	2	M – 1 KŻ+KK+M – 1	POS – 1 BAK – 1	19,42
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	KŻ+ M	POS	30
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	KŻ+ M	POS	21
Patogeny Gram-ujemne	13			
<i>Escherichia coli</i>	8	KK – 2 M – 1 KK+M – 5	POS – 5 ZUM – 3	13,22,25,26, 28,32,54,59
<i>Escherichia coli ESβL (+)</i>	1	WO	INF P.P	34
<i>Enterobacter colacae ESβL (+)</i>	1	M	ZUM	52
<i>Enterobacter cloacae & Escherichia coli</i>	1	KŻ+KK+WN+WO	POS	48
<i>Proteus mirabilis</i>	1	M	ZUM	31
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	KK+M	POS	50
SUMA	20			

Tab. 5. Patogeny oraz materiał, z którego były one izolowane, w trakcie incydentów neutropenii z towarzyszącą gorączką KK -krew z cewnika centralnego, KŻ – krew z żyły, M –mocz, WO - wymaz z odbytu, WN – wymaz spod napletka, POS – posocznica, ZUM – zakażenie układu moczowego, BAK - bakteriemia, INF PP – infekcja przewodu pokarmowego

Mediana oraz zakres stężenia prokalcytoniny w pierwszej dobie gorączki w poszczególnych grupach wynosiły (rys. 11.):

- FUO – 0,485 ng/ml (0-1,58 ng/ml),
- powikłania infekcyjne udokumentowane klinicznie – 0,26 ng/ml (0 – 3,1 ng/ml)
- powikłania infekcyjne potwierdzone mikrobiologicznie – 0,525 ng/ml (0 – 11,3 ng/ml)

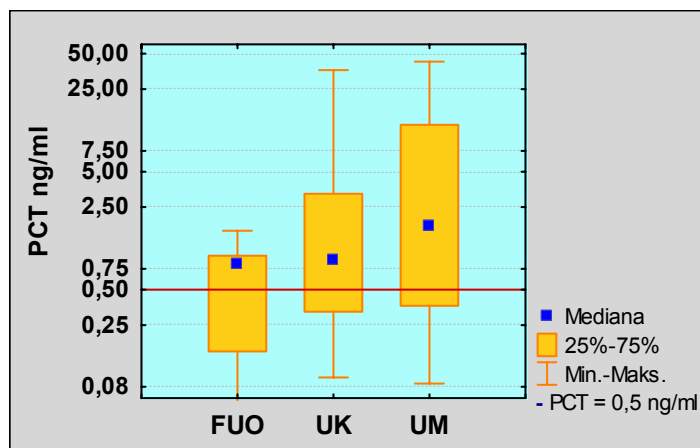
Różnice pomiędzy grupami z udokumentowanym zakażeniem nie były statystycznie istotne ($p=0,096$)



Rys. 11. Stężenia prokalcytoniny w pierwszej dobie gorączki w grupach: FUO - gorączka o nieustalonej etiologii, UK – powikłanie infekcyjne udokumentowane klinicznie, UM – powikłanie infekcyjne potwierdzone mikrobiologicznie.

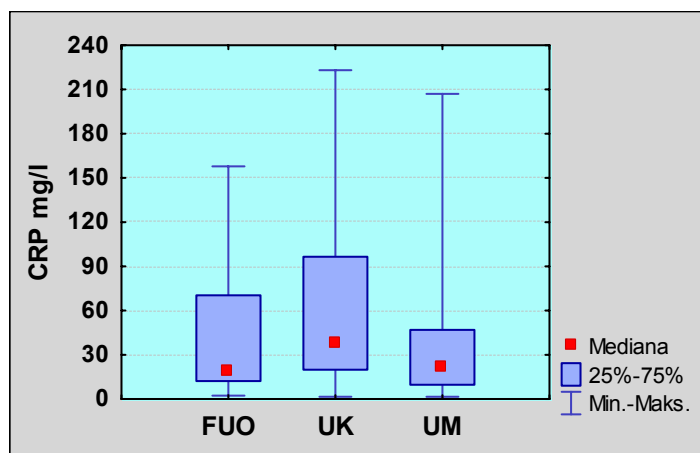
Również porównując maksymalne stężenia prokalcytoniny oznaczone w trakcie całego incydentu gorączkowego, nie stwierdzono różnic znamienych statystycznie ($p = 0,330$) w obrębie grup z udokumentowanymi zakażeniami, choć mediany i zakresy wynosiły odpowiednio (rys.12.):

- FUO – 0,81 ng/ml (0 – 1,58 ng/ml)
- powikłania infekcyjne udokumentowane klinicznie – 0,9 ng/ml (0,1 – 36,36 ng/ml)
- powikłania infekcyjne potwierdzone mikrobiologicznie – 1,715 ng/ml (0,1 – 42,74 ng/ml)



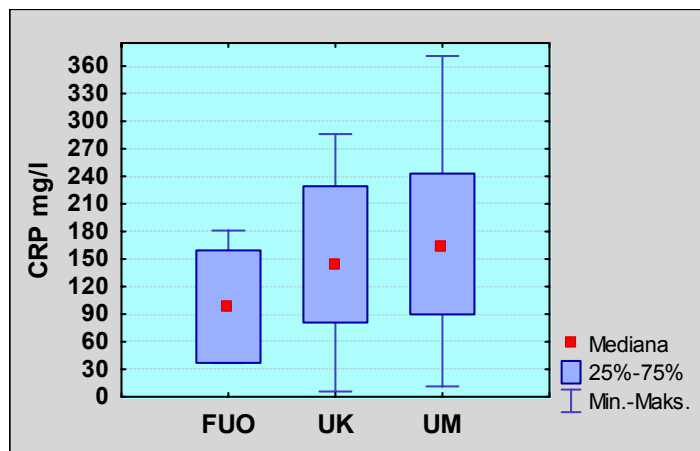
Rys. 12. Maksymalne stężenia prokalcytoniny stwierdzone w trakcie całego incydentu gorączki w poszczególnych grupach: FUO - gorączka o nieustalonej etiologii, UK – powikłanie infekcyjne udokumentowane klinicznie, UM – powikłanie infekcyjne potwierdzone mikrobiologicznie.

Dla CRP mediana stężenia w pierwszym dniu gorączki była wyższa w grupie z klinicznie udokumentowaną infekcją 38,435 mg/l (zakres 1,58 – 223,1 mg/l) niż w grupie z mikrobiologicznie potwierdzonym zakażeniem – 21,11 mg/l (1,67 – 207 mg/l) i w grupie FUO – 18,55 mg/l (2,37 – 157,84 mg/l) rys.13. Jednak i tu różnice nie były istotne statystycznie ($p = 0,110$).



Rys.13. Stężenie CRP w pierwszej dobie gorączki w grupach: FUO - gorączka o nieustalonej etiologii, UK – powikłanie infekcyjne udokumentowane klinicznie, UM – powikłanie infekcyjne potwierdzone mikrobiologicznie.

Natomiast najwyższe stężenia tego białka w trakcie całego epizodu gorączkowego stwierdzono w grupie z mikrobiologicznie potwierdzonym zakażeniem: mediana 162,55 mg/l (zakres 11,3 – 371 mg/l). w pozostałych grupach: infekcja potwierdzona klinicznie - 147 mg/l (49,03 – 286 mg/l), FOU - 70,48 mg/l (36,9 – 181 mg/l) rys.14. Jednak różnice te nie były istotne statystycznie ($p = 0,787$).



Rys. 14. Maksymalne stężenia CRP stwierdzane w trakcie całego incydentu gorączki w poszczególnych grupach: FOU - gorączka o nieustalonej etiologii, UK – powikłanie infekcyjne udokumentowane klinicznie, UM – powikłanie infekcyjne potwierdzone mikrobiologicznie.

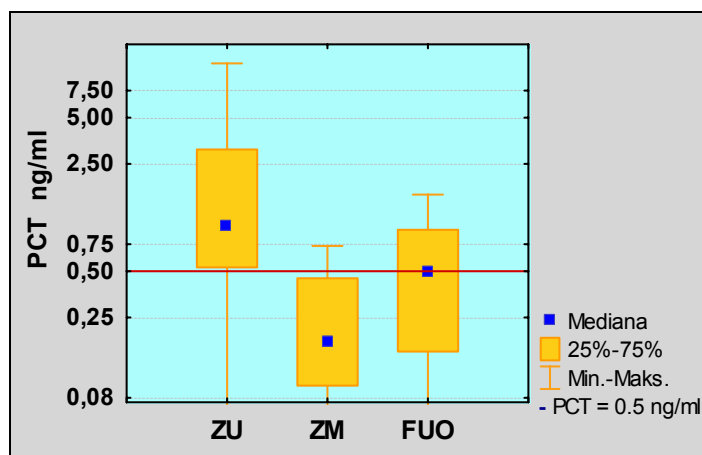
5.3. LOKALIZACJA PROCESU INFEKCYJNEGO A STĘŻENIE PCT I CRP

Analizując lokalizację procesu infekcyjnego wyróżniono:

- 6 epizodów gorączki o nieustalonym pochodzeniu (FUO)
- 17 incydentów zakażeń uogólnionych (16 bakteriemii+ 1 prawdopodobna uogólniona grzybica)
- 23 incydenty zakażeń zlokalizowanych w obrębie:
 - dróg oddechowych – 7 incydentów
 - układu moczowego – 7 incydentów
 - przewodu pokarmowego – 5 incydentów
 - tkanek miękkich – 2 incydenty
 - przewodu pokarmowego i układu moczowego – 1 incydent
 - dróg oddechowych i układu moczowego – 1 incydent

Mediana oraz zakres stężeń prokalcytoniny w pierwszej dobie gorączki w poszczególnych grupach wynosiły (rys. 15.):

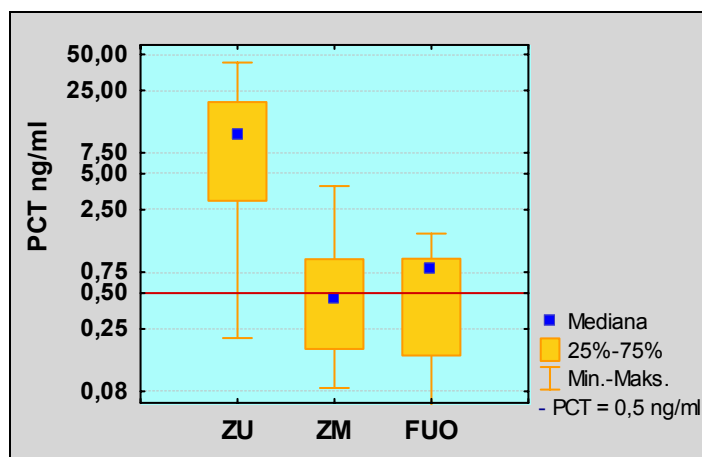
- FUO – 0,485 ng/ml (0 – 1,58 ng/ml),
- zakażenia uogólnione – 0,98 ng/ml (0 – 11,3 ng/ml),
- zakażenia zlokalizowane 0,17 ng/ml (0 – 0,73 ng/ml).



Rys. 15. Stężenie prokalcytoniny w pierwszej dobie gorączki w grupach: ZU – zakażenie uogólnione ZM – zakażenie zlokalizowane, FUO – gorączka niejasnego pochodzenia,

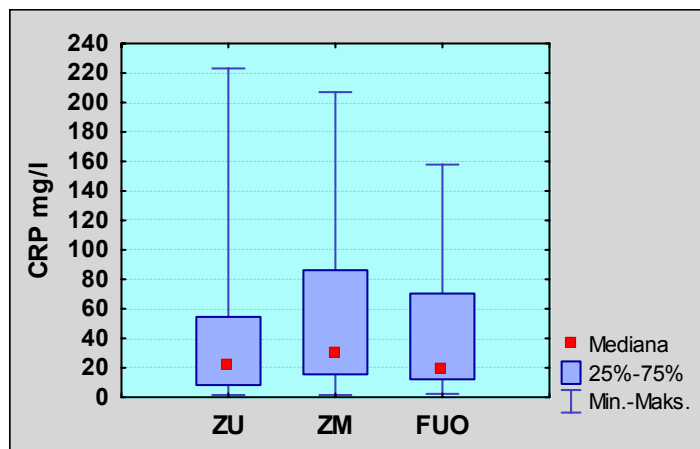
Różnica między grupą z zakażeniem miejscowym a grupą z zakażeniem uogólnionym była istotna statystycznie ($p = 0,000016$). Nie dokonano porównania z grupą FUO ze względu na jej małą liczebność.

Jeszcze większe różnice między grupami stwierdzono przy porównywaniu maksymalnych stężeń prokalcytoniny. Najniższe wartości odnotowano w grupie chorych, u których stwierdzono miejscową infekcję: mediana 0,44 ng/ml (zakres 0,1 – 3,95 ng/ml). W grupie FUO natomiast stężenia były nieco wyższe: mediana 0,81 ng/ml (0 – 1,58 ng/ml). **Najwyższe stężenia stwierdzono w trakcie incydentów zakażeń uogólnionych - 10,4 ng/ml (0,21 – 42,74 ng/ml)** rys.16. Różnica między obiema grupami z rozpoznanymi zakażeniami była znamienna statystycznie ($p = 0,000004$).



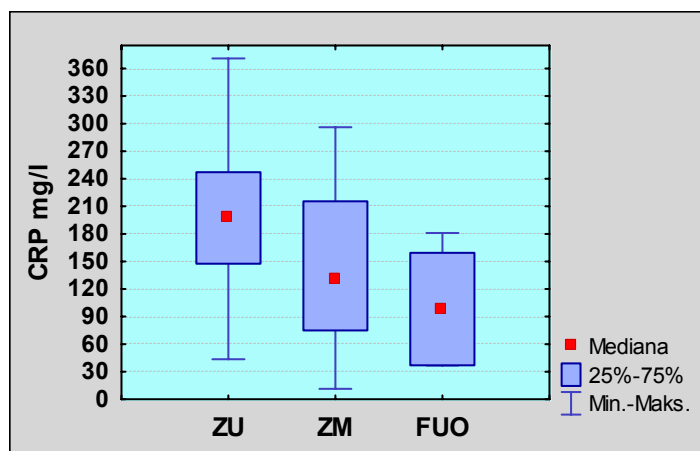
Rys.16. Maksymalne stężenie prokalcytoniny w grupach: ZU- zakażenia uogólnione
ZM – zakażenie zlokalizowane, FUO – gorączka niejasnego pochodzenia

Wartości CRP w pierwszym dniu gorączki (rys.17.) były najwyższe w grupie z rozpoznanym miejscowym procesem infekcyjnym mediana 29,65 mg/l (zakres 1,58 – 207 mg/l). W grupie FUO mediana wynosiła 18,55 mg/l (2,37 – 157,84 mg/l), natomiast najniższą medianę stwierdzono w 1 dniu gorączki w przebiegu zakażeń uogólnionych 21,58 mg/l (1,67 – 223,1 mg/l). Różnice między grupami, w których rozpoznano zakażenie nie są istotne statystycznie ($p = 0,304$).



Rys. 17. Stężenie CRP w pierwszej dobie gorączki w grupach: ZU- zakażenia uogólnione, ZM – zakażenie zlokalizowane, FUO – gorączka niejasnego pochodzenia.

Przy porównaniu maksymalnych stężeń CRP w trakcie całego incydentu najwyższą medianę stwierdzono w grupie zakażeń uogólnionych 198,89 mg/l (43,64 – 371,0 mg/l) w trakcie pozostałych incydentów odpowiednio: w zakażeniach zlokalizowanych - 130,0 mg/l (11,3 – 296 mg/l), w FUO 97,66 mg/l (36,9 – 181 mg/l) rys. 18.



Rys.18. Maksymalne stężenie CRP w grupach: ZU- zakażenia uogólnione, ZM – zakażenie zlokalizowane, FUO – gorączka niejasnego pochodzenia.

Różnica między grupą z uogólnionym procesem infekcyjnym a grupą z zakażeniem miejscowym nie przekroczyła progu istotności statystycznej ($p=0,057$).

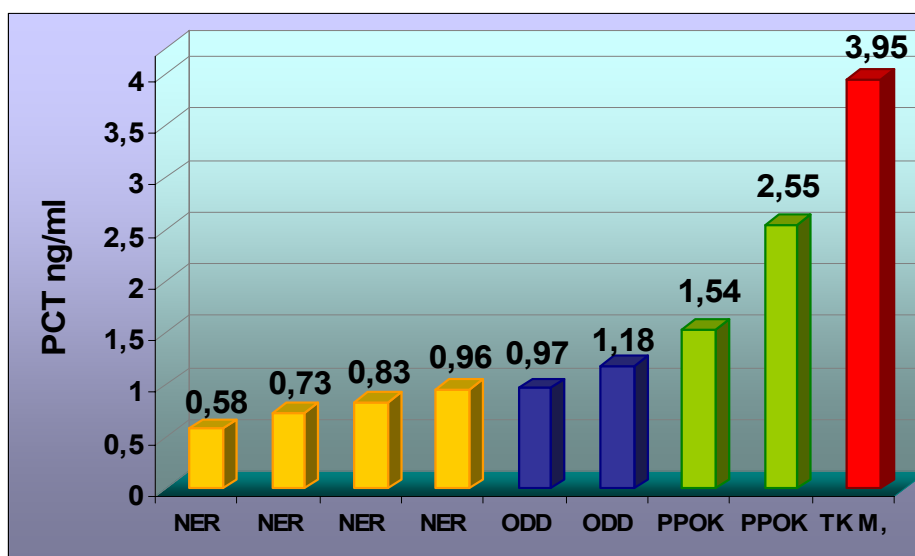
5.3.1. ZAKAŻENIA MIEJSCOWE

W 9 z 23 incydentów (39 %) neutropenii, w których oceniono proces infekcyjny jako zlokalizowany (tab.6.) maksymalne stężenie prokalcytoniny było wyższe niż 0,5 ng/ml.

I.p.	nr pacjenta	I.D.	choroba podstawowa	nr incydentu neutropenii	powikłanie neutropenii
1	11	W.G.	ALL	27	ZUM
2	27	M.N.	NHL	55	ZUM
3	7	M.C.	AML	17	ZUM
4	10	K.D.	ALL	25	ZUM
5	35	J.Z.	AML	66	zapalenie płuc
6	1	M.B.	ALL	5	zapalenie płuc
7	33	B.Ś.	NHL	63	typhlitis
8	21	Ł.Ł.	NHL	42	zapalenie jamy ustnej
9	18	W.L.	AML	37	zapalenie tkanek miękkich twarzy i komórek sitowia

Tab.6. Incydenty neutropenii, w których u pacjentów stwierdzono miejscowe powikłanie infekcyjne, ale maksymalne stężenie PCT było wyższe niż 0,5 ng/ml

W 4 epizodach (17,39 %) stężenie PCT było wyższe niż 1,0 ng/ml, a w 2 przypadkach (8,7%) przekroczyło wartość 2,0 ng/ml (rys. 19.)



Rys. 19. Stężenia prokalcytoniny > 0,5 ng/ml w zakażeniach miejscowych: NER – w obrębie dróg moczowych, ODD- dróg oddechowych, PPOK – przewodu pokarmowego, TK M.- tkanek miękkich

W zakażeniach obejmujących układ moczowy maksymalne stężenia PCT były nieznacznie podwyższone 0,58 – 0,96 ng/ml (rys.19.). Patogenami odpowiedzialnymi za toczący się proces były kolejno:

- *Escherichia coli*
- *Enterobacter cloacae ESβL (+)*
- prawdopodobne zakażenie grzybicze (badania obrazowe)
- *Enterococcus faecium*

Nieco wyższe wartości prokalcytoniny 0,97 i 1,18 ng/ml stwierdzono u chorych, u których proces toczył się w obrębie dolnych dróg oddechowych (rys.19.), a na podstawie symptomatologii klinicznej uznano, iż w obu przypadkach czynnikiem etiologicznym jest patogen grzybiczy.

W dwóch incydentach proces toczył się w obrębie przewodu pokarmowego. W pierwszym u dziecka rozpoznano *typhlitis* i maksymalne stężenie peptydu osiągnęło poziom 1,54 ng/ml, natomiast w drugim stwierdzono bardzo nasilone zmiany zapalne w obrębie jamy ustnej – 4 stopień w skali toksyczności WHO, a poziom PCT wzrósł do 2,55 ng/ml.

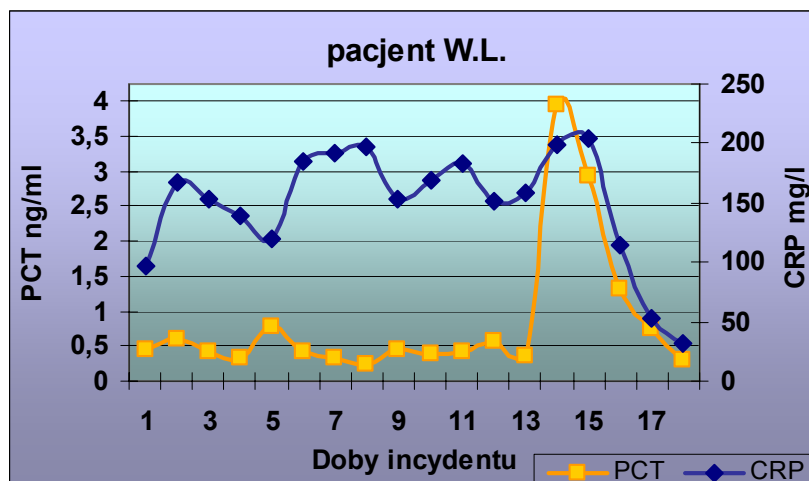
Jednak najwyższe stężenie prokalcytoniny odnotowano u pacjenta (W.L.), u którego proces zapalny obejmował tkanki miękkie. W pierwszej dobie incydentu wystąpiła jednodniowa gorączka, chory zgłaszał silne dolegliwości bólowe ze strony kończyn dolnych i wymagał stałej podaży leków przeciwbólowych.

W badaniu fizykalnym nie ustalono źródła potencjalnej infekcji, a badania mikrobiologiczne krwi były ujemne, zaś w posiewie moczu stwierdzono obecność patogenu *Enterococcus faecalis* 10³, *Candida glabrata* 10³. Początkowe stężenie CRP – 97,45 mg/l, które w następnej dobie wzrosło do 167,06 mg/l (rys.20.) potwierdzało obecność procesu zapalnego. Pacjent

otrzymywał szerokospektralną antybiotykoterapię i obserwowano obniżanie się poziomu białka C-reaktywnego.

W 9 dobie obserwacji wystąpił u dziecka bardzo silny ból zęba w szczęcie górnej po stronie prawej, czemu towarzyszył ponowny wzrost poziomu CRP, a od 10 do 13 doby występowała gorączka do 38,2°C. W 12 dobie dokonano ekstrakcji zmienionego próchniczo zęba u chorego, ale 2 dni po zabiegu wystąpiło obustronne zaczerwienienie i obrzęk fałdu nosowo-policzkowego pacjenta, któremu towarzyszył stan podgorączkowy. Obraz ultrasonograficzny zmienionej okolicy wskazywał na obecność nacieku zapalnego tkanek miękkich, bez zmian ogniskowych. Diagnostykę obrazową poszerzono o badanie TK głowy, w którym uwidoczniono całkowite zacinienie zatoki sitowej lewej, szczękowej oraz częściowe czołowej. Mikrobiologicznie nie udało się ustalić czynnika etiologicznego, posiewy krwi były ujemne. Ze względu na towarzyszącą trombocytopenię nie pobrano inwazyjnie materiału biologicznego z okolic objętych procesem zapalnym.

W dniu największego nasilenia patologicznych objawów klinicznych u chorego stwierdzono najwyższy poziom stężenia prokalcytoniny, a w następną dobę najwyższe stężenie CRP (rys.20). Po modyfikacji antybiotykoterapii uzyskano stopniową poprawę kliniczną chorego.



Rys. 20. Stężenia PCT i CRP w kolejnych dobach obserwacji u dziecka (W.L.) z zakażeniem w obrębie tkanek miękkich

5.3.2. BAKTERIEMIE, POSOCZNICE

W trakcie incydentów neutropenii powikłanej gorączką rozpoznano 16 incydentów bakteriemii w tym 15 posocznic u 14 chorych.

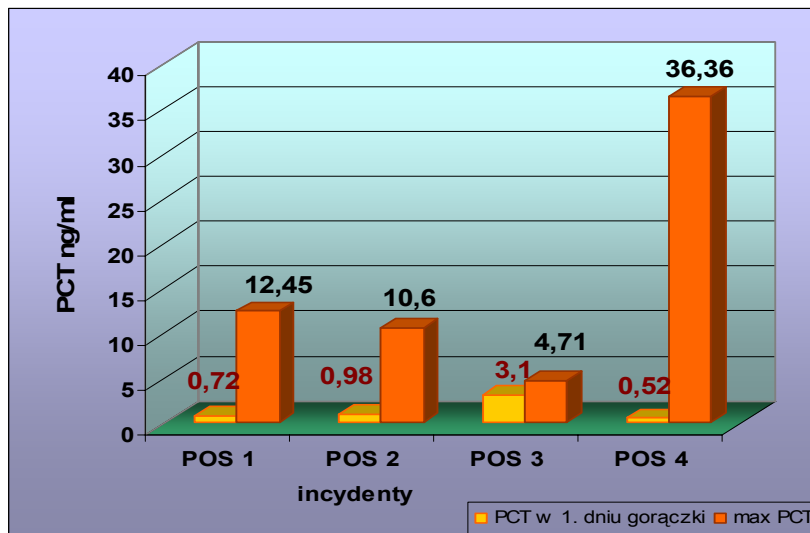
5.3.2.1. POSOCZNICE NIEPOTWIERDZONE MIKROBIOLOGICZNIE

W 4 przypadkach posocznicę rozpoznano na podstawie symptomatologii klinicznej bez potwierdzenia mikrobiologicznego bakteriemii – posiewy krwi pobranej z cewnika centralnego ujemne, posiewy krwi pobrane z żyły (wykonane w dwóch przypadkach), również ujemne (tab. 7).

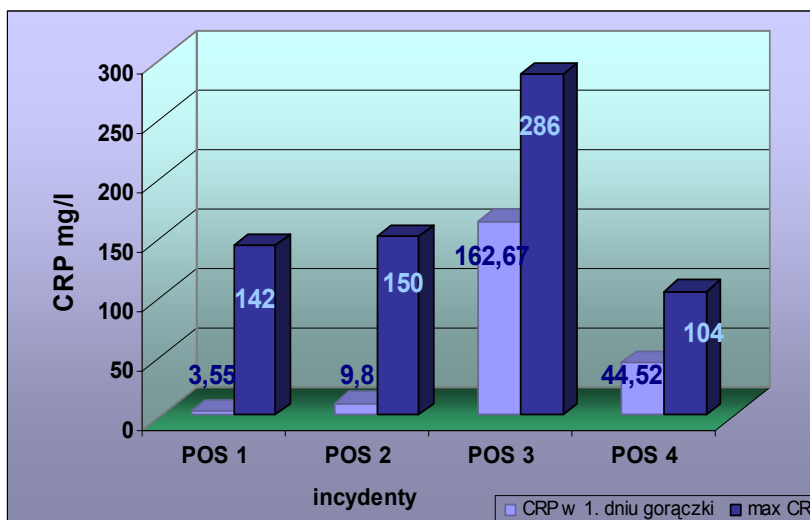
I.p.	nr pacjenta	I.D.	choroba podstawowa	nr incydentu neutropenii	powikłanie neutropenii
1	3	A.B.	ALL	8	POS 1
2	4	W.B.	NHL	9	POS 2
3	21	Ł.Ł.	NHL	43	POS 3
4	35	J.Z.	AML	65	POS 4

Tab.7. Pacjenci, u których rozpoznano na podstawie kryteriów klinicznych posocznicę (POS), bez potwierdzenia mikrobiologicznego

Wartości stężeń prokalcytoniny i CRP w pierwszej dobie gorączki oraz ich maksymalne stężenia w trakcie opisywanych epizodów przedstawiają wykresy na rys 21. i 22. **We wszystkich incydentach stężenie prokalcytoniny w pierwszym dniu gorączki było już powyżej wartości 0,5 ng/ml, najwyższe - 3,1 ng/ml było w POS 3.**



Rys.21. Stężenia PCT w 1. dniu gorączki oraz maksymalne w trakcie klinicznie rozpoznanych czterech incydentów posocznicy (POS 1, POS,2 POS 3, POS 4)



Rys. 22. Stężenia CRP w 1. dniu gorączki oraz maksymalne w trakcie klinicznie rozpoznanych czterech incydentów posocznicy (POS 1, POS,2 POS 3, POS 4)

W kolejnych incydentach (POS 1 - 4) maksymalne stężenie PCT stwierdzono w: 9, 8, 4, 2 dobie gorączki, natomiast najwyższą koncentrację CRP odpowiednio w dobie: 8, 8, 4, 2.

W posocznicy (POS 4), w której stwierdzono najwyższe wartości maksymalnego stężenia prokalcytoniny – 36,36 ng/ml, oznaczony maksymalny poziom

CRP był najniższy z 4 incydentów – 104 mg/l, zaś klinicznie u chorego rozpoznano ciężką posocznicę.

W trakcie trzeciego epizodu (POS 3) w pierwszym dniu gorączki zarówno PCT jak i CRP były najwyższe z grupy – odpowiednio: 3,1 ng/ml i 162,67 mg/l. Również maksymalne stężenie CRP – 286,0 mg/l było najwyższe spośród czterech incydentów, ale maksymalna wartość PCT była najniższa – 4,71 ng/ml.

Symptomatologia kliniczna wskazywała, że prawdopodobne wrota zakażenia w incydentach 1. i 3. stanowił przewód pokarmowy, w 4. uszkodzone tkanki miękkie.

U chorego (A.B.) z POS1 występowały bardzo nasilone dolegliwości bólowe obejmujące jamę ustną i jamę brzuszną. Stwierdzono zwolnioną perystaltykę jelit oraz uszkodzenie śluzówek jamy ustnej III stopnia w skali WHO. Na przeglądowym zdjęciu rentgenowskim jamy brzusznej widoczne były cechy rozdęcia pętli jelitowych gazami, bez perforacji przewodu pokarmowego. Obraz ultrasonograficzny jamy brzusznej przemawiał za rozpoznaniem wstępnej fazy *typhlitis*. W posiewie kału stwierdzono jedynie obecność fizjologicznej mikroflory jelitowej.

W trzecim przypadku (POS 3) u pacjenta (Ł.Ł.) stwierdzono uszkodzenie śluzówek jamy ustnej IV stopnia oraz rozległą nadżerkę okolicy odbytu. Z kału chorego wyhodowano dwukrotnie *Enterococcus faecium* VRE(+).

U chorego J.Z. (POS 4) z ciężką posocznicą pierwotne ognisko infekcyjne zlokalizowane było najprawdopodobniej w obrębie tkanek miękkich, bowiem w badaniu fizykalnym stwierdzono zanokcicę lewego palucha.

Chory (W.B.), u którego rozpoznano POS 2 w momencie włączenia do badania był w 8 dobie neutropenii (NEUT < 0,5 G/l). Otrzymywał on leczenie przeciwwirusowe od 7 dni z powodu wcześniej wykrytej u niego obecność wczesnego antygeny cytomegalii. W pierwszej dobie dwutygodniowej obserwacji odnotowano wzrost temperatury ciała, z dreszczami, pogorszenie stanu ogólnego chorego, ze zwiększoną sennością. Nie udało się ustalić źródła infekcji. Włączono szerokospektralną antybiotykoterapię (imipenem z wankomycyną) uzyskując krótkotrwałą (4 dniową) poprawę stanu klinicznego dziecka. Jednakże stan ogólny pacjenta ponownie pogarszał się w czasie dalszej obserwacji. Najcięższy stan kliniczny chorego był w 8 dobie opisywanego epizodu, a 16 dobie trwania neutropenii < 0,5 G/l. Chłopiec zgłaszał bardzo nasilone dolegliwości bólowe ze strony jamy brzusznej wymagające podaży analgetyków opioidowych. U chorego wystąpiły uogólnione obrzęki tkanek miękkich szczególnie nasilone w okolicy powiek.

W badaniach dodatkowych stwierdzono znacznie zwiększoną aktywność diastaz zarówno w surowicy, jak i w moczu oraz towarzyszącą hipoalbuminię. Obraz ultrasonograficzny jamy brzusznej przedstawiał zmiany morfologiczne charakterystyczne dla ostrego zapalenia trzustki oraz obecność ropnia w nerce lewej. W 5 dobie założono sondę dożołądkową, którą usunięto po 4 kolejnych dobach. Chory wymagał włączenia pełnego żywienia pozajelitowego.

W 8 dobie dokonano modyfikacji leczenia przeciwgrzybicznego, które stosowano od 2 doby – zmieniono vorikonazol na liposomalną postać amfoterycyny B.

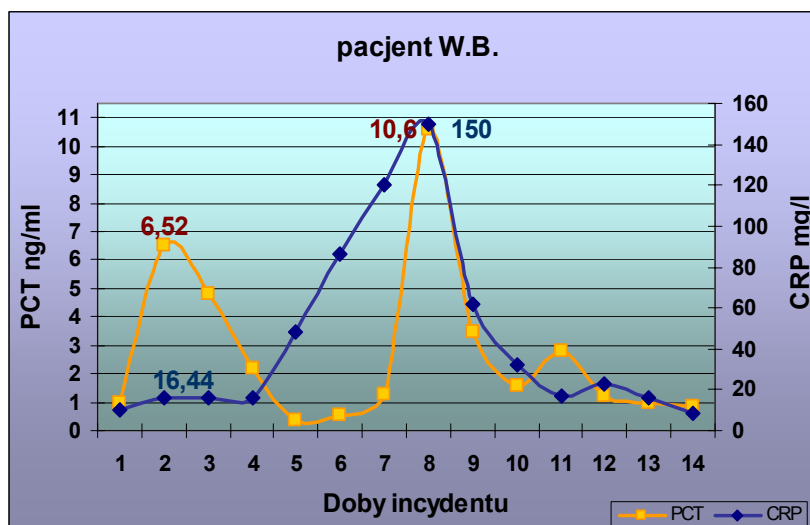
Od 9 doby stan dziecka stopniowo ulegał poprawie, w 10 dobie ustąpiła gorączka.

Mikrobiologicznie nie udało się zidentyfikować patogenu mimo wykonanych posiewów krwi z żyły, cewnika centralnego, moczu, kału oraz testu w kierunku krążących antygenów grzybiczych.

Na podstawie całości obrazu klinicznego u chorego, przebiegu incydentu neutropenii rozpoznano u niego posocznicę, której etiologia mogła być

mieszana: bakteryjno-grzybicza, o czym świadczy odpowiedź na zastosowane łącznie leczenie przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze.

Już w drugiej dobie incydentu odnotowano wzrost stężenia prokalcytoniny – 6,52 ng/ml, natomiast stężenie białka C-reaktywne było niskie – 16,44 mg/l. W okresie maksymalnego nasilenia objawów klinicznych zarówno wartości CRP i PCT były wysokie (rys.23).



Rys.23. Stężenia PCT i CRP w kolejnych dobach obserwacji u pacjenta W.B.

5.3.2.2. BAKTERIEMIE I POSOCZNICE POTWIERDZONE MIKROBIOLOGICZNIE

Z spośród wszystkich neutropenicznych incydentów powikłanych gorączką w 12 przypadkach (u 10 chorych) uzyskano pozytywny wynik posiewu krwi pobranej z żyły lub cewnika centralnego. U dwóch chorych odnotowano po dwa incydenty bakteriemii – u pacjenta A.N. incydent 2 i 10 i u dziecka A.B. – 5 i 12 (tab. 8).

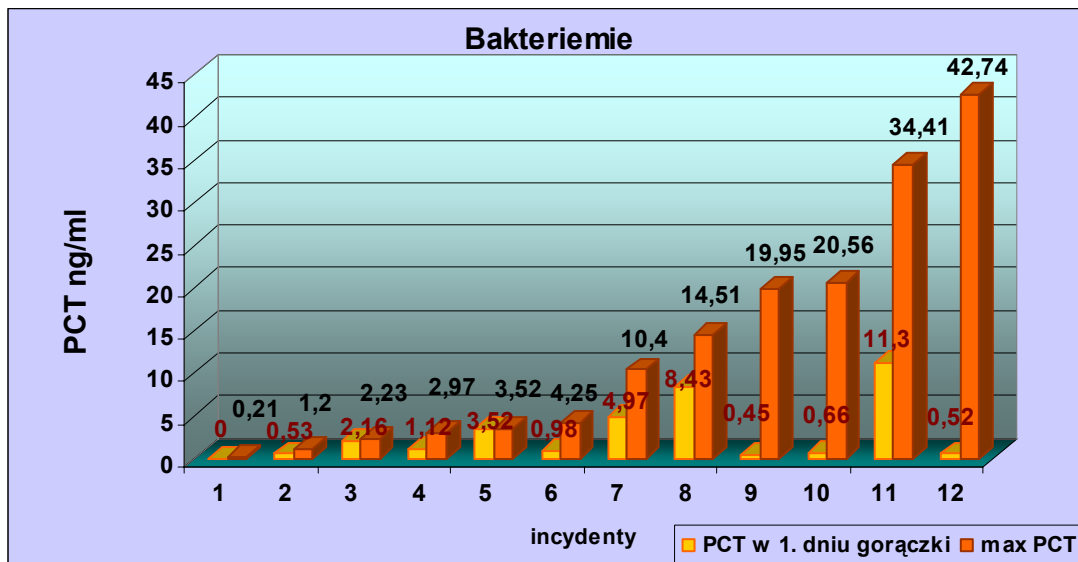
I.p. nr incydentu bakteriemii	nr pacjenta	I.D.	choroba podstawowa	nr incydentu neutropenii	powikłanie neutropenii
1	8	K.D.	AML	21	bakteriemia
2	26	A.N.	ALL	50	posocznica
3	16	M.K.	ALL	35	posocznica
4	22	A.Ł.	ALL	44	posocznica
5	5	A.B.	ALL	12	posocznica
6	32	R.S.	ALL	62	posocznica
7	14	T.K.	ALL	32	ciężka posocznica
8	9	B.DG.	ALL	23	ciężka posocznica
9	10	K.D.	ALL	24	wstrząs septyczny
10	26	A.N.	ALL	50	wstrząs septyczny
11	12	P.G.	ALL/AML	30	wstrząs septyczny
12	5	A.B.	ALL	13	ciężka posocznica

Tab. 8. Pacjenci, u których w trakcie incydentów neutropenii uzyskano pozytywny wyniki posiewu krwi

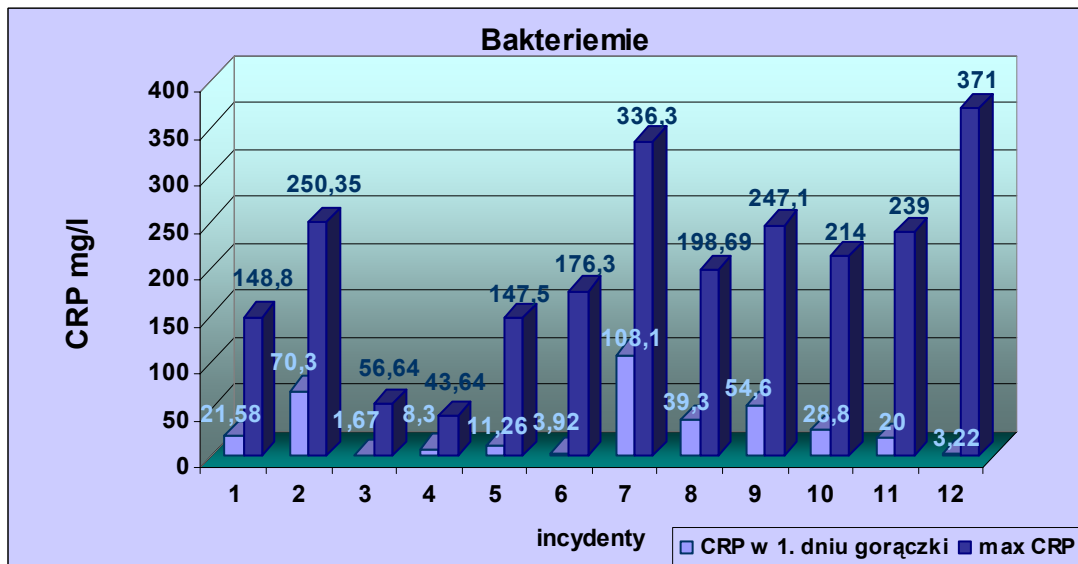
W pierwszej dobie gorączki mediana stężeń PCT wynosiła 1,05 ng/ml z zakresem 0 – 11,3 ng/ml, natomiast mediana maksymalnych stężeń PCT w trakcie bakteriemii wynosiła 7,325 ng/ml (zakres 0,21 – 42,74 ng/ml). Wartości w poszczególnych incydentach przedstawia rys. 24.

Dla CRP odpowiednio: w 1. dniu gorączki 20,79 mg/l (1,67 – 108,1 mg/l), mediana maksymalnych stężeń – 206,345 mg/l (43,64 – 371,0 mg/l). Wartości w poszczególnych incydentach przedstawia rys. 25.

Znaczenie stężenia prokalcytoniny w surowicy krwi we wczesnej diagnostyce i monitorowaniu odpowiedzi na leczenie powikłań infekcyjnych u pacjentów w neutropenii.



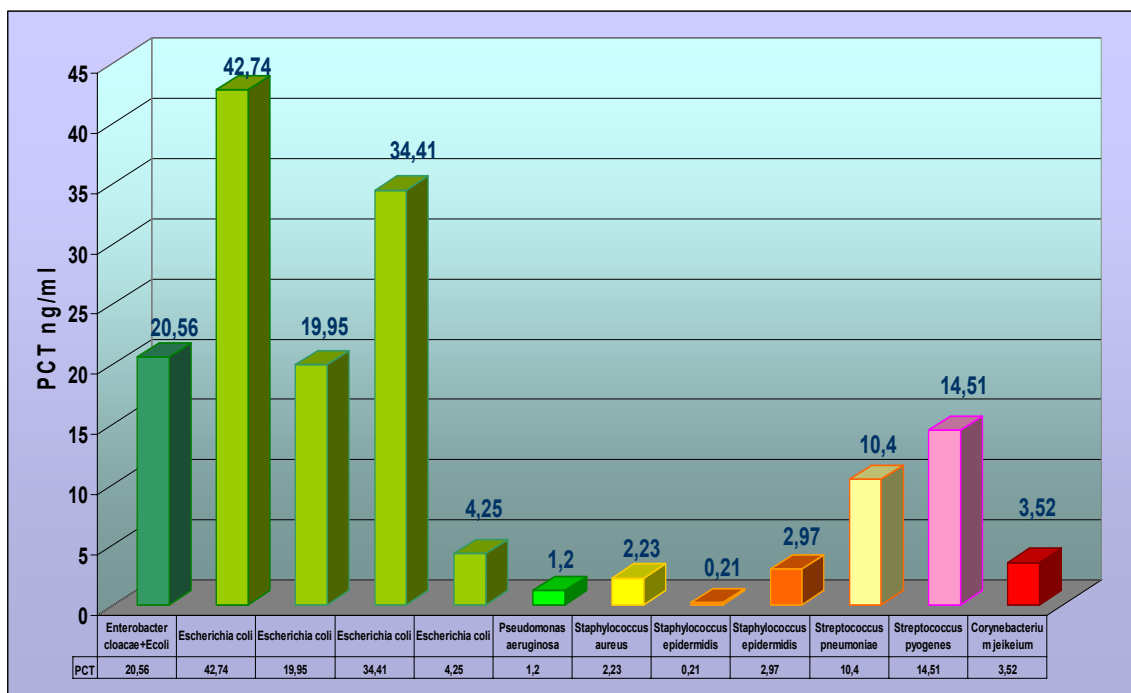
Rys. 24. Stężenia PCT w 1. dniu gorączki oraz maksymalne w trakcie 12 incydentów bakteriemii.



Rys. 25. Stężenia CRP w 1. dniu gorączki oraz maksymalne w trakcie 12 incydentów bakteriemii.

Maksymalne stężenia prokalcytoniny w zależności od etiologii bakteriemii przedstawia rys. 26. Połowa incydentów była wywołana przez bakterie Gram–ujemne, a połowa przez drobnoustroje Gram–dodatnie.

Wyższe stężenia prokalcytoniny odnotowano w trakcie incydentów wywołanych przez patogeny Gram–ujemne: mediana 20,255 ng/ml (1,2 – 42,74 ng/ml), niż w przypadku etiologii Gram–dodatniej: mediana 3,245 ng/ml (0,21 – 14,51 ng/ml).



Rys. 26. Stężenia PCT w bakteremiach z uwzględnieniem etiologii.

Spośród udokumentowanych mikrobiologicznie incydentów bakteriemii w 1 z 12 przypadków nie zostały spełnione kryteria kliniczne posocznicy, natomiast w 11/12 rozpoznano posocznicę w tym 3 incydenty ciężkiej posocznicy i 3 wstrząsy septyczne.

Bakteriemia, w której nie stwierdzono symptomatologii klinicznej posocznicy była wywołana przez ***Staphylococcus epidermidis***. Rozpoznano ją u dziecka K.D. będącego w remisji choroby podstawowej. Patogen wyhodowano z krwi pobranej w pierwszym dniu gorączki z żyły oraz z każdego wejścia cewnika centralnego. Pozytywny wynik uzyskiwano z materiałów pobieranych z obu wejść cewnika w kolejnych 4 dobach gorączki. Badania mikrobiologiczne moczu, wymazu z gardła oraz kału były negatywne. Przez pierwsze dni gorączce nie towarzyszyły inne objawy chorobowe, nie znajdowano przyczyny wzrostu temperatury ciała w badaniu fizykalnym. Włączono szerokospektralną antybiotykoterapię: amikacynę, piperacylinę z tazobaktamem oraz teikoplaniną. W 5 dobie obserwacji u chorego pojawił się suchy, męczący kaszel oraz cechy duszności manifestującej się przyspieszonym oddechem. Tomografia komputerowa klatki piersiowej ujawniła zmiany zapalne w obrębie miąższu płucnego. Ich morfologia sugerowała etiologię grzybiczą. Pobrane wówczas posiewy krwi z cewnika centralnego nie wykazały obecności patogenu odpowiedzialnego za stwierdzane zmiany zapalne. U chorego zastosowano wyprzedzające leczenie przeciwgrzybicze – liposomalną postać amfoterycyny B oraz zmodyfikowano antybiotykoterapię włączając leczenie teikoplaniną z meropenem. Dziecko odgorączkowało w 11 dobie leczenia i obserwowano stopniową regresję zmian płucnych potwierdzoną badaniami obrazowymi.

W opisanym okresie stężenie prokalcytoniny pozostawało poniżej progu 0,5 ng/ml – najwyższa wartość wynosiła 0,21 ng/ml. Stężenie białka C-reaktywnego od pierwszych dni gorączki narastało, osiągając swój najwyższy poziom w 6 dobie gorączki – 148,8 mg/l.

Początkowo za przyczynę gorączki uznano bakteriemię, której możliwymi wrotami zakażenia był cewnik centralny. Natomiast stwierdzone nieprawidłowości kliniczne w kolejnych dobach oraz ustąpienie gorączki dopiero po zastosowaniu terapii przeciwgrzybiczej wskazywały na prawdopodobną etiologię grzybiczą zakażenia.

5 incydentów **posocznicy** wywołanych było przez:

- *Corynebacterium jeikeium*
- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Pseudomonas aeruginosa*

Wszystkie patogeny wyhodowano z krwi pobranej przez cewnik centralny.

W posocznicy wywołanej przez *Pseudomonas aeruginosa* źródło i wrota zakażenia stanowiły drogi moczowe.

U chorego, u którego stwierdzono obecność *Staphylococcus aureus* we krwi prawdopodobne wrota zakażenia stanowiły uszkodzone tkanki miękkie. W okolicy prawego, tylnego, górnego kolca biodrowego powstał naciek zapalny, po wykonywanej kilka dni wcześniej biopsji aspiracyjnej szpiku kostnego. W ocenie mikrobiologicznej wymazu pobranego ze skóry ze zmienionej okolicy nie stwierdzono obecności patogenu.

Obecność *Staphylococcus epidermidis* stwierdzono trzykrotnie w posiewach krwi pobranej z obu wejść cewnika centralnego chorego. Dwa dni przed wystąpieniem gorączki z moczu tego dziecka wyhodowano *Acinetobacter baumannii* oraz *Candida glabrata* w mianie znamiennej. Jednak ponowne badania posiewów moczu w okresie gorączkowym były już ujemne, co przemawiało przeciw utrzymywaniu się zakażenia układu moczowego w analizowanym epizodzie neutropenii.

W trakcie posocznicy o etiologii *Corynebacterium jeikeium* nie ustalono innych wrót i źródeł zakażenia niż cewnik centralny.

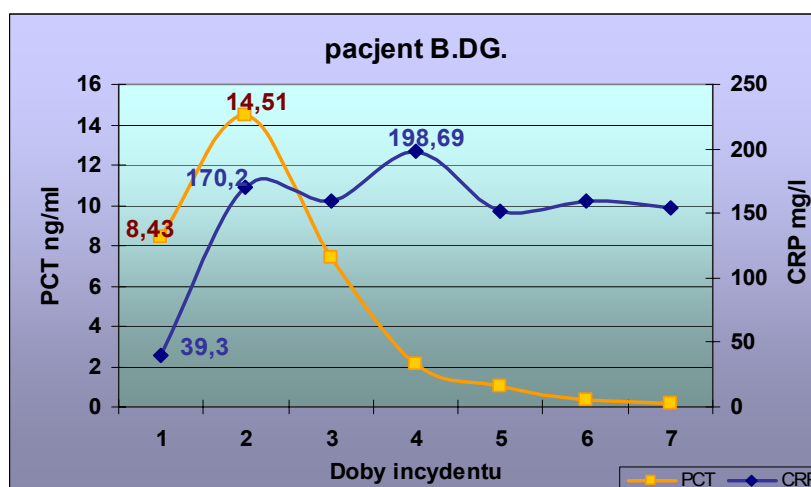
Zakres maksymalnych wartości stężeń PCT i CRP wynosiły w tych incydentach odpowiednio 1,2 – 4,25 ng/ml i 43,64 – 250,35 mg/l

W trzech przypadkach **ciężkich posocznic** czynnikami etiologicznymi były:

- *Streptococcus pyogenes*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Escherichia coli*

Ciężką posocznicę o etiologii ***Streptococcus pyogenes*** stwierdzono u dziecka (B.DG.) ze świeżo rozpoznaną ALL, będącego w neutropenii przed rozpoczęciem chemioterapii. W pierwszych dwóch dobach stan ogólny tego dziecka był bardzo ciężki. Stwierdzano septyczną gorączkę powyżej 39°C z towarzyszącymi dreszczami. U chorego występowały: zaburzenia świadomości, drgawki, tachykardia, tachypnoe, duszność, błądź powłok ciała, liczne wybroczyny na skórze oraz śluzówkach jamy ustnej, hepatosplenomegalia. Patogen wyhodowano zarówno z krwi pobranej z żyły jak i z moczu.

W pierwszej dobie gorączki stwierdzono podwyższone stężenie PCT i CRP rys.27, lecz ich najwyższe poziomy stwierdzono: w 2 dobie gorączki dla PCT (14,51 ng/ml) i w 4 dobie dla CRP (198,69 ng/ml). Po wdrożeniu antybiotykoterapii oraz terapii wspomagającej uzyskano poprawę kliniczną. Poziom prokalcytoniny uległ normalizacji w ostatniej, 6 dobie gorączki.



Rys. 27. Stężenia PCT i CRP w kolejnych dobach u dziecka (B. DG) z ciężką posocznicą o etiologii *Streptococcus pyogenes*

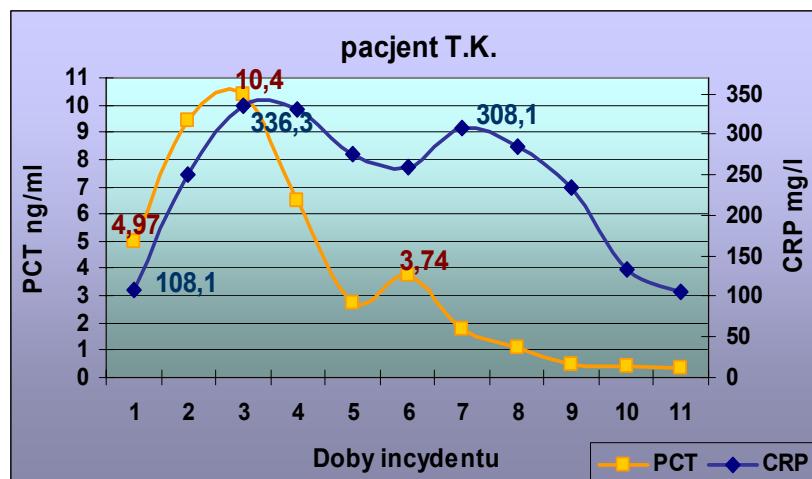
Patogen ***Streptococcus pneumoniae*** wywołał ciężką posocznicę u chorego (T.K.) będącego w trakcie leczenia podtrzymującego ALL. Dwa dni przed wystąpieniem gorączki poziom neutrocytów u chorego był niższy niż 0,5 G/l. Pacjent gorączkował septycznie z towarzyszącymi dreszczami przez okres 10 dni. Najwyższy skok gorączki do 40°C wystąpił w 3. dobie obserwacji, gdy stan ogólny dziecka był bardzo ciężki. Obserwowano cechy dysfunkcji układu oddechowego, chłopiec wymagał tlenoterapii. Pacjent był podsypiający, z utrudnionym kontaktem. Z powodu krwawienia z nosa założono mu tamponadę przednią nosa oraz ze względu na współistniejącą trombocytopenię przetaczano koncentrat krwinek płytkowych.

Stan pacjenta stopniowo poprawiał się w trakcie leczenia przeciwbakteryjnego meropenemem oraz teikoplaniną. Jednak w 5 dobie terapii stan kliniczny dziecka ponownie uległ pogorszeniu. W 6. dobie obserwacji, gdy wystąpiły bardzo nasilone zmiany osłuchowe nad płucami (rzężenia drobnobańkowe), w badaniu radiologicznym klatki piersiowej stwierdzono obustronne zmiany zapalne w płucach.

W posiewie krwi pobranej z żyły w drugiej dobie gorączki, wyhodowano patogen odpowiedzialny za uogólnione zakażenie u chorego tj. *Streptococcus pneumoniae*. Rozszerzono antybiotykoterapię o klindamycynę, którą po dwóch dobach zmieniono na netromycynę. Rozpoczęto też empiryczne leczenie przeciwgrzybicze. Zmiana leczenia spowodowała ponownie stopniowo postępującą poprawę w stanie klinicznym chorego.

W trakcie tego incydentu stężenie prokalcytoniny było podwyższone już w pierwszej dobie i wynosiło 4,97 ng/ml, natomiast maksymalne wartości osiągnęło w trzeciej dobie – 10,4 ng/ml, gdy stan ogólny pacjenta był najcięższy. W kolejnych dniach obniżało się, co odzwierciedlało poprawę kliniczną chorego. Jednak w następnej dobie po ponownym pogorszeniu się stanu ogólnego chorego odnotowano również wzrost stężenia PCT, które po modyfikacji terapii obniżało się i powróciło do normy w 9 dobie (rys. 28).

Zmiany w stanie ogólnym chorego (po wstępnej poprawie ponowne pogorszenie i gorączka oraz poprawa po modyfikacji terapii) znalazły odzwierciedlenie w monitorowanym stężeniu PCT. Wzrastało ono w czasie pogarszania się stanu klinicznego pacjenta, a następnie ulegało stopniowemu obniżaniu się w miarę stwierdzanej u chorego poprawy.



Rys. 28. Stężenia PCT i CRP w kolejnych dobach u dziecka (T.K.) z ciężką posocznicą o etiologii *Streptococcus pneumoniae*

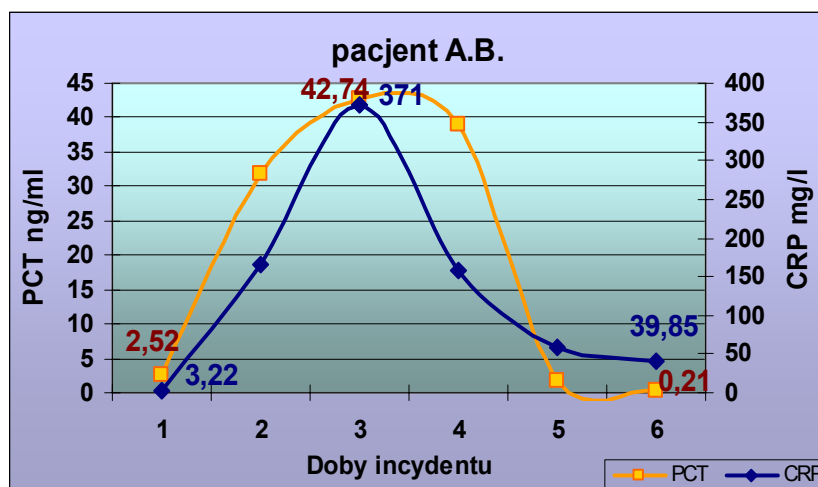
Stężenie CRP było również podwyższone już w pierwszej dobie, a swoje maksimum osiągnęło w trzeciej, tak jak prokalcytonina. Jednak odzwierciedlenie pogorszenia stanu chorego z 5. doby w stężeniu CRP nastąpiło dopiero po dwóch dobach, czyli dobę później w porównaniu z PCT (rys 28).

Incydent o etiologii *Escherichia coli* wywołał ciężką posocznicę u dziecka A.B. będącego w remisji ALL. Liczba neutrocytów u chorego była niższa niż 0,5 G/l od 7 dni, natomiast na trzy dni przed wystąpieniem gorączki ich liczba była poniżej 0,1 G/l. Dziecko gorączkowało septycznie do 39,5°C z towarzyszącymi dreszczami przez dwie doby. Pacjent był bardzo senny, obserwowano u niego tachykardię, *tachypnoe*, uszkodzenie śluzówek jamy ustnej II stopnia wg skali toksyczności WHO. W badaniu fizykalnym nie udało się zlokalizować źródła infekcji. Z powodu głębokiej trombocytopenii konieczne było przetoczenie

koncentratu krwinek płytkowych. Najcięższy stan ogólny u chorego obserwowano w drugiej i trzeciej dobie incydentu, a następnie stopniowo ulegał on poprawie.

Z krwi pobranej w pierwszej dobie gorączki, z obu wejść cewnika centralnego wyhodowano patogen *Escherichia coli*. Początkowo stosowano piperacylinę z tazobaktamem, a następnie w drugiej dobie terapię rozszerzono o netylmycynę. Kierując się bardzo ciężkim stanem ogólnym pacjenta oraz bardzo wysokim wzrostem stężenie CRP w trakcie obserwacji, dokonano zmiany w antybiotykoterapii włączając do leczenia meropenem z teikoplaniną oraz rozpoczęto podaż leków przeciwgrzybiczych – worikonazol.

W pierwszej dobie gorączki stężenie prokalcytoniny było podwyższone 2,52 ng/ml przy niskim stężeniu CRP – 3,22 mg/l rys.29. Natomiast oba parametry osiągnęły swoje maksymalne stężenia w trzeciej dobie i następnie ich stężenia szybko obniżały się, co odzwierciedlało poprawę stanu klinicznego chorego. W 6 dobie PCT obniżyło się poniżej 0,5 ng/ml.



Rys. 29. Stężenia PCT i CRP w kolejnych dobach u dziecka (A.B.) z ciężką posocznicą o etiologii *Escherichia coli*.

Wszystkie trzy incydenty **wstrząsu septycznego** były wywołane przez bakterie Gram-ujemne:

- *Escherichia coli* - dwukrotnie
- *Enterobacter cloacae* + *Escherichia coli* u jednego chorego zakażenie mieszane

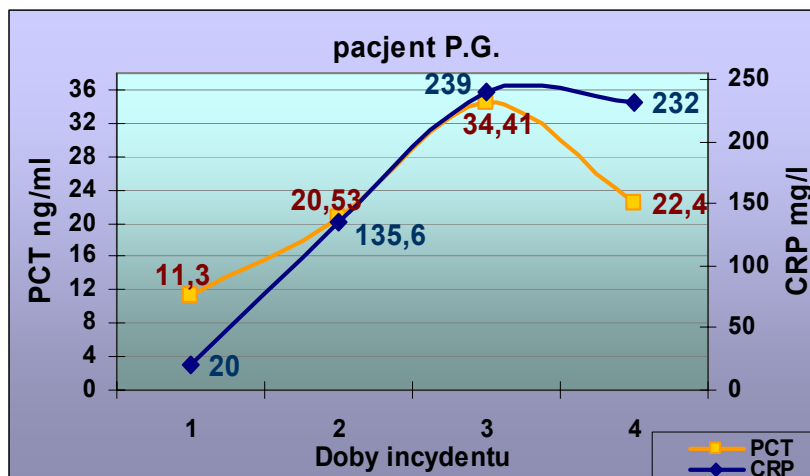
Jeden z epizodów o etiologii ***Escherichia coli*** wystąpił u chorego (P.G.), będącego w progresji choroby podstawowej: ostrej białaczki bifenotypowej ALL/AML. Przed gorączką pacjent będący w dość dobrym stanie ogólnym, był przez sześć dni w neutropenii z liczbą granulocytów obojętnochłonnych we krwi obwodowej poniżej 0,5 G/l, a dwa dni przed wzrostem temperatury ciała ich liczba spadła poniżej 0,1 G/l.

W momencie wystąpienia wysokiej gorączki - wzrost temp do 40,1°C z towarzyszącymi dreszczami, stan ogólny pacjenta określono jako bardzo ciężki. Chłopiec był naprzemiennie bardzo senny, a momentami niespokojny i pobudzony. Zgłaszał nudności oraz wymiotował. U dziecka występowała bledność powłok ciała oraz obecne były liczne wybroczyny. Stwierdzono ochłodzenie dystalnych części ciała pacjenta, tachykardię, przyspieszony oddech z towarzyszącą dusznością, a także hipotonię, brak perystaltyki jelit, narastającą splenomegalię i oligurię. W wykonanych badaniach dodatkowych stwierdzono podwyższony poziom kwasu mlekowego, zaburzenia w układzie krzepnięcia (wzrost D-dimerów, obniżenie INR) i hipoalbuminemię. Obraz ultrasonograficznym jamy brzusznej przedstawiał cechy niedrożności porażennej jelit, cechy bezkamiczego zaplenia pęcherzyka żółciowego. W celu zapewnienia normotonii oprócz właściwej podaży płynów włączono aminy presyjne. Ze względu na niestabilny stan chorego w trzeciej dobie przeniesiono go na OIOM. W kolejnych dobach leczenia stan chorego stopniowo poprawiał się i powikłanie infekcyjne zakończył się pomyślnie dla pacjenta.

W pobranej krwi z obu wejść cewnika centralnego oraz z moczu wyhodowano Gram-ujemny patogen: *Escherichia coli*. W wymazie z gardła stwierdzono obecność *Klebsielli pneumoniae ESβL(+)*.

Już w pierwszej dobie stężenie PCT było bardzo wysokie – 11,3 ng/ml, natomiast wartości CRP pozostawały stosunkowo niskie – 20 mg/l. W dniu przekazania dziecka na OIOM stężenie prokalcytoniny osiągnęło wartość maksymalną – 34,4 ng/ml, a w następnej dobie zaczęło się obniżać rys.30.

Brak materiału z kolejnych dni uniemożliwił dalsze monitorowanie tych parametrów.



Rys. 30. Stężenia CRP i PCT w kolejnych dobach u pacjenta P.G. z rozpoznaniem wstrząsem septycznym o etiologii *Escherichia coli*

Drugi wstrząs septyczny o tej etiologii *Escherichia coli* wystąpił u pacjenta (K.D.) będącego w remisji choroby podstawowej ALL, u którego neutropenia poniżej 0,5 G/l trwała od 25 dni przed gorączką, a od 4 dni było ich mniej niż 0,1 G/l.

W czwartej dobie obserwacji wystąpiła gorączka 38,6°C z objawami uogólnionej reakcji zapalnej, dziecko było rozdrażnione. W badaniu fizykalnym nie udało się ustalić źródła infekcji. Utrzymano osłonową antybiotykoterapię imipenemem rozpoczętą w dobie poprzedzającej gorączkę. Z moczu jak i z krwi pobranej

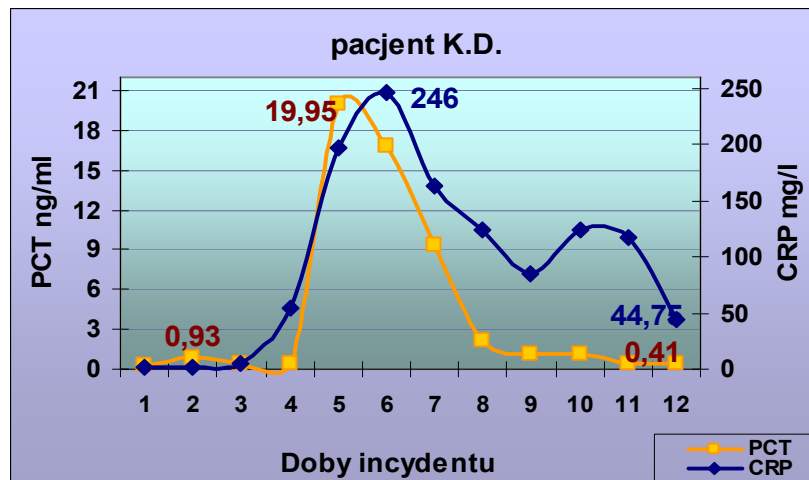
z obu wejść cewnika centralnego wyizolowano patogen, który uznano za czynnik etiologiczny.

W kolejnej dobie stan pacjenta stał się niestabilny, nasiliły się zmiany w stanie psychicznym, stwierdzano błądność powłok skórnych, ochłodzenie dystalnych części ciała, hipotensję, oligurię. Dziecko zgłaszało silne dolegliwości bólowe ze strony jamy brzusznej, wymiotowało fusowatą treścią. W badaniach dodatkowych poza podwyższonymi parametrami stanu zapalnego, występowały: zaburzenia w układzie krzepnięcia, hipoalbuminemia, istotnie podwyższone stężenie kwasu mlekowego. Badania obrazowe – TK klatki piersiowej oraz USG jamy brzusznej wykazały obecność płynu w jamach opłucnowych oraz w jamie otrzewnowej oraz bezkamicze zapalenie pęcherzyka żółciowego.

Pacjent wymagał stosowania intensywnej terapii, podaży leków wazopresyjnych, preparatów krwiopochodnych, immunoterapii. Rozszerzono leczenie przeciwbakteryjne o preparat linkomycyny. Po przetoczeniu w 3 dobie gorączki koncentratu granulocytarnego wyseparowanego od ojca dziecka już w następnym dniu nie stwierdzano gorączki, a stan chorego szybko ulegał poprawie. W 10 dobie wystąpił jednodniowy wzrost temperatury ciała, bez dodatkowych objawów, czemu towarzyszyło podwyższenie stężenia białka C-reaktywnego. Posiewy krwi, moczu, wymaz patogenu nie wykazały obecności patogenów. Empirycznie rozszerzono dotychczasową terapię o metronidazol, acyklowir oraz zmieniono stosowaną od początku klasyczną postać amfoterycyny B na postać liposomalną. Stan chorego poprawiał się.

Stężenie prokalcytoniny na dwa dni przed wzrostem temperatury ciała przekroczyło wartość 0,5 ng/ml i wynosiło 0,93 ng/ml, w dniu gorączki pozostawało ono poniżej tego progu, a CRP wykazywało wówczas tendencję wzrostową (rys. 31). **Natomiast po upływie 24 godzin wartość stężenia PCT była istotnie wysoka – 19,95 ng/ml – maksymalna w trakcie całego epizodu. Białko C-reaktywne osiągnęło najwyższą koncentrację dobie później, gdy poziom prokalcytoniny zaczynał się już obniżać.**

W dniu ponownego wzrostu temperatury ciała stężenie CRP ponownie wzrosło, a PCT było na poziomie z poprzedniej doby rys. 31.



Rys. 31. Stężenia CRP i PCT w kolejnych dobach u pacjenta K.D. z rozpoznanym wstrząsem septycznym o etiologii *Escherichia coli*

Wstrząs septyczny o etiologii mieszanej *Enterobacter cloacae* + *Escherichia coli* rozwinął się u chorego A.N. będące w progresji choroby podstawowej – ALL, u którego neutropenia (< 0,5 G/l) występowała od 11 dni przed wystąpieniem gorączki, a od 4 dni liczba granulocytów obojętnochłonnych była niższa niż 0,1 G/l. Przez cały analizowany epizod liczba neutrocytów nie wzrosła powyżej 0,5 G/l. Przed wystąpieniem gorączki stan ogólny pacjenta oceniony był jako średni.

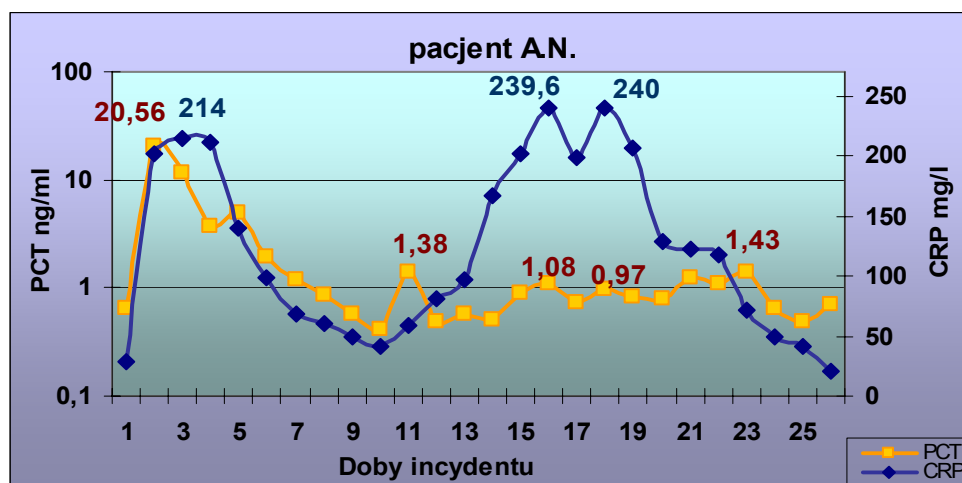
W dniu wzrostu temperatury ciała do 38,9°C stan ogólny chorego nagle, dramatycznie się pogorszył, pojawiły się cechy uogólnionej reakcji zapalnej z dysfunkcją ze strony układu krążenia, bowiem mimo właściwej podaży płynów konieczne było zastosowanie amin presyjnych w celu utrzymania prawidłowego ciśnienia tętniczego krwi. U dziecka wystąpiły nagle zaburzenia świadomości. Pacjent wykazywał nadmierną senność, był z nim utrudniony kontakt. U chorego stwierdzono oligurię, podwyższoną aktywność transaminazy alaninowej.

Rozpoczęto terapię przeciwbakteryjną z teikoplaniną i imipenemem oraz zastosowano immunoterapię uzyskując poprawę stanu ogólnego chorego.

W trzeciej, ostatniej dobie gorączki stan pacjenta ustabilizował się, nie wymagał już podaży amin presyjnych, dziecko było zdecydowanie mniej senne, miało prawidłową diurezę. W kolejnych dobach obserwowano stopniową dalszą poprawę stanu klinicznego.

Patogenne drobnoustroje wyhodowano z krwi pobranej z żyły oraz z materiału pobranego z obu wejść cewnika centralnego w pierwszej dobie gorączki. Dwa dni przed tym incydentem w wymazie z odbytu oraz spod napletka wykryto obecność szczepów *Enterobacter cloacae* ESβL (+).

W pierwszym dniu gorączki zarówno stężenia CRP jak i PCT były nieznacznie podwyższone, ale już w drugiej dobie stwierdzono maksymalne stężenie prokalcytoniny – 20,56 ng/ml wskazujące na ciężką posocznicę. Maksymalne stężenie CRP – 214 mg/l wystąpiło w kolejnej dobie. W trakcie trwania terapii obserwowano stopniowe obniżanie stężeń obu parametrów rys 32.



Rys. 32. Stężenia CRP i PCT w kolejnych dobach u pacjenta A.N. z rozpoznaniem wstrząsem septycznym o etiologii *Enterobacter cloacae* + *Escherichia coli*

W jedenastej dobie od wystąpienia pierwszej zwyżki ciepłoty ciała chory ponownie zagorączkował do 39°C i gorączka była obecna przez kolejne 11 dni obserwacji. Początkowo stan ogólny chorego był średnio-ciężki, dziecko miało męczący, suchy kaszel, który pojawił się w przeddzień wzrostu temperatury ciała.

Podjęto wówczas decyzję o rozszerzeniu kontynuowanej antybiotykoterapii o klarytromycynę. W drugiej dobie ponownej gorączki (12 doba obserwacji), w badaniu rentgenowskim klatki piersiowej stwierdzono nacieki zapalne w prawym płucu, a badaniem TK wykryto mnogie zmiany zapalne w mięszu płucnym, które sugerowały etiologię grzybiczą. Dodatkowo badanie ultrasonograficzne ujawniło zmiany w obu nerkach, których obraz sugerował również etiologię grzybiczą. Dwa dni później w badaniu fizykalnym stwierdzono bardzo liczne rzężenia drobnobańkowe nad płucami – głównie po stronie prawej. Badania mikrobiologiczne posiewów krwi, moczu, wymazów z odbytu nadal pozostawały negatywne.

Pacjent otrzymywał leczenie przeciwgrzybicze (flucytozyna z flukonazolem) od 7 dni przed ponowną gorączką, ale w dniu stwierdzonych zmian w badaniach obrazowych zmodyfikowano je – włączono terapię liposomalną postacią amfoterycyny B w połączeniu z flucytozyną. Od 15 doby całego epizodu stan kliniczny chorego bardzo się pogarszał i w 17 oraz 18 dniu konieczna była podaż amin presyjnych i tlenu. Wystąpiły cechy dysfunkcji ośrodkowego układu nerwowego oraz zaburzenia funkcji nerek pod postacią oligurii, pojawiła się niedrożność porażenna jelit.

Ze względu na wyhodowanie patogenu *Stenotrophomonas maltophilia* z moczu pobranego w 15 dobie zmieniono dotychczasową antybiotykoterapię na amikacynę z ciprofloksacyną oraz metronidazolem.

Od 19 doby stan chorego ulegał powolnej poprawie, lecz w 21 dniu obserwowano jego pogorszenie objawiające się zaburzeniami ze strony układu oddechowego – spłycenie oddechu, konieczna była ponownie tlenoterapia. Wykonane zdjęcie rentgenowskie klatki piersiowej ujawniło progresję zmian zapalnych.

Empirycznie do leczenia włączono kotrimoksazol w dawce przewidzianej dla leczenia pneumocytozy oraz gancyklowir. W 19 i 22 dobie epizodu dziecku dwukrotnie przetoczono koncentrat granulocytarny wyseparowany od matki chorego.

Od 22 doby stan kliniczny pacjenta ulegał stopniowej poprawie, w 23 dniu przestał gorączkować.

Analizując przebieg drugiego okresu gorączkowego uznano, iż początkową przyczyną gorączki oraz pogarszającego się stanu ogólnego chorego było prawdopodobne, uogólnione zakażenie grzybicze. Czynnikiem sprawczym wstrząsu septycznego, który wystąpił w 17 dobie był prawdopodobnie patogen wyhodowany wcześniej z moczu - *Stenotrophomonas maltophilia*, gdyż po wdrożeniu antybiotykoterapii celowanej, bez zmiany leczenia przeciwgrzybiczego stan kliniczny dziecka poprawił się.

W trakcie ponownej gorączki trwającej 12 dni stężenie białka C-reaktywnego było wyższe niż w trakcie pierwszej gorączki. Zaczęło ono narastać od drugiej doby gorączki osiągając maksymalną wartość - 240 mg/l w 8 dobie ponownego wzrostu temperatury ciała, czyli w 18 dobie trwania incydentu, gdy stan ogólny pacjenta był bardzo ciężki (rys.32). W miarę uzyskiwanej poprawy klinicznej dziecka stężenie tego białka obniżało się, a w 21 i 22 dobie, kiedy stwierdzono u pacjenta pogorszenie wydolności oddechowej wartości CRP utrzymywały się na podobnym poziomie, a następnie szybko obniżały się.

Stężenia PCT w trakcie drugiej gorączki były znacznie niższe niż w okresie poprzedzającym. Wzrost jej stężenia wykryto już w pierwszej dobie gorączki (1,38 ng/ml), ale wartość prokalcytoniny nie wskazywała na uogólnione zakażenie o etiologii bakteryjnej. Nawet w dobie 17 i 18, gdy chory wymagał stosowania amin presyjnych stężenie tego peptydu było tylko nieznacznie wyższe niż 0,5 ng/ml (odpowiednio 0,97 i 0,82 ng/ml).

Gorączka w trakcie 16 epizodów zakwalifikowanych do grupy bakteriemii trwała od 1 do 13 dni (tab.9) mediana 5 dni.

Czas trwania gorączki (doby)	1	2	3	5	7	8	10	11	13
Liczba incydentów	1	1	3	4	3	1	1	1	1

Tab. 9. Czas trwania gorączki w grupie bakteriemii.

Najczęstsze dysfunkcje narządowe obserwowane w trakcie epizodów ciężkiej posocznicy lub wstrząsu septycznego dotyczyły zaburzeń stanu psychicznego u chorego. Wystąpiły one w trakcie wszystkich incydentów, objawiając się jako nagłe pogorszenie stanu świadomości z towarzyszącym niepokojem, lękiem oraz pojawieniem się patologicznej senności. Również u wszystkich chorych konieczna była interwencja w celu przywrócenia równowagi w układzie krzepnięcia – podaż koncentratu krwinek płytkowych, świeżo mrożonego osocza, substytucja AT III.

W 7 z 15 przypadków posocznic oznaczono prokalcytoniny dobę przed wystąpieniem gorączki. W dwóch z nich stężenie PCT było wyższe niż 0,5 ng/ml (0,94 i 1,98 ng/ml), a stężenie CRP > 10 mg/l również stwierdzono w dwóch incydentach: 16,02 i 16,9 mg/l.

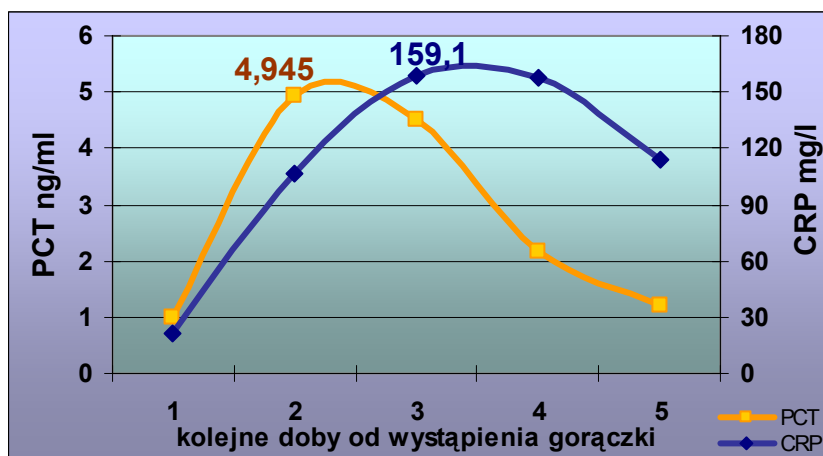
W pierwszej dobie gorączki w trakcie incydentów posocznicy tylko u jednego chorego poziom prokalcytoniny był niższy niż 0,5 ng/ml, a w 93,3% przypadków próg ten został przekroczony. W 33,33% to jest w 5 z 15 epizodów stężenia PCT były w przedziale 2 – 10 ng/ml.

Maksymalne stężenia prokalcytoniny w grupie 8 incydentów posocznicy (bez ciężkiej posocznicy i wstrząsu septycznego) były w zakresie 1,2 – 12,45 ng/ml, a białko C-reaktywne 43,64 – 336,3 mg/l.

We wszystkich 7 incydentach, w których rozpoznano ciężką posocnicę lub wstrząs septyczny maksymalne stężenia PCT były wyższe niż 10 ng/ml, a CRP wyższe niż 100 mg/l.

Maksymalne stężenia prokalcytoniny w poszczególnych incydentach obserwowano od 1 do 9 doby od pojawienia się gorączki, a CRP od 2 do 8 doby.

Mediany stężeń prokalcytoniny i białka C-reaktywnego w kolejnych 5 dobach od dnia wystąpienia gorączki w grupie bakteriemii i posocznicy przedstawia wykres na rys. 33. W drugiej dobie gorączki stwierdzono najwyższą medianę stężeń PCT, natomiast dla CRP była to doba trzecia.



Rys. 33. Mediany stężeń CRP i PCT w kolejnych dobach gorączki w trakcie incydentów bakteriemii i posocznicy.

Analizując średnie obu parametrów w poszczególnych dobach stwierdzono statystycznie istotne różnice między stężeniami w poszczególnych dobach.

5.4. STĘŻENIA PROKALCYTONINY A STAN OUN PACJENTA

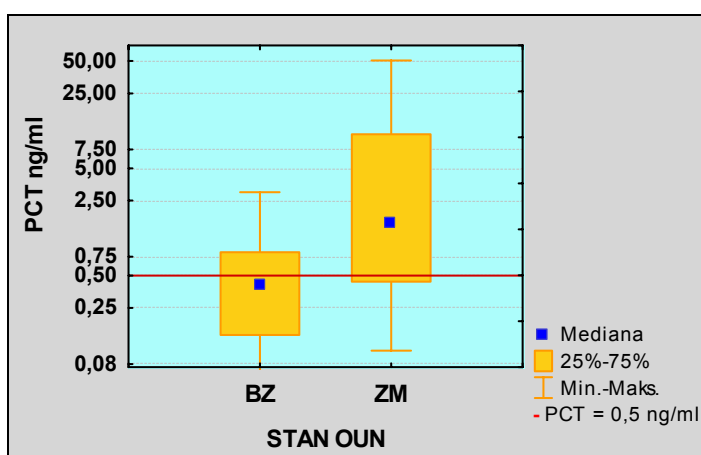
W trakcie 67 analizowanych incydentów neutropenicznych w 28 (41,8%) nie stwierdzono zaburzeń w funkcjonowaniu centralnego układu nerwowego, natomiast w pozostałej grupie 39 epizodów (58,2%) wystąpiły odchylenia od stanu prawidłowego funkcjonowania OUN od 1 do 4 stopnia wg skali WHO. Występujące zaburzenia zakwalifikowano powyżej 1 stopnia w 38,8% (26/67) incydentów neutropenii tab. 10.

Stopień zmian w funkcjonowaniu OUN	0	1	2	3	4	SUMA
Liczba incydentów neutropenicznych	28	13	11	14	1	67
Odsetek incydentów neutropenicznych (%)	41,8	19,4	16,4	20,9	1,5	100

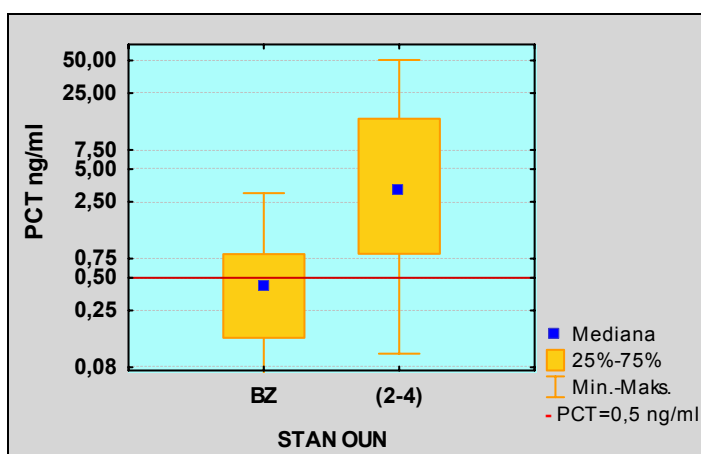
Tab. 10. Stopnie zaburzeń funkcjonowania OUN w trakcie 67 incydentów neutropenii.

Porównując stężenia prokalcytoniny w trakcie poszczególnych incydentów w zależności od stanu ośrodkowego układu nerwowego stwierdzono, iż mediana stężeń w grupie, w której u chorych nie stwierdzono zaburzeń ze strony OUN wynosiła – 0,415 ng/ml, z zakresem 0 – 3,0 ng/ml. **W grupie incydentów ze stwierdzonymi u chorych zaburzeniami funkcjonowania OUN w stopniu od 1 do 4 mediana stężeń była wyższa i wynosiła 1,54 ng/ml (zakres 0,1 – 50,53 ng/ml)** rys. 34, i różnica ta była istotna statystycznie ($p = 0,00032$).

Różnica była jeszcze większa przy porównaniu mediany stężeń PCT między grupą bez objawów zaburzeń ze strony OUN u pacjentów, a grupą, w której u dzieci stwierdzono takie zaburzenia w stopniu 2. lub wyższym skali WHO. Mediany i zakresy stężeń peptydu wynosiły odpowiednio: 0,415 ng/ml (0 – 3,0 ng/ml) vs 3,245 ng/ml (0,1-50,53 ng/ml) rys.35, ($p = 0,000049$).



Rys.34. Maksymalne stężenia PCT w grupie bez zaburzeń w funkcjonowaniu OUN chorych (BZ) i grupie, w której stwierdzono takie zaburzenia (ZM).



Rys.35. Maksymalne stężenia PCT w grupie chorych bez zaburzeń w funkcjonowaniu OUN chorych (BZ) i w grupie, w której stwierdzono takie zaburzenia w stopniu 2 – 4 wg skali WHO (2-4).

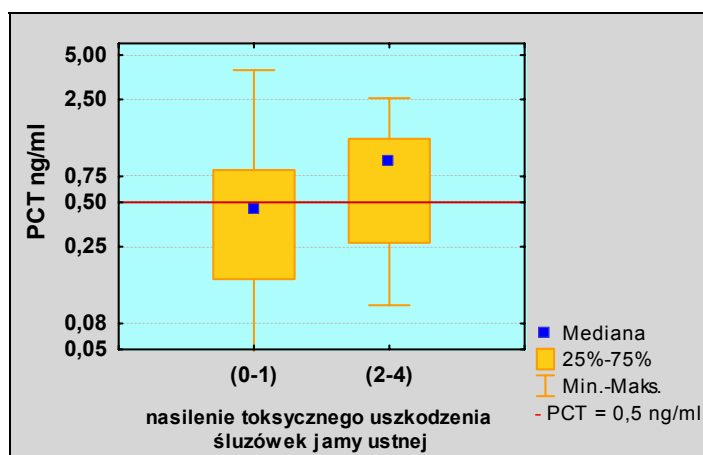
5.5. STĘŻENIE PROKALCYTONINY A STOPIEŃ USZKODZENIA ŚLIZÓWEK JAMY USTNEJ CHOREGO

Stopień nasilenia zmian zapalnych w jamie ustnej wg skali WHO z oceną stężenia prokalcytoniny przeanalizowano w trakcie 51 incydentów neutropenii u 34 dzieci. W 62,8 % (32 przypadki) analizowanych epizodów nie stwierdzono uszkodzenia śluzówek, natomiast zmiany od 1 do 4 stopnia były obecne w 19 przypadkach tj. w 37,2%. Częstość występowania i nasilenie uszkodzenia błony śluzowej jamy ustnej przedstawia tab.11.

Stopień uszkodzenia śluzówek jamy ustnej	0	1	2	3	4	SUMA
Liczba incydentów neutropenicznych	32	7	6	4	2	51
Odsetek incydentów neutropenicznych (%)	62,8	13,7	11,8	7,8	3,9	100

Tab. 11. Stopnie uszkodzenia śluzówek jamy ustnej w trakcie 51 incydentów neutropenii.

Mediana maksymalnych stężeń prokalcytoniny w grupie 39 epizodów neutropenii, w trakcie których u chorych nie stwierdzano uszkodzeń śluzówek lub były one jedynie zaczerwienione (1 stopień skali wg WHO) wynosiła 0,465 ng/ml a zakres 0 – 3,95 ng/ml. **Wyższą medianę maksymalnych stężeń tego peptydu stwierdzono w grupie (12 incydentów neutropenii), w której nasilenie zmian w obrębie błony śluzowej jamy ustnej pacjentów zakwalifikowano co najmniej jako 2 stopień skali toksyczności.** Wynosiła ona 0,955 ng/ml, a zakres 0,1 – 2,55 ng/ml, rys. 36. Natomiast różnica ta nie była istotna statystycznie ($p = 0,356$)



Rys. 36. Porównanie maksymalnych stężeń prokalcytoniny w grupie, w której uszkodzenie śluzówek jamy ustnej chorego zakwalifikowano wg skali WHO jako stopień 0 lub 1 (0-1), z grupą, w której zmiany oceniono jako ≥ 2 stopień (2-4).

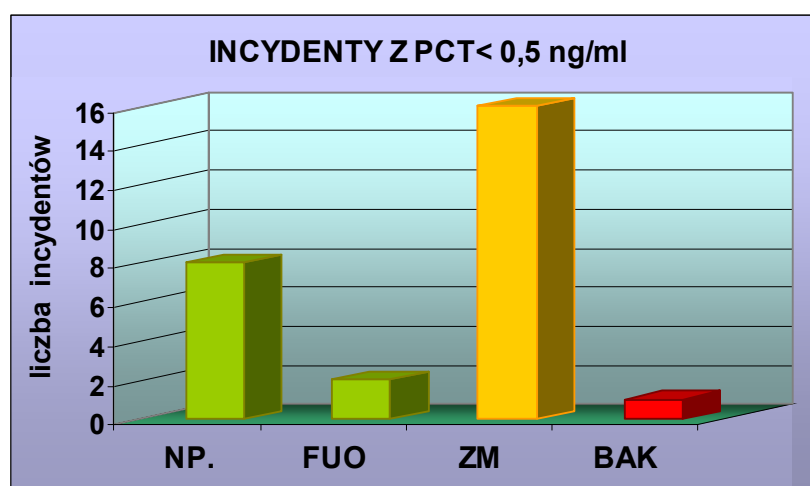
5.6. ANALIZA STĘŻEŃ PROKALCYTONINY W CZASIE INCYDENTÓW NEUTROPENII

Dzieląc wszystkie 67 incydentów neutropenii w oparciu o oznaczone maksymalne stężenia prokalcytoniny w trakcie ich trwania, zgodnie z przyjętą interpretacją wyników wyróżniono:

- grupę 1 - 27 incydentów neutropenii, FUO
- grupę 2 - 20 infekcji zlokalizowanych
- grupę 3 - 10 bakteriemii, posocznic
- grupę 4 - 10 ciężkich posocznic

W **grupie 1**, w której stężenie prokalcytoniny nie przekraczało 0,5 ng/ml znalazły się incydenty, w których na podstawie obrazu klinicznego pacjenta, obejmującego również badania obrazowe oraz na podstawie badań mikrobiologiczne postawiono rozpoznania (rys. 37.):

- neutropenii niepowikłanej gorączką, ani infekcją – 8 przypadków
- FUO – 2 przypadki
- zlokalizowanych procesów infekcyjnych – 16 epizodów
- bakteriemii – 1incydent

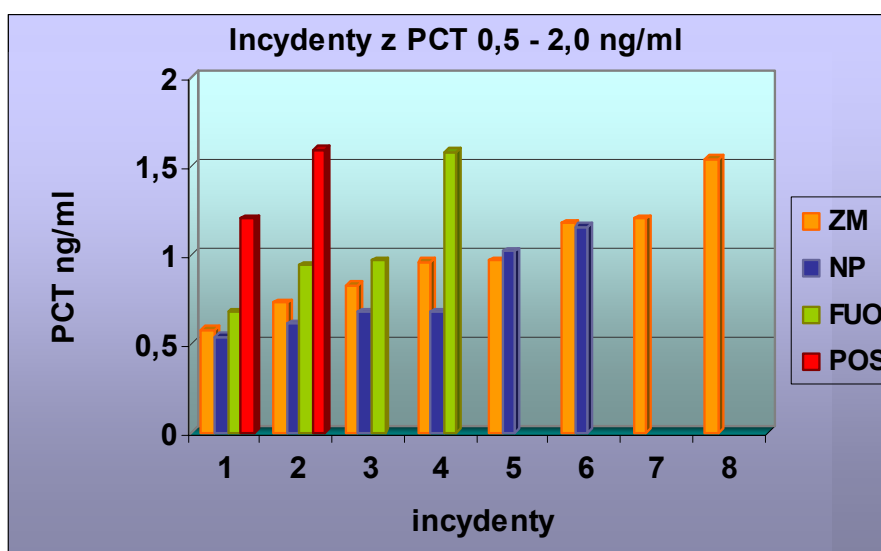


Rys. 37. Incydenty, w których maksymalne oznaczone stężenie PCT było niższe niż 0,5 ng/ml NP. – niepowikłana infekcją, gorączką neutropenia, FUO – gorączka o nieustalonej etiologii, ZM- zlokalizowane infekcje, BAK - bakteriemia .

W tej grupie tylko w jednym przypadku (3,7%) wynik należy uznać za fałszywie ujemny - incydent bakteriemii, bez objawów posocznicy u pacjenta K.D., w którym maksymalna wartość PCT wynosiła 0,21 ng/ml. Został on szczegółowo opisany w rozdziale 5.3.2.2.

W **grupie 2**, w której stężenie prokalcytoniny było między 0,5 a 2,0 ng/ml, co wskazywało na zlokalizowany proces infekcyjny znalazło się 20 epizodów rys. 38., które klinicznie kwalifikowano jako:

- zakażenia miejscowe – 8 incydentów
- FUO – 4 incydenty
- niepowikłaną neutropenię – 6 incydentów
- posocznicę – 2 incydenty



Rys. 38. Incydenty, w których maksymalne oznaczone stężenie prokalcytoniny było między 0,5 a 2,0 ng/ml. NP. – niepowikłana infekcją, gorączką neutropenia, FUO – gorączka o nieustalonej etiologii, ZM- zlokalizowane infekcje, POS – posocznica.

W 12 z 20 incydentów (60%) kwalifikacja kliniczna epizodów neutropenii nie odpowiadała kwalifikacji opartej na maksymalnym stężeniu prokalcytoniny. W 10 przypadkach FUO i neutropenii bez gorączki, bez rozpoznanego zakażenia należało spodziewać się poziomu prokalcytoniny poniżej 0,5 ng/ml. Pozostałe dwa incydenty, w których maksymalne stężenie peptydu nie odpowiadało postawionemu rozpoznaniu klinicznemu, były to posocznice.

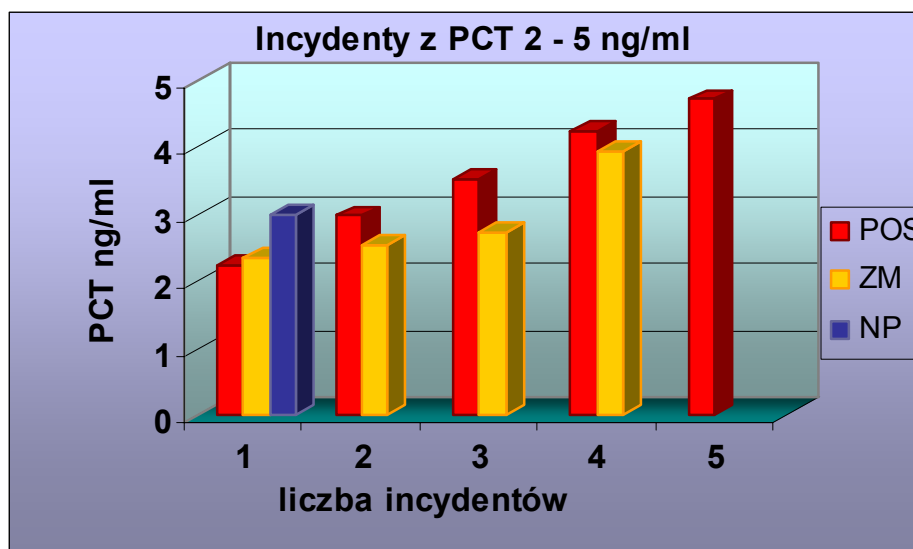
W jednym przypadku uzyskano potwierdzenie mikrobiologicznie - wyizolowano patogen *Pseudomonas aeruginosa* z krwi i moczu chorego. W obu incydentach maksymalne oznaczone stężenia PCT były powyżej 1,0 ng/ml jednak nie przekroczyły one progu 2 ng/ml.

W **grupie 3**, w której oznaczone maksymalne stężenia prokalcytoniny mieściły się w zakresie 2,0 – 5,0 ng/ml wskazując na bakterięmię, ewentualnie posocznicę znalazły się epizody, które na podstawie kryteriów klinicznych uznano za:

- posocznice – 5 przypadków, których żaden nie był ciężką posocznicą
- infekcje zlokalizowane – 4 epizodów
- niepowikłaną neutropenię – 1 incydent

Wartości PCT w poszczególnych grupach przedstawia rys. 39.

Stężenie prokalcytoniny powyżej 2 ng/ml oprócz posocznic wystąpiło w 4 incydentach zakażeń miejscowych oraz w 1 przypadku niepowikłanej neutropenii. Incydent z najwyższą wartością wynoszącą 3,95 ng/ml opisano w rozdziale 5.3.1.

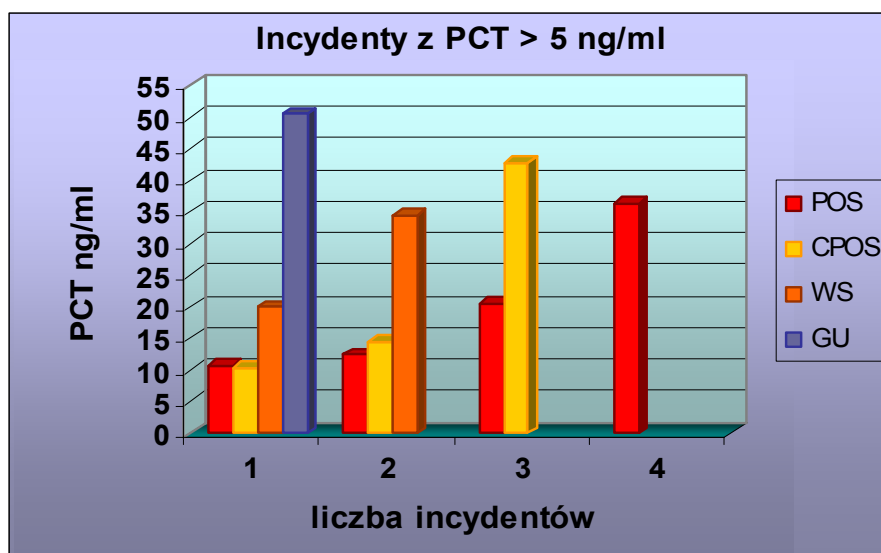


Rys. 39. Incydenty, w których maksymalne oznaczone stężenie prokalcytoniny było między 1,0 a 5,0 ng/ml. POS – posocznice NP. – niepowikłana infekcją, gorączką neutropenia, FOU – gorączka o nieustalonej etiologii, ZM- zlokalizowane infekcje.

Do **grupy 4**, w której maksymalne stężenia prokalcytoniny były wyższe niż 5ng/ml zakwalifikowano 10 incydentów. Na podstawie kryteriów klinicznych postawiano w nich rozpoznania rys. 40.:

- posocznicy – 4 krotnie
- ciężkiej posocznicy – 3 krotnie
- wstrząsu septycznego – 2 krotnie
- prawdopodobnej uogólnionej grzybicy – w 1 przypadku.

W tej grupie nie znalazł się ani jeden incydent, w którym na rozpoznanie kliniczne nie wskazywałoby oznaczone maksymalne stężenie prokalcytoniny.



Rys. 40. Incydenty, w których maksymalne oznaczone stężenie prokalcytoniny było powyżej 5,0 ng/ml. POS – posocznice CPOS – ciężka posocznica, WS – wstrząs septyczny, GU – prawdopodobna grzybica układowa.

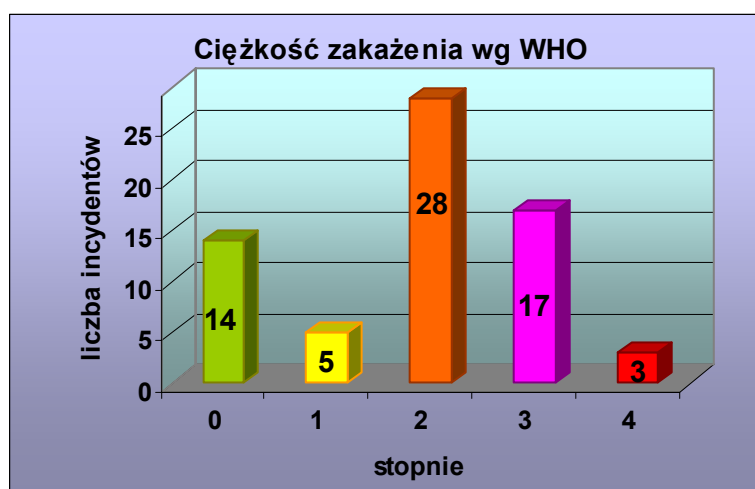
Częstość występowania stężeń PCT w poszczególnych przedziałach w trakcie wszystkich 67 incydentów, które zostały podzielone na grupy w oparciu o kryteria kliniczne przedstawia tab. 12.

Rozpoznanie kliniczne		Stężenia PCT (ng/ml)				SUMA
		< 0,5	0,5 -2,0	>2,0 – 5	> 5,0	
NEUTROPENIA	liczba epizodów	8	6	1	0	15
	%	53,3	40	6,7	0	
FUO	liczba epizodów	2	4	0	0	6
	%	33,3	66,7	0	0	
ZAKAŻENIA MIEJSCOWE	liczba epizodów	16	8	4	0	28
	%	57,1	28,6	14,3	0	
BAKTERIEMIE/ POSOCZNICE / GU	liczba epizodów	1	2	5	10	18
	%	5,5	11,1	27,8	55,6	
SUMA		27	20	10	10	67

Tab.12. Częstość występowania stężeń PCT w 4 przedziałach w zależności od rozpoznania klinicznego. GU-grzybica układowa

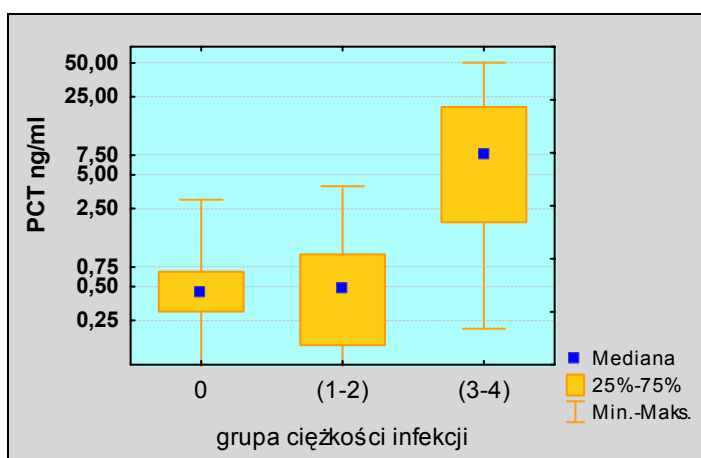
5.7. CIĘŻKOŚĆ POWIKŁANIA INFEKCYJNEGO WG WHO A STĘŻENIE PCT I CRP

W 14 incydentach neutropenii (21%) nie stwierdzono powikłania infekcyjnego. Infekcję lekkiego i średniego stopnia (1 i 2 stopień wg skali WHO) rozpoznano w 49,2 % wszystkich epizodów, natomiast aż w 29,8 % zakażenie oceniono jako 3 bądź 4 stopień skali (rys.41).



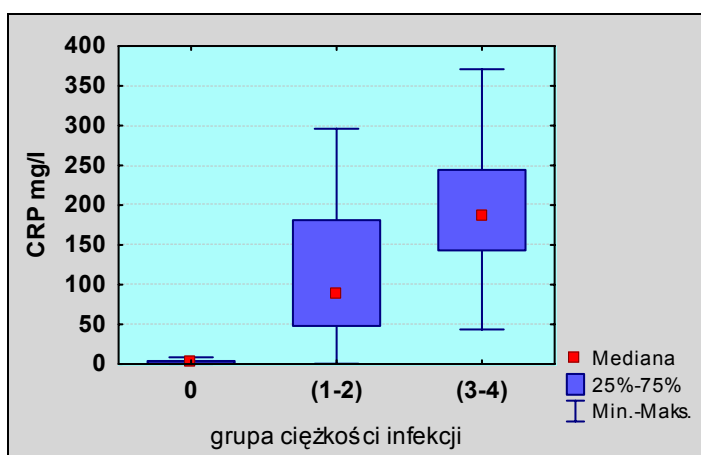
Rys. 41. Podział incydentów neutropenii w zależności od stopnia ciężkość powikłania infekcyjnego wg skali WHO.

Mediana maksymalnych stężeń prokalcytoniny w grupie incydentów bez powikłań (stopień 0) wynosiła 0,435 ng/ml z zakresem 0 – 3,0 ng/ml. Również w grupie epizodów z 1 bądź 2 stopniem skali WHO mediana była niska: 0,48 ng/ml (zakres 0 -3,95 ng/ml) rys. 42.



Rys. 42. Maksymalne stężenia prokalcytoniny w grupach z: 0, 1 i 2 oraz 3 i 4 stopniem powikłań infekcyjnych skali WHO.

Mediana maksymalnych stężeń PCT w grupie z ciężkimi i bardzo ciężkimi zakażeniami, czyli 3 i 4 stopniem skali toksyczności WHO była wysoka i wynosiła 7,56 ng/ml, a zakres stężeń: 0,21-50,53 ng/ml. Nie stwierdzono różnicy istotnej statystycznie pomiędzy grupą bez powikłań a grupą z 1 bądź 2 stopniem powikłań ($p = 0,711$), natomiast statystycznie znamienne różnice wystąpiły przy porównaniu każdej z tych dwóch grup z grupą z ciężkimi i bardzo ciężkimi powikłaniami infekcyjnymi ($p = 0,000042$ i $p = 0,000001$). Różnice w medianach maksymalnych stężeń CRP były znaczne między każdą z opisanych powyżej grup. Wynosiły one odpowiednio: 1,495 mg/l (zakres 0,21 – 8,6 mg/l) dla grupy ze stopniem 0, w grupie z 1 lub 2 stopniem powikłań 87,0 mg/l (zakres 0,54 -296 mg/l) i najwyższe w grupie z 3 i 4 stopniem skali 187,495 mg/l (43,64 – 371,0 mg/l) rys. 43. Różnice między grupami były zawsze istotne statystycznie.

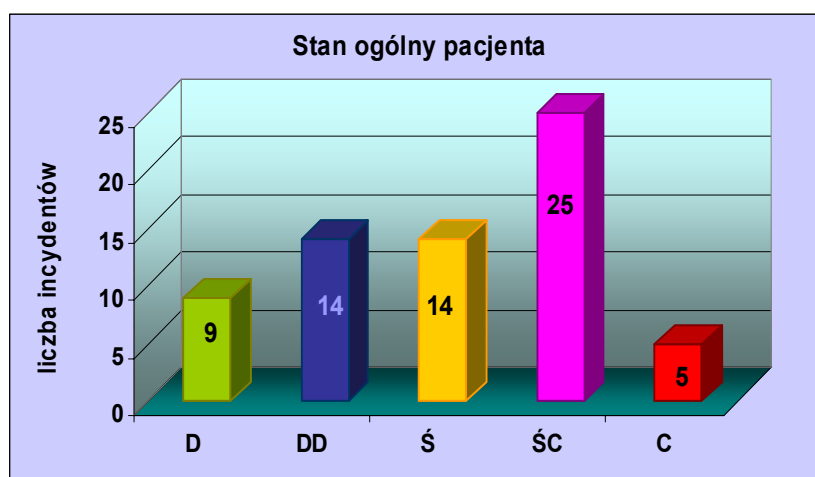


Rys. 43. Maksymalne stężenia białka C-reaktywnego w grupach z: 0, 1 i 2 oraz 3 i 4 stopniem powikłań infekcyjnych skali WHO.

Porównując grupę 0 z grupą z 1 i 2 stopniem powikłań oraz z grupą z 3 i 4 stopniem prawdopodobieństwo testowe wynosiło odpowiednio $p = 0,00000$ i $p = 0,000001$, a przy porównaniu grupy (1 i 2) z grupą (3 i 4) $p = 0,0017$.

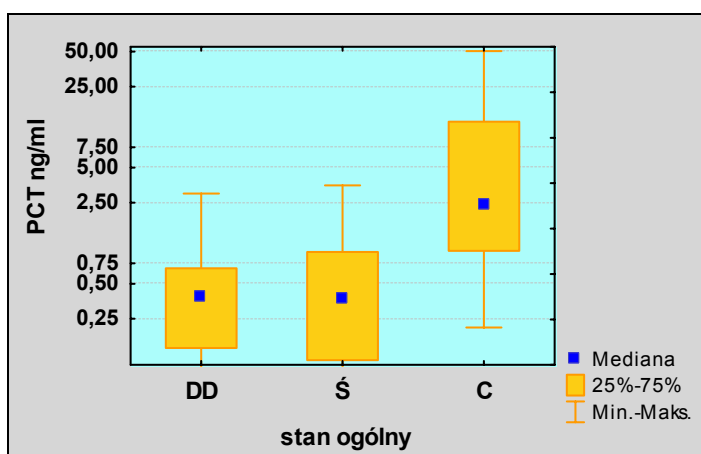
5.8. STAN OGÓLNY PACJENTA A STĘŻENIE PCT

Dobry i dość dobry stan ogólny chorego stwierdzono w 23 incydentach neutropenii tj. w 34,3%. W 14 epizodach (21%) oceniono go jako średni, a ciężki i bardzo ciężki był aż w 44,8% czyli w 30 epizodach neutropenii (rys. 44).



Rys.44. Podział incydentów neutropenii w oparciu o ocenę stanu ogólnego dziecka w trakcie epizodu: D – dobry, DD – dość dobry, S – średni, ŚC – średnio-ciężki, C – ciężki.

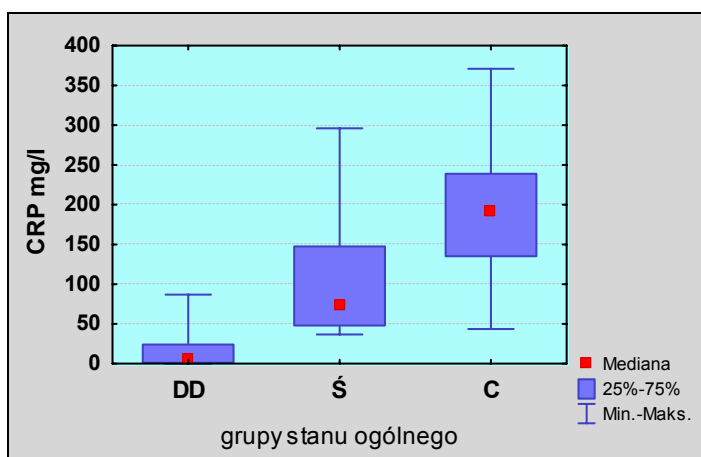
Nie stwierdzono statystycznie znamiennej różnicy między grupą, w której stan ogólny pacjenta był dobry bądź dość dobry (mediana 0,38 ng/ml, zakres 0-3 ng/ml), a grupą incydentów ze średnim stanem ogólnym chorego - mediana 0,365 ng/ml, zakres 0-3,52 ng/ml ($p = 0,9875$ ng/ml).



Rys. 44. Maksymalne stężenia PCT w grupach w których stan ogólny pacjenta w trakcie epizodów oceniano jako: DD – dobry bądź dość dobry, Ś- średni, C – średniociężki bądź ciężki.

Natomiast znaczące statystycznie różnice stwierdzono porównując każdą z tych grup z grupą epizodów, w której stan pacjentów był co najmniej średnio-ciężki (mediana 2,39 ng/ml, zakres 0,21-50,53 ng/ml) rys. 44. (odpowiednio $p = 0,000027$ i $p = 0,00049$).

Mediana stężeń CRP była najniższa w grupie incydentów neutropenii z dobrym, dość dobrym stanem ogólnym pacjenta 3,92 mg/l zakres 0,21-87 mg/l, wyższa w obrębie epizodów, w których stan ogólny chorego oceniono jako średni 73,86 mg/l zakres 36,9 -296,0 mg/l ($p = 0,000036$), a najwyższa 191,045 mg/l (zakres 43,64 – 371,0 mg/l) była w grupie, w której stan dziecka był najcięższy rys. 45. ($p = 0,00000$ przy porównaniu z grupą pierwszą i $p = 0,003$ w odniesieniu do drugiej grupy).



Rys. 45. Maksymalne stężenia CRP w grupach w których stan ogólny pacjenta w trakcie epizodów oceniano jako: DD – dobry bądź dość dobry, Ś- średni, C – średnio-ciężki bądź ciężki.

5.9. STĘŻENIE PCT I CRP U CHORYCH Z PODEJRZENIEM ZAKAŻENIA GRZYBICZEGO

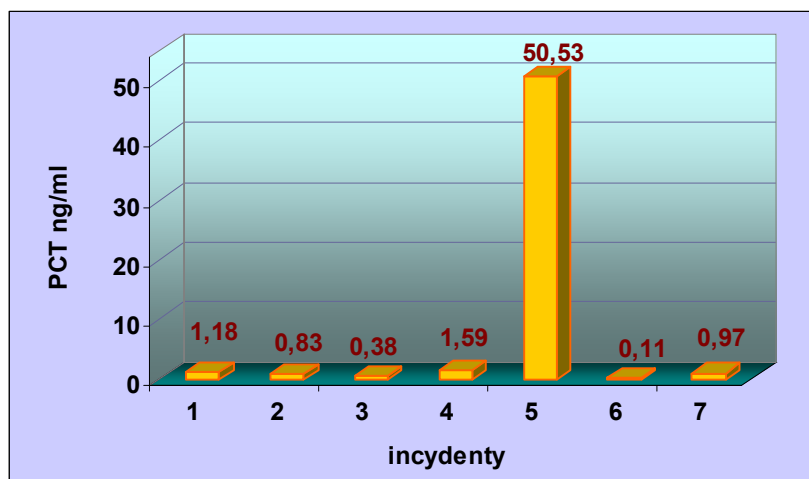
U 5 chorych (tab. 13) w trakcie 7 incydentów podejrzewano zakażenie o etiologii grzybiczej.

I.p.	nr pacjenta	I.D.	choroba podstawowa	nr incydentu neutropenii	powikłanie neutropenii
1	1	M.B.	ALL	5	PNEUMONIA
2	7	M.C.	AML	15	GRZYBICA NEREK?
3	7	M.C.	AML	18	PNEUMONIA
4	26	A.N.	ALL	51	GRZYBICA WIELONARZĄD.
5	26	A.N.	ALL	52	GRZYBICA WIELONARZĄD.
6	28	E.O.	AML	56	PNEUMONIA
7	35	J.Z.	AML	62	PNEUMONIA

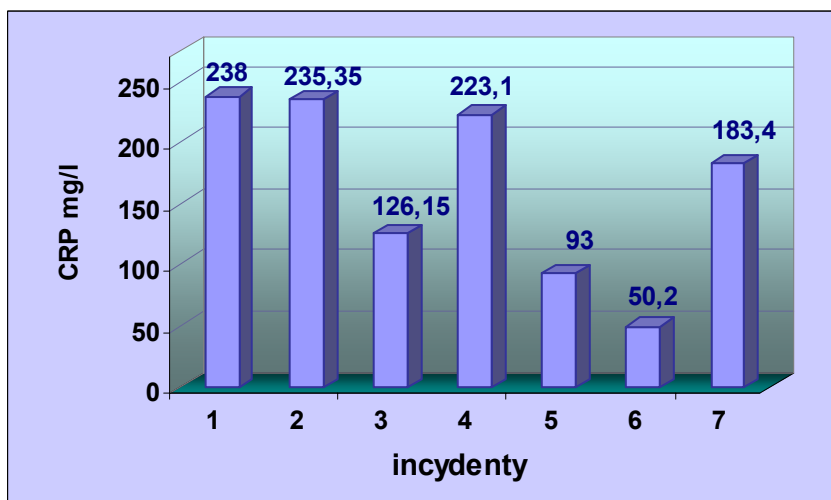
Tab.13. Epizody neutropenii, w których etiologię grzybiczą zakażenia uznano za możliwą lub prawdopodobną.

W jednym przypadku zakażenie uznano za prawdopodobne (incydent nr 52). We krwi chorego wykryto, antygen patogenu *Candida*. Przebieg tego bezgorączkowego epizodu został szczegółowo opisany w rozdziale 5.1. W pozostałych incydentach zgodnie z zastosowanymi kryteriami etiologię grzybiczą uznano za możliwą.

Maksymalne wartości PCT i CRP stwierdzone w trakcie tych incydentów przedstawiają poniższe wykresy na rys. 46. i 47. Stężenia prokalcytoniny pozostawały niskie lub nieznacznie podwyższone, jedynie u chorego ze zmianami wielonarządowymi wartości były bardzo wysokie – najwyższe ze wszystkich analizowanych epizodów, natomiast stężenie CRP u pacjenta było podwyższone, lecz niższe w porównaniu z większością pozostałych epizodów.



Rys. 46. Maksymalne stężenia PCT w trakcie incydentów neutropenii, w których etiologię grzybiczą zakażenia uznano za możliwą a w przypadku incydentu nr 5 za prawdopodobną. Numeracja incydentów odpowiada l.p. w tab. 13.



Rys. 47. Maksymalne stężenia CRP w trakcie incydentów neutropenii, w których etiologię grzybiczą zakażenia uznano za możliwą a w przypadku incydentu nr 5 za prawdopodobną. Numeracja incydentów odpowiada l.p. w tab. 13.

6. OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

Istnieje zgodność poglądów potwierdzonych wieloma badaniami, iż prokalcytonina jest specyficznym markerem uogólnionych zakażeń o etiologii bakteryjnej. Przydatność tego parametru w praktyce klinicznej u pacjentów, którzy nie są w stanie immunosupresji została dobrze udokumentowana [23,33,84,111,147,153]. Natomiast nadal obecne są wątpliwości na ile ten wskaźnik można wykorzystać w diagnostyce różnicowej powikłań infekcyjnych u dzieci z rozpoznaniem choroby nowotworowej. Spowodowane jest to faktem, iż pacjenci onkologiczni są szczególną grupą chorych. Z jednej strony choroba podstawowa może u nich powodować podwyższenie parametrów stanu zapalnego przy nieobecności procesu infekcyjnego, a z drugiej stan immunosupresji, który pogłębia się w trakcie stosowanej chemioterapii, ogranicza możliwości diagnostyczne zakażeń.

Diagnostyka procesu infekcyjnego jest bardzo utrudniona, ponieważ organizm nie jest w stanie wygenerować właściwej odpowiedzi zapalnej na inwazję patogenu. Istotną trudność stanowi również uzyskanie wartościowego materiału biologicznego w celu przeprowadzenia szerokiej diagnostyki mikrobiologicznej. Pobieranie tkanek a nawet nakłucie żyły obwodowej u dziecka będącego w stanie głębokiej immunosupresji wiąże się z dodatkowym ryzykiem inwazji drobnoustrojów do organizmu chorego z powodu naruszenia ciągłości powłok skórnych. Zwykle obok neutropenii u chorych występuje również trombocytopenia, która jest kolejnym czynnikiem ograniczającym możliwość pobrania materiału biologicznego od pacjenta. Należy mieć również na uwadze, iż szanse zidentyfikowania patogenu u dziecka są dodatkowo obniżone przez stosowaną profilaktyczną antybiotykoterapię szerokospektralną u chorych będących w neutropenii.

Powszechnie wykorzystywana w diagnostyce i monitorowaniu procesu zapalnego w ustroju ocena stężenia białka ostrej fazy – CRP ma ograniczoną wartość u pacjenta z aktywnym procesem nowotworowym, ponieważ jest to parametr bardzo czuły jednak mało specyficzny. Podwyższone stężenie

białka ostrej fazy występujące w ustroju chorego może być odpowiedzią na toczący się proces zapalny lub istniejący proces rozrostowy, a także może być indukowane w wyniku uszkodzenia tkanek np. w przebiegu urazu lub przez chemioterapię [49,168,169].

Fleischhack i wsp. [59,60] stwierdzili, iż u dzieci ze świeżo rozpoznaną chorobą nowotworową stężenia prokalcytoniny pozostawały niskie, natomiast u większości z nich stężenia białka C-reaktywnego były znacząco podwyższone. Hitoglou-Hatzi i wsp. [76] w swojej pracy obejmującej oznaczenia stężenia prokalcytoniny w surowicy krwi u 53 dzieci leczonych z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej będących w okresie neutropenii bez gorączki, bez infekcji, wykazali, że aktywność choroby podstawowej, toksyczne uszkodzenie tkanek wywołane chemioterapią jak i stopień nasilenia neutropenii nie powodują znaczącego podwyższenia stężenia PCT w surowicy krwi tych pacjentów. Schuttrumpf i wsp. [169] przeanalizowali dodatkowo incydenty gorączki u pacjentów hematologicznych wywołanej przez stosowane leki. Stwierdzili oni, iż w przeciwieństwie do CRP, stężenie PCT pozostawało niskie przy braku cech powikłania infekcyjnego. Chociaż Ek i wsp. [53] opisali niewielki wzrost stężenia PCT w surowicy chorych, którzy otrzymywali wysokie dawki arabinozydu cytozyny. Również i inni autorzy wskazują, że stężenia PCT u pacjentów z aktywną chorobą nowotworową, jak i w okresie neutropenii niepowikłanej gorączką, ani udokumentowanym zakażeniem pozostaje niskie [49,68,180].

W przeprowadzonych badaniach własnych w trakcie epizodów niepowikłanej neutropenii poziomy oznaczonej PCT pozostawały niskie. W grupie, w której stosowano podaż czynników stymulujących granulocytopenię wartości stężeń tego peptydu oraz CRP były wyższe w porównaniu z grupą, w której nie były one stosowane. Jednak różnica ta nie była znaczna. Ze względu na zbyt małą liczebność grup trudno jest ocenić wpływ podaży choremu GCSF na stężenie PCT w jego surowicy krwi. Podaż GCSF u żadnego dziecka nie spowodowała wzrostu stężenia PCT w takim stopniu by utrudnić interpretację uzyskanego wyniku.

Ponieważ w dostępnej literaturze nie znaleziono prac, w których poddano by analizie współzależność pomiędzy stężeniem PCT, a stosowaniem u pacjenta będącego w neutropenii czynników wzrostu, nie mamy możliwości oceny porównawczej własnych spostrzeżeń z badaniami innych autorów. Zagadnienie to wymaga dalszych badań na większym materiale klinicznym.

Poszukując odpowiedzi na podstawowy cel badań własnych, jakim była ocena zdolności organizmu będącego w stanie agranulocytozy do produkcji prokalcytoniny, prześledzono dane w piśmiennictwie dotyczące potencjalnego udziału leukocytów w stymulacji syntezy tego peptydu. Wiadomo, że komórki jednojądrzaste krwi obwodowej należą do bardzo wczesnej linii obrony organizmu i ich aktywacja doprowadza do natychmiastowego wyrzutu cytokin oraz uruchomienia kaskady zapalnej. Ponieważ stężenie prokalcytoniny zaczyna narastać krótko po zadziałaniu czynnika infekcyjnego Oberhoffer i wsp. [137,138] w badaniach *in vitro* sprawdzali, czy leukocyty, które są źródłem cytokin zapalnych, mogą być również źródłem prokalcytoniny. Wykazali oni obecność PCT oraz jej mRNA w leukocytach, głównie w monocytach, a ich ilości wzrastały po stymulacji endotoksyną - LPS oraz cytokinami prozapalnymi.

Również Balog i wsp. [8] wskazali wewnątrzkomórkową obecność prokalcytoniny w granulocytach i monocytach, a jej stężenie wzrastało w odpowiedzi na zakażenie hodowli komórkowej gronkowcem złocistym..

Odmienne obserwacje dokonali Monneret i wsp. [123] w przeprowadzonych przez siebie badaniach. *In vitro* w próbkach krwi pobranych od zdrowych ochotników po stymulacji komórek endotoksyną (LPS) wykryli obecność TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-8, natomiast nie stwierdzili obecności prokalcytoniny, co przeczy doniesieniom innych autorów.

Linscheid i wsp. [103] w swoich badaniach wykazali, że ekspresja PCT w leukocytach jest bardzo krótkotrwała, a indukuje ją niespecyficzna adhezja tych komórek. Mimo, iż monocyty i makrofagi nie są uważane przez tych autorów za istotne źródło prokalcytoniny w trakcie uogólnionej reakcji zapalnej, wskazują oni na istotne zaangażowanie tych komórek w pośrednią stymulację syntezy peptydu przez inne komórki np. adipocyty.

Biorąc pod uwagę rozbieżne opinie dotyczące udziału białych krwinek w syntezie prokalcytoniny, kluczowe znaczenie w praktyce klinicznej ma ocena możliwości wykorzystania tego parametru w diagnostyce zakażeń u chorych będących w neutropenii.

Ciaccio i wsp. [36] na podstawie badań przeprowadzonych u dzieci ze schorzeniami onkohematologicznymi (bez uwzględnienia stanu neutropenii) uważają, iż prokalcytonina jest mało specyficznym markerem w tej grupie chorych. Svaldi i wsp. [179] opisują obniżoną czułość i specyficzność prokalcytoniny u chorych z leukopenią. U pacjentów, u których liczba leukocytów była niższa niż $1000/\text{mm}^3$ stwierdzano znacznie niższe stężenia prokalcytoniny w przebiegu posocznicy, w porównaniu z grupą pacjentów, u których liczba komórek była powyżej $1000/\text{mm}^3$. Również Persson i wsp. [145] oraz Bont i wsp. [42] oraz Ruokonen i wsp. [156] wskazują na obniżoną czułość i przydatność diagnostyczną tego parametru u pacjentów będących w stanie neutropenii. Natomiast Al-Naws i Shah zaobserwowali, iż u chorych z nieznacznie obniżoną liczbą leukocytów w pierwszych dwóch dobach posocznicy poziomy prokalcytoniny nie różniły się od grupy chorych bez leukopenii, natomiast szybciej ulegały one normalizacji [2].

Wyniki przeprowadzonych przez nas badań są zgodne z doniesieniami innych autorów, którzy stwierdzili, iż pacjent będący w głębokiej neutropenii jest zdolny do produkcji prokalcytoniny w odpowiedzi na posocznicę [15,59,68,69,146,178]. Dlatego przez większość autorów jest ona uważana za parametr o wysokiej przydatności w diagnostyce zakażeń bakteryjnych u chorych będących w neutropenii.

W badaniach własnych nie stworzono grupy porównawczej obejmującej dzieci nie będące w leukopenii, lecz w porównaniu z danymi z piśmiennictwa w naszej grupie chorych stężenia prokalcytoniny w przebiegu posocznicy wydają się nie być niższe niż te opisywane u dzieci bez immunosupresji, co jest zgodne z obserwacją Fleischhacka i wsp. [59] godnym podkreślenia jest fakt, iż badacze Ci dokonali oceny największej grupy dzieci będących w neutropenii spośród wszystkich autorów. Jednak Korczowski [90] w swojej pracy, która obejmowała znaczny materiał kliniczny stwierdził,

że w porównaniu z pacjentami bez leukopenii i schorzeń onkologicznych mediana stężeń była wyższa w grupie chorych onkologicznych będących w neutropenii. Takiego zdania są również i inni autorzy [168].

Poszukując odpowiedzi na pytanie: czym można tłumaczyć te rozbieżności w wynikach badań cytowanych autorów uznano, że pewną rolę należy przypisać odmiennej metodyce oznaczania PCT. Niższa mediana stężeń prokalcytoniny były najczęściej stwierdzana w badaniach, w których porównywano stężenia parametru w momencie wystąpienia gorączki. Chorzy nieonkologiczni mieli oznaczaną PCT, przy przyjęciu, gdy zwykle pierwszy wzrost temperatury ciała wystąpił u nich jeszcze przed hospitalizacją. Natomiast dzieci w stanie znacznej neutropenii są zwykle hospitalizowane przed wystąpieniem powikłania infekcyjnego i czas jaki upływa u nich od wystąpienia pierwszych objawów zakażenia do rozpoczęcia diagnostyki, w tym pobrania materiału celem oznaczenia stężenia prokalcytoniny, jest znacznie krótszy. Stężenie prokalcytoniny zaczyna narastać po 4-6 godzinach od zadziałania czynnika stymulującego, osiągając wartości szczytowe po 24 godzinach. **Dlatego też i u naszych chorych zwykle najwyższe wartości prokalcytoniny stwierdzane były w drugiej dobie gorączki, co jest zgodne z wynikami innych badań, w których monitorowano stężenia PCT w pierwszych dobach gorączki [59,60].** Natomiast faktycznie porównując stężenia tego peptydu z pierwszej doby gorączki w przebiegu bakteryjnego SIRS z danymi z piśmiennictwa, można stwierdzić, iż pacjenci ci generowali niższe stężenia PCT od chorych z prawidłową liczbą leukocytów. Wydaje się, że tym też należy tłumaczyć pogląd niektórych autorów, iż oznaczanie prokalcytoniny w pierwszym dniu gorączki ma ograniczoną wartość [140].

Z pośród przeanalizowanych 67 incydentów neutropenii aż w 77,6 % stwierdzono na podstawie obrazu klinicznego i/lub wyników badań mikrobiologicznych obecność procesu infekcyjnego.

Na uwagę zasługuje fakt, iż niemal w co trzecim (28,5 %) epizodzie neutropenii niepowikłanym gorączką rozpoznano obecność procesu infekcyjnego. Chorzy, u których przebieg zakażenia był bezgorączkowy

mieli wyższy poziom prokalcytoniny (mediana – 1,7 ng/ml), w porównaniu z grupą bez udokumentowanego zakażenia (mediana – 0,49 ng/ml). Bezgorączkowy przebieg zakażeń szczególnie o etiologii grzybiczej u pacjentów będących w stanie skrajnej mielosupresji potwierdzają również inni autorzy [20]. Prawidłowa ciepłota ciała u dziecka nie może być dowodem wykluczającym obecność zakażenia, choć z drugiej strony gorączka często jest jedynym objawem inwazji patogenu w ustroju.

Gorączka często występuje u pacjentów będących w stanie immunosupresji wywołanym chorobą podstawową oraz stosowaniem intensywnej chemioterapii. Najczęściej jest ona odpowiedzią na toczący się w organizmie chorego proces infekcyjny. Inne jej przyczyny niezwiązane z zakażeniem nie są rzadkie, a szczególnie indukcja wzrostu temperatury ciała chorego przez samą chorobę nowotworową, podaż leków, czy przetaczane preparaty krwiopochodne. Za ważne należy uznać spostrzeżenia autorów Schüttrumpfa i wsp. [168] oraz Penela i wsp. [144], którzy w oparciu o przeprowadzone badania udokumentowali, że stężenie PCT pozostaje niskie u pacjenta z chorobą nowotworową w przebiegu gorączki wywołanej przez czynniki nieinfekcyjne oraz wirusy.

W badanej grupie w trakcie 46 epizodów neutropenii u dzieci współwystępowała gorączka. W 6 z 46 incydentów etiologia gorączki pozostała nieznana. Najczęstszą (w 50%) jej przyczyną były zlokalizowane procesy infekcyjne, a zakażenia uogólnione spowodowały wzrost ciepłoty ciała dziecka, aż w 36,9 %.

Tak wysoki odsetek powikłań infekcyjnych w badanym materiale należy tłumaczyć kwalifikacją do badań pacjentów będących w grupie najwyższego ryzyka rozwoju powikłań infekcyjnych. Stwierdzano u nich liczbę granulocytów obojętnochłonnych $\leq 0,1$ G/l. Do badań byli też włączeni chorzy, u których w dniu rozpoczęcia obserwacji liczba neutrocytów mieściła się w przedziale 0,1 – 0,5 G/l, ale występowały już u nich cechy infekcji. Nie wszystkie epizody neutropeniczne, które wystąpiły u chorych w okresie prowadzonych badań zostały poddane analizie, nie u wszystkich możliwe było przeprowadzenie oznaczeń.

Niski odsetek gorączki o nieustalonej etiologii w porównaniu z danym z piśmiennictwa, gdzie stanowi ona około 30 % a nawet 50 % wszystkich epizodów gorączki w trakcie okresu neutropenii [59,68,69], może dodatkowo wynikać z faktu, iż chorzy objęci badaniami znajdowali się w takim stanie klinicznym, który okresowo dyskwalifikował ich z kontynuacji chemioterapii, lub byli w przerwach regeneracyjnych między poszczególnym jej cyklami. Powodowało to, że w tej grupie nie występowała gorączka indukowana podażą cytostatyków.

Potwierdzenie mikrobiologiczne procesu infekcyjnego uzyskano w 43,5% epizodów neutropenii ze współistniejącą gorączką, natomiast rozpoznanie wyłącznie na podstawie demonstracji klinicznej procesu ustalono także w 43,5% i są to wyniki zbliżone do wyników innych Fleischhacka i wsp. [59]. **Dominującą grupą patogenów stanowiły drobnoustroje Gram-ujemne (65%), wśród których najczęściej występowała *Escherichia coli*, a główną postacią kliniczną zakażenia była posocznica.**

W literaturze dominują zakażenia patogenami Gram-dodatnimi [28,83,88], chociaż Kanamaru i wsp. [83] zauważyli, że im dłużej u chorego trwa neutropenia tym większe ryzyko rozwoju zakażenia drobnoustrojem Gram-ujemnym. Natomiast niższy udział tych patogenów w naszej populacji należy głównie tłumaczyć małą liczebnością badanej grupy.

W badanym materiale własnym zarówno stężenia PCT jak i CRP w pierwszym dniu gorączki oraz maksymalne oznaczone wartości w trakcie poszczególnych epizodów były najwyższe w grupie, do której zakwalifikowano incydenty z mikrobiologicznie udokumentowanym zakażeniem. Jednak różnice między poszczególnymi grupami nie osiągnęły poziomu istotności statystycznej. Wyższe poziomy PCT właśnie w tej grupie wynikają z faktu, iż wszystkie incydenty miały etiologię bakteryjną, a to właśnie ta grupa patogenów indukuje syntezę prokalcytoniny. W grupie z klinicznie rozpoznany procesem infekcyjnym oprócz zakażeń bakteryjnych występowały też zakażenia wywołane przez inne drobnoustroje,

które nie stymulują wyrzutu PCT. U chorych z nieustaloną przyczyną gorączki oczywiście w rzeczywistości mogły toczyć się zakażenia, których nie udało się udokumentować, ale wzrost temperatury ciała mógł być też wywołany przez czynniki nieinfekcyjne.

Analizując epizody gorączki w oparciu o lokalizację procesu infekcyjnego w grupie, w której uznano toczący się proces za uogólniony (posocznice i prawdopodobna uogólniona grzybica) zarówno stężenie PCT w pierwszej dobie gorączki jak i jej maksymalne, oznaczone wartości były znamienne wyższe niż w grupie z zakażeniami miejscowymi ($p = 0,000016$ i $p = 0,000004$), mimo stosunkowo małej liczebności grup.

Stężenie białka C-reaktywnego w pierwszej dobie gorączki oraz jego maksymalna, oznaczona wartość nie różnicowały obu tych grup na poziomie statystycznie istotnym. Chociaż w przypadku oceny najwyższych poziomów CRP różnica ta była bliska progu istotności i prawdopodobnie przy większej liczebności grup zostałaby on przekroczony.

Zgodnie z wynikami innych autorów najwyższe stężenia prokalcytoniny u pacjentów onkologicznych będących w okresie neutropenii stwierdziliśmy w przebiegu klinicznie i/lub mikrobiologicznie rozpoznanej posocznicy [59,60,168].

W 7 z 15 epizodów posocznicy oznaczono stężenia prokalcytoniny dobę przed wystąpieniem gorączki. Tylko w dwóch z nich stężenia były lekko podwyższone, podobnie jak CRP. W pierwszym dniu wzrostu temperatury ciała tylko u jednego chorego poziom prokalcytoniny pozostawał w granicach normy, a w pozostałych epizodach (93,3%) stężenie było już podwyższone (powyżej 0,5 ng/ml), a próg 2 ng/ml uznawany w populacji osób immunokompetentnych za specyficzny dla SIRS został przekroczony w 33,33% incydentów.

Maksymalne wartości prokalcytoniny w przebiegu posocznicy zwykle stwierdzano w drugiej dobie gorączki, natomiast CRP po kolejnych 24 godzinach, takiej samej obserwacji dokonali również Fleischhack i wsp.

[59,60]. Jest to zgodne z kinetyką obu parametrów, z czasem ich półtrwania. Oznaczone w surowicy chorych z posoczną stężenia prokalcytoniny korelowały z nasileniem uogólnionej reakcji zapalnej, poza jednym przypadkiem (6,6%), w którym u dziecka z mikrobiologicznie potwierdzoną posoczną poziom PCT pozostał tylko nieznacznie podwyższony – 1,2 ng/ml. We wszystkich epizodach z rozpoznaną ciężką posoczną lub wstrząsem septycznym poziom PCT był powyżej 10 ng/ml.

Wraz z obserwowaną poprawą kliniczną świadcząca o skuteczności stosowanej empirycznej antybiotykoterapii odnotowywano szybkie obniżanie się poziomu PCT.

W 26,7 % posocznic nie udało się potwierdzić mikrobiologicznie zakażenia, natomiast aż w 73,3 % zidentyfikowano patogen w oparciu o diagnostykę bakteriologiczną.

Jest to bardzo wysoki odsetek pozytywnych izolacji, ale może być to wynik małej liczebności grupy. Dodatkowo u części naszych pacjentów pediatrycznych w razie wystąpienia gorączki odstępuje się od pobierania krwi z żyły obwodowej, ograniczając się do pobrania jej z obecnego stałego dostępu żylnego tj. z obu wejść dwuprzewodowego cewnika centralnego. W przypadku izolacji drobnoustroju z materiału uzyskanego z obu wejść uznawaliśmy go za prawdopodobny czynnik etiologiczny odpowiedzialny za stwierdzone zmiany kliniczne. Jeśli w pobranym w ten sposób materiale zostanie wyhodowany patogen, przy braku demonstracji objawów klinicznych zakażenia, wynik badania interpretowany jest jako zanieczyszczenie, bądź jako kolonizacja cewnika, co jednak może być przyczyną bakteriemii i wymaga uwagi.

Takie postępowanie warunkowane jest specyfiką pacjenta, u którego ze względu na stan immunosupresji należy dążyć do ograniczenia naruszania naturalnych barier ochronnych, w tym przerywania ciągłości powłok skórnych. W trakcie epizodu neutropenii powikłanej infekcją krew jest pobierana wielokrotnie przy towarzyszącym wzroście temperatury ciała dziecka, więc pobieranie materiału przez cewnik centralny oraz z żyły

obwodowej wiąże się ze wzrostem objętości pobieranej krwi i zwiększeniem inwazyjności procedury.

Kolejny czynnik wpływający na takie postępowanie diagnostyczne to fakt trombocytopenii, która niemalże zawsze współistnieje u tych chorych. Oprócz znaczenia w bezpośrednim hamowaniu krwawienia z nakłutego naczynia pacjenta, trzeba zwrócić uwagę, iż procedura nakłucia żyły obwodowej jest dla dziecka niezwykle nieprzyjemna i wywołuje u niego silny niepokój, co w przypadku małej liczby krwinek płytkowych jest szczególnie niepożądane, ze względu na możliwość wystąpienia krwawienia wewnętrznego. Mimo, iż dostępne są koncentraty krwinek płytkowych przetaczanie ich należy ograniczać, bowiem wiadomo, że są one bardzo immunogenne i zobligowani jesteśmy do ograniczania immunizacji organizmu chorego. Dodatkowo część z naszych chorych ma już wytworzone przeciwciała przeciwplatek i przetoczenie takiego preparatu jest ograniczone tylko do wskazań życiowych.

Wysoki odsetek zidentyfikowanych patogenów wynika z innego bardzo istotnego czynnika – 24-godzinny dostęp do laboratorium mikrobiologicznego, co ma kluczowe znaczenie w codziennej praktyce klinicznej. Materiał pobrany od chorego w bardzo krótkim czasie trafia do pracowni, która dysponuje komputerowym systemem Bact/Alert (Organom Technika) - umożliwia to wczesne wykrywanie drobnoustrojów, natychmiastowe rozpoczęcie procesu izolacji patogenu.

Oczywiście takie postępowanie diagnostyczne budzi dużo kontrowersji. Jednak odstępowanie od pobierania krwi poprzez nakłucie żyły obwodowej u pacjentów pediatrycznych jest częstą praktyką kliniczną dziecięcych oddziałów hematologicznych i onkologicznych [63].

Według niektórych autorów w przypadku podejrzenia zakażenia odcewnikowego konieczne jest natychmiastowe jego usunięcie i analiza mikrobiologiczna [82,143,171]. Jednak aż w 75-85% posiewów wewnątrznaczyniowych końcówek cewników usuniętych chorym z podejrzeniem odcewnikowej bakteriemii wynik jest negatywny [24,117,171]. W celu ustalenia, czy cewnik centralny stanowi wrota zakażenia bez konieczności jego usuwania niektórzy autorzy oraz IDSA zalecają

wykonywanie posiewów ilościowych materiału pobranego przez cewnik centralny oraz z żyły obwodowej [47,61,117]. W przypadku zakażenia odcewnikowego liczba wyhodowanych kolonii bakteryjnych będzie znacznie (minimum 5-krotnie), wyższa w materiale z cewnika, w porównaniu z krwią pobraną poprzez nakłucie żyły obwodowej pacjenta.

Inną metodę oceny cewnika jako źródła bakteriemii, w przypadku braku materiału pobranego poprzez nakłucie obwodowej żyły stanowi liczba wyizolowanych kolonii lub czasu ich wzrostu. Rozpoznanie bakteriemii odcewnikowej stawiane jest w przypadku stwierdzenia w jednorazowo pobranym materiale z cewnika ≥ 100 CFU/ml [61,117]. Aditya i wsp. [63] ocenili, że różnica ≥ 180 min w czasie detekcji wzrostu patogenów pomiędzy krwią pobraną przez jedno z wejść cewnika centralnego względem materiału uzyskanego przez drugie wejście wskazywała z czułością i specyficznością odpowiednio: 61% i 94% na bakterię odcewnikową.

W przypadku obecności cewników długoterminowych typu Hickman - Broviac u pacjentów pediatrycznych podejmowane są próby tzw. „leczenia cewnika”, czyli oprócz ogólnoustrojowej podaży antybiotykoterapii, roztwory antybiotykowe są zapuszczane do światła cewnika tworząc tzw. „korki antybiotykowe” [47]. Takie postępowanie jest również praktykowane i w naszym ośrodku przynosząc dobre efekty terapeutyczne [97]. U żadnego z pacjentów objętych naszymi badaniami nie było konieczności usuwania cewnika centralnego, co traktujemy za ostateczność.

Oczywiście niezwykle ważna jest umiejętność podjęcia decyzji o usunięciu cewnika we właściwym czasie. Opóźnianie jej wiąże się z drastycznie wysokim ryzykiem niepomyślnego zakończenia się incydentu infekcyjnego, a zbyt pochopne jej podjęcie naraża pacjenta na kolejną inwazyjną procedurę implantacji nowego centralnego dostępu żylnego. Przed podjęciem decyzji o usunięciu cewnika trzeba znaleźć odpowiedź na następujące pytania:

- czy, wrotami zakażenia rzeczywiście jest cewnik centralny
- czy, próba „leczenia cewnika” jest nieskuteczna.

W ocenie skuteczności terapii oprócz kontrolnych posiewów bardzo dużą rolę może odegrać prokalcytonina. Narastanie jej stężenia mimo stosowanej terapii jest pośrednim dowodem nieskuteczności leczenia, i co jest godne podkreślenia wydaje się być to w chwili obecnej jedyny parametr możliwy do wykorzystania w praktyce klinicznej, który tak wcześnie może dostarczyć tak cennej informacji.

Wśród czynników etiologicznych posocznic udział patogenów Gram-ujemnych był nieco wyższy niż Gram – dodatnich odpowiednio: 58,3% i 41,7%. U jednego chorego rozpoznano bakterię mieszaną – *Enterobacter cloacae* i *Escherichia coli*, która klinicznie przebiegała pod postacią wstrząsu septycznego.

W pracach epidemiologicznych dominują drobnoustroje Gram-dodatnie [16,28,51,83,88,120,142]. Rozbieżność tą tłumaczymy głównie małą liczebnością materiału klinicznego, chociaż są też prace, których autorzy wskazują na wzrost liczby bakteriemii u pacjentów onkologicznych wywołanych przez Gram-ujemne patogeny [4,6,71,186,192]. Lampek [97] w pracy, w której materiał kliniczny stanowili pacjenci z naszej kliniki w latach 1992-1999, wykazał, iż w przypadku bakteriemii odcewnikowych patogeny Gram-dodatnie są najliczniejsze wśród czynników etiologicznych, natomiast w przypadku bakteriemii nie związanych z cewnikiem dominują patogeny Gram-ujemne. **W naszych badaniach stwierdziliśmy, iż w posocznicach wywołanych przez bakterie Gram-ujemne odnotowano zdecydowanie wyższe stężenia prokalcytoniny (mediana 20,255 ng/ml), niż w grupie, gdzie posocznice wywoływały patogeny Gram-dodatnie (mediana 3,24 ng/ml) i jest to zgodne z obserwacjami innych autorów [59,60,179].** Jak tłumaczy to Fleischhack [59] może wynikać to z faktu, że endotoksyna LPS doprowadza do aktywacji makrofagów, czego konsekwencją jest wysoka produkcja cytokin prozapalnych –TNF α , IL-1, które stymulują produkcję i wyrzut PCT.

Są też publikacje, których autorzy nie zaobserwowali różnicy w stężeniach prokalcytoniny w przebiegu bakteryjnej posocznicy w zależności od przynależności patogenu do grupy Gram-ujemnej lub Gram-dodatniej [2].

W przypadku stwierdzenia bakteriemii ważne jest poszukiwanie wrót zakażenia. Należy pamiętać, iż w trakcie długiego procesu terapeutycznego choroby podstawowej występują zaburzenia jakościowe i ilościowe fizjologicznej flory szczególnie w obrębie przewodu pokarmowego i błon śluzowych pacjenta. Stan immunosupresji oraz toksyczne uszkodzenia błon śluzowych wywołanych agresywną chemioterapią predysponują chorych onkologicznych do występowania w ich organizmie zjawiska translokacji, co czyni przewód pokarmowy bardzo istotnym źródłem oraz wrotami zakażeń endogennych [50,164,196]. Oczywiście obecność cewnika centralnego stanowi bardzo istotne źródło i wrota zakażenia, nie można jednak poprzestawać na poszukiwaniu jednych wrót zakażenia. Costa i wsp. [38] dowodzą, iż kolonizacja cewnika może odbywać się nie tylko przez skórę, ale również drogą wstępującą. Przeprowadzili oni obszerną analizę piśmiennictwa dotyczącą źródła i wrót zakażenia w przebiegu bakteriemii wywołanych przez gronkowce koagulazoujemne (CONS). Badacze ci doszli do wniosku, że szczególnie w grupie chorych onkologicznych w przypadku bakteriemii wywołanych przez te patogeny, to właśnie błony śluzowe przewodu pokarmowego są głównymi wrotami inwazji patogenów, skąd w wyniku translokacji bakterie przedostają się do krążenia systemowego. Natomiast szczepy skórne są najczęstszą przyczyną zanieczyszczenia materiału, choć nie można też wykluczać skóry jak potencjalnego źródła czynnika etiologicznego bakteriemii.

Śledzińska analizując posocznice o etiologii *Escherichia coli* wykazała, iż najczęstszymi potencjalnymi wrotami zakażenia prowadzącego do rozwoju bakteriemii są: układ moczowo-płciowy oraz przewód pokarmowy [181]. Również Lammek [97] wykazał, że w przypadku rozwoju bakteriemii niezwiązanej z cewnikiem centralnym najczęstszymi wrotami zakażenia jest przewód pokarmowy pacjenta. Dlatego też zgodnie z zaleceniami Sameta należy monitorować skład flory błon śluzowych przewodu pokarmowego, gdyż informacje te mogą ułatwiać podejmowanie decyzji w zakresie stosowanej antybiotykoterapii [82].

O przewodzie pokarmowym jako ważnych wrotach zakażenia świadczy również fakt, iż w naszych badaniach proces infekcyjny związany pierwotnie z przewodem pokarmowym doprowadzał do wzrostu stężenia prokalcytoniny w mianie najwyższym w grupie zakażeń miejscowym, poza jednym epizodem zapalenia tkanek miękkich.

W opisanym przypadku procesu infekcyjnego obejmującego tkanki miękkie wysoki poziom prokalcytoniny należy tłumaczyć prawdopodobną bakteriami, do której mogło dojść w wyniku przeprowadzanej ekstrakcji zęba u chorego. Wzrost stężenia prokalcytoniny zaobserwowano w kolejnych dobach po zabiegu.

Z zakażeń miejscowych niektórzy autorzy opisują ciężkie zapalenie płuc jako infekcję w przebiegu, której obserwowane są podwyższone stężenia prokalcytoniny [25,90,138,168]. W naszym materiale nie dokonaliśmy takiej obserwacji, co może wynikać z faktu, iż w kilku przypadkach podejrzewaliśmy etiologię grzybiczą a nie bakteryjną toczącego się procesu zapalnego.

W wielu pracach w grupie epizodów FUO stwierdzano niższe poziomy prokalcytoniny w porównaniu z zakażeniami uogólnionymi, czy nawet miejscowymi [59,69,81,190]. Jednak są też prace, w których u pacjentów z nieustaloną przyczyną gorączki stwierdzano wysokie poziomy PCT [168]. Oczywiście można to wytłumaczyć faktem, iż przebieg zakażenia u chorego będącego w neutropenii jest zwykle skąpoobjawowy i symptomatologia kliniczna infekcji może ograniczać się wyłącznie do gorączki. Jednocześnie trudności w izolacji patogenu związane między innymi ze stosowaniem profilaktycznej antybiotykoterapii u tych pacjentów, powodują brak potwierdzenia mikrobiologicznego toczącego się w organizmie powikłania infekcyjnego. Potwierdzają to wyniki badań, w których w obrębie grupy chorych z FUO wyższe stężenia PCT stwierdzano, u pacjentów, którzy odpowiedzieli na zastosowaną empiryczną antybiotykoterapię w porównaniu z grupą, w której nie uzyskano poprawy po takim leczeniu [56].

Powikłania grzybicze u pacjentów onkologicznych będących w stanie immunosupresji stanowią wyzwanie dla klinicysty i to zarówno w ujęciu diagnostycznym jak i terapeutycznym. Szczególnie, że na przestrzeni ostatnich lat odnotowuje się istotny wzrost udziału tych patogenów w grupie czynników etiologicznych powikłań infekcyjnych u chorych hematologicznych [16,29,83,186,193]. W dotychczasowych publikacjach można odnaleźć często sprzeczne ze sobą poglądy, co do przydatności prokalcytoniny we wczesnej identyfikacji zakażenia o etiologii grzybiczej jak i w prognozowaniu jego przebiegu. Związane jest to z trudnością udokumentowania takiego zakażenia, a więc opublikowane artykuły są bądź opisem przypadków, bądź obejmują małą grupę badawczą. Kolejną trudnością w interpretowaniu wyników badań stanowi fakt, iż u chorych nawet z rozpoznaniem zakażeniem grzybiczym możliwa jest etiologia mieszana powikłania infekcyjnego mimo negatywnych wyników bakteriologicznych.

W prawdopodobnych lub potwierdzonych przypadkach inwazyjnej aspergilozy, u niemal wszystkich chorych stężenia prokalcytoniny w momencie rozpoznania pozostawały niskie lub nieznacznie podwyższone, nie przekraczając w pierwszych dobach stężenia 2 ng/ml [18,35,46,59,68,137,140,148]. W późniejszym okresie nawet po 2-4 tygodniach od rozpoznania u kilku chorych stwierdzono wzrost stężenia peptydu maksymalnie nawet do 30,7 ng/ml [46]. Jednak w badaniu obejmującym chorych po allogenicznym przeszczepie komórek krwiotwórczych już w pierwszych dobach stwierdzano podwyższone poziomy stężeń PCT w przebiegu inwazyjnej aspergilozy [141]. Ortega i wsp. [140] uważają, że u chorego, u którego gorączka utrzymuje się w 5 dobie leczenia empirycznego stężenie PCT \geq 3,0 ng/ml z dużą czułością i swoistością wskazuje na inwazyjną aspergilozę.

W kandydozach zakres stwierdzanych maksymalnych stężeń prokalcytoniny jest szeroki: 0,38 – 238 ng/ml i w odróżnieniu od zakażeń wywołanych przez grzyby pleśniowe. Wzrost ten obserwowany jest zwykle już w dniu rozpoznania zakażenia lub w najbliższych dobach [46,66].

Petrikkos i wsp. [148] na podstawie badań w grupie 44 chorych z pewną lub prawdopodobną inwazyjną aspergilozą lub kandydozą stwierdzili, że niższe

stężenia zarówno PCT jak i CRP w początkowym okresie uogólnionej reakcji zapalnej u chorych będących w grupie wysokiego ryzyka rozwoju inwazyjnej grzybicy wskazują bardziej na jej etiologię grzybiczą niż bakteryjną.

W grupie analizowanych incydentów, w których podejrzewano etiologię grzybiczą u większości chorych stężenia prokalcytoniny pozostawały niskie lub nieznacznie podwyższone i nie przekraczały wartości 2 ng/ml, poza jednym przypadkiem.

U dziecka z bezgorączkowym przebiegiem procesu infekcyjnego rozpoznano prawdopodobną wielonarządową kandydozę. Maksymalne stężenie prokalcytoniny u chorego, które jednocześnie było najwyższą wartością w badanej grupie 67 epizodów neutropenii, stwierdzono w drugiej dobie nasilenia objawów klinicznych uogólnionego procesu zapalnego, co korelowało z ciężkim stanem ogólnym dziecka. Natomiast wartości białka C-reaktywnego były stosunkowo niskie w odniesieniu do stanu klinicznego chorego i najwyższą wartość - 93,0 mg/l odnotowano dopiero w trzeciej dobie.

Obserwacja jest zgodna z danymi w literaturze [59,66], gdzie w przebiegu kandydemii odnotowywane wartości stężeń PCT były tak wysokie jak w przypadkach uogólnionych zakażeń bakteryjnych, a stężenie białka C-reaktywnego względnie niskie. W przypadkach, w których zastosowane leczenie przeciwgrzybicze było skuteczne stwierdzano stopniowe obniżanie się poziomów prokalcytoniny, co również zaobserwowano u naszego chorego.

Jednakże należy pamiętać, iż w opisanym przez nas przypadku nie można z całą pewnością wykluczyć etiologii mieszanej zakażenia. U chłopca wielokrotne posiewy krwi i innych materiałów biologicznych miały wynik negatywny, lecz wiemy, że około 50 % zakażeń, które odpowiadają na zastosowaną antybiotykoterapię nie ma potwierdzenia mikrobiologicznego [69,106,109].

W oparciu o badania własne jak i analizę piśmiennictwa wydaje się słuszny pogląd, iż prokalcytonina **nie jest dobrym parametrem wczesnej diagnostyki zakażeń o etiologii grzybiczej**, chociaż jej synteza

prawdopodobnie jest indukowana w przebiegu takiego zakażenia. PCT może mieć znaczenie prognostyczne, gdyż najwyższe jej stężenia odnotowywano najczęściej u chorych z bardzo ciężkim zakażeniami i w przypadkach zakończonych zgonem pacjenta [12,35].

Analizując badania własne stwierdzono zgodnie z wynikami Fleischhacka i wsp. [59] iż stopień toksycznego uszkodzenia śluzówek jamy ustnej nie miał wpływu na poziom stężenia PCT u chorych. Podobnej obserwacji dokonali Hambach i wsp. [73].

W naszym materiale u chorego, który otrzymał przeciwciała monoklinalne anty – CD 33 w następnej dobie odnotowano wzrost stężenia prokalcytoniny do wartości 1,01 ng/ml, mimo iż nie udokumentowano zakażenia. Poziom peptydu ulegał normalizacji w kolejnych dobach. Wysokie stężenia zarówno CRP jak i PCT stwierdzano u chorych, którym podawano przeciwciała antylimfocytarne [45,73,95,159] natomiast brak jest danych dotyczących wpływu innych przeciwciał stosowanych w terapii na surowicze stężenie prokalcytoniny. Zagadnienie to wydaje się być godne uwagi i dalszych badań.

Na podstawie przeprowadzonej przez nas analizy oznaczonych maksymalnych stężeń prokalcytoniny w odniesieniu do stanu ośrodkowego układu nerwowego stwierdziliśmy, iż u dzieci, u których występują zmiany w stanie psychicznym - nadmierna senność bądź rozdrażnienie, pobudzenie lub bardziej nasilone zaburzenia funkcjonowania centralnego układu nerwowego, stwierdzano wyższe stężenia prokalcytoniny. Wynika to z faktu, iż zmiany stanu psychicznego są konsekwencją zaburzeń krążenia mózgowego w przebiegu posocznicy. Zmiany w stanie psychicznym są wśród objawów uogólnionego zakażenia bakteryjnego sugerujących posocznice wg Younga [82]. Dlatego też zasadne wydaje się kwalifikowanie pacjentów do monitorowania stężenia prokalcytoniny w ich surowicy w przypadku nagłej zmiany ich stanu psychicznego.

Stężenie PCT koreluje z nasileniem uogólnionej reakcji zapalnej w odpowiedzi na czynnik bakteryjny oraz ze śmiertelnością [40,81,153,166]. Wartości pomiędzy 0,5 a 2,0 ng/ml wymagają uwagi klinicysty, chociaż specyficzność tego parametru wynosi wówczas jedynie 60% [179]. Stwierdzenie wysokiego stężenia prokalcytoniny zawsze wskazuje na stan zagrożenia życia pacjenta, jest niepomysłne rokowniczo i wymaga maksymalnego zintensyfikowania działań terapeutycznych. Skuteczność stosowanego leczenia odzwierciedli zmniejszająca się koncentracja tego markera.

Na podstawie przeprowadzonych badań zgodnie z opinią Fleischhacka i wsp [59,60] uważamy, iż ważne jest monitorowanie stężeń prokalcytoniny u chorych w neutropenii. Zaobserwowaliśmy, iż stężenia prokalcytoniny narastały przy braku odpowiedzi na leczenie, a gdy terapia była skuteczna zarówno stan kliniczny ulegał poprawie jak i wartości PCT normalizowały się i to szybciej niż CRP. U wszystkich dzieci epizody gorączkowe zakończyły się pomyślnie i nie stwierdzono wysokich poziomów PCT po zakończeniu epizodu infekcyjnego. Nie odnotowaliśmy również epizodu, w którym narastaniu stężeń prokalcytoniny nie towarzyszyłoby pogarszanie się stanu klinicznego dziecka. W pracach, w których powikłanie infekcyjne pod postacią posocznicy doprowadziło do zgonu chorego odnotowywano utrzymywanie się wysokich stężeń prokalcytoniny mimo stosowanej intensywnej terapii [59,81]. Inni badacze także nie zaobserwowali normalizacji stężeń peptydu bez towarzyszącej poprawy klinicznej [60,190].

Codziennie pomiary u gorączkującego dziecka będącego w neutropenii wydają się być przydatne we wczesnym wykrywaniu uogólnionych ciężkich zakażeń bakteryjnych, monitorowaniu skuteczności stosowanej w ich leczeniu antybiotykoterapii i we wczesnej identyfikacji powikłań w dotychczasowym przebiegu zakażenia. Dzięki monitorowaniu stężenia prokalcytoniny możemy wcześniej wysunąć podejrzenie wystąpienia bakteriemii przełomowych.

Prokalcytonina jest parametrem diagnostycznym bardzo zbliżonym do idealnego markera stanu zapalnego o etiologii bakteryjnej, gdyż charakteryzuje się:

- niskimi wartościami w zdrowej populacji,
- jest specyficzna dla czynnika bakteryjnego,
- po zadziałaniu czynnika indukującego jej stężenie szybko narasta,
- dalsza dynamika zmian stężeń w kolejnych dobach ma znaczenie rokownicze, koreluje z przebiegiem procesu infekcyjnego,
- jej czas półtrwania umożliwia wykorzystanie jej w praktyce klinicznej,
- cząsteczka jest stabilna w warunkach *in vitro*, nie jest wrażliwa na zmiany związane z obróbką i przechowywaniem materiału biologicznego,
- łatwa i dostępna cenowo procedura oznaczeń stężeń peptydu w surowicy lub osoczu chorego.

Stwierdzenia te znajdują potwierdzenie w obserwacjach Fleischhacka i wsp. [59,60], bowiem na podstawie przeprowadzonych badań 122 epizodów gorączki u dzieci będących w okresie neutropenii, wysnuli wniosek, że PCT jest bardziej przydatnym parametrem diagnostycznym w porównaniu z CRP. Jej stężenia narastają szybciej, ma krótszy czas półtrwania i ma większą wartość predykcyjną w stosunku do ciężkich zakażeń bakteriami Gram-ujemnymi.

7. WNIOSKI

1. Stężenie prokalcytoniny wzrasta w surowicy krwi pacjentów z chorobą nowotworową będących w stanie neutropenii z uogólnionym zakażeniem o etiologii bakteryjnej
2. PCT lepiej niż CRP różnicuje zakażenie uogólnione z lokalnym procesem infekcyjnym.
3. Nawet nieznaczne podwyższenie stężenia prokalcytoniny w pierwszej dobie gorączki u dziecka w neutropenii nasuwa podejrzenie rozwoju uogólnionej reakcji zapalnej i wymaga dalszego monitorowania.
4. Oznaczanie prokalcytoniny u chorych będących w neutropenii umożliwi bardzo wczesne wytypowanie prawdopodobnego patogenu i zwiększy odsetek skutecznej empirycznej antybiotykoterapii.
5. Monitorowanie stężeń prokalcytoniny pozwala na pośrednią ocenę skuteczności stosowanej terapii oraz umożliwia wczesną identyfikację bakteriemii przełomowej w trakcie leczenia procesu infekcyjnego.
6. Czynniki stymulujące granulocytopoezę podawane pacjentom w neutropenii prawdopodobnie mogą powodować nieznaczne podwyższenie stężenia prokalcytoniny i CRP w surowicy chorych. Zjawisko to wymaga dalszych badań.
7. Prokalcytoniny wydaje się być parametrem mało przydatnym we wczesnej diagnostyce zakażeń o etiologii grzybiczej
8. Wskazane są badania oceniające wpływ terapeutycznej podaży choremu monoklonalnych przeciwciał na stężenie prokalcytoniny w surowicy krwi.

8. STRESZCZENIE

Neutropenia jest częstym powikłaniem stosowanej agresywnej chemioterapii stosowanej u dzieci z rozpoznaną chorobą nowotworową. Stanowi ona jeden z głównych czynników ryzyka rozwoju zagrażających życiu pacjenta powikłań infekcyjnych. Dysponowanie czułymi i specyficznymi parametrami diagnostycznymi, które umożliwiłyby wczesną identyfikację takiego zagrożenia jest szczególnie pożądane przez klinicystów. Dużo nadziei budzi prokalcytoniny, która jest polipeptydem zbudowanym ze 166 aminokwasów, o masie cząsteczkowej 13kDa, który w stanie zdrowia występuje w surowicy krwi w ilościach śladowych. Jego stężenie szybko i drastycznie wzrasta po stymulacji przez czynnik bakteryjny w przebiegu uogólnionej reakcji zapalnej. Przydatność kliniczna oznaczeń stężenia prokalcytoniny u pacjentów nie będących w leukopenii została już dobrze udokumentowana. Natomiast ze względu na rozbieżne doniesienia, co do udziału leukocytów w jej syntezie i użyteczności w grupie chorych będących w neutropenii skłoniły nas do poszukiwania odpowiedzi na te pytania.

Cel badań realizowany był w latach 2003-2006 w Klinice Pediatrii, Hematologii, Onkologii i Endokrynologii AMG. Badaniami objęto 35 dzieci leczonych z powodu schorzeń onkohematologicznych., będących w stanie głębokiej neutropenii z lub bez cech klinicznych i mikrobiologicznych toczącego się procesu infekcyjnego. Stężenia prokalcytoniny monitorowano codziennie do czasu wzrostu liczby neutrofilów powyżej $100/\text{mm}^3$ i/lub ustąpienia cech infekcji. Łącznie analizie poddano 67 epizodów neutropenicznych, i dokonano 744 oznaczeń stężeń prokalcytoniny metodą ilościową, wykorzystując zestawy LUMItest[®]-PCT.

Uzyskane wyniki badań własnych poddano analizie w odniesieniu do zgromadzonych danych klinicznych obejmujących badanie fizykalne pacjenta oraz wyniki rutynowo wykonywanych badań dodatkowych

Na podstawie przeprowadzonej analizy wykazano, iż u pediatrycznych pacjentów onkologicznych, będących w stanie głębokiej neutropenii, u których nie stwierdzono obecności procesu infekcyjnego stężenie tego peptydu pozostaje niskie. Gwałtowny wzrost jego stężenia następuje w odpowiedzi na uogólnioną reakcję zapalną wywołaną przez czynnik

bakteryjny i jest on proporcjonalny do nasilenia tej reakcji. W porównaniu z CRP zdecydowanie lepiej różnicuje miejscowy proces infekcyjny od uogólnionego zakażenia.

Zgodnie z kinetyką tego parametru wskazane jest jego monitorowanie w kolejnych dobach, gdyż najwyższe jego stężenia obserwowaliśmy zwykle w drugiej dobie od wystąpienia gorączki i szczyt ten o dobę wyprzedzał maksymalne wartości stężeń białka CRP.

PCT wydaje się być również wartościowa w pośredniej ocenie skuteczności stosowanej antybiotykoterapii, co znajdowało odzwierciedlenie w obniżaniu się jej stężenia w kolejnych dobach i korelowało z poprawą stanu klinicznego. Dzięki sekwencyjnemu oznaczaniu prokalcytoniny mamy szansę na wczesne wykrycie rozwoju bakteriemii przełomowej u chorego z niewłaściwie stosowaną antybiotykoterapią.

Oznaczanie prokalcytoniny może być pomocne we wstępnym różnicowaniu zanieczyszczenia materiału biologicznego lub kolonizacji cewnik centralnego od możliwej posocznicy odcewnikowej.

Warto dokonywać oznaczeń tego parametru nie tylko u chorych z towarzyszącą gorączką, ale zawsze, gdy stwierdzimy nagłą zmianę w jego stanie psychicznym i gdy stwierdzimy jakikolwiek objaw nasuwający podejrzenie procesu infekcyjnego.

Przydatność tego parametru we wczesnej diagnostyce zakażeń grzybiczych wydaje się być wątpliwa, choć u chorego z podejrzeniem uogólnionego zakażenia grzybiczego z towarzyszącą uogólnioną reakcją zapalną stwierdzono najwyższy z całego badania poziom PCT.

Dalszej uwagi oraz badań na większym materiale klinicznym wymaga ocena wpływu podaży chorem GCSF, jak i przeciwciał monoklinalnych anti-CD33 na stężenie prokalcytoniny w ich surowicy krwi.

Przeprowadzone przez nas badania umożliwiły realizację postawionego celu i wskazują na zasadność oznaczania i monitorowania stężeń prokalcytoniny w surowicy krwi dzieci będących w głębokiej neutropenii w celu wczesnej diagnostyki i oceny przebiegu uogólnionych powikłań bakteryjnych.

PIŚMIENNICTWO

1. Al-Nawas B, Shah P. Procalcitonin in acute malaria. *Eur J Med Res.* 1997;2(5):206-8.
2. Al-Nawas B, Shah PM. Procalcitonin in patients with and without immunosuppression and sepsis. *Infection.* 1996;24(6):434-6.
3. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med.* 1992;20(6):864-74.
4. Ammann RA, Aebi C, Hirt A, Ridolfi Luthy A. Fever in neutropenia in children and adolescents: evolution over time of main characteristics in a single center, 1993-2001. *Support Care Cancer.* 2004;12(12):826-32.
5. Aouifi A, Piriou V, Bastien O, Blanc P, Bouvier H, Evans R, Celard M, Vandenesch F, Rousson R, Lehot JJ. Usefulness of procalcitonin for diagnosis of infection in cardiac surgical patients. *Crit Care Med.* 2000;28(9):3171-6.
6. Ariffin H, Navaratnam P, Lin HP. Surveillance study of bacteraemic episodes in febrile neutropenic children. *Int J Clin Pract.* 2002;56(4):23740.
7. Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet.* 1993;341(8844):515-8.
8. Balog A, Ocsovszki I, Mandi Y. Flow cytometric analysis of procalcitonin expression in human monocytes and granulocytes. *Immunol Lett.* 2002;84(3):199-203.
9. Barnes C, Ignjatovic V, Newall F, Carlin J, Ng F, Hamilton S, Ashley D, Waters K, Monagle P. Change in serum procalcitonin (deltaPCT) predicts the clinical outcome of children admitted with febrile neutropenia. *Br J Haematol.* 2002;118(4):1197-8.
10. Bautembach-Minkowska J. Powikłania gastroenterotoksyczne i ich odwracalność u dzieci leczonych z powodu ostrych białaczek. Praca doktorska. Gdańsk, 2006.
11. Baykut D, Schulte-Herbruggen J, Krian A. The value of procalcitonin as an infection marker in cardiac surgery. *Eur J Med Res.* 2000; 29;5(12):530-6.

12. Beaune G, Bienvenu F, Pondarre C, Monneret G, Bienvenu J, Souillet G. Serum procalcitonin rise is only slight in two cases of disseminated aspergillosis. *Infection*. 1998;26(3):168-9.
13. Becker KL, Nylen ES, Snider RH, Muller B, White JC. Immunoneutralization of procalcitonin as therapy of sepsis. *J Endotoxin Res*. 2003;9(6):367-74.
14. Benador N, Siegrist CA, Gendrel D, Greder C, Benador D, Assicot M, Bohuon C, Girardin E. Procalcitonin is a marker of severity of renal lesions in pyelonephritis. *Pediatrics*. 1998;102(6):1422-5.
15. Bernard L, Ferriere F, Casassus P, Malas F, Leveque S, Guillevin L, Lortholary O. Procalcitonin as an early marker of bacterial infection in severely neutropenic febrile adults. *Clin Infect Dis*. 1998;27(4):914-5.
16. Blijlevens NM, Donnelly JP, De Pauw BE. Microbiologic consequences of new approaches to managing hematologic malignancies. *Rev Clin Exp Hematol*. 2005;9(2):E2.
17. Blijlevens NM, Donnelly JP, De Pauw BE. Mucosal barrier injury: biology, pathology, clinical counterparts and consequences of intensive treatment for haematological malignancy: an overview. *Bone Marrow Transplant*. 2000;25(12):1269-78.
18. Blijlevens NM, Donnelly JP, Meis JF, De Keizer MH, De Pauw BE. Procalcitonin does not discriminate infection from inflammation after allogeneic bone marrow transplantation. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2000;7(6):889-92.
19. Bodey GP, Buckley M, Sathe YS, Freireich EJ. Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med*. 1966;64(2):328-40.
20. Bodey GP. Unusual presentations of infection in neutropenic patients. *Int J Antimicrob Agents*. 2000;16(2):93-5.
21. Bogar L, Molnar Z, Tarsoly P, Kenyeres P, Marton S. Serum procalcitonin level and leukocyte antisedimentation rate as early predictors of respiratory dysfunction after oesophageal tumour resection. *Crit Care*. 2006;10(4):R110.
22. Brunkhorst FM, Heinz U, Forycki ZF. Kinetics of procalcitonin in iatrogenic sepsis. *Intensive Care Med*. 1998;24(8):888-9.
23. Brunkhorst FM, Wegscheider K, Forycki ZF, Brunkhorst R. Procalcitonin for early diagnosis and differentiation of SIRS, sepsis, severe sepsis, and septic shock. *Intensive Care Med*. 2000; 26(supl.):148-152.

24. Capdevila JA, Planes AM, Palomar M, Gasser I, Almirante B, Pahissa A, Crespo E, Martinez-Vazquez JM. Value of differential quantitative blood cultures in the diagnosis of catheter-related sepsis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1992;11(5):403-7.
25. Carrol ED, Thomson AP, Hart CA. Procalcitonin as a marker of sepsis. *Int J Antimicrob Agents.* 2002;20(1):1-9.
26. Carsin H, Assicot M, Feger F, Roy O, Pennacino I, Le Bever H, Ainaud P, Bohuon C. Evolution and significance of circulating procalcitonin levels compared with IL-6, TNF alpha and endotoxin levels early after thermal injury. *Burns.* 1997;23(3):218-24.
27. Casl MT, Rogina B, Glojnaric-Spasic I, Minigo H, Planinc-Peraica A, Jaksic B. The differential diagnostic capacity of serum amyloid A protein between infectious and non-infectious febrile episodes of neutropenic patients with acute leukemia. *Leuk Res.* 1994;18(9):665-70.
28. Castagnola E, Caviglia I, Pistorio A, Fioredda F, Micalizzi C, Viscoli C, Haupt R. Bloodstream infections and invasive mycoses in children undergoing acute leukaemia treatment: a 13-year experience at a single Italian institution. *Eur J Cancer.* 2005;41(10):1439-45.
29. Castagnola E, Cesaro S, Giacchino M, Livadiotti S, Tucci F, Zanazzo G, Caselli D, Caviglia I, Parodi S, Rondelli R, Cornelli PE, Mura R, Santoro N, Russo G, De Santis R, Buffardi S, Viscoli C, Haupt R, Rossi MR. Fungal infections in children with cancer: a prospective, multicenter surveillance study. *Pediatr Infect Dis J.* 2006;25(7):634-9.
30. Castelli GP, Pognani C, Cita M, Stuani A, Sgarbi L, Paladini R. Procalcitonin, C-reactive protein, white blood cells and SOFA score in ICU: diagnosis and monitoring of sepsis. *Minerva Anestesiol.* 2006;72(1-2):69-80.
31. Celebi S, Koner O, Menda F, Balci H, Hatemi A, Korkut K, Esen F. Procalcitonin kinetics in pediatric patients with systemic inflammatory response after open heart surgery. *Intensive Care Med.* 2006;32(6):881-7
32. Chiwakata CB, Manegold C, Bonicke L, Waase I, Julch C, Dietrich M. Procalcitonin as a parameter of disease severity and risk of mortality in patients with *Plasmodium falciparum* malaria. *J Infect Dis.* 2001;183(7):1161-4
33. Christ-Crain M, Muller B. Procalcitonin in bacterial infections--hype, hope, more or less? *Swiss Med Wkly.* 2005;135(31-32):451-60.
34. Christensen MS, Heyman M, Mottonen M, Zeller B, Jonmundsson G, Hasle H; Nordic Society of Paediatric Haematology and Oncology (NOPHO). Treatment-related death in childhood acute lymphoblastic

- leukaemia in the Nordic countries: 1992-2001. *Br J Haematol.* 2005;131(1):50-8.
35. Christofilopoulou S, Charvalos E, Petrikkos G. Could procalcitonin be a predictive biological marker in systemic fungal infections?. Study of 14 cases. *Eur J Intern Med.* 2002;13(8):493-495.
36. Ciaccio M, Fugardi G, Titone L, Romano A, Giordano S, Bivona G, Scarlata F, Vocca L, Di Gangi M. Procalcitonin levels in plasma in oncohaematologic patients with and without bacterial infections. *Clin Chim Acta.* 2004;340(1-2):149-52.
37. Cornely OA, Schirmacher P. Clinical picture: Bacterial translocation in neutropenic sepsis. *Lancet.* 2001;358(9296):1842.
38. Costa SF, Miceli MH, Anaissie EJ. Mucosa or skin as source of coagulase-negative staphylococcal bacteraemia? *Lancet Infect Dis.* 2004;4(5):278-86.
39. Crockaert F. Febrile neutropenia In children. *Int J Antimicrob Agents.* 2000;16: 173-176.
40. Dandona P, Nix D, Wilson MF, Aljada A, Love J, Assicot M, Bohuon C. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;79(6):1605-8.
41. Davila ML. Neutropenic enterocolitis. *Curr Opin Gastroenterol.* 2006;22(1):44-7.
42. de Bont ES, Vellenga E, Swaanenburg J, Kamps W. Procalcitonin: a diagnostic marker of bacterial infection in neutropenic cancer patients with fever? *Infection.* 2000;28(6):398-400.
43. Dehne MG, Sablotzki A, Hoffmann A, Muhling J, Dietrich FE, Hempelmann G. Alterations of acute phase reaction and cytokine production in patients following severe burn injury. *Burns.* 2002;28(6):535-42.
44. Distefano G, Curreri R, Betta P, Romeo MG, Amato M. Procalcitonin serum levels in perinatal bacterial and fungal infection of preterm infants. *Acta Paediatr.* 2004;93(2):216-9.
45. Dornbusch HJ, Strenger V, Kerbl R, Lackner H, Schwinger W, Sovinz P, Urban C. Procalcitonin and C-reactive protein do not discriminate between febrile reaction to anti-T-lymphocyte antibodies and Gram-negative sepsis. *Bone Marrow Transplant.* 2003;9:941-5.

46. Dornbusch HJ, Strenger V, Kerbl R, Lackner H, Schwinger W, Sovinz P, Urban C. Procalcitonin--a marker of invasive fungal infection? Support Care Cancer. 2005;13(5):343-6.
47. Douard MC, Arlet G, Leverger G, Paulien R, Waintrop C, Clementi E, Eurin B, Schaison G. Quantitative blood cultures for diagnosis and management of catheter-related sepsis in pediatric hematology and oncology patients. Intensive Care Med. 1991;17(1):30-5.
48. Dubos F, Moulin F, Gajdos V, De Suremain N, Biscardi S, Lebon P, Raymond J, Breart G, Gendrel D, Chalumeau M. Serum procalcitonin and other biologic markers to distinguish between bacterial and aseptic meningitis. J Pediatr. 2006;149(1):72-6.
49. Dylewska K, Wysocki M, Odrowąż-Sypniewska G, Kurylak A, Jankowska A. Prokalcytonina i białko C-reaktywne u gorączkujących dzieci z chorobą nowotworową w okresie neutropenii. Pediatr. Pol. 2005;80(2):175-179.
50. Dzierżanowska D, Krysztoń J, Pawińska A. Zakażenia u chorych onkologicznych. Red. Dzierżanowska D, Jeljaszewicz J. Zakażenia szpitalne. Wydanie I. α- medica press, Bielsko-Biała 1999; 241- 252,
51. Dzierżanowska D, Łopaciuk U. Posocznica i bakteriologiczne badanie krwi. Med. Prakt.1998(5)supl:3-9.
52. Eberhard OK, Haubitz M, Brunkhorst FM, Kliem V, Koch KM, Brunkhorst R. Usefulness of procalcitonin for differentiation between activity of systemic autoimmune disease (systemic lupus erythematosus/systemic antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis) and invasive bacterial infection. Arthritis Rheum. 1997;40(7):1250-6.
53. Ek T, Pinkava M, Abrahamsson J. Ara-C fever and infections after high-dose ara-C treatment in pediatric lymphoid malignancies. J Pediatr Hematol Oncol. 2005;27(7):364-9.
54. Engel A, Kern WV, Murdter G, Kern P. Kinetics and correlation with body temperature of circulating interleukin-6, interleukin-8, tumor necrosis factor alpha and interleukin-1 beta in patients with fever and neutropenia. Infection. 1994;22(3):160-4.
55. Engel A, Steinbach G, Kern P, Kern WV. Diagnostic value of procalcitonin serum levels in neutropenic patients with fever: comparison with interleukin-8. Scand J Infect Dis. 1999;31(2):185-9.
56. Erten N, Genc S, Besisik SK, Saka B, Karan MA, Tascioglu C. The predictive and diagnostic values of procalcitonin and C-reactive protein for clinical outcome in febrile neutropenic patients. J Chin Med Assoc. 2004;67(5):217-21.

57. Falcoz PE, Laluc F, Toubin MM, Puyraveau M, Clement F, Mercier M, Chocron S, Etievent JP. Usefulness of procalcitonin in the early detection of infection after thoracic surgery. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2005;27(6):1074-8.
58. Fatkenheuer G, Cornely O, Seifert H. Clinical management of catheter-related infections. *Clin Microbiol Infect.* 2002;8(9):545-50.
59. Fleischhack G, Cipic D, Juettner J, Hasan C, Bode U. Procalcitonin - a sensitive inflammation marker of febrile episodes in neutropenic children with cancer. *Intensive Care Med.* 2000, 26 suppl.2: 202-211.
60. Fleischhack G, Kambeck I, Cipic D, Hasan C, Bode U. Procalcitonin in paediatric cancer patients: its diagnostic relevance is superior to that of C-reactive protein, interleukin 6, interleukin 8, soluble interleukin 2 receptor and soluble tumour necrosis factor receptor II. *Br J Haematol.* 2000;111(4):1093-102.
61. Franklin, J. A., Gaur, A.H., Shenep J.L., Hu, X.J., Flynn P.M. In situ diagnosis of central venous catheter-related bloodstream infection without peripheral blood culture. *Pediatr Infect Dis J.* 2004;23(7):614-618.
62. Frydecka I. Zaburzenia funkcji układu odpornościowego u chorych na schorzenia nowotworowe układu krwiotwórczego i limforetikularnego. *Acta Hematol. Pol.* 1997;28 suppl. 2: XVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów.40-49.
63. Gaur AH, Flynn PM, Heine DJ, Giannini MA, Shenep JL, Hayden RT. Diagnosis of catheter-related bloodstream infections among pediatric oncology patients lacking a peripheral culture, using differential time to detection. *Pediatr Infect Dis J.* 2005;24(5):445-9.
64. Gendrel D, Raymond J, Assicot M, Moulin F, Iniguez JL, Lebon P, Bohuon C. Measurement of procalcitonin levels in children with bacterial or viral meningitis. *Clin Infect Dis.* 1997;24(6):1240-2.
65. Geppert A, Steiner A, Delle-Karth G, Heinz G, Huber K. Usefulness of procalcitonin for diagnosing complicating sepsis in patients with cardiogenic shock. *Intensive Care Med.* 2003;29(8):1384-9.
66. Gerard Y, Hober D, Petitjean S, Assicot M, Bohuon C, Mouton Y, Wattré P. High serum procalcitonin level in a 4-year-old liver transplant recipient with a disseminated candidiasis. *Infection.* 1995;23(5):310-1.
67. Ghillani PP, Motte P, Troalen F, Jullienne A, Gardet P, Le Chevalier T, Rougier P, Schlumberger M, Bohuon C, Bellet D. Identification and measurement of calcitonin precursors in serum of patients with malignant diseases. *Cancer Res.* 1989;49(23):6845-51.

68. Giamarellos-Bourboulis EJ, Grecka P, Poulakou G, Anargyrou K, Katsilambros N, Giamarellou H. Assessment of procalcitonin as a diagnostic marker of underlying infection in patients with febrile neutropenia. *Clin Infect Dis.* 2001;32(12):1718-25.
69. Giamarellou H, Giamarellos-Bourboulis EJ, Repoussis P, Galani L, Anagnostopoulos N, Grecka P, Lubos D, Aoun M, Athanassiou K, Bouza E, Devigili E, Krcmery V, Menichetti F, Panaretou E, Papageorgiou E, Plachouras D. Potential use of procalcitonin as a diagnostic criterion in febrile neutropenia: experience from a multicentre study. *Clin Microbiol Infect.* 2004;10(7):628-33.
70. Goldstein B, Giroir B, Randolph A. International Consensus Conference on Pediatric Sepsis. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med.* 2005;6(1):2-8.
71. Gonzalez-Barca E, Fernandez-Sevilla A, Carratala J, Granena A, Gudiol F. Prospective study of 288 episodes of bacteremia in neutropenic cancer patients in a single institution. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1996;15(4):291-6.
72. Guibourdenche J, Bedu A, Petzold L, Marchand M, Mariani-Kurdjian P, Hurtaud-Roux MF, Aujard Y, Porquet D. Biochemical markers of neonatal sepsis: value of procalcitonin in the emergency setting. *Ann Clin Biochem.* 2002;39(Pt 2):130-5.
73. Hambach L, Eder M, Dammann E, Schrauder A, Sykora KW, Dieterich C, Kirschner P, Novotny J, Ganser A, Hertenstein B. Diagnostic value of procalcitonin serum levels in comparison with C-reactive protein in allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica.* 2002;87(6):643-51.
74. Hann I, Viscoli C, Paesmans M, Gaya H, Glauser M. A comparison of outcome from febrile neutropenic episodes in children compared with adults: results from four EORTC studies. International Antimicrobial Therapy Cooperative Group (IATCG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Br J Haematol.* 1997;99(3):580-8.
75. Heney D, Lewis IJ, Evans SW, Banks R, Bailey CC, Whicher JT. Interleukin-6 and its relationship to C-reactive protein and fever in children with febrile neutropenia. *J Infect Dis.* 1992;165(5):886-90.
76. Hitoglou-Hatzi S, Hatzistilianou M, Gougoustamou D, Rekliti A. Serum adenosine deaminase and procalcitonin concentrations in neutropenic febrile children with acute lymphoblastic leukaemia. *Clin Exp Med.* 2005;5(2):60-65.

77. Hoffmann G, Czechowski M, Schloesser M, Schobersberger W. Procalcitonin amplifies inducible nitric oxide synthase gene expression and nitric oxide production in vascular smooth muscle cells. *Crit Care Med.* 2002;30(9):2091-5.
78. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med.* 2003 Jan 9;348(2):138-50.
79. Hryckiewicz K, Juszczak J, Samet A, Arłukowicz E, Śledzińska A, Bolewska B. Prokalcytonina jako marker diagnostyczny zespołu uogólnionej reakcji zapalnej (SIRS) i posocznicy. *Prz. Epidemiol.* 2006;60(1):7-15.
80. Jebali MA, Jaber H, Shimi N, Guerhazi M, Ferjani M. Procalcitonin as a prognosis and diagnosis aid in post-operative cardiac surgery. *Abstrakt. Tunis Med.* 2006 Apr;84(4):213-7.
81. Jimeno A, Garcia-Velasco A, del Val O, Gonzalez-Billalabeitia E, Hernando S, Hernandez R, Sanchez-Munoz A, Lopez-Martin A, Duran I, Robles L, Cortes-Funes H, Paz-Ares L. Assessment of procalcitonin as a diagnostic and prognostic marker in patients with solid tumors and febrile neutropenia. *Cancer.* 2004;100(11):2462-9.
82. Juszczak J, Samet A. *Posocznica.* Grupa Via Medica, Gdańsk 2006.
83. Kanamaru A, Tatsumi Y. Microbiological data for patients with febrile neutropenia. *Clin Infect Dis.* 2004;39 suppl 1:7-10.
84. Karpel E. Prokalcytonina – marker ogólnoustrojowego zakażenia. *Zakażenia* 2003;1:118-123.
85. Kennedy HF, Morrison D, Kaufmann ME, Jackson MS, Bagg J, Gibson BE, Gemmell CG, Michie JR. Origins of *Staphylococcus epidermidis* and *Streptococcus oralis* causing bacteraemia in a bone marrow transplant patient. *J Med Microbiol.* 2000;49(4):367-70.
86. Kępa I, Oczko-Grzesik B, Bledowski D. Prokalcytonina (PCT) w płynie mózgowo-rdzeniowym i w surowicy chorych z bakteryjnymi, ropnymi i limfocytarnymi zapaleniami opon i mózgu u dorosłych – obserwacje własne. *Przeegl Epidemiol,* 2005: 59(3):703-709.
87. Kibbler CC, Prentice HG. Pathogen 'shift' in febrile neutropenia. *Curr Opin Infect Dis.* 1999;12(4):351-4.
88. Kindracka A, Wysocki M, Wojak I, Kołtan S, Kołtan A, Osińska-Królak M, Kurylak A, Balcar-Boroń A. Bakteriemia u gorączkujących dzieci z chorobą nowotworową w okresie neutropenii. *Pediat. Pol.* 1999;74(3):219-225.

89. Korczowski B, Bijoś A, Rybak A. Prokalcytonina w diagnostyce różnicowej ropnego i surowiczego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych u dzieci. *Pol Merk Lek* 2000;9(53): 755-7.
90. Korczowski B. Prokalcytonina przydatność diagnostyczna w pediatrii I neonatologii: rozprawa habilitacyjna. Wydaw. Uniwersytetu Rzeszowskiego, Rzeszów 2004.
91. Korczowski B. Prokalcytonina-nowy parametr ostrej fazy. *Pediatr. Pol.* 1998;73,(2):95-100
92. Krawczyk-Kuliś M. Leczenie zakażeń u chorych z neutropenią. *Mikrobiologia Medycyna* 1998;2(15):42-44.
93. Kretschmar M, Kruger A, Schirrmeyer W. Procalcitonin following elective partial liver resection--origin from the liver? *Acta Anaesthesiol Scand.* 2001;45(9):1162-7.
94. Krzankowski M. Zakażenia u chorych z neutropenią po chemioterapii. Zapobieganie i leczenie. *Nowotwory* 1995;45, supl. 2: 23-33
95. Kuse ER, Jaeger K. Procalcitonin increase after anti-CD3 monoclonal antibody therapy does not indicate infectious disease. *Transpl Int.* 2001;14(1):55
96. Lacour AG, Gervais A, Zamora SA, Vadas L, Lombard PR, Dayer JM, Suter S. Procalcitonin, IL-6, IL-8, IL-1 receptor antagonist and C-reactive protein as identifiers of serious bacterial infections in children with fever without localising signs. *Eur J Pediatr.* 2001;160(2):95-100.
97. Lammek J. Ocena rozpoznawania i leczenia powikłań związanych z zakładaniem i przedłużoną obecnością cewników w żyłach centralnych u dzieci z chorobami onkologicznymi krwi. Praca doktorska. Gdańsk 2002.
98. Le Moullec JM, Jullienne A, Chenais J, Lasmoles F, Guliana JM, Milhaud G, Moukhtar MS. The complete sequence of human preprocalcitonin. *FEBS Lett.* 1984;167(1):93-7.
99. Leroy S, Adamsbaum C, Marc E, Moulin F, Raymond J, Gendrel D, Breart G, Chalumeau M. Procalcitonin as a predictor of vesicoureteral reflux in children with a first febrile urinary tract infection. *Pediatrics.* 2005;115(6):706-9.
100. Leroy S, Romanello C, Galetto-Lacour A, Smolkin V, Korczowski B, Rodrigo C, et al. Procalcitonin to reduce the number of unnecessary cystographies in children with a urinary tract infection: a European validation study. *J Pediatr.* 2007;150(1):89-95.

101. Levenga H, Donnelly P, Blijlevens N, Verweij P, Shirango H, de Pauw B. Fatal hemorrhagic pneumonia caused by infection due to *Kytococcus sedentarius*--a pathogen or passenger? *Ann Hematol.* 2004;83(7):447-9.
102. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G; SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med.* 2003;31(4):1250-6.
103. Linscheid P, Seboek D, Schaer DJ, Zulewski H, Keller U, Muller B. Expression and secretion of procalcitonin and calcitonin gene-related peptide by adherent monocytes and by macrophage-activated adipocytes. *Crit Care Med.* 2004;32(8):1715-21.
104. Lipińska-Gediga M, Mierzchała M, Kübler A, Kustrzycki W, Pelczar M. Interleukina-6 i prokalcytonina - wartość prognostyczna i dyskryminacyjna oznaczeń u pacjentów oddziału intensywnej terapii i poddanych rozległym zabiegom operacyjnym. *Pol. Prz. Kard.* 2004; 6(1):57-62.
105. Llewelyn M, Cohen J. International Sepsis Forum. Diagnosis of infection in sepsis. *Intensive Care Med.* 2001;27 suppl 1:10-32.
106. Maj S. Leczenie zakażeń u chorych z neutropenią. *Nowa Medycyna* 1997;4(22):3- 6.
107. Manegold C, Schmiedel S, Chiwakata CB, Dietrich M. Procalcitonin serum levels in tertian malaria. *Malar J.* 2003;16(2):34.
108. Maruna P, Nedelnikova K, Gurlich R. Physiology and genetics of procalcitonin. *Physiol Res.* 2000;49.supl.1:57-61.
109. Matysiak M. Zakażenia bakteryjne u pacjentów onkologicznych w neutropenii. *Przegl Lek.* 2003;60 suppl 5:54-7.
110. McCarville MB, Adelman CS, Li C, Xiong X, Furman WL, Razzouk BI, Pui CH, Sandlund JT. Typhlitis in childhood cancer. *Cancer.* 2005;104(2):380-7.
111. Meisner M. Biomarkers of sepsis: clinically useful? *Curr Opin Crit Care.* 2005;11(5):473-80.
112. Meisner M. Pathobiochemistry and clinical use of procalcitonin. *Clin Chim Acta.* 2002;323(1-2):17-29.
113. Meisner M. Prokalcytonin (PCT). A new, innovative infection parameter. Biochemical and clinical aspects. 3rd edition. Georg Thieme Verlag. Stuttgart. New York. 2000.

114. 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(1):R1 1-10.
115. Meisner M, Muller V, Khakpour Z, Toegel E, Redl H. Induction of procalcitonin and proinflammatory cytokines in an anhepatic baboon endotoxin shock model. *Shock*. 2003;19(2):187-90.
116. Meisner M, Tschaikowsky K, Schnabel S, Schmidt J, Katalinic A, Schuttler J. Procalcitonin--influence of temperature, storage, anticoagulation and arterial or venous asservation of blood samples on procalcitonin concentrations. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1997;35(8):597-601.
117. Mermel LA, Farr BM, Sherertz RJ, Raad II, O'Grady N, Harris JS, Craven DE; Infectious Diseases Society of America; American College of Critical Care Medicine; Society for Healthcare Epidemiology of America. Guidelines for the management of intravascular catheter-related infections. *Clin Infect Dis*. 2001;32(9):1249-72.
118. Mikula T, Przyjałkowski W, Rzymkowska J, Grygiel K. Prokalcytonina – znaczenie kliniczne i kierunki badań. *Pol Arch Med Wewn*. 2004;111(2):259-63.
119. Mimoz O, Benoist JF, Edouard AR, Assicot M, Bohuon C, Samii K.. Procalcitonin and C-reactive protein during the early posttraumatic systemic inflammatory response syndrome. *Intensive Care Med*. 1998;24(2):185-8.
120. Modrzewska M, Semczuk K, Gabinska E, Zareba H, Dzierzanowska D. Mikrobiologiczna analiza wyników posiewów próbek krwi pobranych od dzieci z oddziałów: Gastroenterologii, Onkologii oraz Dziennego Chemioterapii Instytutu Pomnika –Centrum Zdrowia Dziecka w latach 1999 – 2002. *Przeegl Epidemiol*. 2004;58(4):609-19.
121. Molter GP, Soltesz S, Kottke R, Wilhelm W, Biedler A, Silomon M. Procalcitonin plasma concentrations and systemic inflammatory response following different types of surgery. *Abstrakt. Anaesthesist*. 2003;52(3):210-7.
122. Monneret G, Arpin M, Venet F, Maghni K, Debard AL, Pachot A, Lepape A, Bienvenu J. Calcitonin gene related peptide and N-procalcitonin modulate CD11b upregulation in lipopolysaccharide activated monocytes and neutrophils. *Intensive Care Med*. 2003;29(6):923-8.

123. Monneret G, Laroche B, Bienvenu J. Procalcitonin is not produced by circulating blood cells. *Infection*. 1999;27(1):34-5.
124. Monneret G, Pachot A, Laroche B, Picollet J, Bienvenu J. Procalcitonin and calcitonin gene-related peptide decrease LPS-induced tnf production by human circulating blood cells. *Cytokine*. 2000;12(6):762-4.
125. Morgenthaler NG, Struck J, Chancerelle Y, Weglohner W, Agay D, Bohuon C, Suarez-Domenech V, Bergmann A, Muller B. Production of procalcitonin (PCT) in non-thyroidal tissue after LPS injection. *Horm Metab Res*. 2003;35(5):290-5.
126. Muller B, Becker KL. Procalcitonin: how a hormone became a marker and mediator of sepsis. *Swiss Med Wkly*. 2001;131(41-42):595-602.
127. Muller B, Becker KL, Kranzlin M, Schachinger H, Huber PR, Nylen ES, Snider RH, White JC, Schmidt-Gayk H, Zimmerli W, Ritz R. Disordered calcium homeostasis of sepsis: association with calcitonin precursors. *Eur J Clin Invest*. 2000;30(9):823-31.
128. Muller B, White JC, Nylen ES, Snider RH, Becker KL, Habener JF. Ubiquitous expression of the calcitonin-i gene in multiple tissues in response to sepsis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(1):396-404.
129. Muller CA, Uhl W, Printzen G, Gloor B, Bischofberger H, Tcholakov O, Buchler MW. Role of procalcitonin and granulocyte colony stimulating factor in the early prediction of infected necrosis in severe acute pancreatitis. *Gut*. 2000;46(2):233-8.
130. Neely AN, Fowler LA, Kagan RJ, Warden GD. Procalcitonin in pediatric burn patients: an early indicator of sepsis? *J Burn Care Rehabil*. 2004;25(1):76-80.
131. Nijsten MW, Olinga P, Hoekstra HJ. In vitro and in vivo stimulation of procalcitonin by TNF α and IL-6. *J Anaesth Intensivbehandlung*. 2001; 2:58-60.
132. Nijsten MW, Olinga P, The TH, de Vries EG, Koops HS, Groothuis GM, Limburg PC, ten Duis HJ, Moshage H, Hoekstra HJ, Bijzet J, Zwaveling JH. Procalcitonin behaves as a fast responding acute phase protein in vivo and in vitro. *Crit Care Med*. 2000;28(2):458-61.
133. Nishikura T. Procalcitonin (PCT) production in a thyroidectomized patient. *Intensive Care Med*. 1999;25(9):1031.
134. Nylen ES, Al Arifi A, Becker KL, Snider RH Jr, Alzeer A. Effect of classic heatstroke on serum procalcitonin. *Crit Care Med*. 1997;25(8):1362-5.

135. Nylen ES, Whang KT, Snider RH Jr, Steinwald PM, White JC, Becker KL. Mortality is increased by procalcitonin and decreased by an antiserum reactive to procalcitonin in experimental sepsis. *Crit Care Med.* 1998;26(6):1001-6.
136. Oberhoffer M, Karzai W, Meier-Hellmann A, Reinhart K. Procalcitonin Ein neuer diagnostischer Parameter bei schweren Infektionen und Sepsis. *Abstrakt. Anaesthesist.* 1998;47(7):581-7.
137. Oberhoffer M, Stonans I, Russwurm S, Stonane E, Vogelsang H, Junker U, Jager L, Reinhart K. Procalcitonin expression in human peripheral blood mononuclear cells and its modulation by lipopolysaccharides and sepsis-related cytokines in vitro. *J Lab Clin Med.* 1999;134(1):49-55.
138. Oberhoffer M, Vogelsang H, Jager L, Reinhart K. Katalcalcin and calcitonin immunoreactivity in different types of leukocytes indicate intracellular procalcitonin content. *J Crit Care.* 1999;14(1):29-33.
139. Oconnor E, Venkatesh B, Mashongonyika C, Lipman J, Hall J, Thomas P. Serum procalcitonin and C-reactive protein as markers of sepsis and outcome in patients with neurotrauma and subarachnoid haemorrhage. *Anaesth Intensive Care.* 2004;32(4):465-70.
140. Ortega M, Rovira M, Filella X, Almela M, Puig de la Bellacasa J, Carreras E, Mensa J. Prospective evaluation of procalcitonin in adults with febrile neutropenia after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2004;126(3):372-6.
141. Ortega M, Rovira M, Filella X, Martinez JA, Almela M, Puig J, Carreras E, Mensa J. Prospective evaluation of procalcitonin in adults with non-neutropenic fever after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2006;37(5):499-502.
142. Osmańska M, Szymankiewicz M, Tujakowski J, Janicka G. Monitorowanie bakteriemii u pacjentów nowotworowych. *Prz. Epidemiol.* 2001;55(supl 3):41-5.
143. Pawińska A, Dzierżanowska D. Posocznica odcewnikowa. *Przegł Epidemiol.* 2002;56(3):443-52.
144. Penel N, Fournier C, Degardin M, Kouto H, N'Guyen M. Fièvre et tumeur solide : valeur diagnostique de la procalcitonine et de la protéine C réactive. *Abstrakt. Rev Med Interne.* 2001;22(8):706-14.
145. Persson L, Soderquist B, Engervall P, Vikerfors T, Hansson LO, Tidefelt U. Assessment of systemic inflammation markers to differentiate a stable

- from a deteriorating clinical course in patients with febrile neutropenia. *Eur J Haematol.* 2005;74(4):297 – 303.
146. Persson L, Engervall P, Magnuson A, Vikerfors T, Soderquist B, Hansson LO, Tidefelt U. Use of inflammatory markers for early detection of bacteraemia in patients with febrile neutropenia. *Scand J Infect Dis.* 2004;36(5):365-71.
147. Peters RP, Twisk JW, van Agtmael MA, Groeneveld AB. The role of procalcitonin in a decision tree for prediction of bloodstream infection in febrile patients. *Clin Microbiol Infect.* 2006;12(12):1207-13.
148. Petrikos GL, Christofilopoulou SA, Tentolouris NK, Charvalos EA, Kosmidis CJ, Daikos GL. Value of measuring serum procalcitonin, C-reactive protein, and mannan antigens to distinguish fungal from bacterial infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2005;24(4):272-5.
149. Pihusch M, Pihusch R, Fraunberger P, Pihusch V, Andreesen R, Kolb HJ, Holler E. Evaluation of C-reactive protein, interleukin-6, and procalcitonin levels in allogeneic hematopoietic stem cell recipients. *Eur J Haematol.* 2006;76(2):93-101.
150. Purkayastha S, Chow A, Athanasiou T, Cambaroudis A, Panesar S, Kinross J, Tekkis P, Darzi A. Does serum procalcitonin have a role in evaluating the severity of acute pancreatitis? A question revisited. *World J Surg.* 2006;30(9):1713-21.
151. Raynes JG, Cooper EH. Comparison of serum amyloid A protein and C-reactive protein concentrations in cancer and non-malignant disease. *J Clin Pathol.* 1983;36(7):798-803.
152. Reimer LG, Wilson ML, Weinstein MP. Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clin Microbiol Rev.* 1997;10(3):444-65.
153. Reinhart K, Karzai W, Meisner M. Procalcitonin as a marker of the systemic inflammatory response to infection. *Intensive Care Med.* 2000;26(9):1193-200.
154. Reinhart K, Meisner M, Hartog C. Diagnosis of sepsis: novel and conventional parameters. *Advances in Sepsis* 2001;1(2):42-51.
155. Rolston KV. Prediction of neutropenia. *Int J Antimicrob Agents.* 2000;16(2):113-5.
156. Ruokonen E, Nousiainen T, Pulkki K, Takala J. Procalcitonin concentrations in patients with neutropenic fever. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1999;18(4):283-5.

157. Russwurm S, Stonans I, Stonane E, Wiederhold M, Luber A, Zipfel PF, Deigner HP, Reinhart K. Procalcitonin and CGRP-1 mrna expression in various human tissues. *Shock*. 2001;16(2):109-12.
158. Russwurm S, Wiederhold M, Oberhoffer M, Stonans I, Zipfel PF, Reinhart K. Molecular aspects and natural source of procalcitonin. *Clin Chem Lab Med*. 1999;37(8):789-97.
159. Sabat R, Hoflich C, Docke WD, Oppert M, Kern F, Windrich B, Rosenberger C, Kaden J, Volk HD, Reinke P. Massive elevation of procalcitonin plasma levels in the absence of infection in kidney transplant patients treated with pan-T-cell antibodies. *Intensive Care Med*. 2001;27(6):987-91.
160. Sachse C, Dressler F, Henkel E. Increased serum procalcitonin in newborn infants without infection. *Clin Chem*. 1998;44:1343-4.
161. Sachse C, Machens HG, Felmerer G, Berger A, Henkel E. Procalcitonin as a marker for the early diagnosis of severe infection after thermal injury. *J Burn Care Rehabil*. 1999;20(5):354-60.
162. Samet A, Bronk M, Hellmann A, Kur J. Isolation and epidemiological study of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from patients of a haematological unit in Poland. *J Hosp Infect*. 1999;41(2):137-43.
163. Samet A, Bronk M, Sledzinska A, Labon M, Rybak B. Bakteriemię szpitalne. *Przegl Epidemiol*. 2006;60(1):35-41.
164. Samet A, Komarnicka J, Padzik O, Bronk M. Inne bakteriemię. *Nowa Med*. 1998;5(11):25-28.
165. Santolaya ME, Cofre J, Beresi V. C-reactive protein: a valuable aid for the management of febrile children with cancer and neutropenia. *Clin Infect Dis*. 1994;18(4):589-95.
166. Sauer M, Tiede K, Fuchs D, Gruhn B, Berger D, Zintl F. Procalcitonin, C-reactive protein, and endotoxin after bone marrow transplantation: identification of children at high risk of morbidity and mortality from sepsis. *Bone Marrow Transplant*. 2003;31(12):1137-42.
167. Schuster HP. Intensywna terapia w posocznicy i niewydolności wielonarządowej. Wydawnictwo Medyczne Sanmedica. Warszawa 1997.
168. Schuttrumpf S, Binder L, Hagemann T, Berkovic D, Trumper L, Binder C. Procalcitonin: a useful discriminator between febrile conditions of different origin in hemato-oncological patients? *Ann Hematol*. 2003;82(2):98-103.

169. Schuttrumpf S, Binder L, Hagemann T, Berkovic D, Trumper L, Binder C. Utility of procalcitonin concentration in the evaluation of patients with malignant diseases and elevated C-reactive protein plasma concentrations. *Clin Infect Dis.* 2006;43(4):468-73.
170. Semczuk K, Łopaciuk U, Dzierżanowska D. Posocznica - patogeneza i leczenie. *Nowa Klin.* 2002;9(3/4):367-373.
171. Siegman-Igra Y, Anglim AM, Shapiro DE, Adal KA, Strain BA, Farr BM. Diagnosis of vascular catheter-related bloodstream infection: a meta-analysis. *J Clin Microbiol.* 1997;35(4):928-36.
172. Sikora J. Rola cytokin i reaktywnych związków tlenu w patogenezie posocznicy. *Pol. Merkuriusz Lek.* 2000;8(43):47-50.
173. Sikora JP, Kwiatkowska R. Przydatność kliniczna oznaczania białka C-reaktywnego I prokalcytoniny w diagnostyce I monitorowaniu zespołu uogólnionej odpowiedzi zapalnej. *Alerg Astma Immun* 2005;10(2):63-68.
174. Sonis ST. Oral mucositis in cancer therapy. *J Support Oncol.* 2004;2(6 supl 3):3-8.
175. Sponholz C, Sakr Y, Reinhart K, Brunkhorst F. Diagnostic value and prognostic implications of serum procalcitonin after cardiac surgery: a systematic review of the literature. *Crit Care.* 2006;10(5):R145.
176. Steinberg SM. Bacterial translocation: what it is and what it is not. *Am J Surg.* 2003;186(3):301-5.
177. Steinshamn S, Brekke OL, Waage A. Soluble tumour necrosis factor receptors, tumour necrosis factor and interleukin-6 in serum in granulocytopenic patients with fever. *Br J Haematol.* 1995;89(4):719-24.
178. Stryjewski GR, Nysten ES, Bell MJ, Snider RH, Becker KL, Wu A, Lawlor C, Dalton H. Interleukin-6, interleukin-8, and a rapid and sensitive assay for calcitonin precursors for the determination of bacterial sepsis in febrile neutropenic children. *Pediatr Crit Care Med.* 2005;6(2):129-35
179. Svaldi M, Hirber J, Lanthaler AI, Mayr O, Faes S, Peer E, Mitterer M. Procalcitonin-reduced sensitivity and specificity in heavily leucopenic and immunosuppressed patients. *Br J Haematol.* 2001;115(1):53-7.
180. Szalewska M. Rola prokalcytoniny (PCT) w diagnozowaniu powikłań infekcyjnych oraz remisji klinicznej choroby nowotworowej u dzieci. Praca doktorska. Gdańsk, 2002.
181. Śledzińska A, Samet A, Bronk M, Rybak B, Kur J, Krawczyk B, Nowicki B. *Escherichia coli* zapomniany patogen posocznicy. *Prz. Epidemiol.* 2006;60(1):27-34.

182. Tomaszewska A, Jędrzejczak W. Powikłania infekcyjne u chorych hematoonkologicznych – gorączka neutropeniczna i jej leczenie. *Zakażenia* 2006;4:26-38.
183. Turner D, Hammerman C, Rudensky B, Schlesinger Y, Goia C, Schimmel MS. Procalcitonin in preterm infants during the first few days of life: introducing an age related nomogram. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2006;91(4):F283-6.
184. Ulewicz-Filipowicz J, Owczuk R, Balcerska A. Posocznica - układowa odpowiedź zapalna na istniejącą infekcję. *Prz. Pediat.* 2000;30(2):92-97.
185. Uzzan B, Izri A, Durand R, Deniau M, Bouchaud O, Perret GY. Serum procalcitonin in uncomplicated falciparum malaria: a preliminary study. *Travel Med Infect Dis.* 2006 Mar;4(2):77-80.
186. Velasco E, Byington R, Martins CA, Schirmer M, Dias LM, Goncalves VM. Comparative study of clinical characteristics of neutropenic and non-neutropenic adult cancer patients with bloodstream infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2006;25(1):1-7.
187. Vento S, Cainelli F. Infections in patients with cancer undergoing chemotherapy: aetiology, prevention, and treatment. *Lancet Oncol.* 2003;4(10):595-604.
188. Viscoli C, Castagnola E. Treatment of febrile neutropenia: what is new? *Curr Opin Infect Dis.* 2002;15(4):377-82.
189. von Heimburg D, Stieghorst W, Khorram-Sefat R, Pallua N. Procalcitonin--a sepsis parameter in severe burn injuries. *Burns.* 1998;24(8):745-50.
190. von Lilienfeld-Toal M, Schneider A, Orlopp K, Hahn-Ast C, Glasmacher A, Stuber F. Change of procalcitonin predicts clinical outcome of febrile episodes in patients with hematological malignancies. *Support Care Cancer.* 2006;14(12):1241-5.
191. Waage A, Remick D, Steinshamn S, Deforge L, Lamvik J. Interleukin 8 in serum in granulocytopenic patients with infections. *Br J Haematol.* 1994;86(1):36-40.
192. Wang FD, Lin ML, Liu CY. Bacteremia in patients with hematological malignancies. *Chemotherapy.* 2005;51(2-3):147-53.
193. Warzocha K, Seferyńska I. Zakażenia grzybicze w hematologii. Red. Dzierżanowska D. Zakażenia grzybicze – wybrane zagadnienia. *α-medica Press, Bielsko-Biała* 2006: 137-154

194. Whang KT, Vath SD, Becker KL, Snider RH, Nysten ES, Muller B, Li Q, Tamarkin L, White JC. Procalcitonin and proinflammatory cytokine interactions in sepsis. *Shock*. 2000;14(1):73-8.
195. Wiedermann FJ, Kaneider N, Egger P, Tiefenthaler W, Wiedermann CJ, Lindner KH, Schoberberger W. Migration of human monocytes in response to procalcitonin. *Crit Care Med*. 2002;30(5):1112-7.
196. Wiest R, Rath HC. Gastrointestinal disorders of the critically ill. Bacterial translocation in the gut. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2003;17(3):397-425.

ZAŁĄCZNIK NR 1

Wykaz pacjentów, ich chorób podstawowych, incydentów neutropenii, rozpoznań w trakcie incydentów neutropenii, kwalifikacji gorączki w oparciu o jej etiologię oraz o lokalizację procesu, stężeń PCT (ng/ml) i CRP (mg/l) w pierwszym dniu gorączki oraz maksymalnych wartości tych parametrów w trakcie poszczególnych incydentów.

I.D.	PŁEĆ	ROZPOZNANIE ONKOLOGICZNE	NR PACJENTA	LICZBA INCYDENTÓW U PACJENTA	NR INCYDENTU	WIEK (lata)	ROZPOZNANIE INCYDENTU	KLASYFIKACJA WG ETIOLOGII GORĄCZKI	KLASYFIKACJA GORĄCZKI WG LOKALIZACJI PROCESU	PCT (ng/ml) W 1. DNIU GORĄCZKI	MAX PCT (ng/ml)	CRP (mg/l) W 1 DNIU GORĄCZKI	MAX CRP (mg/l)
M.B.	M	ALL	1	5	1	3	NP.	NP.	NP.	N	0,61	N	1,26
					2	3 1/6	NP.	NP.	NP.	N	0,35	N	0,9
					3	3 1/2	FUO	FUO	FUO	0	0	2,37	37,02
					4	3 5/6	NP.	NP.	NP.	N	0	N	0,89
					5	3 5/6	PNEUMONIA	UK	ZM	0,09	1,18	29,65	238
J.B.	M	ALL	2	1	6	6	FUO	FUO	FUO	0,15	0,15	70,48	70,48
A.B.	K	ALL	3	2	7	10 7/12	NP.	NP.	NP.	N	0,68	N	2,96
					8	10	POSOCZNICA	UK	BAK	0,72	12,45	3,55	142
W.B.	M	ALL	4	1	9	13 1/4	POSOCZNICA	UK	BAK	0,98	10,6	9,8	150
A.B.	K	ALL	5	4	10	13 2/3	NP.	NP.	NP.	N	0,68	N	8,6

					11	13 1/2	NP.	NP.	NP.	N	1,16	N	0,54
					12	13 1/2	POSOCZNICA	UM	BAK	3,52	3,52	11,26	147,5
					13	14 1/4	C. POS	UM	BAK	0,52	42,74	3,22	371
D.C.	M	ALL	6	1	14	4 1/6	NP.	NP.	NP.	N	1,02	N	0,55
M.C.	K	AML	7	4	15	15 11/12	FUO	FUO	FUO	1,58	1,58	157,84	159,37
					16	16	NP.	NP.	NP.	N	0,14	N	1,2
					17	16	GN (?)	UK	ZM	0,57	0,83	146,5	235,35
					18	16 1/12	PNEUMONIA	UK	ZM	0,25	0,38	10,5	126,15
K.D.	K	AML	8	4	19	3 11/12	INF DR ODD	UK	ZM	0	0,1	15,59	87
					20	4 1/2	ZUM	NP. ZAK	NP. ZAK/ZM	N	0,1	N	66,15
					21	4 1/4	BAKTERIEMIA PNEUMONIA	UM	BAK	0	0,21	21,58	148,8
					22	3 3/4	ROPIEŃ OKOŁOZĘBOWY	UK	ZM	0,12	0,25	26	49,03
B.DG.	K	ALL	9	1	23	2 2/3	C. POS	UM	BAK	8,43	14,51	39,3	198,69
K.D.	K	ALL REC	10	2	24	6 1/2	WSTRZĄS SEPTYCZNY	UM	BAK	0,45	19,95	54,6	247,1
					25	6 1/2	ZUM	UM	ZM	0,17	0,96	20,64	135,16
W.G.	K	ALL	11	3	26	5 7/12	FUO	FUO	FUO	0,93	0,97	13,1	36,9
					27	5 1/6	ZUM	UM	ZM	0,51	0,58	5,38	11,3
					28	5 1/6	ZUM + PNEUMONIA	UM	ZM	0,08	0,1	15,2	94,57
P.G.	M	ALL/AML	12	2	29	17 1/2	PNEUMONIA	UK	ZM	0,27	0,27	86,2	118
					30	17	WSTRZĄS SEPTYCZNY	UM	BAK	11,3	34,41	20	239

K.K.	M	ALL	13	1	31	3 1/2	NP.	NP.	NP.	N	0,49	N	4,53
T.K.	M	ALL	14	1	32	9 1/6	C. POS	UM	BAK	4,97	10,4	108,1	336,3
A.K.	K	NHL ANAP	15	2	33	15 2/3	ZUM	UM	ZM	0,13	0,14	207	207
					34	15 7/12	ZUM	UM	ZM	0,09	0,17	11,4	85,04
M.K.	M	ALL	16	1	35	3 1/2	POSOCZNICA	UM	BAK	2,16	2,23	1,67	56,64
G.K.	M	NHL	17	1	36	11 2/5	INF P.P.	UM	ZM	0,14	0,28	31	296
W.L.	K	AML	18	1	37	15 1/6	ZAP TK M ZAP KOM SIT	UK	ZM	0,45	3,95	97,45	204,1
M.L.	K	AML	19	1	38	8 11/12	TYPHLITIS + GN (?)	UK	ZM	0,08	0,1	24,22	53,15
N.L.	M	NHL B cell	20	1	39	5	TYPHLITIS	UK	ZM	0	0,44	1,58	144
Ł.Ł.	M	NHL BURKIT LIKE	21	4	40	13 1/2	NP.	NP.	NP.	N	3	N	3,92
					41	13 5/6	FUO	FUO	FUO	0,52	0,68	24	181
					42	13 5/12	ZAP J.UST.	UK	ZM	0,62	2,55	53,9	74,94
					43	13 1/4	POSOCZNICA	UK	BAK	3,1	4,71	162,67	286
A.Ł.	K	ALL	22	2	44	2 3/4	POSOCZNICA	UM	BAK	1,12	2,97	8,3	43,64
					45	2 11/12	FUO	FUO	FUO	0,45	0,94	12,3	124,84
M.M.	M	ALL	23	2	46	3 7/12	NP.	NP.	NP.	N	0,38	N	1,73
					47	3 3/4	NP.	NP.	NP.	N	0,54	N	1,12
J.M.	K	ALL	24	1	48	4	PNEUMONIA	UK	ZM	0,18	0,48	29,5	255,69
A.M.	K	ALL	25	1	49	17 11/12	ZAP J.UST.	UK	ZM	0,09	0,38	95,6	215,4

A.N.	M	ALL	26	4	50	14 2/3	WSTRZĄS SEPTYCZNY	UM	BAK	0,66	20,56	28,8	214
					51	14 11/12	GU (?)	UK	BAK	1,59	1,59	223,1	223,1
					52	14 3/4	GU (?)	NP. ZAK	NP.ZAK / BAK	N	50,53	N	93
					53	15	POSOCZNICA	UM	BAK	0,53	1,2	70,3	250,35
M.N.	M	T NHL	27	2	54	13 1/3	ZUM	NP. ZAK	NP. ZAK / ZM	N	0	N	48
					55	13 5/12	ZUM	UM	ZM	0,73	0,73	28,29	38
E.O	K	AML	28	1	56	10	PNEUMONIA	UK	ZM	0	0,11	32,35	50,2
J.P.	K	ALL	29	3	57	13 11/12	ZUM	UM	ZM	0,34	0,45	77	130
					58	13 1/3	ZUM	NP. ZAK	NP. ZAK / ZM	N	2,34	N	24
					59	13 1/2	ZUM	NP. ZAK	NP. ZAK / ZM	N	1,2	N	18
B.S.	M	ALL	30	1	60	4 1/2	NP.	NP.	NP.	N	0,33	N	0,21
P.S.	K	ALL	31	1	61	11	NP.	NP.	NP.	N	0,3	N	7,6
R.S.	M	ALL	32	1	62	11 1/6	POSOCZNICA	UM	BAK	0,98	4,25	3,92	176,3
B.Ś.	K	NHL B cell	33	1	63	14 5/6	TYPHLITIS	UK	ZM	0,49	1,54	128,6	241,6
K.U.	M	ALL	34	1	64	1 5/6	NP.	NP.	NP.	N	0,13	N	1,9
J.Z.	K	AML	35	3	65	13 11/12	POSOCZNICA	UK	BAK	0,52	36,36	44,52	104
					66	13 5/6	PNEUMONIA	UK	ZM	0,19	0,97	56,5	183,4
					67	13 11/12	ZAP BŁ ŚL ŻOŁ / GN (?)	NP. ZAK	NP. ZAK / ZM	N	2,72	N	42,13

SKRÓTY:

- BAK – bakteremia
- C.POS – ciężka posocznica
- FUO – gorączka o nieustalonej etiologii
- GN (?) – podejrzenie grzybicy nerek
- GU (?) – podejrzenie uogólnionej grzybicy
- INF PP – infekcja przewodu pokarmowego
- N – nie dotyczy
- NP. – niepowikłany incydent neutropenii
- NP.ZAK – incydent neutropenii powikłany infekcją bez gorączki
- UM – infekcja udokumentowana mikrobiologicznie
- UK – infekcja udokumentowana klinicznie
- ZAP BŁ ŚL ŻOŁ – zapalenie błony śluzowej żołądka
- ZAP J UST – zapalenie jamy ustnej
- ZAP TK M ZAP KOM SIT – zapalenie tkanek miękkich twarzy z zapaleniem komórek sitowia
- ZM – zlokalizowany, ograniczony proces infekcyjny
- ZUM –zakażenie układu moczowego

ZAŁĄCZNIK NR 2. Kryteria dysfunkcji narządów u dzieci [70].

KRYTERIA DYSFUNKCJI NARZĄDOWYCH
UKŁAD KRAŻENIA
<p>Pomimo dożylniej podaży płynów ≥ 40 ml/kg przez 1 godzinę:</p> <ul style="list-style-type: none">• skurczowe ciśnienie tętnicze < 5 centyla dla wieku lub < 2 odchyłeń standardowych od normy dla wieku <p>LUB</p> <ul style="list-style-type: none">• konieczność stosowania amin presyjnych w celu utrzymania prawidłowego ciśnienia tętniczego <p>LUB</p> <ul style="list-style-type: none">• dwa z poniższych:<ul style="list-style-type: none">- niewyjaśniona kwasica metaboliczna: niedobór zasad > 5 mEq/l- stężenie mleczanów > 2 górnej wartości referencyjnej- oliguria – diureza $< 0,5$ ml/kg/godz- wydłużony czas powrotu wypełnienia naczyń włosowatych > 5 sek- różnica między centralną temperaturą ciała a temperaturą na obwodzie $> 3^{\circ}\text{C}$
UKŁAD ODDECHOWY
<ul style="list-style-type: none">• $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$ przy nieobecności sinicznej wady serca lub wcześniejszej choroby płuc <p>LUB</p> <ul style="list-style-type: none">• $\text{PaCO}_2 > 65$ lub 20 mm Hg powyżej wartości podstawowej PaCO_2 <p>LUB</p> <ul style="list-style-type: none">• konieczność $> 50\%$ FiO_2 w celu utrzymania saturacji na poziomie $\geq 92\%$ <p>LUB</p> <ul style="list-style-type: none">• konieczność stosowania sztucznej wentylacji
OŚRODKOWY UKŁAD NERWOWY
<ul style="list-style-type: none">• skala Glasgow ≤ 11 <p>LUB</p> <ul style="list-style-type: none">• ostre zmiany w stanie psychicznym z obniżeniem ≥ 3 punktów w skali Glasgow od stanu wyjściowego.
UKŁAD HEMATOLOGICZNY
<ul style="list-style-type: none">• liczba płytek $< 80\ 000/\text{mm}^3$ lub obniżenie o 50% w stosunku do najwyższej wartości z 3 ostatnich dni <p>LUB</p> <ul style="list-style-type: none">• $\text{INR} > 2$
UKŁAD NERKOWY
<ul style="list-style-type: none">• stężenie kreatyniny w surowicy krwi ≥ 2-krotna górna granica normy lub 2-krotny wzrost względem podstawowego poziomu.
WĄTROBA
<ul style="list-style-type: none">• stężenie bilirubiny całkowitej ≥ 4 mg/dl• aktywność ALT > 2-krotnie wyższa od normy dla wieku

ZAŁĄCZNIK NR 3

Wykaz pacjentów, u których wystąpiły incydenty neutropenii „bez gorączki” powikłane bądź nie infekcją z uwzględnieniem podaży czynników stymulujących granulocytopoezę

I.p.	I.D.	ROZPOZNANIE ONKOLOGICZNE	NR PACJENTA	NR INCYDENTU	ROZPOZNANIE INCYDENTU	PODAŻ GCSF	MAX PCT (ng/ml)	MAX CRP (mg/l)
1	M.B.	ALL	1	1	NP.	N	0,61	1,26
2				NP.	T	0,35	0,9	
3				NP.	N	0	0,89	
4	A.B.	ALL	3	7	NP.	T	0,68	2,96
5	A.B.	ALL	5	10	NP.	T	0,68	8,6
6				NP.	N	1,16	0,54	
7	D.C.	ALL	6	14	NP.	T	1,02	0,55
8	M.C.	AML	7	16	NP.	N	0,14	1,2
9	K.D.	AML	8	20	ZUM	N	0,1	66,15
10	K.K.	ALL	13	31	NP.	N	0,49	4,53
11	Ł.Ł.	NHL BURKIT LIKE	21	40	NP.	T	3	3,92
12	M.M.	ALL	23	46	NP.	N	0,38	1,73
13				NP.	T	0,54	1,12	
14	A.N.	ALL	26	52	GU (?)	N	50,53	93
15	M.N.	T NHL	27	54	ZUM	T	0	48
16	J.P.	ALL	29	58	ZUM	T	2,34	24
17				ZUM	T	1,2	18	
18	B.S.	ALL	30	60	NP.	T	0,33	0,21
19	P.S.	ALL	31	61	NP.	T	0,3	7,6
20	K.U.	ALL	34	64	NP.	N	0,13	1,9
21	J.Z.	AML	35	67	ZAP BŁ ŚL ŻOŁ / GN (?)	N	2,72	42,13

SKRÓTY:

- GN (?) – podejrzenie grzybicy nerek
- GU (?) – podejrzenie uogólnionej grzybicy
- N – nie podawano GCSF
- T – podawano GCSF
- NP. – niepowikłany incydent neutropenii
- NP.ZAK – incydent neutropenii powikłany infekcją bez gorączki
- ZAP BŁ ŚL ŻOŁ – zapalenie błony śluzowej żołądka
- ZUM –zakażenie układu moczowego