

Utilità della determinazione della procalcitonina nel siero come marcatore precoce di infezione batterica con interessamento sistemico in pazienti pediatrici

Giampaolo Cattozzo¹, Daniela Graziani², Luigi Nespoli^{1,2}, Giancarlo De Luca^{1,2}

¹Azienda Ospedaliera Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi, Varese

²Università degli Studi dell'Insubria, Varese

ABSTRACT

Utility of serum procalcitonin determination as an early marker of invasive bacterial infections in children.

Procalcitonin is a protein encoded by the Calc-1 gene along with calcitonin. Blood concentrations of procalcitonin are increased in systemic inflammation caused by bacterial infection, rising independently of calcitonin. The aim of this study was to assess the diagnostic performance of procalcitonin for the early detection of invasive bacterial infections in children with fever evolution within 12 h. We recruited 19 children between 1 and 112 months of age. For children with invasive bacterial infections, serum procalcitonin values ranged from 0.4 to 9.7 µg/L (median, 2.17 µg/L; interquartile range 0.45-4.84 µg/L). For children with either local or viral infection procalcitonin ranged from 0.1 to 1.3 µg/L (median, 0.34 µg/L; interquartile range 0.22-0.48 µg/L). At the threshold of 0.5 µg/L, the sensitivity of procalcitonin for the diagnosis of invasive bacterial infections was 83%, specificity was 85%, positive predictive value 71% and negative predictive value 92%. At a threshold value of 1.5 µg/L, the specificity was 100%, whereas sensitivity was only 50%; positive and negative predictive values were 100% and 81%, respectively. We conclude that procalcitonin cutoffs of 0.5 µg/L and 1.5 µg/L may be adopted, with different levels of sensitivity and specificity, for the early diagnosis of invasive bacterial infections in children with fever evolution within 12 h.

INTRODUZIONE

La procalcitonina del siero è una proteina costituita da 116 amminoacidi, con sequenza identica a quella del proormone della calcitonina; il suo peso molecolare è di circa 14,5 kDa (1). La sintesi della procalcitonina è codificata dal gene Calc-1, presente nel cromosoma 11. Nel corso di infiammazione la sintesi di procalcitonina verrebbe indotta da fattori di trascrizione attivati dal processo infiammatorio che, legandosi alla regione promotrice del gene Calc-1, ne modulerebbero la trascrizione (2). Nel corso di gravi infezioni batteriche complicate da infiammazione sistemica si osservano elevate concentrazioni di procalcitonina nel sangue, senza che si verifichi la corrispondente increzione di calcitonina (2, 3); in queste condizioni la produzione di procalcitonina non sembra dipendere dalle cellule C della tiroide, che producono calcitonina. È stato dimostrato che la procalcitonina può essere sintetizzata e rilasciata dai leucociti, da macrofagi e monociti di vari organi e dalle cellule neuroendocrine del polmone e dell'intestino (2). Le endotossine batteriche sono i più efficaci stimolatori della sintesi e del rilascio di procalcitonina; questa può essere indotta anche dal "tumor necrosis factor- α ", dalle interleuchine 6, 1b e 2 e dalla fitoemoagglutina. L'increzione di procalcitonina può avere luogo anche indipendentemente dalla presenza di batteri; infatti, si osserva aumento della procalcitonina anche in seguito a colpi di calore, ustioni gravi, traumi multipli e interventi chirurgici (2). Quindi, l'aumento della concentrazione della procalcitonina non rap-

presenta una manifestazione diretta dell'infezione, ma riflette la risposta sistemica dell'organismo alla presenza dell'infezione (1).

Le modalità di eliminazione della procalcitonina non sono state del tutto chiarite; verosimilmente essa viene degradata per proteolisi ed eliminata per via renale (3); il suo tempo di dimezzamento è di 20-24 ore. La procalcitonina possiede emivita plasmatica più lunga rispetto alle principali citochine, perciò rispetto a queste presenta una più ampia finestra diagnostica.

La molecola della procalcitonina risulta sufficientemente stabile nei campioni biologici: nelle 24 ore successive al prelievo di sangue la concentrazione diminuisce di circa il 12% se la conservazione avviene a temperatura ambiente e di circa il 6% in caso di conservazione a 4 °C (3).

La concentrazione della procalcitonina nel siero di soggetti adulti sani è <0,5 µg/L, mentre nei primi giorni di vita essa è fisiologicamente più elevata; perciò è necessario utilizzare un diverso intervallo di riferimento e differenti criteri interpretativi, sia per neonati a termine che per nati prematuri (2). Nel corso dei processi infettivi la concentrazione della procalcitonina risulta correlata con il tipo e la diffusione dell'infezione. Non si osserva aumento della procalcitonina nel corso di malattie infiammatorie ad eziologia non batterica, come infezioni virali e malattie autoimmuni, e nemmeno nel corso di infezione batterica localizzata ad un singolo organo, ad eccezione delle polmoniti (3). In virtù delle sue capacità di identificare infiammazioni sistemiche gravi ad eziologia batterica e di variare la sua concentrazione in funzione dell'e-

voluzione di queste, la procalcitonina può essere utilizzata anche a scopo di monitoraggio e di valutazione prognostica: aumento e persistenza di alti valori di procalcitonina indicano progressione del processo infiammatorio e quindi una prognosi sfavorevole, mentre la diminuzione della procalcitonina indica attenuazione della reazione infiammatoria, rimozione del focolaio settico e quindi una prognosi favorevole. Dalle variazioni della concentrazione della procalcitonina nel siero possono quindi derivare indicazioni in merito alla necessità di approfondimenti diagnostici ed alla congruità della strategia terapeutica (2, 3).

Anche in età pediatrica la procalcitonina si è dimostrata utile per discriminare tra infezioni virali e batteriche e per identificare condizioni di batteriemia e sepsi, mostrando specificità diagnostica superiore a quella della proteina C-reattiva (2, 4, 5). La procalcitonina è risultata utile anche in fase di primo inquadramento diagnostico nei casi di rialzo termico in assenza di segni di localizzazione, permettendo di individuare precocemente i casi di infezione batterica con più grave evoluzione (4, 5). La rapidità della diagnosi di infezione batterica sistemica ha particolare rilevanza, poiché l'efficacia del trattamento terapeutico è condizionata dalla tempestività di intervento. Correntemente la diagnosi di sepsi si basa sull'accertamento di infezione mediante esami colturali, che non sono esenti da criticità (inadeguatezza del volume del campione, intermittenza della batteriemia, scarsità della carica batterica, pregressa applicazione di terapia antibiotica, risultati falsi negativi, lungo tempo per la disponibilità del risultato) (6). Scopo di questo lavoro è stata la valutazione dell'utilità diagnostica della determinazione della procalcitonina per individuare la presenza di infezioni batteriche con interessamento sistemico in pazienti pediatrici con febbre insorta da non più di 12 ore.

MATERIALI E METODI

Sono stati reclutati 19 pazienti di età compresa tra 1 e 112 mesi (mediana 17, intervallo interquartile 5-26), giunti al Pronto Soccorso Pediatrico del nostro Ospedale con febbre insorta da non più di 12 ore. Per tutti veniva ottenuto il Consenso Informato all'utilizzo dei campioni biologici raccolti. Erano esclusi dallo studio i pazienti di età inferiore ad un mese e quelli sottoposti a vaccinazione o ad interventi chirurgici nei giorni precedenti l'osservazione o che avessero assunto antibiotici nelle ultime 48 ore. Per valutare l'utilità diagnostica della procalcitonina, erano inclusi nel gruppo campione 6 pazienti con sepsi o gravi infezioni batteriche (meningite, broncopneumonia, infezione delle alte vie urinarie, otite media acuta, adenoidite) accompagnate da compromissione dello stato generale. Il gruppo di controllo comprendeva 13 pazienti affetti da altre malattie febbrili (gastroenterite da Rotavirus, faringite da Streptococco β -emolitico, varicella, tonsillite, sesta malattia, polmonite interstiziale da *Mycoplasma pneumoniae*, virosi, convulsione febbrile). Ciascun paziente veniva sottoposto a prelievo di sangue all'arrivo in Pronto Soccorso, dopo 12 ore e dopo 24 ore. Esami colturali di materiali biologici (sangue, liquido

cerebro-spinale, urina, secreto faringeo) erano eseguiti in base alle indicazioni cliniche.

La concentrazione della procalcitonina era misurata con metodo immunoluminometrico, utilizzando reagenti Brahms ed il luminometro Berthold LB9507 (Dasit). Questo metodo prevede l'impiego di due anticorpi monoclonali murini presenti in eccesso, specifici per due differenti epitopi della molecola della procalcitonina: il primo anticorpo è fissato sulla parete della provetta sensibilizzata, mentre il secondo è marcato con un derivato di acridinio. Il segnale analitico, proporzionale alla concentrazione della procalcitonina nel campione, viene convertito in valori di concentrazione mediante curva di calibrazione a 6 punti. I campioni di siero, ottenuti per centrifugazione entro 60 min dal prelievo, erano separati e conservati a -80 °C fino al momento dell'analisi.

La significatività delle differenze tra valori di procalcitonina misurati in campioni prelevati in differenti fasi temporali (prima osservazione, dopo 12 ore e dopo 24 ore) e la significatività delle differenze tra valori di procalcitonina misurati nella medesima fase temporale per il gruppo campione e per il gruppo di controllo erano valutate mediante test di Wilcoxon; valori di $P < 0,05$ erano ritenuti significativi. L'utilità clinica della determinazione della procalcitonina era valutata in termini di sensibilità e specificità diagnostica, valore predittivo del risultato negativo e valore predittivo del risultato positivo.

RISULTATI

La Figura 1 mostra i valori di procalcitonina, misurati alla prima osservazione, dopo 12 ore e dopo 24 ore per i pazienti inclusi nel gruppo campione e per i pazienti del gruppo di controllo. Per i pazienti appartenenti al gruppo campione la differenza tra valori di procalcitonina misurati alla prima osservazione e valori misurati dopo 12 ore risultava significativa, mentre non risultava significativa la differenza tra valori misurati alla 12^a ora e valori misurati alla 24^a ora.

All'ammissione in Pronto Soccorso, per i pazienti del gruppo campione, i valori di procalcitonina risultavano compresi tra 0,4 e 9,7 $\mu\text{g/L}$; la mediana era pari a 2,17 $\mu\text{g/L}$, il primo quartile era 0,45 $\mu\text{g/L}$ ed il terzo quartile risultava 4,84 $\mu\text{g/L}$. Per i pazienti del gruppo di controllo, i valori di procalcitonina erano compresi tra 0,1 e 1,3 $\mu\text{g/L}$, la mediana risultava 0,34 $\mu\text{g/L}$, il primo ed il terzo quartile erano pari a 0,22 $\mu\text{g/L}$ e 0,48 $\mu\text{g/L}$, rispettivamente ($P = 0,007$ verso il gruppo campione). Per valori superiori a 0,5 $\mu\text{g/L}$, la sensibilità diagnostica per infezioni batteriche con interessamento sistemico risultava essere 83%, mentre la specificità diagnostica era 85%; il valore predittivo del risultato positivo era 71% ed il valore predittivo del risultato negativo era 92%. Per valori di procalcitonina superiori a 1,5 $\mu\text{g/L}$, la specificità diagnostica era pari a 100%, mentre la sensibilità diagnostica era 50%; il valore predittivo del risultato positivo risultava essere 100% ed il valore predittivo del risultato negativo risultava essere 81%.

La Figura 2 illustra i valori di procalcitonina misurati per ciascuno dei pazienti inclusi nel gruppo campione

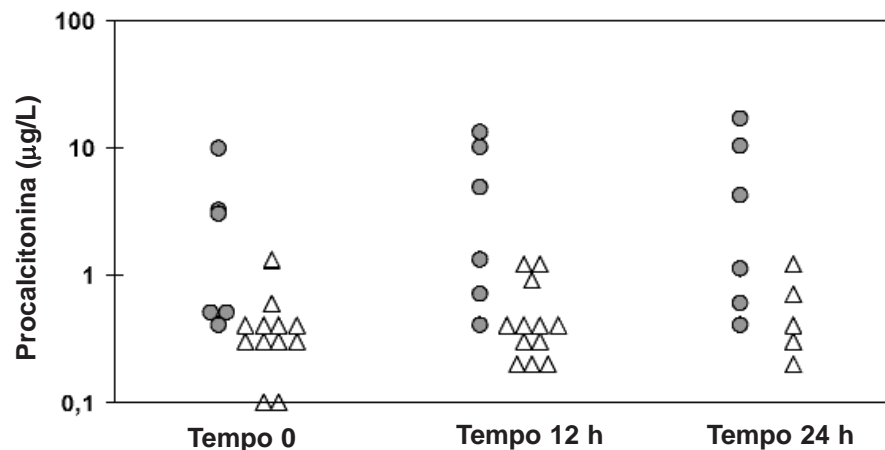


Figura 1

Concentrazioni di procalcitonina misurate all'arrivo in Pronto Soccorso (tempo 0), dopo 12 ore e dopo 24 ore per i pazienti del gruppo campione (tondi) e del gruppo di controllo (triangoli).

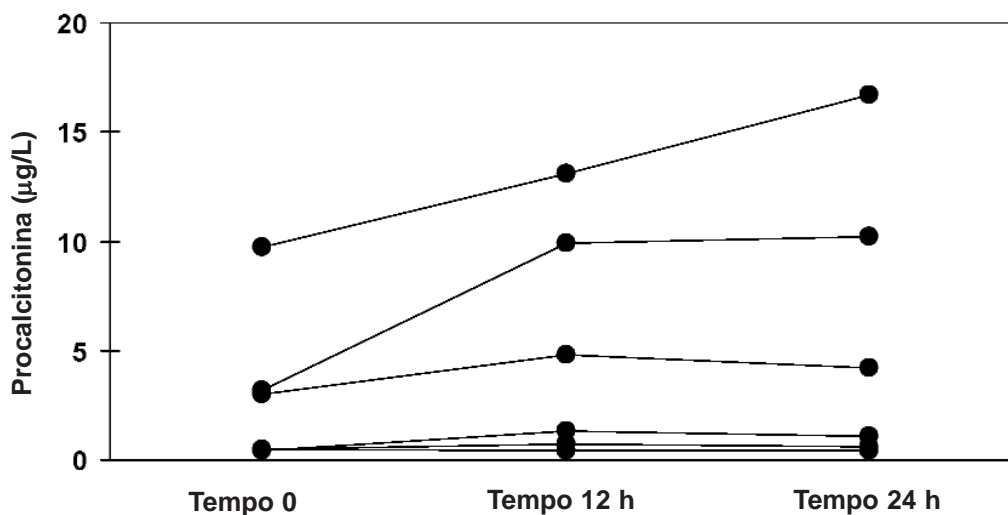


Figura 2

Concentrazioni di procalcitonina misurate nei pazienti con gravi infezioni batteriche all'arrivo in Pronto Soccorso (tempo 0), dopo 12 ore e dopo 24 ore.

alla prima osservazione, dopo 12 ore e dopo 24 ore. In linea generale, la concentrazione della procalcitonina presentava un aumento progressivo.

DISCUSSIONE

I dati raccolti nel corso di questo lavoro confermano che nella popolazione pediatrica la concentrazione plasmatica della procalcitonina presenta rapide elevazioni in risposta a stimoli infettivi: per i pazienti con febbre causata da infezione con interessamento sistemico insorta da meno di 12 ore, i valori misurati 12 ore dopo la prima osservazione sono significativamente più elevati di quelli misurati alla prima osservazione. Inoltre, i valori di procalcitonina misurati alla prima osservazione per i pazienti del gruppo campione erano significativamente più elevati di quelli misurati per i pazienti del gruppo di controllo.

I dati riportati indicano che entro 12 ore dall'insorgenza della febbre, valori di procalcitonina pari a $0,5 \mu\text{g/L}$ e $1,5 \mu\text{g/L}$ possono essere adottati nella pratica clinica per riconoscere, con differenti livelli di sensibilità e specificità diagnostica, la presenza di processi infettivi con interessamento sistemico. Questi valori decisionali sono sovrapponibili a quelli proposti per la popolazione adulta (1) e per particolari situazioni cliniche nell'infanzia (4, 5). In presenza di valori di procalcitonina $>1,5 \mu\text{g/L}$, l'elevato valore predittivo del risultato positivo può rappresentare un utile riferimento per decidere in merito all'applicazione della terapia antibiotica secondo una strategia più aggressiva. Per entrambi i valori decisionali proposti il valore predittivo del risultato negativo risulta inferiore a 100% (92% e 81%, rispettivamente), quindi concentrazioni di procalcitonina inferiori a questi livelli non forniscono indicazioni sufficienti per escludere la presenza di infezione batterica con interessamento sistemico e non

sono dirimenti in merito all'opportunità del trattamento antibiotico.

L'impiego della procalcitonina nella pratica clinica è stato proposto anche a scopo prognostico: nel corso di determinazioni seriate, la diminuzione della concentrazione indicherebbe prognosi favorevole, mentre aumento e persistenza di alti valori sembrano indicare il progredire dell'attività infiammatoria e quindi prognosi sfavorevole (5). I dati riportati nella Figura 2 dimostrano tuttavia che il monitoraggio della concentrazione della procalcitonina non fornisce indicazioni prognostiche nel corso delle 24 ore successive all'inizio della terapia antibiotica. Tutti i pazienti inclusi nel gruppo campione erano infatti efficacemente trattati con terapia antibiotica per via parenterale, applicata subito dopo la prima osservazione. L'emivita plasmatica della procalcitonina potrebbe spiegare questo andamento.

I risultati di questo lavoro dimostrano che nei pazienti pediatrici la determinazione della procalcitonina permette di identificare precocemente (entro 12 ore dall'insorgenza della febbre) le infezioni batteriche con interessamento sistemico. Nelle 24 ore successive all'inizio di un trattamento antibiotico, il monitoraggio della concen-

trazione della procalcitonina non fornisce tuttavia indicazioni prognostiche.

BIBLIOGRAFIA

1. Whicher J, Bienvenu J, Monneret G. Procalcitonin as an acute phase marker. *Ann Clin Biochem* 2001;38:483-93.
2. Merlotti C, Luraschi P. Procalcitonina: aspetti biochimici, metabolici, clinici ed analitici. *Biochim Clin* 2004;28:257-67.
3. Meisner M. Procalcitonin (PCT). A new, innovative infection parameter. *Biochemical and clinical aspects*. 3rd ed. Stuttgart: G. Thieme Verlag, 2000.
4. Fernandez Lopez A, Luaces Cubells C, Garcia Garcia JJ, et al. Procalcitonin in pediatric emergency departments for the early diagnosis of invasive bacterial infections in febrile infants: results of a multicenter study and utility of a rapid qualitative test for this marker. *Pediatr Infect Dis J* 2003;22:895-903.
5. van Rossum AMC, Wulkan RM, Oudesluys-Murphy AM. Procalcitonin as an early marker of infection in neonates and children. *Lancet Infect Dis* 2004;4:620-30.
6. Chiesa C, Panero A, Osborn JF, et al. Diagnosis of neonatal sepsis: a clinical and laboratory challenge. *Clin Chem* 2004;50:279-87.