

Uit de Laboratoriumpraktijk

Is procalcitonine van additionele waarde bij de diagnostiek van sepsis?

R. BAUMGARTEN¹, N.C.V. PÉQUÉRIAUX¹, M.J.E. van PUYENBROEK² en B. SPEELBERG²

Bij ernstig zieke patiënten bestaat behoefte aan een parameter die kan aangeven of een sepsis de oorzaak is van een systemische ontsteking. Er zijn aanwijzingen dat procalcitonine (PCT) deze belangrijke diagnostische informatie kan geven. In deze studie is PCT gemeten in 53 monsters verdeeld over 35 patiënten. Als gouden standaard voor de diagnose sepsis werden Bone's klinische consensuscriteria gebruikt. Retrospectief werd gekeken naar de diagnostische specificiteit en sensitiviteit van PCT met en zonder CRP. Bij een afkapwaarde PCT $\geq 3,0$ ng/ml bedroeg de sensitiviteit 54%, de specificiteit 90%, de positief voorspellende waarde 64% en de negatief voorspellende waarde 86%. De sensitiviteit van CRP > 50 mg/l bedroeg 100%, de specificiteit 35%. De combinatie van CRP en PCT gaf een sensitiviteit van 54% en een specificiteit van 10%. De voorspellende waarde ten aanzien van mortaliteit bedroeg 46%. Concluderend: bepaling van PCT, al dan niet in combinatie met CRP, geeft weinig extra diagnostische informatie bij een patiënt met een systemische ontsteking bij het hanteren van Bone's klinische criteria voor sepsis. Daarbij is de bepaling van PCT bewerkelijk en tijdrovend en lijkt hij niet geschikt als cito bepaling.

Trefwoorden: diagnose; infectie; procalcitonine; sepsis; SIRS; systemische inflammatie

Systemische ontsteking door ernstige infecties of sepsis kan leiden tot multipel orgaanfalen (MOF) en vormt hierdoor een belangrijke oorzaak van ziekte en sterfte van patiënten op de intensive-care unit (ICU). Het is echter niet eenvoudig vast te stellen of de systemische ontsteking van een patiënt toe te schrijven is aan een infectie met of zonder sepsis of dat er aan een andere oorzaak gedacht moet worden. Zo kunnen pancreatitis, brandwonden en traumata eveneens aanleiding geven tot een systemic inflammatory response

Centraal Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium¹ en afdeling Intensive Care², St. Elisabeth Ziekenhuis, Tilburg.

Correspondentie: Dr. R. Baumgarten, Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium, Albert Schweitzer Ziekenhuis, Postbus 306, 3300 AH Dordrecht
e-mail: r.baumgarten@dshz.nl

syndroom (SIRS) dat, net als een ernstige infectie met of zonder sepsis, onder meer gekenmerkt wordt door koorts, tachycardie en leukocytose. De ervaring leert dat het verrichten van microbiologische kweken niet de gewenste differentiatie tussen enerzijds een infectie/sepsis en anderzijds een SIRS oplevert, omdat microbiologische kweken op de ICU vaak negatief zijn of groei tonen van niet-relevante micro-organismen. Het geschetste diagnostisch dilemma kan er toe leiden dat patiënten onnodig antibiotica krijgen, hetgeen risico's geeft zoals orgaancomplicaties en resistentievorming.

Gebruikelijke klinische en laboratoriumparameters, zoals C-reactive protein (CRP), zijn onvoldoende sensitief en specifiek gebleken om bij te kunnen dragen aan de diagnostische classificatie van ernstig zieke patiënten (1-3).

Een parameter die recent de aandacht heeft getrokken om de diagnostiek bij ernstig zieke patiënten te kunnen verhelderen, is de bepaling van de serumconcentratie van procalcitonine. Procalcitonine (PCT), opgebouwd uit 116 aminozuren en met een moleculaire massa van 13.000 Dalton, is het voorlopereiwit van het calcitonine en wordt onder normale omstandigheden geproduceerd in de C-cellen van de schildklier. De fysiologische concentratie bedraagt $<0,1$ ng/ml, maar klinische studies hebben aangetoond dat de concentratie kan oplopen tot 100 ng/ml bij een sepsis met Gram-negatieve bacteriën (4, 5). In in vitro studies werd geopperd dat de release van PCT mogelijk plaats vindt vanuit de darm, lever of longen en met name in gang wordt gezet door endotoxines (6). Het is tot op heden onduidelijk in hoeverre cytokines, zoals tumor necrosis factor- α of interleukine-6 direct dan wel indirect bijdragen aan het vrijkomen van PCT.

Tabel 1. Patiëntenkarakteristieken en diagnose ten tijde van opname op de intensive-care unit

-
- 24 mannen, 11 vrouwen; leeftijd 17-83 jaar
 - Initiële ICU-diagnose:
 - Primaire infectie (n=11)
 - Trauma (n=6)
 - Operatie (n=7)
 - Overig (gemetasteerde maligniteit, decompensatio cordis, pancreatitis, intoxicatie) (n=11)
 - Opnameduur 1-7 dagen; gemiddelde opnameduur 4 dagen
 - Aantal monsters per patiënt 1-3; gemiddeld 1,5
-

Tabel 2. Klinische consensuscriteria van Bone et al. aan de hand waarvan in deze studie is bepaald of er bij een patiënt sprake is van sepsis

Sepsis: Bewezen infectie (microbiologisch) met

Minimaal 3 van de volgende criteria:

- Temp. ≥ 38 °C of ≤ 36 °C
- Hartfrequentie ≥ 90 /min. (exclusief ernstig primair cardiaal lijden)
- Ademhalingsfrequentie ≥ 20 /min. of $\text{PaCO}_2 \leq 32$ mmHg of beademing
- Leukocyten ≥ 12 ($\times 10^9$)/l of ≤ 4 ($\times 10^9$) of $> 10\%$ immature cellen

Plus minimaal één of de volgende criteria:

- Hemodynamische instabiliteit/ inotropie-afhankelijk
- Urineflow $< 0,5$ ml/kg/h
- Respiratoir falen: $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 250$
- Trombocyten ≤ 80 , of -50% gedurende de afgelopen 3 dagen
- Metabole acidose

Tabel 3. Sensitiviteit en specificiteit van procalcitonine (PCT) gerelateerd aan diverse afkapwaarden van PCT

Afkapwaarde PCT (ng/ml)	Sensitiviteit (%)	Specificiteit (%)
$\geq 1,0$	69	83
$\geq 3,0$	54	90
$\geq 10,0$	23	93
$\geq 30,0$	15	98

Het doel van onze studie was de sensitiviteit en specificiteit van PCT, met en zonder CRP, vast te stellen en na te gaan of de bepaling van PCT de diagnostiek van ernstig zieke patiënten op de ICU kan vereenvoudigen. De klinische consensuscriteria van Bone et al. (7) (zie tabel 2) werden gehanteerd als gouden standaard voor sepsis.

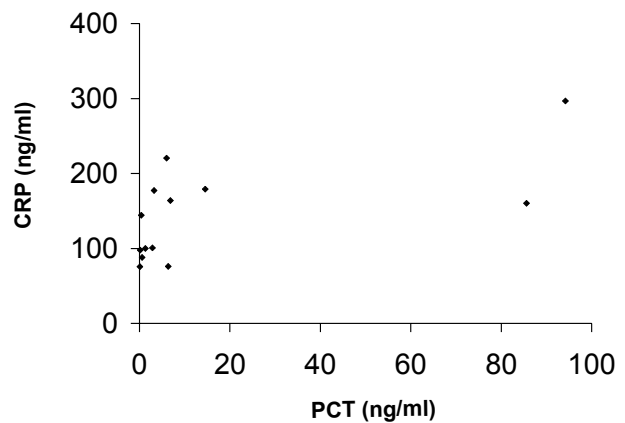
MATERIALEN en METHODEN

Verzamelen van bloedmonsters

Gedurende 10 weken werden tweewekelijks gedurende de prikronde bloedmonsters afgenomen van alle aanwezige patiënten op een intensive-care unit, hetgeen resulteerde in 53 monsters verdeeld over 35 patiënten (voor karakteristieken zie tabel 1). Op het laboratorium werden de monsters gecentrifugeerd en opgeslagen bij -20 °C totdat analyse plaatsvond (tot 12 weken na afname). Op basis van productinformatie en literatuurgegevens (8) kan worden aangenomen dat PCT en CRP gedurende langere tijd stabiel zijn bij -20 °C.

Bepaling van CRP en PCT.

CRP-niveaus werden gemeten middels de immunoturbidimetrische Sera-Pak® Immuno CRP Assay (Bayer, Tarrytown, V.S.), uitgevoerd op een RA-XT® auto-analyser (Technicon, Tarrytown, V.S.). Concentraties van PCT werden bepaald door middel van een immunoluminometrische assay LumiTest® (Brahms Diagnostica, Berlijn, Duitsland) met behulp van een



Figuur 1. Correlatie tussen procalcitonine -(PCT) en C-reactive protein- niveaus bij patiënten met positieve Bone's criteria. De Pearson-correlatie bedroeg 0,6 en de verklaarde variantie (R^2) bedroeg 0,36.

Lumat LB 9507 luminometer (EG&G Berthold, Bad Wildbad, Duitsland). De intra-assay variatiecoëfficiënt van de PCT-bepaling, bepaald over 3 niveaus, bedroeg circa 3,9%. De detectielimiet van de test was 0,5 ng/ml.

Data-analyse

Retrospectief werd aan de hand van klinische, microbiologische en laboratoriumdata bepaald of de patiënt voldeed aan de diagnose sepsis volgens Bone's criteria (zie tabel 2) ten tijde van de bloedafname. Aan de hand van de verschillende afkapwaarden van PCT werd een tabel samengesteld voor de gevonden sensitiviteit en specificiteit bij een bepaald PCT-niveau (zie tabel 3). Daarnaast werd de diagnostische sensitiviteit en specificiteit van CRP bepaald aan de hand van positieve Bone's criteria, waarbij werd aangenomen dat een CRP > 50 ng/ml kan passen bij een sepsis (9).

Statistische analyse

Bij patiënten met positieve Bone's criteria werd de relatie tussen PCT en CRP vastgesteld met behulp van de Pearson-correlatie (r) en de verklaarde variantie (R^2).

RESULTATEN

Bepaling optimale afkapwaarde PCT

Bij het bepalen van de optimale afkapwaarde van PCT streeft men klinisch naar een zo laag mogelijk percentage fout-negatieven, terwijl een beperkt aantal fout-positieven acceptabel is. Deze laatste groep mag echter niet te groot zijn, daar het risico bestaat op onnodig veel interventie/therapie in de groep fout-positieven. Op basis van de gevonden sensitiviteit en specificiteit en gegevens uit de literatuur (10-12) is bij onze patiëntengroep de optimale afkapwaarde voor PCT op 3,0 ng/ml gesteld.

Diagnostische waarde van PCT met en zonder CRP

Bij een afkapwaarde PCT $\geq 3,0$ ng/ml bedroeg de sensitiviteit 54%, de specificiteit 90%, de positief voorspellende waarde 64% en de negatief voorspel-

lende waarde 86%. De likelihood ratio (LR) voor een positieve testuitslag bedroeg 5,4 en de LR voor een negatieve uitslag 0,51. De sensitiviteit van CRP > 50 mg/l bedroeg 100% met een specificiteit van 35%. De combinatie van PCT en CRP gaf een sensitiviteit van 54% en een specificiteit van 10%. De voorspellende waarde van PCT \geq 3,0 ng/ml ten aanzien van mortaliteit bedroeg 46%. Het gebrek aan diagnostische waarde van PCT gecombineerd met CRP wordt verder geïllustreerd door de grafische weergave van de correlatie tussen CRP en PCT (figuur 1) en de verklaarde variantie ($R^2 = 0,36$).

DISCUSSIE

Procalcitonine is als voorlopereiwit van het calcitonine nagenoeg ondetecteerbaar bij gezonde mensen. Hoge PCT-niveaus zijn echter beschreven bij aandoeningen zoals pancreatitis, brandwonden, traumata en infecties (4, 13-15). Bij deze laatste groep van aandoeningen waren de PCT-waardes met name verhoogd bij bacteriële infecties, zowel bij volwassenen als bij jonge kinderen. Vele aspecten ten aanzien van de release van PCT zijn echter nog niet opgehelderd: zo is het onduidelijk waar de release van grote hoeveelheden PCT plaatsvindt alsook de rol en mogelijke inductie van PCT-release door andere ontstekingsmediatoren. In vitro en in vivo studies hebben echter wel aannemelijk gemaakt dat endotoxines de sterkste stimuli zijn voor release van PCT (16). Daarbij blijft de pathofysiologische functie van PCT een mysterie. Desalniettemin wordt in de literatuur gesuggereerd dat PCT een welkome aanvulling is bij de diagnostiek van een systemische ontsteking door een infectie. In een poging antwoord te kunnen geven op de praktisch klinische vraag of er bij een patiënt op de ICU met koorts, leucocytose en negatieve/inconclusieve kweekresultaten sprake is van een sepsis, hebben wij in de huidige studie gekeken naar de diagnostische sensitiviteit en specificiteit van PCT met en zonder CRP, waarbij de klinische consensuscriteria van Bone et al. gehanteerd werden als gouden standaard voor sepsis (7). De matige diagnostische waarde van PCT in onze studie is in overeenstemming met bevindingen door Wanner et al., die vergelijkbare sensitiviteit en specificiteit van PCT beschreven (17). Desalniettemin trekt hij de conclusie dat bepaling van PCT een welkome aanvulling is op het diagnosticeren van de patiënt met sepsis en/of MOF. In een studie door Müller et al. wordt daarentegen gevonden dat de sensitiviteit van PCT 89% is en de specificiteit 94% bij een afkapwaarde van 1 ng/ml bij de diagnostiek van sepsis (18). In de laatstgenoemde studie zijn echter niet de aanvullende criteria gehanteerd zoals vermeld in het tweede gedeelte van tabel 1. Mogelijk verklaart dit het grote verschil in bevindingen tussen de studie van Müller et al. en onze resultaten. In een andere studie door Ugarte et al. wordt een sensitiviteit van 67% en een specificiteit van 61,3% gevonden bij een afkapwaarde van 0,6 ng/ml (19). Het hanteren van een lage afkapwaarde levert derhalve duidelijk "winst" op ten aanzien van de

identificatie van het aantal sepsische patiënten, maar dit gaat ten koste van een hoger percentage fout-positieven, waardoor meer patiënten kans lopen onnodig behandeld te worden. Ons inziens is patiënt noch clinicus gebaat bij een dergelijke aanpak. In combinatie met CRP > 7,9 mg/l beschrijven Ugarte et al. een duidelijke specificiteitswinst van 61,3% zonder CRP naar 82,3% met CRP (19). Hierbij moet opgemerkt worden dat het hanteren van een lage afkapwaarde van CRP in de studie van Ugarte et al. in tegenspraak is met een studie door Povoia et al., die een afkapwaarde van 50 mg/l voor CRP voorstelt op basis van een diagnostische sensitiviteit van 98,5% en specificiteit van 75% bij een sepsis (9).

De likelihood ratio (LR) van een positieve PCT uitslag (5,4) geeft aan dat de klinische bruikbaarheid van een positieve uitslag zeer beperkt is. Voor de meeste klinisch bruikbare testen gaat deze grootheid richting 100. De LR(-) benadert in het ideale geval 0. De LR(-) van PCT bedroeg 0,51. Dit geeft aan dat de verhouding fout-negatieven versus terecht-negatieven 1:2 bedraagt. Hieruit volgt dat een negatieve uitslag weinig bruikbare informatie verschaft. De lage voorspellende waarde van PCT-niveaus ten aanzien van mortaliteit in onze studie is conform de bevindingen beschreven door Müller et al., hoewel hoge waardes (PCT > 30 ng/ml) suggestief zijn voor een infauste prognose (18). Dit zou kunnen inhouden dat PCT-metingen van waarde zijn voor de follow-up van ernstig zieke patiënten (een vorm van monitoring), waarbij oplopende waardes in de loop van de opname duiden op progressie van de ziekte.

Het meten van PCT kan vooralsnog alleen met een handmatige assay en duurt ten minste twee uur. Dit kan in een dienstsituatie belemmerend werken. Bij elke meting moet men een standaardcurve inzetten, waardoor veel reagens uit een kit moet worden gebruikt om één resultaat te verkrijgen. Het verzamelen van meerdere monsters voordat een assay wordt ingezet verdient mogelijk budgettaire voorkeur, maar in de meeste gevallen verwacht de clinicus snel een uitslag. Een aantal van de geschetste beperkingen van de PCT-assay zijn mogelijk te ondervangen met de binnenkort te introduceren semi-kwantitatieve bed-side test. Het gebruik van een semi-kwantitatieve PCT-test is in onze studie niet onderzocht. Wij voorzien evenwel dat het gebruik van een semi-kwantitatieve PCT-test nog minder diagnostische informatie verschaft gezien de beperkte diagnostische waarde van de kwantitatieve test in onze handen. Daarbij is de semi-kwantitatieve test in ieder geval niet geschikt voor monitoring van een individuele patiënt.

Op basis van resultaten uit dit onderzoek, gegevens uit de literatuur en de laboratoriumaspecten menen wij dat er onvoldoende basis is voor het routinematig invoeren van de bepaling van PCT om de ernstig zieke patiënt met een sepsis te identificeren.

Dankbetuiging

De auteurs danken de heer J. A-Tjak van BRAHMS Diagnostika, Berlijn, voor medewerking aan deze studie.

Literatuur

1. Al-Nawas B, Shah PM. Procalcitonin in patients with and without immunosuppression and sepsis. *Infection* 1996; 24: 30-32.
2. Peltola H, Jaakkola M. C-reactive protein in early detection of bacteremic versus viral infections in immunocompetent and compromised children. *J Pediatr* 1988; 113: 641-646.
3. Hansson LO, Axelsson G, Linné T, Aurelius E, Lindquist L. Serum C-reactive protein in the differential diagnosis of acute meningitis. *Scand J Infect Dis* 1993; 25: 625-630.
4. Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet* 1993; 341: 515-518.
5. Bernard L, Ferriere F, Casassus P, Malas F, Leveque S, Guillemin L, Lortholary O. Procalcitonin as an early marker of bacterial infection in severely neutropenic febrile adults. *Clin Infect Dis* 1998; 27: 914-915.
6. Reith HB, Mittelkötter U, Debus ES, Küssner C, Thiede A. Procalcitonin in early detection of postoperative complications. *Dig Surg* 1998; 15: 260-265.
7. Bone RC. American College of Chest Physicians/ Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 1992; 20: 864-874.
8. Meisner M, Tschakowsky T, Schnabel S, Schmidt J, Katalinic A, Schüttler J. Procalcitonin-influence of temperature, storage, anticoagulation or venous asservation of blood samples on procalcitonin concentration. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1997; 35: 597-601.
9. Pova P, Almeida E, Moreira P, Fernandes A, Mealha R, Aragao A, Sabino H. C-reactive protein as an indicator of sepsis. *Intensive Care Med* 1998; 24: 1052-1056.
10. Wanner GA, Keel M, Steckholzer U, Beier W, Stocker R, Ertel W. Relationship between procalcitonin plasma levels and severity of injury, sepsis, organ failure and mortality in injured patients. *Crit Care Med* 2000; 28: 950-957.
11. Chiesa C, Panero A, Rossi N, Stegano M, De Giusti M, Osborn JF, Pacifico L. Reliability of procalcitonin concentrations for the diagnosis of sepsis in critically ill neonates. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 664-672.
12. Karzai W, Oberhoffer M, Meier-Hellmann A, Reinhart K. Procalcitonin-a new indicator of the systemic response to severe infections. *Infection* 1997; 25: 329-334.
13. Rau B, Steinbach G, Gansauge F, Mayer JM, Grünert A, Beger HG. The potential role of procalcitonin and interleukin-8 in the prediction of infected necrosis in acute pancreatitis. *Gut* 1997; 41: 832-840.
14. Mimoz O, Benoist JF, Edouard AR, Assicot M, Bohuon C, Samii K. Procalcitonin and C-reactive protein during the early posttraumatic systemic inflammatory response syndrome. *Intensive Care Med* 1998; 24: 185-188.
15. Von Heimburg D, Stieghorst W, Khorram-Sefat R, Pallua N. Procalcitonin-a sepsis parameter in severe burn injuries. *Burns* 1998; 24: 745-750.
16. Dandona P, Nix P, Wilson MF, Aljada A, Love J, Assicot M, Bohuon C. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 1605-1608.
17. Wanner GA, Keel M, Steckholzer U, Beier W, Stocker R, Ertel W. Relationship between procalcitonin plasma levels and severity of injury, sepsis, organ failure and mortality in injured patients. *Crit Care Med* 2000; 28: 950-957.
18. Müller B, Becker KL, Schächinger H, Rickenbacher PR, Huber PR, Zimmerli W, Ritz R. Calcitonin precursors are reliable markers of sepsis in a medical intensive care unit. *Crit Care Med* 2000; 28: 977-983.
19. Ugarte H, Silva E, Mercan D, De Mendonça A, Vincent JL. Procalcitonin used as a marker of infection in the intensive care unit. *Crit Care Med* 1999; 27: 498-504.

Summary

Diagnosis of sepsis by procalcitonin. Baumgarten R, Péquériau NCV, Puyenbroek MJE van and Speelberg B. Ned Tijdschr Klin Chem 2002; 27:

In critically ill patients, diagnostic information is warranted to determine whether a systemic inflammation response can be attributed to sepsis or not. It has been suggested that procalcitonin (PCT) levels can be informative in this respect. In a study (53 samples, 35 patients) we have calculated the diagnostic sensitivity and specificity of PCT with and without CRP levels, using Bone's clinical criteria for sepsis as the golden standard. With a cut-off level $PCT \geq 3.0$ ng/ml, we found a sensitivity of 54%, a specificity of 90%, a positive predictive value of 64% and a negative predictive value of 86%. Sensitivity of $CRP > 50$ mg/l was 100% with 35% specificity. PCT and CRP combined resulted in a sensitivity of 54% and a specificity of 10%. Predictive value of $PCT \geq 3.0$ ng/ml towards mortality was 46%. In conclusion: measurement of PCT, with or without CRP, does not provide additional diagnostic information for patients suffering from a septic systemic inflammation when Bone's clinical criteria are used to define sepsis. Furthermore, determination of PCT levels is time consuming and laborious, hindering its implementation as a STAT test.

Key-words: diagnosis; infection; procalcitonin; sepsis; SIRS; systemic inflammation