

ارزش تشخیصی سطح پروکلسیتونین در مایع مغز نخاعی در افتراق مننژیت باکتریال از غیر باکتریال در افراد زیر ۱۹ سال مرکز طبی کودکان، ۸۳-۱۳۸۲

دکتر حمید رحیمی (استادیار)*، دکتر ایرج صدیقی (استادیار)**، دکتر ستاره ممیشتی (دانشیار)***، دکتر ثمینه نوربخش (دانشیار)****، دکتر آرزو کدخدائی، دکتر احمد سیادتی (استاد)***
* فوق تخصص عفونی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
** فوق تخصص عفونی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی همدان
*** فوق تخصص عفونی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تهران
**** فوق تخصص عفونی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی ایران

چکیده

مقدمه: تشخیص مننژیت باکتریال مشکل است بخصوص در کودکان کوچکتر که علائم و نشانه‌ها اغلب غیر اختصاصی هستند و به علت عارضه و مرگ و میر بالائی که دارد تشخیص زودرس آن حائز اهمیت است. اخیراً از پروکلسیتونین بعنوان یک مارکر عفونتهای شدید برای افتراق مننژیت باکتریال استفاده شده است. هدف از این مطالعه تعیین ارزش تشخیصی سطح پروکلسیتونین در CSF در افتراق مننژیت باکتریال از غیر باکتریال در افراد زیر ۱۹ سال است.

مواد و روشها: در یک مطالعه از نوع بررسی تست تشخیصی در سال ۸۳-۱۳۸۲، سطح پروکلسیتونین CSF در ۴۳ کودک بزرگتر از دو ماه مراجعه کننده به مرکز طبی کودکان سنجیده شد. بیماران براساس نتیجه Universal bacterial PCR به دو گروه مننژیت باکتریال (۱۱ نفر) و غیرباکتریال (۳۲ نفر) دسته‌بندی شدند. سپس سطح پروکلسیتونین بین دو گروه با تست آماری Mann-Whitney test مقایسه گردید.

یافته‌ها: سطح پروکلسیتونین در گروه مننژیت باکتریال نسبت مننژیت غیرباکتریال به طور معنی‌دار بالاتر بود (به ترتیب 1.772 ± 0.716 و 0.4 ± 0.716 ، $p < 0.001$). با در نظر گرفتن غلظت $> 0.5 \text{ ng/ml}$ بعنوان مارکر عفونت باکتریال حساسیت و ویژگی به ترتیب 90.1% و 97.1% بودند.

نتیجه‌گیری و توصیه‌ها: براساس نتایج به دست آمده می‌توان از سنجش پروکلسیتونین در CSF برای افتراق مننژیت باکتریال از غیرباکتریال استفاده کرد.

کلمات کلیدی: مننژیت، پروکلسیتونین، Universal PCR، کودکان

مقدمه

شایعترین علت تب همراه با علائم و نشانه های بیماری سیستم اعصاب مرکزی (CNS) عفونت حاد سیستم اعصاب مرکزی است (۱) که می تواند توسط انواع پاتوژن ها (باکتری ها، ویروس ها، قارچها و.....) ایجاد شده باشد.

به علت عوارض زیاد و مهم و همچنین نقشی که درمان در پیشگیری از عوارض دارد، در هر شیرخوار تبدار همراه با تغییرات سطح هوشیاری و یا سایر اختلالات عصبی باید منتزیت باکتریال جزء تشخیص های افتراقی قرار گرفته و اقدامات لازم جهت اثبات این تشخیص به عمل آید (۲،۱). تشخیص منتزیت باکتریال مشکل است بخصوص در کودکان کوچکتر که علائم و نشانه ها اغلب غیر اختصاصی هستند (۳-۱). با توجه به غیر اختصاصی بودن علائم و معاینات بالینی و اهمیت موضوع تشخیص منتزیت باکتریال اقدامات تشخیصی بیشتری لازم است که اولین قدم در امر تشخیص آنالیز، اسمیر و کشت CSF می باشد (۳-۱). شمارش گلبولهای سفید و شمارش افتراقی آنها در CSF، غلظت پروتئین و قند CSF فاقد حساسیت و اختصاصی بودن کافی جهت تائید یا رد منتزیت باکتریال می باشند (۳-۱، ۵). حساسیت رنگ آمیزی گرم CSF بین ۷۰-۹۰٪ (۱) یا تقریباً ۸۰٪ (۳) گزارش شده است و تشخیص قطعی با کشت مثبت CSF امکان پذیر است که در صورت عدم دریافت آنتی بیوتیک قبل از انجام LP در ۷۰-۸۰٪ موارد مثبت می شود (۲). اما طبق آمار بین ۲۵-۵۰٪ کودکانی که به علت منتزیت باکتریال LP می شوند قبل از انجام LP آنتی بیوتیک خوراکی دریافت داشته اند (۱) (Partially Treated meningitis)، که در این موارد میزان مثبت شدن رنگ آمیزی گرم و کشت CSF کاهش یافته و در مورد کشت CSF به زیر ۵۰٪ می رسد (۲). علی رغم مطمئن بودن انجام LP در اکثر موارد، گاهی از اوقات به علت شرایط خاص بیمار نیاز به تعویق انداختن LP می باشد که در این موارد توصیه به شروع آنتی بیوتیک تزریقی می شود که متعاقباً آن استریل شدن CSF سریعاً رخ داده و در مورد مننگوکوک در عرض ۲ ساعت و در مورد پنوموکوک در عرض ۴ ساعت پس از شروع آنتی بیوتیک CSF استریل می گردد (۶). تمام

موارد فوق بیانگر نیاز به روشهای تکمیلی جهت تائید و یا رد منتزیت باکتریال است (۳،۲).

اخیراً تحقیقاتی در مورد پروکلستینون در تشخیص عفونت های شدید باکتریال و از جمله منتزیت باکتریال صورت گرفته است. پروکلستینون (PCT) یک گلیکوپروتئین ۱۱۶ اسید آمینه ای می باشد که تحت شرایط نرمال توسط سلول های C غده تیروئید به عنوان پیش ساز هورمون کلستینون ساخته می شود و پس از شکست شدن در بافتهای ریه و پانکراس منجر به تولید کلستینون و دو مولکول دیگر می شود (۱۱). مقادیر PCT در گردش خون عموماً خیلی پائین است و در افراد طبیعی عمدتاً کمتر از ۰/۰۱ ng/ml می باشد (۱۲). در طی عفونتهای ویروسی و بیماری های التهابی سطح سرمی PCT بطور مختصر افزایش می یابد ولی به ندرت به مقادیر بالاتر از ۱ ng/ml می رسد. اما در عفونتهای شدید باکتریایی سطح سرمی PCT تا ۲۰۰ ng/ml-۲۰ افزایش می یابد و این تغییر عمده در غلظت PCT در سرم آنرا به مارکر سودمندی بخصوص در امر تشخیص و احتمالاً در تعیین پیش آگهی عفونتهای باکتریایی تبدیل کرده است (۱۲). برای اولین بار ژندرل و همکاران (۱۷) در سال ۱۹۹۳ ارزش پروگنوستیک PCT در شدت و سیر پاسخهای التهابی به عفونت های باکتریال و قارچی را نشان دادند. پس از آن در مطالعات متعدد، همراهی نزدیک سطح سرمی PCT با عفونتهای باکتریال تهاجمی شدید و کاهش آن پس از درمان آنتی بیوتیکی مناسب نشان داده شد (۱۷-۲۲، ۱۲، ۱۱). در طی مطالعات انجام شده در مورد منتزیت های باکتریال، سودمندی سنجش سطح سرمی PCT نشان داده است (۳۲-۲۳) که با حساسیت و ویژگی بیش از ۹۰٪ قادر به افتراق منتزیت های باکتریال و ویرال می باشد. در مورد سطح PCT در CSF مطالعات انجام شده محدود و نتایج ناهماهنگ (inconclusive) می باشد.

مواد و روش ها

مطالعه ما از نوع بررسی تست تشخیصی بود تست مورد نظر جهت سنجش سطح پروکلستینون در CSF توسط کیت

مربوط به بیماران از روی پرونده و آزمایشات به پرسشنامه وارد شدند. (ضمیمه پایان نامه) نمونه های فریز شده سرم و CSF جهت انجام آزمایشات در کلمن های مخصوص به آزمایشگاه فرستاده شدند.

بر روی نمونه CSF تست PCR انجام شد و بر اساس پاسخ آن بیماران هر کدام در هر یک از گروه های مننژیت باکتریال یا غیرباکتریال جای گرفتند جهت آزمون PCR نمونه های CSF که در دمای 20°C نگهداری شده بودند ذوب شده و پس از اینکه در یک میکروساترفوژ بطور مختصر چرخانده شدند میزان $15\ \mu\text{l}$ از آن جهت الگوی (Template) واکنش PCR بکار برده شدند.

بر روی نمونه CSF فریز شده نیز اندازه گیری غلظت پروکلستونین صورت گرفت. این تست برای مولکول پروکلستونین اختصاصی است و حدود دقت (Detection limit) این تست $0/1\ \text{ng/ml}$ است. میزان CSF لازم جهت این تست هر کدام $20\ \mu\text{l}$ می باشد. آزمایش با روش پیشنهاد شده توسط کارخانه سازنده انجام شد. کلیه آزمایش کننده ها از فرضیات انجام مطالعه کاملاً بی اطلاع بودند و نمونه های ارسالی کاملاً کدگذاری شده بودند.

روش تجزیه و تحلیل پس از جمع آوری کامل داده ها، اطلاعات وارد نرم افزار SPSS شد و براساس سطح سرمی PCT در دو گروه مننژیت باکتریال و غیرباکتریال توسط تست آماری Non parametric Mann Whitney مقایسه شدند.

یافته ها

کل موارد مورد مطالعه ۴۳ مورد بودند که براساس پاسخ universal PCR، ۱۱ مورد در گروه بیماران مبتلا به مننژیت باکتریال و بقیه در گروه بیماران مبتلا به مننژیت غیر باکتریال دسته بندی شدند. مشخصات سنی و جنسی بیماران مبتلا به مننژیت باکتریال و غیر باکتریال در جدول (۱) آمده است. یافته های سیتولوژی و بیوشیمیایی CSF در دو گروه بیماران مبتلا به مننژیت باکتریال و غیرباکتریال در جدول (۲) آمده است.

"LUMITEST , Berlin , Germany" و "B.R.A.H.M.S Procalcutionin" و با روش Immunoluminometry انجام شد. Gold Standard برای افتراق مننژیت باکتریال از غیرباکتریال Broad Range Bacterial PCR (Universal PCR) است که شامل ترکیب آنزیمی خاصی بود که این ترتیب آنزیمی جهت ژن 16 SRNA باکتریها است و قادر به amplify کردن تمام انواع باکتریها است (۱۰،۴۸) و قادر است با حساسیت ۱۰۰٪ و ویژگی ۹۸/۲٪ مننژیت باکتریال را از غیر باکتریال تشخیص دهد. به منظور انجام مطالعه تعداد ۴۰ کودک ۱ ماهه تا ۱۸ ساله که ۲۰ نفر مبتلا به مننژیت باکتریال و ۲۰ نفر مبتلا به مننژیت غیر باکتریال باشد به طریقه زیر وارد مطالعه شدند.

از کلیه بیماران ۱ ماهه تا ۱۸ ساله تب دار ($38.5 \leq T$) (رکتال) که با شک به مننژیت در مرکز طبی کودکان (بیمارستان دکتر حسن اهری) از آذرماه ۱۳۸۲ تا تیر ماه ۱۳۸۳ پذیرش شدند، بطور روتین نمونه خون جهت کشت خون، CRP, ESR, diff-CBC و بیوشیمی فرستاده شد. جهت مطالعه $100\ \mu\text{cc}$ خون اضافی در لوله لخته گرفته شد. بیماران مشکوک به ابتلا به مننژیت در صورت نداشتن منع (شوک، اختلال در تنفس یا جریان خون، یا علائم افزایش ICP، ترومبوسیتوپنی و عفونت در محل LP (۱) LP) شدند. نمونه CSF به طور روتین جهت کشت، اندازه گیری غلظت قند، پروتئین، شمارش سلول ها و شمارش افتراقی آنها و رنگ آمیزی گرم به آزمایشگاه بیمارستان ارسال گردید. برای این مطالعه $100\ \mu\text{cc}$ از نمونه CSF در لوله استریل نیز گرفته شد.

نمونه های سرم در دمای 20°C و نمونه CSF ابتدا در 4°C و سپس پس از ۱۲ ساعت در صورت انجام نشدن آزمایش در 20°C نگهداری شدند.

افرادی که پاسخ آزمایش CSF آنها پروتئین $>50\ \text{mg/dl}$ و یا قند $<40\ \text{mg/dl}$ و یا لکوسیت $<100/\mu\text{l}$ را نشان داد به عنوان مبتلا به مننژیت شناخته شده و وارد مطالعه ما شدند. نمونه گیری به صورت غیراحتمالی متوالی بود. بیمارانی که <48 ساعت تحت درمان با آنتی بیوتیک تزریقی بودند از مطالعه خارج شدند.

ابتدا اسامی بیماران کد گذاری شدند و با توجه به آن بر روی نمونه های سرم و CSF نیز کد گذاشته شدند. داده های

جدول ۱- مشخصات دو گروه بیماران مبتلا به مننژیت باکتریال و مننژیت غیر باکتریال

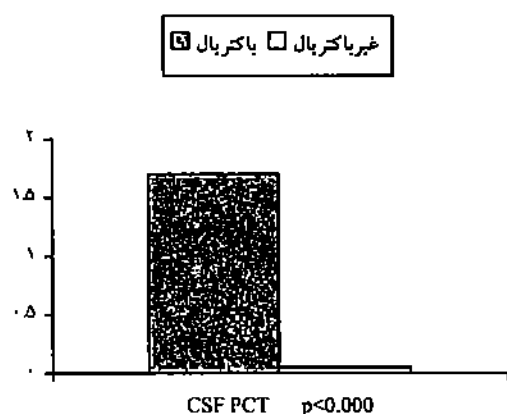
P-value	مننژیت باکتریال n= ۱۱	مننژیت غیر باکتریال n= ۳۲	سن (ماه) Mean ± SD (min- max)
۰/۴۹	۲۹/۴±۲۴/۸ (۵-۸۲)	۲۵/۹±۳۱/۵ (۳-۱۵۶)	
۰/۷۲۸	۶/۵	۳۳/۱۳	جنس (♂/♀)*

M= male F= female *

جدول ۲- یافته‌های CSF در دو گروه بیماران مبتلا به مننژیت باکتریال و غیر باکتریال

Mean ± SD (minimum- maximum)

P-value	مننژیت باکتریال n=11	مننژیت غیر باکتریال n=32	پارامتر CSF
۰/۰۰۰	۷۴۰/۹±۴۲۹/۵ (۱۲۰-۱۳۰۰)	۱۲۲/۴±۱۷۱/۶ (۱۲-۸۵۰)	WBC(total) (10 ⁶ /L)
۰/۰۰۰	۶۲۴/۱±۳۸۱/۸ (۱۰۸-۱۱۹۶)	۳۹/۸±۱۴۰/۵ (۰-۷۶۵)	PMN (10 ⁶ /L)
۰/۰۷۶	۱۱۶/۷±۷۱/۹ (۱۲-۲۳۱)	۸۶/۴±۹۳/۶ (۸-۴۰۸)	Lymph (10 ⁶ /L)
۰/۰۰۰	۱۴۸/۸±۷۱/۷ (۶۰-۳۱۰)	۵۱/۶±۲۸/۹ (۱۰-۱۱۰)	Protein (mg/dL)
۰/۰۰۰	۰/۳۸±۰/۲۱ (۰/۲۱-۰/۶۷)	۰/۶۵±۰/۱۶ (۰/۲۱-۰/۹)	CSF/Serum Glu ratio
۰/۰۰۰	۱۱	.	+ Ve Universal (Broad-Range bacterial) PCR



شکل ۱- مقایسه غلظت PCT در CSF در مننژیت باکتریال و غیر باکتریال

با در نظر گرفتن غلظت 0.5 ng/ml بعنوان مرز بین غلظت طبیعی و افزایش یافته PCT و با استفاده از تست آماری Mann-Whitney U test دو گروه بیماران مبتلا به مننژیت باکتریال و غیر باکتریال با P Value < 0.001 تفاوت معنی‌دار دارند. که همین رابطه معنی‌دار با بکار بردن تست آماری fisher's exact test تأیید می‌شود.

مشخصات کشت CSF گروه بیماران مبتلا به مننژیت باکتریال در جدول (۳) آمده است.

غلظت PCT در CSF در دو گروه بیماران مبتلا به مننژیت باکتریال و غیر باکتریال برحسب (ng/ml) در جدول ۴ آمده است.

جدول ۳- مشخصات کشت CSF در بیماران مبتلا به مننژیت باکتریال (n= ۱۱)

نوع میکروب جدا شده	درصد	تعداد	
-	٪۷۲	۸	کشت منفی
بنزموکوک ۱ متنگروکوک ۱	٪۲۸	۳	کشت مثبت
هموفیلوس آنفولانزا ۱			

جدول ۴- سطح PCT در CSF در دو گروه بیماران مبتلا به مننژیت باکتریال و غیر باکتریال برحسب (ng/ml)

مننژیت غیر باکتریال n= ۳۲	مننژیت باکتریال n= ۱۱
۰/۰۴±۰/۱۶ (۰-۰/۹)	۱/۷۲±۰/۹ (۰/۱-۳)

با قرار دادن میزان 0.5 ng/ml بعنوان مرز میان میزان طبیعی و افتراق یافته PCT در CSF، تنها یکی از بیماران مبتلا به مننژیت باکتریال PCT در CSF در محدوده طبیعی (0.1 ng/ml) بوده است و یکی از بیماران مبتلا به مننژیت غیر باکتریال سطح سرمی PCT در CSF بیش از حد طبیعی (0.6 ng/ml) داشته است.

امروزه تشخیص مننژیت باکتریال براساس یافته‌های سیتولوژی و بیوشیمیایی CSF و اسمیر و کشت مثبت CSF است. نتایج کشت CSF همیشه مثبت نیست و در صورت مثبت بودن هم احتیاج به ۲۴ تا ۴۸ ساعت گذشت زمان دارد. از طرف دیگر هیچکدام از یافته‌های دیگر در آنالیز CSF و یا آزمایشات خون قادر نیست که به تنهایی تشخیص افتراقی قطعی بین مننژیت باکتریال و غیرباکتریال قائل شود (۳،۲). در مطالعه ما هم شبیه سایر مطالعات ذکر شده هم‌پوشانی برای تمامی اندکس‌های بدست آمده در آنالیز سیتولوژی و بیوشیمیایی CSF در بین دو گروه بیماران مبتلا به مننژیت باکتریال و غیر باکتریال دیده می‌شود و آنچه در بررسی انجام شده جالب توجه است میزان مثبت بودن رنگ‌آمیزی گرم (37%) و کشت (28%) در مرکز ما است که نسبت به آنچه در متون کلاسیک (رفرانس) آمده است (به ترتیب 50% و بیش از 90%) این درصد پایین است که بخصوص در مورد کشت کمتر از $1/4$ می باشد که شاید علت آن دریافت آنتی‌بیوتیک (خوراکی و یا تزریقی) قبل از انجام LP باشد و البته تکنیک کشت و رنگ‌آمیزی هم مسلماً در این امر دخیل هستند.

براساس نتایج بدست آمده این تحقیق و مقالات مشابه پیشنهاد می‌شود که با توجه به حساسیت و ویژگی بالا و سهولت و سرعت آزمایش از سنجش سطح PCT در CSF در افتراق مننژیت باکتریال از غیر باکتریال استفاده شود. بدیهی است با انجام این آزمایش با ابعاد گسترده‌تر و بصورت چند مرکزی نتایج معتبرتری بدست خواهد آمد، درضمن این مطالعه نیز از این به بعد در قالب یک طرح تحقیقاتی چند مرکزی ادامه می‌یابد.

غلظت PCT در CSF به میزان 0.5 ng/ml قادر است با حساسیت 90.9% و ویژگی 97.1% بین مننژیت باکتریال و غیرباکتریال افتراق بگذارد.

بحث

مطالعه انجام شده نشان داده است که سطح PCT در CSF در بیماران مبتلا به مننژیت باکتریال بطور معنی‌دار نسبت به بیماران مبتلا به مننژیت غیر باکتریال بالاتر است (به ترتیب $1.72 \pm 0.9 \text{ ng/ml}$ در مقابل $0.45 \pm 0.166 \text{ ng/ml}$ با $P = 0.000$) و غلظت PCT در CSF به میزان 0.5 ng/ml بعنوان مرز میان طبیعی و افزایش یافته غلظت PCT قادر است که با حساسیت 90.1% و ویژگی 97.1% بیماران مبتلا به مننژیت باکتریال را از بیماران مبتلا به مننژیت غیر باکتریال افتراق دهد.

در مورد تغییرات غلظت PCT در CSF در طی مننژیت باکتریال اختلاف نظرهای زیادی وجود دارد. در مطالعات اولیه ژندرل و همکاران (۲۲) و نیز ویلان و همکاران (۲۰) در مطالعاتی که انجام داده‌اند ارزش کمی برای غلظت PCT در CSF جهت افتراق مننژیت باکتریال و غیر باکتریال قابل شده‌اند. اما در مطالعات اخیر بخصوص تحقیقی که ژرب و همکاران در سال ۲۰۰۱ انجام داده است (۲۷) و در طی یک بررسی به دقت کنترل شده برای افتراق مننژیت باکتریال از غیر باکتریال براساس غلظت PCT در CSF ارزش زیادی قابل شده‌اند (با در نظر گرفتن غلظت 0.5 ng/ml > ارزش اخباری مثبت 100% و ارزش اخباری منفی 74% بدست آمده است) همچنین در بررسی این محققان بطور متوسط کلیه بیماران که غلظت PCT در CSF در آنها بیش از 0.5 ng/ml بوده است، سطح سرمی PCT بالاتری نسبت به بیمارانی که غلظت PCT در CSF آنها کمتر از 0.5 ng/ml بوده است، داشته‌اند اما این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبوده است.

منابع

1. Charles G. Prober: Central nervous system infection In Behrman, Keligman, Jenson edi. Nelson Textbook of Pediatrics 17th edition 2004; 2038-2047
2. Saez-Llorens X, McCracken GH Jr: Bacterial meningitis in children. Lancet. 2003 Jun 21; 361(9375):2139-48.
3. El Bashir H, Laundry M, Booy R. Diagnosis and treatment of bacterial meningitis. Arch Dis Child. 2003 Jul; 88(7):615-20. Review.
4. Thomas KE, Hasbun R, Jekel J, Quagliarello VJ. The diagnostic accuracy of Kernig's sign, Brudzinski's sign, and nuchal rigidity in adults with suspected meningitis. Clin Infect Dis. 2002 Jul 1; 35(1):46-52. Epub 2002 Jun 05.
5. Tunkel AR, Scheld WM. Acute bacterial meningitis. Lancet. 1995 Dec 23-30; 346(8991-8992):1675-80.
6. Kanegaye JT, Soliemanzadeh P, Bradley JS. Lumbar puncture in pediatric bacterial meningitis: defining the time interval for recovery of cerebrospinal fluid pathogens after parenteral antibiotic pretreatment. Pediatrics. 2001 Nov; 108(5):1169-74.
7. Tarafdar K, Rao S, Recco RA, Zaman MM. Lack of sensitivity of the latex agglutination test to detect bacterial antigen in the cerebrospinal fluid of patients with culture-negative meningitis. Clin Infect Dis. 2001 Aug 1; 33(3):406-8. Epub 2001 Jun 21.
8. Backman A, Lantz P, Radstrom P, Olcen P. Evaluation of an extended diagnostic PCR assay for detection and verification of the common causes of bacterial meningitis in CSF and other biological samples. Mol Cell Probes. 1999 Feb; 13(1):49-60.
9. Kotilainen P, Jalava J, Meurman O, Lehtonen OP, Rintala E, Seppala OP, Eerola E, Nikkari S. Diagnosis of meningococcal meningitis by broad-range bacterial PCR with cerebrospinal fluid. J Clin Microbiol. 1998 Aug; 36(8):2205-9.
10. Saravolatz LD, Manzor O, VanderVelde N, Pawlak J, Belian B. Broad-range bacterial polymerase chain reaction for early detection of bacterial meningitis. Clin Infect Dis. 2003 Jan 1; 36(1):40-5. Epub 2002 Dec 12.
11. Carrol ED, Thomson AP, Hart CA. Procalcitonin as a marker of sepsis. Int J Antimicrob Agents. 2002 Jul; 20(1):1-9.
12. Gendrel D, Bohuon C. Procalcitonin as a marker of bacterial infection. Pediatr Infect Dis J. 2000 Aug; 19(8):679-87.
13. Nijsten MW, Olinga P, The TH, et al. Procalcitonin behaves as a fast responding acute phase protein in vivo and in vitro. Crit Care Med 2000;28:458_/61.
14. Wrenger S, Kahne T, Bohuon C, Weglohner W, Ansorge S, Reinhold D. Amino-terminal truncation of procalcitonin, a marker for systemic bacterial infections, by dipeptidyl peptidase IV. FEBS Lett 2000; 466:155-9.
15. Oberhoffer M, Vogelsang H, Jager L, Reinhart K. Katalcalcin and calcitonin immunoreactivity in different types of leukocytes indicate intracellular procalcitonin content. J Crit Care 1999; 14:29-33.
16. Oberhoffer M, Stonans I, Russwurm S, et al. Procalcitonin expression in human peripheral blood mononuclear cells and its modulation by lipopolysaccharides and sepsis-related cytokines *in vitro*. J Lab Clin Med 1999; 134:49-55.
17. Gendrel D, Assicot M, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. Lancet. 1993 Feb 27; 341(8844):515-8.
18. Smith MD, Suputtamongkol Y, Chaowagul W, et al: Elevated serum procalcitonin levels in patients with melioidosis. Clin Infect Dis 1995; 20:641-645.
19. Gendrel D, Assicot M, Raymond J, et al: Procalcitonin as a marker for the early diagnosis of neonatal infection. J Pediatr 1996; 128:570-573.

20. Al-Nawas B, Shah PM: Procalcitonin in patients with and without immuno-suppression and sepsis. *Infection* 1996; 24:434-436.
21. Chiesa C, Panero A, Rossi N, et al: Reliability of procalcitonin concentrations for the diagnosis of sepsis in critically ill neonates. *Clin Infect Dis* 1998; 26:664-672.
22. Monneret G, Labaune JM, Isaac C, et al: Procalcitonin and C-reactive protein levels in neonatal infections. *Acta Paediatr* 1997; 86:209-212.
23. Mary R, Veinberg F, Couderc R. [Acute meningitidis, acute phase proteins and procalcitonin]. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2003 Mar-Apr; 61(2):127-37.
24. Nathan BR, Scheld WM. The potential roles of C-reactive protein and procalcitonin concentrations in the serum and cerebrospinal fluid in the diagnosis of bacterial meningitis. *Curr Clin Top Infect Dis*. 2002; 22:155-65.
25. Marc E, Menager C, Moulin F, Stos B, Chalumeau M, Guerin S, Lebon P, Brunet F, Raymond J, Gendrel D. [Procalcitonin and viral meningitis: reduction of unnecessary antibiotics by measurement during an outbreak] *Arch Pediatr*. 2002 Apr; 9(4):358-64.
26. Shimetani N, Shimetani K, Mori M. Levels of three inflammation markers, C-reactive protein, serum amyloid A protein and procalcitonin, in the serum and cerebrospinal fluid of patients with meningitis. *Scand J Clin Lab Invest*. 2001; 61(7):567-74.
27. Jereb M, Muzlovic I, Hojker S, Strle F. Predictive value of serum and cerebrospinal fluid procalcitonin levels for the diagnosis of bacterial meningitis. *Infection*. 2001 Aug; 29(4):209-12.
28. Schwarz S, Bertram M, Schwab S, Andrassy K, Hacke W. Serum procalcitonin levels in bacterial and abacterial meningitis. *Crit Care Med*. 2000 Jun; 28(6):1828-32.
29. Viallon A, Pouzet V, Zeni F, Tardy B, Guyomarc'h S, Lambert C, Page Y, Bertrand JC. [Rapid diagnosis of the type of meningitis (bacterial or viral) by the assay of serum procalcitonin]. *Presse Med*. 2000 Mar 25; 29(11):584-8.
30. Viallon A, Zeni F, Lambert C, Pozzetto B, Tardy B, Venet C, Bertrand JC. High sensitivity and specificity of serum procalcitonin levels in adults with bacterial meningitis. *Clin Infect Dis*. 1999 Jun; 28(6):1313-6.
31. Bohuon C, Assicot M, Raymond J, Gendrel D. [Procalcitonin, a marker of bacterial meningitis in children]. *Bull Acad Natl Med*. 1998; 182(7):1469-75.
32. Gendrel D, Raymond J, Assicot M, Moulin F, Iniguez JL, Lebon P, Bohuon C. Measurement of procalcitonin levels in children with bacterial or viral meningitis. *Clin Infect Dis*. 1997 Jun; 24(6):1240-2.
33. Gendrel D, Raymond J, Coste J, et al. 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.
34. De Werra I, Jaccard C, Betz Corradin S, et al. Cytokines, NO₃/NO₂, soluble TNF receptors and procalcitonin levels: comparisons in patients with septic shock, cardiogenic shock and bacterial pneumonia. *Crit Care Med* 1997; 25:607-13.
35. Oberhoffer M, Karzai W, Meier-Hellmann A, Bogel D, Fassbinder J, Reinhart K. Sensitivity and specificity of various markers of inflammation for the prediction of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in patients with sepsis. *Crit Care Med* 1999; 27:1814-8.
36. Carlet J. Rapid diagnostic methods in the detection of sepsis. *Infect Dis Clin North Am* 1999; 13:483-94.
37. Troillet N, Liaudat S, Carrat C, Dayer E, Praz G, Bille J. Predictive value for bacteremia of procalcitonin in patients who undergo blood cultures [Abstract 2123]. In: 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, September 26 to 29, 1999. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1999.

38. Hatherill M, Tibby SM, Sykes K, Turner C, Murdoch IA. Diagnostic markers of infection: comparison of procalcitonin with C reactive protein and leukocyte count. *Arch Dis Child* 1999; 81:417-21.
39. Enguix A, Rey C, Concha A, Medina A, Coto D, Dieguez MA. Comparison of procalcitonin with C-reactive protein and serum amyloid for the early diagnosis of bacterial sepsis in critically ill neonates and children. *Intensive Care Med.* 2001 Jan; 27(1):211-5.
40. Schroder J, Staubach KH, Zabel P, Stuber F, Kremer B. Procalcitonin as a marker of severity in septic shock. *Langenbecks Arch Surg* 1999; 384:33-8.
41. Petros S, Leonhardt U, Engelmann L. Serum procalcitonin and pro-inflammatory cytokines in a patient with acute severe leptospirosis. *Scand J Infect Dis* 2000; 32:104-5.
42. Toikka P, Irjala K, Juven 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 Jul; 19(7):598-602.
43. Moulin F, Raymond J, Lorrot M, Marc E, Coste J, Iniguez JL, Kalifa G, Bohuon C, Gendrel D. Procalcitonin in children admitted to hospital with community acquired pneumonia. *Arch Dis Child.* 2001 Apr; 84(4):332-6.
44. Benador N, Siegrist CA, Gendrel D, et al. Procalcitonin is a marker of severity of renal lesions in pyelonephritis. *Pediatrics* 1998; 102:1422-5.
45. Gervaix A, Galetto-Lacour A, Gueron T, et al. Usefulness of procalcitonin and C-reactive protein rapid tests for the management of children with urinary tract infection. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20:507-11.
46. Benador M, Siegrist C, Gendrel D, et al. Procalcitonin is a marker of severity of renal lesions in pyelonephritis. *Pediatrics* 1998; 102:1422-5.
47. Hoffmann O, Reuter U, Masuhr F, Holtkamp M, Kassim N, Weber JR. Low sensitivity of serum procalcitonin in bacterial meningitis in adults. *Scand J Infect Dis.* 2001;33(3):215-8.