

UNIVERSITATEA „LUCIAN BLAGA”

FACULTATEA DE MEDICINĂ

SIBIU

**IMPORTANȚA TESTELOR INFLAMATORII ÎN
ORIENTAREA ETIOLOGICĂ A UNOR INFECȚII ȘI ÎN
MONITORIZAREA EVOLUȚIEI LOR**

Rezumatul tezei de doctorat

**THE IMPORTANCE OF INFLAMMATORY
MARKERS FOR ETIOLOGY OF SOME
INFECTIOUS DISEASES AS WELL AS IN
MONITORING THEIR EVOLUTION**

Summary of the doctoral thesis

Conducător științific: Prof. Univ. Dr. MIHAI LEONIDA NEAMȚU

Doctorand: dr. CRISTINA ZAVARACHE

SIBIU 2013

CUPRINS

I.PARTEA GENERALĂ

1.		
2.	DIAGNOSTICUL ETIOLOGIC AL INFECȚIEI CORELAT CU TESTELE INFLAMATORII.....	5
1.	2.1. METODE DE LABORATOR UTILIZATE ÎN DIAGNOSTICUL INFECȚIILOR BACTERIENE.....	5
2.	2.2. METODE DE LABORATOR UTILIZATE ÎN DIAGNOSTICUL VIRUSOLOGIC	6
3.	CULTURI VIRALE	6
4.	MICROSCOPIA ELECTRONICĂ	6
5.	CITOLOGIA.....	6
6.	METODE MOLECULARE DE DIAGNOSTIC.....	7
7.	SEROLOGIE	7
3.	TESTELE INFLAMATORII ȘI INFECȚIILE	8
8.	3.1.LEUCOCITELE.....	8
9.	3.2 VITEZA DE SEDIMENTARE A HEMATILOR (VSH).....	10
10.	3.3. PROTEINA C REACTIVĂ (CRP).....	11
11.	3.4. CITOKINELE	12
12.	3.5. PROCALCITONINA.....	12
13.	3.6. HEMOGLOBINA.....	13
14.	3.7. FOSFOLIPAZA A 2.....	13
15.	3.8. ELASTAZA.....	13
16.	3.9. NEOPTERINA	13
17.	3.10. HLA- DR	14
18.	5. PREMIZE	15
19.	7. MATERIAL ȘI METODA DE CERCETARE.....	16
9.	DISCUȚII.....	28
	ABSTRACT	39

SUMMARY

I.GENERAL PART

1.		
2.	DIAGNOSTICUL ETIOLOGIC AL INFECȚIEI CORELAT CU TESTELE INFLAMATORII.....	5
20.	2.1. METODE DE LABORATOR UTILIZATE ÎN DIAGNOSTICUL INFECȚIILOR BACTERIENE.....	5
21.	2.2. METODE DE LABORATOR UTILIZATE ÎN DIAGNOSTICUL VIRUSOLOGIC	6
22.	CULTURI VIRALE	6
23.	MICROSCOPIA ELECTRONICĂ	6
24.	CITOLOGIA.....	6
25.	METODE MOLECULARE DE DIAGNOSTIC	7
26.	SEROLOGIE	7
3.	TESTELE INFLAMATORII ȘI INFECȚIILE	8
27.	3.1.LEUCOCITELE.....	8
28.	3.2 VITEZA DE SEDIMENTARE A HEMATILOR (VSH).....	10
29.	3.3. PROTEINA C REACTIVĂ (CRP).....	11
30.	3.4. CITOKINELE	12
31.	3.5. PROCALCITONINA.....	12
32.	3.6. HEMOGLOBINA.....	13
33.	3.7. FOSFOLIPAZA A 2.....	13
34.	3.8. ELASTAZA.....	13
35.	3.9. NEOPTERINA	13
36.	3.10. HLA- DR	14
37.	5. PREMIZE	15
38.	7. MATERIAL ȘI METODA DE CERCETARE.....	16
9.	DISCUȚII.....	28
	ABSTRACT	39

I.PARTEA GENERALĂ

39. REACȚIA INFLAMATORIE SISTEMICĂ

Reacția inflamatorie reprezintă un mecanism nespecific de apărare al organismului față de un agent nociv: bacterie, virus, autoanticorpi, tumoră, factor fizic, chimic sau traumatic. **Reacția** poate fi numai **locală** interesând un anumit tip de țesut sau teritoriu, un anumit organ, o anumită zonă a organismului sau poate antrena o **reacție sistemică** (febră, leucocitoză și creșterea pronunțată a concentrației unor proteine denumite proteine ale reacției inflamatorii).(23, 24)

În mod clasic, formele de manifestare clinică ale inflamației sunt reprezentate de **tumor, rubor, calor** și **dolor**. Aceste patru caracteristici sunt cunoscute din antichitate și au fost enunțate de Celsus. În 1958, Rudolf Virchow a adăugat între formele clinice de manifestare ale inflamației, disfuncția de organ (**functio laesa**).(23) Inflamația poate fi **nespecifică** (modificările morfologice ce au loc nu sugerează tipul agentului etiologic) sau **specifice** care prin natura infiltratului inflamator orientează către etiologia procesului inflamator.(24)

Corelat cu tipul agentului etiologic, inflamațiile au o anumită durată de timp, astfel încât se poate vorbi de inflamații **acute, subacute** sau **cronice**. Din punct de vedere morfopatologic, inflamațiile pot fi de tip **exsudativ, alterativ, proliferativ**.(7;37)

40. DIAGNOSTICUL ETIOLOGIC AL INFECȚIEI CORELAT CU TESTELE INFLAMATORII

2.1. METODE DE LABORATOR UTILIZATE ÎN DIAGNOSTICUL INFECȚIILOR BACTERIENE

Diagnosticul infecțiilor bacteriene se realizează în principal prin metode directe de detectare a microorganismelor prin examinare microscopică sau prin detectarea antigenelor sau prin izolarea bacteriilor în medii de cultură. Metodele de diagnostic molecular reprezintă metode directe de diagnostic pentru anumite specii de bacterii.(3)

MICROSCOPIA

Metoda gram rămâne extrem de utilă în diagnosticul infecțiilor bacteriene deoarece este rapidă, ieftină și demonstrează prezența bacteriei precum și a infiltratului inflamator. Dezavantajul metodei este acela că prezintă sensibilitate scăzută și agentul microbial trebuie confirmat în culturi bacteriene.

DETECTAREA RAPIDĂ A ANTIGENELOR SPECIFICE

Principalele teste de detectare rapidă a antigenelor bacteriene includ reacția de aglutinare, prin care se detectează Streptococul de grup A în nazofaringe, respectiv Haemophilus Influenzae tip B, Streptococcus pneumoniae, Streptococi de grup B și Neisseria meningitidis în lichidul cefalorahidian. Realizarea de rutină a reacției de aglutinare este scumpă și nu oferă avantaje adecvate. O metodă rapidă de detectare a antigenului Streptococcus pneumoniae în urina pacienților cu infecție pneumococică clinic manifestă este metoda BINAX și este recent utilizată în USA.(3)

CULTURI BACTERIENE

Izolarea agentului microbial se realizează din produse biologice : sânge, urină, lichid cefalorahidian, etc. Sistemele automate folosite curent (BACTEC, BECTON DICKINSON, BACT/ALERT, ORGANON TEKNIKA) monitorizează continuu culturile de sânge și au condus la detectarea mult mai rapidă a bacteriilor.(3;4)

2.2. METODE DE LABORATOR UTILIZATE ÎN DIAGNOSTICUL VIRUSOLOGIC

CULTURI VIRALE

Culturile virale prezintă atât avantaje cât și dezavantaje, comparativ cu alte metode de diagnostic. Culturile virale sunt singurele dintre metodele diagnostice care izolează virusuri viabile ce pot fi păstrate pentru studii viitoare. Dezavantajele metodei ar fi: costul ridicat, timpul relativ prelungit de determinare virală, dar și varietatea virusurilor.(5)

MICROSCOPIA ELECTRONICĂ

Infecțiile virale pot fi diagnosticate ocazional utilizând microscopia electronică prin vizualizarea directă a particulelor virale. Metoda prezintă avantajul de a putea fi vizualizate mai multe tipuri de particule virale. Dezavantajele includ costul și complexitatea întreținerii microscopului electronic.(5)

CITOLOGIA

Nu este de obicei o metodă sensibilă de determinare virală. Virusurile ce pot fi determinate prin această metodă sunt agenți etiologici ai afecțiunilor respiratorii (adenovirus, citomegalovirus, virusul rujeolic).(5;33)

METODE MOLECULARE DE DIAGNOSTIC

Metodele moleculare de diagnostic sunt cele mai folosite în determinarea și identificarea agenților patogeni pentru care culturile și serologia sunt greu de realizat.(23) Reacția în lanț a polimerazei (PCR) prezintă sensibilitate și specificitate înaltă și de aceea reprezintă o metodă de elecție pentru identificarea directă a acidului nucleic microbial. Metoda se bazează pe abilitatea ADN sau ARN polimerazei de a copia secvențe a unor gene ținta folosind nucleotide complementare.(23;24)

PCR este eficientă deoarece permite detectarea prin intermediul aceleași reacții, a mai multor agenți ce pot produce același sindrom clinic. De exemplu, s-a descris posibilitatea detectării prin PCR, simultan a enterovirusurilor, HSV-1; HSV-2 și a virusului varicelozosterian la pacienții ce prezentau meningită sau encefalită.(5) Prin această metodă se poate detecta rezistența antivirală la pacienții cu infecție HIV, dar și la cei cu infecție cu citomegalovirus. Adicional, în unele laboratoare de referință există protocoale experimentale care folosesc PCR pentru identificarea altor germeni cum ar fi : Bartonella, B pertussis, Legionella, M. pneumoniae, Chlamydia pneumoniae, virusul Epstein Barr.(3, 5)

SEROLOGIE

Măsurarea anticorpilor antivirali a reprezentat una din primele metode utilizate pentru diagnosticul specific al infecțiilor virale și rămâne un important instrument în diagnosticul virusologic de laborator.(5;33) Rolul serologiei poate fi pentru diagnosticarea infecțiilor acute sau pentru determinarea status-ului imun în cazul infecțiilor virale specifice. Serologia este indicată pentru virusuri ce nu pot fi identificați prin culturi. Anticorpilor specifici virali devin detectabili la câteva săptămâni de la debutul infecției. Anticorpilor virali tip IgM sunt deseori detectabili cu puțin înaintea anticorpilor tip IgG specifici. Nivelul IgM scade în aproximativ 1-2 luni, cu toate că poate persista în titru scăzut, un an sau mai mult în cazul unor infecții virale.(5)Anticorpilor tip IgG persistă mai mult timp chiar pe toată durata vieții. Absența anticorpilor specifici tip IgM sau IgG semnifică susceptibilitate la infecție; prezența anticorpilor specifici tip IgM cu sau fără anticorpi tip IgG specifici semnifică infecție foarte recentă; prezența anticorpilor tip IgG, dar fără anticorpi tip IgM semnifică trecere prin infecție. Relația dintre debutul simptomatologiei infecției și prezența anticorpilor specifici virali depind de perioada de incubație a infecției. În infecțiile cu perioade scurte de incubație, cum ar fi infecțiile respiratorii, anticorpilor sunt absenți la debutul simptomelor. În infecții virale cu perioade de incubație de >1 lună, anticorpilor specifici virali tip IgG și IgM sunt în general prezenți încă de la debutul simptomatologiei.(5;33)

41. TESTELE INFLAMATORII ȘI INFECȚIILE

3.1.LEUCOCITELE

Leucocitoza (nr. leucocitelor $>15.000\text{mm}^3$) cu neutrofilie indică suspiciunea de infecție bacteriană. Totuși este dificil de a diferenția o infecție bacteriană de o infecție virală pe baza numărului de leucocite. Într-un studiu pe 121 de copii spitalizați pentru infecții ale tractului respirator inferior, testele de laborator au variat.(7). Doar 50% dintre copiii internați cu infecții bacteriene demonstrate au avut valori ale numărului leucocitelor $>15.000/\text{mm}^3$. Media numărului leucocitelor a fost de $18.000/\text{mm}^3$ la copiii cu pneumonie pneumococică, $17.000/\text{mm}^3$ la cei cu infecție cu adenovirus și $9.000/\text{mm}^3$ la cei cu *Mycoplasma pneumoniae*.

Nivelul leucocitelor a fost parametrul de laborator cel mai studiat în infecțiile bacteriene. Riscul de infecție bacteriană este asociat cu creșterea numărului de leucocite. În acest scop, s-au realizat trialuri clinice randomizate, studii retrospective, cohorte prospective și metaanalize.(7, 19) Studiile au comparat nivelul leucocitelor cu alte teste inflamatorii folosite în screening-ul infecțiilor bacteriene. Rezultatele au arătat că nivelul absolut al neutrofilelor, nivelul proteinei C reactive (CRP) și al procalcitoninei sunt de asemenea teste inflamatorii utilizate în cazul screening-ului infecțiilor bacteriene la sugari și copii.(7, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19)

Numărul absolut de neutrofile este folosit ca marker de infecție bacteriană, riscul acesteia din urmă crescând cu creșterea nivelului absolut de neutrofile. Multe ghiduri recente au sugerat că o neutrofilie de $7.000 - 10.000/\text{mm}^3$ este indicator de infecție bacteriană. Un nivel al numărului de neutrofile $>7.000 - 10.000/\text{mm}^3$ are sensibilitate (posibilitatea de a avea un test pozitiv în caz de boală) de 76 – 82% și specificitate (probabilitatea de a avea un test negativ în lipsa bolii) de 74 – 78%, o valoare predictivă pozitivă (probabilitatea de a avea boală, când testul este pozitiv) de 7 – 8%, respectiv o valoare predictivă negativă (probabilitatea de a nu avea boala, când testul este negativ) de 99% de a indica prezența unei infecții bacteriene.(12, 19, 26, 27, 32)

Neutropenia ($<1.500/\text{mm}^3$) este indicator de infecție bacteriană (ex. Salmoneloza; Bruceloza) sau este întâlnită, de asemenea în infecție sistemică severă (meningocemie; tuberculoza miliară). (2, 35). Neutropenia este un indicator de prognostic nefavorabil în cazul pneumoniei pneumococice, meningocemiei și septicemiei cauzate de bacili enterici. (2, 35) Ușoară neutropenie se întâlnește frecvent în infecții virale sistemice (mononucleoză, rujeolă, rubeolă, varicela). (8) Neutropenia asociată cu trombocitopenie poate orienta clinicianul asupra diagnosticului de infecție cu citomegalvirus la pacienții transplantați sau la cei cu SIDA. (8) Infecția congenitală cu citomegalovirus, rubeolă, toxoplasma pot determina valori moderat sau sever scăzute ale numărului de neutrofile.

Limfocitoza reprezintă un indicator al infecției virale (de exemplu infecție cu virus Epstein- Barr, citomegalovirus, virusuri hepatitice), dar există situații când limfocitoza este prezentă în infecții bacteriene acute (ex: Bordetella pertusis) când aceasta devine și un indicator al severității bolii. Există infecții virale (de exemplu în infecții cu virusul Epstein-Barr) în care este prezentă o limfocitoză atipică ($>50\%$ limfocite). Un grad mai diminuat al numărului de limfocite se întâlnește în infecțiile cu CMV, HIV, hepatita A, B, C, virus herpetic, adenovirus. Limfocitoza ușoară se întâlnește în infecțiile virale (rubeolă, rujeolă, varicelă), dar și în unele infecții bacteriene (Mycobacterium tuberculosis, Salmonella). (5)

Limfocitopenia este definită ca număr de limfocite $< 1.500/\text{mm}^3$ în sângele periferic sau $< 2.000/\text{mm}^3$ în cazul copiilor < 6 ani. Nivelul limfocitelor scade în infecții virale (exemplu în infecția cu HIV; rubeolă; virusul polio, varicelei), în infecții granulomatoase (ex: tuberculoza), dar și în infecții bacteriene acute. (6, 10)

Monocitoza este definită ca număr de monocite în sângele periferic $> 800/\text{mm}^3$ la copii și $> 500/\text{mm}^3$ la adulți. Monocitoza precedă de obicei neutropenia, iar nivele ușor crescute ale monocitelor sunt întâlnite frecvent în infecții bacteriene și în infecții virale.

3.2 VITEZA DE SEDIMENTARE A HEMATILOR (VSH)

Unele studii au folosit VSH-ul drept marker al infecțiilor bacteriene.(1, 7) Aceste studii au evidențiat faptul că VSH-ul are o sensibilitate mult crescută față de cea a numărului zede leucocite, dar prezintă aceeași specificitate. VSH-ul nu a putut fi un indicator mai predictiv de infecție bacteriană, decât numărul leucocitelor care s-a dovedit a fi un indicator mult mai specific și mult mai sensibil în aceste studii. Astfel, clinicienii nu au recomandat VSH-ul ca marker în screening-ul infecțiilor bacteriene.(7)

Nivele crescute ale VSH-ului se întâlnesc cel mai frecvent în infecții bacteriene și în infecții cu micobacterii și sunt normale sau ușor crescute în infecții virale, necomplicate. Un nivel moderat crescut de aproximativ 20 mm/oră (90% are valori < 30 mm/oră) al VSH-ului se întâlnește în infecții ale căilor respiratorii superioare de etiologie virală, cu excepția cazurilor când agentul etiologic este adenovirusul, în care se înregistrează valori ale VSH – ului de 40 mm/oră (34).Un VSH normal sau ușor crescut la copiii cu examen clinic obiectiv și hemogramă normale, dar cu febră prelungită este predictibil pentru diagnosticul de infecție virală necomplicată în proporție de 90%.(1)

Valori ale VSH – ului > 50mm/oră orientează clinicianul în a suspecta o infecție bacteriană localizată, endocardită, infecție cu *Mycobacterium tuberculosis* sau infecții fungice.(1, 7)

70% dintre copiii cu artrită de șold de etiologie bacteriană prezintă valori ale VSH – ului > 30mm/oră.(11) Într-unul dintre studiile prospective și alte câteva studii retrospective la copii cu artrită bacteriană s-a evidențiat un VSH > 30mm/oră în procent de 80-90% (media a fost de 65%).(1, 11) Valoarea crescută a VSH –ului menținută și în cea de a 2-a săptămână este asociată frecvent cu drenaj chirurgical inadecvat sau antibioterapie inefficientă. 50% dintre copiii cu artrită cu *Streptococcus pyogenes* au avut VSH >= 60mm/oră.(11)

Valori foarte crescute ale VSH –ului (> 100mm/oră) sunt marker pentru infecții bacteriene (infecții tract urinar, meningite, artrite)(1, 11), dar VSH –ul nu poate fi indicator de complicații sau prognostic.(1, 7)

3.3. PROTEINA C REACTIVĂ (CRP)

Durata de timp în care apar modificările nivelului CRP de la debutul inflamației și înjuriei tisulare a fost intens studiată.

În contrast cu VSH –ul, CRP crește mult mai rapid (6-8 ore) și atinge concentrația maximă (16-24 ore) mult mai devreme, ca răspuns la stimulul inflamator. Revenirea la valori normale se face rapid (6 zile), în timp ce VSH –ul revine la normal în câteva săptămâni (2-6 săptămâni) datorită imunoglobulinelor, în ciuda remisiei simptomatologiei.(21, 22) Anemia, policitemia, nivelul proteinelor, vârsta pacienților nu influențează nivelele CRP.

Deoarece CRP se degradează rapid (timp de înjumătățire < 24 ore), determinările seriate furnizează informații importante privind răspunsul la terapie.(21) În infecțiile bacteriene invazive, CRP are valori crescute, frecvent între 150 – 350 mg/l. În schimb, în cele mai multe infecții virale, nivelele CRP tind să fie mult diminuate, < 20- 40mg/l. Valori > 100mg/l sunt cel mai frecvent asociate cu infecții bacteriene, cu toate că unele infecții virale (adenovirus, citomegalovirus, urlian) pot determina nivele înalt crescute ale CRP-ului (21, 22)

Studii recente au indicat nivelul CRP drept marker de infecție bacteriană, nivelul acestuia fiind comparat cu alți markeri de laborator.(9, 20, 25, 31, 36)

În aceste studii s-a arătat că nivelul CRP prezintă o valoare predictivă negativă de 81 – 98%, respectiv o valoare predictivă pozitivă de 30 – 69% de a distinge o infecție bacteriană invazivă, severă de o infecție bacteriană neinvazivă, ușoară.(12, 15, 19, 26, 27, 32) Nivelele CRP au fost comparate cu nivelele leucocitelor, CRP având o valoare predictivă pozitivă, respectiv o valoare predictivă negativă mai bună sau egală cu nivelul leucocitelor. În timp ce unul dintre autori a concluzionat că nivelul CRP nu are vreun avantaj prin compararea cu nivelul leucocitelor (15), în alte centre medicale CRP face parte dintre indicatorii de infecție bacteriană în protocolul stabilit din departamentul de urgență.(28, 29)

3.4. CITOKINELE

IL1;IL6 si TNF au nivele crescute în ser și în lichidul cefalorahidian, în cazul infecțiilor bacteriene cu germeni gram pozitivi și gram negativi. Nivelele acestora cresc direct proporțional cu severitatea infecției bacteriene. IL6 prezintă o sensibilitate de 88%, o specificitate de 70%, o valoare predictivă pozitivă de 7% și o valoare predictivă negativă de 99% de infecție bacteriană.(7, 15) Nivelele plasmatiche de TNF au relevanță scăzută la pacienții cu sepsis. Există evidențe care arată că TNF este prezent doar la 50% din pacienții care prezintă sepsis.(15) În schimb, IL 6 a fost prezentă în 75% la cei care prezentau sepsis.(15, 26) Aceste citokine nu au fost pe deplin investigate; ele au utilitate clinică marginală, raport cost – eficiență necunoscut și nu sunt recomandate a se efectua de rutină în infecțiile bacteriene.(7, 15, 26)

3.5. PROCALCITONINA

Nivelele procalcitoninei (PCT) cresc rapid în ser după expunerea la endotoxina bacteriană. Nivelul crește la aproximativ 2 – 4 ore de la expunerea la agentul microbial, mult mai rapid decât s-a observat în cazul CRP. Nivelele PCT rămân scăzute în infecții virale și în boli inflamatorii cronice (ex. LES, boala CROHN), dar cresc semnificativ în infecții bacteriene și suprainfecții.

Concentrații $> 0,5$ ng /ml indică în general o infecție acută acompaniată de reacție inflamatorie sistemică. În mod particular, valori crescute ale PCT au fost raportate la pacienții cu infecții bacteriene severe și inflamație septică, sepsis sever sau șoc septic.(7, 16, 17) Reacțiile inflamatorii locale, infecțiile sau colonizările superficiale bacteriene nu induc creșterea PCT sau induc doar concentrații plasmatiche moderat crescute ale PCT.(7)

Studiile arată corelarea dintre creșterea nivelului PCT cu un grad crescut al severității infecției bacteriene.(14, 16, 18, 26). Determinările seriate ale PCT s-au corelat bine cu răspunsul la tratament astfel încât nivelul PCT scade în cazul unui tratament antibiotic eficient și se menține ridicat în cazul eșecului terapeutic. Studii prospective la sugari și copii internați în terapie intensivă au urmărit să realizeze o corelație între nivelele PCT ca marker al infecției bacteriene cu nivelele numărului de leucocite și CRP.(7, 12, 15, 19, 26, 27, 32)

3.6. HEMOGLOBINA

Policitemia poate fi prezentă în cazul pacienților cu repetate episoade de pneumonie și care ar putea prezenta defecte imunologice. Anemia este întâlnită în boli cronice, de exemplu în tuberculoză, endocardită subacută, osteomielită cronică, dar și în boli acute. Aproximativ 50% dintre copiii cu infecții bacteriene acute severe prezintă anemie (Hb <11g/dl) pe toată durata internării.(34) Anemia hemolitică nonimună este întâlnită în infecții virale (citomegalovirus, virus rujeolic).

3.7. FOSFOLIPAZA A 2

Fosfolipaza A2 reprezintă o enzimă cheie implicată în inflamația din infecțiile bacteriene. Lipopolizaharidul (LPS) induce creșterea activității plasmatice a fosfolipazei A2. Fosfolipaza A2 este biosintetizată primar atât în infecțiile virale cât și în infecțiile bacteriene.(30)

3.8. ELASTAZA

Elastaza este o proteinază derivată din granulațiile azurofile ale granulocitelor neutrofile. Valori crescute ale acesteia au fost observate în cazuri de sepsis și nivelele acesteia au fost corelate cu rata mortalității.(13)

3.9. NEOPTERINA

Neopterina provine din degranularea guanozin trifosfatului și este produsă prin intermediul interferonului gama produs de către monocitele stimulate. Neopterina este mai puțin specifică în infecțiile bacteriene decât procalcitonina. Nivele crescute ale neopterinei pot fi prezente și în infecții virale, tumori sau alte afecțiuni non-bacteriene. Nivelele plasmatice ale neopterinei depind de funcția renală și de aceea utilizarea dozării neopterinei e limitată la pacienții din terapie intensivă ce prezintă sepsis și insuficiență multiplă de organ. Totuși, neopterina este utilizată ca factor de prognostic în ceea ce privește supraviețuirea pacienților cu sepsis.(3)

3.10. HLA- DR

HLA-DR este un antigen de pe suprafața monocitelor ce determină « paralizie imună » sau capacitate scăzută de răspuns imunologic al monocitelor. S-a raportat o relație invers proporțională între nivelele HLA-DR și procalcitonină.(8) Această corelație nu se întâlnește totuși la toți pacienții cu sepsis, deoarece au existat pacienți cu sepsis și nivele crescute ale PCT și nivele scăzute ale HLA-DR, dar și pacienți care, în ciuda nivelelor crescute de HLA-DR aveau nivele scăzute de PCT. Actualmente, nu se poate accepta drept regulă generală relația invers proporțională dintre cei doi parametri, PCT și HLA-DR la pacienții cu infecții bacteriene severe, fiind necesare cercetări ulterioare.

II. PARTEA a-II a - CERCETĂRI PERSONALE

4. MOTIVAȚIA ALEGERII TEMEI DE CERCETARE

- Patologia infecțioasă reprezintă cea mai frecventă patologie pediatrică (>70%)
- Dorința de aprofundare a cunoștințelor asupra patologiei infecțioase la sugar și copil, patologie cu importanță practică deosebită, atât în spital cât și în ambulatoriu este o consecință firească;
- Preocupările mele privind domeniul patologiei infecțioase la copil au fost și sunt suficient de motivante pentru a le dedica tema de cercetare;
- Importanța unei conduite terapeutice eficiente în tratamentul infecțiilor la copii, conduită care poate aduce beneficii importante în cazul pacienților și nu în ultimul rând beneficii economico-financiare și psiho-sociale este o altă dimensiune a motivației;
- Competența deosebită, spiritul pedagogic al conducătorului Spitalului Clinic de Pediatrie din Sibiu, profesorul universitar Dr. Mihai Neamțu.

5. PREMIZE

Premizele temei de cercetare pornesc de la preocupările din literatura de specialitate, privind importanța testelor inflamatorii în orientarea etiologică a infecțiilor, a monitorizării acestora și a conduitei terapeutice.

În general, în literatură modul de abordare a cazurilor de infecții a fost global prin includerea tuturor categoriilor de copii în studiu. Aceste elemente pot fi foarte importante, cunoscute fiind particularitățile de evoluție ale fiecărei perioade de viață a copiilor.

6. OBIECTIVE

În studiul de față ne-am propus următoarele obiective:

1. Corelarea testelor inflamatorii și modificarea acestora cu tipurile de infecții (bacteriene, virale).
2. Corelarea testelor inflamatorii și modificarea acestora cu tipurile de infecții (bacteriene invazive, bacteriene localizate, virale).
3. Modificările caracteristicilor testelor inflamatorii, eventual sugestive pentru diverse tipuri de infecții.
4. Corelarea momentului efectuării testelor inflamatorii față de debut și a efectuării acestora în dinamică, în infecții bacteriene și virale.

7. MATERIAL ȘI METODA DE CERCETARE

MATERIAL

- **Baza de eșantion cercetată:** copiii cu vârste 0-18 ani internați în Spitalul clinic Copii Brașov
- **Criterii de includere în studiu:**
 - **Diagnosticul de internare – pacienți cu un singur tip de infecție**
 - **Criterii de excludere – cazurile de infecții asociate**
- **Perioada de internare în Clinica de Pediatrie Brașov**
01.01.2006-31.12.2007

METODA DE LUCRU

Designul studiului: un studiu prospectiv ce include în loturile de bolnavi pacienți cu diverse tipuri de infecții.

Alcătuirea loturilor: randomizarea a fost efectuată în funcție de data calendaristică a internării. Evaluarea inițială a analizat antecedente personale patologice, date sociale, date antropometrice, examinări paraclinice (număr leucocite, formula leucocitară, VSH, CRP, procalcitonină) hemocultura, urocultura, coprocultura, așa cum sunt descrise în anexă.

Definirea termenilor :

1. Infecție virală

Am formulat diagnosticul de infecție virală în situațiile în care datele clinice au fost sugestive de infecție virală, cu modificări ale testelor inflamatorii : numărul de leucocite, număr neutrofile, reactanților de faza acută (VSH, CRP).

2. Infecție bacteriană.

Am formulat diagnosticul de infecție bacteriană în situațiile în care datele clinice au fost sugestive de infecție bacteriană, cu modificări ale testelor inflamatorii : numărul de leucocite , număr neutrofile , reactanților de faza acută (VSH, CRP).

3. Infecție bacteriană invazivă

Am considerat diagnosticul de infecție bacteriană invazivă în situațiile în care datele clinice au fost sugestive de infecție bacteriană, testele inflamatorii au avut valori modificate, iar culturile centrale au fost pozitive (hemocultura, urocultura pozitive) la pacienții cu sepsis, pielonefrită, pneumonie lobară cu pleurezie sau bronhopneumonie.

4. Infecție bacteriană localizată.

Am considerat diagnosticul de infecție bacteriană localizată în situațiile în care, datele clinice au fost sugestive de infecție bacteriană, testele inflamatorii au avut valori modificate, iar culturile centrale au fost negative (hemocultura, urocultura negative) la pacienții cu enterocolită, pneumonie, bronșiolită, infecție tract urinar joasă (cistită), angină acută eritematoasă.

MANAGEMENTUL STUDIULUI

- **Anamneza** - mediul de proveniență
- debutul bolii
- simptome(febră, tuse, varsături, scaune diareice)
- tratament efectuat la domiciliu

- **Ex. Clinic** - starea generală la internare
- semne clinice de infecție

▪ **Ex.de laborator**

- ✓ **Determinarea etiologiei** – hemocultura, urocultura, coprocultura
- ✓ **Prezenta infecției** – **HLG, reactanți de fază acută (nr. leucocite, nr. neutrofile, VSH, proteina C reactivă = CRP, procalcitonină)**

Pentru fiecare pacient s-a întocmit o fișă de consemnare a datelor prelevate. Sursa de bază a datelor a fost fișa de observație a pacientului.

La pacienții cu suspiciunea diagnostică de sepsis s-a realizat testul la procalcitonină, care a constat în utilizarea unui test semicantitativ obținut prin metoda de imunocromatografie. Scopul acestui test a constat în diagnosticul și monitorizarea tratamentului infecțiilor bacteriene severe și sepsis-ului.

PRELUCRAREA DATELOR

Prelucrarea statistică a datelor a constat din calcularea mediilor aritmetice și a deviației standard, indicelui de probabilitate p. Metode folosite: analiza variantei (Anova), test chi square. Pentru a studia valoarea discriminativă a unui marker inflamator între categoriile de infecție virală versus infecție bacteriană, am apelat la analiza curbelor ROC (Receiver Operating Characteristic). Am folosit programul Statistica StatSoft.inc.

8. REZULTATE

Studiul a fost efectuat pe un lot de **1482** de copii având ca diagnostic un singur tip de infecție, internați în Spitalul Clinic de Copii Brașov în perioada **2006 - 2007**. În această perioadă au fost internați **25 831** pacienți cu vârste cuprinse între **0-18** ani. Pacienții admiși în studiu reprezintă **5, 73 %** din totalul pacienților internați, pe perioada anului calendaristic, cuprins în managementul studiului. Din totalul pacienților admiși în studiu, în ceea ce privește tipul de infecție, se evidențiază o predominantă a **pneumoniei acute**, 395 cazuri ceea ce reprezintă **26, 65%** cazuri, urmată de **bronșiolită** cu 286 de cazuri (**19, 29%**). Pe locul 3 se situează **enterocolita acută virală**, 270 cazuri (**18, 21%**). Incidența cea mai scăzută este reprezentată de pacienții cu sepsis, în lotul de pacienți înregistrându-se 20 de cazuri (**1, 34%**). Din totalul pacienților admiși în studiu, am observat o frecvență mai crescută a infecțiilor virale, **777** de cazuri (**52, 42%**), urmată de infecții bacteriene, **705** cazuri (**47, 57 %**).

CORELAȚIA ETIOLOGIEI INFECȚIILOR CU PROBELE INFLAMATORII

test t pentru diferențe între infecție bacteriană și virală							
	INFECȚIE BACTERIANĂ			INFECȚIE VIRALĂ			p
	Media	Ab.Std.	Cazuri	Media	Ab.Std.	Cazuri	
La internare							
VNEW	1315.98	1688.189	705	926.10	1269.967	777	0.0000
Numar leucocite	11475.48	5562.581	649	10633.27	4896.949	706	0.0009
numar neutrofile	6365.51	4610.663	585	5583.79	4008.968	611	0.0006
Neutrofile (%)	56.22	19.373	432	51.60	19.579	505	0.8220
Numar limfocite	4250.07	2695.543	547	4568.87	3511.909	616	0.0000
Limfocite (%)	40.27	19.115	401	44.27	18.689	513	0.6301
VSH	26.72	24.030	484	17.50	15.136	417	0.0000
CRP	15.46	28.053	173	8.73	13.346	129	0.0000
raport NLR	3.27	4.48	491	1.80	2.94	531	0.0000
dupa 24 ore							
Numar leucocite	10794.68	8637.385	169	9506.75	3548.231	83	0.0000
Numar neutrofile	4826.45	2996.333	138	4104.24	2011.098	66	0.0005
Neutrofile (%)	48.35	18.742	99	43.58	16.087	53	0.2268
Numar limfocite	4796.74	2582.328	141	4699.73	2561.466	72	0.9554
Limfocite (%)	49.86	16.173	108	50.35	14.701	56	0.4372
VSH	28.44	21.016	75	12.97	11.800	31	0.0008
CRP	4.37	5.167	24	4.06	2.766	17	0.0128
raport NLR	2.41	3.23	115	1.31	1.38	56	0.0150
altele							
COSTURI(zile)	6.41	4.926	640	5.09	3.847	513	0.0000
Nr.zile spitalizare	8.04	7.447	705	5.62	5.070	774	0.0000
Varsta(ani)	3.61	4.625	705	2.54	3.479	777	0.0000

REPARTIȚIA CAZURILOR ÎN FUNCȚIE DE TIPUL INFECȚIEI ȘI CORELAREA CU PROBELE INFLAMATORII

Analizând etiologia infecțiilor și corelând-o cu numărul de leucocite, se observă că, media numărului de leucocite la internare a cazurilor cu infecție virală este **10 633, 27 / mm³** și de **11 475, 48 / mm³** la pacienții cu infecție bacteriană, diferența statistică extrem de semnificativă **p < 0, 001** între cele două grupuri. În ceea ce privește media numărului de neutrofile, la internare, este de **5583, 79 / mm³** la pacienții cu infecții virale și de **6365, 51 / mm³** la pacienții cu infecții bacteriene, cu o diferență statistică extrem semnificativă (**p<0, 001**) între cele două grupuri. Media numărului de limfocite la internare în cazul pacienților cu infecții virale a fost de **4568, 87 / mm³**, respectiv de **4250, 07 / mm³** în cazul infecțiilor bacteriene, cu o diferență statistică extrem de semnificativă. **p<0.001**. Analizând etiologia infecțiilor și corelând-o cu raportul dintre numărul de neutrofile și numărul de limfocite, se observă că, media acestui raport, la internare a cazurilor cu infecție virală este **1, 8** și de **3, 7** la pacienții cu infecție bacteriană, diferența statistică extrem de semnificativă **p<0, 001** între cele două grupuri. Media CRP , la internare în cazul infecțiilor virale a fost de **8, 73 mg / dl**, respectiv de **15, 46 mg / dl** la cei cu infecții bacteriene, diferență statistică extrem de semnificativă.(**p < 0.001**). Valoarea medie la internare a VSH-ului a fost de **17, 5 mm / h** la cei cu infecții virale și respectiv de **26, 72 mm / h** la pacienții cu infecții bacteriene, diferență statistică fiind extrem de semnificativă.(**p < 0.001**)

Variabile	Proteina C reactivă, Număr leucocite, Număr neutrofile, Număr limfocite, NLR, VSH – la internare
Grupul pozitiv (infecție virală)	68
Grupul negativ (infecție bacteriană)	108

Tabel Analiza pacienților cu infecții virale și infecții bacteriene la care s-au determinat la internare, numărul de leucocite, numărul de neutrofile, numărul de limfocite ,NLR , CRP și VSH

La internare	Aria de sub curba ROC	Eroarea standard	Intervalul de încredere 95%
Proteina C reactivă	0, 651	0, 0448	0, 575 - 0, 721
Număr leucocite	0, 524	0, 0462	0, 447 - 0, 599
Număr neutrofile	0, 563	0, 0454	0, 486 - 0, 637
Număr limfocite	0, 593	0, 0450	0, 516 - 0, 666
NLR	0, 622	0, 0450	0, 546 - 0, 694
VSH	0, 640	0, 0442	0, 564 - 0, 711

Table Analiza comparativă a curbelor ROC pentru CRP, numărul de leucocite, numărul de limfocite, numărul de neutrofile, raportul dintre numărul de neutrofile și numărul de limfocite și VSH, la internare

Analiza comparativă a curbelor ROC pentru CRP, numărul de leucocite, numărul de limfocite, numărul de neutrofile, raportul dintre numărul de neutrofile și numărul de limfocite și VSH, la internare, la un grup de 176 pacienți cu infecții (68 pacienți cu infecții virale, respectiv 108 pacienți cu infecții bacteriene) scoate în evidență faptul că toți acești parametri sunt potențial utilizabili ca test de diagnostic în identificarea tipului de infecție (virală vs bacteriană). Aceasta se confirmă de către rezultatele obținute prin metoda analizei discriminant care ia în calcul simultan aceste teste de inflamație și evidențiază o bună separare între cele două grupuri. **CRP** efectuat la internare prezintă o sensibilitate și o specificitate superioară celorlalți reactanți de fază acută (număr de leucocite, numărul de limfocite, număr de neutrofile, NLR, respectiv VSH), realizând o foarte bună discriminare între grupuri.

În ceea ce privește urmărirea numărului de leucocite efectuată în dinamică, la 24 ore, se poate evidenția faptul că media numărului de leucocite în infecțiile virale este de **9506, 75 / mm³**, respectiv de **10 794, 68 / mm³** în infecțiile bacteriene, cu o diferență extrem semnificativă de **p<0.001**. Analizând numărul de neutrofile la 24 ore, valoarea medie a acestora în infecțiile virale este de **4104, 24 / mm³**, respectiv de **4826, 45 / mm³** în infecțiile bacteriene, cu o diferență statistică extrem de semnificativă de **p < 0.001**. De asemenea, media numărului de limfocite la 24 ore în infecțiile virale este de **4699,73 / mm³**, respectiv de **4796,74 / mm³** în infecțiile bacteriene, cu o diferență fără semnificație statistică (**p = 0.95**). Analizând etiologia infecțiilor și corelând-o cu raportul dintre numărul de neutrofile și numărul de limfocite, am observat că, media acestui raport, la 24 ore a cazurilor cu infecție virală este **1, 31** și de **2, 41** la pacienții cu infecție bacteriană, diferența statistică fiind semnificativă **p < 0, 015** între cele două grupuri. Analiza în dinamică, la 24 ore a valorilor CRP a evidențiat o valoare medie de **4, 06 mg / dl** în cazul infecțiilor virale și de **4, 37 mg / dl** în infecțiile bacteriene, cu o diferență semnificativă **p < 0, 012**. Valoarea medie la 24 ore a VSH-ului a fost de **12, 97 mm / h** la cei cu infecții virale și respectiv de **28,44 mm/h** la pacienții cu infecții bacteriene, diferența statistică fiind extrem de semnificativă (**p < 0.001**).

Variabile	Număr leucocite, Număr neutrofile, Număr limfocite, NLR, VSH – la 24 ore
Grupul pozitiv (infecție virală)	14
Grupul negativ (infecție bacteriană)	40

Tabel Analiza pacienților cu infecții virale și infecții bacteriene la care s-au determinat la 24 ore, numărul de leucocite, numărul de neutrofile, numărul de limfocite ,NLR și VSH

La internare	Aria de sub curba ROC	Eroarea standard	Intervalul de încredere 95%
Număr leucocite	0,595	0,0860	0,452 - 0,726
Număr neutrofile	0,552	0,0850	0,410 - 0,687
Număr limfocite	0,638	0,0885	0,495 - 0,764
NLR	0,509	0,0896	0,369 - 0,648
VSH	0,667	0,0820	0,526 - 0,789

Tabel Analiza comparativă a curbelor ROC pentru numărul de leucocite, numărul de limfocite, numărul de neutrofile, raportul dintre numărul de neutrofile și numărul de limfocite și VSH efectuate după 24 ore

Analiza comparativă a curbelor ROC pentru numărul de leucocite, numărul de limfocite, numărul de neutrofile, raportul dintre numărul de neutrofile și numărul de limfocite și VSH efectuate după 24 ore, la un grup de 54 pacienți cu infecții (14 pacienți cu infecții virale, respectiv 40 pacienți cu infecții bacteriene) scoate în evidență faptul că toți acești parametri sunt potențial utilizabili ca test de diagnostic în identificarea tipului de infecție (virală vs bacteriană). Aceasta se confirmă de către rezultatele obținute prin metoda analizei discriminant care ia în calcul simultan aceste teste de inflamație și evidențiază o bună separare între cele două grupuri. **VSH** efectuat după 24 ore prezintă o sensibilitate și o specificitate superioară celorlalți reactanți de fază acută (număr de leucocite, numărul de limfocite, număr de neutrofile, respectiv NLR), realizând o foarte bună discriminare între grupuri.

DIAGNOSTIC ÎN FUNCȚIE DE LOCALIZARE			
DIAGNOSTIC	LOCALIZAT	INVAZIV	TOTAL
1 Amigdalită pultacee	31	0	31
2 Angină acută	150	0	150
3 Bronșiolită	286	0	286
4 Enterocolită acută virală	270	0	270
5 Bronhopneumonie	0	35	35
6 Pneumonie acută	395	0	395
7 Cistită acută	27	0	27
8 Pielonefrită acută	0	55	55
9 Otită acută medie	41	0	41
10 Sepsis	0	20	20
11 Rinosinuzită	36	0	36
12 Enterocolită ac.bacteriană	92	0	92
13 Laringită acută	44	0	44
TOTAL	1372	110	1482

Tabel REPARTIȚIA CAZURILOR DE INFECȚII LOCALIZATE ȘI INVAZIVE ÎN FUNCȚIE DE DIAGNOSTIC

Din totalul pacienților luați în studiu, în ceea ce privește localizarea infecției, se evidențiază o predominanță a infecțiilor localizate (**1372** cazuri vs **110** cazuri de infecții invazive). Infecțiile invazive sunt reprezentate pe primul loc de **pielonefrita acută** (**55** cazuri), urmată de **bronhopneumonie** (**35** cazuri). Pe locul 3 se situează **sepsis-ul** (**20** cazuri). Uroculturile efectuate au fost pozitive în 25 cazuri, restul de 20 au fost negative, posibil datorită faptului că, cei din urmă pacienți primiseră deja o doză de antibiotic, anterior internării. Referitor la etiologia pielonefritei, **20** de pacienți au prezentat uroculturi pozitive (>100.000 germeni **E. Coli**), respectiv **5** pacienți au prezentat uroculturi pozitive cu **Proteus** (>100.000 germeni). Hemoculturile s-au efectuat în cazul pacienților cu infecție invazivă, de la internarea în spital și s-au pozitivat la **21** de cazuri (**19, 10%**), din totalul pacienților cu infecții invazive (**110 cazuri**). **6** hemoculturi au fost pozitive cu **Stafilococ auriu hemolitic metilicilinoresistent**, urmate de **5** cazuri de hemoculturi pozitive cu **Klebsiella**. Locul 3 este ocupat de **4** cazuri de hemoculturi pozitive cu **Pneumococ**, respectiv de **4** cazuri cu **Streptococ hemolitic grup B**. **2** cazuri au prezentat hemoculturi pozitive cu **Piocianic** și într-un singur caz s-a izolat **E.Coli** în hemocultură. **89** de cazuri (**80, 90%**) au prezentat hemoculturi negative.

REPARTIȚIA CAZURILOR ÎN FUNCȚIE DE TIPUL INFECȚIEI

TIP INFECȚIE ÎN FUNCȚIE DE LOCALIZARE	LOCALIZAT	INVAZIV	TOTAL
bacteriană	595	110	705
virală	777	0	777
Total	1372	110	1482

Tabel REPARTIȚIA CAZURILOR DE INFECȚIE LOCALIZATĂ ȘI DE TIP INVAZIV ÎN FUNCȚIE DE ETIOLOGIE

Am observat o frecvență mai crescută, de 777 de cazuri (**56, 63%**) a infecțiilor localizate virale (angină acută, bronșiolită, laringită acută, otită acută, pneumonie acută, enterocolită acută, cistită acută), urmată de infecții localizate bacteriene (amigdalită acută, pultacee, otită acută, sinuzită acută, pneumonie acută, enterocolită acută) **595** cazuri ceea ce reprezintă **43, 37%** din totalul pacienților cu infecții localizate admiși în studiu.

CORELAREA DINTRE CRP, VSH, NUMĂR LEUCOCITE ȘI PROCALCITONINĂ LA GRUPUL DE PACIENȚI CU SEPSIS

Rezultatele analizei lotului de pacienți cu infecții invazive în funcție de valorile reactanților de fază acută (număr de leucocite, număr de neutrofile, VSH, CRP, procalcitonină) au evidențiat prezența a 20 de cazuri de sepsis. 6 pacienți (30 %) au fost diagnosticați cu sepsis de etiologie virală, respectiv 14 pacienți (70%) cu sepsis de etiologie bacteriană. Hemoculturile s-au efectuat în cazul pacienților cu sepsis, de la internarea în spital și s-au pozitivat doar în **3** dintre cazuri (**4, 26%**), din totalul pacienților cu sepsis (**20** cazuri). **1** hemocultură a fost pozitivă cu **Stafilococ auriu hemolitic meticilinorezistent**, respectiv **2** cazuri de hemoculturi pozitive cu **Pneumococ**.

	Aria de sub curba ROC	Eroarea standard	Intervalul de încredere 95%
Proteina C reactivă	0.857	0.088	0.622 - 0.971
Număr leucocite	0.671	0.135	0.422 - 0.865
Număr neutrofile	0.629	0.142	0.381 - 0.834
Procalcitonina	0.864	0.086	0.630 - 0.974
VSH	0.829	0.098	0.588 - 0.958

Tabel Analiza discriminativă pentru CRP, VSH procalcitonină, numărul de leucocite și numărul de neutrofile ,la pacienții cu sepsis

Analiza comparativă a curbelor ROC pentru CRP, VSH procalcitonină, numărul de leucocite și numărul de neutrofile, scoate în evidență faptul că toți acești parametri sunt potențial utilizabili ca test de diagnostic în identificarea tipului de infecție(virală vs bacteriană) în cazul pacienților cu sepsis . Aceasta se confirmă de către rezultatele obținute prin metoda analizei discriminant care ia în calcul simultan toate testele de inflamație și evidențiază o bună separare între cele două grupuri .

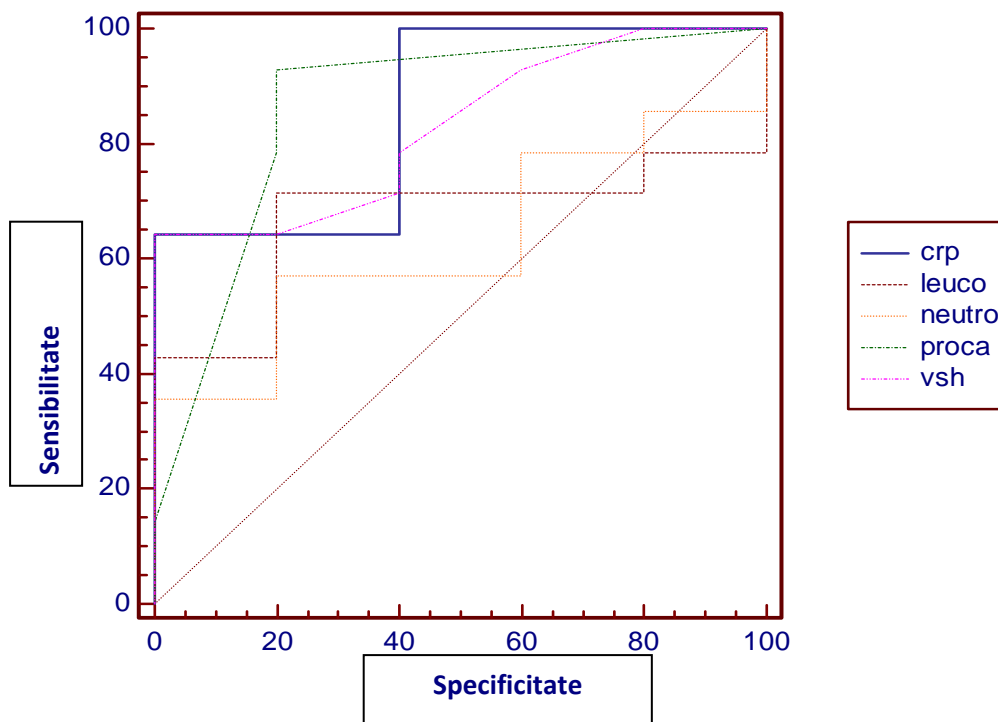


Fig. Analiza comparativă a curbelor ROC pentru CRP, VSH, procalcitonină, numărul de leucocite și numărul de neutrofile pentru a discrimina între sepsis de etiologie virală vs etiologie bacteriană

Procalcitonina prezintă o sensibilitate și o specificitate superioară celorlalți reactanți de fază acută (număr de leucocite, număr de neutrofile, VSH, respectiv CRP), realizând o foarte bună discriminare între grupuri.

9. DISCUȚII

Infecțiile la copii reprezintă în lumea întreagă o cauză majoră de morbiditate și mortalitate.

Încurajată și de studii și cercetări care reflectă actualitatea și relevanța practică a problemei, mi-am propus ca obiectiv al tezei de doctorat, să constat dacă reacții de fază acută, aduc sau nu beneficii în diagnosticul etiologic al infecțiilor la copii, sub aspectul precizării infecției virale sau bacteriene.

Pregătirea teoretică și practică a tezei am început-o din anul 2005, dar pentru că rezultatele studiului să poată fi reprezentative din punct de vedere științific, am ales ca bază de eșantion cercetată, copiii cu vârstă 0-18 ani internați pe o perioadă de 2 ani calendaristic 1.01.2006 – 31.12.2007, în Clinica Pediatrie Brașov.

Studiul a cuprins un număr de 1482 de pacienți, având ca diagnostic un singur tip de infecție. Copiii luați în studiu au fost randomizați în funcție de data calendaristică a internării. Evaluarea inițială a analizat parametri cheie (număr leucocite, formula leucocitară, VSH, CRP, procalcitonină)hemocultura, urocultura, coprocultura.

În afara acestora, au fost luați în calcul și alți parametri de interes pentru studiul efectuat, și la care am făcut referire, cum ar fi:

- antecedente personale patologice
- sexul
- vârsta
- tipul de infecție
- etiologia infecției
- durata internării
- costuri (zile de spitalizare)

Urmărind parametri analizați, putem afirma următoarele:

❖ Tipul de infecție

- din totalul pacienților admiși în studiu, se evidențiază o predominanță a **pneumoniei acute**, 395 cazuri ceea ce reprezintă **26, 65%** cazuri, urmată de **bronșiolită** cu 286 de cazuri (**19, 29%**), iar pe locul 3 se situează **enterocolita acută virală**, 270 cazuri (**18, 21%**)

- incidența cea mai scăzută este reprezentată de pacienții cu **sepsis**, în lotul de pacienți înregistrându-se 20 de cazuri, ceea ce reprezintă (**1, 34%**).

- infecțiile invazive sunt reprezentate pe primul loc de **pielonefrita acută** (**55** cazuri), urmată de **bronhopneumonie** (**35** cazuri) .Pe locul 3 se situeaza **sepsis-ul** (**20** cazuri).

❖ Etiologia infecției

- etiologia infecțiilor a fost predominant virală într-un procent de **52, 42%** (777 de cazuri), urmată de infecții bacteriene, **705** cazuri ceea ce reprezintă **47, 57 %** din totalul pacienților admiși în studiu.

- etiologia infecțiilor localizate a fost predominant virală - **777** de cazuri (**56, 63%**), urmată de cea bacteriană -**595** cazuri, ceea ce reprezintă **43, 37 %** din totalul pacienților cu infecții localizate admiși în studiu.

❖ Reactanții de fază acută

Analiza separată și comparativă a curbelor ROC pentru CRP, numărul de leucocite, numărul de limfocite, numărul de neutrofile, raportul dintre numărul de neutrofile și numărul de limfocite și VSH, la internare, scoate în evidență faptul că toți acești parametri sunt potențial utilizabili ca test de diagnostic în identificarea tipului de infecție(virală vs bacteriană). Aceasta se confirmă de către rezultatele obținute prin metoda analizei discriminant care ia în calcul simultan aceste teste de inflamație și evidențiază o bună separare între cele două grupuri. **CRP** efectuat la internare prezintă o sensibilitate și o specificitate superioară celorlalți reactanți de fază acută (număr de leucocite, numărul de limfocite, număr de neutrofile, NLR, respectiv VSH), realizând o foarte bună discriminare între grupuri. Analiza separată și comparativă a curbelor ROC pentru numărul de leucocite, numărul de limfocite, numărul de neutrofile, raportul dintre numărul de neutrofile și numărul de limfocite și VSH efectuate după 24 ore, la un grup de 54 pacienți cu infecții (14 pacienți cu infecții virale, respectiv 40 pacienți cu infecții bacteriene) scoate în evidență faptul că toți acești parametri sunt potențial utilizabili ca test de diagnostic

în identificarea tipului de infecție(virală vs bacteriană). Aceasta se confirmă de către rezultatele obținute prin metoda analizei discriminant care ia în calcul simultan aceste teste de inflamație și evidențiază o bună separare între cele două grupuri . **VSH** efectuat după 24 ore prezintă o sensibilitate și o specificitate superioară celorlalți reactanți de fază acută (număr de leucocite, numărul de limfocite, număr de neutrofile, respectiv NLR), realizând o foarte bună discriminare între grupuri. Analiza comparativă a curbelor ROC pentru CRP, VSH procalcitonină, numărul de leucocite și numărul de neutrofile, scoate în evidență faptul că toți acești parametri sunt potențial utilizabili ca test de diagnostic în identificarea tipului de infecție(virală vs bacteriană) în cazul pacienților cu sepsis. Aceasta se confirmă de către rezultatele obținute prin metoda analizei discriminant care ia în calcul simultan toate testele de inflamație și evidențiază o bună separare între cele două grupuri.

Procalcitonina prezintă o sensibilitate și o specificitate superioară celorlalți reactanți de fază acută (număr de leucocite, număr de neutrofile, VSH, respectiv CRP), realizând o foarte bună discriminare între grupuri(sepsis de etiologie bacteriană versus sepsis de etiologie virală).

❖ **Culturi centrale**

- **hemoculturile** s-au efectuat în cazul pacienților cu infecție invazivă, încă de la internarea în spital și s-au pozitivat la **21** de cazuri (**19, 10%**), din totalul pacienților cu infecții invazive (**110**).

- **6** hemoculturi au fost pozitive cu **Stafilococ auriu hemolitic meticilinoresistent**, urmate de **5** cazuri de hemoculturi pozitive cu **Klebsiella**. Locul 3 este ocupat de **4** cazuri de hemoculturi pozitive cu **Pneumococ**, respectiv de **4** cazuri cu **Streptococ hemolitic grup B**. **2** cazuri au prezentat hemoculturi pozitive cu **Piocianic** și s-a izolat un singur caz de **E.Coli** în hemocultură. **89(80, 90%)** de cazuri au prezentat hemoculturi negative.

- uroculturile efectuate au fost pozitive în 25 cazuri, restul de 20 au fost negative, posibil datorită faptului că, cei din urmă pacienți au primit deja o doză de antibiotic, anterior internării.

- **20** de pacienți au prezentat uroculturi pozitive(> 100 000 germeni **E. Coli**), respectiv **5** pacienți au prezentat uroculturi pozitive cu **Proteus**(>100.000 germeni).

Cele prezentate anterior, reflectă beneficiile utilizării reactanților de fază acută în special în departamentele de urgență și terapie intensivă, în diagnosticul, evoluția și management-ul infecțiilor la copii.

10. CONCLUZII

1. Incidența infecțiilor virale a fost mai mare (**52,42%**), comparativ cu infecțiile bacteriene(**47, 57 %**) din totalul pacienților admiși în studiu.
2. În funcție de tipul infecției, s-a evidențiat o predominanță a **pneumoniei acute** (**26, 65%**) cazuri, urmată de **bronșiolita** (**19, 29%**), iar pe locul 3 se situează **enterocolita acută virală** (**18, 21%**) .
3. Etiologia infecțiilor localizate a fost predominant virală(**56, 63%**), urmată de cea bacteriană (**43, 37 %**) din totalul pacienților cu infecții localizate luați în studiu.
4. Infecțiile invazive sunt reprezentate pe primul loc de **pielonefrita acută** (**55 cazuri**), urmată de **bronhopneumonie** (**35 cazuri**) .Pe locul 3 se situeaza **sepsis-ul** (**20 cazuri**).
Analiza reactanților de fază acută oferă următoarele concluzii:
 - 4.1.analiza comparativă a curbelor ROC pentru CRP, numărul de leucocite, numărul de limfocite, numărul de neutrofile, raportul dintre numărul de neutrofile și numărul de limfocite și VSH, la internare scoate în evidență faptul că toți acești parametri sunt potențial utilizabili ca test de diagnostic în identificarea tipului de infecție(virală vs bacteriană).
 - 4.2.media numărului de leucocite, la internare a cazurilor cu infecție bacteriană este mai mare comparativ cu pacienții cu infecție virală, diferența statistică fiind extrem de semnificativă **p<0, 001** între cele două grupuri.
 - 4.3.media CRP, la internare, în cazul infecțiilor bacteriene a fost mai mare comparativ cu pacienții cu infecție virală, diferența statistică fiind extrem de semnificativă.(**p<0.001**)
 - 4.4.media VSH-ului, la internare, în cazul infecțiilor bacteriene a fost mai mare comparativ cu pacienții cu infecție virală, diferența statistică fiind extrem de semnificativă.(**p<0.001**).
 - 4.5.**CRP** efectuat la internare prezintă o sensibilitate și o specificitate superioară celorlalți reactanți de fază acută (număr de leucocite, numărul de limfocite, număr de neutrofile, NLR, respectiv VSH), realizând o foarte bună discriminare între grupurile de infecție(virală vs bacteriană), aria corespunzătoare de sub curba ROC a fost de 0.65 din valoarea maximă (AUC=1), valoare semnificativă statistic (**p<0.01**).
 - 4.6.analiza comparativă a curbelor ROC pentru numărul de leucocite, numărul de limfocite, numărul de neutrofile, raportul dintre numărul de neutrofile și numărul

- de limfocite și VSH efectuate la 24 ore scoate în evidență faptul că toți acești parametri sunt potențial utilizabili ca test de diagnostic în identificarea tipului de infecție(virală vs bacteriană)
- 4.7.media numărului de leucocite, la 24 ore, a cazurilor cu infecție bacteriană este mai mare comparativ cu pacienții cu infecție virală, diferența statistică fiind extrem de semnificativă $p < 0,001$ între cele două grupuri.
- 4.8.VSH efectuat după 24 ore prezintă o sensibilitate și o specificitate superioară celorlalți reactanți de fază acută (număr de leucocite, numărul de limfocite, număr de neutrofile, respectiv NLR), realizând o foarte bună discriminare între grupuri (infecție virală vs bacteriană)
5. Analiza reactanților de fază acută în funcție de **localizarea** infecțiilor oferă următoarele concluzii:
- 5.1.analiza comparativă a curbelor ROC pentru CRP, VSH, procalcitonină, numărul de leucocite și numărul de neutrofile, scoate în evidență faptul că toți acești parametri sunt potențial utilizabili ca test de diagnostic în identificarea tipului de infecție(virală vs bacteriană) în cazul pacienților cu sepsis.
- 5.2.pacienții cu **infecție bacteriană invazivă** au prezentat **leucocitoză** încă de la internarea în spital.
- 5.3. media **CRP** la internare, în cazul **infecțiilor bacteriene invazive** a fost mai mare comparativ cu infecțiile bacteriene localizate, diferența statistică fiind semnificativă.($p < 0.04$) .
- 5.4. valoarea medie la internare, a **VSH**-ului la cei cu **infecții invazive** a fost mai mare comparativ cu pacienții cu **infecții localizate**, diferența statistică nesemnificativă.
- 5.5.media **CRP**, la 24 ore, în cazul **infecțiilor bacteriene localizate** a fost mai mare decât la cei cu **infecții bacteriene invazive**, diferența statistică fiind nesemnificativă.
- 5.6.media **VSH**-ului la 24 ore la cei cu **infecții localizate** a fost a fost mai mare decât la cei cu **infecții bacteriene invazive**, diferența statistică fiind nesemnificativă.
- 5.7.**procalcitonina** prezintă o sensibilitate și o specificitate superioară celorlalți reactanți de fază acută (număr de leucocite, număr de neutrofile, VSH, respectiv CRP), realizând o foarte bună discriminare între grupuri(sepsis bacterian versus sepsis viral).

6. **Hemoculturile** s-au efectuat în cazul pacienților cu infecție invazivă, încă de la internarea în spital și au fost negative în **89, 90%** din cazuri.
7. Durata de evoluție a bolii a în grupul pacienților cu **infecții bacteriene** a fost mai mare, valoarea medie fiind de **8, 04 zile**, versus **5, 62 zile** la pacienții cu **infecții virale**, cu o diferență statistică extrem de semnificativă. **p<0.001**
8. Durata medie de tratament a fost mai mare în grupul pacienților cu **infecții bacteriene** care au necesitat în plus și antibioterapie, implicând astfel și o creștere a costurilor de spitalizare.

11. BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. **Abdorrahim Afkhamzadeh, Saied Sattari, Abbas Ahmadi, Esmail Izadpanah, Reza Janmardi.** Correlation between Procalcitonin, WBC, ESR, and CRP before and after treatment of Systemic Inflammatory Response Syndrome in children aged 1-36 months Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences, Vol. 33, No. 5, Dec. - Jan. 2011
2. **Al-Gwaiz LA, Babay HH.** The diagnostic value of absolute neutrophil count, band count and morphologic changes of neutrophils in predicting bacterial infections. Med Princ Pract 2007; 16: 344-347.
3. **Anita K. M Zaidi and Donald A Goldmann:** Nelson – Textbook of Pediatrics, 17 th edition Infectious Diseases, Diagnostic Microbiology, 160:835-39, 2003
4. **Benson R, Tondella ML, Bhatnagar J et al.** Development and evaluation a novel multiplex PCR technology for molecular differential detection of bacterial respiratory disease pathogens. J Clin Microbiol.2008;46: 2074 -2077
5. **Bernard N. Fields, Peter M., MD** Howley, Diane E., Ph.D. Griffin, Robert A., Ph.D. Lamb, By Lippincott Williams & Wilkins Publishers By OkDoKey, Fields – Virology (Two Volumes) 4th Edition (August 2001): by Diagnostic virology, chapter 18, pg 410-424
6. **Borja Gomez, MD, Santiago Mintegi, MD, Edurne Lopez, MD et al.** Diagnostic value of Leukopenia in Young febrile infants, *Pediatr Infect Dis J*, vol 31, number 1, January 2012, pg 92-95
7. **Brian J Holland, MD,** Consulting Staff, Department of Pediatrics, US Army Hospital, Wuerzburg, Germany, Denise Demers, MD, FAAP, Assistant Professor of Pediatrics, Uniformed Services University of the Health Sciences; Chief, Division of Pediatric Infectious Diseases, Department of Pediatrics, Tripler Army Medical Center – Bacteremia, March 15, 2005
8. **Carlos Perez-Mendez, MD, Cristina Molinos- Norniella, MD.** Low risk of bacteremia in otherwise healthy children presenting with fever and severe neutropenia, *Pediatr Infect Dis J*.vol 29, number 7, july 2010 pg 671-672
9. **Claudio Chiesa, Gabriella Pellegrini. C** – Reactive protein, Interleukin- 6, and procalcitonin in the immediate postnatal period: Influence of illness severity, risk status, antenatal and perinatal complications, and infection : *Clinical Chemistry* 49:1 60-68, 2003

10. **Cornelis PC de Jager, Paul TL van Wijk** et al. Lymphocytopenia and neutrophil-lymphocyte count ratio predict bactremia better than conventional infection markers in an emergency care unit. *Critical Care* 2010, 14:R192, pp 2-8
11. **David Isenberg, Professor of Rheumatology, P. J. Maddison Consultant Rheumatologist, et al.** Oxford textbook of rheumatology 2nd ed. Edition, pg 483-486
12. **Fernandez Lopez A, Luaces Cubells C, Garcia Garcia JJ:** 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 Oct; 22(10): 895-903
13. **Gardinali M, Padalino P, Hoffmann A** et al. Complement activation and polymorphonuclear neutrophil leukocyte elastase in sepsis. *Arc Surg* 1992;127:1219-1224
14. **Gendrel D, Raymond J, Assicot M:** Measurement of procalcitonin levels in children with bacterial or viral meningitis. *Clin Infect Dis* 1997 Jun; 24(6): 1240-2
15. **Gendrel D, Raymond J, Coste J:** Comparison of procalcitonin with C-reactive protein, interleukin 6 and interferon-alpha for differentiation of bacterial vs. viral infections. *Pediatr Infect Dis J* 1999 Oct; 18(10): 875-81
16. **Gendrel D, Bohuon C:** Procalcitonin as a marker of bacterial infection. *Pediatr Infect Dis J* 2000 Aug; 19(8): 679-87; quiz 688
17. **Gervais A, Pugin J.** Usefulness of procalcitonin in adults and children. *Rev. Med Suisse* 2005;1:872-4, 877
18. **Gervais, Alain MD** Procalcitonin to Detect Invasive Bacterial Infection in Febrile Infants *Pediatr Infect Dis J*: February 10, 2012
19. **Isaacman DJ, Kaminer K, Veligeti H,** et al: Comparative practice patterns of emergency medicine physicians and pediatric emergency medicine physicians managing fever in young children. *Pediatrics* 2001 Aug; 108(2): 354-8
20. **Ip M, Rainer TH, Lee N, Chan C, Chau SS, Leung W,** et al. Value of serum procalcitonin, neopterin, and C-reactive protein in differentiating bacterial from viral etiologies in patients presenting with lower respiratory tract infections. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 59:131-136
21. **Jaye DL, Waites KB.** Clinical applications of C -reactive proteine in pediatrics. *Pediatr. Infect Dis J* 1997;16:735-747
22. **Joan M Henqst** – reactive C proteine in infection, *Journal of paediatrics*, vol 142, pg 3-13, 2003
23. **John Playfair, Gregory Bancroft** – *Infection and Imunity*, second edition, 2004 pg 77-94

24. **Jonathan Cohen** - Infectious Disease 2nd edition, September, 2003, Host Responses to Infection, pg 74-85
25. **Khan DA, Rahman A, Khan FA.** Is procalcitonin in better than C- reactive protein for early diagnosis of bacterial pneumonia in children? J Clin Lab Anal 2010;24:1–5.
26. **Lacour AG, Gervais A, Zamora SA, et al:** Procalcitonin, IL-6, IL-8, IL-1 receptor antagonist and C-reactive protein as identifiers of serious bacterial infections in children with fever without localising signs. Eur J Pediatr 2001 Feb; 160(2): 95-100
27. **Lacour A, Zamora S, Andreola B,** et al. Validation of a laboratory risk index score for identification of severe bacterial infection in children with fever without source. Arch Dis Child. 2010; 95:968 – 973
28. **Marcus N, Mor M, Amir L,** et al. The quick-read C-reactive protein test for the prediction of bacterial gastroenteritis in the pediatric emergency department. Pediatric Emergency Care 2007;23:634–7.
29. **Marcus, N., Mor, M., Amir, L., Mimouni, M. and Waisman, Y.** Validity of the quick-read C-reactive protein test in the prediction of bacterial pneumonia in the pediatric emergency department. European journal of emergency medicine : official journal of the European Society for Emergency Medicine 2008, 15 (3), pp. 158-161.
30. **Nevalainen TJ** – Serum phospholipases A2 in inflammatory diseases. Clin Chem 1993; 39:2453-2459
31. **Olaciregui I, Hernandez U, Munoz JA,** et al. Markers that predict serious bacterial infection in infants under 3 months of age presenting with fever of unknown origin .Arch Dis.Child.2009;94:501-505
32. **Pulliam PN, Attia MW, Cronan KM.** C – Reactive Protein in febrile children 1 to 36 months of age with clinically undetectable serious bacterial infection. Pediatrics.2001;108: 1275 -1279
33. **Sarah S Long(Editor), Larry K.Pickering(Editor), Charles G.Prober(Editor) by Churchill Livingstone, by Okdokey** - Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases 2nd Edition, Chapter 301 – Laboratory Diagnosis of Infection Due to Viruses, pg 1392-1395, October 2002
34. **Sarah S Long(Editor), Larry K.Pickering(Editor), Charles G.Prober(Editor) by Churchill Livingstone, by Okdokey** - Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases 2nd Edition, Chapter 302 – Laboratory manifestations of infectious Diseases, pg 1409-1417, October 2002
35. **Segel GB, Halterman S.** Neutropenia in pediatric practice. Pediatr Rev 2008;29:12-23

36. **Simon L, Gauvin F, Amre DK.** Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection : a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2004; 39:206-17
37. **Vikas Bhushan, Tao le, Joshua Klein, Anil Shivaram.** First aid for USMLE step 1, *Microbiology-Immunology* 2003, pg 212-213

REFERAT

Premizele temei de cercetare pornesc din literatura de specialitate în care sunt publicate studii care evidențiază rolul testelor inflamatorii în diagnosticul diferențial dintre infecții virale și infecții bacteriene, la copii.

Obiectivele cercetării au fost evaluarea rolului numărului de leucocite, proteinei C reactive și respectiv a VSH-ului de a diferenția infecția bacteriană de infecția virală, la copii.

Metoda de lucru: studiu prospectiv care a cuprins **1482** de copii având ca diagnostic un singur tip de infecție , grupați în două loturi 1) lotul A care a cuprins **777** copii cu infecții virale 2) lotul B a cuprins **705** copii cu infecții bacteriene.

Rezultatele cercetării: Valoarea medie a numărului de leucocite la internare a cazurilor cu infecție virală este **10 633, 27 / mm³** și de **11 475, 48/ mm³** la pacienții cu infecție bacteriană, diferența statistică extrem de semnificativă **p < 0, 001** între cele două grupuri. Valoarea medie a VSH-ului la internare, a fost de **17, 5 mm/h** la cei cu infecție virală și respectiv de **26, 72 mm/h** la pacienții cu infecție bacteriană(**p < 0.05**). Valoarea medie a CRP –ului , la internare, a fost de **8, 73 mg/dl** în cazul pacienților cu infecție virală, respectiv de **15,46 mg/dl** la cei cu infecție bacteriană, diferență statistică extrem de semnificativă. (**p < 0.001**). Am analizat în dinamică ,la 24 ore în ce măsură testele inflamatorii pot distinge între cele două loturi studiate. Valorile medii pentru numărul de leucocite, la 24 ore a fost de **9506 /mm³** la pacienții cu infecție virală , versus **10794/ mm³** la cei cu infecție bacteriană (**p < 0.001**). Valoarea medie a VSH-ului, la 24 ore, a fost de **12, 97 mm/h** la cei cu infecție virală, versus **28, 44 mm/h** la pacienții cu infecție bacteriană(**p < 0.001**)

Concluzia acestui studiu a evidențiat faptul că numărul de leucocite, CRP-ul ,VSH-ul sunt indicatori utili în diagnosticul diferențial dintre infecții virale și infecții bacteriene, la copii.

Cuvinte cheie: *Proteina C-reactivă, număr de leucocite, VSH , infecții bacteriene , infecții virale*

ABSTRACT

There are several studies that show the usefulness of inflammatory markers for distinguishing between viral and bacterial infection at children.

Aim of the Study: to evaluate the usefulness of leukocytes, C-reactive protein (CRP) and erythrocyte sedimentation rate (ESR) as markers for differentiation of bacterial infection versus viral infections in children.

Methods: prospective study which evaluated **1482** patients divided into two groups: 1) group A with **777** patients having viral infections and 2) group B with bacterial infections comprised of **705** patients.

Results: Mean values for leucocytes were very significantly different ($p < 0.001$) for viral infection **10633 /mm³** versus **11475 /mm³** for bacterial one. Mean erythrocyte sedimentation rate (ESR) for viral infection was **17, 5 mm/hr** versus **26, 72 mm/hr** for bacterial infections ($p < 0.05$). Mean CRP for viral infection was **8, 73 mg/dl** versus **15.46 mg/dl** ($p < 0.001$) for bacterial one. We analyzed the degree in which inflammatory tests may distinguish between the two groups at 24 hours. Mean values for leucocytes was for viral infection **9506 /mm³** versus **10794 /mm³** ($p < 0.001$) for bacterial one. Mean ESR for viral infection was **12, 97 mm/hr** versus **28, 44 mm/hr** for bacterial infections ($p < 0.001$).

Conclusion: this study suggests that CRP, ESR and leucocytes are good markers for differentiation between bacterial versus viral infections.

Key Words: *C-reactive protein, leukocytes, ESR , bacterial infections ,viral infections*