

Uniwersytet Jagielloński  
Collegium Medicum  
Wydział Lekarski

Justyna Ferek

Prokalcytonina w diagnostyce wrodzonych infekcji bakteryjnych

*Praca doktorska*

Promotor: Prof. dr hab. med. Ryszard Lauterbach

Pracę wykonano w Klinice Neonatologii  
Katedry i Kliniki Ginekologii i Położnictwa  
Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie  
Kierownik jednostki: Prof. dr hab. med. Ryszard Lauterbach

Kraków, 2009 rok

*Szanownemu Panu  
Prof. dr hab. med. Ryszardowi Lauterbachowi  
promotorowi mojej pracy  
za opiekę, pomoc i cenne wskazówki  
  
serdecznie dziękuję*

## **Wykaz używanych skrótów**

ACCP – American College of Chest Physicians

AGA – masa ciała odpowiednia do wieku płodowego

AlAT – aminotransferaza alaninowa

aPTT – czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji

AspAT – aminotransferaza asparaginianowa

c-AMP – cykliczny adenozynomonofosforan

CRP – białko C-reaktywne

DIC – zespół wykrzepiania wewnątrznaczyniowego

DNA – kwas dezoksyrybonukleinowy

FDP – produkty degradacji fibrynogenu

FSC/SSC – przedni detektor światła rozproszonego/boczny detektor światła rozproszonego

GM-CSF – czynnik stymulujący wzrost koloni granulocytów i makrofagów

HIV-1 – wirus nabytego upośledzenia odporności-1

HLA-DR – antygen ludzkich leukocytów-DR

ICAM-1 – międzykomórkowy czynnik adhezji-1

Il-1 $\beta$  – interleukina-1 $\beta$

Il-2 – interleukina-2

Il-4 – interleukina-4

Il-6 – interleukina-6

Il-8 – interleukina-8

INF- $\gamma$  – interferon-gamma

iNOS – indukowalna syntaza tlenku azotu

LGA – masa ciała za duża do wieku płodowego

LPS – lipopolisacharyd

max – wartości maksymalna

M-CSF – czynnik stymulujący wzrost koloni makrofagów

Me – mediana wartości  
mfi – średnie natężenie fluorescencji  
MHC II – główny układ zgodności tkankowej klasy II  
min – wartości minimalne  
ml – mililitr  
n – ilość badanych  
NS – nieistotne statystycznie  
p – poziom istotności statystycznej  
PBS – buforowany fosforem roztwór soli  
PCR – polimerazowa reakcja łańcuchowa  
PCT – prokalcitonina  
PLT – liczba płytek we krwi obwodowej  
PT – czas protrombinowy  
 $\mu$ l – mikrolitr  
r – współczynnik korelacji  
SAA – surowiczy składnik amyloidu  
SCCM – Society of Critical Care Medicine  
SD – odchylenie standardowe  
SGA – masa ciała za mała do wieku płodowego  
TNF- $\alpha$  – czynnik martwicy nowotworów- $\alpha$   
WBC – liczba leukocytów we krwi obwodowej  
WHO – Światowa Organizacja Zdrowia

## SPIS TREŚCI

1. Wstęp	7
1.1. Sepsa	8
1.2. Specyfika zakażeń okresu noworodkowego	12
1.3. Diagnostyka sepsy	18
1.3.1. Parametry hematologiczne	18
1.3.2. Białka ostrej fazy	21
1.3.3. Parametry układu krzepnięcia	23
1.3.4. Cytokiny	24
1.3.5. Markery powierzchniowe komórek	25
1.3.6. Badania mikrobiologiczne	27
1.4. Prokalcytonina	28
1.4.1. Budowa, synteza, wydzielanie i funkcja prokalcytoniny	28
1.4.2. Diagnostyka infekcji przy użyciu prokalcytoniny	32
1.4.3. Prokalcytonina w infekcjach u noworodków	34
2. Założenia i cel pracy	41
3. Materiał i metodyka	44
3.1. Metody statystyczne	59
4. Wyniki i ich omówienie	61
4.1. Stężenie prokalcytoniny w grupie noworodków bez infekcji (I), w grupach noworodków z wrodzonym zapaleniem płuc (II), zespołem septycznym (III) i sepsą (IV) o wczesnym początku	61
4.2. Stężenie prokalcytoniny a urodzeniowa masa ciała oraz dojrzałość noworodka	62
4.3. Wpływ powikłań matczyńskich, okołoporodowych oraz nieinfekcyjnych stanów patologii noworodka na stężenie prokalcytoniny w surowicy noworodka w pierwszych 12 godzinach życia	66
4.3.1. Powikłania ciąży występujące u matki a stężenie prokalcytoniny u noworodka po urodzeniu	66
4.3.2. Stężenie prokalcytoniny a wybrane stany patologii okresu noworodkowego	68
4.4. Wartość diagnostyczna oznaczenia stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodka w pierwszych 12 godzinach życia w diagnostyce infekcji o wczesnym początku	71
4.4.1. Zależność wartości stężeń prokalcytoniny od etiologii sepsy wrodzonej w grupie badanej IV	76
4.4.2. Zależność pomiędzy wartością stężenia prokalcytoniny a ciężkością przebiegu infekcji w grupach noworodków z zespołem septycznym (grupa III) oraz sepsą (grupa IV) o wczesnym początku	77

4.4.3. Porównanie wartości diagnostycznej oznaczenia liczby leukocytów oraz płytek we krwi obwodowej, a także stężenia białka C-reaktywnego surowicy z wartością diagnostyczną stężenia prokalcytoniny w surowicy w diagnostyce zespołu septycznego (grupa III) oraz sepsy (grupa IV) o wczesnym początku	81
4.5. Porównanie wartości diagnostycznej oznaczenia stężenia prokalcytoniny i ekspresji antygenów CD14 i CD16 oraz HLA-DR na monocytach krwi obwodowej w zakażeniach wrodzonych u noworodka	91
5. Dyskusja	99
6. Streszczenie	117
7. Summary	126
8. Piśmiennictwo	133

## 1. Wstęp

Zakażenie bakteryjne jest istotnym czynnikiem powodującym zachorowalność i śmiertelność noworodków. [1] W 35% stanowi przyczynę porodów przedwczesnych. [2] Częstość jego występowania, a także rodzaj patogenu wywołującego, zależą od wielu czynników, bardzo istotnie od poziomu opieki medycznej. W krajach trzeciego świata częstość zakażeń u noworodków jest wysoka i wynosi nawet do 21 na 1000 żywo urodzonych noworodków. [1] W krajach wysoko rozwiniętych w pierwszych czterech tygodniach życia infekcje o etiologii bakteryjnej występują średnio u 0.37 do 10 na 1000 żywo urodzonych noworodków. [3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13] Wśród tych noworodków większość (81.1 %) stanowią dzieci o małej urodzeniowej masie ciała (poniżej 2500 g). Tutaj częstość występowania zakażeń wzrasta do 1 na 230 żywych urodzeń. [8] Śmiertelność w przebiegu najcięższej postaci infekcji, czyli sepsy waha się pomiędzy 0.7% a 50%. [1, 3, 4, 14, 15, 16] Według raportów WHO około 30–40% wszystkich zgonów do 4 tygodnia życia jest spowodowanych zakażeniem. [1] Nawet w krajach o wysokim standardzie usług medycznych, pomimo rozwijającej się tam dynamicznie opieki prenatalnej, okołoporodowej i nad noworodkiem, w grupie dzieci z małą urodzeniową masą ciała od 30 lat nie udało się zmniejszyć śmiertelności z powodu sepsy. [2] Noworodki, szczególnie pochodzące z porodów przedwczesnych, prezentują zaburzenia odporności związane z niedojrzałością układu immunologicznego, dodatkowo ze względu na wcześniactwo wymagają wdrożenia specjalistycznych procedur medycznych w Oddziałach Intensywnej Terapii. Te dwa czynniki istotnie zwiększają ryzyko zakażenia bakteryjnego. Jak wiadomo wiele stanów chorobowych noworodka może w swych objawach klinicznych przypominać sepsę. Możliwości diagnostyczne pozwalające potwierdzić lub wykluczyć

zakażenie jako przyczynę pogorszenia stanu klinicznego noworodka, umożliwiłyby podjęcie właściwej decyzji terapeutycznej oraz wpłynęłyby korzystnie na wyniki leczenia. Wczesne wykluczenie zakażenia doprowadziłoby do zmniejszenia ilości takich sytuacji, w których antybiotyki stosowane są niepotrzebnie, co zwiększa ryzyko powstawania szczepów bakterii opornych na leczenie.

### **1.1 Sepsa**

Obraz kliniczny sepsy zależy od wzajemnych interakcji pomiędzy patogenem wnikającym do organizmu człowieka a reakcjami obronnymi powstającymi w odpowiedzi na zakażenie. Obecność mikroorganizmu w fizjologicznie jałowych tkankach i płynach wywołuje kaskadę zapalną. Na skutek uwolnienia mediatorów reakcji zapalnej dochodzi do rozszerzenia naczyń krwionośnych, a także uszkodzenia ich śródbłonna, co doprowadza do wzrostu przepuszczalności ściany naczyniowej i ucieczki płynów do trzeciej przestrzeni. Ponadto obserwuje się powstawanie mikrozakrzepów w naczyniach tętniczych, co spowodowane jest kontaktem morfotycznych elementów krwi obwodowej ze śródbłonkiem, którego ciągłość jest naruszona. Całość tych procesów doprowadza do upośledzenia ukrwienia narządów objawiającego się klinicznie zaburzeniami ich funkcji. Zbyt późne rozpoznanie układowej reakcji zapalnej w przebiegu sepsy skutkuje rozwinięciem się wstrząsu septycznego oraz zespołu uszkodzenia wielonarządowego, co zmniejsza szanse na powodzenie wdrożonej terapii oraz zdecydowanie pogarsza rokowanie pacjenta.

Na konferencji American College of Chest Physicians i Society of Critical Care Medicine w 1992 roku [17] zakażenie zostało zdefiniowane jako odpowiedź zapalna organizmu wynikająca z obecności czynnika chorobotwórczego albo też stwierdzenie obecności patogenów w



normalnie jałowych tkankach i płynach ustrojowych. Natomiast uogólniona reakcja zapalna jest, według definicji, odpowiedzią na uszkodzenie tkanek w przebiegu różnych stanów chorobowych, takich jak infekcje, urazy czy oparzenia. Aby ją rozpoznać u pacjenta muszą wystąpić dwa lub więcej objawów sugerujących odpowiedź zapalną. Symptomy powyższe dotyczą temperatury ciała, częstości akcji serca, częstości oddechów oraz wartości ciśnienia parcjalnego dwutlenku węgla we krwi, a także liczby leukocytów we krwi obwodowej i odsetka ich form niedojrzałych. Ze względu na specyfikę okresu rozwojowego definicje odchyień od normy niektórych z wymienionych objawów wymagały dostosowania do potrzeb pediatrii. W układowej reakcji zapalnej temperatura ciała przekracza 38 stopni lub znajduje się poniżej 36 stopni Celsjusza. Za kolejny objaw uważa się przyspieszenie akcji serca u dorosłych powyżej 90 uderzeń na minutę, u dzieci zaś powyżej wartości odpowiadających dwóm odchyleniom standardowym dla danego wieku. Kolejnymi parametrami są cechy niewydolności oddechowej, co u dorosłych wyraża się przyspieszeniem częstości oddechów powyżej 20 na minutę lub spadkiem ciśnienia parcjalnego dwutlenku węgla we krwi poniżej 32 mmHg. U dzieci przyspieszenie oddechów określa się na poziomie powyżej dwóch odchyień standardowych dla wieku. Kolejną, sugerującą uogólnioną reakcję zapalną, wartością braną pod uwagę jest liczba leukocytów, przekraczająca u dorosłych 12 000/ $\mu$ l lub znajdująca się poniżej 4 000/ $\mu$ l oraz odsetek form niedojrzałych leukocytów powyżej 10%. Jeśli układowa reakcja zapalna występuje w odpowiedzi na zakażenie, to taki stan nazywamy sepsą. Stopień ciężkości schorzenia ustala się na podstawie dysfunkcji narządów, których uszkodzenie wynika ze spadku ciśnienia tętniczego krwi oraz zaburzenia perfuzji organów. W przebiegu sepsy może wystąpić wstrząs septyczny, kiedy pomimo resuscytacji

płynowej dochodzi do znacznego spadku tętniczego ciśnienia systemowego. Jeżeli w przebiegu krytycznego stanu chorego dojdzie do zaburzenia funkcji narządów, które uniemożliwia zachowanie homeostazy bez stosowania procedur medycznych, stwierdzamy wtedy uszkodzenie wielonarządowe. Przydatność tych definicji w praktyce klinicznej potwierdzono w 2001 na konferencji Society of Critical Care Medicine, The European Society of Intensive Care Medicine, American College of Chest Physicians, American Thoracic Society, Surgical Infection Society, która dotyczyła nazewnictwa w sepsie. [18]

Specyfika zakażeń okresu noworodkowego wymaga definiowania sepsy w sposób odmienny od kryteriów przyjętych dla pacjentów pediatrycznych. W publikacjach medycznych spotykamy się z różnorodnymi definicjami sepsy okresu noworodkowego. Jednocześnie dla porównania wyników prac istotna jest jednolitość stosowanego nazewnictwa. W swojej pracy definiuję sepsę za Lauterbachem R., zgadzając się równocześnie z definicjami stosowanymi przez Szczapę J. i wsp. oraz Pietrzyka J.J. [19, 20, 21] Sepsa jest stanem klinicznym, w którym dochodzi do ogólnoustrojowej reakcji zapalnej organizmu w odpowiedzi na zakażenie bakteryjne. Warunkiem koniecznym do rozpoznania sepsy jest dodatni wynik badania bakteriologicznego krwi. Jeżeli pomimo charakterystycznych dla tej jednostki chorobowej objawów klinicznych i wyników badań laboratoryjnych otrzymuje się negatywny wynik badania bakteriologicznego krwi, rozpoznaje się zespół septyczny. Pozytywny wynik badania bakteriologicznego krwi stwierdzony u noworodka, u którego nie występują wymienione poniżej objawy kliniczne, upoważnia do rozpoznania bakteriemii. Podstawą do rozpoznania układowej reakcji zapalnej jest stwierdzenie przynajmniej trzech objawów klinicznych oraz trzech dodatnich wyników badań laboratoryjnych. Wśród objawów klinicznych wyróżnia się niechęć do

ssania, zaleganie treści pokarmowej, wzdęcie brzucha, hipotermię lub hipertermię, tachykardię lub bradykardię, przyspieszenie oddechów lub bezdechy, przedłużającą się lub nasiloną żółtaczkę. Badania laboratoryjne sugerujące sepsę obejmują glikemię powyżej 180 mg% lub poniżej 40 mg%, wartość leukocytozy powyżej 20 000/ $\mu$ l (z wyjątkiem pierwszego tygodnia życia) lub poniżej 4 000/ $\mu$ l, ocenę stosunku form młodych do całkowitej liczby neutrofilów (I:T ratio) powyżej 0.2, podniesiony poziom CRP w surowicy krwi oraz liczbę krwinek płytkowych we krwi obwodowej poniżej 100 000/ $\mu$ l. W sepsie z zaburzeniami perfuzji pojawia się upośledzenie mikrokrazenia, najbardziej widoczne na skórze noworodka, a dotyczące również wszystkich narządów wewnętrznych. W obrazie klinicznym mogą pojawić się cechy uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego, objawy niewydolności mięśnia sercowego, wzrost zapotrzebowania tlenowego, narastanie niewydolności oddechowej, zaburzeń funkcji nerek, wątroby, układu krzepnięcia. W badaniach laboratoryjnych stwierdza się narastającą kwasicę metaboliczną z wartością pH poniżej 7.25 oraz niedoborem zasad większym niż -10 mmol/l, hipoalbuminemię, leukopenię poniżej 4 000/ $\mu$ l, zwiększenie wartości aminotransferaz, przedłużony czas krwawienia oraz czas protrombinowy, zmniejszenie stężenia antytrombiny III, wzrost stężenia FDP (produktów degradacji fibrynogenu). Wstrząsem septycznym nazywamy zespół objawów charakterystycznych dla sepsy ze spadkiem ciśnienia tętniczego krwi poniżej 5 percentyla wartości prawidłowych dla wieku noworodka. Jeżeli objawy wstrząsu utrzymują się dłużej niż godzinę pomimo wdrożonego leczenia, mówimy o wstrząsie opornym.

W okresie noworodkowym występuje podział na sepsę o wczesnym i późnym początku. Granicą czasową różnicującą te dwie postaci, jest według różnych autorów 3 do 7 doby życia [5, 6, 7, 11]. Większość z

publikujących zgadza się, że sepsa o wczesnym początku ma miejsce, jeśli objawy wystąpią do końca trzeciej doby życia, gdyż w tym okresie ujawnia się 95% przypadków tej postaci. Zatem, zakażenie występujące powyżej trzeciej doby jest zakażeniem późnym. [8, 14, 22, 23, 24, 25, 26]

## **1.2 Specyfika zakażeń okresu noworodkowego**

Noworodek ulega zakażeniom łatwiej niż osoba dorosła, co wynika z niedojrzałości jego układu immunologicznego. Zdecydowanie mniejsza zdolność lokalizacji infekcji jest powodem występowania w tym okresie najcięższej postaci zakażenia – sepsy. Niesprawność systemu odpornościowego noworodka, zakażenia u matki, powikłania ciąży i porodu oraz zabiegi wykonywane w ramach intensywnej terapii zwiększają istotnie ryzyko infekcji u noworodka.

Niedojrzałość układu immunologicznego noworodka dotyczy wielu jego składowych. Skóra w tym okresie życia nie stanowi skutecznej bariery ochronnej. Fakt ten wynika z tego, że jest ona cienka oraz słabo skeratynizowana, szczególnie u dzieci przedwcześnie urodzonych. Dodatkowo zmniejszona produkcja wolnych kwasów tłuszczowych powoduje zasadowe pH jej powierzchni. [3, 21, 27] W związku z brakiem wydzielniczej immunoglobuliny IgA i zmniejszoną produkcją fibronektyny w monocytach i makrofagach u noworodka dochodzi znacznie łatwiej do kolonizacji błon śluzowych. [3, 28, 29] Zmniejszona jest również ilość wydzielanego lizozymu. [4] Wielu autorów stwierdza u noworodka obniżoną szpicową pulę komórek prekursorowych granulocytów oraz zapasową neutrofilii. [30, 31, 32] Należy jednak zwrócić uwagę, że sposób rozmieszczenia komórek w szpiku powoduje, że badanie pojedynczych jego próbek pobieranych drogą aspiracji może być niewiarygodne. Większość bowiem komórek

multipotencjalnych przylega do wewnętrznej warstwy części korowej kości i trudno poddaje się pobieraniu do badań za pomocą aspiracji. [33] Dodatkowo odpowiedź komórek pnia szpiku noworodkowego na działanie GM-CSF i M-CSF jest dziesięciokrotnie wydajniejsza niż u dorosłych. [34] U noworodków donoszonych obniżona jest natomiast zdolność adhezji neutrofilów, co spowodowane jest mniejszą ekspresją selektyny-L na ich powierzchni. [35] Jej ilość u noworodka ulega dalszemu obniżeniu w przebiegu zakażenia, najprawdopodobniej na skutek uwalnia niedojrzałych neutrofilów ze szpiku. [36] Paradoksalnie, u noworodków przedwcześnie urodzonych ekspresja L-selektyny na neutrofilach jest zbliżona do poziomu stwierdzanego u dorosłych. [35] Osłabienie mechanizmu chemotaksji oraz zmiany kształtu granulocytów obojętnochłonnych wynika ze zmniejszonej produkcji spolimeryzowanej aktyny. [37] Zdolność fagocytowania przez neutrofile u noworodka jest tak samo efektywna jak u dorosłego, ale ulega osłabieniu w przebiegu zakażenia czy zespołu zaburzeń oddychania. [38] U noworodka stwierdza się również zmniejszoną zdolność do niszczenia bakterii przez leukocyty wielojądrzaste z udziałem mechanizmów zależnych od tlenu. [39] W okresie noworodkowym zarówno ilość fagocytów jednojądrzastych jak i szybkość ich gromadzenia się w miejscu zakażenia są mniejsze. [40] Ponadto u noworodków stwierdza się zmniejszoną ekspresję MHC II na monocytach, co może opóźnić zapoczątkowanie swoistej odpowiedzi immunologicznej. [21] U pacjentów z niewydolnością oddechową w pierwszych tygodniach życia, w przeciwieństwie do noworodków zdrowych, nie dochodzi do zwiększenia po urodzeniu ilości makrofagów płucnych. [41] Ilość składowych drogi klasycznej aktywacji dopełniacza jest u noworodków donoszonych porównywalna do stwierdzanej u dorosłych, lecz obniżona u wcześniaków. Zarówno u noworodków donoszonych, jak i

przedwcześnie urodzonych stwierdza się natomiast niedobór składowych alternatywnej drogi aktywacji dopełniacza. Ten fakt ma szczególne znaczenie w przypadku infekcji spowodowanych przez bakterie posiadające polisacharydowe otoczki, np. *Escherichia coli* K.1 czy *Streptococcus agalactiae*, gdyż wtedy ze względu na brak specyficznych przeciwciał nie może dojść do aktywacji klasycznej drogi dopełniacza. U noworodków opisano również funkcjonalny niedobór składowej C3 dopełniacza, niezbędnej do prawidłowego przebiegu obu torów aktywacji. [42] U noworodka stwierdza się niedobór subpopulacji komórek pamięci  $CD45RO^+$  wśród limfocytów T  $CD4^+$ , które u dorosłych produkują w dużych ilościach INF- $\gamma$ , Il-2, Il-4, MHC II. [43] Zmniejszona ilość INF- $\gamma$ , Il-2 oraz Il-4 w okresie noworodkowym ogranicza wpływ limfocytów T na produkcję przeciwciał przez limfocyty B. [44] Limfocyty B w okresie noworodkowym są niedojrzałe i dlatego trudniej różnicują się do plazmacytów. [45] Po urodzeniu IgG we krwi noworodka są niemal w całości pochodzenia matczynego. [21] Pasaż IgG przez łożysko zaczyna się około 20–22 tygodnia ciąży i trwa do jej końca. Najbardziej aktywny jest od 32 tygodnia ciąży. [46] Stąd u wcześniaków poziom przeciwciał jest obniżony w porównaniu do stężeń, jakie osiąga u noworodków donoszonych. Obniżony poziom immunoglobulin stwierdza się również w przypadku noworodków urodzonych z ciąż powikłanych niewydolnością łożyska. U noworodków po urodzeniu stwierdza się produkcję przeciwciał klasy IgG1 i IgG4, natomiast brak jest syntezy IgG2 i IgG3. [47] Stężenie przeciwciał IgM u noworodka stanowi mniej niż 10% stwierdzanego u dorosłych, co wspólnie z obniżoną aktywnością C3b składowej dopełniacza, sprzyja zakażeniom bakteriami Gram-ujemnymi w tym okresie życia. [48] Stężenie IgA1 krążącego w surowicy jest również mniejsze od stwierdzanego u dorosłych. [40] W pierwszych tygodniach życia

stwierdza się również mniejszą liczbę limfocytów T cytotoksycznych oraz komórek NK. [19]

Pokarm kobiecy zawiera przeciwciała wszystkich klas, neutrofile, limfocyty T i B, komórki nabłonka, makrofagi, czynniki wzrostowe oraz liczne substancje ochronne. Zwiększone prawdopodobieństwo infekcji u wcześniaka może być spowodowane opóźnieniem karmienia mlekiem matki i pozbawieniem go, w najwcześniejszym okresie życia, cennych dla wzmocnienia odporności substancji oraz elementów komórkowych zawartych w pokarmie naturalnym.

Na stan noworodka po urodzeniu oraz na prawdopodobieństwo wystąpienia u niego infekcji wpływ mają przebieg ciąży oraz porodu. Według Schuchat S. i wsp. [9] ryzyko infekcji u noworodka jest wyższe w przypadku przedwczesnego pęknięcia błon płodowych trwającego dłużej niż 24 godziny. W przypadku nosicielstwa paciorkowca grupy B w drogach rodnych u matki prawdopodobieństwo zakażenia zwiększa się już po 18 godzinach odpływania płynu owodniowego. Ryzyko zakażenia u płodu jest również większe w przypadku zapalenia pęcherza płodowego. Do objawów zapalenia błon owodniowych zwiększających prawdopodobieństwo wystąpienia infekcji o wczesnym początku u noworodka należą stwierdzenie u matki gorączki powyżej 38 stopni C, nieprawidłowego zapachu płynu owodniowego, leukocytozy we krwi obwodowej matki powyżej 15 G/L oraz tachykardii płodu z akcją serca powyżej 160/min. Ryzyko zakażenia u noworodka rośnie w przypadku nosicielstwa paciorkowca grupy B w drogach rodnych matki, jeśli dodatkowo stwierdza się u niej bakteriurię o tej etiologii oraz gdy poprzednie dziecko chorowało na sepsę spowodowaną tym patogenem. Grio R. i wsp. [49] jak również Schieve L.A. i wsp. [50] udowodnili zwiększone prawdopodobieństwo zakażenia o wczesnym początku u noworodka, jeśli u matki w trakcie ciąży stwierdzono zakażenie układu

moczowego bądź bezobjawową bakteriurię także o innej niż paciorkowcowa przyczynie. Do wystąpienia sepsy u noworodka predysponują płeć męska, wcześniactwo poniżej 37 tygodni, urodzeniowa masa ciała poniżej 1500 g oraz niska punktacja w skali Apgar (mniej niż 5 punktów w 1 minucie oraz mniej niż 7 punktów w 5 minucie życia). [9] Do powikłań ciąży i porodu zwiększających ryzyko infekcji u płodu i noworodka należą również zabiegi diagnostyczno-lecznicze wykonywane w trakcie ciąży takie jak amniopunkcja, amnioinfuzja, transfuzje dopłodowe, kordocenteza, szew szyjkowy. [19] Jako czynniki ryzyka sepsy o wczesnym początku podawane są także przedłużanie się akcji porodowej, konieczność interwencji zabiegowej w trakcie porodu oraz okołoporodowe uszkodzenie skóry i naczyń dziecka. [3, 4, 9] Zabiegi reanimacyjne i resuscytacyjne, kaniulacja naczyń obwodowych i centralnych, stosowanie żywienia pozajelitowego, długotrwała intubacja i wentylacja mechaniczna, inwazyjne metody monitorowania funkcji życiowych po urodzeniu również zwiększają ryzyko zakażenia u noworodka. [4, 9]

Sepsa o wczesnym początku jest ściśle związana z florą bakteryjną matki. Najczęstszą drogą, którą może dojść do zakażenia zarówno w czasie ciąży jak i w trakcie porodu, jest droga wstępująca. Zdecydowanie mniejszą rolę w transmisji infekcji odgrywa droga krwionośna. Niezwykle rzadko drobnoustrój przenika z jamy otrzewnej matki poprzez brzuszne ujścia jajowodów. Do sepsy w pierwszych 72 godzinach życia może dojść również na skutek przedostania się bakterii do organizmu noworodka po urodzeniu ze środowiska zewnętrznego poprzez kikut pępowiny bądź naruszenie ciągłości tkanek w trakcie medycznych zabiegów inwazyjnych.

W krajach wysoko rozwiniętych od lat 70-tych podkreśla się dużą rolę paciorkowców z grupy B jako czynnika etiologicznego sepsy



o wczesnym początku. W związku z zastosowaniem okołoporodowej profilaktyki antybiotykowej w przypadku nosicielstwa paciorkowca beta-hemolizującego w drogach rodnych matki, obserwuje się zmniejszenie o 70% częstości zakażeń wczesnych o tej etiologii u noworodków. [6, 11] Stwierdza się natomiast stałą [11], a według niektórych autorów narastającą [6] ilość infekcji spowodowanych pałeczką okrężnicy (*Escherichia coli*). Uważa się, iż w Polsce występowanie u noworodków zakażenia paciorkowcem z grupy B jest znacznie rzadsze niż w Europie Zachodniej i USA. [19] Fakt ten spowodowany być może zmniejszoną ekspozycją na ten rodzaj bakterii lub regionalnie mniejszą wirulencją tych szczepów. Przyczyną mniejszej ilości infekcji spowodowanych przez paciorkowce z grupy B w naszym kraju mogą być pewne różnice genetyczne pomiędzy populacjami oraz możliwość większego przezłożyskowego transferu przeciwciał i lepszej ochrony płodu i noworodka. [51] Do najważniejszych czynników etiologicznych zakażeń o wczesnym początku w Polsce należą szczepy pałeczek Gram-ujemnych: *Escherichia coli*, *Klebsiella species*, *Pseudomonas species* i *Proteus species*. Drugą ważną grupą są bakterie beztlenowe: *Bacterioides*, *Clostridium species*. Wśród bakterii ziarenkowych, Gram-dodatnich przyczyną zakażenia występującego u noworodka po urodzeniu może być *Enterococcus*, *Streptococcus* grupy A i B, *Staphylococcus*. Stwierdza się również zakażenia Gram-ujemnymi ziarenkowcami: *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*. Rzadko odnotowuje się zakażenia *Listeria monocytogenes*, natomiast relatywnie często przyczyną infekcji u noworodków w pierwszych 72 godzinach życia są grzyby, najczęściej *Candida albicans*. *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma* i *Mykoplazma* również mogą być przyczyną infekcji stwierdzonej we wczesnym okresie życia. U noworodka występują także

zakażenia pierwotniakowe – *Trichomonas vaginalis*, *Toxoplasma gondii*. [4, 19, 21]

### **1.3 Diagnostyka sepsy**

W przypadku podejrzenia infekcji u noworodka postawienie diagnozy może być trudne, gdyż wczesne objawy zakażenia w tej grupie pacjentów nie zawsze są charakterystyczne. [20] W miarę rozwoju zakażenia objawy stają się bardziej specyficzne, pojawiają się marmurkowatość skóry, utrudniony napływ kapilarny, spadek ciśnienia systemowego, oliguria. [3, 20] Jednakże rozpoczęcie leczenia dopiero na tym etapie zdecydowanie pogarsza rokowanie dla pacjenta. Badania diagnostyczne, wykonywane w przypadku podejrzenia zakażenia, charakteryzuje niewystarczająca czułość oraz specyficzność, szczególnie w okresie noworodkowym.

#### **1.3.1 Parametry hematologiczne**

Po urodzeniu liczba leukocytów uważana za prawidłową może wynosić 6 000–25 000/ $\mu\text{l}$ . W preparatach barwionych krwi obwodowej w pierwszych dniach życia noworodka występują w przewadze (około 60%) granulocyty obojętnochłonne. Niekiedy stwierdza się również przesunięcie obrazu białokrwinkowego w lewo, co związane jest prawdopodobnie z przetrwałymi ogniskami hematopoezy pozaszpikowej. Między 4 a 7 dniem życia następuje zmniejszenie liczby krwinek białych do 12 000/ $\mu\text{l}$  i równocześnie dochodzi do przesunięć w obrazie jakościowym. Znikają wtedy młode postaci neutrofilów z jednoczesnym zmniejszeniem się ich odsetka a zwiększeniem się odsetka limfocytów. Taki obraz utrzymuje się do mniej więcej 4 roku życia. [52]

Prawidłowa liczba krwinek płytkowych u noworodka wynosi od 150 000–400 000/ $\mu$ l. [52]

Leukocytoza powyżej 30 000/ $\mu$ l, leukopenia poniżej 5 000/ $\mu$ l, neutropenia poniżej 1 000/ $\mu$ l, stosunek niedojrzałych form neutrofilów do ich całkowitej liczby wynoszący powyżej 0.2, obecność ziarnistości toksycznych w granulocytach obojętnochłonnych, trombocytopenia z ilością krwinek płytkowych poniżej 150 000/ $\mu$ l w pierwszych dniach życia mogą wskazywać na sepsę u noworodka. [21] Jak jednak wykazali Da Silva O. i wsp. [53], po przeanalizowaniu wszystkich prac dotyczących oznaczenia poziomu leukocytów w diagnostyce sepsy noworodkowej, które opublikowano w okresie od 1966–1994, czułość i specyficzność tych parametrów w diagnostyce infekcji uogólnionej u noworodka różnią się w tych badaniach bardzo znacznie. Zakres wyników, jaki podali autorzy, wynosił dla czułości 17–90%, dla specyficzności 31–100%. Większą czułość stwierdzono dla stosunku niedojrzałych form neutrofilów do ich całkowitej liczby wynoszącego powyżej 0.2. Leukopenia, neutropenia mają natomiast większą specyficzność. [53, 54] Tak znaczne różnice w otrzymywanych rezultatach wynikać mogą z wpływu wielu innych nieinfekcyjnych czynników na liczbę leukocytów we krwi obwodowej noworodka. Ponad 70% dzieci urodzonych z masą ciała poniżej 1000 g ma nieprawidłowe wartości liczby białych krwinek. [19, 55] Nawet płacz noworodka, który trwa dłużej niż 4 minuty, powoduje wzrost liczby leukocytów. [19] Przyczyną leukocytozy w pierwszych dniach po urodzeniu może być również gorączka u matki przed porodem, długotrwały poród, jego stymulacja podażą oksytocyny, a u noworodka niedotlenienie okołoporodowe, aspiracja smółki, odma opłucnowa, drgawki, krwawienie śródczaszkowe, choroba hemolityczna, hipoglikemia. [19,

56] Natomiast nadciśnienie tętnicze w ciąży u matki może spowodować u noworodka neutropenię. [57]

Również małopłytkowość nie jest specyficzna dla sepsy. W przebiegu zakażenia uogólnionego jest to marker późny i świadczący już o ciężkim stanie chorego. [58] Małopłytkowość występować może u noworodków również z powodu niedotlenienia wewnątrzmacicznego, oraz u dzieci rodzących się z ciąż powikłanych niewydolnością łożyska, co objawia się opóźnieniem wzrastania wewnątrzmacicznego i za małą do wieku płodowego masą ciała noworodka. [59] Stwierdzono również obniżoną ilość płytek związaną ze zwiększonym ich zużyciem w przypadku zniszczenia płuc w przebiegu chorób ich mięszu, a także wentylacji mechanicznej. [60]

Nie powiodła się próba zwiększenia przydatności oznaczeń parametrów hematologicznych u noworodków poprzez opracowanie hematologicznego systemu punktowego. Za każdy nieprawidłowy wynik dotyczący całkowitej liczby krwinek białych, liczby neutrofilów, ilości form niedojrzałych granulocytów obojętnochłonnych, stosunku form niedojrzałych do całkowitej liczby neutrofilów, obecności zmian degeneracyjnych w granulocytach obojętnochłonnych, trombocytopenii przypisywany jest jeden punkt. Według Da Silva O. i wsp. [53] wynik równy bądź powyżej 3 punktów ma wysoką czułość wynoszącą 96%, ale niską wartość predykcji dodatniej równą 31%. Według Radwell R.L. i wsp. [58] obecność sześciu nieprawidłowych wskaźników charakteryzuje się 100% specyficznością, ale bardzo niską czułością wynoszącą 22%.

W związku z małą czułością i specyficznością parametry hematologiczne nie są wartościowymi markerami sepsy u noworodka.

### 1.3.2 Białka ostrej fazy

Białka ostrej fazy stanowią heterogenną grupę protein osoczowych będących ważnymi składowymi odporności wrodzonej. Produkowane są one głównie w wątrobie, przede wszystkim na skutek stymulacji bakteryjnej. Białka te są wytwarzane również w odpowiedzi na interleukinę-6, interleukinę-1 i TNF- $\alpha$  oraz INF- $\gamma$ . Do kategorii tej zalicza się około 30 różnych białek osocza. Jako wielofunkcyjne regulatory i białka efektorowe pozostają one w ścisłym związku z praktycznie wszystkimi typami komórek i cząsteczek. W tej grupie można wyróżnić wiele kategorii: białka pełniące funkcje opsonin, aktywujące układ dopełniacza (białko C-reaktywne (CRP) czy surowiczy składnik amyloidu A (SAA)), białka transportowe (transferyna, ceruloplazmina czy haptoglobina), czynniki krzepnięcia (fibrynogen), antyproteazy (alfa1-antytrypsyna, alfa1-antychymotrypsyna, alfa2-makroglobulina), składowe dopełniacza (C3, C4) i wiele innych. Poza oznaczeniem aktywności fibrynogenu w osoczu i stężenia CRP w surowicy krwi białka ostrej fazy nie znalazły szerszego zastosowania klinicznego w diagnostyce infekcji. [61]

Nazwa białka C-reaktywnego pochodzi od jego zdolności wiązania polisacharydu C wchodzącego w skład błony komórkowej pneumokoków. CRP jest opsoniną, która po opłaszczeniu bakterii aktywuje klasyczną drogę dopełniacza. Ma również zdolność wiązania się z cząstkami zawierającymi fosfocholinę – fosfolipidami błon komórkowych, lipoproteinami osocza oraz mediatorami takimi jak czynnik aktywacji płytek (PAF). Białko to wiąże się również z DNA bakteryjnym, ułatwiając jego eliminację z organizmu gospodarza. [62] Receptory dla CRP znajdują się również na monocytach, makrofagach i granulocytach obojętnochłonnych. [63] U zdrowych dorosłych pacjentów stężenie białka C-reaktywnego w surowicy wynosi średnio

0.8 mg/l. [63] Poziom białka C-reaktywnego rośnie od 6–12 godziny od momentu zakażenia, a maksimum jego stężenia w surowicy chorego pacjenta przypada na 24–48 godzin po indukcji procesu zapalnego. Okres półtrwania CRP wynosi 19 godzin. [63, 64]

Ze względu na stosunkowo powolne narastanie stężenia białka C-reaktywnego jego czułość w rozpoznaniu infekcji w początkowej fazie jest niska. W przebiegu sepsy czułość rośnie w ciągu 24 godzin od zakażenia. [65] Pojedynczy pomiar stężenia tego markera w surowicy odznacza się czułością od 29% do 90%. [54, 64, 66, 67, 68, 69] Trzykrotny pomiar wykonany w odstępach 12-godzinnych daje 98-procentową czułość w wykrywaniu sepsy u noworodka. [21] Swoistość tego parametru w diagnostyce sepsy u noworodka wynosi od 41–100%. [54, 66, 67, 70] Niska specyficzność opisywana w pracach niektórych autorów wynikać może z faktu, iż na stężenie CRP w surowicy mają wpływ zapalenie płynu owodniowego oraz sznura pępowinowego. [71] Zwiększenie stężenia tego markera w surowicy noworodków po urodzeniu powodować również mogą niezakaźne czynniki takie jak amnioinfuzja, gorączka u matki, pierwszy poród, więcej niż 3 badania przezpochwowe po odpłynięciu płynu owodniowego [72], przedwczesne odpłynięcie płynu owodniowego [71, 72], podbarwienie wód płodowych smółką [72], przedłużający się poród [72], uraz okołoporodowy, nadciśnienie tętnicze u matki w ciąży [73]. U noworodka niespecyficzny wzrost stężenia białka C-reaktywnego może występować w zespole aspiracji smółki, odmie opłucnowej, krwawieniu śródczaszkowym, niedotlenieniu okołoporodowym, po przebytych szczepieniu, w martwicy tkanek oraz po zabiegu chirurgicznym. [70] Stężenie białka C-reaktywnego w surowicy noworodka w 2-giej dobie po urodzeniu jest wyższe u dzieci po porodzie siłami natury w porównaniu do wartości zmierzonych u noworodków, które urodzone zostały cięciem cesarskim.

[74] Niska czułość w początkowym okresie infekcji, możliwość wpływu nieinfekcyjnych czynników na stężenie białka C-reaktywnego powoduje, iż jego wartość w diagnostyce sepsy okresu noworodkowego jest poddawana w wątpliwość. Dodatkowo we wstrząsie septycznym stężenie CRP jest bardzo wysokie, a jego zmiany nie dają już dodatkowych informacji o przebiegu tego powikłania. [69] Według Berger Ch. i wsp. [54] CRP w okresie noworodkowym jest wartościowym markerem sepsy o czułości wynoszącej 88% i specyficzności 87%, ale dopiero powyżej 3-ciej doby życia.

### **1.3.3 Parametry układu krzepnięcia**

W przebiegu sepsy często dochodzi do aktywacji układu krzepnięcia i w efekcie do zaburzeń w koagulogramie. Najczęściej obserwowanym odchyleniem od normy w przypadku sepsy u noworodków jest wydłużenie czasu protrombinowego (PT), a w następnej kolejności czasu częściowej tromboplastyny po aktywacji (aPTT). [75] Obserwowane jest również obniżenie poziomu fibrynogenu w osoczu. U części pacjentów stwierdzana jest hyperfibrynogemia, co spowodowane jest zwiększoną produkcją tego czynnika jako białka fazy ostrej, po pobudzeniu wątroby przez cytokiny prozapalne. [75] W przebiegu sepsy u noworodków stwierdza się również podniesione wartości stężeń produktów degradacji fibryny (FDP) oraz d-dimerów. FDP i d-dimery są markerami rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (DIC), którego stwierdzenie wiąże się zwykle z gorszym przebiegiem i rokowaniem dla pacjenta chorującego na sepsę. [75] Jednakże według Meisner M. [76] na podstawie zaburzeń w układzie krzepnięcia nie można postawić rozpoznania infekcji. Brak jest również, według tego autora, powiązania pomiędzy nasileniem zaburzeń w układzie krzepnięcia a intensywnością stanu zapalnego. Stwierdził on

także, iż prawidłowe parametry układu krzepnięcia stwierdza się u wysokiego odsetka pacjentów z niewydolnością wielonarządową w przebiegu sepsy.

### **1.3.4 Cytokiny**

Cytokiny są wielofunkcyjnymi cząsteczkami wydzielanymi przez aktywowane komórki układu odpornościowego. Indukują one podziały, różnicowanie komórek, chemotaksję, aktywację oraz cytotoksyczność. Należą do nich monokiny wydzielane przez monocyty i makrofagi, limfokiny produkowane przez limfocyty, interleukiny, których źródłem są przede wszystkim leukocyty. Kolejną grupą są interferony wydzielane przez różne komórki organizmu, pod wpływem infekcji wirusowych. Wyróżniono również grupę chemokin, małych cząsteczek wiążących heparynę. Podstawową wadą, ograniczającą oznaczenie cytokin w rozpoznaniu sepsy, jest w większości przypadków, ich krótki czas półtrwania oraz wysoki koszt pojedynczego badania. Chociaż Hodge G. i wsp. [77] opisują przydatność równoczesnego oznaczenia wielu cytokin w jednej próbce w diagnostyce sepsy u noworodka w pierwszych trzech tygodniach życia, to praktyczne znaczenie diagnostyczne w rozpoznawaniu sepsy ma jedynie badanie stężenia interleukiny-6 i 8.

Wartość stężenia interleukiny-6 w surowicy krwi jest wprost proporcjonalna do rozległości odpowiedzi zapalnej i ciężkości przebiegu choroby. [78] Ta zależność jest największa w początkowej fazie choroby. Stężenie Il-6 we krwi pępowinowej jest czułym markerem infekcji stwierdzanej w pierwszych 72 godzinach życia. Czułość tego markera wynosi, według różnych autorów, od 87–100%. [79–81] Stwierdzono również, że interleukina-6 jest czułym markerem zagrożenia zgonem w przebiegu sepsy. [82] Jednakże jej stężenie jest



zmienne i może podlegać zjawisku „down-regulation”. Dodatkowo, ze względu na krótki okres półtrwania, zmniejsza się ono w przebiegu sepsy. Po 24 godzinach leczenia infekcji jej stężenie jest porównywalne do stężenia interleukiny-6 u zdrowych pacjentów. [83] Marker ten może być również indukowany niespecyficznie, np. po zabiegach chirurgicznych, w infekcjach wirusowych, chorobach z autoagresji, przy odrzucaniu przeszczepu. [76] Wysokie stężenia interleukiny-6 obserwowano również u dzieci z zespołem zaburzeń oddychania [84] oraz zamartwicą [85]. Na obniżenie stężeń interleukiny-6 w surowicy w przebiegu sepsy wpływ ma terapia steroidami. [86] Zmienność stężenia Il-6 w surowicy oraz możliwość niespecyficznego indukcji jej wydzielania skłaniają do ostrożnej interpretacji wyniku badania tego markera.

Istnieją również doniesienia o dużej przydatności oznaczania interleukiny-8 we krwi pępowinowej w diagnostyce zakażeń wewnątrzmacicznych. [80] Jednakże wzrost jej stężenia może być również spowodowany niedotlenieniem wewnątrzmacicznym i okołoporodowym. [85]

Dodatkowo według Døllner H. i wsp. [87] zwiększony poziom badanych przez nich cytokin w tym interleukiny-6 i 8 oznaczanych we krwi pępowinowej, występuje u noworodków z infekcją, ale tylko w przypadku dzieci przedwcześnie urodzonych. U noworodków donoszonych nie stwierdzono takiej zależności.

### **1.3.5 Markery powierzchniowe komórek**

Wyniki prac publikowanych od lat 90-tych XX wieku udowadniają, iż oznaczenie ekspresji pewnych antygenów obecnych na powierzchni komórek układu odpornościowego jest przydatne w diagnozowaniu i monitorowaniu sepsy. Jak do tej pory ilość badań dotyczących ich

znaczenia w rozpoznawaniu uogólnionej infekcji o wczesnym początku u noworodka jest niewielka. Wśród cząsteczek ekspozowanych na neutrofilach w wyniku ich zetknięcia się z bakteriami, jako obiecującą w diagnostyce sepsy opisano CD11B będącą podjednostką  $\alpha$  cząstki adhezyjnej dla integryny- $\beta_2$ . [88] Winschenk N.P. i wsp. [89] stwierdzili, że u noworodków niedojrzałych dochodzi w przebiegu sepsy do ekspresji cząsteczek CD33 i CD66b na neutrofilach oraz CD19 na limfocytach. Nie jest jednak znana przydatność oznaczania tych antygenów w zakażeniu u noworodka. Austgulen R. i wsp. [90] stwierdzili wzrost poziomów E-selektyny oraz cząstki ICAM-1 w surowicy noworodków z infekcją rozwijającą się w pierwszym tygodniu życia. Zależność ta nie dotyczyła jednak wcześniaków. Według Kurtis A.P. i wsp. [91] podniesiony poziom rozpuszczalnej L-selektyny w surowicy stwierdza się w pierwszych dwóch dobach życia w przypadku infekcji zarówno u noworodków donoszonych, jak i wcześniaków. Layseca-Espinosa E. i wsp. [92] wykazali, iż podwyższona ekspresja CD64 jest specyficznym markerem sepsy okresu noworodkowego. Jednakże czułość tego markera w cytowanym badaniu była niska i wynosiła zaledwie 25.8%. Z kolei Rozsivál P. i wsp. [93] obserwowali u noworodków z czynnikami ryzyka infekcji o wczesnym początku podniesioną proporcję komórek CD19<sup>+</sup>/23<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>/64<sup>+</sup>, CD45RO. Jak udowodnili Skrzeczyńska J. i wsp. [94] u noworodków w przypadku sepsy, dochodzi do wzrostu odsetkowych wartości monocytów CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>. Antygeny CD14 i CD16 to receptory dla fragmentów Fc przeciwciał odpornościowych, odpowiednio FcRI i FcRIII. Według Ziegler-Heitbrock L. [95] monocyty CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> odgrywają kluczową rolę w indukcji stanu zapalnego, będąc potencjalnym źródłem TNF- $\alpha$ . Wartość ich oznaczenia w sepsie u noworodków została potwierdzona przez El-Gamal Y.M.E. i wsp. [96] Natomiast opisywana redukcja

ekspresji HLA-DR na monocytach w przypadku sepsy [94, 97] nie jest specyficzna dla zakażenia uogólnionego w tej grupie wiekowej. Według Kanakoudi-Tsakalidou F. i wsp. [98] ekspresja HLA-DR na monocytach u noworodków jest niższa niż u dorosłych i ulega dalszemu obniżeniu w przypadku zespołu zaburzeń oddychania i sepsy. Zaletą oznaczenia monocytów CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>, kiedy monitoruje się zagrożenie wystąpienia infekcji u pacjentów w Oddziałach Intensywnej Terapii, jest pojawienie się ich zwiększonego odsetka 1–2 dni przed objawami klinicznymi sepsy. [94] Ograniczenie szerokiego wykorzystania tego oznaczenia wynika z małej jego dostępności w codziennej praktyce klinicznej.

### **1.3.6 Badania mikrobiologiczne**

W około 40% badań bakteriologicznych krwi, w przypadku objawów klinicznych sepsy u noworodka, nie stwierdza się wzrostu flory bakteryjnej. Wynikać to może między innymi z małej objętości krwi pobieranej od noworodków, szczególnie w przypadku najciężej chorych dzieci o bardzo małej urodzeniowej masie ciała. Kolejną przyczyną negatywnego wyniku badania bakteriologicznego krwi może być wcześniejsze stosowanie antybiotyków u matki w trakcie ciąży. [21] Często przyczyną niestwierdzenia wzrostu bakterii we krwi u noworodka jest wystąpienie objawów klinicznych sepsy wynikających z uwolnienia toksyn bakteryjnych ze zlokalizowanego ogniska zakażenia. Zjawiska te powodują, iż nie zawsze negatywny wynik badania bakteriologicznego krwi u noworodka wyklucza istnienie u niego ciężkiej, zagrażającej życiu infekcji. Czułość badania bakteriologicznego można podnieść, wykonując oznaczenie materiału genetycznego bakterii przy pomocy polimerazowej reakcji łańcuchowej (PCR). [99] Fałszywie dodatnie wyniki badania bakteriologicznego krwi mogą być spowodowane zanieczyszczeniem próbek.

## **1.4 Prokalcytonina**

Badania dodatkowe, które są wykorzystywane w diagnostyce zakażeń u krytycznie chorych pacjentów i dostępne w codziennej praktyce klinicznej, nie spełniają kryteriów wystarczającej czułości i specyficzności. Wydaje się, że prokalcytonina, której przydatność w rozpoznawaniu infekcji jest badana, od kiedy Assicot M. i wsp. [100] w 1993 roku, opublikowania pierwsze doniesienia o jej podwyższonym stężeniu w zakażeniu, jest parametrem bardzo użytecznym w diagnostyce ciężkich postaci zakażeń. Nie może ona zastąpić klinicznej oceny pacjenta oraz innych badań diagnostycznych, ale może być wartościowym markerem w przypadkach trudnych do zdiagnozowania. Wysokie poziomy prokalcytoniny świadczą o uogólnionym zakażeniu bakteryjnym, nawet jeśli nie udaje się zidentyfikować wywołującego go patogenu. Spadek stężenia prokalcytoniny w surowicy pacjenta potwierdza skuteczność terapii w sepsie. Przydatność oznaczeń poziomu prokalcytoniny w diagnostyce zakażeń wczesnych okresu noworodkowego jest nadal przedmiotem wielu badań klinicznych, których wyniki nie są jednoznaczne.

### **1.4.1 Budowa, synteza, wydzielanie i funkcja prokalcytoniny**

Prokalcytonina jest peptydem składającym się ze 116 aminokwasów o masie cząsteczkowej 14,5 kilodaltonów. [101] W prawidłowych warunkach funkcjonowania organizmu jest ona produkowana w komórkach C tarczycy, gdzie poddana zostaje procesowi proteolizy, przechodząc w aktywną postać hormonu. W stanie uogólnionej reakcji zapalnej dochodzi do jej gwałtownego wyrzutu, niezależnie od stężenia hormonu. Jest ona wtedy produkowana poza komórkami C tarczycy, według licznych autorów w monocytach krwi

obwodowej [102–106] oraz w różnych typach leukocytów [107]. Jak jednak twierdzą inni, produkcja dużych ilości prokalcytoniny w sepsie w przypadku prawie całkowitego zniszczenia populacji leukocytów w trakcie chemioterapii świadczy o tym, że białe ciała krwi nie są jej jedynym źródłem. Miejscem produkcji tego markera mogą być również wątroba [108–110], płuca, nerki, mięśnie, tkanka tłuszczowa [110], a także komórki neuroendokrynne różnych narządów. [111]

Za produkcję prokalcytoniny odpowiedzialny jest gen CALC-I zlokalizowany na chromosomie 11p15.4. [112] Odpowiada on również za syntezę prohormonu w uogólnionej reakcji zapalnej. Miejsce promotorowe tego genu może wiązać, oprócz podstawowych czynników transkrypcyjnych, także jądrowy czynnik transkrypcyjny ( $\text{NF}\kappa\beta$ ) i białko aktywujące-1 (AP-1), które w stanie zapalnym są produkowane w znacznych ilościach. [101] W procesie translacji pierwotnie powstaje 141-aminokwasowe białko o ciężarze 16 kDa zwane preprokalcytoniną. Zawiera ono sekwencję sygnałową, następnie N-końcowy odcinek prokalcytoniny oraz sekwencję kalcytoniny, a także C-końcowy odcinek prokalcytoniny, zwany katakalcyną. Silnie hydrofobowe właściwości sekwencji sygnałowej umożliwiają przyłączenie preprokalcytoniny do siateczki endoplazmatycznej. Tutaj sekwencja ta jest natychmiast odcinana przez endopeptydazę. Konwertaza prohormonu katalizuje proces proteolizy, odszczepiający N-prokalcytoninę, kalcytoninę oraz katakalcynę. Ten proces nie występuje w przypadku prokalcytoniny syntetyzowanej w stanie zapalnym, co powoduje, że może być ona stwierdzana wtedy w surowicy jako prohormon. Prawdopodobnie dzieje się to z powodu fosforylacji sekwencji sygnałowych dla enzymu proteolitycznego, katalizującego rozkład prokalcytoniny, co uniemożliwia jej podział.

Prawidłowe stężenie prokalcytoniny w surowicy krwi wynosi poniżej 0.1 ng/ml, a w większości cytowanych prac jako norma przyjmowany jest poziom poniżej 0.5 ng/ml. [101]

Stężenie prokalcytoniny w surowicy rośnie pod wpływem endotoksyn bakteryjnych obecnych w organizmie. Najmocniejszym czynnikiem stymulującym wyrzut prokalcytoniny jest lipopolisacharyd, który jest elementem ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych, decydującym o ich chorobotwórczości. [113] Mniejszy wpływ na wzrost jej stężenia obserwowano również po podaży Il-1 $\beta$ , [114] TNF- $\alpha$ , Il-6 [109, 114, 115], Il-8. [115] Hamujący wpływ na ekspresję genu CALC-I mają cytokiny uwalniane w trakcie infekcji wirusowej, w tym IFN- $\gamma$ . [110] Według Brunkhorst F.M. i wsp. [116] brak jest specyficznego wzrostu stężenia prokalcytoniny w innych niż surowica płynach biologicznych w stanie zapalnym ograniczonym do danego narządu.

Okres półtrwania kalcytoniny wynosi kilka minut. [117] Natomiast w przypadku prokalcytoniny kształtuje się pomiędzy 20–30 godzin. [118–120] W badaniach na zdrowych ochotnikach prokalcytonina pojawia się w surowicy po 2–3 godzinach od podaży niewielkiej ilości endotoksyny bakteryjnej, następnie jej poziom rośnie, osiągając stałą wartość po 6–12 godzinach. Poziom prokalcytoniny pozostaje wysoki przez 48 godzin, a następnie powraca do normy w ciągu 2 kolejnych dni. [113, 118] W przypadku, gdy w organizmie nadal stwierdza się uogólnioną reakcję zapalną, poziom prokalcytoniny jest wynikiem równowagi pomiędzy jej eliminacją a wytwarzaniem. Nie zaobserwowano zjawiska „down-regulation” w przypadku utrzymywania się układowej reakcji zapalnej. Stwierdzono, że u osób, których stan kliniczny ulega poprawie i ustępują objawy wstrząsu septycznego, dochodzi do obniżenia poziomu prokalcytoniny o 50% po około 2.5 doby. [121]

Jak wiadomo, w stanie fizjologii kalcytonina odpowiedzialna jest za gospodarke wapniowo-fosforanową. W przypadku prokalcytoniny indukowanej w stanie zapalnym tylko kilku autorów wykazało jej wpływ na poziom wapnia i fosforu w surowicy. Niewielki spadek poziomu wapnia wśród pacjentów z zapaleniem płuc obserwował w swych badaniach Nylén E.S. i wsp. [122] W badaniach na zwierzętach wykazano znaczny spadek poziomu wapnia i wzrost poziomu fosforu równolegle ze wzrostem w surowicy stężenia prekursorów kalcytoniny, w tym prokalcytoniny. [123]

Brak jest jednoznacznej odpowiedzi na pytanie dotyczące wpływu prokalcytoniny na procesy immunologiczne zachodzące w organizmie. Badania właściwości immunomodulacyjnych prokalcytoniny są oparte na obserwacji miejsc wiążących prokalcytoninę na limfocytach B i T. Przyłączenie prokalcytoniny do receptorów powoduje wzrost wewnątrzkomórkowego poziomu c-AMP oraz fosfolipazy C, będących kluczowymi enzymami w indukcji procesów zapalnych. [124, 125] Inni autorzy stwierdzili, że prokalcytonina hamuje „in vitro” syntezę prostaglandyn i tromboksanu w limfocytach [126, 127], zwiększając z kolei stymulowane przez LPS wydzielanie TNF- $\alpha$  [126]. Nylén E.S. i wsp. [128] wykazali, że podaż rekombinowanej ludzkiej prokalcytoniny szczurom chorującym na sepsę zwiększa ich śmiertelność, co można odwrócić podając przeciwciała ją neutralizujące. Prawdopodobieństwo tego, że prokalcytonina odgrywa rolę w procesie zapalnym wydaje się potwierdzać obecność sekwencji homologicznych z TNF- $\alpha$ , Il-6 i G-CSF w jej strukturze. [129] Stwierdzono również, że „in vitro” prokalcytonina moduluje wpływ indukowalnej syntazy tlenu azotu iNOS na ekspresję genów odpowiedzialnych za produkcję cytokin prozapalnych. [130] Według Bucová M. i wsp. [131] prokalcytonina ma działanie supresyjne na pobudzone klony limfocytów T. Wykazano również prozapalne

działanie prokalcytoniny powodującej wzrost ekspresji antygenów CD14 i CD16 na monocytach i neutrofilach oraz zwiększenie ilości komórek z podwyższonym stężeniem wewnątrzkomórkowym wapnia. [132]

#### **1.4.2 Diagnostyka infekcji przy użyciu prokalcytoniny**

W przeciwieństwie do większości cytokin, prokalcytonina wykazuje wysoką stabilność w próbce krwi. Jak wykazali Meisner M. i wsp. [133] w temperaturze pokojowej, w ciągu 24 godzin, jej aktywność spada o zaledwie 12%, a w temperaturze 4 stopni Celsjusza tylko o 6%. Udowodnili oni również brak wpływu zamrażania osocza na stężenie prokalcytoniny. Nie znaleziono różnic w aktywności tego markera pomiędzy próbkami krwi pobranymi u tego samego pacjenta z naczynia żylnego i tętniczego. Poza heparyną litową, która zwiększa stężenie badanej prokalcytoniny, inne podłoża, na które została pobrana krew, nie mają wpływu na otrzymany wynik. Monneret G. i wsp. [134] stwierdzili, że na zafałszowanie wyniku badania prokalcytoniny ma wpływ jedynie duża hemoliza. Takiego zaś wpływu nie stwierdzono w przypadku różnic w stężeniu hemoglobiny, bilirubiny oraz triglicerydów.

Poziom prokalcytoniny wzrasta w przypadku infekcji bakteryjnej wywołującej układową reakcję zapalną. [100] Zakażenie bakteryjne ograniczone do jednego narządu nie powoduje wzrostu poziomu prokalcytoniny w surowicy, lub tylko nieznaczny, możliwy do wykrycia ultraczułymi metodami. [100, 135] Minimalny wzrost stężenia zaobserwowano w przypadku zapaleń płuc [122, 136–138]. Nie stwierdzono też podniesionego stężenia tego markera w płynach ustrojowych pozyskiwanych do badania. Wyjątek stanowił płyn w jamie otrzewnowej, w którym stężenie prokalcytoniny w przypadku sepsy oraz rozlanego zapalenia otrzewnej osiągało wartość 2/3 stężenia w surowicy krwi. [116] Poziom prokalcytoniny pozostaje natomiast prawidłowy lub



wzrasta tylko w niewielkim stopniu w przypadku zlokalizowanego zapalenia otrzewnej, np. w rozpoczynającym się zapaleniu wyrostka robaczkowego lub pęcherzyka żółciowego. [139] Nie dochodzi do znaczącego wzrostu stężenia tego markera w surowicy w przypadku infekcji wirusowych [100, 140], w tym również zakażenia HIV-1 [141]. Według Kocazeybek B. i wsp. [142] oraz Chernevskaya E. i wsp. [143] wyższe stężenia prokalcytoniny stwierdza się w przypadku infekcji florą Gram-ujemną niż w zakażeniu florą Gram-dodatnią. Chociaż wysokie stężenia prokalcytoniny w surowicy krwi są najbardziej charakterystyczne dla układowej reakcji zapalnej wywołanej infekcją bakteryjną, to poziom prokalcytoniny podnosi się również w przypadku systemowych zakażeń grzybiczych [144], a także w malarii [145]. Znacznie podwyższone poziomy prokalcytoniny, wynoszące nawet 1 000 µg/l, stwierdzano w pojedynczych przypadkach, u tych pacjentów, u których wykluczono sepsę. [146] Zaobserwowano również wzrost stężenia tego markera u chorych z cukrzycą typu II. [147] Wyniki wielu badań wykazują, że kilkukrotne oznaczenie prokalcytoniny pozwala różnicować sepsę i jej ciężkie postaci oraz ustalać na jej podstawie rokowanie dla pacjenta. [78, 148–154] Szybki wzrost stężenia prokalcytoniny w surowicy krwi wskazuje na ciężki przebieg układowej reakcji zapalnej i związany jest ze złym rokowaniem. Z kolei obniżający się poziom prokalcytoniny w surowicy krwi dobrze rokuje. Według niektórych autorów już pojedyncze oznaczenie tego markera pozwala na przewidywanie przebiegu zachorowania. [155, 156] W licznych badaniach wykazano, że oznaczenie stężenia prokalcytoniny jest metodą bardziej czułą i specyficzną w diagnostyce sepsy niż stosowane do tej pory badania parametrów hematologicznych, białka C-reaktywnego jak również niektórych cytokin. [150, 152, 157, 158] W porównaniu do białka C-reaktywnego prokalcytonina pojawia się we krwi szybciej, jej

stężenia reagują również w krótszym czasie na poprawę stanu klinicznego pacjenta. [159] Prokalcytonina jest bardziej specyficznym markerem sepsy niż CRP. [159] Wzrost stężenia CRP obserwuje się również w przypadku infekcji wirusowych, ostrego odrzucenia przeszczepu czy zabiegu chirurgicznego. Stwierdzono również, że oznaczenie prokalcytoniny w przebiegu sepsy ma lepszą wartość predykcyjną ujemną niż białko C-reaktywne. [160] Prokalcytonina jest więc wartościowym markerem, umożliwiającym różnicowanie przyczyny pogorszenia się stanu klinicznego, co jest szczególnie ważne u pacjentów wymagających intensywnej terapii. Szybkie narastanie stężeń prokalcytoniny w sepsie, a także krótki czas konieczny do jej oznaczenia umożliwiają szybkie podjęcie decyzji o wdrożeniu leczenia, co może zadecydować o powodzeniu terapii. Obniżanie się stężenia tego markera w przebiegu leczenia dobrze rokuje i może być podstawą do zakończenia antybiotykoterapii.

#### **1.4.3 Prokalcytonina w infekcjach u noworodków**

Badania laboratoryjne, potwierdzające zakażenie mają szczególne znaczenie u noworodków ze względu na brak specyficznych objawów sugerujących infekcję w tym okresie życia. Prokalcytonina posiada ustalone miejsce jako wartościowy marker w diagnostyce sepsy u niemowląt, starszych dzieci oraz osób dorosłych. W przypadku pierwszych dni życia wątpliwości co do możliwości wykorzystania tego testu w rozpoznaniu zakażenia uogólnionego wynikają z obserwowanych u zdrowych, donoszonych noworodków wyższych wartości stężeń prokalcytoniny, niż te które są stwierdzane u zdrowych dorosłych,.

Bezpośrednio po urodzeniu oraz w pierwszych godzinach życia stężenia prokalcytoniny w surowicy zdrowych noworodków są niskie. W badaniu przeprowadzonym u 83 zdrowych noworodków przez Chiesa C.

i wsp. [161] wartość stężenia tego markera w surowicy po urodzeniu wynosiła 0.1 ng/ml. Średnie geometryczne stężenie prokalcytoniny w surowicy 121 zdrowych noworodków po urodzeniu wyniosło według Assuma M. i wsp. 0.094 µg/l. [162]. W kolejnej pracy Chiesa C. i wsp. [83] dokonywali oznaczeń stężenia PCT w surowicy noworodków bez infekcji przyjętych do oddziału intensywnej terapii, otrzymując wartość średnią stężenia wynoszącą po urodzeniu 0.22 µg/l. Wynik średniego stężenia prokalcytoniny równy 0.35 ng/ml, również u przyjmowanych do oddziału intensywnej terapii noworodków, u których wykluczono infekcję, otrzymali Lopez-Sastre J.B. i wsp. [163] Według Joram N. i wsp. [164] stężenie tego markera we krwi pępowinowej zdrowych noworodków po urodzeniu wynosi <0.01 µg/l. W kolejnych godzinach życia, również u zdrowych noworodków, obserwuje się narastanie stężeń prokalcytoniny w surowicy. W 12 godzinie życia wartości jej stężenia są porównywalne lub nieznacznie wyższe od stwierdzanych u zdrowych dorosłych. W pracy Koskenvuo M.M. i wsp. [165] średnie stężenie tego markera w surowicy 7 zdrowych noworodków wyniosło 0.3 +/- 0.2 ng/ml, co jest wartością znajdującą się w granicach normy. Podobne wartości wynoszące 0.45 (0.01-82.02) µg/l otrzymali Marchini G. i wsp. [74] Sachse Ch. i wsp. [166]. Oznaczając stężenie prokalcytoniny w surowicy noworodków bez infekcji przed 11 godziną życia, otrzymali wartość 0.6 (0.1–3.8) ng/ml. Inni autorzy podają wyższe wartości stężenia tego markera – 1.25 ng/ml [161], 1.54 ng/ml [163]. W większości prac maksymalne stężenie prokalcytoniny w surowicy noworodków bez infekcji stwierdzano w 24 godzinie życia. Otrzymane wartości różniły się między sobą wyraźnie i wynosiły – 1.44 (0.01-23.52) µg/l [74], 2.5 (1.97–3.09) ng/ml [161], 2.47 µg/l [162], 2.4 +/- 4.6 ng/ml [165], 3.2 (0.8–11.7) ng/ml [166], 3.5 +/- 0.5 µg/l [167], 5.6 (4.26–7.3) µg/l [83]. Powyżej 24 godziny życia obserwuje się spadek

stężenia prokalcytoniny do wartości stwierdzanych bezpośrednio po urodzeniu. Chiesa C. i wsp. [161] opisują powrót stężenia tego markera w surowicy noworodków do wartości prawidłowych około 48 godziny życia. Podobne rezultaty otrzymali Marchini G. i wsp. [74], Assuma M. i wsp. [162], Lopez-Sastre J.B. i wsp. [163], Sachse Ch. i wsp. [166]. Jedynie w innej pracy Chiesa C. i wsp. [83] stwierdzili, że pomimo obniżenia się stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodków, w 48 godzinie życia pozostaje ona nadal powyżej normy – 2.15 (1.69–2.71) ng/ml. Wszystkie powyżej zacytowane prace potwierdzają zjawisko wzrostu stężenia prokalcytoniny w pierwszych godzinach po urodzeniu. Wyjątek stanowi badanie Gendrel D. i wsp. [168], w którym wykazano, iż stężenia prokalcytoniny u noworodków nie różnią się statystycznie istotnie od stwierdzanych u zdrowych dorosłych. Badanie to jednak dotyczyło noworodków w pierwszych 5 dniach życia, a czas w jakim pobierano próbki krwi, nie był dokładnie zdefiniowany.

Początkowo w badaniach, między innymi Chiesa C. i wsp. [161], Gendrel D. i wsp. [168], Monneret G. i wsp., [169] oraz Guibourdenche J. i wsp. [170] nie stwierdzano zależności pomiędzy dojrzałością i urodzeniową masą ciała noworodka a stężeniem prokalcytoniny w surowicy krwi po urodzeniu. Jednakże według Janota J. i wsp. [171] oraz Tuner D. i wsp. [172] stężenie prokalcytoniny w surowicy dzieci przedwcześnie urodzonych, bez infekcji wrodzonej, może osiągać podwyższone wartości nieco później po urodzeniu niż jak ma to miejsce u noworodków urodzonych o czasie. Stężenie prokalcytoniny może być u tych pacjentów niższe, a powrót do poziomu uznawanego za normę wolniejszy. Różnice te mogą wynikać z niedojrzałości układu immunologicznego wcześniaków.

Obserwując wzrost stężenia prokalcytoniny w pierwszych 48 godzinach życia w surowicy noworodków, u których wykluczono

zakażenie, podjęto próbę odpowiedzi na pytanie, czy istnieją inne poza infekcyjnymi czynniki mogące wpływać na to zjawisko. W licznych pracach analizie poddano choroby matki występujące w trakcie ciąży, czynniki ryzyka sepsy u noworodka oraz stany chorobowe noworodka niewynikające z zakażenia. Rezultaty tych prac są sprzeczne.

Według Chiesa C. i wsp. [161] na wzrost stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodka po urodzeniu wpływ ma cukrzyca stwierdzana u matki w trakcie ciąży. Wynikom tym zaprzecza praca Assuma M. i wsp. [162], w której nie stwierdzono takiej zależności. Chiesa C. i wsp. [161] wykazali również wpływ stanu przedrzucawkowego na wzrost poziomu prokalcytoniny u noworodka. Assuma M. i wsp. [162] udowodnili natomiast brak zależności pomiędzy występowaniem nadciśnienia tętniczego u matki, a wartością stężenia prokalcytoniny u noworodka po urodzeniu.

Z kolei autorzy ci [162] w swoich badaniach wykazali zależność pomiędzy przedwczesnym odpłynięciem płynu owodniowego oraz nosicielstwem paciorkowca z grupy B w drogach rodnych matki a wzrostem stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodka po urodzeniu. Taką zależność wykluczyli zaś Chiesa C. i wsp. [161] oraz Martin-Denavit T. i wsp. [167] Natomiast według większości autorów zapalenie płynu owodniowego zwiększa stężenie prokalcytoniny w surowicy noworodka po urodzeniu. [161, 163, 171]

Wzrost stężenia prokalcytoniny u noworodków w pierwszych godzinach życia opisywany jest w przypadku niedotlenienia okołoporodowego wymagającego prowadzenia resuscytacji [83, 163, 173], zespołu zaburzeń oddychania [165, 173], niewydolności oddechowej i krążenia u noworodka [174, 175], wylewów wewnątrzczaszkowych i odmy opłucnowej [173] oraz hipoglikemii [165]. Tymczasem zależności pomiędzy poziomem prokalcytoniny w

pierwszych 48 godzinach życia a niedotlenieniem okołoporodowym nie udowodnili Assuma M. i wsp. [162]. Chiesa C. i wsp. [161] wykluczyli zaś związek zaburzeń oddychania występujących u noworodka z poziomem prokalcytoniny w jego surowicy po urodzeniu.

Z powodu opisywanego wzrostu stężenia prokalcytoniny po urodzeniu w surowicy noworodków, u których wykluczono infekcję o wczesnym początku, wartość oznaczania tego markera w sepsie występującej w pierwszych 72 godzinach życia jest poddawana w wątpliwość. Niską swoistość tego oznaczenia, wynoszącą około 50% w pierwszych dobach życia, otrzymali Koskenvuo M.M. i wsp. [165] oraz Lapillone A. i wsp. [174]. Również Monneret G. i wsp. [175] oraz Franz A.R. i wsp. [176] wykazali niską przydatność tego markera w diagnostyce sepsy o wczesnym początku. Wyniki badań autorów, którzy potwierdzają przydatność oznaczenia stężenia prokalcytoniny w diagnostyce zakażenia o wczesnym początku, różnią się znacznie między sobą wynikami czułości, specyficzności oraz wartością punktu odcięcia dla stężenia prokalcytoniny, przy którym obliczono te parametry. Dwukrotnie pozytywnie wartość oznaczenia tego markera w diagnostyce sepsy udowodnili Chiesa C. i wsp. [83, 161] W badaniu pierwszym oznaczali oni stężenie PCT w surowicy 83 zdrowych noworodków i 120 noworodków przebywających w oddziale intensywnej terapii, otrzymując czułość wynoszącą 92.6% oraz specyficzność 97.5%. [161] Kolejne badanie, które objęło grupę 219 krytycznie chorych noworodków, wykazało, że wartość geometrycznej średniej stężenia prokalcytoniny w grupie noworodków z sepsą była statystycznie istotnie wyższa w porównaniu do otrzymanej w grupie, w której wykluczono zakażenie uogólnione (3.79 [1.70–8.43] vs 0.22 [0.18–0.27]  $\mu\text{g/l}$ ;  $p < 0.0001$ ). [83] Lopez-Sastre J.B. i wsp. [163] dla stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodków po urodzeniu wynoszącego

0.55 ng/ml otrzymali 75.4% czułość oraz 72.3% specyficzność w postawieniu rozpoznania sepsy. Dla podobnej wartości stężenia tego markera we krwi pępowinowej noworodków Joram N. i wsp. [164] wykazali 87.5% czułość oraz 98.7% swoistość w diagnostyce sepsy o wczesnym początku. Wartość czułości równą 75% dla oznaczenia prokalcytoniny w zakażeniu uogólnionym w pierwszych 72 godzinach życia oznaczyli Janota J. i wsp. [171] Średnie stężenie prokalcytoniny u noworodków z rozpoznaną sepsą wynosiło 8.41 ng/ml i było znacząco wyższe od średniego stężenia tego markera wynoszącego 3.02 ng/ml oznaczanego w surowicy noworodków bez infekcji. Również Monneret G. i wsp. [169] otrzymali wyższe stężenia prokalcytoniny w surowicy u noworodków z infekcją w porównaniu do wartości stężeń tego markera fizjologicznie podniesionych w pierwszych 2-ch dobach życia (średnia 162 ng/ml vs 3.82 ng/ml). Wysoką specyficzność wynoszącą 91% oraz 77% czułość dla oznaczenia prokalcytoniny w sepsie u noworodków w pierwszych 72 godzinach życia udowodnili Resch B. i wsp. [67] Punkt odcięcia dla stężenia prokalcytoniny w tym badaniu wynosił 6 ng/ml.

Wydaje się, że prokalcytonina – u noworodków, podobnie jak u osób dorosłych jest pomocna w odróżnieniu ciężkiej infekcji bakteryjnej od wirusowej. [140, 177] Obserwowano również wzrost stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodków z sepsą grzybiczą o wczesnym początku. [178] Nie opublikowano natomiast danych, które analizowałyby zależność pomiędzy stężeniem prokalcytoniny w surowicy noworodka a etiologią sepsy bakteryjnej. Jednakże z pracy Chiesa C. i wsp. [161] wynika, że poziomy te mogą być dużo wyższe w przypadku infekcji spowodowanej bakteriami Gram-ujemnymi niż w zakażeniu florą Gram-dodatnią.

Nie ma opracowań dotyczących zależności pomiędzy stężeniem prokalcytoniny w surowicy noworodka w przebiegu sepsy a

wystąpieniem powikłań w jej przebiegu i rokowaniu. Jedynie Monneret G. i wsp. [169] sugerują, że poziom tego markera koreluje z aktywnością choroby.

Prokalcytonina jest według większości autorów markerem bardziej czułym i specyficznym w diagnostyce sepsy o wczesnym początku w porównaniu z białkiem C-reaktywnym. [67, 83, 168, 169] Jednakże według Joram N. i wsp. [164] swoistość oraz wartość predykcyjna dodatnia oznaczeń stężenia prokalcytoniny i CRP w sepsie rozpoczynającej się w pierwszych 3 dniach życia są porównywalne. Podobnie Janota J. i wsp. [171] uznali, że w porównaniu do oznaczenia CRP w sepsie o wczesnym początku, prokalcytonina jest wprawdzie markerem czulszym (PCT – 75%, CRP – 25%), ale o mniejszej swoistości (PCT – 75%, CRP – 90%).

Wyższą wartość diagnostyczną oznaczenia prokalcytoniny w porównaniu do liczby leukocytów we krwi obwodowej w sepsie o wczesnym początku udowodnili Distefano G. i wsp. [178], Sakha K. i wsp. [179] oraz Kordek A. i wsp. [180]

Podobnie jak u dorosłych, także u noworodków nie stwierdza się wzrostu stężenia prokalcytoniny w surowicy krwi w przypadku infekcji zlokalizowanej. Ograniczoną przydatność oznaczenia stężenia prokalcytoniny w surowicy w zapaleniu płuc u dzieci wykazali Korppi M. i wsp. [181, 182], choć według Moulin F. i wsp. [183] oraz Toikka P. i wsp. [184] marker ten jest przydatny w różnicowaniu etiologii bakteryjnej i wirusowej zapalenia płuc w tej grupie wiekowej. Niewiele prac poświęcono natomiast stężeniu prokalcytoniny w surowicy w zapaleniach płuc u noworodków. Według Lachowskiej M. i wsp. [185] oznaczenie prokalcytoniny nie jest przydatne w diagnostyce wrodzonych zapaleń płuc u wcześniaków.



## 2. Założenia i cel pracy

Zważywszy na istotną rolę oznaczenia prokalcytoniny w diagnostyce sepsy u osób dorosłych, jak również w rozpoznaniu zakażenia uogólnionego o późnym początku u noworodków, postanowiłam odpowiedzieć na pytanie, czy stężenie prokalcytoniny w surowicy oznaczone do 12 godzin po urodzeniu może być wartościowym markerem wczesnej postaci zakażenia uogólnionego.

Szczegółowym celem pracy było:

1. Oznaczenie wartości prokalcytoniny w grupie noworodków, u których na podstawie objawów klinicznych oraz wyników badań dodatkowych wykluczono sepsę wrodzoną.
2. Próba zidentyfikowania czynników innych niż zakażenie uogólnione, które wpływają na stężenie prokalcytoniny w surowicy noworodków w pierwszych 12 godzinach życia, poprzez określenie zależności pomiędzy ich wystąpieniem a wartością stężenia prokalcytoniny. Jako potencjalnie mogące mieć taki wpływ analizie poddane zostały dojrzałość i masa urodzeniowa noworodka. Podjęto również próbę określenia zależności pomiędzy stężeniem prokalcytoniny u noworodka w pierwszych 12 godzinach życia a następującymi powikłaniami okresu ciąży i porodu:
  - cukrzycą stwierdzaną u matki,
  - nadciśnieniem tętniczym przewlekłym oraz indukowanym ciążą,
  - zakażeniem dróg rodnych i/lub układu moczowego u kobiety w okresie ciąży,
  - przedwczesnym odpłynięciem płynu owodniowego – powyżej 18 godzin,

- zabiegami inwazyjnymi stosowanymi w trakcie diagnostyki prenatalnej oraz zabiegami leczniczymi płodu wymagającymi naruszenia ciągłości worka owodniowego.

Określony został także związek pomiędzy wartością stężenia prokalcytoniny, a innymi niż infekcje stanami chorobowymi okresu noworodkowego:

- zespołem zaburzeń oddychania,
- niedotlenieniem okołoporodowym,
- urazami okołoporodowymi,
- zaburzeniami gospodarki wapniowej.

3. Porównanie wartości stężeń prokalcytoniny u noworodków, u których wykluczono zakażenie o wczesnym początku, z poziomami tego markera u dzieci z zakażeniem stwierdzonym w pierwszych trzech dobach życia, wśród których zostały wyróżnione podgrupy dzieci z wrodzonym zapaleniem płuc, zespołem septycznym oraz z sepsą potwierdzoną wynikiem badania bakteriologicznego. Dla każdej z podgrup określone zostały czułość, specyficzność oraz dodatnia i ujemna wartość predykcyjna oznaczenia stężenia prokalcytoniny.
4. Określenie stężenia prokalcytoniny w grupie noworodków z sepsą w zależności od jej etiologii.
5. Próba odpowiedzi na pytanie, czy istnieje związek pomiędzy wartością stężenia prokalcytoniny a ciężkością przebiegu sepsy wrodzonej – wystąpieniem zespołu uszkodzenia wielonarządowego, wstrząsu septycznego lub zgonu w przebiegu infekcji.
6. Porównanie wartości oznaczenia prokalcytoniny z testami laboratoryjnymi, które już są używane w diagnostyce sepsy o wczesnym początku:
  - ilością leukocytów we krwi obwodowej,
  - ilością płytek we krwi obwodowej,

- stężeniem białka C-reaktywnego w surowicy krwi.
7. Określenie wartości diagnostycznej oznaczenia ilości monocytów z ekspresją antygenów CD14 i CD16 oraz zmniejszonej prezentacji HLA-DR na tej linii komórkowej w sepsie o wczesnym początku. Próba znalezienia związku pomiędzy ekspresją wymienionych powyżej cząstek a stężeniem prokalcytoniny.

### 3. Materiał i metodyka

Badanie przeprowadzono u 345 noworodków hospitalizowanych w Oddziale Intensywnej Terapii Noworodka oraz w Oddziale Wczesniactwa Kliniki Neonatologii Katedry Ginekologii i Położnictwa Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, w latach 2002–2005. Do analizy zostały włączone tylko takie noworodki, u których w ciągu pierwszych 12 godzin życia pobrano próbkę krwi celem zbadania stężenia prokalcytoniny w surowicy. Badaną populację podzielono na 4 grupy na podstawie stanu klinicznego i wyników badań dodatkowych – biochemicznych, obrazowych oraz bakteriologicznych.

**Grupę I** stanowiły 264 noworodki, u których stan kliniczny oraz wyniki badań dodatkowych pozwoliły wykluczyć sepsę o wczesnym początku. Tabela 1 przedstawia rozkład urodzeniowej masy ciała i czasu trwania ciąży w tej grupie noworodków.

**Tabela 1.**  
**Rozkład urodzeniowej masy ciała i czasu trwania ciąży w grupie I**

<b>Badane noworodki</b>	<b>Średnia</b>	<b>Minimum (min)</b>	<b>Maksimum (max)</b>	<b>Odchylenie Standardowe (SD)</b>
<b>Grupa I (n=264)</b>				
<b>Urodzeniowa masa ciała (g)</b>	1639.2	440.0	4400.0	725.0
<b>Wiek płodowy (tyg. ciąży)</b>	31.4	22.0	41.0	3.7

Noworodki płci żeńskiej stanowiły 43,6% (n=115), noworodki płci męskiej 56,1% (n=149) grupy I. W tej grupie znalazł się 1 noworodek (0,4%), którego płci nie zidentyfikowano.

W grupie I 45,5% ciąż stanowiły ciążę niepowikłane. W pozostałych przypadkach w trakcie ciąży u matki wystąpiło jedno lub

więcej powikłań. Ich procentowy rozkład został przedstawiony w tabeli 2.

**Tabela 2.**  
**Powikłania ciąży u matek noworodków z grupy I**

<b>Powikłania ciążowe Grupa I (n=264)</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Ciąże niepowikłane</b>	120	45.5
<b>Niekorzystna przeszłość położnicza</b>	29	11.0
<b>Nadciśnienie tętnicze</b>	41	15.5
<b>Cukrzyca</b>	14	5.3
<b>Inne choroby</b>	30	11.4
<b>Czynniki zwiększające ryzyko infekcji u noworodka</b>	100	37.9
<b>Inne powikłania ciąży</b>	28	10.6

W tabeli 3 przedstawiono udział czynników zwiększających ryzyko infekcji o wczesnym początku u noworodków z grupy I.

**Tabela 3.**  
**Powikłania zwiększające ryzyko zakażenia u noworodków z grupy I**

<b>Powikłania zwiększające ryzyko infekcji Grupa I (n=264)</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Przedwczesne odpłynięcie płynu owodniowego (&gt;18h)</b>	69	26.1
<b>Dodatni wynik badania CRP u matki</b>	12	4.5
<b>Gorączka u matki</b>	7	2.7
<b>Infekcja bakteryjna u matki</b>	6	2.3
<b>Zabiegi z naruszeniem ciągłości worka owodniowego</b>	6	2.3

**Grupę II** stanowiły 44 noworodki, u których wykluczono sepsę wczesną okresu noworodkowego, rozpoznano natomiast wrodzone zapalenie płuc. Podstawę do postawienia takiego rozpoznania stanowiły zaburzenia oddychania, które wystąpiły do 72 godzin po urodzeniu oraz obraz radiologiczny zapalenia płuc. U 10 dzieci nie wykonano badania bakteriologicznego wydzieliny z dróg oddechowych. U 10 dzieci w pobranej do badania mikrobiologicznego wydzielinie z drzewa oskrzelowego stwierdzono wzrost patologicznej flory bakteryjnej, w 24 przypadkach nie uzyskano wzrostu patogenów bakteryjnych. U 36 pacjentów wykonano badania w kierunku wrodzonej infekcji ureaplazmatycznej, mykoplazmatycznej lub chlamydiowej. Wyniki potwierdzające wzrost powyższych drobnoustrojów uzyskano w 23 przypadkach. Czynniki etiologiczne zapaleń płuc przedstawiono w tabelach 4 oraz 5.

**Tabela 4.**  
**Wyniki badań bakteriologicznych popłuczyn**  
**oskrzelowo-pęcherzykowych u noworodków z grupy II**

<b>Badanie bakteriologiczne popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Badania nie wykonano</b>	10	22.7
<b>Wynik negatywny</b>	24	54.5
<b>Staphylococcus species</b>	2	4.5
<b>Escherichia coli</b>	1	2.3
<b>Inne z rodziny enterobacteriaceae</b>	1	2.3
<b>Szczepy niezidentyfikowane</b>	1	2.3
<b>Pneumocystis jirovercii</b>	4	9.1
<b>Staphylococcus species + Pneumocystis jirovercii</b>	1	2.3

**Tabela 5.**

**Wyniki badań wymazu okołokraniowego w kierunku zakażeń florą bakteryjną atypową u noworodków z grupy II**

<b>Badanie wymazu okołokraniowego w kierunku zakażeń florą bakteryjną atypową</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Badania nie wykonano</b>	8	18.2
<b>Wynik negatywny</b>	13	29.5
<b>Ureaplasma urealiticum lub mycoplasma hominis</b>	14	31.8
<b>Chlamydia trachomatis</b>	6	13.6
<b>Ureaplasma urealiticum + Chlamydia trachomatis</b>	3	6.8

Rozkład urodzeniowej masy ciała i czasu trwania ciąży w tej grupie noworodków został przedstawiony w tabeli 6.

**Tabela 6.**

**Rozkład urodzeniowej masy ciała i czasu trwania ciąży w grupie II**

<b>Badane noworodki Grupa II (n=44)</b>	<b>Średnia</b>	<b>Minimum (min)</b>	<b>Maksimum (max)</b>	<b>Odchylenie Standardowe (SD)</b>
<b>Urodzeniowa masa ciała (g)</b>	1491.4	520.0	3370.0	789.5
<b>Wiek płodowy (tyg. ciąży)</b>	30.2	22.0	38.0	4.3

W grupie z wrodzonym zapaleniem płuc 45.5% (n=20) stanowiły noworodki płci żeńskiej, a 54.5% (n=24) noworodki płci męskiej.

W tej grupie 45.5% ciąży było ciążami o prawidłowym przebiegu. Powikłania występujące w pozostałych ciążach zostały przedstawione w tabeli 7.

**Tabela 7.**  
**Powikłania ciąży u matek noworodków z grupy II**

<b>Powikłania ciążowe Grupa II (n=44)</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Ciąże niepowikłane</b>	20	45.5
<b>Niekorzystna przeszłość położnicza</b>	7	15.9
<b>Nadciśnienie tętnicze</b>	5	11.4
<b>Cukrzyca</b>	1	2.3
<b>Inne choroby</b>	4	9.1
<b>Czynniki zwiększające ryzyko infekcji u noworodka</b>	16	36.3
<b>Inne powikłania ciąży</b>	6	13.6

W tabeli 8 przedstawiono udział czynników zwiększających ryzyko infekcji o wczesnym początku u noworodków z grupy II.

**Tabela 8.**  
**Powikłania zwiększające ryzyko zakażenia u noworodków z grupy II**

<b>Powikłania zwiększające ryzyko infekcji Grupa II (n=44)</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Przedwczesne odpłynięcie płynu owodniowego (&gt;18h)</b>	12	27.3
<b>Dodatni wynik badania CRP u matki</b>	2	4.5
<b>Gorączka u matki</b>	0	0.0
<b>Infekcja bakteryjna u matki</b>	0	0.0
<b>Zabiegi z naruszeniem ciągłości worka owodniowego</b>	2	4.5



**Grupę III** stanowiły 23 noworodki z rozpoznaniem zespołu septycznego. Do tej grupy włączono pacjentów spełniających następujące kryteria:

- wystąpienie objawów do 72 godzin po urodzeniu,
- stwierdzenie przynajmniej trzech objawów klinicznych spośród poniżej wymienionych:
  - niechęć do ssania,
  - zaleganie treści pokarmowej,
  - wzdęcie brzucha,
  - hipotermia,
  - hipertermia,
  - tachykardia,
  - bradykardia,
  - przyspieszenie oddechu powyżej 60/minutę,
  - bezdechy,
  - przedłużająca się lub nasilona żółtaczka,
- wystąpienie przynajmniej trzech odchyłeń mogących wskazywać na zakażenie w badaniach laboratoryjnych:
  - glikemia powyżej 180 mg% lub poniżej 40 mg%,
  - ilość leukocytów we krwi obwodowej powyżej 20 000/ $\mu$ l lub poniżej 4 000/ $\mu$ l,
  - stosunek form młodych do całkowitej liczby neutrofilów (I:T ratio) powyżej 0.2,
  - podniesione stężenie CRP w surowicy krwi,
  - liczba krwinek płytkowych poniżej wartości 100 000/ $\mu$ l.

U pacjentów tych pomimo objawów klinicznych sepsy nie uzyskano wzrostu flory bakteryjnej w badaniu mikrobiologicznym krwi.

Tabela 9 przedstawia rozkład urodzeniowej masy ciała i czasu trwania ciąży w tej grupie noworodków.

**Tabela 9.**  
**Rozkład urodzeniowej masy ciała i czasu trwania ciąży w grupie III**

<b>Badane noworodki (n=23)</b>	<b>Średnia</b>	<b>Minimum (min)</b>	<b>Maksimum (max)</b>	<b>Odchylenie Standardowe (SD)</b>
<b>Urodzeniowa masa ciała (g)</b>	1509.3	610.0	3700.0	813.7
<b>Wiek płodowy (tyg. ciąży)</b>	30.0	23.0	41.0	5.1

Noworodki płci żeńskiej stanowiły 43.5% (n=10), a noworodki płci męskiej 56.5% (n=13) populacji grupy III.

W tej grupie 34.8% ciąż stanowiły ciążę niepowikłane. W pozostałych w trakcie ciąży u matki wystąpiło jedno lub więcej powikłań. Ich występowanie przedstawiono w tabeli 10.

**Tabela 10.**  
**Powikłania ciąży u matek noworodków z grupy III**

<b>Powikłania ciążowe Grupa III (n=23)</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Ciąże niepowikłane</b>	8	34.8
<b>Niekorzystna przeszłość położnicza</b>	4	17.4
<b>Nadciśnienie tętnicze</b>	3	13.0
<b>Cukrzyca</b>	1	4.3
<b>Inne choroby</b>	1	4.3
<b>Czynniki zwiększające ryzyko infekcji u noworodka</b>	13	56.5
<b>Inne powikłania ciąży</b>	1	4.3

W tabeli 11 przedstawiono wystąpienie czynników zwiększających ryzyko infekcji o wczesnym początku u noworodków z grupy III.

**Tabela 11.**  
**Powikłania zwiększające ryzyko zakażenia u noworodków z grupy III**

<b>Powikłania zwiększające ryzyko infekcji Grupa III (n=23)</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Przedwczesne odpłynięcie płynu owodniowego (&gt;18h)</b>	3	13.0
<b>Dodatni wynik badania CRP u matki</b>	1	4.3
<b>Gorączka u matki</b>	5	21.7
<b>Infekcja bakteryjna u matki</b>	3	13.0
<b>Zabiegi z naruszeniem ciągłości worka owodniowego</b>	1	4.3

U 2 noworodków z grupy III (8.7%) stwierdzono zespół uszkodzenia wielonarządowego. Podstawą do jego rozpoznania były cechy uszkodzenia co najmniej dwóch ważnych życiowo organów, co uniemożliwiało zachowanie homeostazy bez wdrożenia procedur medycznych. Do powyższych należały:

- uszkodzenie centralnego systemu nerwowego objawiające się drgawkami, utratą przytomności, zaburzeniami centralnymi regulacji oddychania, temperatury,
- pojawienie się lub nasilenie już występującej niewydolności oddechowej,
- uszkodzenie mięśnia sercowego stwierdzone na podstawie nieprawidłowych wartości enzymów sercowych,
- uszkodzenie wątroby, które rozpoznawano na podstawie

nieprawidłowości w wynikach badań laboratoryjnych, wskazujących na upośledzenie funkcji wydzielniczej (obniżone poziomy albuminy, wydłużenie wartości aPTT i PT), uszkodzenie miąższu wątroby (wzrost enzymów wątrobowych AspAT, AlAT) oraz funkcji wydalniczej (podniesione poziomy bilirubiny bezpośredniej),

- uszkodzenie nerek objawiające się zaburzeniami w ilości oddawanego moczu (zarówno poliuria, jak i oliguria), obecnością białka oraz wałeczków erytrocytarnych w moczu oraz wzrostem poziomów mocznika, kreatyniny i zaburzeniami równowagi kwasowo-zasadowej,
- uszkodzenie nabłonka przewodu pokarmowego, na co wskazywało krwawienie z górnego i/lub dolnego odcinka przewodu pokarmowego.

Wstrząs septyczny stwierdzono u 8 noworodków (34.8%). Rozpoznawano go wtedy, gdy dochodziło do spadku ciśnienia tętniczego krwi poniżej 5 percentyla wartości dla danego wieku.

Zgon w przebiegu powikłań septycznych w tej grupie nastąpił u 4 dzieci (17.4%).

**Grupę IV** stanowiło 14 noworodków, u których rozpoznano sepsę. Kryteria włączenia do tej grupy były następujące:

- wystąpienie objawów do 72 godzin po urodzeniu,
- stwierdzenie przynajmniej trzech objawów klinicznych spośród poniżej wymienionych:
  - niechęć do ssania,
  - zaleganie treści pokarmowej,
  - wzdęcie brzucha,
  - hipotermia,
  - hipertermia,

- tachykardia,
- bradykardia,
- przyspieszenie oddechu powyżej 60/minutę,
- bezdechy,
- przedłużająca się lub nasilona żółtaczka,
- wystąpienie przynajmniej trzech odchyleń mogących wskazywać na zakażenie w badaniach laboratoryjnych:
  - glikemia powyżej 180 mg% lub poniżej 40 mg%,
  - ilość leukocytów we krwi obwodowej powyżej 20 000/ $\mu$ l lub poniżej 4 000/ $\mu$ l,
  - stosunek form młodych do całkowitej liczby neutrofilów (I:T ratio) powyżej 0.2,
  - podniesione stężenie CRP w surowicy krwi,
  - liczba krwinek płytkowych poniżej wartości 100 000/ $\mu$ l,
- uzyskanie dodatniego wyniku badania mikrobiologicznego krwi wykonanego w pierwszych 72 godzinach życia.

Czynniki etiologiczne sepsy przedstawiono w tabeli 12.

**Tabela 12.**  
**Wyniki badań bakteriologicznych krwi u noworodków z grupy IV**

<b>Badanie bakteriologiczne krwi</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Staphylococcus species</b>	2	14.3
<b>Streptococcus species</b>	2	14.3
<b>Escherichia coli</b>	7	50.0
<b>Inne z rodziny enterobacteriaceae</b>	1	7.1
<b>Inne Gram -</b>	1	7.1
<b>Szczepy niezidentyfikowane</b>	1	7.1

W tabeli 13 przedstawiono rozkład urodzeniowej masy ciała oraz czasu trwania ciąży noworodków w grupie IV.

**Tabela 13.**  
**Rozkład urodzeniowej masy ciała i czasu trwania ciąży w grupie IV**

<b>Badane noworodki Grupa IV (n=14)</b>	<b>Średnia</b>	<b>Minimum (min)</b>	<b>Maksimum (max)</b>	<b>Odchylenie Standardowe (SD)</b>
<b>Urodzeniowa masa ciała (g)</b>	1458.6	680.0	3970.0	973.8
<b>Wiek płodowy (tyg. ciąży)</b>	29.1	24.0	39.0	4.4

W tej grupie 35.7% (n=5) noworodków stanowiły dziewczynki, natomiast 64.3% (n=9) chłopcy.

Ciąże niepowikłane stanowiły 35.7% ciąż w tej grupie. Występowanie jednego lub większej ilości powikłań w pozostałych ciążach przedstawiono w tabeli 14.

**Tabela 14.**  
**Powikłania ciąży u matek noworodków z grupy IV**

<b>Powikłania ciążowe Grupa IV (n=14)</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Ciąże niepowikłane</b>	5	35.7
<b>Niekorzystna przeszłość położnicza</b>	4	28.6
<b>Nadciśnienie tętnicze</b>	2	14.3
<b>Cukrzyca</b>	1	7.1
<b>Inne choroby</b>	5	35.7
<b>Czynniki zwiększające ryzyko infekcji u noworodka</b>	7	50.0
<b>Inne powikłania ciąży</b>	2	14.3

W tabeli 15 przedstawiono występowanie czynników zwiększających ryzyko zakażenia w grupie noworodków z sepsą o wczesnym początku.

**Tabela 15.**  
**Powikłania zwiększające ryzyko zakażenia u noworodków z grupy IV**

<b>Powikłania zwiększające ryzyko infekcji Grupa IV (n=14)</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Przedwczesne odpłynięcie płynu owodniowego (&gt;18h)</b>	4	28.6
<b>Dodatni wynik badania CRP u matki</b>	0	0.0
<b>Gorączka u matki</b>	2	14.3
<b>Infekcja bakteryjna u matki</b>	0	0.0
<b>Zabiegi z naruszeniem ciągłości worka owodniowego</b>	1	7.1

W tej grupie zespół uszkodzenia wielonarządowego rozpoznano u 3 noworodków (21.4%), wstrząs septyczny wystąpił u 9 dzieci (64.3 %), a 5 dzieci (35.7%) zmarło w przebiegu powikłań septycznych.

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pod względem czasu trwania ciąży, urodzeniowej masy ciała oraz płci pomiędzy poszczególnymi grupami noworodków.

W podgrupie 41 noworodków poza zbadaniem stężenia prokalcytoniny w surowicy w pierwszych 12 godzinach życia, dokonano również oznaczenia poziomu ekspresji antygenów CD14 i CD 16 oraz HLA-DR na monocytach krwi obwodowej. Określono również procentowy odsetek komórek z ekspresją HLA-DR, mierzony jako średnie natężenie fluorescencji (mfi), wśród monocytów, wśród komórek CD14++16-, wśród komórek CD14high16+ oraz wśród komórek CD14dim16+. W tej grupie sepsę o wczesnym początku, którą

potwierdzono badaniem bakteriologicznym krwi (grupa IV) stwierdzono u 2 noworodków, zaś zespół septyczny (grupa III) u 4 noworodków. U żadnego z dzieci w badanej podgrupie nie rozpoznano wrodzonego zapalenia płuc (grupa II). U pozostałych 35 noworodków wykluczono uogólnioną infekcję bakteryjną o wczesnym początku.

Poza oznaczeniem ilościowym prokalcytoniny w pierwszych 12 godzinach życia, a także poziomu ekspresji antygenów CD14, CD16 i HLA-DR na monocytach badania, które zlecano u dzieci, a także leczenie, jakie prowadzono, były zgodne z procedurami obowiązującymi w Oddziale.

Oznaczenia prokalcytoniny dokonano w Pracowni Zakładu Diagnostyki Biochemicznej Szpitala Uniwersyteckiego, przy użyciu zestawu Brahms PCT LIA. Test ten wykorzystuje do oznaczenia ilościowego prokalcytoniny w osoczu lub surowicy ludzkiej metodę immunoluminometryczną. Reagent zawiera dwa specyficzne przeciwciała monoklonalne, które wiążą się z dwoma różnymi miejscami w łańcuchu prokalcytoniny. Przeciwciało wiążące się z fragmentem kalcytoniny jest znakowane substancją luminescencyjną, a drugie, które dołącza się do katakalcytoniny, wiąże prokalcytoninę do wewnętrznej ściany probówki. Nadmiar substancji luminescencyjnej jest następnie usuwany, a ta ilość, która pozostaje w probówce, jest mierzona przy pomocy luminometru. Intensywność sygnału luminescencyjnego jest proporcjonalna do stężenia prokalcytoniny w próbce.

Do badań wykorzystano 20 µl osocza każdego pacjenta, u którego w pierwszych 12 godzinach życia zlecano badania zgodnie ze standardami pobytu w Oddziale. Po pobraniu próbki krwi na skrzep i wykonaniu badań laboratoryjnych zabezpieczano pozostałą ilość osocza. Jeżeli wykonanie oznaczenia prokalcytoniny nie było możliwe w ciągu 24 godzin od pobrania próbki krwi, osocze zamrażano w temperaturze



-20°C. Po ogrzaniu do temperatury pokojowej zarówno próbek pacjentów jak i reagentów w zestawie, w oznaczonych próbkach umieszczano po 20 µl: roztworów ze znanymi stężeniami prokalcytoniny, próbek kontrolnych oraz osocza pacjentów. Następnie do każdej próbki dodawano 250 µl substancji znacznikowej. Po wymieszaniu roztworów w celu uzyskania ich homogeniczności, próbki przez 1 godzinę inkubowano w temperaturze pokojowej, następnie wirowano je w wirówce z częstotliwością 170 obrotów w ciągu minuty. W dalszej kolejności każda próbka była czterokrotnie przemywana roztworem płuczającym, który był dokładnie usuwany. Probówki umieszczone były w luminometrze z możliwością automatycznego podawania po 300 µl odczynnika 1 i 2 z zestawu Brahms PCT LIA. Po dokonaniu pomiaru sygnału luminometrycznego próbek ze znanym stężeniem prokalcytoniny wyznaczono krzywą standardową zależności stężenia prokalcytoniny od intensywności sygnału luminometrycznego. Dla próbki każdego pacjenta wyznaczono intensywność sygnału luminometrycznego, a następnie z krzywej standardowej odczytano stężenie prokalcytoniny.

Oznaczenia poziomu ekspresji markerów powierzchniowych monocytów: CD14 i CD16 oraz HLA-DR dokonano w Zakładzie Immunologii Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Próbkę krwi 1.0–1.2 ml umieszczano w heparynizowanej próbce. Transport próbki krwi odbywał się po umieszczeniu jej w lodzie. Oznaczenia dokonywano w ciągu 2 godzin od pobrania. Z pobranej do badania krwi pobierano 100 µl, które następnie inkubowano przez 20 minut z przeciwciałami znakowanymi fluoroforem. Po inkubacji do próbki dodawano 2.0 ml płynu lizującego (Becton-Dickinson) w celu rozpuszczenia erytrocytów, a następnie próbkę przemywano dwukrotnie buforowanym fosforem

roztworem soli (PBS). Analizy dokonano we fluorocytometrycznym przepływowym FACScan (Becton-Dickinson) wyposażonym w program analizujący (CellQuest). Dane niebramkowane były zbierane aż do uzyskania 5000 wydarzeń, które spełniły kryteria wielkości FSC/SSC dla monocytów. Następnie określono odsetek komórek z ekspresją określonego antygenu oraz średnie natężenie fluorescencji.

Badania morfologii krwi obwodowej, jonogramu, glikemii oraz stężenia białka C-reaktywnego wykonywano w Pracowni Zakładu Diagnostyki Biochemicznej Szpitala Uniwersyteckiego, według obowiązujących standardów europejskich.

Równowagę kwasowo-zasadową we krwi tętniczej lub kapilarnej noworodków badano za pomocą aparatu Rapidlab firmy Chiron Diagnostic.

Badania bakteriologiczne zarówno krwi, jak i popłuczyn z drzewa oskrzelowego oraz wymazów okołokraniowych wykonywane były w Zakładzie Diagnostyki Pracowni Bakteriologii Szpitala Uniwersyteckiego według obowiązujących standardów. W celu wykonania badania bakteriologicznego krew pobierano do probówek zawierających odpowiednie podłoża transportowe zarówno dla bakterii tlenowych, beztlenowych, jak i dla grzybów. U noworodków w pierwszej dobie życia, u których matek nie stosowano antybiotykoterapii, pobierano 0.5–1.0 ml krwi. Ilość tę zwiększano do 2 ml, jeżeli matki okołoporodowo otrzymywały antybiotyki. Badania popłuczyn z drzewa oskrzelowego w kierunku obecności drobnoustrojów *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* i *Ureaplasma* wykonywano w Instytucie Mikrobiologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie zgodnie z obowiązującymi standardami.

Leczenie sepsy prowadzono według zasad opisywanych w rekomendacjach medycyny perinatalnej.

### **3.1 Metody statystyczne**

Zebrany materiał poddałam analizie statystycznej opartej na testach nieparametrycznych ze względu na brak normalności rozkładów zmiennych w badanych grupach. Uzyskane wyniki przedstawiłam w formie tabel zawierających parametry rozkładu: średnia arytmetyczna, SD – odchylenie standardowe, min – wartość najmniejsza, max – wartość największa, Me – mediana (wartość środkowa). Wykresy prezentujące wyniki oparte zostały na wartościach średnich.

Stężenie prokalcytoniny w surowicy, poziom ekspresji antygenów CD14 i CD16 oraz HLA-DR na monocytach krwi obwodowej, procentowy odsetek komórek z ekspresją HLA-DR, mierzony jako średnie natężenie fluorescencji (mfi), wśród monocytów, wśród komórek CD14<sup>++</sup>16<sup>-</sup>, wśród komórek CD14<sup>high</sup>16<sup>+</sup> oraz wśród komórek CD14<sup>dim</sup>16<sup>+</sup> oraz inne wybrane parametry morfologiczne krwi i biochemiczne porównywałam w badanych 2 grupach testem Manna-Whitney'a.

Testem niezależności  $\chi^2$  porównywałam liczebność występowania parametrów jakościowych w zależności od badanej grupy noworodków.

Z pomocą metody krzywej ROC, dla stężenia prokalcytoniny oraz dla poziomu ekspresji antygenów CD14 i CD 16 oraz HLA-DR na monocytach krwi obwodowej, procentowego odsetka komórek z ekspresją HLA-DR, mierzonego jako średnie natężenie fluorescencji (mfi), wśród monocytów, wśród komórek CD14<sup>++</sup>16<sup>-</sup>, wśród komórek CD14<sup>high</sup>16<sup>+</sup> oraz wśród komórek CD14<sup>dim</sup>16<sup>+</sup>, wyznaczyłam punkty różnicujące noworodki bez infekcji z noworodkami z wrodzonym

zapaleniem płuc, zespołem septycznym i sepsą o wczesnym początku. Metodę tę zastosowałam również dla określenia, czy istnieje stężenie prokalcytoniny, które odróżnia noworodki z zespołem septycznym i sepsą z przebiegiem niepowikłanym, od noworodków noworodków sepsą i zespołem septycznym o powikłanym przebiegu.

Dla wyznaczonych punktów odcięcia (cutt-off) obliczyłam czułość, swoistość oraz wartości predykcyjne oznaczenia PCT w diagnostyce zespołu septycznego i sepsy o wczesnym początku. Parametry te obliczyłam również dla ilości leukocytów, płytek i stężenia CRP w surowicy oraz dla poziomu ekspresji antygenów CD14 i CD16 oraz HLA-DR na monocytach krwi obwodowej, procentowego odsetka komórek z ekspresją HLA-DR, mierzonego jako średnie natężenie fluorescencji (mfi), wśród monocytów, wśród komórek CD14<sup>++</sup>16<sup>-</sup>, wśród komórek CD14<sup>high</sup>16<sup>+</sup> oraz wśród komórek CD14<sup>dim</sup>16<sup>+</sup>, analizując ich wydolność diagnostyczną dla wrodzonego zapalenia płuc, zespołu septycznego i sepsy.

Dla każdej z tych metod obliczyłam również iloraz szans (OR), aby ocenić wzrost ryzyka wystąpienia wrodzonego zapalenia płuc, zespołu septycznego i sepsy związany ze wzrostem tych parametrów powyżej przyjętej normy lub punktu odcięcia, jak to było w przypadku PCT.

Za statystycznie znamienne przyjęto te wyniki testów, dla których poziom istotności p był mniejszy lub równy 0.05. Wyniki nieistotne oznaczano skrótem NS (nieistotne statystycznie), zaś w przypadku istotności podawano odczytaną wartość poziomu istotności p.

Obliczenia statystyczne wykonano za pomocą pakietu statystycznego STATISTICA 7.1 oraz oprogramowania statystycznego StatsDirect.

## 4. Wyniki i ich omówienie

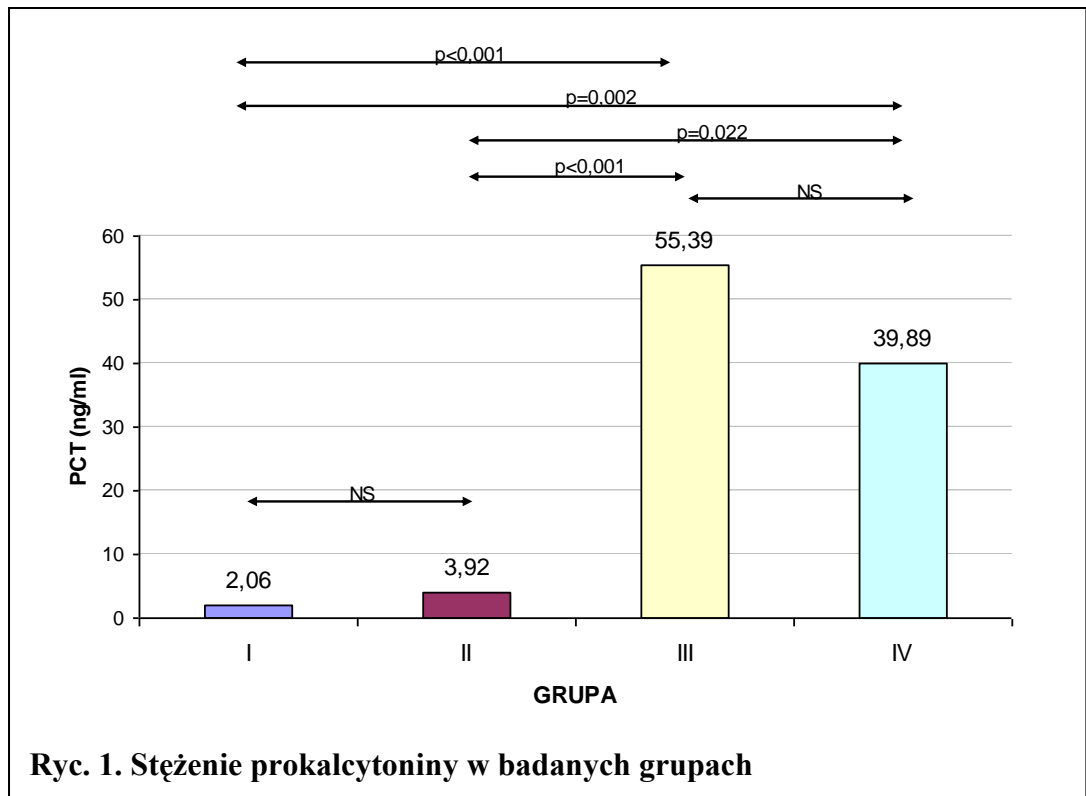
### 4.1 Stężenie prokalcytoniny w grupie noworodków bez infekcji (I), w grupach noworodków: z wrodzonym zapaleniem płuc (II), zespołem septycznym (III) oraz sepsą (IV) o wczesnym początku

Średnie, minimalne oraz maksymalne wartości stężenia prokalcytoniny, z obliczonymi wartościami odchyłeń standardowych, a także mediany w poszczególnych grupach badanych przedstawiłam w tabeli 16.

**Tabela 16.**  
**Wartości stężeń prokalcytoniny w badanych grupach**

Grupa	PCT (ng/ml)					
	n	Średnia	Odchylenie Standardowe (SD)	Minimum (min)	Mediana (Me)	Maksimum (max)
<b>I</b>	264	2.06	3.9	0.08	0.5	24.78
<b>II</b>	44	3.92	8.9	0.15	0.6	50.00
<b>III</b>	23	55.39	73.5	0.19	24.1	341.05
<b>IV</b>	14	39.89	71.3	0.08	8.1	246.40

Stężenie prokalcytoniny w surowicy krwi było statystycznie znamienne wyższe w grupach noworodków III i IV w porównaniu ze stężeniem tego markera w grupie I (odpowiednio dla grupy III i I wartość  $p < 0.001$  oraz grupy IV i I wartość  $p = 0.002$ ). Nie stwierdziłam natomiast statystycznie istotnych różnic stężeń prokalcytoniny w surowicy dzieci bez infekcji (grupa I) i pacjentów z wrodzonym zapaleniem płuc (grupa II). W badanym materiale nie wystąpiły również istotne różnice wartości prokalcytoniny pomiędzy grupą III i IV. Graficznie powyższe wyniki przedstawiłam na rycinie 1.



#### 4.2 Stężenie prokalcytoniny a urodzeniowa masa ciała oraz dojrzałość noworodka

W badanych grupach analizowałam możliwość wystąpienia zależności pomiędzy urodzeniową masą ciała oraz stopniem dojrzałości noworodka, a wartością stężenia prokalcytoniny. Nie stwierdziłam takiej zależności w całości badanej populacji, co przedstawiłam na rycinach 2 i 3.

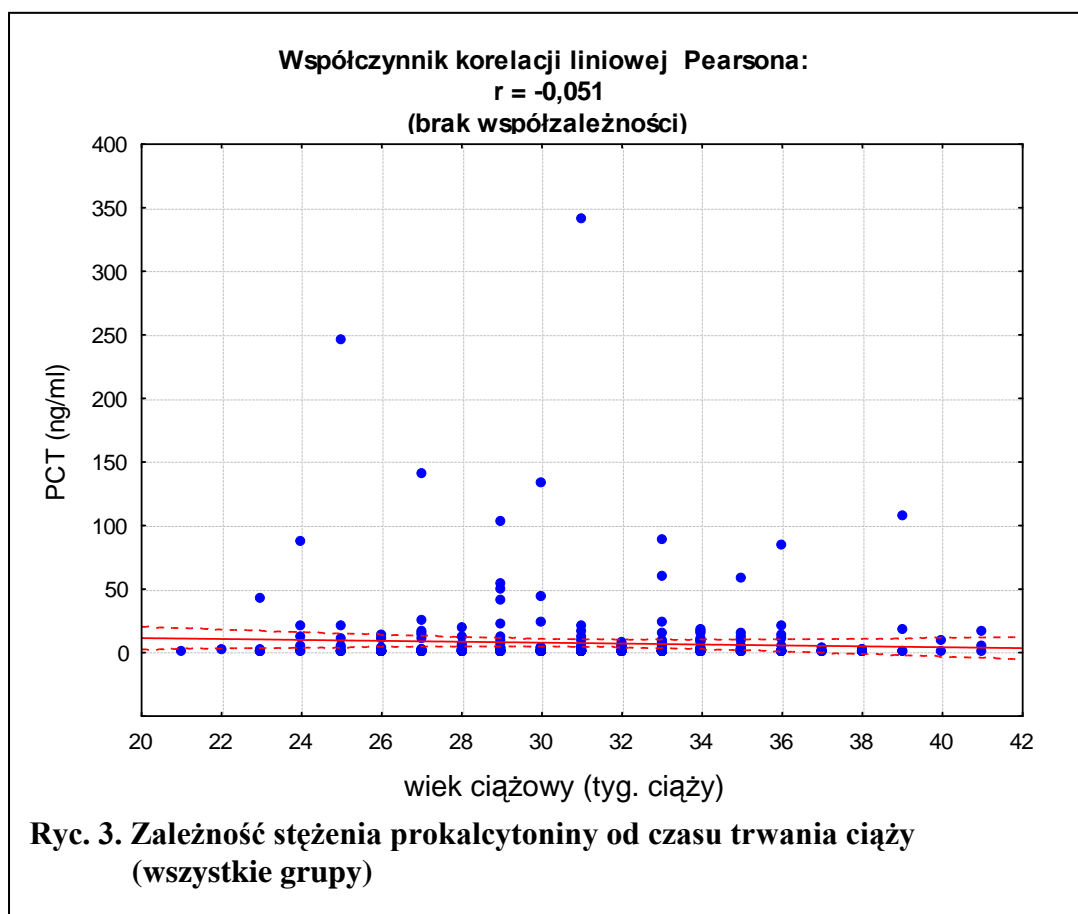
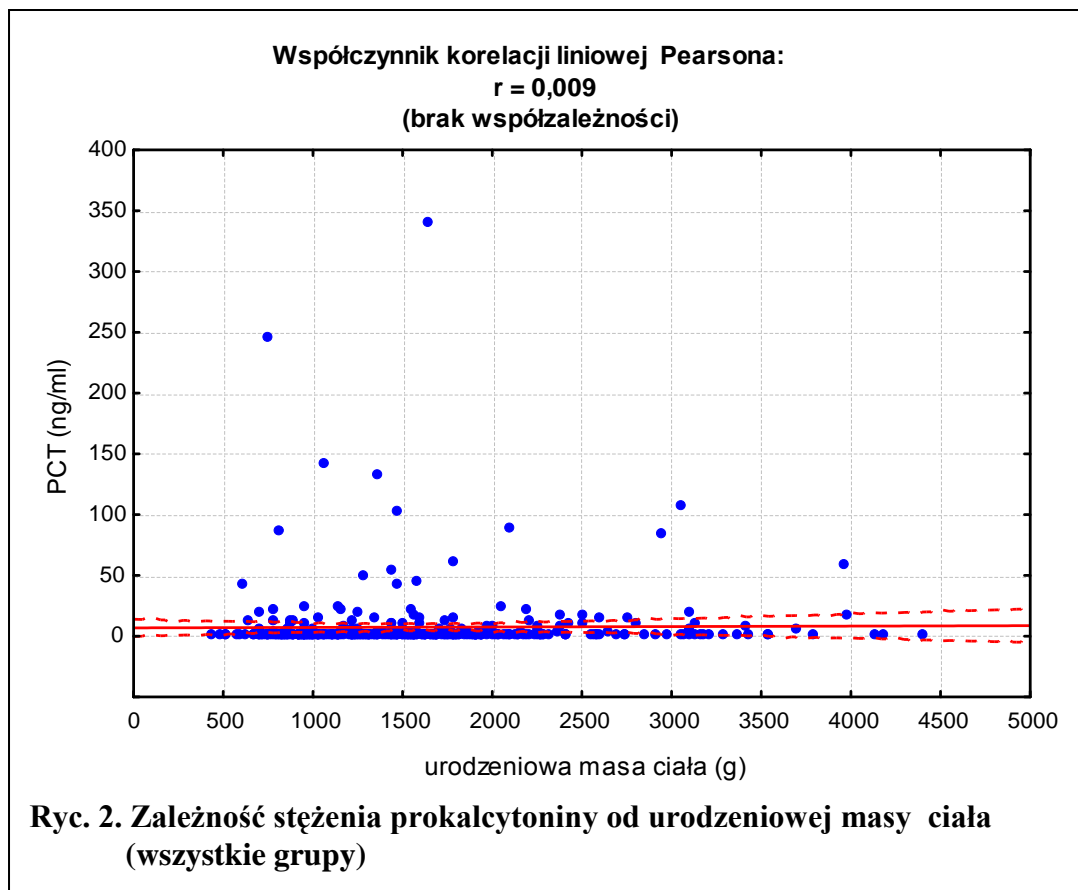


Tabela 17 przedstawia natomiast brak zależności pomiędzy urodzeniową masą ciała oraz czasem trwania ciąży, po jakim doszło do rozwiązania a stężeniem prokalcytoniny w poszczególnych badanych grupach.

**Tabela 17.**  
**Stężenie prokalcytoniny a wiek ciążowy i urodzeniowa masa ciała w poszczególnych badanych grupach**

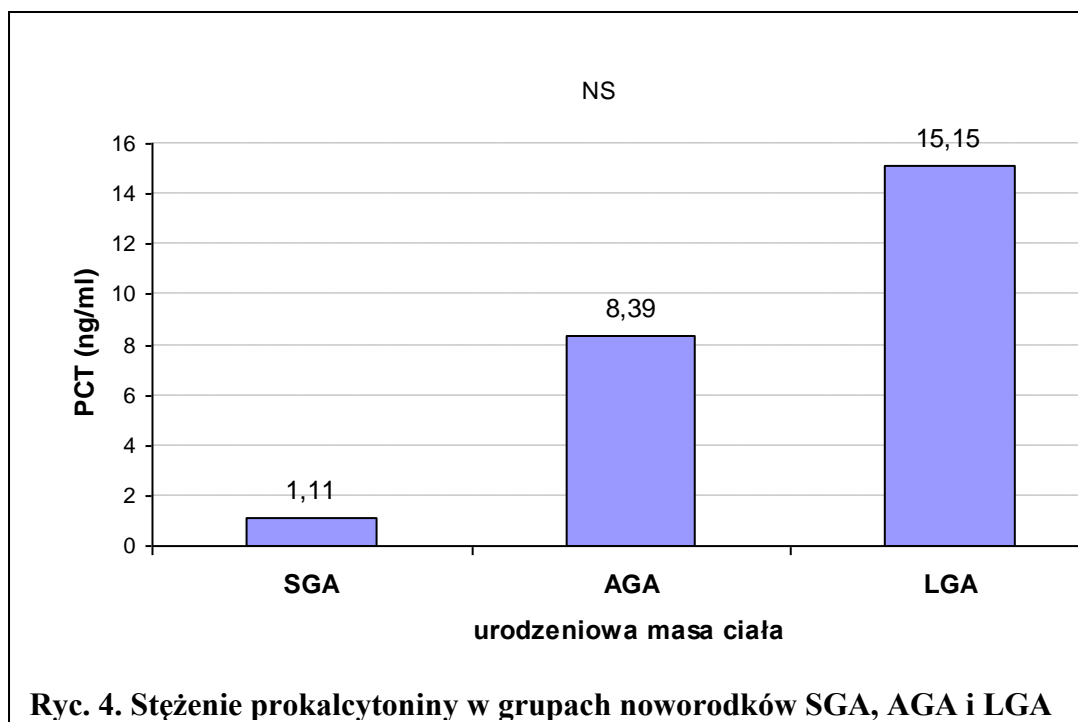
Grupa	Korelacja pomiędzy PCT a wiekiem ciążowym (tyg. ciąży)		Korelacja pomiędzy PCT a urodzeniową masą ciała (g)	
	r	p	r	p
<b>I</b>	0.015	NS	0.145	NS
<b>II</b>	0.110	NS	-0.014	NS
<b>III</b>	0.107	NS	-0.046	NS
<b>IV</b>	-0.151	NS	0.000	NS
<b>Ogółem</b>	-0.050	NS	0.009	NS

Wszystkie dzieci w badanej populacji podzieliłam na 3 grupy w zależności od stosunku urodzeniowej masy ciała do czasu trwania ciąży, który był obliczony na podstawie daty ostatniej miesiączki, na następujące grupy:

- noworodki z masą ciała odpowiednią do wieku płodowego (AGA),
- noworodki ze zbyt niską w stosunku do wieku płodowego masą ciała (SGA),
- noworodki ze zbyt wysoką w stosunku do wieku płodowego masą ciała (LGA).

W każdej z tych grup analizowałam wartości stężeń prokalcytoniny. Na rycinie 4 przedstawiłam zaobserwowane przeze mnie znaczne różnice pomiędzy średnimi wartościami stężeń prokalcytoniny w wymienionych powyżej grupach.





Jednakże, bardzo duże zróżnicowanie stężeń prokalcytoniny w surowicy noworodków z wymienionych grup: noworodków z masą ciała za małą (SGA), za dużą (LGA), odpowiednią (AGA) do wieku płodowego, spowodowały, iż różnice średnich stężeń prokalcytoniny pomiędzy tymi grupami, nie były statystycznie istotne. Szczegółowe wyliczenia przedstawiłam w tabeli 18.

**Tabela 18.**  
**Stężenie prokalcytoniny w grupach noworodków SGA, AGA i LGA**

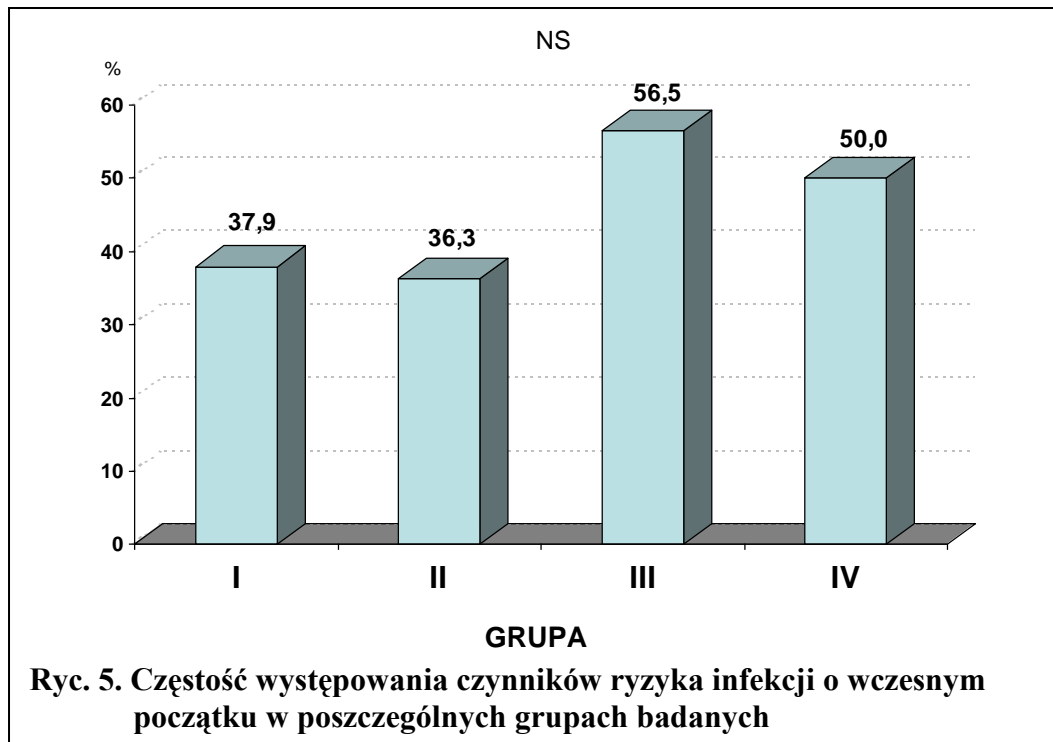
Grupa	PCT (ng/ml)						p
	n	Średnia	Odchylenie standardowe (SD)	Minimum (min)	Mediana (Me)	Maksimum (max)	
<b>SGA</b>	48	1.1	1.7	0.14	0.5	10.22	<b>NS</b>
<b>AGA</b>	290	8.4	30.2	0.08	0.6	341.05	<b>NS</b>
<b>LGA</b>	4	15.2	29.0	0.20	0.9	58.70	<b>NS</b>

### **4.3 Wpływ powikłań matczynych, okołoporodowych oraz nieinfekcyjnych stanów patologii noworodka na stężenie prokalcytoniny w surowicy noworodka w pierwszych 12 godzinach życia**

#### **4.3.1 Powikłania ciąży występujące u matki a stężenie prokalcytoniny u noworodka po urodzeniu**

Z czynników wikłających ciążę w badanym materiale najczęściej występowały odpłynięcie płynu owodniowego powyżej 18 godzin przed porodem (n=88, 25.5% ciąż), nadciśnienie tętnicze, zarówno przewlekłe jak i występujące w trakcie ciąży (n=51, 14.8% ciąż) oraz cukrzyca (n=17, 4.9% ciąż). Rzadziej stwierdzałam, zabiegi wymagające przerwania ciągłości worka owodniowego (n=10, 2.9% ciąż), infekcje u matki (n=9, 2.6% ciąż) oraz chorobę nowotworową u matki (n=3, 0.9% ciąż).

Na rycinie 5 przedstawiłam rozkład powikłań ciąży, które zwiększają ryzyko wystąpienia zakażenia wrodzonego. Nie stwierdziłam statystycznie istotnych różnic w rozkładzie tych powikłań w poszczególnych badanych grupach.



Nie stwierdziłam również statystycznie istotnych różnic w wartościach stężeń prokalcytoniny w surowicy noworodków urodzonych z ciąż przebiegających z, powikłaniami, które wymieniłam na początku podrozdziału, a noworodkami matek, u których ciąży przebiegały w sposób prawidłowy. Szczegółowe wyliczenia przedstawiłam w tabeli 19.

**Tabela 19.**  
**Stężenie prokalcytoniny w podgrupach noworodków urodzonych z cięż powikłanych**

Nadciśnienie tętnicze	PCT (ng/ml)						p
	n	Średnia	SD	min	Me	max	
NIE	294	7.4	28.6	0.08	0.6	341.05	NS
TAK	51	7.7	24.7	0.08	0.5	140.83	
Cukrzyca	PCT (ng/ml)						p
	n	Średnia	SD	min	Me	max	
NIE	328	7.6	28.5	0.08	0.6	341.05	NS
TAK	17	5.1	14.5	0.08	0.7	58.70	
Odpłygnięcie płynu owodniowego	PCT (ng/ml)						p
	n	Średnia	SD	min	Me	max	
NIE	257	8.5	31.4	0.08	0.6	341.05	NS
TAK	88	4.4	13.6	0.08	0.6	102.35	
Zabiegi z naruszeniem ciągłości worka owodniowego	PCT (ng/ml)						p
	n	Średnia	SD	min	Me	max	
NIE	335	7.6	28.4	0.08	0.6	341.05	NS
TAK	10	2.5	6.4	0.08	0.4	20.72	
Infekcje u matki	PCT (ng/ml)						p
	n	Średnia	SD	min	Me	max	
NIE	336	7.1	28.0	0.08	0.6	341.05	NS
TAK	9	10.5	28.2	0.16	1.1	133.40	

#### 4.3.2 Stężenie prokalcytoniny a wybrane stany patologii okresu noworodkowego

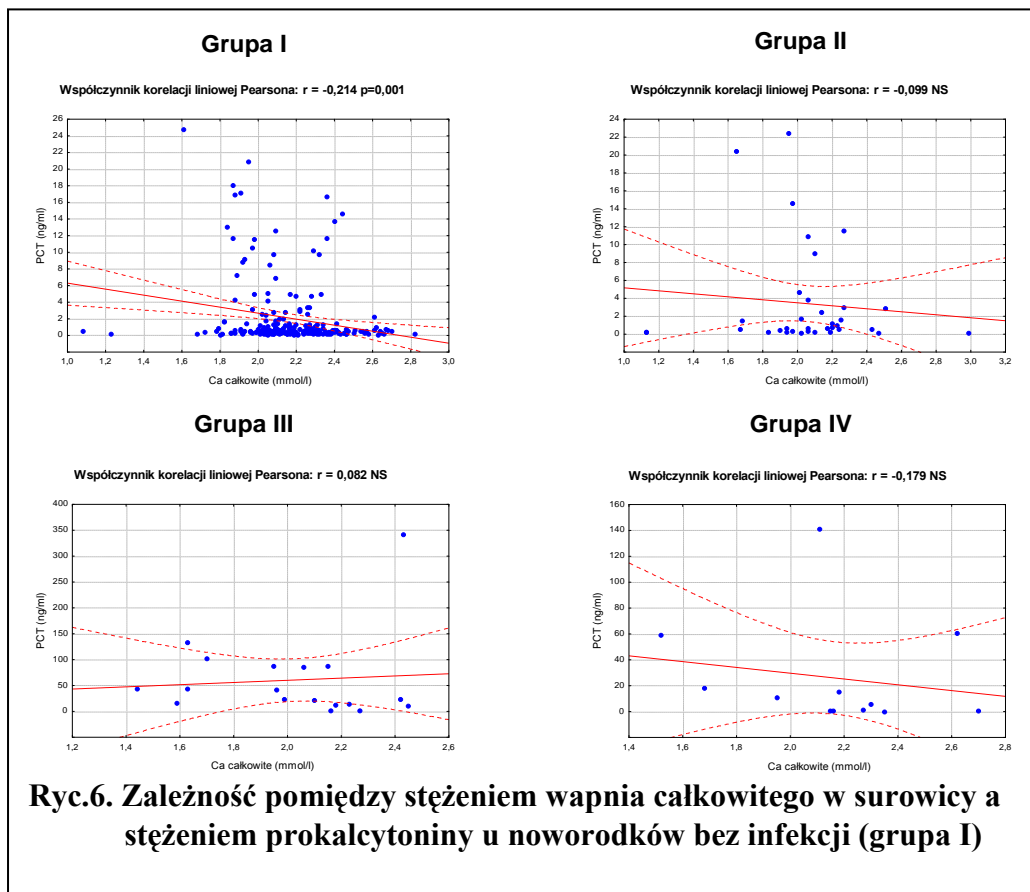
W badanym materiale dokonałam statystycznej analizy zależności pomiędzy stężeniem prokalcytoniny w surowicy krwi pacjentów a wybranymi jednostkami chorobowymi okresu noworodkowego. W grupach noworodków: z zespołem zaburzeń oddychania, z innymi przyczynami niewydolności oddechowej (do których zaliczono hypoplazję płuc z nadciśnieniem płucnym, zespół aspiracji smółki oraz przejściowe przyspieszenie oddechu noworodka), z urazami okołoporodowymi i zamartwicą obliczyłam średnie wartości stężenia prokalcytoniny w surowicy. Porównałam je ze średnimi wartościami

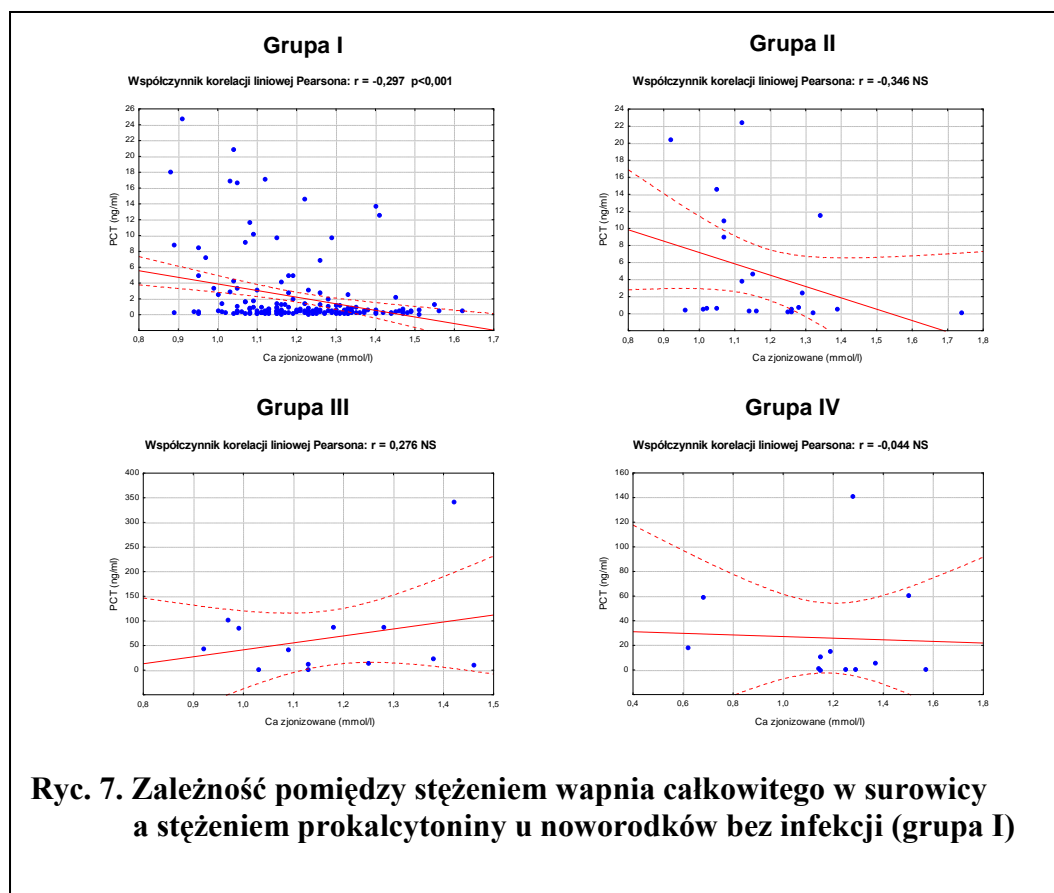
tego markera w grupach noworodków, u których dane zaburzenia nie występowały, nie stwierdzając statystycznie istotnych różnic pomiędzy nimi. Średnie wartości stężeń prokalcytoniny w surowicy noworodków w poszczególnych grupach przedstawiłam w tabeli 20.

**Tabela 20.**  
Stężenie prokalcytoniny w grupach noworodków z wybranymi jednostkami chorobowymi okresu noworodkowego

Zespół zaburzeń oddychania	PCT (ng/ml)						p
	n	średnia	SD	min	Me	max	
<b>NIE</b>	136	4.9	14.6	0.08	0.5	106.7	<b>NS</b>
<b>TAK</b>	209	9.1	34.1	0.08	0.6	341.05	
Niewydolność oddechowa - inna przyczyna	PCT (ng/ml)						p
	n	średnia	SD	min	Me	max	
<b>NIE</b>	314	7.2	28.7	0.08	0.6	341.05	<b>NS</b>
<b>TAK</b>	31	9.6	20.3	0.08	0.7	84.5	
Urazy okołoporodowe	PCT (ng/ml)						p
	n	średnia	SD	min	Me	max	
<b>NIE</b>	336	7.4	28.3	0.08	0.6	341.05	<b>NS</b>
<b>TAK</b>	9	7.6	7.2	0.22	6.9	19.37	
Zamartwica	PCT (ng/ml)						p
	n	średnia	SD	min	Me	max	
<b>NIE</b>	330	7.7	28.6	0.08	0.6	341.05	<b>NS</b>
<b>TAK</b>	15	2.3	4.4	0.15	0.5	13.7	

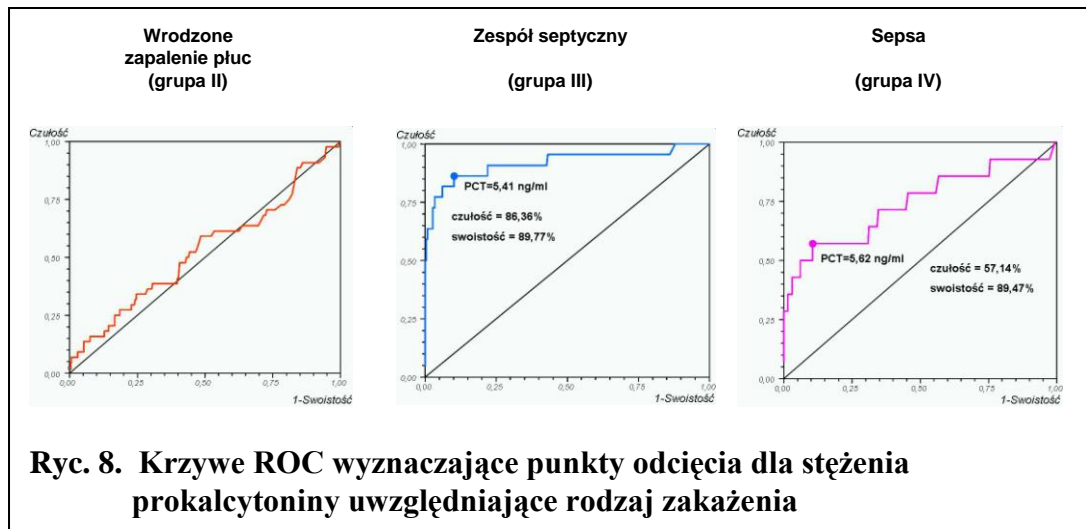
Używając analizy korelacji liniowej Pearsona stwierdziłam statystycznie istotną, ujemną zależność pomiędzy stężeniami wapnia zarówno całkowitego jak i zjonizowanego w surowicy a stężeniem prokalcytoniny. Zależność ta dotyczyła jedynie noworodków, u których wykluczono zakażenie (grupa I). Graficznie ilustrują to ryciny 6 i 7.





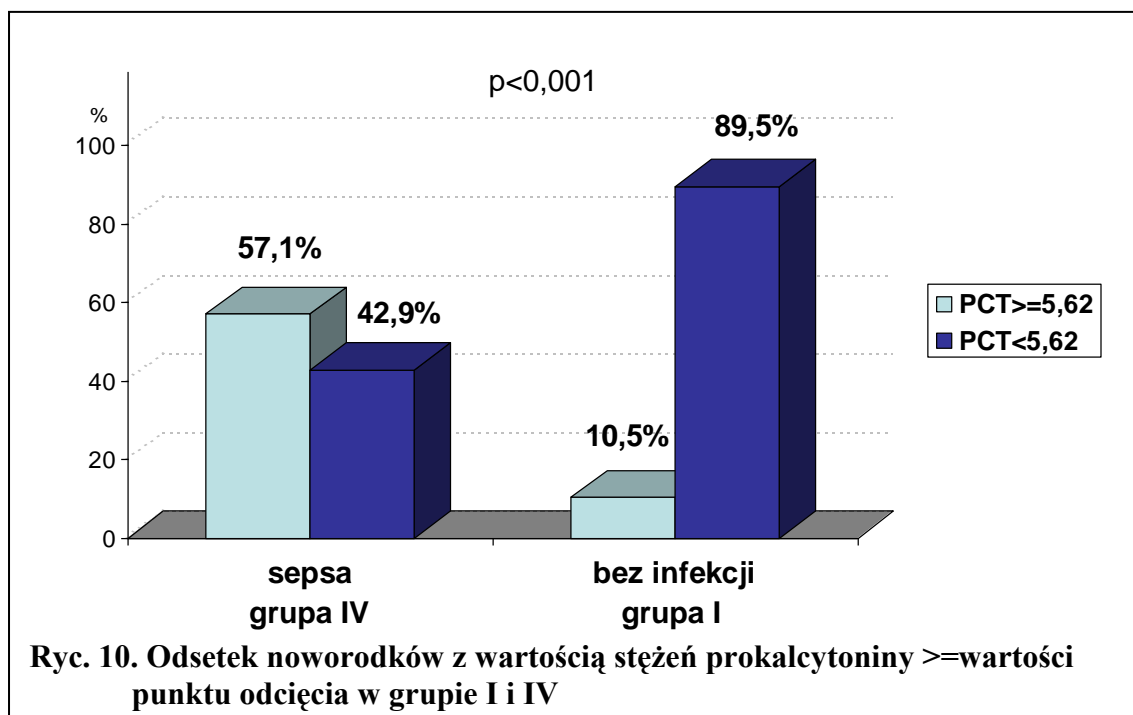
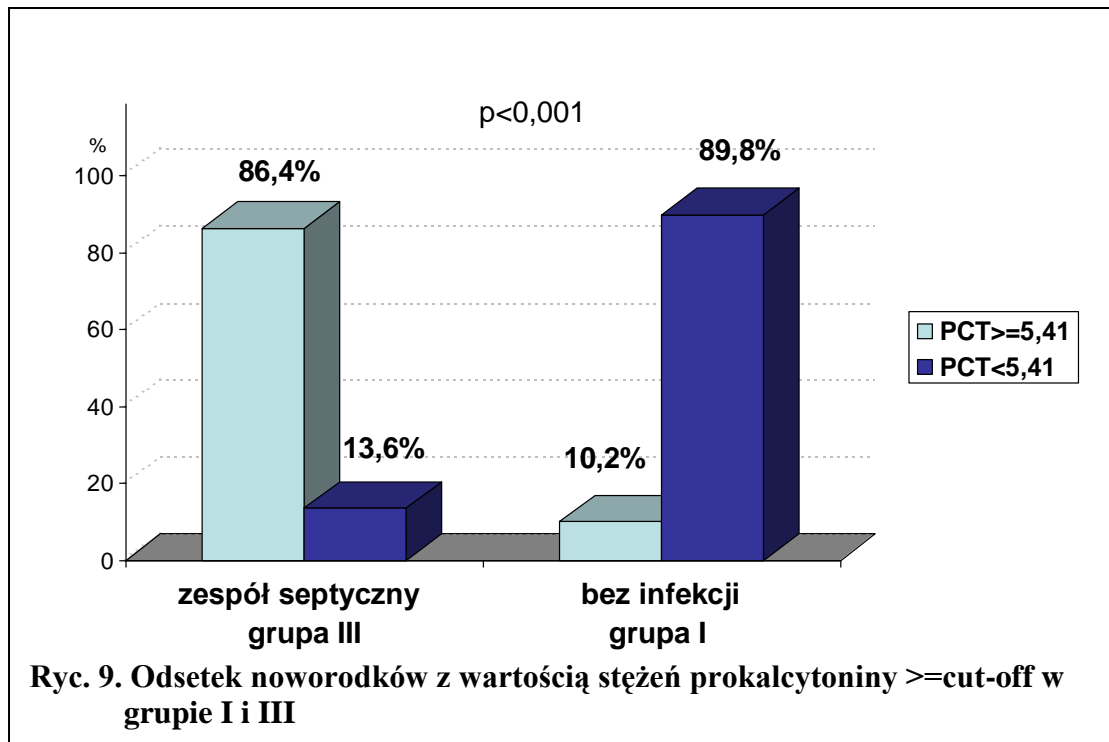
#### 4.4 Wartość diagnostyczna oznaczenia stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodka w pierwszych 12 godzinach życia w diagnostyce infekcji o wczesnym początku

Używając analizy krzywej ROC w grupach badanych noworodków, wyznaczyłam punkty odcięcia dla stężeń prokalcytoniny różnicujące grupy noworodków bez infekcji i tych, u których powikłanie takie wystąpiło. Krzywe ROC przedstawiłam na rycinie 8. Wartości punktów odcięcia dla stężenia prokalcytoniny wynosiły odpowiednio 5.41 ng/ml w grupie noworodków z zespołem septycznym (grupa III) oraz 5.62 ng/ml w przypadku sepsy o wczesnym początku (grupa IV).



Stężenie prokalcytoniny powyżej lub równe 5.41 ng/ml stwierdziłam u 10.2% pacjentów, u których wykluczyłam sepsę o wczesnym początku. Jeżeli za punkt odcięcia dla stężenia prokalcytoniny przyjąłam wartość powyżej lub równą 5.62 ng/ml dodatni wynik dotyczył 10.5 % noworodków bez zakażenia wczesnego. Odpowiednio w grupie noworodków z zespołem septycznym (grupa III) znalazło się 13.6% dzieci, a w grupie noworodków z sepsą o wczesnym początku 42.9% noworodków, u których stwierdzono wartości stężeń prokalcytoniny poniżej obliczonych punktów odcięcia. Graficznie przedstawiłam to na rycinach 9 i 10.





Dla wyznaczonych punktów odcięcia (cut-off), dla stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodków, w poszczególnych badanych

grupach obliczyłam czułość, swoistość, wartości predykcyjne oraz iloraz szans. Przedstawiłam to w tabeli 21.

**Tabela 21.**  
Czułość, swoistość, wartości predykcyjne i iloraz szans dla prokalcytoniny w poszczególnych badanych grupach.

	<b>Wrodzone zapalenie płuc</b>	<b>Zespół septyczny (grupa III)</b>	<b>Sepsa wrodzona (grupa IV)</b>
<b>Powierzchnia pod krzywą</b>	0.529 0.429–0.628	0.919 0.834–1.0	0.742 0.572–0.912
<b>Punkt odcięcia PCT (ng/ml)</b>	Brak zdolności dyskryminacyjnej	<b>≥5.41</b>	<b>≥5.62</b>
<b>Czułość (95% przedział ufności)</b>		86.36% (65.1%–97.1%)	57.14% (28.9%–82.3%)
<b>Swoistość (95% przedział ufności)</b>		89.77% (85.5%–93.2%)	89.47% (85.2%–92.9%)
<b>Wartość predykcyjna dodatnia (95% przedział ufności)</b>		41.3% (27.0%–56.8%)	22.22% (10.1%–39.2%)
<b>Wartość predykcyjna ujemna (95% przedział ufności)</b>		98.75% (96.4%–99.7%),	97.54% (94.7%–99.1%)
<b>Iloraz szans (95% przedział ufności)</b>		54.0 (14.6–303.4)	41.3 (27.0–56.8)

Przyjmując za punkt odcięcia dla stężenia prokalcytoniny wartość 5.41 ng/ml, możemy postawić rozpoznanie zespołu septycznego (grupa III) z 86.36% czułością i prawie 90% swoistością. W tym przypadku wartość predykcyjna dodatnia wynosi 41.3%, a ujemna prawie 99%. Ryzyko stwierdzenia tego powikłania przy podanym punkcie odcięcia

rośnie 54 razy. Dla grupy IV (sepsa o wczesnym początku), przy punkcie odcięcia, który wynosił 5.62 ng/ml, otrzymałam 57.14% czułość i 89.47% swoistość. Wartości predykcyjne wyniosły odpowiednio: dodatnia 22.22%, ujemna 97.54%. Iloraz szans w tym wypadku wynosił 41.

Nie stwierdziłam statystycznie znamienne większych wartości stężenia prokalcytoniny w surowicy w grupie dzieci z wrodzonym zapaleniem płuc (grupa II), porównując je ze stężeniami tego markera w surowicy noworodków bez infekcji (grupa I).

Z badanej grupy noworodków, u których nie rozpoznałam wrodzonej infekcji bakteryjnej (grupa I) wykluczyłam te, u których antybiotykoterapię włączono między 0 a 72 godziną życia i kontynuowano przez co najmniej 5 pełnych dni. Nie stwierdziłam, aby wpłynęło to statystycznie istotnie na wartości czułości, swoistości oraz ilorazu szans w rozpoznaniu zespołu septycznego (grupa III) i sepsy o wczesnym początku (grupa IV). Porównanie powyższych wyników przedstawiłam w tabeli 22.

**Tabela 22.**

**Porównanie czułości, specyficzności oraz ilorazu szans w diagnostyce zespołu septycznego (grupa III) oraz sepsy (grupa IV), jeśli jako punkt odniesienia wykorzystano grupę I wyjściową, oraz po wykluczeniu z niej noworodków leczonych antybiotykami**

	<b>Zespół septyczny (grupa III)</b>	<b>Zespół septyczny (grupa III), grupa bez infekcji (I) porównawcza, bez antybiotykoterapii</b>	<b>Sepsa (grupa IV)</b>	<b>Sepsa (grupa IV), grupa bez infekcji (I) porównawcza, bez antybiotykoterapii</b>
<b>Punkt odcięcia PCT (ng/ml)</b>	≥5,41	≥5,41	≥5,62	≥5,62
<b>Czułość (95% przedział ufności)</b>	86.36% (65.1%–97.1%)	86.96% (66.4%–97.2%)	57.14% (28.9%–82.3%)	57.14% (28.9%–82.3%)
<b>Swoistość (95% przedział ufności)</b>	89.77% (85.5%–93.2%)	89.93% (83.7%–94.4%)	89.47% (85.2%–92.9%)	89.93% (83.7%–94.4%)
<b>Iloraz szans (95% przedział ufności)</b>	54.0 (14.6–303.4)	56.6 (14.4–334.3)	41.3 (27.0–56.8)	11.5 (3.0–47.1)

#### **4.4.1 Zależności wartości stężeń prokalcytoniny od etiologii sepsy o wczesnym początku w grupie badanej IV**

W grupie IV (noworodków z sepsą o wczesnym początku) u 10 noworodków we krwi stwierdziłam patologiczną florę bakteryjną Gram-ujemną. W 3 przypadkach była to flora Gram-dodatnia, we krwi 1 noworodka stwierdziłam wzrost niezidentyfikowanego szczepu bakteryjnego. Wyliczone przeze mnie średnie wartości stężeń prokalcytoniny w grupie noworodków z sepsą o etiologii Gram-dodatniej oraz Gram-ujemnej przedstawiłam w tabeli 23.

**Tabela 23.**  
**Wartości stężeń prokalcytoniny w grupie IV w zależności od czynnika etiologicznego sepsy**

	Gram -	Gram +
<b>n</b>	10	3
<b>Średnia</b>	48.1	6.2
<b>SD</b>	82.6	10.4
<b>min</b>	0.46	0.08
<b>Me</b>	8.1	0.27
<b>max</b>	246.4	18.1

Wykazałam wyższe stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodków z sepsą o etiologii Gram-ujemnej w porównaniu ze stężeniami tego markera w surowicy noworodków z sepsą spowodowaną florą bakteryjną Gram-dodatnią. Brak statystycznej znamienności, wynika z małej liczebności grupy IV (z sepsą).

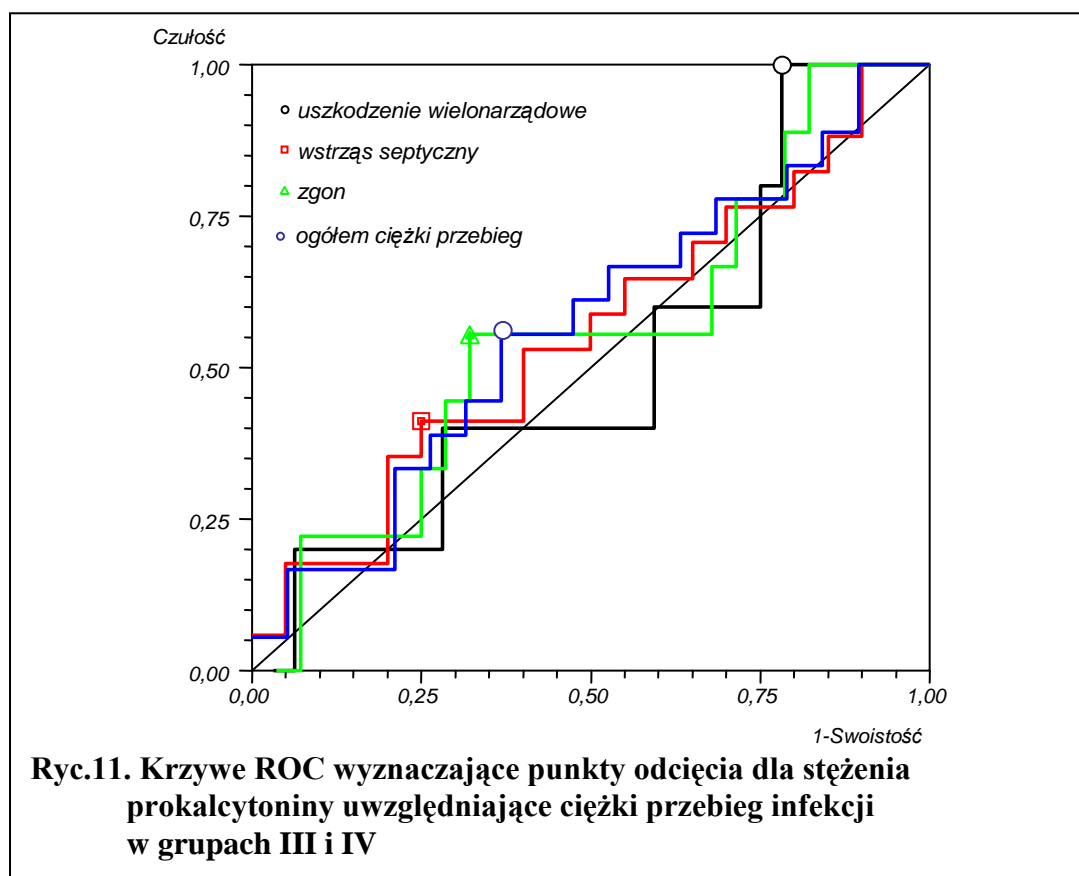
#### **4.4.2 Zależność pomiędzy wartością stężenia prokalcytoniny a ciężkością przebiegu infekcji w grupach noworodków z zespołem septycznym (grupa III) oraz sepsą (grupa IV) o wczesnym początku**

Analizy ciężkości infekcji dokonałam po połączeniu grupy III i IV. W badanej populacji wydzieliłam następujące podgrupy:

- noworodków, u których w przebiegu infekcji doszło do uszkodzenia wielonarządowego,
- noworodków, u których stwierdzono wstrząs septyczny,
- dzieci, które zmarły z powodu powikłań septycznych.

Na podstawie analizy krzywych ROC dla każdej z wyżej wymienionych podgrup, jak również dla wszystkich tych powikłań

wspólnie, wyznaczyłam wartości punktów odcięcia dla stężenia prokalcytoniny. Krzywe ROC przedstawiłam na rycinie 11.



Wartości punktów odcięcia dla stężeń prokalcytoniny wynosiły odpowiednio dla wstrząsu septycznego 53.65 ng/ml, dla zgonów z powodów powikłań septycznych 42.75 ng/ml oraz wspólnie dla wszystkich powikłań 23.6 ng/ml. Brak jest możliwości wyznaczenia takiej wartości w przypadku uszkodzenia wielonarządowego. Dla powyższych wartości punktów odcięcia wyliczono czułość, swoistość, wartości predykcyjne: dodatnią i ujemną oraz iloraz szans. Przedstawiłam je w tabeli 24.

**Tabela 24.**  
**Czułość, swoistość, wartości predykcyjne i iloraz szans dla prokalcytoniny w zależności od ciężkości przebiegu infekcji w grupie III i IV**

	<b>Uszkodzenie wielonarządowe</b>	<b>Wstrząs septyczny</b>	<b>Zgon</b>	<b>Ciężki przebieg wspólnie</b>
<b>Powierzchnia pod krzywą</b>	1.49 0.21–0.80	0.55 0.36–0.74	0.55 0.32–0.78	0.56 0.37–0.75
<b>Cut-off PCT (ng/ml)</b>	<i>Całkowity brak zdolności dyskryminacyjnej</i>	<b>≥53.65</b>	<b>≥42.75</b>	<b>≥23.6</b>
<b>Czułość (95% przedział ufności)</b>		41.2% (18.4%–67.1%)	55.6% (21.2%–86.3%)	55.6% (30.8%–78.5%)
<b>Swoistość (95% przedział ufności)</b>		75.0% (50.9%–91.3%)	67.8% (47.6%–84.1%)	63.2% (38.4%–83.7%)
<b>Dodatnia wartość predykcyjna (95% przedział ufności)</b>		58.3% (27.67%–84.8%)	35.7% (12.8%–64.9%)	58.8% (32.9%–81.6%)
<b>Ujemna wartość predykcyjna (95% przedział ufności)</b>		60.0% (38.7%–78.9%)	82.6% (61.2%–95.1%)	60.0% (36.1%–80.9%)
<b>Iloraz szans (95% przedział ufności)</b>		2.05 (0.42–10.85)	2.56 (0.43–16.45)	2.09 (0.47–9.77)

Porównując wartości średnie stężeń prokalcytoniny w surowicy noworodków z uszkodzeniem wielonarządowym, wstrząsem septycznym oraz zgonem w przebiegu powikłań septycznych, z wartościami średnimi stężeń tego markera u dzieci, u których te powikłania nie wystąpiły, nie stwierdziłam statystycznie istotnych różnic pomiędzy nimi. Wartości średnich, odchyłeń standardowych, wartości minimalnych i

maksymalnych oraz mediany w grupach z omawianymi powikłaniami zakażenia przedstawiłam w tabeli 25.

**Tabela 25.**  
Stężenie prokalcytoniny w podgrupach noworodków z ciężkimi powikłaniami infekcji

Ciężki przebieg ogółem	PCT (ng/ml)						p
	n	Średnia	SD	min	Me	max	
<b>NIE</b>	19	41.6	60.6	0.08	15.7	246.4	NS
<b>TAK</b>	18	57.9	83.4	0.3	23.8	341.05	
Uszkodzenie wielonarządowe	PCT (ng/ml)						p
	n	Średnia	SD	min	Me	max	
<b>NIE</b>	32	51.7	76.3	0.08	19.2	341.05	NS
<b>TAK</b>	5	35.4	37.0	0.27	24.0	86.6	
Wstrząs septyczny	PCT (ng/ml)						p
	n	Średnia	SD	min	Me	max	
<b>NIE</b>	20	41.7	59.0	0.08	18.0	246.40	NS
<b>TAK</b>	17	58.8	85.9	0.27	23.6	341.05	
Zgon	PCT (ng/ml)						p
	n	Średnia	SD	min	Me	max	
<b>NIE</b>	28	49.4	77.8	0.08	19.2	341.05	NS
<b>TAK</b>	9	49.9	54.5	0.64	42.8	140.83	



#### 4.4.3 Porównanie wartości diagnostycznej oznaczania liczby leukocytów oraz płytek we krwi obwodowej, a także stężenia białka C-reaktywnego w surowicy z wartością diagnostyczną stężenia prokalcytoniny w surowicy w diagnostyce zespołu septycznego (grupa III) oraz sepsy (grupa IV) o wczesnym początku

W badanym materiale analizie poddałam znaczenie diagnostyczne następujących badań laboratoryjnych w rozpoznaniu zakażenia o wczesnym początku: liczby leukocytów oraz płytek krwi obwodowej i stężenia białka C-reaktywnego w surowicy, oznaczonych w pierwszych 12 godzinach życia noworodka. Wartości minimalne i maksymalne, wartości średnie, medianę i odchylenie standardowe dla liczby leukocytów oraz płytek w morfologii krwi obwodowej przytoczyłam w tabelach 26 i 27.

**Tabela. 26.**

**Liczba leukocytów we krwi obwodowej w poszczególnych badanych grupach**

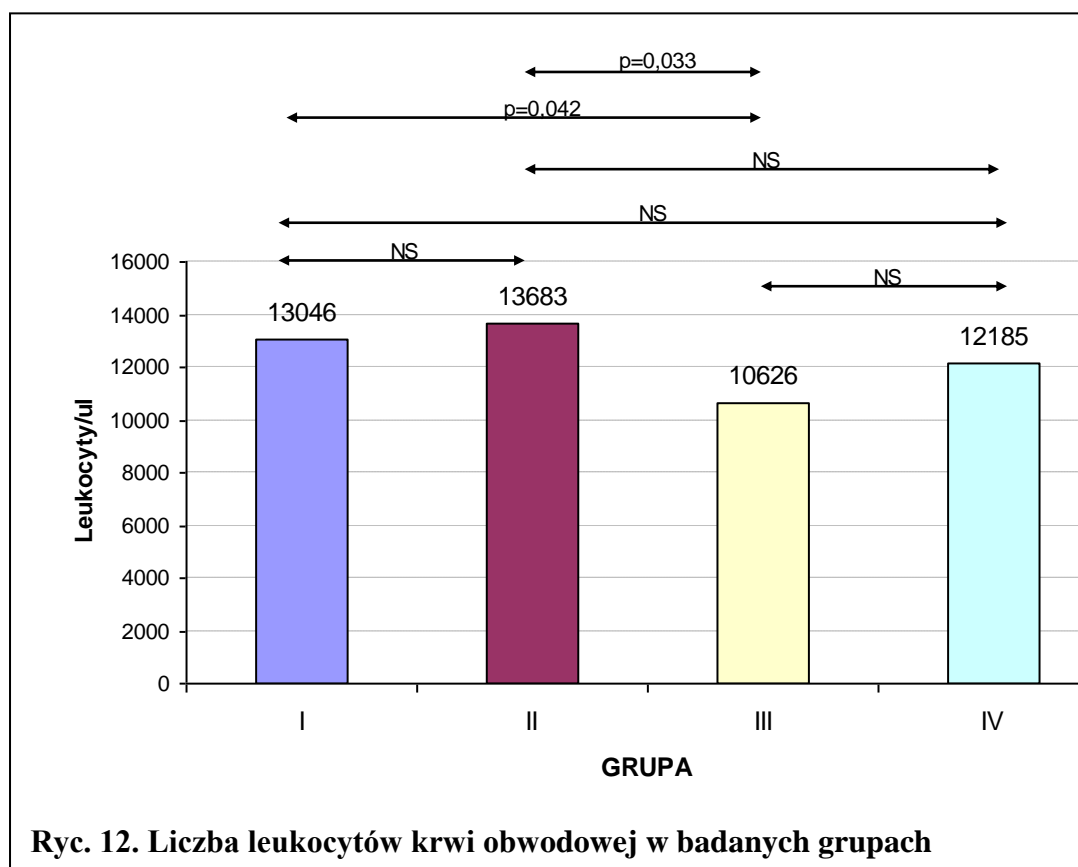
Grupa	Liczba leukocytów / $\mu$ l					
	n	Średnia	SD	min	Me	max
I	261	13 046	8 681	3 300	11 100	70 700
II	44	13 683	6 608	3 600	11 950	29 750
III	23	10 626	8 264	2 100	7 800	29 800
IV	13	12 185	6 003	5 700	11 400	23 800

**Tab.27**

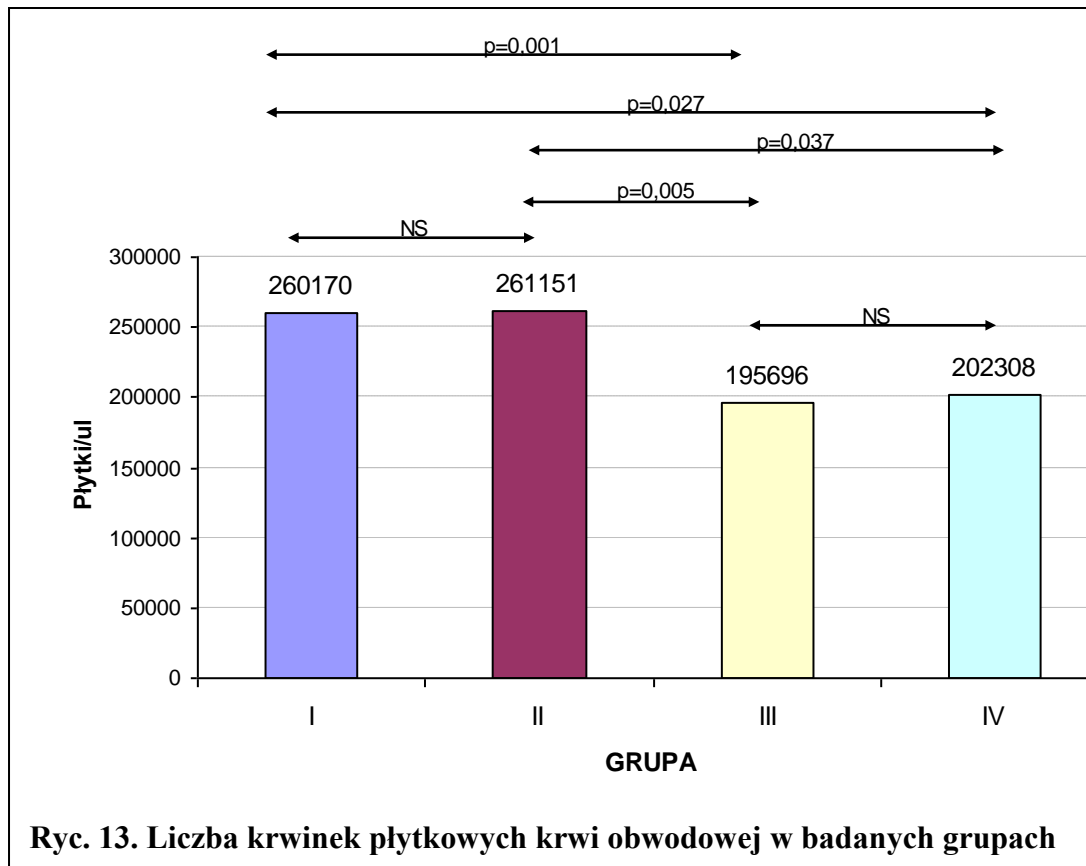
**Liczba płytek we krwi obwodowej w poszczególnych badanych grupach**

Grupa	Liczba płytek / $\mu$ l					
	n	Średnia	SD	min	Me	max
I	259	260 170	88 725	40 000	258 000	584 000
II	43	261 151	88 430	39 000	256 000	480 000
III	23	195 696	83 682	70 000	187 000	359 000
IV	13	202 308	85 308	51 000	186 000	342 000

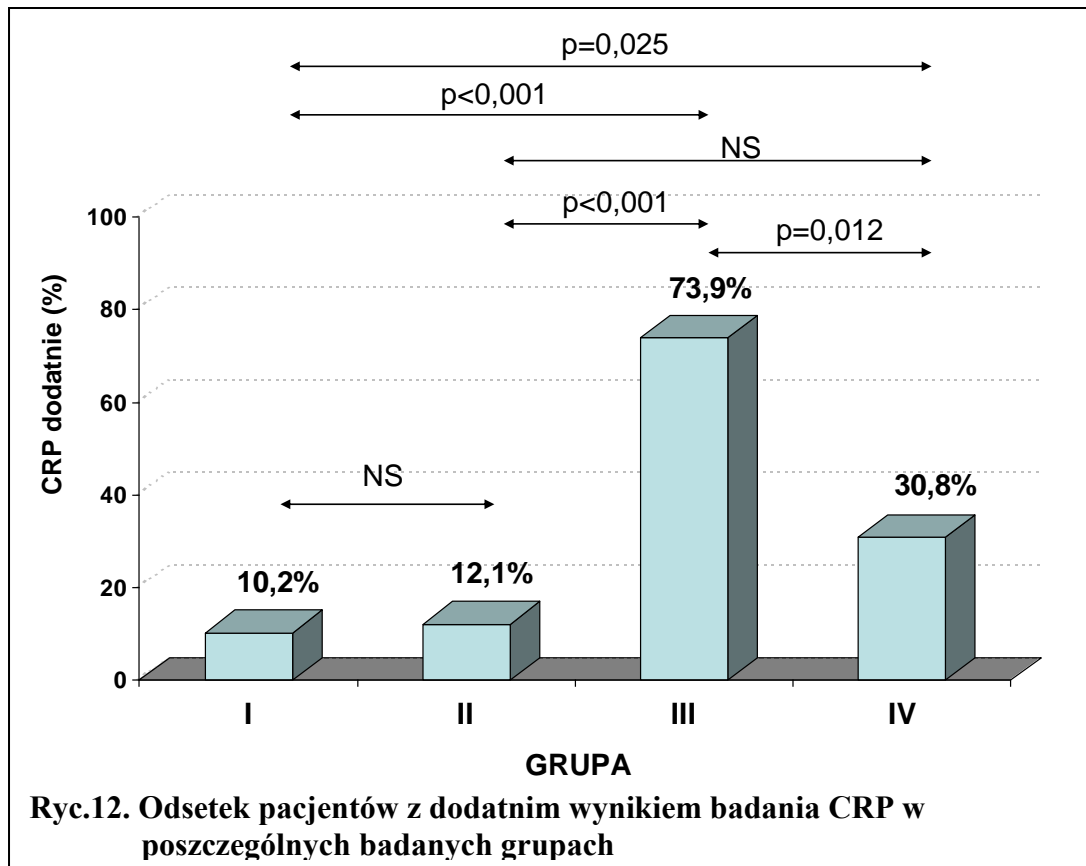
Stwierdziłam znamienne statystycznie różnice pomiędzy liczbą leukocytów we krwi obwodowej noworodków w grupach I i III ( $p=0.042$ ) oraz II i III ( $p=0.33$ ). Brak było natomiast takich różnic, dla liczby leukocytów, pomiędzy grupą I i IV oraz III i IV. Na rycinach 12 oraz 13 przedstawiłam liczbę leukocytów oraz płytek we krwi obwodowej w poszczególnych badanych grupach.



Podobnie, uzyskałam znamienne statystycznie różnice w ilości płytek we krwi obwodowej pomiędzy noworodkami z grup I i III ( $p=0.001$ ) oraz I i IV ( $p=0.027$ ). Różnice w liczbie płytek pomiędzy grupą III i IV były statystycznie nieistotne.



Rycina 14 prezentuje dodatkowo wyniki białka C-reaktywnego w poszczególnych badanych grupach. Na podstawie dokonanych obliczeń stwierdziłam statystycznie istotne różnice w ilości noworodków z dodatnim wynikiem białka C-reaktywnego oznaczonego w pierwszych 12 godzinach życia, w grupach I i III ( $p<0.001$ ) oraz I i IV ( $p=0.025$ ). Nie stwierdziłam natomiast takiej różnicy, która byłaby statystycznie znamienne, pomiędzy grupą I i II. Dodatni wynik badania białka C-reaktywnego stwierdziłam u mniejszej ilości pacjentów w grupie IV niż w grupie III. Wynik ten był statystycznie znamieny ( $p=0.012$ ).



Dla każdego z oznaczonych parametrów oddzielnie (liczby leukocytów, liczby płytek we krwi obwodowej i stężenia białka C-reaktywnego w surowicy) oraz wspólnie dla wszystkich obliczyłam czułość, swoistość, oraz iloraz szans w diagnostyce zespołu septycznego (grupa III), sepsy (grupa IV) oraz w połączonej populacji grupy III i IV. Takich obliczeń dokonałam również dla wyżej wymienionych wskaźników stanu zapalnego po uwzględnieniu stężenia prokalcytoniny w surowicy. Wyniki przedstawiłam w tabelach 28, 29, 30.

**Tabela 28.**  
**Wartość diagnostyczna poszczególnych parametrów laboratoryjnych w**  
**zespole septycznym (grupa III)**

<b>Metoda laboratoryjna</b>	<b>Czułość (95% przedział ufności)</b>	<b>Swoistość (95% przedział ufności)</b>	<b>Diagnostyczne OR (95% przedział ufności)</b>
<b>Prokalcytonina</b>	86.36% (65.1%–97.1%)	89.77% (85.5%–93.2%)	54.0 (14.6–303.4)
<b>Liczba leukocytów</b>	34.78% (16.4%–57.3%)	86.74% (82.1%–90.6%)	3.5 (1.2–9.5)
<b>CRP</b>	73.91% (51.6%–89.8%)	89.84% (84.6%–93.8%)	24.3 (8.0–85.0)
<b>Liczba płytek</b>	17.39% (5.0%–38.8%)	94.32% (90.8%–96.8%)	3.5 (0.8–12.4)
<b>Leukocyty+CRP +Płytki</b>	86.96% (66.4%–97.2%)	71.29% (64.5%–77.4%)	16.3 (4.6–89.1)
<b>Leukocyty+PCT</b>	86.96% (66.4%–97.2%)	77.65% (72.1%–82.5%)	22.8 (6.4–124.2)
<b>CRP+PCT</b>	91.3% (72.0%–98.9%)	79.19% (72.8%–84.6%)	39.1 (9.0–357.9)
<b>Płytki+PCT</b>	91.3% (72.0%–98.9%)	84.47% (79.5%–88.6%)	55.9 (13.0–510.3)
<b>Leukocyty+CRP+Płytki + PCT</b>	95.65% (78.1%–99.9%)	65.84% (58.9%–72.4%)	41.8 (6.5–1762.8)

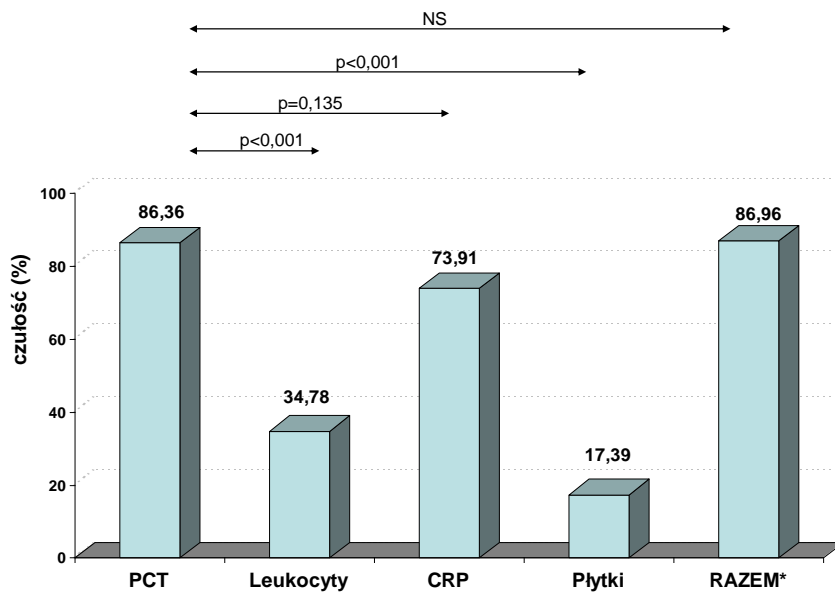
**Tabela 29.**  
**Wartość diagnostyczna poszczególnych parametrów laboratoryjnych w**  
**sepsie o wczesnym początku (grupa IV)**

<b>Metoda laboratoryjna</b>	<b>Czułość (95% przedział ufności)</b>	<b>Swoistość (95% przedział ufności)</b>	<b>Diagnostyczne OR (95% przedział ufności)</b>
<b>Prokalcytonina</b>	57.14% (28.9%–82.3%)	89.47% (85.2%–92.9%)	41.3 (27.0–56.8)
<b>Liczba leukocytów</b>	21.43% (4.7%–50.8%)	86.74% (82.1%–90.6%)	1.8 (0.3–7.2)
<b>CRP</b>	30.77% (9.1%–61.4%)	89.84% (84.6%–93.8%)	3.9 (0.8–15.7)
<b>Liczba płytek</b>	14.29% (1.8%–42.8%)	94.32% (90.8%–96.8%)	2.7 (0.3–14.2)
<b>Leukocyty+CRP+ Płytki</b>	38.46% (13.9%–68.4%)	71.29% (64.5%–77.4%)	1.5 (0.4–5.6)
<b>Leukocyty+PCT</b>	64.29% (35.1%–87.2%)	77.65% (72.1%–82.5%)	6.2 (1.8–24.5)
<b>CRP+PCT</b>	69.23% (38.6%–90.9%)	79.19% (72.8%–84.6%)	8.4 (2.2–39.4)
<b>Płytki+PCT</b>	57.14% (28.9%–82.3%)	84.47% (79.5%–88.6%)	7.2 (2,1–26.5)
<b>Leukocyty+CRP+ Płytki+PCT</b>	76.92% (46.2%–95.0%)	65.84% (58.9%–72.4%)	6.4 (1.6–37.2)

**Tabela 30.**  
**Wartość diagnostyczna poszczególnych parametrów laboratoryjnych w**  
**zespole septycznym oraz sepsie o wczesnym początku (grupa III i IV**  
**wspólnie)**

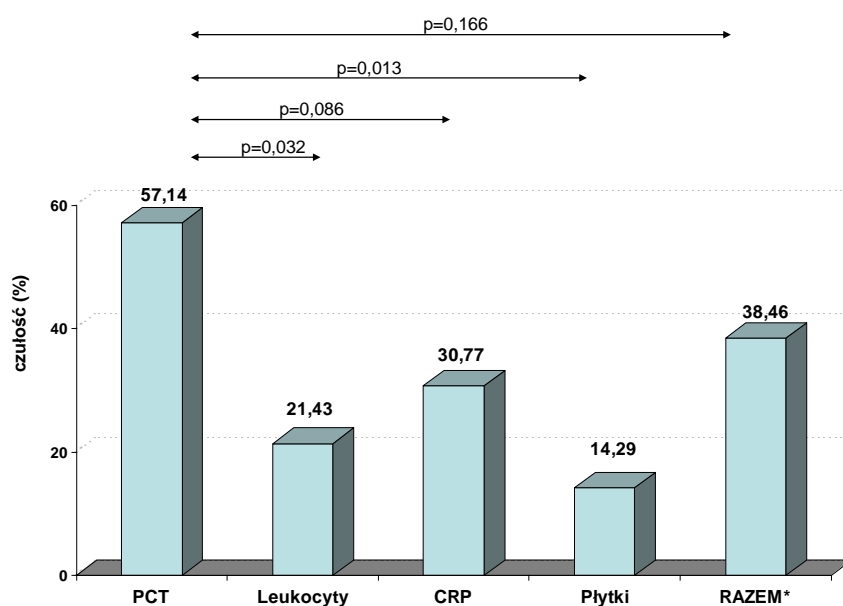
<b>Metoda laboratoryjna</b>	<b>Czułość (95% przedział ufności)</b>	<b>Swoistość (95% przedział ufności)</b>	<b>Diagnostyczne OR (95% przedział ufności)</b>
<b>Prokalcytonina</b>	75.68% (58.8%–88.2%)	89.77% (85.5%–93.2%)	26.7 (10.9–71.6)
<b>Liczba leukocytów</b>	29.73% (15.9%–47.0%)	86.74% (82.1%–90.6%)	2.7 (1.1–6.4)
<b>CRP</b>	58.33% (40.8%–74.5%)	89.84% (84.6%–93.8%)	12.1 (5.17–30.3)
<b>Liczba płytek</b>	16.22% (6.2%–32.0%)	94.32% (90.8%–96.8%)	3.2 (0.9–9.5)
<b>Leukocyty+CRP +Płytki</b>	69.44% (51.9%–83.7%)	71.29% (64.5%–77.4%)	5.6 (2.5–13.5)
<b>Leukocyty+PCT</b>	78.38% (61.8%–90.2%)	77.65% (72.1%–82.5%)	12.5 (5.2–33.3)
<b>CRP+PCT</b>	83.33% (67.2%–93.6%)	79.19% (72.8%–84.6%)	18.7 (7.1–58.7)
<b>Płytki+PCT</b>	78.38% (61.8%–90.2%)	84.47% (79.5%–88.6%)	19.4 (8.0–52.8)
<b>Leukocyty+CRP +Płytki+PCT</b>	88.89% (73.9%–96.9%)	65.84% (58.8%–72.4%)	15.2 (5.1–61.8)

Prokalcytonina jest markerem bardziej czułym i specyficznym niż ilość leukocytów, trombocytów we krwi obwodowej oraz stężenie białka C-reaktywnego w diagnostyce zespołu septycznego i sepsy. Statystycznie istotne różnice w czułości testów zanotowałam porównując stężenie prokalcytoniny w surowicy z liczbą leukocytów i płytek we krwi obwodowej w grupach III, IV oraz połączonych III i IV. W tych grupach nie zanotowałam natomiast różnic pomiędzy czułością oznaczenia stężenia prokalcytoniny a oznaczenia stężenia CRP w surowicy. Powyższe wyniki graficznie przedstawiłam na rycinach 13, 14 i 15.



\* Leukocyty i/lub CRP i/lub Płytki

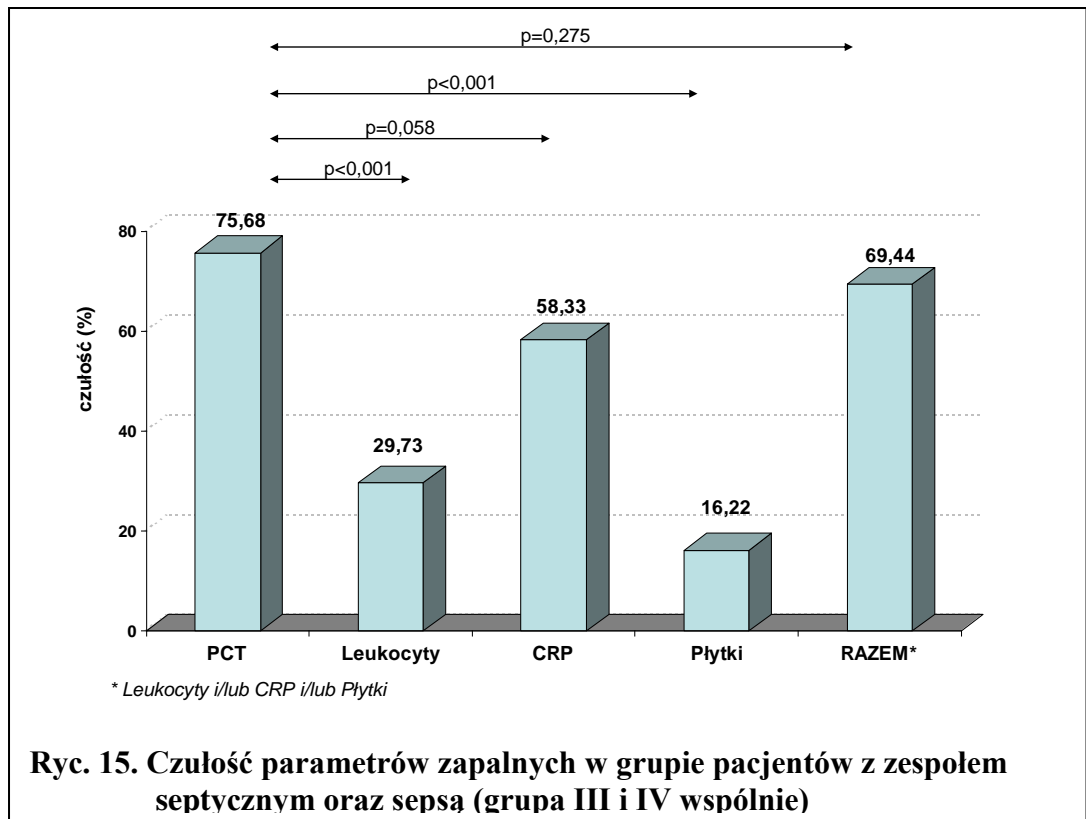
**Ryc. 13. Czułość parametrów zapalnych w grupie pacjentów z zespołem septycznym (grupa III)**



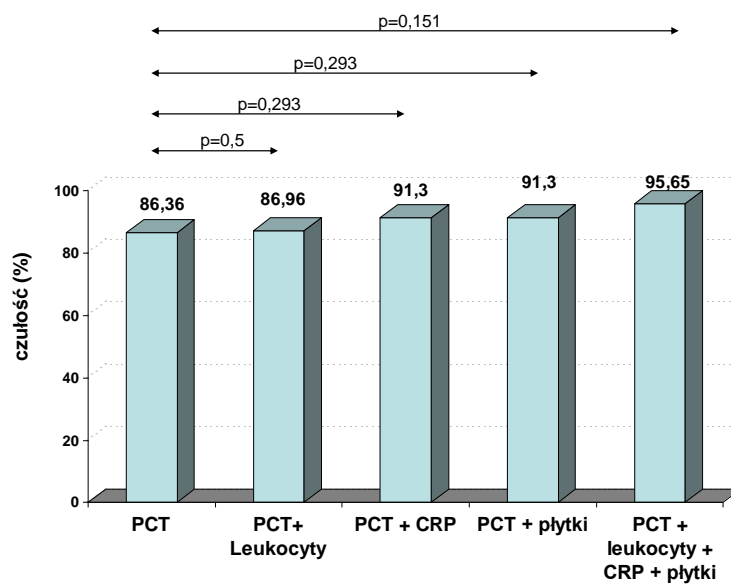
\* Leukocyty i/lub CRP i/lub Płytki

**Ryc. 14. Czułość parametrów zapalnych w grupie pacjentów z sepsą (grupa IV)**

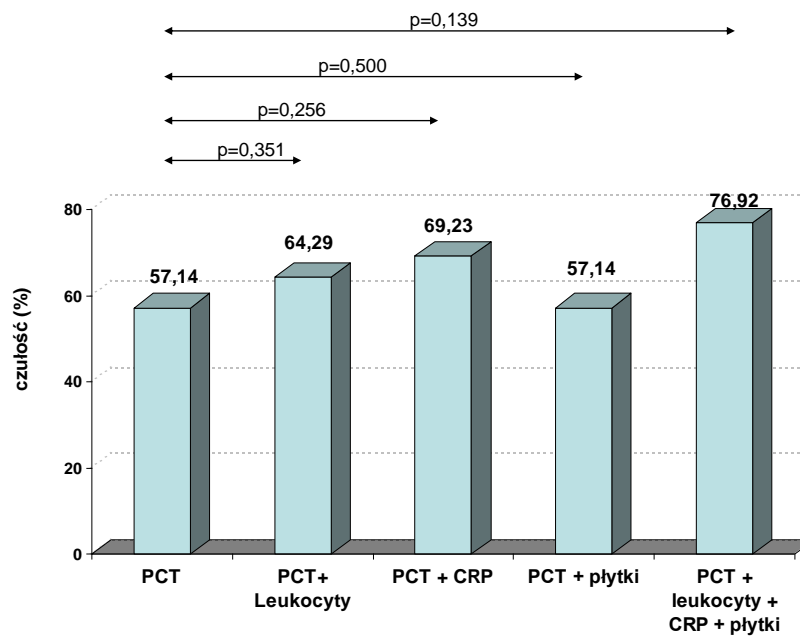




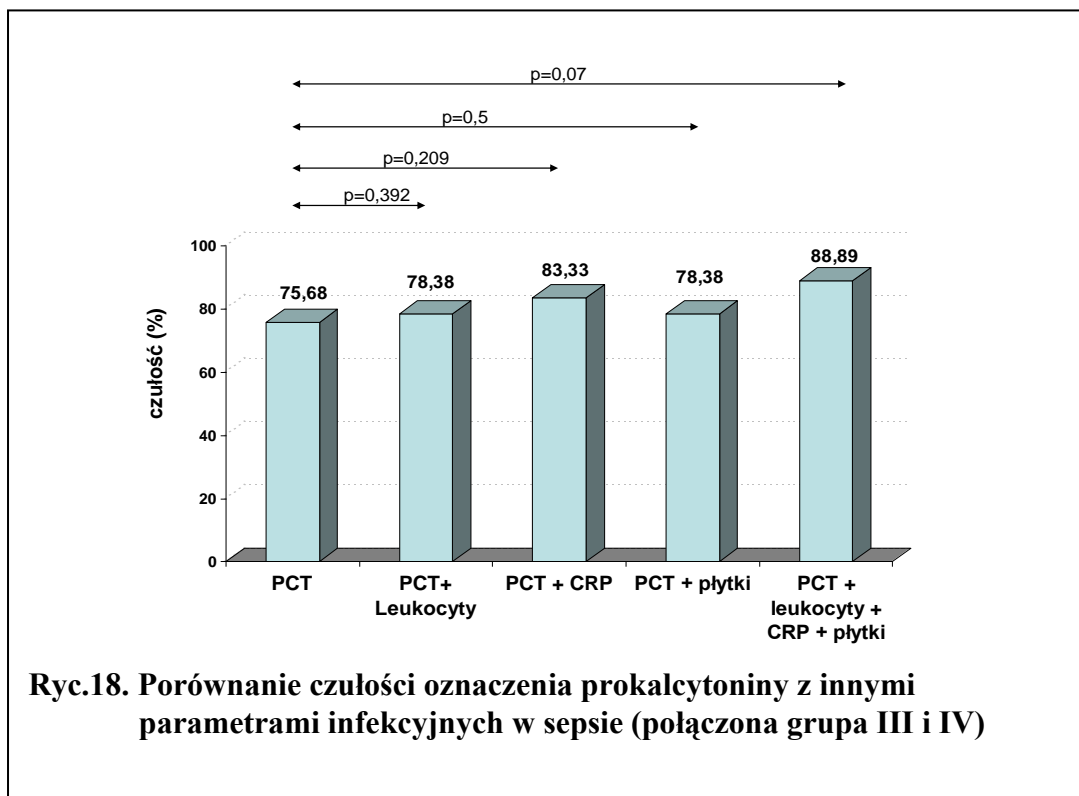
Oznaczenie stężenia prokalcytoniny w surowicy wspólnie z jednym z wymienionych powyżej markerów stanu zapalnego (liczba leukocytów, płytek we krwi obwodowej i/lub stężenia CRP w surowicy) podnosi czułość oznaczenia stężenia PCT w surowicy w diagnostyce zespołu septycznego i sepsy w sposób statystycznie nieistotny. Najwyższą wartość diagnostyczną w zespole septycznym (III) i sepsie (IV) ma oznaczenie stężenia prokalcytoniny i wszystkich pozostałych testów laboratoryjnych: liczby leukocytów i płytek we krwi obwodowej oraz stężenia CRP. Czułość oznaczenia wszystkich powyższych parametrów wynosi w grupie III – 95.65% (oznaczenie samej prokalcytoniny odpowiednio – 86.36%), w grupie IV – 76.92% (oznaczenie samej prokalcytoniny odpowiednio – 57.14%) oraz wspólnie dla grupy III i IV – 88.89% (oznaczenie samej prokalcytoniny odpowiednio – 75.68%) Powyższe zależności przedstawiono na rycinach 16, 17, 18.



**Ryc.16. Porównanie czułości oznaczenia prokalcytoniny z innymi parametrami infekcyjnych w zespole septycznym (grupa III)**



**Ryc.17. Porównanie czułości oznaczenia prokalcytoniny z innymi parametrami infekcyjnych w sepsie (grupa IV)**



#### 4.5 Porównanie wartości diagnostycznej oznaczenia stężenia prokalcytoniny i ekspresji antygenów CD14 i CD16 oraz HLA-DR na monocytach krwi obwodowej w zakażeniach wrodzonych u noworodka

W subpopulacji noworodków, obok stężenia prokalcytoniny w pierwszych 12 godzinach życia, oznaczyłam poziom ekspresji antygenów CD14 i CD16 oraz HLA-DR na monocytach krwi obwodowej. W tabeli 31 przedstawiłam wartości średnich, odchylenia standardowego, wartości minimalnych i maksymalnych odsetka komórek CD14<sup>++</sup>16, odsetka komórek CD14<sup>high</sup>16<sup>+</sup> oraz odsetka komórek CD14<sup>dim</sup>16<sup>+</sup> wśród populacji monocytów krwi obwodowej w grupach dzieci bez infekcji (grupa I) oraz z rozpoznaną infekcją o wczesnym początku (grupa III i IV).

<b>Tabela 31.</b>											
<b>Odsetek komórek z ekspresją antygenów CD14 i CD16 w populacji monocytów krwi obwodowej u noworodków bez infekcji oraz z infekcją o wczesnym początku</b>											
	<b>Noworodki bez infekcji (grupa I)</b>					<b>Noworodki z infekcją o wczesnym początku (grupa III+IV)</b>					<b>P</b>
	<b>n</b>	<b>Średnia</b>	<b>SD</b>	<b>min</b>	<b>max</b>	<b>n</b>	<b>Średnia</b>	<b>SD</b>	<b>min</b>	<b>max</b>	
<b>Mon 14+++ 16-</b>	35	50.4%	21.1%	7.0%	85.7%	6	37.0%	19.1%	6.6%	57.1%	NS
<b>Mon 14high 16+</b>	35	15.9%	13.5%	0.8%	55.4%	6	9.6%	9.6%	1.0%	26.2%	NS
<b>MON 14dim 16+</b>	35	4.8%	3.2%	0.5%	12.3%	5	2.5%	1.9%	0.1%	4.6%	NS

Tabela 32 przedstawia wartości średnie, wartości odchylenia standardowego, wartości minimalne i maksymalne policzone dla odsetków komórek CD14+++16-, CD14high16+, CD14dim16+ w populacji komórek CD14+ u noworodków zdrowych oraz z infekcją o wczesnym początku (grupa III i IV).

**Tabela 32.**  
**Odsetek komórek z ekspresją antygenów CD14 i CD16 w populacji monocytów CD14 dodatnich u noworodków bez infekcji (grupa I) oraz z infekcją wrodzoną (grupa III i IV)**

	<b>Noworodki bez infekcji (grupa I)</b>					<b>Noworodki z infekcją o wczesnym początku (grupa III+IV)</b>					<b>P</b>
	<b>n</b>	<b>Średnia</b>	<b>SD</b>	<b>min</b>	<b>max</b>	<b>n</b>	<b>Średnia</b>	<b>SD</b>	<b>min</b>	<b>max</b>	
<b>Mon 14+++ 16-</b>	32	64.8%	17.4%	29.0%	90.3%	6	63.9%	16.5%	42.6%	86.1%	NS
<b>Mon 14high 16+</b>	32	23.7%	16.6%	6.5%	61.0%	6	20.7%	16.7%	8.1%	49.9%	NS
<b>Mon 14dim 16+</b>	32	5.2%	3.6%	0.9%	18.0%	5	4.2%	0.6%	3.6%	4.9%	NS

Wyliczyłam również wartości średnie, wartości odchylenia standardowego, wartości minimalne i maksymalne dla odsetka komórek z ekspresją HLA-DR wśród monocytów, wśród komórek CD14<sup>++</sup>16<sup>-</sup>, wśród komórek CD14<sup>high</sup>16<sup>+</sup> oraz wśród komórek CD14<sup>dim</sup>16<sup>+</sup>. Wyniki wśród noworodków zdrowych oraz z infekcją o wczesnym początku przedstawiłam w tabeli 33.

**Tabela 33.**  
**Odsetek komórek z ekspresją HLA-DR w populacji monocytów u noworodków bez infekcji oraz z infekcją o wczesnym początku**

	Noworodki bez infekcji (grupa I)					Noworodki z infekcją o wczesnym początku (grupa III+IV)					P
	n	Średnia	SD	min	max	n	Średnia	SD	min	max	
<b>%HLA-DR Mon</b>	34	45.7%	21.4%	1.4%	71.7%	6	45.9%	17.1%	17.0%	64.5%	NS
<b>%HLA-DR Mon14<sup>++</sup>16<sup>-</sup></b>	34	55.3%	26.6%	0.4%	92.5%	6	53.1%	28.5%	6.8%	82.0%	NS
<b>%HLA-DR 14<sup>high</sup>16<sup>+</sup></b>	34	56.7%	22.6%	0.6%	84.5%	6	65.0%	20.5%	36.0%	92.0%	NS
<b>%HLA-DR 14<sup>dim</sup>16<sup>+</sup></b>	34	34.1%	27.0%	0%	92.0%	5	42.8%	28.9%	13.0%	80.0%	NS

W tabeli 34 przedstawiono wartości średnie, wartości odchylenia standardowego, wartości minimalne i maksymalne dla procentowego odsetka komórek z ekspresją HLA-DR, mierzonego jako średnie natężenie fluorescencji (mfi), wśród monocytów, wśród komórek CD14<sup>++</sup>16<sup>-</sup>, wśród komórek CD14<sup>high</sup>16<sup>+</sup> oraz wśród komórek CD14<sup>dim</sup>16<sup>+</sup> w grupie noworodków zdrowych oraz z zakażeniem wrodzonym.

**Tabela 34.**  
**Odsetek komórek z ekspresją HLA-DR mierzonego średnim natężeniem fluorescencji (mfi) w populacji monocytów u noworodków bez infekcji oraz z infekcją o wczesnym początku**

	Noworodki bez infekcji (grupa I)					Noworodki z infekcją (grupa III+IV)					p
	n	Średnia	SD	min	max	n	Średni a	SD	min	max	
<b>mfi HLA-DR Mon</b>	34	51.5%	55.0%	14.0%	248.0%	6	41.2%	10.2%	32.0%	57.0%	NS
<b>mfi HLA-DR14++16-</b>	34	39.9%	53.3%	14.0%	291.0%	6	21.4%	6.3%	13.0%	32.0%	NS
<b>mfi HLA-DR 14high16+</b>	34	59.1%	45.4%	14.6%	162.0%	6	53.6%	30.6%	19.0%	99.0%	NS
<b>mfi HLA-DR 14dim16+</b>	33	66.9%	60.5%	11.0%	320.0%	5	78.4%	84.8%	11.0%	225.0%	NS

Nie stwierdziłam statystycznie istotnych różnic otrzymanych wyników pomiędzy grupą noworodków zdrowych a grupą noworodków z wrodzoną infekcją.

Jedynie dla odsetka monocytów z ekspresją HLA-DR wśród monocytów 14high16+ oraz wśród monocytów 14dim16+ jak również dla ekspresji HLA-DR na monocytach 14dim16+ mierzonego średnim natężeniem fluorescencji możliwe było, po narysowaniu krzywych ROC, wyznaczenie punktu odcięcia dla różnicowania grupy noworodków z infekcją oraz tych bez zakażenia stwierdzonego po urodzeniu. Wartości te przedstawiłam w tabeli 35. Należy zauważyć, że żaden z wyznaczonych krzywą ROC punktów odcięcia nie wskazuje na występowanie statystycznie znamiennej zależności pomiędzy wystąpieniem infekcji o wczesnym początku a poziomem badanych parametrów powyżej punktu odcięcia. Istotne jest również, że otrzymane wyniki sugerują zwiększoną ekspresję HLA-DR w infekcji o wczesnym początku.

**Tabela 35.**  
**Zdolność dyskryminacyjna wybranych parametrów dla oceny wystąpienia**  
**infekcji o wczesnym początku (III + IV)**

	<b>p</b>	<b>Punkt odcięcia</b>	<b>Powierzchnia pod krzywą</b>	<b>Czułość</b>	<b>Swoistość</b>
<b>Mon 14++16-</b>	NS	≤57.1	*	--	--
<b>Mon 14high16+</b>	NS	≤5.6	*	--	--
<b>Mon 14dim16+</b>	NS	≤4.6	*	--	--
<b>Mon 14++16-/ Mon 14+</b>	NS	≤75.7	*	--	--
<b>Mon 14high16+/ Mon14+</b>	NS	≤12.2	*	--	--
<b>Mon 14dim16+/ 14+</b>	NS	≤4.9	*	--	--
<b>HLA-DR %Mon</b>	NS	≥17	*	--	--
<b>HLA-DR %14++16-</b>	NS	≤62.6	*	--	--
<b>HLA-DR %14high16+</b>	NS	≥68	0.59	66.7	58.8
<b>HLA-DR %14dim16+</b>	NS	≥46	0.59	60.0	70.6
<b>mfi HLA-DR Mon</b>	NS	≤57	*	--	--
<b>mfi HLA-DR 14++16-</b>	NS	≤23.5	*	--	--
<b>mfi HLA-DR 14high16+</b>	NS	≤99	*	--	--
<b>mfi HLA-DR 14dim16+</b>	NS	≥225	0.5	20.0	97.0

Zbadałam korelację pomiędzy stężeniem prokalcytoniny, a odsetkiem komórek z ekspresją antygenów CD14 i CD16. Stwierdziłam ujemną zależność pomiędzy stężeniem prokalcytoniny i każdą z grup, różniącą się ekspresją antygenów CD14 i CD16. Zależność ta jest statystycznie istotna jedynie pomiędzy stężeniem prokalcytoniny w surowicy a ilością monocytów CD14++16-. Wyniki powyższe przedstawiłam w tabeli 36.

**Tabela 36.**

**Zależność pomiędzy stężeniem prokalcytoniny, a grupami komórek różniących się ekspresją antygenów CD14 i CD16**

<b>Korelacja PCT z:</b>	<b>Współczynnik korelacji (r) Poziom istotności statystycznej (p)</b>
<b>Mon 14++16-</b>	r = -0.338 p = 0.041
<b>Mon 14high16+</b>	r = -0.178 p = 0.291
<b>Mon 14dim16+</b>	r = -0.319 p = 0.054
<b>Mon 14++16-/14+</b>	r = -0.146 p = 0.388
<b>Mon 14high16+/14+</b>	r = -0.108 p = 0.525
<b>Mon 14dim16+/14+</b>	r = -0.047 p = 0.783

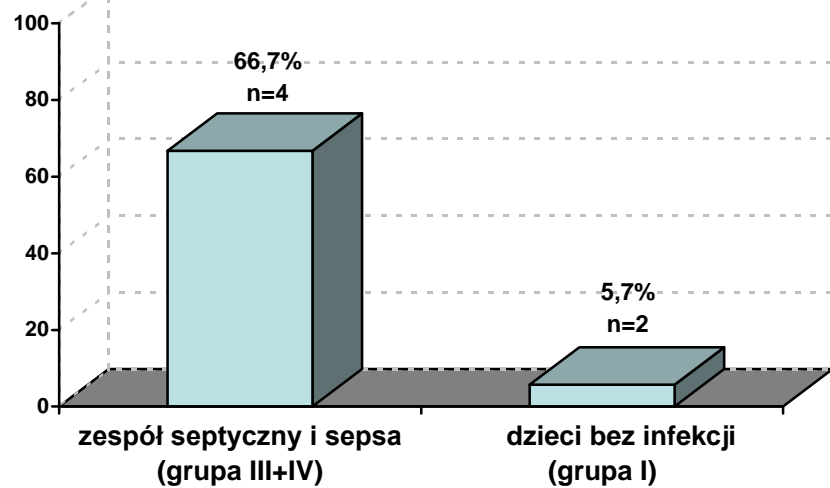
Nie stwierdziłam również istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniem prokalcytoniny a ekspresją HLA-DR w poszczególnych grupach, jak również zależności między prokalcytoniną a średnim stężeniem fluorescencji. Wyliczenia przedstawiłam w tabeli 37.



**Tabela 37.**  
**Zależność pomiędzy stężeniem prokalcytoniny, a ilością komórek różniących się ekspresją HLA-DR**

<b>Korelacja PCT z:</b>	<b>Współczynnik korelacji (r) Poziom istotności statystycznej (p)</b>
<b>HLA-DR % Mon</b>	r = -0.113 p=0.499
<b>HLA-DR %14++16-</b>	r = -0.192 p=0.248
<b>HLA-DR %14high16+</b>	r = -0.153 p=0.359
<b>HLA-DR %14dim16+</b>	r = -0.187 p=0.261
<b>mfi HLA-DR Mon</b>	r = -0.010 p=0.952
<b>mfi HLA-DR 14++16-</b>	r = -0.064 p=0.702
<b>mfi 14high16+</b>	r = -0.076 p=0.648
<b>mfi HLA-DR 14dim16+</b>	r = 0,323 p=0,048

W badanej subpopulacji obliczono wartość dodatnich wyników prokalcytoniny w grupie noworodków bez infekcji o wczesnym początku oraz tych, u których do takiego zakażenia doszło. Obliczenia graficznie przedstawiono na rycinie 19. Duży odsetek podniesionego stężenia prokalcytoniny w grupie noworodków z wrodzona infekcją, a mała ilość wyników dodatnich w grupie noworodków bez zakażenia sugerują, że przy większej liczebności grupy możliwe byłoby dowiedzenie statystycznie istotnej różnicy w stężeniu prokalcytoniny wśród noworodków z infekcją i bez infekcji.



**Ryc. 19. Ilość wyników badania stężenia prokalcytoniny sugerującego zakażenie o wczesnym początku w grupie noworodków bez infekcji oraz z infekcją o wczesnym początku**

## 5. Dyskusja

W badanej grupie 264 noworodków, u których wykluczono infekcję o wczesnym początku, oznaczone w pierwszych 12 godzinach życia średnie stężenie prokalcytoniny wynosiło  $2.06 \pm 3.9$  ng/ml. Dla otrzymanych przeze mnie wyników można znaleźć potwierdzenie w publikacjach, udostępniających rezultaty badań, w których zaobserwowano wyższy od stwierdzanego u zdrowych dorosłych poziom tego markera w surowicy noworodków w pierwszych 72 godzinach życia. Z dokonanego przeze mnie przeglądu badań, w większości stężenie prokalcytoniny w surowicy noworodków mierzone bezpośrednio po urodzeniu jest niskie – zbliżone do wartości obserwowanych u zdrowych dorosłych:  $<0.01-0.35$  ng/ml. [74, 83, 161, 162, 163] Następnie, w pierwszych 48 godzinach życia stężenie to narasta. W cytowanych powyżej pracach różnią się znacznie zarówno maksymalne wartości stężeń prokalcytoniny w surowicy noworodków, jak również czas po urodzeniu, w jakim dochodzi do osiągnięcia tych wartości. W badaniach własnych dokonywałam oznaczeń stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodków do 12 godziny po urodzeniu. Średnie jej stężenie, jakie stwierdziłam, jest zbliżone do danych Marchini G. i wsp. [74] oraz Chiesa C. i wsp. [161]. Natomiast Koskenvuo M.M. i wsp. [165] oraz Sachse Ch. i wsp. [166] oznaczając stężenia tego markera w surowicy w pierwszych 12 godzinach życia otrzymali wartości zbliżone do wartości prawidłowych dla zdrowych dorosłych osób. W części prac [161, 162, 165, 166] wartości maksymalne, zbliżone do otrzymanych przeze mnie stwierdzano dopiero około 24 godziny życia. Z kolei Marchini G. i wsp. [74] wykazali, iż średnie stężenie prokalcytoniny w 24 godzinie życia noworodków znajduje się w granicach normy dla zdrowych dorosłych osób. Wydaje się, że wzrost stężenia prokalcytoniny w surowicy zdrowych

noworodków w pierwszych dniach po urodzeniu jest już dobrze udokumentowany. Dalszych badań wymaga określenie zakresu wartości maksymalnych stężeń tego markera w pierwszych dwóch dobach po urodzeniu. Duża zmienność otrzymywanych wyników może być związana z różnicami wieku ciążowego, masy ciała oraz czynników ryzyka zakażenia badanych noworodków w poszczególnych analizach.

W badaniach własnych nie stwierdziłam zależności pomiędzy wartością stężeń prokalcytoniny w surowicy noworodków w pierwszych 12 godzinach życia a urodzeniową masą ciała jak również dojrzałością dziecka. Wynik ten jest zgodny z rezultatami prac Chiesa C. i wsp. [161], Gendrel D. i wsp. [168], Monneret G. i wsp. [169] oraz Guibourdenche J. i wsp. [170]. Stoi on natomiast w sprzeczności z badaniami Janota J. i wsp. [171] oraz Turner D. i wsp. [172]. Wyniki ich analiz udowadniają, iż stężenie prokalcytoniny w surowicy dzieci przedwcześnie urodzonych, bez infekcji wrodzonej, może osiągać podwyższone wartości nieco później niż u noworodków donoszonych. Dodatkowo stężenie prokalcytoniny u wcześniaków może być niższe od stwierdzanego w tym samym okresie życia u donoszonych noworodków. Natomiast powrót do wartości powszechnie uznawanych za normę jest u niedonoszonych dzieci opóźniony w porównaniu do obserwowanego u noworodków urodzonych pomiędzy 37 a 40 tygodniem ciąży. Różnice dotyczące czasu utrzymywania się podwyższonych wartości prokalcytoniny, a także poziomów osiąganym stężeń autorzy tłumaczą niedojrzałym układem immunologicznym wcześniaków. Z kolei za wolniejszy powrót do wartości prawidłowych stężenia prokalcytoniny w surowicy odpowiedzialne mogą być niedojrzałe mechanizmy wydalnicze noworodków przedwcześnie urodzonych. Wśród pacjentów kwalifikowanych przeze mnie do badania znajdowały się noworodki urodzone po różnym czasie trwania ciąży. Jednakże jednorazowe

oznaczenie stężenia prokalcytoniny w surowicy jakiego dokonałam w pierwszych 12 godzinach życia, nie pozwalało na analizę dynamiki narastania stężenia tego markera i porównanie wyników z rezultatami cytowanych powyżej prac.

Próbując odpowiedzieć na pytanie, czy istnieją czynniki, które mogłyby spowodować wzrost stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodka po urodzeniu, przeanalizowałam powikłania ciąży, porodu oraz nieinfekcyjne stany patologii noworodka mogące mieć wpływ na poziom tego markera.

W uzyskanych wynikach nie znalazłam zależności pomiędzy cukrzycą ciężarnych a stężeniem prokalcytoniny w surowicy noworodka w pierwszych 12 godzinach życia, co jest zgodne z wynikami Assuma M. i wsp. [162]. Wpływ cukrzycy u matki na wzrost stężenia prokalcytoniny u noworodka po urodzeniu wykazali natomiast w swej pracy Chiesa C. i wsp. [161]. Różnice w otrzymanych rezultatach wynikać mogą z odmiennego stadium zaawansowania tej choroby u matek badanych pacjentów. Autorzy obydwu prac nie dokonali jednak podziału według stopnia ciężkości cukrzycy, który umożliwiłby wyciągnięcie takiego wniosku.

Nie stwierdziłam również zależności pomiędzy występowaniem nadciśnienia tętniczego u matki w ciąży a podwyższonym stężeniem prokalcytoniny w pierwszych 12 godzinach życia w surowicy noworodka. Moje wyniki potwierdzają wspomnianą już wyżej analizę Assuma M. i wsp. [162], którzy również stwierdzili, że nadciśnienie tętnicze u matki w ciąży nie wpływa na stężenie prokalcytoniny u noworodka po urodzeniu. Rezultaty moich badań stoją natomiast w sprzeczności z badaniem Chiesa C. i wsp. [161], którzy udowodnili, że stan przedrzucawkowy u matki powoduje wzrost stężenia prokalcytoniny w surowicy krwi noworodka w pierwszych 24–48 godzinach życia. Na

dynamikę narastania stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodka po urodzeniu, może mieć więc wpływ stadium zaawansowania nadciśnienia w ciąży. W przeciwieństwie do Chiesa C. i wsp. [161], Assuma M. i wsp. [162] nie precyzują w swojej pracy stopnia ciężkości nadciśnienia indukowanego ciążą.

W moich badaniach nie wykazałam zależności pomiędzy przedwczesnym odpłynięciem płynu owodniowego, zabiegami wymagającymi naruszenia ciągłości worka owodniowego (amniopunkcjami diagnostycznymi, które wykonywano w celu amnioredukcji, amnioinfuzji bądź przeprowadzenia zabiegów chirurgicznych u płodu) a stężeniem prokalcytoniny w surowicy noworodka po urodzeniu. Nie stwierdziłam również, aby infekcje bakteryjne dróg rodnych przebyte przez matkę w ciąży wpływały na stężenie prokalcytoniny w surowicy noworodka po urodzeniu. Uzyskane wyniki zgadzają się z danymi Chiesa C. i wsp. [161] oraz Martin-Denavit T. i wsp. [167], którzy tak jak ja nie stwierdzili zależności pomiędzy przedwczesnym pęknięciem błon płodowych ani nosicielstwem paciorkowca z grupy B u matek a wzrostem stężenia prokalcytoniny u noworodków po urodzeniu. Wyniki moich badań pozostają natomiast w sprzeczności z rezultatami badań Assuma M. i wsp. [162], którzy wykazali zależność pomiędzy przedwczesnym pęknięciem błon płodowych trwającym dłużej niż 18 godzin do momentu porodu oraz nosicielstwem paciorkowca grupy B przez ciężarne w drogach rodnych a podniesionym stężeniem prokalcytoniny u dziecka po urodzeniu. W większości badań, w których oceniano zależność pomiędzy wystąpieniem przed porodem zapalenia błon płodowych a stężeniem prokalcytoniny u noworodków, potwierdzono jego wpływ na wzrost stężenia powyższego markera w surowicy noworodków, u których jednocześnie wykluczono sepsę o wczesnym

początku. [161, 163, 171] Można przypuszczać, że w niektórych przypadkach przedwczesnego odpłynięcia płynu owodniowego bądź też infekcji w drogach rodnych kobiety ciężarnej, u płodu dochodzi do klinicznie bezobjawowego stanu zapalnego, co objawia się większym stężeniem prokalcytoniny w surowicy noworodka po urodzeniu. Z kolei bardziej dokładne monitorowanie ciąż powikłanych przedwczesnym pęknięciem błon płodowych i w związku z tym częstsza w tych przypadkach podaż antybiotyków ciężarnym pozwala zapobiec lub ograniczyć rozwój stanu zapalnego u dziecka. Być może dlatego u tych noworodków w pierwszych dobach po urodzeniu stężenie prokalcytoniny nie różni się od obserwowanego u dzieci tych matek, u których nie stwierdzano przedwczesnego odpłynięcia płynu owodniowego.

W swoich badaniach nie stwierdziłam statystycznie istotnie wyższych wartości stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodków z zespołem zaburzeń oddychania, urodzonych w zamartwicy oraz z urazami okołoporodowymi. Podobnie takich zależności pomiędzy niedotlenieniem okołoporodowym a stężeniem prokalcytoniny nie stwierdzili Assuma M. i wsp. [162] Również Chiesa C. i wsp. [161] nie udowodnili większego wzrostu stężenia prokalcytoniny w pierwszych 48 godzinach życia u noworodków z różnymi przyczynami niewydolności oddechowej (z zespołem zaburzeń oddychania, zespołem zachłyśnięcia smółką, przejściowym przyspieszeniem oddechów noworodków, odną opłucnową). Takiej zależności nie stwierdzili oni również w przypadku niedotlenienia okołoporodowego. Jak wnioskowali Monneret G. i wsp. [175] wzrost stężenia prokalcytoniny po urodzeniu może być powodowany przez niedotlenienie, które jest przyczyną wielu stanów patologii okresu noworodkowego. Odmienne od moich rezultaty powyżej przytaczanych prac wynikać mogą z faktu, że najczęściej do

stwierdzanego większego wzrostu stężenia prokalcytoniny w surowicy krwi noworodków dochodziło nie bezpośrednio po urodzeniu, ale po 24 godzinie życia. [83, 163, 173, 174, 175] Moja analiza dotyczyła pierwszych 12 godzin życia, kiedy do takiego wzrostu mogło jeszcze nie dojść.

W badaniach wykazałam ujemną korelację pomiędzy stężeniem prokalcytoniny w surowicy a poziomem wapnia zarówno całkowitego, jak i zjonizowanego. Współczynnik korelacji liniowej Pearsona wynosił  $-0.214$  ( $p=0.01$ ) dla wapnia całkowitego oraz  $-0.297$  ( $p<0.01$ ) dla wapnia zjonizowanego. Ta zależność wystąpiła tylko w grupie pierwszej, czyli u noworodków, u których nie stwierdziłam sepsy. Rezultaty mojego badania zgadzają się z badaniem Steinwald P.M. i wsp. [123], w którym wykazano, że poziomy wapnia i fosforanów we krwi ulegają obniżeniu w przebiegu sepsy i istotnie korelują z podwyższonymi wartościami stężeń prokalcytoniny. O ile powyższe korelacje pomiędzy stężeniem wapnia i prokalcytoniną występuje u pacjentów z sepsą, to zanotowanie jej w grupie pacjentów bez zakażenia uogólnionego, sugeruje potencjalną rolę prokalcytoniny w gospodarce wapniowo-fosforanowej. Problem ten wymaga dalszych badań.

Wartość prokalcytoniny jako markera w diagnostyce sepsy o wczesnym początku w okresie noworodkowym pozostaje przedmiotem dyskusji. Idealny marker zakażenia powinien mieć dobrze zdefiniowany punkt odcięcia, powyżej którego rozpoznajemy infekcję, a także wyższą od 75% czułość. Jego swoistość powinna wynosić powyżej 85%. Dodatnia wartość predykcyjna powinna kształtować się około 85%, a ujemna 100%. Dodatkowo oznaczenie tego markera musi być łatwo dostępne oraz względnie tanie.

W przypadku prokalcytoniny otrzymane przeze mnie dla grupy III wartości czułości – na poziomie 86.36%, swoistości – na poziomie



89.77%, wartości predykcyjnej ujemnej – na poziomie 98.75% są zbliżone do podanych dla markera idealnego. Od tych wyników znacznie odbiega natomiast dodatnia wartość predykcyjna wynosząca 41.3 %. Natomiast, chociaż czułość wynosząca w grupie IV sepsy potwierdzonej bakteriologicznie – 57.14%, a dodatnia wartość predykcyjna – 22.22% są niższe od oczekiwanych, to stwierdza się wysoką wartość swoistości – 89.47% oraz ujemnej wartości predykcyjnej – 97.54%. Otrzymane dane pozwalają uznać oznaczenie stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodka w pierwszych 12 godzinach życia za wartościowe w diagnostyce sepsy noworodkowej oraz zespołu septycznego o wczesnym początku. Jest to zgodne z wynikami uzyskanymi przez Chiesa C. i wsp. [83, 161], którzy pozytywnie ocenili przydatność tego testu w diagnostyce sepsy noworodkowej o wczesnym początku. Za wartościowy marker wrodzonej sepsy prokalcytoninę uznali także Lopez Sastre J.B. i wsp. [163]. Czułość tego markera dla wyznaczonej wartości punktu odcięcia wynosiła 75.4%, zaś swoistość 72.3%. Z kolei Joram N. i wsp. [164] oznaczając stężenie prokalcytoniny we krwi pępowinowej u 197 noworodków otrzymali wysokie wartości czułości i swoistości, które wynosiły odpowiednio 87.5% oraz 98.7%. Janota J. i wsp. [171] oceniali wpływ zapalenia błon owodniowych oraz sepsy występującej w okresie noworodkowym na wartość stężenia prokalcytoniny w surowicy krwi w pierwszym tygodniu życia noworodka. Średnie stężenie prokalcytoniny w grupie chorych z sepsą wyniosło 8.41 ng/ml i było znacząco wyższe od średniego stężenia tego markera wynoszącego 3.02 ng/ml oznaczonego w surowicy noworodków bez infekcji. Resch B. i wsp. [67] zbadali stężenia prokalcytoniny otrzymując 77% czułość i 91% swoistość dla tego oznaczenia. Ostrożność w interpretacji wyniku oznaczenia prokalcytoniny w pierwszych 10 dniach życia zalecali Lapillone A. i wsp. [174]. Określili oni w swoim badaniu 84% czułość i

tylko 50% swoistość oznaczenia tego markera w diagnostyce sepsy u noworodka. Podobną niską swoistość otrzymał Koskenvuo M.M. i wsp. [165] Niską przydatność oznaczenia stężenia prokalcytoniny w diagnostyce wrodzonej sepsy noworodkowej sugerowali Monneret G. i wsp [175] oraz Franz A.R. i wsp. [176].

Różnice dotyczące czułości i swoistości w rozpoznaniu sepsy noworodkowej mogą wynikać z odmienności badanych populacji zarówno pod względem wieku płodowego, masy urodzeniowej, jak i powikłań w czasie ciąży lub w okresie pierwszych czterech tygodni życia dziecka. Grupa pacjentów, u których wykonywałam pomiar stężenia prokalcytoniny, obejmowała noworodki przyjmowane po urodzeniu do Oddziałów Intensywnej Terapii. Były to zarówno dzieci z czynnikami ryzyka rozwoju zakażenia, jak i pacjenci z nieinfekcyjnymi jednostkami chorobowymi okresu noworodkowego. Taki dobór badanych pozwolił otrzymać wiarygodne wyniki dla tych pacjentów, którzy wymagają diagnostyki różnicowej w kierunku zakażenia o wczesnym początku. Podwyższone stężenie prokalcytoniny w surowicy występujące w pierwszych 48 godzinach życia, które stwierdza się u zdrowych, donoszonych noworodków, urodzonych o czasie, jest głównym powodem, dla którego wartość oznaczania prokalcytoniny w diagnostyce zakażenia w tym okresie życia, jest poddawana w wątpliwość. Wielu autorów podkreśla wzrost czułości i specyficzności tego markera w diagnostyce sepsy u noworodków wraz z upływem czasu po urodzeniu. [171] Wydaje się jednak, że oznaczenie tego markera w pierwszych 12 godzinach życia, przed osiągnięciem fizjologicznych, maksymalnych wartości, przypadającym na przełom 1 i 2 doby życia, może ułatwiać rozpoznanie wrodzonego zakażenia uogólnionego u noworodków. Na taką możliwość zwracali już uwagę Joram N. i wsp. [164], którzy dokonywali oznaczeń prokalcytoniny we krwi

pępowinowej. Z kolei dokonanie tylko pojedynczego oznaczenia w tak wczesnym okresie życia daje zwykle pewien odsetek wyników fałszywie ujemnych, przede wszystkim u tych noworodków, u których do zakażenia doszło nie w czasie ciąży, ale w trakcie porodu lub bezpośrednio po urodzeniu.

W pracy uzyskałam nieco tylko wyższą średnią wartość stężenia prokalcytoniny w surowicy pacjentów z rozpoznaniem wrodzonym zapaleniem płuc w porównaniu do średniej wartości stężenia tego markera w surowicy noworodków bez chorób infekcyjnych. Wyniki te potwierdzają rezultaty badań wykazujących tylko nieznaczny wzrost stężenia prokalcytoniny w surowicy krwi zarówno w infekcyjnych, jak i w nieinfekcyjnych chorobach płuc. Potwierdza to ograniczoną przydatność prokalcytoniny w diagnozowaniu zapaleń płuc również u dorosłych. [122, 136, 137, 184] Jedynie w populacji pacjentów dorosłych z ciężkimi zapaleniami płuc badanej przez Brunkhorst F.M. i wsp. [137] w pojedynczych przypadkach stężenia prokalcytoniny przekraczały wartości 60 ng/ml osiągając nawet maksymalne stężenia równe 258 ng/ml. W przypadku dzieci starszych [181, 182] nie stwierdzano przydatności oznaczania prokalcytoniny zarówno do diagnozowania zapalenia płuc, jak i w różnicowaniu etiologii i rodzaju zapalenia. Także w badaniu przeprowadzonym wśród wcześniaków z wrodzonym zapaleniem płuc Lachowska M. i wsp. [185] wykazali małą przydatność prokalcytoniny w diagnostyce tej jednostki chorobowej. Rezultaty mojej pracy pozostają w sprzeczności z wynikami pojedynczych prac wskazujących na przydatność oznaczenia stężenia prokalcytoniny w zapaleniach płuc. Masia M. i wsp. [138] uzyskali w grupie pacjentów dorosłych z zewnątrzszpitalnym zapaleniem płuc statystycznie istotnie wyższe wartości tego markera w przypadku powikłań oraz zgonu w przebiegu choroby. Z kolei Moulin F. i wsp.

[183] wykazali możliwość różnicowania etiologii zapalenia płuc u dzieci na podstawie oznaczenia stężenia prokalcytoniny. Podwyższenie wartości stężenia prokalcytoniny w surowicy krwi w zapaleniu płuc może wynikać z pobudzenia jej produkcji w makrofagach płucnych. Jednakże znaczna zmienność stężenia prokalcytoniny w pierwszych dobach życia po urodzeniu oraz tylko niewielki wzrost stężenia w przypadku wrodzonych infekcji płucnych powodują, że oznaczenia stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodków w diagnostyce tej jednostki chorobowej nie jest przydatne

Obliczone przeze mnie średnie wartości stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodków z sepsą spowodowaną Gram-ujemną florą bakteryjną były wyższe niż u noworodków z sepsą wywołaną bakteriami Gram-dodatnimi, aczkolwiek różnica nie była istotnie statystycznie znamienne. Mała liczebność grupy nie pozwoliła mi na dokonanie obliczeń statystycznych. Jak dotąd niewiele wiadomo na temat zależności pomiędzy stężeniem prokalcytoniny w surowicy, a rodzajem bakterii wywołujących sepsę. Chiesa C. i wsp. [161] w pracy, która dotyczyła wiarygodności oznaczania stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodków z podejrzeniem infekcji, wykazali wysokie wartości stężeń prokalcytoniny (>10ng/ml) u 5 pacjentów z sepsą wywołaną *Escherichią coli* oraz u 2 pacjentów z infekcją *Ureaplasma urealiticum*. U pozostałych siedmiorga pacjentów z sepsą spowodowaną bakteriami Gram-dodatnimi wysokie wartości stężenia tego markera stwierdzano tylko u 3 chorych. Autorzy przytoczonej pracy nie analizowali statystycznie ewentualnej zależności pomiędzy wartością prokalcytoniny a etiologią sepsy. Wyższe poziomy stężeń prokalcytoniny w przypadku infekcji o etiologii Gram-ujemnej wynikać mogą między innymi: z obecności lipopolisacharydu – elementu ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych, będącego najsilniejszym

stymulatorem wydzielania prokalcytoniny oraz z bardziej nasilonego odczynu zapalnego oraz większej produkcji cytokin w przypadku sepsy o tej etiologii.

W badaniach nie stwierdziłam statystycznie istotnych różnic w stężeniu prokalcytoniny wśród pacjentów z powikłaniami w przebiegu sepsy. Za powikłania uznałam wystąpienie w przebiegu sepsy wstrząsu septycznego, zespołu uszkodzenia wielonarządowego oraz zgonu z powodu powikłań septycznych. U dorosłych pacjentów chorujących na sepsę stwierdzono korelację pomiędzy wyższym stężeniem prokalcytoniny a ciężkimi jej postaciami zdefiniowanymi przez ACCP/SCCM (American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine) [17, 78, 150, 151]. W przeciwieństwie do dość licznych opracowań dla dorosłych pacjentów, niewiele jest analiz dotyczących zagadnienia zależności pomiędzy ciężkością przebiegu sepsy a stężeniem prokalcytoniny u dzieci. Wydaje się jednak, że również w przypadku pacjentów pediatrycznych prokalcytonina jest ważnym markerem określającym prawdopodobieństwo wystąpienia powikłań w przebiegu infekcji uogólnionej oraz umożliwiającym ustalenie rokowania. [186] Nie ma natomiast opracowań dotyczących podobnych zależności u noworodków. Spośród licznych prac dotyczących problemu przydatności oznaczenia stężenia prokalcytoniny w diagnostyce sepsy noworodkowej o wczesnym początku, jedynie Monneret G. i wsp. [169] sugerują, że stężenie prokalcytoniny w surowicy noworodka odpowiada aktywności choroby. Niedostatek opracowań dotyczących ewentualnego istnienia w okresie noworodkowym takiej zależności wynikać może z braku dokładnie zdefiniowanych kryteriów sepsy okresu noworodkowego. Dodatkowo problemem jest znalezienie takiego punktu odcięcia dla stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodków, przy którym zwiększałaby się częstość powikłań sepsy. Już u dorosłych

pacjentów wartości stężenia prokalcytoniny w surowicy krwi, przy których dochodzi do pogorszenia rokowania, różnią się znacznie w poszczególnych publikacjach: od wartości nieznacznie podniesionych wynoszących 1.6 ng/ml [150], do zdecydowanie przekraczających wartości prawidłowe: 6 ng/ml [187] a nawet >10 ng/ml [149]. U noworodków znalezienie takiego punktu odcięcia dodatkowo komplikuje zmienność stężeń prokalcytoniny w surowicy w pierwszych dobach życia. W swojej pracy nie wykazałam, aby pojedyncze oznaczenia stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodków w pierwszych 12 godzinach życia było dobrym czynnikiem predykcyjnym wystąpienia powikłań sepsy. Opierając się na wynikach prac u osób dorosłych, można przypuszczać, że dopiero kilkakrotne oznaczenie stężenia prokalcytoniny i wyznaczenie jej kinetyki może być podstawą przewidywania przebiegu klinicznego sepsy. [155]

Powszechnie uważa się, że w rozpoznawaniu sepsy oznaczenie prokalcytoniny ma większą wartość diagnostyczną, niż badane dotychczas markery stanu zapalnego takie jak na przykład liczba leukocytów, płytek krwi lub stężenia białka C-reaktywnego.

W swojej pracy potwierdziłam wyższą czułość pomiaru stężenia prokalcytoniny w porównaniu do oznaczenia liczby leukocytów w diagnostyce zarówno zespołu septycznego (grupa III), jak i sepsy potwierdzonej bakteriologicznie (grupa IV). Różnice te były statystycznie istotne (dla grupy III  $p < 0.001$ , dla grupy IV  $p = 0.032$ ). Podobne wyniki otrzymali Distefano G. i wsp. [178] oraz Sakha K. i wsp. [179] Z kolei Berger Ch. i wsp. [54] porównując czułość oznaczeń białka C-reaktywnego i białych krwinek w diagnostyce sepsy u noworodków stwierdzili, że leukopenia występująca u noworodka po urodzeniu pozwala rozpoznać sepsę z 67% czułością oraz 90% swoistością. Według Varsha R.U. i wsp. [188] neutropenia, leukopenia,

podniesione wartości odsetkowe młodych form neutrofilii wspólnie z CRP były dobrymi testami do diagnozy sepsy w pierwszych trzech dniach życia. Natomiast Nigro K.G. i wsp. [189] w badaniach przydatności oznaczania leukocytów w sepsie wykazali niską specyficzność tego badania. Według Da Silva O. i wsp. [53] różnice czułości i specyficzności tego parametru w diagnostyce infekcji uogólnionej u noworodka różnią się bardzo znacznie w badaniach dotyczących sepsy okresu noworodkowego i wynoszą od 17–90% dla czułości oraz 31–100% dla specyficzności. Tak znaczne odmienności wynikać mogą z wpływu wielu nieinfekcyjnych czynników na liczbę leukocytów we krwi obwodowej u noworodka. [19, 55, 56, 57] Liczne czynniki, które wpływają na ilość leukocytów we krwi obwodowej noworodka, w znacznym stopniu czynią ten parametr mało wartościowym w diagnostyce sepsy noworodkowej o wczesnym początku.

W pracy wykazałam większą czułość prokalcytoniny w porównaniu do oznaczenia liczby płytek krwi w wykrywaniu zespołu septycznego (grupa III) oraz sepsy potwierdzonej dodatnim wynikiem badania bakteriologicznego (grupa IV). Zależność ta była statystycznie istotna (grupa III –  $p < 0.001$ , grupa IV –  $p = 0.013$ ). Uzyskane przeze mnie dane są zgodne z wynikami Sakha K. i wsp. [179], którzy nie znaleźli statystycznie istotnej różnicy w liczbie płytek we krwi u noworodków z sepsą w porównaniu do noworodków bez zakażenia. Spadek liczby płytek jest podawany jako późny objaw sepsy o bardzo ciężkim przebiegu.

Czułość oznaczeń stężenia białka C-reaktywnego w rozpoznaniu sepsy wyliczona na podstawie uzyskanych przeze mnie wyników była niższa w porównaniu do czułości oznaczeń prokalcytoniny. Dotyczyło to zarówno noworodków z zespołem septycznym (grupa III), jak i sepsą

potwierdzoną bakteriologicznie (grupa IV). Zależność ta jednak nie była istotna statystycznie (dla grupy III  $p=0.135$ , dla grupy IV  $p=0.086$ ). Podobnie wyższą czułość i specyficzność dla oznaczenia prokalcytoniny w porównaniu do pomiaru białka C-reaktywnego w sepsie noworodkowej o wczesnym początku stwierdzała większość autorów. [67, 83, 168, 169] Czułość oznaczeń białka C-reaktywnego w diagnostyce sepsy zależy od momentu, w którym badanie zostało wykonane i jest mniejsza na początku zachorowania, natomiast rośnie wraz z upływem czasu. [161, 173] Pojedyncze oznaczenie tego parametru wykonane przez mnie pierwszych 12 godzinach życia noworodka wykazało, że jego czułość w diagnostyce sepsy o wczesnym początku jest niższa od oznaczenia prokalcytoniny. Można przypuszczać, że kolejne oznaczenia CRP byłyby bardziej przydatne w rozpoznawaniu sepsy. Skoro jednak wczesne rozpoczęcie leczenia w przypadku sepsy występującej w okresie noworodkowym może stanowić o jego powodzeniu, prokalcytonina, wzrost stężenia, której występuje wcześniej w przypadku bakteryjnej infekcji uogólnionej, jest bardziej wartościowym od CRP markerem tego schorzenia.

Czułość oznaczenia prokalcytoniny w diagnostyce zakażenia o wczesnym początku w porównaniu do czułości pozostałych oznaczanych parametrów wspólnie była wyższa, aczkolwiek wynik ten nie był statystycznie istotnie znamienne. Oznaczenie stężenia prokalcytoniny wspólnie z oceną wszystkich badanych przez mnie pozostałych parametrów nie zwiększyło istotnie czułości oznaczenia samej prokalcytoniny w diagnostyce zarówno zespołu septycznego (grupa III) jak również sepsy potwierdzonej dodatnim wynikiem badania bakteriologicznego (grupa IV). Wyniki mojej pracy zgadzają się z rezultatami Resch B. i wsp. [67], którzy nie stwierdzili, aby oznaczenie



wspólnie prokalcytoniny i CRP zwiększało czułość tego pierwszego markera w sepsie wczesnej okresu noworodkowego.

W swojej pracy nie stwierdziłam zależności pomiędzy zwiększeniem ilości monocytów z ekspresją antygenów CD14 oraz CD16 oraz zmniejszoną prezentacją HLA-DR na tej linii komórkowej i wystąpieniem uogólnionego zakażenia wrodzonego. W przypadku HLA-DR występowała nieco zwiększona ekspresja tej cząstki na monocytach. Nie stwierdziłam również statystycznie istotnej zależności pomiędzy ekspresją antygenów CD14, CD16 oraz HLA-DR na monocytach, a stężeniem prokalcytoniny. Moje wyniki stoją w sprzeczności z danymi opublikowanymi przez Krzeczyńską J. i wsp. [94] Jednakże dokładne porównanie tych dwóch prac nie jest możliwe ze względu na odmienną badanych grup. W badaniu przeprowadzonym przez Krzeczyńską J. i wsp. dyskutowany parametr oznaczano u noworodków hospitalizowanych z przyczyn chirurgicznych. W tej grupie pacjentów nie było przypadków sepsy noworodkowej o wczesnym początku. Przydatność oznaczenia ekspresji antygenów CD14 i CD16 na monocytach we krwi noworodków w pierwszych 3-ch dobach życia w diagnostyce sepsy stwierdzili El-Gamal Y.M.E. i wsp. [96] Ocena ilości monocytów CD14+CD16+, a także ekspresji HLA-DR na monocytach jest przydatna według większości autorów – do monitorowania pacjentów dorosłych, u których występuje zwiększone ryzyko sepsy. [95] Być może odmienne, od większości opublikowanych danych, rezultaty mojej pracy wynikają z pobrania próbki krwi we wczesnym okresie życia. Przyczyną może też być niska liczebność badanej grupy.

Podsumowując wyniki badań należy stwierdzić, że stężenie prokalcytoniny w surowicy noworodków bez infekcji wrodzonej, w pierwszych 12 godzinach życia jest wyższe od stwierdzanego u zdrowych dorosłych osób. Na wartość stężenia prokalcytoniny nie mają

wpływu wiek ciążowy, masa urodzeniowa ani następujące powikłania w przebiegu ciąży: cukrzyca i nadciśnienie tętnicze, infekcje dróg rodnych oraz nosicielstwo paciorkowca grupy B u matki czy przedwczesne odpłynięcie płynu owodniowego. Moje badania udowodniły również brak zależności pomiędzy występowaniem zespołu zaburzeń oddychania, niedotlenienia okołoporodowego oraz urazów okołoporodowych a stężeniem prokalcytoniny w surowicy krwi noworodka w pierwszych 12 godzinach życia. Wykazałam ujemną korelację pomiędzy stężeniem prokalcytoniny a stężeniem wapnia całkowitego i zjonizowanego w surowicy noworodków bez infekcji. Oznaczenia prokalcytoniny w surowicy noworodków w tym okresie życia odgrywają istotną rolę w diagnostyce sepsy o wczesnym początku, będąc markerem czułym i swoistym. We wrodzonym zapaleniu płuc nie obserwuje się podniesionych stężeń prokalcytoniny w surowicy. Wyższe stężenie prokalcytoniny stwierdziłam w przypadku sepsy o etiologii Gram-ujemnej, jednakże zależność ta nie była statystycznie istotna, co prawdopodobnie spowodowane było niską liczebnością grupy badanej. Nie stwierdziłam natomiast zależności pomiędzy stężeniem prokalcytoniny a wystąpieniem takich powikłań w przebiegu sepsy jak uszkodzenie wielonarządowe, wstrząs septyczny oraz zgon z powodu powikłań septycznych. Wykazałam większą czułość i specyficzność oznaczenia stężenia prokalcytoniny w diagnostyce sepsy wrodzonej w porównaniu do takich badań jak oznaczenie liczba leukocytów, płytek krwi oraz poziomu białka C-reaktywnego w surowicy. Jednakże istotną statystycznie przewagę oznaczenia prokalcytoniny wykazałam tylko w porównaniu do liczby leukocytów i płytek krwi. W przypadku białka C-reaktywnego różnice te nie były statystycznie istotne. Nie wykazałam istotnej wartości oznaczania takich parametrów jak ekspresja antygenów

CD14 i CD16 oraz HLA-DR na monocytach krwi obwodowej w diagnostyce sepsy wczesnej u noworodków.

#### Wnioski:

1. Stężenie prokalcytoniny oznaczone w ciągu pierwszych 12 godzin życia w surowicy noworodków, u których wykluczono sepsę wrodzoną jest wyższe od stwierdzanego u zdrowych dorosłych osób.
2. Na wartość stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodka po urodzeniu nie ma wpływu wiek płodowy, masa urodzeniowa ani takie powikłania ciąży jak cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, infekcje dróg rodnych oraz nosicielstwo paciorkowca grupy B, a także przedwczesne odpłynięcie płynu owodniowego. Zespół zaburzeń oddychania, niedotlenienie okołoporodowe oraz urazy okołoporodowe również nie wpływają na stężenie prokalcytoniny w surowicy krwi noworodka w pierwszych 12 godzinach życia. U noworodków bez infekcji wrodzonej istnieje ujemna korelacja pomiędzy stężeniem prokalcytoniny a stężeniem wapnia całkowitego jak i zjonizowanego w surowicy.
3. Oznaczenie prokalcytoniny w surowicy krwi noworodków w pierwszych 12 godzinach życia odgrywa istotną rolę w diagnostyce sepsy oraz zespołu septycznego o wczesnym początku, będąc markerem czułym i swoistym. Brak jest wzrostu stężenia prokalcytoniny we wrodzonym zapaleniu płuc.
4. Wyższe stężenie prokalcytoniny w surowicy występuje w przypadku sepsy o etiologii Gram ujemnej, zależność ta jednak nie jest statystycznie istotna.
5. W sepsie o wczesnym początku jednorazowe oznaczenie stężenia prokalcytoniny, nie pozwala określić ciężkości przebiegu sepsy oraz wystąpienia jej powikłań takich jak uszkodzenie wielonarządowe, wstrząs septyczny oraz zgon.

6. W porównaniu do liczby leukocytów, płytek we krwi obwodowej oraz poziomu białka C-reaktywnego w surowicy prokalcytonina jest u noworodków markerem bardziej czułym i specyficznym w diagnostyce zakażeń o wczesnym początku.
7. Jednorazowe oznaczenie ekspresji antygenów CD14 i CD16 oraz HLA-DR na monocytach krwi obwodowej w pierwszych 12 godzinach życia nie ma znaczenia diagnostycznego w sepsie o wczesnym początku.

## 6. Streszczenie

Sepsa u noworodków jest znaczącym problemem w Oddziałach Neonatologicznych. Śmiertelność w jej przebiegu może sięgać 70%. Początkowo objawy sepsy mogą być niecharakterystyczne, co utrudnia postawienie diagnozy oraz odróżnienie od innych niezakaźnych stanów patologii noworodka. Aby włączone leczenie było skuteczne, rozpoznanie powinno być postawione szybko, co utrudnia brak wystarczająco czułych i specyficznych testów laboratoryjnych. Prokalcytonina została uznana za wiarygodny test w diagnostyce uogólnionej infekcji bakteryjnej u dorosłych i dzieci. Jej wartość diagnostyczna w okresie noworodkowym poddawana jest w wątpliwość ze względu na dużą zmienność jej stężeń w pierwszych 48–72 godzinach życia.

Prowadzone przeze mnie badanie miało na celu ocenę ustalenie zakresów stężeń tego markera w pierwszych 12 godzinach życia u noworodków, u których wykluczono infekcję. Zbadałam czy istnieją czynniki, które mogą wpływać na poziom prokalcytoniny w surowicy noworodka po urodzeniu. Pod uwagę wzięłam wiek ciążowy, masę ciała oraz nieinfekcyjne czynniki wikłające okres ciąży, porodu, a także nie wynikające z zakażenia stany patologii noworodka. Przydatność oznaczenia stężenia prokalcytoniny w diagnostyce wrodzonego o wczesnym początku u noworodka oceniałam poprzez porównanie stężeń prokalcytoniny u noworodków z zakażeniem oraz u tych, u których wykluczyłam infekcję. Oznaczyłam czułość, specyficzność, dodatnią oraz ujemną wartość predykcyjną oznaczenia stężenia PCT w surowicy noworodka w diagnostyce wymienionych powyżej: zapalenia płuc, zespołu septycznego oraz sepsy. Dodatkowym celem pracy było ustalenie, czy stężenie prokalcytoniny w surowicy różnicuje w okresie noworodkowym sepsę o etiologii Gram-dodatniej i Gram-ujemnej. Zbadałam również zależność pomiędzy poziomem PCT w surowicy

noworodka a ciężkością przebiegu sepsy o wczesnym początku. Porównałam wartość diagnostyczną oznaczenia stężenia prokalcytoniny oraz stężenia CRP, liczby leukocytów oraz płytek we krwi obwodowej w diagnostyce sepsy wrodzonej. Określiłam także przydatność oznaczenia ekspresji HLA-DR oraz antygenów CD14 i CD16 na monocytach oraz podjęłam próbę odpowiedzi na pytanie czy istnieje zależność pomiędzy podanymi powyżej parametrami, a stężeniem prokalcytoniny w surowicy u noworodka w pierwszych 12 godzinach życia.

Badanie przeprowadziłam wśród 345 noworodków hospitalizowanych w Oddziale Intensywnej Terapii Noworodka oraz w Oddziale Wcześnieactwa Kliniki Neonatologii Katedry Ginekologii i Położnictwa Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie w latach 2002–2005. W pierwszych 12 godzinach życia noworodków pobierano próbkę krwi celem oznaczenia stężenia prokalcytoniny w surowicy krwi. Noworodki podzielone zostały na 4 grupy w zależności od objawów klinicznych, wyników badań laboratoryjnych oraz mikrobiologicznych. Do grupy I zakwalifikowałam 264 noworodki, u których wykluczyłam infekcję o wczesnym początku. Do grupy II zakwalifikowanych zostało przeze mnie 44 noworodki, u których zdiagnozowane zostało wrodzone zapalenie płuc. Kryterium zakwalifikowania do tej grupy było występowanie w pierwszych 72 godzinach życia zaburzeń oddychania oraz obecność w badaniu radiologicznym klatki piersiowej zmian charakterystycznych dla zapalenia płuc. U 10 z tych dzieci stwierdzono etiologię bakteryjną lub pierwotniakową zapalenia płuc (*Staphylococcus species*, *Escherichia coli*, inne szczepy z rodziny *Enterobacteriaceae*, *Pneumocystis jiroverci*), u 23 noworodków stwierdzono zakażenie *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealiticum* lub *Chlamydia trachomatis*. Do grupy III zakwalifikowałam 23 noworodki z zespołem septycznym. Dzieci te

musiały spełnić następujące kryteria: wystąpienie do 72 godzin po urodzeniu przynajmniej trzech objawów klinicznych (niechęć do ssania, zaleganie treści pokarmowej, wzdęcie brzucha, hipotermia lub hipotermia, tachykardia lub bradykardia, przyspieszenie oddechu powyżej 60 oddechów na minutę lub bezdechy oraz przedłużająca się lub nasilona żółtaczka) i przynajmniej trzech odchyleń mogących wskazywać na zakażenie w badaniach laboratoryjnych (glikemia powyżej 180 mg% lub poniżej 40 mg%, ilość leukocytów we krwi obwodowej powyżej 20 000/ $\mu$ l lub poniżej 4 000/ $\mu$ l, ocena stosunku form młodych do całkowitej liczby neutrofilów (I:T ratio) powyżej 0.2, podniesiony poziom CRP w surowicy krwi, liczba krwinek płytkowych poniżej wartości 100 000/ $\mu$ l). U pacjentów tych pomimo objawów sepsy nie uzyskałam wzrostu patologicznej flory bakteryjnej w badaniu mikrobiologicznym krwi. W 8.7% przypadków w tej grupie stwierdziłam zespół uszkodzenia wielonarządowego, wstrząs septyczny u 34.8% noworodków. Spośród tych dzieci 35.7% zmarło z powodu powikłań septycznych. Do grupy IV włączyłam 14 noworodków z sepsą. Kryterium włączenia było wystąpienie do 72 godzin po urodzeniu przynajmniej trzech objawów klinicznych oraz trzech dodatnich wyników badań laboratoryjnych spośród wymienionych powyżej oraz dodatni wynik badania bakteriologicznego krwi w tym okresie życia. Zespół uszkodzenia wielonarządowego stwierdziłam w tej grupie w 21.4% przypadków, wstrząs septyczny u 64.3% pacjentów, a 35.7% noworodków zmarło z przyczyn infekcyjnych. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy poszczególnymi grupami, pod względem urodzeniowej masy ciała, dojrzałości noworodka oraz powikłań okresu ciąży oraz porodu.

W podgrupie 41 noworodków, poza zbadaniem stężenia prokalcytoniny w surowicy w pierwszych 12 godzinach życia,

dokonałam również oznaczenia poziomu ekspresji antygenów CD14 i CD16 oraz HLA-DR na monocytach krwi obwodowej. W tej grupie u 35 noworodków nie wystąpiła infekcja o wczesnym początku, u 4 zdiagnozowano zespół septyczny, a u 2 sepsę o wczesnym początku.

Do pomiaru stężenia prokalcytoniny w surowicy użyto metody immunoluminometrycznej w zestawie Brahms PCT LIA kit. Test przeprowadzono zgodnie z zaleceniami producenta. Odwirowane próbki 20 ul osocza były mrożone w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$ , jeśli oznaczenia nie wykonywano natychmiast.

Oznaczenie ekspresji HLA-DR, oraz antygenów CD14 i CD16 na monocytach dokonano metodą fluorescencyjną w cytofluorometrze przepływowym FACScan. Próbkę krwi pobierano do heparynizowanych probówek, transportowano na lodzie, oznaczenia dokonywano do 2-ch godzin po pobraniu.

Oprócz wymienionych wyżej oznaczeń badania, które zlecano u pacjentów, a także leczenie, jakie prowadzono, były zgodne z procedurami obowiązującymi w Oddziale.

Stężenie prokalcytoniny w surowicy noworodka (średnia +/- odchylenie standardowe) w pierwszych 12 godzinach życia było statystycznie istotnie wyższe w grupie III (zespół septyczny) ( $55.39 \pm 73.5$  ng/ml,  $p < 0.001$ ) i grupie IV (sepsa) ( $39.89 \pm 71.3$  ng/ml,  $p = 0.002$ ) w porównaniu z grupą I (bez infekcji) ( $2.06 \pm 3.9$  ng/ml). Średnie stężenie PCT w grupie II wyniosło  $3.92 \pm 8.9$  ng/ml. Nie było znaczących różnic stężeń prokalcytoniny pomiędzy grupą I i II, a także III i IV.

Nie stwierdziłam statystycznie istotnych różnic w stężeniu prokalcytoniny w zależności od dojrzałości noworodka, jego masy urodzeniowej oraz stosunku masy urodzeniowej do wieku płodowego (SGA, AGA, LGA).



Żadne z analizowanych powikłań matczynych oraz okołoporodowych (cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, przedwczesne odpięcie płynu owodniowego, naruszenie ciągłości worka owodniowego w celach diagnostycznych i leczniczych, infekcje u matki) nie wpłynęło na stężenie prokalcytoniny w surowicy noworodka w pierwszych 12 godzinach jego życia.

Nie stwierdziłam, aby na stężenie prokalcytoniny w surowicy noworodka w pierwszych 12 godzinach życia wpływ miało wystąpienie nieinfekcyjnych stanów patologii tego okresu życia: zespołu zaburzeń oddychania, niewydolności oddechowej z innych przyczyn, niedotlenienia okołoporodowego bądź urazu, do którego doszło w trakcie porodu. Stwierdziłam ujemną zależność pomiędzy stężeniem wapnia a poziomem prokalcytoniny w surowicy, zależność ta wystąpiła jedynie w grupie I (noworodków bez infekcji).

Po opracowaniu krzywych ROC dla stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodka dla grup II (wrodzone zapalenie płuc), III (zespół septyczny) oraz IV (sepsa) w odniesieniu do grupy I noworodków (bez infekcji), otrzymałam odpowiednio dla grup II, III oraz IV następujące pola powierzchni pod krzywą 0.529 (95% przedział ufności 0.429–0.628), 0.919 (95% przedział ufności 0.834–1.0), 0.742 (95% przedział ufności 0.572–0.912). Największą wartość diagnostyczną otrzymałam dla punktów odcięcia dla stężeń prokalcytoniny wynoszących, dla grupy III  $\geq 5.41$  ng/ml i dla grupy IV  $\geq 5.62$  ng/ml. Dla tych punktów odcięcia czułość, specyficzność, pozytywna i negatywna wartość predykcyjna oraz iloraz szans wyniosły w grupie III odpowiednio 86.36% (95% procentowy przedział ufności 65.1%–97.1%), 89.77% (95% przedział ufności 85.5%–93.2%), 41.3% (95% przedział ufności 27.0%–56.8%), 98.75% (95% przedział ufności 96.4%–99.7%), 54.0 (95% przedział ufności 14.6–303.4). Odpowiednio wartości te w grupie IV wyniosły

57.14% (95% przedział ufności 28.9%–82.3%), 89.47% (95% przedział ufności 85.2%–92.9%), 22.22% (95% przedział ufności 10.1%–39.2%), 97.54% (95% przedział ufności 94.7%–99.1%), 41.3 (95% przedział ufności 27.0–56.8). Nie uzyskałam diagnostycznych wartości dla grupy II. Nie stwierdziłam istotnych statystycznie różnic w czułości, specyficzności i ilorazie szans dla grupy III i IV, jeśli do analizy statystycznej użyłam danych z grupy I, po wykluczeniu z niej dzieci, u których nie zdiagnozowano infekcji o wczesnym początku, ale które w pierwszych 72 godzinach otrzymały antybiotyk, a leczenie kontynuowano przez co najmniej 5 dni.

Wyższe poziomy prokalcytoniny stwierdziłam w grupie pacjentów z sepsą o etiologii bakteryjnej Gram-ujemnej w porównaniu z pacjentami chorującymi na sepsę o etiologii Gram-dodatniej, różnica ta jednak nie była statystycznie istotna.

Nie stwierdziłam statystycznie istotnych różnic w stężeniu prokalcytoniny w surowicy noworodka w pierwszych 12 godzinach życia w przypadku zespołu septycznego i sepsy bez powikłań oraz gdy w ich przebiegu wystąpiły powikłania – zespół niewydolności wielonarządowej, wstrząs septyczny lub zgon.

Stwierdziłam statystycznie istotne różnice w ilości leukocytów we krwi obwodowej noworodków z grup I i III (13 046 +/- 8 681/ $\mu$ l v. 10 626 +/- 8 264/ $\mu$ l,  $p=0.042$ ), oraz II i III (13 683 +/- 6 608/ $\mu$ l v. 10 626 +/- 8 264/ $\mu$ l,  $p=0.033$ ). Wystąpiły również statystycznie istotne różnice pomiędzy ilością płytek we krwi obwodowej noworodków w grupie I i III (260 170 +/- 88 725/ $\mu$ l v. 195 696 +/- 83 682/ $\mu$ l,  $p=0.001$ ) oraz I i IV (260 170 +/- 88 725/ $\mu$ l v. 202 308 +/- 85 308,  $p=0.027$ ). Dodatni wynik białka C-reaktywnego stwierdzono w większym odsetku w surowicy pacjentów grupy III i IV porównując do pacjentów grupy I (73.9% v. 10.2%,  $p<0.001$ , 30.8% v. 10.2%,  $p=0.025$ ). Stwierdzono

również statystycznie istotne różnice w występowaniu dodatniego wyniku białka C-reaktywnego w surowicy noworodków w grupach II i III (12.1% v. 73.9%,  $p < 0.001$ ) oraz III i IV (73.9% v. 30.8%,  $p = 0.012$ ). Czulość oznaczenia stężenia prokalcytoniny w surowicy była wyższa od czulości oznaczenia ilości leukocytów, płytek we krwi obwodowej, a także stężenia białka C-reaktywnego w surowicy pacjentów w grupach III, IV oraz połączonych III i IV. W grupie III czulość oznaczenia stężenia prokalcytoniny w surowicy wyniosła 86.36% (95% przedział ufności 65.1–97.1%) i była statystycznie istotnie wyższa od czulości oznaczenia ilości leukocytów – 34.78% (95% przedział ufności 16.4%–57.3%),  $p < 0.001$ , oraz płytek we krwi obwodowej – 17.4% (95% przedział ufności 5.0%–38.8%),  $p < 0.001$ . W tej grupie czulość oznaczenia CRP wynosiła 73.91% (95% przedział ufności 51.6%–89.8%) i była niższa od czulości oznaczenia stężenia prokalcytoniny w surowicy, jednak ta zależność nie była statystycznie istotna,  $p = 0.135$ . W grupie noworodków z zespołem septycznym (grupie III) nie stwierdzono różnic czulości oznaczenia wyłącznie stężenia prokalcytoniny w porównaniu do czulości wyliczonej wspólnie dla ilości leukocytów, płytek we krwi obwodowej i stężenia białka C-reaktywnego w surowicy. Czulość oznaczenia stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodka w diagnostyce sepsy (gupa IV) wyniosła 57.14% (95% przedział ufności 28.9–82.3%) i była znacząco wyższa w porównaniu z czulością oznaczenia we krwi obwodowej ilości leukocytów – 21.43% (95% przedział ufności 4.7%–50.8%),  $p = 0.032$ , oraz trombocytów – 14.29% (95% przedział ufności 1.8%–42.8%),  $p = 0.013$ . W tej grupie stwierdzono, że oznaczenie stężenia prokalcytoniny w surowicy ma wyższą czulość – 57.14% (95% przedział ufności 28.9–82.3%) niż czulość oznaczenia stężenia CRP – 30.77 (95% przedział ufności 9.1%–61.4%),  $p = 0.086$ , jak również wspólnie oznaczonych ilości białych

krwinek, ilości leukocytów oraz stężenia CRP – 38.46% (95% przedział ufności 13.9%–68.4%),  $p=0.166$ , jednak dwie ostatnie zależności nie były statystycznie istotne. Czulość oznaczenia stężenia PCT w surowicy pacjentów grupy III i IV wyniosła 75.68% (95% przedział ufności 58.8–88.2%) i była statystycznie istotnie wyższa w porównaniu z czulością oznaczenia ilości leukocytów – 29.73% (95% przedział ufności 15.9%–47.0%),  $p<0.001$ , oraz płytek – 16.22% (95% przedział ufności 6.2%–32.0%),  $p<0.001$ . Wyliczona dla pacjentów grupy III i IV wspólnie czulość oznaczenia stężenia CRP wynosząca 58.33% (95% przedział ufności 40.8%–74.5%)  $p=0.058$ , nie różniła się statystycznie istotnie od czulości oznaczenia tylko stężenia prokalcytoniny w surowicy. Podobnie czulość oznaczenia leukocytów, płytek we krwi obwodowej oraz stężenia białka C-reaktywnego w surowicy – 69.44% (95% przedział ufności 51.9%–83.7%) nie różniła się statystycznie istotnie od czulości oznaczenia tylko stężenia prokalcytoniny w surowicy – 75.68% (95% przedział ufności 58.8–88.2%),  $p=0.275$ . Wspólne oznaczenie stężenia prokalcytoniny w surowicy i innych testów laboratoryjnych, wykorzystywanych w diagnostyce zakażenia, podnosi nieznamienne statystycznie wartość diagnostyczną PCT. Nie stwierdziłam statystycznie istotnej różnicy w ekspresji HLA-DR oraz antygenów CD14 i CD16 na monocytach w grupie noworodków z infekcją (grupa III i IV) w porównaniu do grupy noworodków bez infekcji (grupa I). Nie wystąpiła zależność pomiędzy stężeniem prokalcytoniny w surowicy a ekspresją HLA-DR oraz CD14 i CD16 na monocytach.

Podsumowując, należy stwierdzić, iż stężenie prokalcytoniny w surowicy noworodków leczonych w Oddziałach Intensywnej Terapii w pierwszych 12 godzinach życia jest wyższe od stwierdzanego u zdrowych dorosłych. Żadne z powikłań: matczyńskich (cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, infekcja), okołoporodowych (przedwczesne

odpłynięcie płynu owodniowego, naruszenie ciągłości worka owodniowego w celach diagnostycznych bądź leczniczych) oraz noworodkowych (zespół zaburzeń oddychania, niewydolność oddechowa z innych powodów, niedotlenienie okołoporodowe oraz uraz okołoporodowy) nie wpłynęło na stężenie prokalcytoniny w surowicy noworodka w pierwszych 12 godzinach życia. Istnieje ujemna korelacja pomiędzy stężeniem prokalcytoniny a poziomem wapnia w surowicy noworodka w grupie I (noworodków bez infekcji). Oznaczone w pierwszych 12 godzinach życia stężenie prokalcytoniny w surowicy noworodków jest czułym i specyficznym markerem zespołu septycznego i sepsy. Nie stwierdzono podniesionego poziomu stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodka w pierwszych 12 godzinach życia w przypadku wrodzonego zapalenia płuc. Stężenie prokalcytoniny w surowicy noworodków z sepsą o etiologii bakteryjnej Gram-ujemnej jest wyższe, niż w sepsie wywołanej przez bakterie Gram dodatnie. Na podstawie jednorazowego oznaczenia PCT w surowicy w pierwszych 12 godzinach życia nie można przewidzieć wystąpienia powikłań sepsy takich jak uszkodzenie wielonarządowe, wstrząs septyczny czy zgon. Czułość oznaczenia stężenia prokalcytoniny jest większa niż czułość oznaczenia stężenia CRP w surowicy czy ilości leukocytów lub płytek we krwi obwodowej w diagnostyce zespołu septycznego oraz sepsy o wczesnym początku. Nie obserwowano zmian ekspresji HLA-DR oraz antygenów CD14 i CD16 na monocytach w grupie noworodków z infekcją (grupa III i IV) w porównaniu do grupy noworodków bez infekcji (grupa I). Nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem prokalcytoniny w surowicy a ekspresją HLA-DR oraz CD14 i CD16 na monocytach.

## **7. Summary.**

Bacterial sepsis remains a serious problem in the newborn nursery, with mortality rate as high as 70%. Because the first clinical signs of sepsis are not very typical or specific, it can be difficult to diagnose the disease and to distinguish it from other, non-infectious conditions in critically ill neonates. To use treatment strategies effectively, the disease must be diagnosed early, what has been proved problematic due to the inadequacy of currently available laboratory tests. Procalcitonin was recently put forward as a diagnostic tool of systemic bacterial infection and sepsis in children and adults. The value of this marker during the first days of life is controversial, mainly due to its physiological fluctuation in the first 48–72 hours of life.

The study was conducted to assess the accuracy of procalcitonin in detecting early-onset sepsis in neonates. Normal procalcitonin ranges for a group of non-infectious neonates were defined during the first 12 hours after birth in order to investigate whether there is any event which alters this marker concentration. The gestational age, birth weight, non-infectious maternal, perinatal and neonatal events were investigated. The serum PCT concentration in uninfected and infected neonate was compared. The sensitivity and specificity, positive and negative predictive value of procalcitonin concentrations for the diagnosis of congenital pneumonia, clinical sepsis and early-onset sepsis in neonates were determined. The object of this study was also to estimate the value of procalcitonin serum concentration as a discriminate marker of Gram-positive and Gram-negative etiology of early-onset neonatal sepsis. The relation of procalcitonin concentration to severity of sepsis in neonate was examined. The comparison of diagnostic value of PCT serum concentration and CRP concentration, white blood count and platelet count in neonatal sepsis of vertical transmission was done. The last

object of this evaluation was to assess the diagnostic value of monocyte expression of human leukocyte antigen HLA-DR, CD14 and CD16 antigens for the early-onset neonatal sepsis and to compare it with PCT serum concentration during the first 12 hours of life.

The study was conducted in 345 neonates hospitalized at Neonatal Intensive Care Unit and Prematurity Unit, Neonatal Clinic, Medical College, Jagiellonian University of Cracow from 2002–2005. During the first 12 hours of life a blood specimen was taken to measure procalcitonin serum concentration. Four groups were defined according to clinical, biochemical and bacterial criteria. Group I consisted of 264 neonates without early onset infection. Group II consisted of 44 neonates with congenital pneumonia. This group included neonates who have had respiratory distress and radiographic findings consistent with pneumonia. Among these children bronchoalveolar lavage was performed. In 10 cases bacterial pathogens were identified – *Staphylococcus*, *E. coli*, other *Enterobacteriaceae*, *Pneumocystis jiroverci*, in 32 cases *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealiticum* or *Chlamydia trachomatis* were identified. Group III consisted of 23 neonates with clinical sepsis. This group included neonates who met followed criteria: during the first 72 hours of life at least 3 clinical signs of infection (problems with sucking, oral feeding intolerance, abdominal flatulence, hypo- or hyperthermia, brady- or tachycardia, apneas or tachypnoe with ventilatory rate above 60 per minute, jaundice) and at least 3 positive laboratory findings (hyperglycemia above 180 mg/dl, hypoglycemia below 40 mg/dl, white blood count above 20 000/ $\mu$ l, or below 4 000/ $\mu$ l, immature to total neutrophils ratio above 0.2, positive C-reactive protein, platelet count below 100000/ $\mu$ l). In 8.7% of cases multiorgan dysfunction syndrome was diagnosed. In 31.8% of these patients septic shock occurred. Of these children 17.3% died because of infection. Group IV consisted of 23

neonates with sepsis. This group included neonates who met followed criteria: during the first 72 hours of life at least 3 clinical signs of infection and at least 3 positive laboratory findings listed above, and positive blood culture. In 21.4% of cases multiorgan dysfunction syndrome was diagnosed. In 64.3% of these patients septic shock occurred. Of these children 35.7% died because of infection. There were no differences between groups according to gestational age, birth weight and maternal or intrapartum complications.

Except procalcitonin serum concentration, in supgroup of 41 patients expression of human leucocyte antigen (HLA-DR), antigens CD14 and CD16 on monocytes were measured. In this group 35 patients were without infection, in 4 cases clinical sepsis and in 2 cases sepsis were diagnosed.

To measure PCT serum level Brahms PCT LIA kit, an immunoluminometric assay, was used. The test was performed according to the recommended procedure. Blood samples were centrifuged after collection. If procalcitonin level measurement was not possible at the moment 20 µl of serum was stored at -20°C.

Expression of human leucocyte antigen (HLA-DR), antigens CD14 and CD16 on monocytes were measured using triple-colour fluorescence analysis in FACScan flow cytometer. Blood samples were collected into heparin-containing tubes, placed in ice bath and processed within 2 hours.

Excepting procalcitonin serum concentration and expression of human leucocyte antigen (HLA-DR), antigens CD14 and CD16 on monocytes measurement, other procedures followed hospital standards. The biochemical and microbiological analysis were performed in hospital laboratories according to the recommended procedures. Patients



with clinical sepsis and sepsis were treated according to the recommended standards.

The baby's procalcitonin serum concentration (mean  $\pm$  SD) during the first 12 hours of life was significantly higher in groups III (clinical sepsis) (55.39  $\pm$  73.5 ng/ml,  $p < 0.001$ ) and IV (sepsis) (39.89  $\pm$  71.3 ng/ml,  $p = 0.002$ ) than those of group I (non-infected) (2.06  $\pm$  3.9 ng/ml). The mean PCT value in patient of group II (congenital pneumonia) was 3.92  $\pm$  8.9 ng/ml. There were no significant differences between the PCT concentrations in groups I and II and in groups III and IV.

There were no differences in neonates serum procalcitonin concentration during the first 12 hours according to gestational age, birth weight and birth weight for gestational age appropriateness (SGA, AGA, LGA).

None of the maternal and intrapartum complications (diabetes mellitus, maternal hypertension, preterm rupture of membrane, amniocentesis, maternal infection) affected baby's procalcitonin serum concentration during the first 12 hours of life.

I didn't find any differences in procalcitonin serum concentrations in patients with and without respiratory distress syndrome, other acute respiratory diseases, perinatal asphyxia and perinatal injuries. I established a significant fall in serum calcium levels connected with procalcitonin serum concentration elevation, but only in group I (neonates without infection).

I elaborated receiver operating curves (ROC) of procalcitonin concentration for groups II (congenital pneumonia), III (clinical sepsis) and IV (sepsis), considering group I as a non-infected. The areas under the ROC were for group II 0.529 (95% CI 0.429–0.628), for group III 0.919 (95% CI 0.834–1.0) and for group IV 0.742 (95% CI 0.572–

0.912). Cut-off levels, of the serum procalcitonin concentration, with the optimum diagnostic efficiency derived from the ROC were  $\geq 5.42$  ng/ml for group III (clinical sepsis) and  $\geq 5.62$  ng/ml for group IV (sepsis). Sensitivity, specificity, positive and negative predictive values and odds ratio were appropriately for group III 86.36% (95% CI 65.1%–97.1%), 89.77% (95% CI 85.5%–93.2%), 41.3% (95% CI 27.0%–56.8%), 98.75% (95% CI 96.4%–99.7%), 54.0 (95% CI 14.6–303.4). The same values for group IV were 57.14% (95% CI 28.9%–82.3%), 89.47% (95% CI 85.2%–92.9%), 22.22% (95% CI 10.1%–39.2%), 97.54% (95% CI 94.7%–99.1%), 41.3 (95% CI 27.0–56.8). There were no diagnostic values for group II. No significant differences between sensitivity, specificity and odds ratio for group III and IV were identified after excluding from group I patients diagnosed as non-infected, but who were administered antibiotics during the first 72 hours of life and for at least 5 days.

The serum PCT concentration was, but not significantly, higher in the group of patients with Gram-negative sepsis than in the group of patients with Gram-positive sepsis.

There were no differences in the serum procalcitonin concentration during the first 12 hours of life in the group of patients with uncomplicated clinical sepsis and sepsis and those with complications – multiorgan dysfunction, septic shock and death.

Significant differences in white blood count (WBC) were found between group I and III (13 046 +/- 8 681/ $\mu$ l v. 10 626 +/- 8 264/ $\mu$ l,  $p=0.042$ ), and II and III (13 683 +/- 6 608/ $\mu$ l v. 10 626 +/- 8 264/ $\mu$ l,  $p=0.033$ ). There were also differences in the platelet count between groups I and III (260 170 +/- 88 725/ $\mu$ l v. 195 696 +/- 83 682/ $\mu$ l,  $p=0.001$ ) and I and IV (260 170 +/- 88 725/ $\mu$ l v. 202 308 +/- 85 308,  $p=0.027$ ). The positive C-reactive protein was found in higher

percentage patients in group III and IV compared to patients in group I (73.9% v. 10.2%,  $p < 0.001$ , 30.8% v. 10.2%,  $p = 0.025$ ). The significant differences were also between groups II and III (12.1% v. 73.9%,  $p < 0.001$ ) and III and IV (73.9% v. 30.8%,  $p = 0.012$ ). The procalcitonin serum concentration sensitivity was higher compared to the sensitivity of the white blood count, platelet count and CRP in group III, IV and both III and IV. For group III PCT serum concentration sensitivity was 86.36% (95% CI 65.1–97.1%) compared with the WBC sensitivity – 34.8% (95% CI 16.4%–57.3%),  $p < 0.001$ , PLT sensitivity – 17.39% (95% CI 5.0%–38.8%),  $p < 0.001$  and CRP serum concentration sensitivity – 73.91% (95% CI 51.6%–89.8%)  $p = 0.135$ . There was no significant difference between PCT serum concentration sensitivity and the sensitivity calculated for white blood count, platelet count and CRP serum concentration together. For group IV PCT serum concentration sensitivity was 57.14% (95% CI 28.9–82.3%) compared with the white blood count sensitivity – 21.43% (95% CI 4.7%–50.8%),  $p = 0.032$ , platelet count sensitivity – 14.29% (95% CI 1.8%–42.8%),  $p = 0.013$ , CRP serum concentration sensitivity – 30.77% (95% CI 9.1%–61.4%)  $p = 0.086$  and WBC, PLT and CRP together calculated sensitivity – 38.46% (95% CI 13.9%–68.4%),  $p = 0.166$ . For group III and IV together PCT serum concentration sensitivity was 75.68% (95% CI 58.8–88.2%) compared with the WBC sensitivity – 29.73% (95% CI 15.9%–47.0%),  $p < 0.001$ , PLT sensitivity – 16.22% (95% CI 6.2%–32.0%),  $p < 0.001$ , CRP sensitivity – 58.33% (95% CI 40.8%–74.5%),  $p = 0.058$  and WBC, PLT and CRP together calculated sensitivity 69.44%. (95% CI 51.9%–83.7%),  $p = 0.275$ . A combination of PCT with either white blood count, platelet count and C-reactive protein increased, but not significantly procalcitonin serum concentration sensitivity in group III and IV, and III and IV together.

There was no significant differences in expression of human leucocyte antigen HLA-DR, CD14 and CD16 antigens between groups with infection (groups III and IV) and non-infected neonates (group I). Also no correlation between PCT concentration and expression of human leucocyte antigen HLA-DR, CD14 and CD16 on monocytes was found.

In conclusion procalcitonin serum concentration during the first 12 hours of life in neonates treated in Intensive Care Unit is higher than those in adults. None of analyzed maternal (diabetes mellitus, hypertension, infection), perinatal (preterm rupture of membrane, amniocentesis) and neonatal (respiratory distress syndrome, other acute respiratory diseases, perinatal hypoxia and perinatal injuries) affected procalcitonin serum concentration during the first 12 hours of life. Lower calcium levels are correlated with procalcitonin serum concentration elevation in group I (non – infected). PCT serum concentration during the first 12 hours of life plays an important role in diagnosing early-onset clinical sepsis and sepsis. In congenital pneumonia (group II) the PCT serum concentration wasn't higher than those in group I (non-infected). Higher, but not significantly, serum procalcitonin concentration was observed in Gram-negative sepsis than in Gram-positive sepsis. There was no correlation between serum procalcitonin concentration and sepsis complications like multiorgan dysfunction, septic shock and death. PCT serum concentration sensitivity is higher compared to WBC, PLT, CRP concentration sensitivity. No significant differences in expression of human leucocyte antigen (HLA-DR), CD14 and CD16 on monocytes between groups with infection (groups III and IV) and non-infected neonates (group I) were observed. There was also no correlation between PCT concentration and expression of human leucocyte antigen (HLA-DR), CD14 and CD16 antigens on monocytes.

## 8. Piśmiennictwo

1. Stoll B.J.: The global impact of neonatal infection. *Clin. Perinatol.*, 1997; 24:1–21
2. Haque K.N.: Understanding and optimizing outcomes in neonates with sepsis and septic shock. *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine*. Springer Berlin Heideberg, 2007:55–68
3. Perez E.M., Weisman L.E.: Novel approaches to the prevention and therapy of neonatal bacterial sepsis. *Clin. Perinatol.*, 1997; 24:213–25
4. Rodriguez C.J., Fraga J.M., Garcia R.C., Fernandez Lorenzo J.R., Martinez S.I.: Neonatal sepsis: epidemiologic indicators and relation to birth weight and length of hospitalization time. *An. Esp. Pediatr.*, 1998; 48:401–8
5. Tessy A.J., Suma P.P., Norman J.: Neonatal early-onset *Escherichia coli* disease. The effect of intrapartum ampicillin. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.*, 1998; 152:35–40
6. Schrag S.J., Phil D., Zywicki S., Farley M.M., Reingold A.R., Harrison L.H., Lefkowitz L.B., Hadler J.L., Danila R., Cieslak P.R., Schuchat A.: Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *N. Engl. J. Med.*, 2000; 342:15–20
7. Baltimore R.S., Huie S.M., Meek J.I., Schuchat A., O'Brien K.L.: Early-onset neonatal sepsis in the era of group streptococcal prevention. *Pediatrics*, 2001; 5:1094–98
8. Siegel J.D., Cushion N.B.: Prevention of early-onset group B streptococcal disease: another look at single-dose penicillin at birth. *Obstet. Gynecol.*, 1996; 87:692–98
9. Schuchat A., Zywicki S.S., Dinsmoor M.J., Mercer B., Romaguera J., O'Sullivan M.J., Patel D., Peters M.T., Stoll B.J., Levine O.S.: Risk factors and opportunities for prevention of early-

- onset neonatal sepsis: a multicenter case-control study. *Pediatrics*, 2000; 105:21–6
10. Stoll B.J., Hansen N., Fanaroff A.A., Wright L.L., Carlo W.A., Ehrenkranz R.A., Lemons J.A., Donovan E.F., Stark A.R., Tyson J.E., Oh W., Bauer C.R., Korones S.B., Shankaran S., Laptook A.R., Stevenson D.K., Papile L.A., Kenneth Poole W.: Changes in pathogens causing early-onset sepsis in very-low-birth-weight infants. *N. Engl. J. Med.*, 2002; 347:240–7
  11. Velaphi S., Siegel J.D., Wendel G.D., Cushion N., Eid W.M., Sánchez P.J.: Early-onset group B streptococcal infection after combined maternal and neonatal group B streptococcal chemoprophylaxis strategy. *Pediatrics*, 2003; 3:541–547
  12. Baltimore R.S.: Neonatal sepsis: epidemiology and management. *Pediatric Drugs*, 2003; 5:723–40
  13. Maksic H., Karic A., Cengic S.: Incidence of early-onset neonatal sepsis caused by group B Streptococcus at the Pediatric Clinic of the University Clinical Center in Sarajevo. *Medicinski Arhiv.*, 2002; 56:51–3
  14. Philip A.G.: The changing face of neonatal infection: experience at a regional medical center. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 1994; 13:1098–1102
  15. Gladstone I.M., Ehrenkranz R.A., Edberg S.C., Baltimore R.S.: A ten-year of neonatal sepsis and comparison with the previous fifty-year experience. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 1990; 9:819–25
  16. Schrag S.J., Phil D., Hadler J.L., Arnold K.E., Martell-Cleary P., Reingold A., Schuchat A.: Risk factors for invasive, early-onset *Escherichia coli* infections in the era of widespread intrapartum antibiotic use. *Pediatrics*, 2006; 2:570–6

17. Anonymous: American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines to innovative therapies in sepsis. *Crit. Care Med.*, 1992; 20:864–74
18. Levy M.M., Fink M.P., Marshall J.C., Abraham E., Angus D., Cook D., Cohen J: 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions. *Intens. Care Med.*, 2003; 29:530–8
19. Lauterbach R.: ABC zakażeń u noworodka. *Medycyna Praktyczna*, 2001:19–20
20. Pietrzyk J.J.: Posocznica i wstrząs septyczny u dzieci. *Med. Prakt.*, 1998; 5:10–16
21. Szczapa J., Wojsyk-Banaszak I.: Wybrane problemy zakażeń okresu noworodkowego. *Polskie Towarzystwo Zakażeń Szpitalnych*, 2005:120–1
22. Bhutta Z.A., Yusuf K.: Early-onset neonatal sepsis in Pakistan: a case-control study of risk factors in a birth cohort. *Am. J. Perinatol.*, 1997; 14:577–81
23. Bromberger P., Lawrence J.M., Braun D., Saunders B., Contreras R., Petitti B.: The influence of intrapartum antibiotics on the clinical spectrum of early-onset group B streptococcal infection in term infants. *Pediatrics*, 2000; 106:244–50
24. Puopolo K.M., Madoff L.C., Eichenwald E.C.: Early-onset group B streptococcal disease in the era of maternal screening. *Pediatrics*, 2005; 5:1240–6
25. Gajewska E., Czyżewska M., Szafrńska A., Bagiński A., Jankowski P.: Zakażenia uogólnione wywołane pałeczkami rodzaju *Klebsiella* u noworodków hospitalizowanych w Klinice Neonatologii AM we Wrocławiu. *Postępy Neonatologii*, 2005; 1:56–60

26. Jurczak A., Jursa J., Kordek A., Giedrys-Kalemba S.: Analiza epidemiologiczna zakażeń w oddziale neonatologii. *Zakażenia*, 2005; 2:78-89
27. Hoath S.B., Maibach I.M.: Neonatal skin: structure and function. Marcel Dekker Inc. New York, 2005:30–50
28. Broughton R.A., Baker C.J.: Role of adherence in the pathogenesis of neonatal group B streptococcal infection. *Infect. Immun.* 1983; 39:837–43
29. Nealon T.J., Mattingly S.J.: Role of cellular lipoteichoic acids in mediating adherence of serotype III strains of group B Streptococci to human embryonic fetal and adult epithelial cells. *Infect. Immune.*, 1984; 43:523
30. Christensen R.D., Rothstein G.: Exhaustion of mature neutrophils in neonates with sepsis. *J. Pediatr.*, 1980; 96:316–318
31. Shuit K.E., DeBasio R.: Kinetics of phagocyte response to group B streptococcal infections in newborn rats. *Infect. Immun.* 1980; 28:319
32. Christenson K.L., Christenson P.: IgG subclasses and neonatal infections with group B streptococcus. *Monogr. Allergy*, 1988:138-147
33. Kind C.: What does neutropenia tell about the existence of sepsis in the newborn? *Helv. Paediatr. Acta*, 1986; 41:277–289
34. Metcalfe D.: The molecular biology and functions of the granulocyte-macrophage colony stimulating factor. *Blood*, 1986; 67: 257–71
35. Rebeck N., Gibson A., Finn A.: Neutrophil adhesion molecules in term and premature infants: Normal or enhanced leukocyte integrins but defective L-selectin expression and shedding. *Clin. Exp. Immunol.*, 1995; 101:183–9



36. Bühner C., Graulich J., Stibenz D., Dudenhausen J.W., Obladen M.: L-selectin is down-regulated in umbilical cord blood granulocytes and monocytes of newborn infants with acute bacterial infection. *Pediatr. Res.*, 1994; 36:799–804
37. Harris M.C., Shalit M., Southwick F.S.: Diminished actin polymerization by neutrophils from newborn infants. *Pediatr. Res.*, 1993; 33:27–31
38. Eisenfeld L., Krause P.J., Herson V., Savidakis J., Bannon P., Maderazo E., Woronick C., Giuliano C., Banco L.: Longitudinal study of neutrophil adherence and motility. *J. Pediatr.*, 1990; 117:926–9
39. Hill H.R.: Biochemical, structural and functional abnormalities of polymorphonuclear leukocytes in the neonate. *Paediatr. Res.*, 1987; 22:375–82
40. Yoder M.C., Polin R.A.: Developmental immunology. *Neonatal-Perinatal Medicine. Mosby – year book. Louisville*, 1992: 135–7
41. Jacobs R.F., Wilson C.B., Palmer S., Springmeyer S.C., Henderson W.R., Glover D.M., Kessler D.L., Murphy J.H., Hughes J.P., van Belle G.: Factors related to the appearance of alveolar macrophages in the developing lung. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1985; 131:548–53
42. Polin R.A., Spitzer A.R.: Infection and immunity. Fetal and neonatal secrets. Polin RA, Spitzer AR. Hanley & Belfus, INC., Philadelphia 2001:265-9
43. Pirenne H., Aujard Y., Eljaafari A., Bourillon A., Oury J.F., Le Gac S., Blot P., Sterkers G.: Comparison of T cells functional changes during childhood with the ontogeny of CDw29 and CD45RA expression on CD4<sup>+</sup> T cells. *Pediatr. Res.*, 1992; 32:81–6

44. Morito T., Bankhurst A.D., Williams R.C.: Studies of human cord blood and adult lymphocyte interactions with in vitro immunoglobulin production. *J. Clin. Invest.*, 1979; 64:990–5
45. Yachie A., Konno A., Ohta K., Wada T., Seki H., Taniguchi N., MiYawaki T.: Delineation of producing ability of IgG and IgA subclasses by naive C cells in newborn infants and adult individuals. *Clin. Exp. Immunol.*, 1995; 102:204–9
46. Sasidharan P.: Postnatal IgG levels in very-low-birthweight babies: preliminary observations. *Clin. Pediatr.*, 1988; 27:271–4
47. Reth M.: Antigen receptors on B lymphocytes. *Annu. Rev. Immunol.*, 1992; 10:97–118
48. Stern C.M.: Neonatal immunology. W: Textbook of neonatology. Red.: Rennie JM, Robertson NRC. Churchill Livingstone, Third Edition 1999: 1097
49. Grio R., Porpiglia M., Vetro E., Uligini R, Piacentino R., Mini D., Marchino G.L.: Asymptomatic bacteriuria in pregnancy: maternal and fetal complications. *Panminerva Med.*, 1994; 36:198–200
50. Schieve L.A., Handler A., Hershow R., Persky V., Davies F.: Urinary tract infection during pregnancy: its association with maternal morbidity and perinatal outcome. *Am. J. Public Health*, 1994; 84:405–10
51. Baker C.J., Edwards M.S.: Group B streptococcal infections. Remington JS & Klein JO: Infectious diseases of the fetus and newborn. 4<sup>th</sup> edition Philadelphia, W.B. Saunders 1995:980
52. Ochocka M.: Układ krwiotwórczy. Normy w pediatrii. Red.: Kopczyńska-Sikorska J. PZWL, 1996:122
53. Da Silva O., Ohlsson A., Kenyon C.: Accuracy of leukocyte indices and C-reactive protein for diagnosis of neonatal sepsis: a critical review. *Pediatr. Infec. Dis.*, 1995; 14:362–6

54. Berger Ch., Uehlinger J., Ghelfi D., Blau N., Fanconi S.: Comparison of C-reactive protein and white blood cell count with differential in neonates at risk of septicaemia. *Eur. J. Pediatr.*, 1995; 154:138–44
55. Kaftan H., Kinney J.S.: Early onset neonatal bacterial infections. *Semin. Perinatol.*, 1998; 22:15–24
56. Guerina N.G.: Bacterial and fungal infections. *Manual of neonatal care.* Cloherty J.P., Stark A.R., Lippincot-Raven, Philadelphia, 1998
57. Mouzinho A., Rosenfeld Ch.R., Sanchez P.J., Risser R.: Effect of maternal hypertension on neonatal neutropenia and risk of nosocomial infection. *Pediatrics*, 1992; 90:430–5
58. Radwell R.L., Leslie A.L., Tudehope D.I.: Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematological scoring system. *J. Pediatr.*, 1988; 112:761–7
59. Aman I., Hassan K.A., Ahmad T.M.: The study of thrombocytopenia in sick neonates. *J. Coll. Physicians Surg. Pak.*, 2004; 14:282–5
60. Yang J., Yang M., Xu F.: Effects of oxygen-induced lung damage on megakaryocytopoiesis and platelet homeostasis in a rat model. *Pediatr. Res.*, 2003; 54:344–52
61. Ng P.Ch.: Diagnostic markers of infection in neonates. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.*, 2004; 89:229–35
62. Lydyard P.M., Whelan A., Fanger M.W.: Krótkie wykłady. *Immunologia.* Wydawnictwo Naukowe PWN, 2001:32-33
63. Vigushin D., Pepys M., Hawkins P.: Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein in health and disease. *J. Clin. Invest.*, 1993; 91:1351–7

64. Hansen A.B., Verder H., Staun-Olsen P.: Soluble intercellular adhesion molecule and C-reactive protein as early markers of infection in newborns. *J. Perinat. Med.*, 2000; 28:97–103
65. Laborada G., Rego M., Jain A., Guliano M., Stavola J., Ballabh P., Krauss A.N., Auld P.A., Nesin M.: Diagnostic value of cytokines and C-reactive protein in the first 24 hours of neonatal sepsis. *Am. J. Perinatol.*, 2003; 20:491–501
66. Benitz W.E., Han M.Y., Madan A., Ramachandra P.: Serial serum C-reactive protein levels in the diagnosis of neonatal infection. *Pediatrics*, 1998; 102:E41
67. Resch B., Gusenleitner W., Müller W.D.: Procalcitonin and interleukin-6 in the diagnosis of early-onset sepsis of the neonate. *Acta. Paediatr.*, 2003; 92:243–245
68. Santana Reyes C., Garcia-Munoz F., Reyes D., Gonzalez G., Dominguez C., Domenech E.: Role of cytokines (interleukin-1 beta, 6, 8, tumor necrosis factor-alpha and soluble receptors of interleukin-2) and C-reactive protein in the diagnosis of neonatal sepsis. *Acta Paediatr.*, 2003;92:221–7
69. Garland S.M., Bowman E.D.: Reappraisal of C-reactive protein as a screening tool for neonatal sepsis. *Pathology*, 2003; 35:240–3
70. Seibert K., Yu V.Y., Doery J.C., Embury D.: The value of C-reactive protein measurement in the diagnosis of neonatal infection. *J. Pediatr. Child. Health*, 1990; 26:267–70
71. Yoon B.H., Romero R., Shim JY., Shim S.S., Kim C.J., Jun J.K.: C-reactive protein in umbilical cord blood: a simple and widely available clinical method to assess the risk of amniotic fluid infection and funisitis. *J. Matern. Fetal Med.*, 2003; 14:85–90
72. Mathai E., Christopher U., Mathai M., Jana A.K., Rose D., Bergstrom S.: Is C-reactive protein level useful in differentiating

- infected from uninfected neonates among those at risk of infection?  
*Indian Pediatr.*, 2004; 41:895–900
73. Chiesa C., Signore F., Assumma M., Buffone E., Tramontozzi P., Osborn J.F., Pacifico L.: Serial measurements of C-reactive protein and interleukin-6 in the immediate postnatal period: reference interval and analysis of maternal and perinatal confounders. *Clin. Chem.*, 2001; 47:1016–22
74. Marchini G., Berggren V., Djilali-Merzoug R., Hanson L.O.: The birth process initiates an acute phase reaction in the fetus-newborn infant. *Acta Pediatr.*, 2000; 89:1082–6
75. Shabnam B., Mohhamad T., Noshin W.Y.: Coagulation abnormalities in neonatal sepsis. *Pak. J. Pathol.*, 2007; 18:119–24
76. Meisner M.: Biomarkers of sepsis: clinically useful? *Curr. Opin. Crit. Care*, 2005; 11:473–80
77. Hodge G., Hodge S., Haslam R., McPhee A., Sepulveda H., Morgan E., Nicholson I., Zola H.: Rapid simultaneous measurement of multiple cytokines using 100 micro liter sample volumes – association with neonatal sepsis. *Clin. Exp. Immunol.* 2004; 137: 402–7
78. Oberchoffer M., Bitterlich A., Hentschel T.: Procalcitonin (ProCT) correlates better with the ACCP, SCCM consensus conference definition than other specific markers of the inflammatory response. *Clin. Intens. Care*, 1996; 7:46
79. Messer J., Eyer D., Donato L., Galatti H., Matis J., Simeoni U.: Evaluation of interleukin-6 and soluble receptors of tumor necrosis factor for early diagnosis of neonatal infection. *J. Pediatr.*, 1996; 129: 574–80
80. Berner R., Niemeyer C.M., Leitis J.U., Funke A., Schwab C., Rau U., Richter K., Tawfeek M.S., Clad A., Brandis M.: Plasma

levels and gene expression of granulocyte colony-stimulating factor, tumor necrosis factor-alpha, interleukin (II)-1-beta and soluble intercellular adhesion molecule-1 in neonatal early onset sepsis. *Pediatr. Res.* 1998; 44:469–77

81. Smulian J.C., Vintzileos A.M., Lai Y.L., Santiago J., Shen-Schwarz S., Campbell W.A.: Maternal chorioamnionitis and umbilical vein interleukin-6 levels for identifying early neonatal sepsis. *J. Matern. Fetal Med.*, 1999; 8:88–94
82. Küster H., Weiss M., Willeitner A.E., Detlefsen S., Jeremias I., Zbojan J., Geiger R., Lipowsky G., Sinbruner G.: Interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-6 for early diagnosis of neonatal sepsis 2 days before clinical manifestation. *Lancet*, 1998; 352:1271–7
83. Chiesa C., Pellegrini G., Pannero A., Osborn J.F., Signore F., Assumma M, Pacifico L.: C-reactive protein, interleukin-6, and procalcitonin in the immediate postnatal period: influence of illness severity, risk status, antenatal and perinatal complications and infection. *Clin. Chem.*, 2003; 49:60–8
84. Groll A.H., Meiser A., Weise M., Rettwiz-Wolk W., von Loewenich V., Gussetis E.S., Kornhuber B.: Interleukin-6 as early mediator in neonatal sepsis. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 1992; 11:496–8
85. Hata H., Kawamura T., Inada K., Fujiwaki R., Ariyuki Y., Hata K., Kitao M.: Interleukin-6, interleukin-8 and granulocyte elastase in newborns with fetal distress. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 1996; 42:174–7
86. Døllner H., Vatten L., Linnebo I., Zanussi G.F., Laerdal A., Austgulen R.: Inflammatory mediators in umbilical plasma from neonates who develop early-onset sepsis. *Biol. Neonate.*, 2001; 80: 41–7

87. Døllner H., Vatten L., Austgulen R.: Early diagnostic markers for neonatal sepsis: comparing C-reactive protein, interleukin-6, soluble tumor necrosis factor receptors and soluble adhesion molecules. *J. Clin. Epidemiol.*, 2001; 54:1251–7
88. Nupponen I., Andersson S., Järvenpää A.L., Kautiainen H., Repo H.: Neutrophil CD11b expression and circulating interleukin-8 as diagnostic markers for early-onset neonatal sepsis. *Pediatrics*, 2001; 108:12–17
89. Winschenk N.P., Farina A., Bianchi D.W.: Premature infants respond to early-onset and late-onset sepsis with leucocyte activation. *J. Pediatr.*, 2000; 137:345–50
90. Austgulen R., Arntzen K.J., Haereid P.E., Aag S., Døllner H.: Infection in neonates delivered at term are associated with increased serum levels of ICAM-1 and E-selectin. *Acta Paediatr.*, 1997; 86:274–80
91. Koutris A.P., Lee F.K., Stoll B.J.: Soluble L-selectin, a marker of immune activation, in neonatal infection. *Clin. Immunol.*, 2003; 109:224–8
92. Layseca-Espinosa E., Perez-Gonzalez L.F., Torres-Montes A., Baranda L., de la Fuente H., Rosenstein Y., Gonzalez-Amaro R.: Expression of CD64 as a potential marker of neonatal sepsis. *Pediatr. Allergy Immunol.*, 2002; 13:319–27
93. Rozsival P., Pařizková E., Vokurková D., Buriánková B., Andrýs C.: Surface activation leukocyte markers and humoral factors in cord blood of newborns at risk of early infection. *Acta Medica*, 2007; 50:229–31
94. Skrzeczyńska J., Kobylarz J., Hartwich Z., Zembala M., Pryjma J.: CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> monocyte in the course of sepsis in neonates

- and small children: monitoring and functional studies. *Scand. J. Immunol.* 2002; 55:629–38
95. Ziegler-Heitbrock L.: The CD14+CD16+ blood monocytes: their role in infection and inflammation. *J. Leukoc. Biol.*, 2007; 81: 584–92
  96. El-Gamal Y.M.E., Heshmat N.M.A., Shehab A.E.A., Hasaneen A.F.M.: Diagnostic value of CD14+CD16+ monocytes in neonatal sepsis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2005; Abstracts: S220
  97. Ng P.Ch., Li G., Man Chui K., Wing Chu W.Ch., Li K., Wong R.O.P., Fok T.F.: Quantitative measurement of monocyte HLA-DR expression in the identification of early-onset neonatal infection. *Biol. Neonate*, 2006; 89:75–81
  98. Kanakoudi-Tsakalidou F., Debonera F., Drossou-Agakidou V., Sarafidis K., Tzimouli V., Taparkou A., Kremenopoulus G.: Flow cytometric measurement of HLA-DR expression on circulating monocytes in healthy and sick neonates using monocyte negative selection. *Clin. Exp. Immunol.*, 2001; 123: 402-7
  99. Jordan J.A., Durso M.B.: Comparison of 16s rRNA gene PCR and BACTEC 9240 for detection of neonatal bacteriemia. *J. Clin. Microbiol.*, 2000; 38:2574–8
  100. Assicot M., Gendrel D., Carsin H., Raymond J., Guilbaud J., Bohuon C.: High serum procalcitonin in patients with sepsis and infection. *Lancet*, 1993; 341:515–8
  101. Whicher J., Bienvenu J., Monneret G.: Procalcitonin as an acute phase marker. *Ann. Clin. Biochem.*, 2001; 38:483–93
  102. 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



- lipopolisacharides and sepsis related cytokines in vitro. *J. Lab. Clin. Med.*, 1999; 134:49–55
103. Russwurm S., Wiederhold M., Oberhoffer M., Stonans I., Peiker G., Reinhart K.: Procalcitonin as monocytic marker for early diagnosis in septic abortus. *Z. Geburtsh. Neonatol.* 1999; 203:11–4
104. Russwurm S., Wiederhold M., Stonans I., Oberhoffer M., Reinhart K.: Procalcitonin is released by human monocytes. *Critical Care*, 1999; 3:P089
105. Russwurm S., Wiederhold M., Stonans I., Oberhoffer M., Reinhart K.: Intracellular distribution pattern of procalcitonin in human monocytes and HepG2 cells. *Critical Care* 1999; 3:P090
106. Plachouras D., Giamarellos-Borboulis EJ., Tzivra A., Baziaka F., Tsaganos T., Giamarellou H.: Human monocytes as a site of production of procalcitonin (PCT) after challenge by nosocomial isolates. *Abstr. Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother.*, 2003; 43:B-1044
107. Oberhoffer M., Vogelsang H., Jäger E., Reinhart K.: Katalcalcin and calcitonin immunoreactivity in different types of leukocytes indicate intracellular procalcitonin content. *J. Crit. Care*, 1999; 14: 29–33
108. Bracq S., Machairas M., Clement B., Pidoux E., Andreoletti M., Moukhtar M.S., Julienne A.: Calcitonin gene expression in normal human liver. *FEBS letters*, 1993; 331:14–18
109. Nijsten M.W.N., Olinga P., The T.H., de Vries E.G., Koops H.S., Groothuis G.M., Limburg P.C., ten Duis H.J., Moshage H., Hoekstra H.J., Bijzet J., Zwaveling J.M.: Procalcitonin behaves as a fast responding acute phase protein in vivo and in vitro. *Crit. Care Med.* 2000; 28:458–61

110. Linscheid P., Seboek D., Nylèn E.S., Langer I., Schlatter M., Becker K.L., Keller U., Müller U.: In vitro and in vivo calcitonin I gene expression in parenchymal cells: a novel product of human adipose tissue. *Endocrinology*, 2003; 144:5578–84
111. Chiappini F., Matita M.C., De Sole P., Fresu R., Frigieri L., Fuso L., Pagliari G.: Urinary procalcitonin associated with a microbiologically diagnosed pneumonitis: preliminary results. *Critical Care*, 1998; 2:P038
112. Broad P.M., Symes A.J., Thakker R.V., Craig R.K.: Structure and methylation of the human calcitonin/alpha-CGRP gene. *Nucleic Acids Res.* 1989; 17:6999–7011
113. Dandona P., Nix D., Wilson M.F., Aljada A., Love J., Assicot M., Bohuon C.: Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1994; 79:1605–8
114. Whang K.T., Vath S.D., Nylèn E.S., Muller B., Li Q., Tamarkin L., White J.C.: Procalcitonin and proinflammatory cytokine interactions in sepsis. *Shock*, 1999; 12:265–73
115. Kettlehack C., Hohenberger P., Schulze G., Kilpert B, Schlag P.M.: Induction of systemic serum procalcitonin and cardiocirculatory reactions after isolated limb perfusion with recombinant human tumor necrosis factor and melphalan. *Crit. Care Med.*, 2000; 28:1040–6
116. Brunkhorst F.M., Forycki Z.F., Wagner J.: Identification of immunoactivation of infectious origin by procalcitonin – immunoreactivity in different body fluids. *Clin. Intens. Care*, 1997; 7:41
117. Ardaillou R., Sizonenko P., Meyrier A., Valèe G., Beaugas Ch.: Metabolic clearance rate of radioiodinated human calcitonin in man. *J. Clin. Invest.*, 1970; 49:2345–52

118. Brunkhorst F.M., Heinz U., Forycki Z.F.: Kinetics of procalcitonin in iatrogenic sepsis. *Intens. Care Med.*, 1998; 24:888–92
119. Meisner M., Schmidt J., Huettner H, Tschaikowsky K.: The natural elimination rate of procalcitonin in patients with normal and impaired renal function. *Intens. Care Med.*, 2000; 26:212–16
120. Meisner M., Lohs T., Hüttemann E., Schmidt J., Hueller M., Reinhart K.: The plasma elimination rate and urinary secretion of PCT in patients with normal and impaired renal function. *Anesthesiology*, 1999; 91:A 236
121. Charles P.E., Tinel C., Barbar S., Aho S., Prin S., Doise J.M., Olsson N.O., Blettery B., Quenot J.P.: Procalcitonin kinetics within the first days of sepsis: relationship with the appropriateness of antibiotic therapy and the outcome. *Critical Care*, 2009; 13:R38
122. Nylèn E.S., Sider R.H., Thompson K.A., Rohatgi P., Becker K.L.: Pneumonitis associated hyperprocalcitoninemia. *Am. J. Med. Sci.*, 1996; 312:12–18
123. Steinwald P.M., Becker K.L., Nylèn E.S.: Hyperprocalcitonemia of E.coli sepsis in a hamster model: association with hypocalcemia and hyperphosphatemia. Abstract on the 10<sup>th</sup> Internat Congress of Endocrinology, San Francisco, 1996
124. Findlay D.M., Martin T.J.: Receptors of calciotropic hormones. *Horm. Metab. Res.*, 1997; 29:128–34
125. Force T., Bonventre J.V., Flannery M.R., Gorn A.H., Yamin M., Goldring S.R.: A cloned porcine renal calcitonin receptor couples to adenylyl cyclase and phospholipase C. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 1992; 262:F 1110–5

126. Schmidt J., Meisner M., Tschaikowsky K., Schüttler J.: Procalcitonin modulates the proinflammatory response in vitro. *Anästhesiol. Intensivmed. Notfallmed. Schmerzther.*, 1997; 32:S171
127. Meisner M., Tschaikowsky K., Spiessl C., Schüttler J.: Procalcitonin – a marker or modulator of the acute immune response? *Intens. Care Med.*, 1996; 22:14
128. Nylèn E.S., Whang K.T., Snider R.H., Steinwald P.M., Wjite J.C., Becker K.L.: Mortality is increased by procalcitonin and decreased by an antiserum reactive to procalcitonin in experimental sepsis. *Crit. Care Med.*, 1998; 26:100–16
129. Russwurm S., Wiederhold M., Oberhoffer M., Stonans I., Zipfel P.F., Reinheart K.: Molecular aspects and natural source of procalcitonin. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 1999; 37:789–97
130. Kisoan N.: Modulating nitric oxide synthesis: Another contender enters the ring. *Crit. Care Med.*, 2001; 29:214–5
131. Bucová M., Záhorec R., Buc M.: Immunomodulatory effect of recombinant human procalcitonin on mitogenic activity of lymphocytes. *Centr. Eur. J. Immunol.*, 2006; 31:87–93
132. Wei J.X., Verity A., Garle M., Mahajan R., Wilson V.: Examination of the effect of procalcitonin on human leucocyte and the porcine isolated coronary artery. *Br. J. Anaesth.* 2008; 100: 612–21
133. Meisner M., Tschaikowsky K., Schnabel S., Schmidt J., Katalinic A., Schüttler J.: Procalcitonin – influence of temperature, storage, anticoagulation and arterial or venous asservation of blood samples on procalcitonin concentration. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1997; 35:579–601

134. Monneret G., Doche C., Giraud N., Bienvenu F., Bienvenu J.: Procalcitonin: analytical aspects and preliminary clinical data. *Immunoanalt. Biol. Spéc.* 1997; 12:118–21
135. Struck J., Morgenthaler N.G., Fischer-Schulz C., Bergmann A.: Detection of procalcitonin (PCT) in patients with local infection by a sensitive chemiluminescence assay. *Abstr. Intersci. Conf. Agents Chemother. Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother.* 2000; 40: 141
136. Polzin A., Pletz M., Erbes R., Raflenberg M., Mauch H., Wagner S., Arndt G., Lode H.: Procalcitonin as a diagnostic tool in lower respiratory tract infections and tuberculosis. *Eur. Respir. J.* 2003; 21:939–43
137. Brunkhorst F.M., Al-Nawas B., Krummenauer F., Forycki Z.F., Shah P.M.: Procalcitonin, C-reactive protein and APACHE II score for risk evaluation in patients with severe pneumonia. *Clin. Microbiol. Infect.* 2002; 8:93–100
138. Masiá M., Gutierrez F., Shum C., Padilla S., Navarro J.C., Flores E., Hernández I.: Usefulness of procalcitonin levels in community-acquired pneumonia according to the patients outcome research team pneumonia severity index. *Chest*, 2005; 128:2223–9
139. Reith H.B., Lehmkuhl P., Beier W., Högy B.: Procalcitonin – ein prognostischer infektionsparameter bei der peritonitis. *Chir. Gastroenterol.*, 1995; 11:47–50
140. Gendrel D., Raymond J., Coste J., Moulin F., Lorrot M., Guerin S., Ravilly S., Lefevre H., Royer C., Lacombe C., Palmer P., Bohuon C.: Comparison of procalcitonin with C-reactive protein, interleukin-6 and interferon-alpha for differentiation of bacterial vs. viral infections. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 1999; 18:875–81

141. Gerard Y., Hober D., Assicot M., Alfandari S., Ajana F., Bourez J.M., Chidiac C., Mouton Y., Bohuon C., Watre P.: Procalcitonin as a marker of bacterial sepsis in patient infected with HIV-1. *J. Infect.* 1997; 35:41–6
142. Kocazeybek B., Kucukoglu S., Ali Öner Y.: Procalcitonin and C-reactive protein in infective endocarditis: correlation with etiology and prognosis. *Chemotherapy*, 2003; 49:76–84
143. Chernevskaya E., Beloborodova N., Vostrikova T.: Can procalcitonin reflect the etiology of the bacteriemia? *Crit. Care* 2007; 11:P17
144. Dornbusch H.J., Strenger V., Kerbl P., Lackner H., Schwinger W., Sovinz P., Urban C.: Procalcitonin – a marker of invasive fungal infection? *Support Care Cancer*, 2005; 13:343–6
145. Hollenstein U, Loaresuuwan S, Aichelburg A., Thalhammer F., Stoiser B., Amradee S., Chullawichit S., El Menyawi I., Burgmann H.: Serum procalcitonin levels in severe *Plasmodium falciparum* malaria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1998; 59:860–3
146. Mimos O., Edouard A.R., Samil K., Benoist J.F., Assicot M., Bohuon C.: Procalcitonin and C-reactive protein during the early posttraumatic systemic inflammatory response syndrome. *Intensive Care Med.*, 1998; 24:185–8
147. Söylemez M.A., Seymen O., Yygyt G.: A novel mechanism between type II diabetes mellitus and procalcitonin gene expression. *FEBS Journal*, 2005; 272:A4–067P
148. Gramm H.J., Beier W., Zimmerman J., Oedra N., Hannemann L., Boese-Ladgraf J.: Procalcitonin (ProCT) – a biological marker of the inflammatory response with prognostic properties. *Clin. Intens. Care*, 1995; 6:71

149. Meisner M., Tschaikowsky K., Palmaers T., Schmidt J.: Comparison of procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) plasma concentrations at different SOFA scores during the course of sepsis and MODS. *Critical Care*, 1999; 3:45–55
150. Oberhoffer M., Vogelsang H., Russwurm S., Hartung T, Reinhart K.: Outcome prediction by traditional and new markers of inflammation in patients with sepsis. *Clin. Chem. Lab. Med.* 1999; 37:363–8
151. Zeni F., Viallot A., Assicot M., Tardy B., Vindimian M.: Procalcitonin serum concentrations and severity of sepsis. *Clin. Intens. Care*, 1994; 5:89–98
152. Müller B., Becker K.L., Schächinger H., Rickenbacher P., Huber P., Zimmerli W., Ritz R.: Calcitonin precursors are reliable markers of sepsis in the medical intensive care unit. *Crit. Care Med.*, 2000; 28: 977–83
153. Schröder J., Staubach K.H., Zabel P., Stüber F., Kremer B.: Procalcitonin as a marker of severity in septic shock. *Langenbeck's Arch. Surg.*, 1999; 384:33–8
154. Al-Nawas B., Krammer I., Shah P.M.: Procalcitonin in diagnosis of severe infections. *Eur. J. Med. Res.*, 1996; 1: 331–3
155. Oberhoffer M, Karzai W., Bögel D, Meier-Hellmann A.: Procalcitonin is higher in non-survivors during the clinical course of sepsis, severe sepsis and septic shock. *Intens. Care Med.*, 1996; 22:A245
156. Rau B., Steinbach G., Gansauge F., Mayer J.M., Grünert J.M., Beger H.G.: The role of procalcitonin and interleukin-8 in the prediction of infected necrosis in acute pancreatitis. *Gut*, 1997; 41: 832–40

157. Christ-Crain M., Müller B.: Procalcitonin in bacterial infections hype, hope, more or less? *Swiss Med. Wkly.*, 2005; 135:451–60
158. de Werra J., Jaccard C., Corradin S.B., Chiolero R., Yersin B., Gallati H., Assicot M., Bohuon C., Baumgartner J.D., Glauser M., Heumann D.: Cytokines, nitrite/nitrate, soluble necrosis factor receptors, and procalcitonin concentrations: comparison in patients with septic shock, cardiogenic shock and bacterial pneumonia. *Crit. Care Med.*, 1997; 25:607–13
159. Meisner M.: Procalcitonin. A new, innovative infection parameter. *Biochemical and clinical aspects*. Thieme, 2000: 137
160. Galetto-Lacour A., Zamora S.A., Gervaix A.: Bedside procalcitonin and C-reactive protein test in children with fever without localizing signs of infection seen in a referral center. *Pediatrics*, 2003; 112:1054–60
161. Chiesa C., Panero A., Rossi N., Stegagno M, De Giusti M., Osborn J.F., Pacifico L.: Reliability of procalcitonin concentrations for the diagnosis of sepsis in critically ill neonates. *Clin. Infec. Dis.*, 1998; 26:664–72
162. Assumma M., Signore F., Pacifico L., Rossi N., Osborn J.F., Chiesa C.: Serum procalcitonin concentrations in term delivering mothers and their healthy offspring: a longitudinal study. *Clin. Chem.*, 2000; 46:1583–87
163. Lopez Sastre J.B., Perez Solis D., Roques Serradilla V., Colomer B.F., Cot Cotallo G.D.: Evaluation of procalcitonin for diagnosis of neonatal sepsis of vertical transmission. *BMC Pediatr.*, 2007;7:9
164. Joram N., Boscher C., Denizot S., Loubersac V., Winer N., Roze J.C., Gras-Le Guen C.: Umbilical cord blood procalcitonin and C reactive protein concentrations as markers for early diagnosis of



- very early onset neonatal infection. *Archives of Disease in Childhood – Fetal and Neonatal Edition*, 2006; 91:F65–F66
165. Koskenvuo M.M., Irjala K., Kinnala A., Ruuskanen O., Kero P.: Value of monitoring serum procalcitonin in neonates at risk of infection. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2003; 22:377–8
166. Sachse Ch., Dressler F., Henkel E.: Increased serum procalcitonin in newborn infants without infection. *Clin. Chem.*, 1998; 44:1343–44
167. Martin-Denavit T., Monneret G., Labaune J.M., Isaac Ch., Bienvenu F., Putet G., Bienvenu J.: Usefulness of procalcitonin in neonates at risk for infection. *Clin. Chem.*, 1999; 45:440–441
168. Gendrel D., Assicot M., Raymond J., Moulin F., Francoual Ch., Badoual J., Bohuon C.: Procalcitonin as a marker for the early diagnosis of neonatal infection. *J. Pediatr.*, 1996; 128:570–3
169. Monneret G., Labaune J.M., Isaac C., Bienvenu F., Putet G., Bienvenu J.: Procalcitonin and C-reactive protein levels in neonatal infections. *Acta Pediatr.*, 1997; 86:209–12
170. Guibourdenche J., Bedu A., Petzold L., Marchand M., Marjani-Kurdjian P., Hurtaud-Roux M.F., Aujard Y., Porquet D.: Biochemical markers of neonatal sepsis: value of procalcitonin in the emergency setting. *Ann. Clin. Biochem.*, 2002; 39:130–5
171. Janota J., Stranák Z., Belohlávková S., Mudra K., Šimák J.: Postnatal increase of procalcitonin in premature newborns is enhanced by chorioamnionitis and neonatal sepsis. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2001; 31:978–83
172. Turner D., Hammerman C., Rudensky B., Schlessinger Y., Goia C., Schimmel M.S.: Procalcitonin in preterm infants during the first few days of life: introducing an age related normogram. *Archives of*

Disease in Childhood – Fetal and Neonatal Edition, 2006; 91:F283–F286

173. Bonač B., Derganc M., Wraber B., Hojker S.: Interleukin-8 and procalcitonin in early diagnosis of early severe bacterial infection in critically ill neonates. *Eur. J. Physiol.*, 2000; 440:R72–R74
174. Lapillone A., Basson E., Monneret G., Bienvenu J., Salle B.L.: Lack of specificity of procalcitonin for sepsis diagnosis in premature infants. *Lancet*, 1998; 351:1211–2
175. Monneret G., Labaune J.M., Issac C., Bienvenu F., Putet G., Bienvenu J.: Increased serum PCT levels are not specific to sepsis in neonates. *Clin. Infect. Dis.*, 1998; 27:1559–61
176. Franz A.R., Kron M., Pohlandt F., Steinbach G.: Comparison of procalcitonin with interleukin 8, C-reactive protein and differential white blood cell count for the early diagnosis of bacterial infections in newborn infants. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 1999; 18:666–71
177. Gendrel D., Raymond J., Assicot M., Moulin F., Iniguez J.L., Lebon P., Bohuon C.: Measurement of procalcitonin levels in children with severe bacterial and viral meningitis. *Clin. Infect. Dis.*, 1997; 24:1240–2
178. Distefano G., Curreri R., Betta P., Romeo M.G., Amato M.: Procalcitonin serum levels in perinatal bacterial and fungal infection of preterm infants. *Acta Paediatr.*, 2004; 93:216–9
179. Sakha K., Husseini M.B., Seyyedsadri N.: The role of procalcitonin in diagnosis of neonatal sepsis and correlation between procalcitonin and c-reactive protein in these patients. *Pak. J. Biol. Sci.*, 2008; 11:1785–90
180. Kordek A., Giedrys-Kalemba S., Pawlus B., Podraza W., Czajka R.: Umbilical cord blood serum procalcitonin concentration in diagnosis of early neonatal infection. *J. Perinatol.*, 2003; 23:148–53

181. Korppi M., Remes S., Heiskanen-Kosma T.: Serum procalcitonin concentrations in bacterial pneumonia in children: A negative result in primary helthcare settings. *Pediatr. Pulmonol.* 2003; 35:56–61
182. Korppi M., Remes S.: Serum procalcitonin in pneumococcal pneumonia in children. *Eur. Resp. J.*, 2001; 17:623–7
183. Moulin F., Raymond J., Lorrot M., Marc E., Coste J., Iniguez J.L., Kalifa G., Bohuona C., Gendrel D.: Procalcitonin in children admitted to hospital with community acquired pneumonia. *Arch. Dis. Child.*, 2001; 84:332–336
184. Toikka P., Irjala K., Juvén T., Virkki R., Mertsola J., Leinonen M., Ruuskanen O.: Serum procalcitonin, C-reactive protein and interleukin – 6 for distinguishing bacterial and viral pneumonia in children. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19(7):598-602
185. Lachowska M., Gajewska E.: Ocena przydatności diagnostycznej oznaczania stężenia prokalcytoniny w surowicy noworodków z wrodzonym zapaleniem płuc. *Postępy Neonatologii*, 2005; 1:105–8
186. Corsino R., Los Arcos M., Concha A., Medina A., Prieto S., Martinez P., Prieto B.: Procalcitonin and C-reactive protein as markers of systemic inflammation response syndrome severity in critically ill children. *Intens. Care Med.*, 2007; 33:1108–9
187. Clec’h Ch., Ferriere F., Karoubi P., Fosse J.P., Cupa M., Hoang P., Cohen Y.: Diagnostic and prognostic value of procalcitonin in patients with septic shock. *Crit. Care Med.*, 2004; 32: 1166–9
188. Varsha R.U., Sikka M., Faridi M.M., Madan N.: Validity of hematologic parameters in identification of early and late onset neonatal infection. *Indian. J. Pathol. Microbiol.*; 2003; 46:565–8

189. Nigro K.G., O’Riordan M.A., Molloy E.J., Walsh M.C., Sandhaus L.M.: Performance of an automated immature granulocyte count as a predictor of neonatal sepsis. *Am. J. Clin. Pathol.*: 2005; 123:618–24

<b>Imię i nazwisko autora pracy</b>	Justyna Ferek
<b>Rok urodzenia autora pracy</b>	1975
<b>Imię i nazwisko promotora pracy</b>	Ryszard Lauterbach
<b>Wydział</b>	lekarski
<b>Instytut / Katedra</b>	Klinika Neonatologii Katedry i Kliniki Ginekologii i Położnictwa UJCM w Krakowie
<b>Dziedzina wg klasyfikacji KBN</b>	neonatologia
<b>Nadawany tytuł</b>	Doktor nauk medycznych

<b>Tytuł rozprawy w jęz. polskim</b>	Prokalcytonina w diagnostyce wrodzonych infekcji bakteryjnych
<b>Słowa kluczowe (max 5)</b>	Prokalcytonina, sepsa, noworodek
<b>Streszczenie rozprawy (max 1400 znaków)</b>	<p>Prokalcytonina została uznana za wiarygodny test w diagnostyce uogólnionej infekcji bakteryjnej u dorosłych i dzieci. Jej wartość diagnostyczna w diagnostyce sepsy w okresie noworodkowym poddawana jest w wątpliwość. W przeprowadzonym przeze mnie badaniu wśród 345 noworodków stężenie prokalcytoniny w surowicy w pierwszych 12 godzinach życia jest wyższe od stwierdzanego u zdrowych dorosłych. Żadne z analizowanych nieinfekcyjnych powikłań okołoporodowych nie wpłynęło na jej stężenie. Istnieje ujemna korelacja pomiędzy stężeniem prokalcytoniny a poziomem wapnia w surowicy noworodków w grupie noworodków bez infekcji. Oznaczone w pierwszych 12 godzinach życia stężenie</p>

prokalcytoniny w surowicy noworodków jest czułym i specyficznym markerem zespołu septycznego i sepsy. Nie stwierdzono podniesionego poziomu stężenia prokalcytoniny w przypadku wrodzonego zapalenia płuc. Stężenie prokalcytoniny w surowicy noworodków z sepsą o etiologii bakteryjnej Gram- jest wyższe, niż w sepsie wywołanej przez bakterie Gram+. Na podstawie jednorazowego oznaczenia PCT w surowicy w pierwszych 12 godzinach życia nie można przewidzieć wystąpienia powikłań sepsy. Czułość oznaczenia stężenia prokalcytoniny jest większa niż czułość oznaczenia stężenia CRP w surowicy czy ilości leukocytów lub płytek we krwi obwodowej. Nie obserwowano zmian ekspresji HLA-DR oraz antygenów CD14 i CD16 na monocytach w grupie noworodków z infekcją w porównaniu do grupy noworodków bez infekcji. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem prokalcytoniny w surowicy a ekspresją wymienionych powyżej antygenów na monocytach.

<b>Tytuł rozprawy w jęz. angielskim</b>	Procalcitonin as a diagnostic tool in vertical transmission sepsis
<b>Słowa kluczowe (max 5)</b>	Procalcitonin, sepsis, neonate
<b>Streszczenie rozprawy (max 1400 znaków)</b>	<p>Procalcitonin was recently put forward as a diagnostic tool of systemic bacterial infection and sepsis in children and adults. The value of this marker during the first days of life is controversial.</p> <p>In analysis among 345 neonates procalcitonin serum concentration during the first 12 hours of life is higher than those in adults. None of analyzed perinatal complications affected procalcitonin serum concentration during the first 12 hours of life. Lower calcium levels are correlated with procalcitonin serum concentration elevation in non – infected group. PCT serum concentration during the first 12 hours of life plays an important role in diagnosing early-onset clinical sepsis and sepsis. In congenital pneumonia the PCT serum concentration wasn't higher than those in non-infected group. Higher, but not significantly, serum procalcitonin concentration was observed in Gram-negative sepsis than in Gram-positive sepsis. There was no correlation between serum procalcitonin concentration and sepsis complications like multiorgan dysfunction, septic shock and death. PCT serum concentration sensitivity is higher compared to WBC, PLT, CRP concentration sensitivity. No significant differences in expression of human leucocyte antigen (HLA-DR), CD14 and CD16 on monocytes between groups with infection and non-infected</p>

	neonates were observed. There was also no correlation between PCT concentration and expression of human leucocyte antigen (HLA-DR), CD14 and CD16 antigens on monocytes.
--	--

\*Jeżeli rozprawa jest napisana w języku polskim, wystarczy wypełnić tabelę dot. rozprawy w jęz. polskim