

## LABORATORY CHANGES AND LEVELS OF BIOMARKERS IN LOCALIZED BACTERIAL INFECTIONS AND SEPSIS IN CHILDREN

Larysa Pypa, Maryna Murhina

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya

For correspondence: Maryna Murhina Assistant, Department of Pediatrics, Faculty of Postgraduate Education, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Pirogov st. 54, 21037, Ukraine; fax:(0432) 35-05-63; e-mail: [murgina\\_marina@ukr.net](mailto:murgina_marina@ukr.net); phone +38 (067) 3356694.

### Abstract

**Background.** The success of sepsis treatment depends on early diagnosis of the generalization of bacterial infection, but the nonspecificity of clinical manifestations often makes the diagnosis delayed. Therefore, the search for highly specific and sensitive biomarkers for early diagnosis of sepsis is relevant. The aim of our research is investigate the laboratory features and diagnostic value of a number of modern biomarkers for the diagnosis of sepsis in children.

**Materials and methods.** of general laboratory studies and determination of CRP level were performed in 115 children with generalized and localized forms of bacterial infections. The main group (47 children) - children with sepsis, a comparison group (68 children) - with a localized bacterial infection of various localization. The age of children was from 1 month. up to 18 years. Grouping was performed according to the presence of signs and symptoms of SIRS and organ dysfunction. Determination of the level of procalcitonin and TNF- $\alpha$  was performed in 31 children of the main group, 45 children in the comparison group and 30 children in the control group (children without signs of inflammation). Prespepsin levels were

determined in 16 main group children, 14 in the comparison group and 26 in the control group.

**Results.** During the study, it was found that the level of leukocytosis was much higher and continued 2.6 times longer in the main group than in the children of the comparison group ( $p < 0.01$ ). Anemia was found in 76.6% of the children in the main group, while in the comparator group, the anemia syndrome was diagnosed 3.7 times less frequently. In the study of CRP in the main group, its level reached 44.7 mg / l and 28.3 mg / l in the comparison group, the specificity and sensitivity for diagnosis of sepsis was 46.8% and 51.5% respectively. The mean TNF- $\alpha$  level in children in the main group was 280.3 pg / ml CI 95% [243.9-316.7], which was 1.5 times higher than in children with a localized bacterial process, where the average level of this cytokine was 186.5 pg / ml CI 95% [163.1-209.9], and 4.2 times higher than that of control group children (65.7 pg / ml CI 95% [56.7-74, 8]). The difference between the groups was statistically significant ( $p < 0.01$ ). Sensitivity and specificity were 61 and 81% (for sepsis diagnosis).

In the main group of children, the mean PCT level was 4.06 ng / ml CI 95% [3.34-4.69], and in the comparison group - 0.86 ng / ml CI 95% [0.77-1.03], in the group of control - 0.024 ng / ml CI 95% [0.02-0.03], between the groups the difference was statistically significant ( $p < 0.01$ ). Sensitivity and specificity were 87% and 90%. The level presepsin in the main group was 1887.5 pg / ml (505.5-3702.5 pg / ml); in the comparator group, 313.5 pg / ml (208-376 pg / ml), in healthy children, the level of presepsin was 109 pg / ml (77.5-160 pg / ml). The difference between the groups is statistically significant ( $p < 0,01$ ). The sensitivity and specificity of determination the level of presepsin in children with sepsis is 92% and 93%, respectively.

### **Conclusions**

1. In children with sepsis, leukocytosis is more pronounced in comparison with children with localized bacterial infection, but there is no clear regularity between the severity of the septic state and the magnitude of leukocytosis.

2. Anemia is accompanied by septicemia in almost 76,6% of cases,

3. The most sensitive and specific markers for the development of sepsis are procalcitonin and presepsin and for the diagnosis of bacterial infection, the level of serum presepsin is the most specific and sensitive.

**Key words: sepsis, presepsin, procalcitonin, CRP, children**

## ЛАБОРАТОРНІ ЗМІНИ ТА РІВНІ БІОМАРКЕРІВ ПРИ ЛОКАЛІЗОВАНИХ БАКТЕРІАЛЬНИХ ІНФЕКЦІЯХ ТА СЕПСИСІ У ДІТЕЙ

Лариса Володимирівна Пипа, Марина Миколаївна Мургіна

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

Для кореспонденції: Мургіна Марина Миколаївна, асистент кафедри педіатрії ФПО,  
Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, вул. Пирогова, 54,  
м. Вінниця, 21037, Україна; факс: (0432) 35-05-63; e-mail: [murgina\\_marina@ukr.net](mailto:murgina_marina@ukr.net);  
контактний телефон +38 (067) 335 66 94

### Резюме

**Актуальність.** Успіх лікування сепсису залежить від ранньої діагностики генералізації бактеріальної інфекції, але неспецифічність клінічних проявів робить часто діагностику запізнілою. Тому актуальним є питання пошуку високоспецифічних та чутливих біомаркерів ранньої діагностики сепсису.

**Мета дослідження** Дослідити лабораторні особливості та діагностичну цінність ряду сучасних біомаркерів діагностики сепсису у дітей.

**Матеріали та методи** загальнолабораторні дослідження та визначення рівня СРБ проводилось у 115 дітей із генералізованими та локалізованими формами бактеріальних інфекцій. Основна група (47 дітей) – діти із сепсисом, група порівняння (68 дітей) – із локалізованою бактеріальною інфекцією різної локалізації. Вік дітей складав від 1 міс. до 18 років. Розподіл на групи проводився згідно наявності ознак ССЗВ та органної дисфункції. Визначення рівня прокальцитоніну та TNF- $\alpha$  проведено у 31 дитини основної групи, у 45 дітей групи порівняння та 30 дітей групи контролю (діти без ознак запалення). Рівень пресепсину був визначений у 16 дітей основної групи, 14 - групи порівняння та 26 дітей групи контролю.

**Результати.** У ході дослідження було виявлено, що рівень лейкоцитозу сягав значно вищих показників і тривав у 2,6 разів довше в основній групі ніж у дітей групи порівняння ( $p < 0,01$ ). У дітей основної групи спостерігалась анемія в 76,6%, тоді як у групі порівняння анемічний синдром було діагностовано у 3,7 разів рідше. При

дослідженні рівня СРБ в основній групі його рівень сягав 44,7 мг/л а в групі порівняння 28,3 мг/л, специфічність та чутливість для діагностики сепсису складала 46,8% та 51,5% відповідно. Середній рівень TNF- $\alpha$  у дітей основної групи складав 280,3 пг/мл ДІ 95% [243,9-316,7], що було в 1,5 рази вище ніж у дітей із локалізованим бактеріальним процесом, де середній рівень даного цитокіну був 186,5 пг/мл ДІ 95% [163,1-209,9], та в 4,2 рази вищим у порівнянні із дітьми групи контролю (65,7 пг/мл ДІ 95% [56,7-74,8]). Різниця між показниками груп була статистично значима ( $p < 0,01$ ). Чутливість та специфічність складала 61 та 81% (при діагностиці сепсису).

В основній групі дітей середній рівень ПКТ був 4,06 нг/мл ДІ 95% [3,34-4,69], а в групі порівняння – 0,86 нг/мл ДІ 95% [0,77- 1,03], в групі контролю - 0,024 нг/мл ДІ 95% [0,02-0,03], між групами різниця була статистично значима ( $p < 0,01$ ). Чутливість та специфічність були 87% та 90%. Рівень пресепсину в основній групі складав 1887,5 пг/мл (505,5-3702,5 пг/мл); в групі порівняння - 313,5 пг/мл (208-376 пг/мл), у здорових дітей рівень пресепсину становив 109 пг/мл (77,5-160 пг/мл), Різниця між групами статистично значима ( $p < 0,01$ ). Чутливість та специфічність визначення рівня пресепсину при сепсисі у дітей складає, відповідно, 92 та 93%.

### **Заключення**

1. У дітей із сепсисом лейкоцитоз є більш вираженим у порівнянні з дітьми із локалізованою бактеріальною інфекцією, але чіткої закономірності між важкістю перебігу септичного стану та величиною лейкоцитозу не спостерігається.
2. Анемія супроводжує септичний стан майже в 76,6% випадків,
3. Найбільш чутливими та специфічними маркерами розвитку сепсису є прокальцитонін та пресепсин, а для діагностики розвитку бактеріальної інфекції найбільш специфічний та чутливий є рівень пресепсину сироватки крові.

**Ключові слова :** сепсис, пресепсин, прокальцитонін, СРБ, діти.

### **Вступ**

Висока смертність від сепсису в більшості випадків обумовлена його пізньою діагностикою і неефективним моніторингом лікування. Рання діагностика сепсису дає можливість вчасно розпочати антимікробну терапію, що дає шанс на виживання тисячам пацієнтів. Особливо актуально це питання стоїть у педіатрії [1].

Неспецифічність клінічних проявів та загальнолабораторних показників при септичних станах у дітей ставить перед дослідниками питання про пошук надійних біомаркерів генералізації інфекційного процесу.

На міжнародній конференції, присвяченій педіатричному сепсису (2001р.), одним з важливих питань діагностики, окрім основних клінічних характеристик, було запропоновано використовувати біохімічні маркери [2]. Тому пошук чутливих маркерів ССЗР і сепсису залишається актуальним питанням [3, 4, 5, 6], тим більше що ССЗР може мати інфекційну та неінфекційну етіологію.

Бактеріологічні дослідження можуть бути хибнопозитивними через контамінацію біоматеріалу, їх чутливість не перевищує 25-42 %, а негативні результати не виключають наявності інфекції [1]. Ідеальний метод діагностики інфекційного ССЗР має бути не дорогим, не складним у виконанні, високоспецифічним і чутливим та сприяти ранній діагностиці сепсису [2].

За даними одного з аналітичних оглядів за останні роки було вивчено більше ніж 178 біомаркерів сепсису. [7, 8, 9].

Біомаркер – лабораторний показник, який може бути об'єктивно визначений і оцінений як індикатор біологічних процесів. Він повинен відповідати вимогам концепції SMART, тобто бути S – specific and sensitive – чутливим і специфічним, M – measurable – легко визначатися, A – available and affordable – доступним, R – responsive and reproducible – репродуктивним, T – timely – своєчасним [7, 10].

У доступних літературних джерелах є роботи про значимість прокальцитоніну, як діагностичного маркера сепсису у дітей, тоді як новий біомаркер пресепсин не досліджувався в педіатрії для діагностики сепсису [11].

**Мета роботи.** Вивчити лабораторні особливості та діагностичну цінність СРБ, прокальцитоніну, пресепсину та TNF – $\alpha$  при діагностиці сепсису у дітей.

**Матеріали та методи** для загальнолабораторних досліджень нами було обстежено 115 дітей з яких 47 (основна група) із сепсисом та 68 (група порівняння) – із локалізованою бактеріальною інфекцією. Вік дітей був від 1 міс. до 18 років. Критеріями включення в основну групу було наявність двох або більше ознак синдрому системної запальної відповіді (ССЗВ) діагностичні ознаки якого затвержені на погоджувальній конференції по педіатричному сепсису (IPSSC 2005) та наявність однієї чи більше ознак органної дисфункції. Рівень прокальцитоніну та TNF – $\alpha$  визначали у 31 дитини основної групи, 54 - групи порівняння та 30-ти практично здорових дітей без ознак запального процесу. Рівень пресепсину було вивчено у 16 дітей основної групи, 14 дітей групи порівняння та 26 дітей групи контролю.

## Результати та обговорення

У ході дослідження ми проаналізували загальноклінічний аналіз крові у дітей основної та групи порівняння. Лейкоцитоз спостерігався у 73% (50) дітей групи порівняння та у 97,8% (46) дітей основної групи. Лейкопенія, як критерій ССЗВ, у дітей основної групи відмічалася у 4-х випадках, в групі порівняння - в однієї дитини. Лейкоцитоз у дітей основної групи сягав  $24,2 \times 10^9/\text{л}$  ДІ 95% [22,1-27,1] а в групі порівняння –  $17,1 \times 10^9/\text{л}$  ДІ 95% [15,2-18,8] і тривав 9,6 дні ДІ 95% [6,7-12,4] та 3,5 дні ДІ 95% [2,4-4,6], відповідно, різниця між показниками основної та групи порівняння була статистично значима ( $p < 0,01$ ).

В основній групі в залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності ознак септичного шоку також відмічалась певна різниця в тривалості та рівні лейкоцитозу, про що свідчать дані таблиці 1.

**Таблиця 1. Рівень та тривалість лейкоцитозу у дітей основної групи в залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку**

Підгрупа	Лейкоцитоз $10^9/\text{л}$	ДІ 95%, $10^9/\text{л}$	Тривалість лейкоцитозу, дні	ДІ 95%, дні
2 ССЗВ (n-13)	17,3*	12,3-22,4	4,2**	2,5-5,9
3 ССЗВ (n-14)	27,0	20,3-33,7	6,5***	4,7-8,2
4 ССЗВ (n-4)	26,8	16,0-37,7	13,5***	7,6-19,3
Септичний шок (n-16)	26,7	21,4-32,1	15,7	8,2-23,1

Примітка \*  $p < 0,05$  між підгрупою дітей з 2 ССЗВ та іншими підгрупами

\*\*  $p < 0,05$  статично значима різниця між підгрупами дітей з 2 ССЗВ та 4 ССЗВ

\*\*\*  $p < 0,01$  статично значима різниця між підгрупами дітей з 2 ССЗВ та септичним шоком

\*\*\*\*  $p < 0,05$  статично значима різниця між підгрупами дітей з 3 ССЗВ та септичним шоком.

Як бачимо із даних таблиці середні показники рівня лейкоцитозу практично не відрізнялись у дітей з 3-ма, 4-ма ознаками ССЗВ та наявністю септичного шоку, статистично значима різниця відмічалась лише у дітей із підгрупи із 2-ма ознаками ССЗВ в порівнянні з іншими підгрупами, тобто, тривалість лейкоцитозу зростала зі зростанням важкості стану. У дітей із септичним шоком лейкоцитоз тривав у 3,7 рази довше, ніж у дітей із 3-ма ознаками ССЗВ і менше.

Зсув лейкоцитарної формули вліво спостерігався у 100% дітей основної групи та у 55,9% групи порівняння. Кількість паличкоядерних форм нейтрофілів у дітей із сепсисом в середньому складала 16,4% ДІ 95% [13,4-19,5], а при локалізованій

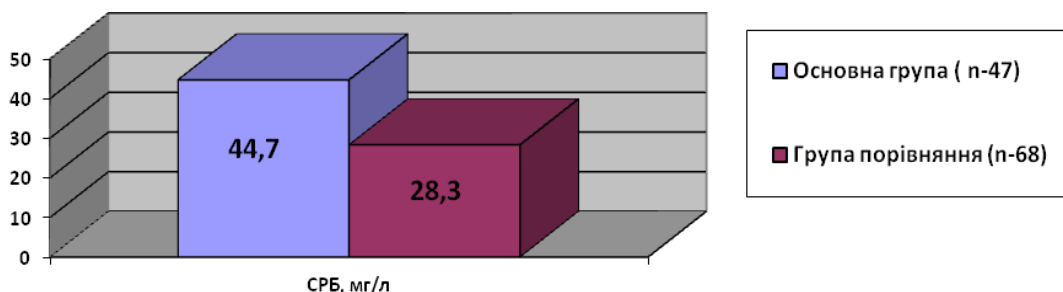
бактеріальній інфекції – 8,3% ДІ 95% [6,6-10,0]. Різниця між групами була статистично значима ( $p < 0,01$ ). Статистично значимої різниці між підгрупами основної групи (в залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку) не було.

Прискорення ШОЕ спостерігалось в обох групах спостереження, однак середнє значення в основній групі було в 1,5 рази вище, ніж у групі порівняння і складало 41,1 мм/год ДІ 95% [35,8-46,4] та 28 мм/год ДІ 95% [24,6-31,4], різниця була статистично значима ( $p < 0,01$ ). Тривалість підвищення ШОЕ також у дітей із сепсисом була в 2,4 рази вища, ніж у дітей із локалізованою бактеріальною інфекцією, та складала 12,9 дні ДІ 95% [9,2-16,6] і 5,3 дні ДІ 95% [4,1-6,4], відповідно.

З боку червоної крові у 36 дітей основної групи спостерігалася анемія, що складало 76,6%, в тоді, як у групі порівняння анемічний синдром відмічався в 3,7 разів рідше. Слід зазначити, що в групі порівняння середній ступінь важкості анемії був лише в незначній кількості дітей - 3 дитини (20,1%), решта (79,9%) мали легкий ступінь анемії. В основній групі у 66,7% дітей було зафіксовано легкий і в 33,3% дітей - середній та важкий ступінь анемії. Анемічний синдром тривав в основній групі дещо довше ніж у дітей із локалізованою бактеріальною інфекцією та складав - 9,96 дні ДІ 95% [7,1-12,6] та 7,02 дні ДІ 95% [4,2-9,8], відповідно, статистично значимої різниці не відмічалось ( $p = 0,35$ ).

Тромбопенія у дітей із сепсисом спостерігалась в 27,7 % випадків (13 дітей), серед яких 1 дитина без ознак септичного шоку та 12 дітей із його проявами, в т.ч. у 3-х померлих дітей. У групі порівняння всього в 4,4% (3 дитини) випадків спостерігалось незначне зниження числа тромбоцитів периферичної крові, тобто, в 6,2 рази рідше ( $p < 0,001$ ).

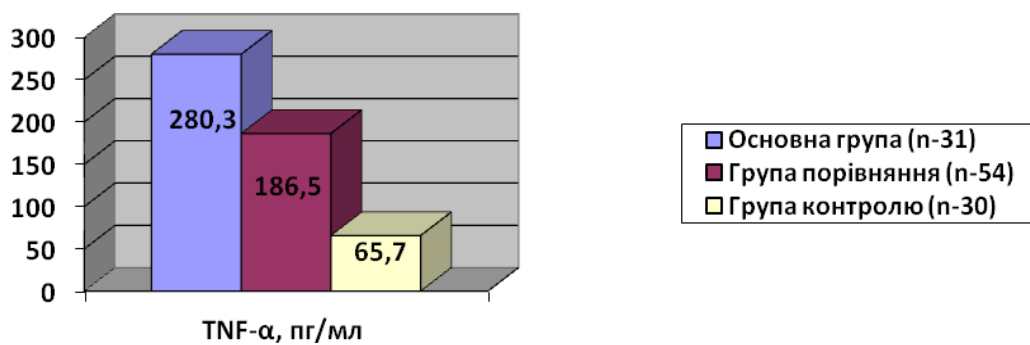
При визначенні середніх рівнів СРБ нами отримані такі результати (рис. 1)



**Рис. 1** Концентрація СРБ у дітей із сепсисом та локалізованою бактеріальною інфекцією. ( $p < 0,01$ ).

Як видно з рисунку рівень СРБ був вищим у дітей із сепсисом (44,7 мг/л ДІ 95% [35-54,3]) у порівнянні із дітьми з локалізованим бактеріальним запальним процесом (28,3 ДІ 95% [22,4-34,2]) запальним процесом. При аналізі рівня СРБ у підгрупах дітей основної групи було виявлено, що зі зростанням важкості стану зростає концентрація СРБ в сироватці крові дітей із сепсисом, але статистично значима різниця відмічається лише у дітей з 2 ознаками ССЗВ.

При визначенні рівня TNF- $\alpha$  у обстежених дітей, яке проводилось у перший день при поступленні у стаціонар, нами були отримані такі результати, що відображені на рисунку 2.



**Рис. 2** Середній рівень TNF- $\alpha$  у дітей досліджуваних груп та групи контролю.

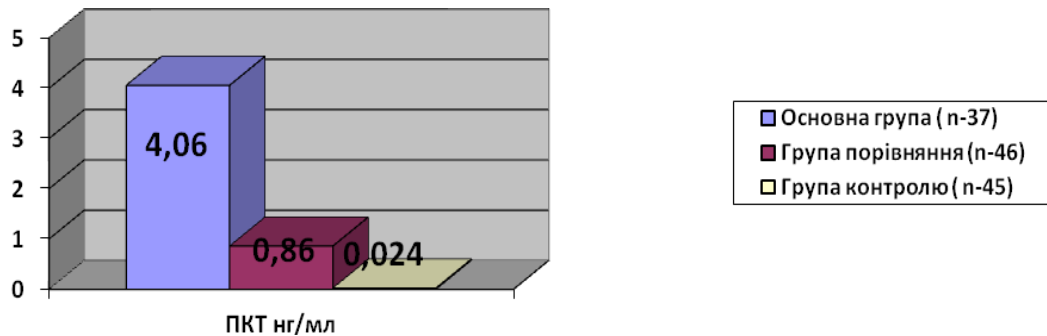
Як бачимо із представлених даних, середній рівень TNF- $\alpha$  у дітей основної групи складав 280,3 пг/мл ДІ 95% [243,9-316,7], що було в 1,5 рази вище ніж у дітей із локалізованим бактеріальним процесом, де середній рівень даного цитокіну був 186,5 пг/мл ДІ 95% [163,1-209,9], та в 4,2 рази вище у порівнянні із дітьми групи контролю (65,7 пг/мл ДІ 95% [56,7-74,8]). У свою чергу, у дітей із групи порівняння рівень TNF- $\alpha$  був в 2,8 рази вище ніж у дітей без ознак запального процесу. Різниця між показниками груп була статистично значима ( $p < 0,01$ ).

Аналізуючи рівні TNF- $\alpha$  у дітей основної групи в залежності від кількості ознак ССЗВ та наявності септичного шоку, статистичної значимої різниці ми не виявили, але слід зазначити що найвищий рівень TNF- $\alpha$  був у дітей із 2-ма ознаками ССЗВ та практично не відрізнявся у дітей із зростанням кількості ознак ССЗВ та при діагностованому септичному шоці рівень TNF- $\alpha$  був найнижчим, що обумовлено розвитком «параліча» імунної системи

Паралельно із визначенням TNF- $\alpha$  у обстежених дітей визначався рівень прокальцитоніну (ПКТ) в сироватці крові. В основній групі середній рівень ПКТ був 4,06 нг/мл ДІ 95% [3,34-4,69], а в групі порівняння – 0,86 нг/мл ДІ 95% [0,77- 1,03], в



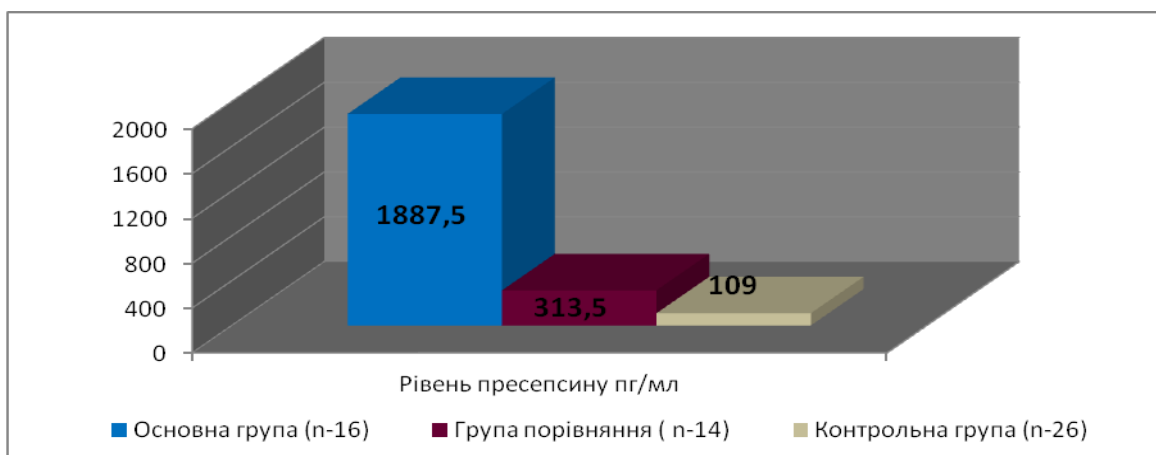
групі контролю - 0,024 нг/мл ДІ 95% [0,02-0,03], між групами різниця була статистично значима ( $p < 0,01$ ). Дані представлені на рис. 3



**Рис. 3.** Рівень ПКТ у дітей досліджуваних груп

При зростанні кількості ознак ССЗВ та розвитку септичного шоку в дітей основної групи рівень ПКТ зростає, але статистично значимої різниці ми не спостерігали ( $p > 0,05$ ). Можна зробити припущення, що ПКТ не відображає розвитку сепсису «on-line», тому проведення аналізу в перші години після поступлення потребує повторного визначення даного маркера в динаміці.

При визначенні рівня пресепсину було отримано такі результати: в основній групі (n-16) рівень пресепсину складав 1887,5 пг/мл (505,5-3702,5 пг/мл); у групі порівняння (n-14) - 313,5 пг/мл (208-376 пг/мл). Різниця між групами статистично значима ( $p < 0,01$ ): U-критерій Манна-Уїтні - 6,5 при критичному значенні 50. У здорових дітей (група контролю n-26) рівень пресепсину - 109 пг/мл (77,5-160 пг/мл), що також статистично відрізнялось від медіани групи порівняння ( $p < 0,05$ ): U-критерій Манна-Уїтні – 15 при критичному значенні 112. На рисунку 4 відображено рівні пресепсину у дітей досліджуваних груп.



**Рис. 4** Рівні пресепсину у дітей з локалізованою і генералізованою інфекцією та у здорових дітей.

Також ми визначили чутливість та специфічність для кожного із маркерів для діагностики бактеріальної інфекції та сепсису. Дані представлені в таблиці 2.

**Таблиця 2. Специфічність та чутливість біомаркерів розвитку сепсису та локалізованої бактеріальної інфекції**

	СРБ	TNF- $\alpha$	ПКТ	ПСП
Чутливість для діагностики бактеріальної інфекції	55,3	44	83	97
Специфічність для діагностики бактеріальної інфекції	63,4	90	84	96
Чутливість для діагностики сепсису	46,8	61	87	92
Специфічність для діагностики сепсису	51,5	81	90	93

Таким чином, пресепсин є найчутливішим та специфічним маркером бактеріального запалення, що дозволяє використовувати його для ранньої та точної діагностики сепсису.

#### **Висновки**

1. Лейкоцитоз є достовірно вищим при розвитку сепсису, але чіткої закономірності між його величиною та важкістю сепсису не спостерігається, однак тривалість останнього зростає при більш важкому протіканні сепсису та розвитку септичного шоку.

2. Анемічний синдром супроводжує септичний стан в 76,6% випадків, тож його корекція вкрай необхідна, оскільки він поглиблює загальну гіпоксію, що призводить до збільшення порушення мікроциркуляції та метаболічних змін.

3. Низька чутливість та специфічність СРБ та TNF- $\alpha$  не дозволяє використовувати їх для діагностики бактеріальної інфекції та сепсису.

4. Для діагностики сепсису та бактеріальної інфекції можна використовувати прокальцитонін, оскільки його специфічність та чутливість є достатньою.

5. Чутливість та специфічність пресепсину є найвищою, тому його використання для діагностики бактеріальної інфекції та сепсису у дітей є найбільш обґрунтованим.

## References

1. Pavlushkina LV, Chernevskaya EA, Dmitrieva IB, Beloborodova NV. Biomarkeryi v klinicheskoy praktike [Biomarkers in clinical practice]. *Laboratory*, 2013;3:10-14 (in Russian)
2. Carcillo JA, Planquois J-MS, Goldstein B. Early Markers of Infection and Sepsis in Newborns and Children. *Adv. Sepsis*, 2006; 4: 118–125.
3. Morrison VV, Bojedomov AY. Znachenie opredeleniya kontsentratsii prokaltsitonina plazmyi krovi v diagnostike septicheskikh sostoyaniy [The value of determination of plasma procalcitonin concentration in the diagnosis of septic states] *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy jurnal*, 2010; 6(2): 261-267. (in Russian).
4. Pavare J, Grope I, Eihvalde L, Gardovska D. Diagnostic markers for identifying sepsis in patients with systemic inflammatory response syndrome (SIRS): a prospective study. *The Open Pediatric Medicine Journal*. 2009;3: 1-7. doi: 10.2174/1874309900903010001
5. Hobson MJ, Wong HR. Finding new therapies for sepsis: the need for patient stratification and the use of genetic biomarkers. *Critical Care*. 2011; 15(1009): 2. doi: 10.1186/cc10527
6. Wong HR, Salisbury S, Xiao Q. The pediatric sepsis biomarker risk model. *Critical Care*. 2012; 16:R174 1-9. doi: 10.1186/cc11652
7. Agilli M, Sener I, Yesildal F, A new marker for the diagnosis of sepsis: Presepsin. *J. Investig. Biochem*.2012; 1: 55-57. doi: 10.5455/jib.20120521073837.
8. Venter D, Thomas M, Lipman J. A novel molecular biomarker diagnostic for the early detection of sepsis. *Critical Care*. 2010; 14(2): 9. doi: 10.1186/cc9112
9. Ingram N. Procalcitonin: does it have a role in the diagnosis, management and prognosis of patients with sepsis? *JICS*. 2013; 14(3): 226-230.
10. Smith K, Bigham MT. Biomarkers in pediatric sepsis. *The Open Inflammation Journal*. 2011; 4: 24-30. doi: 10.2174/1875041901104010024
11. Zou Q, Wen W, Zhang X-C. Presepsin as a novel sepsis biomarker. *World J. Emerg. Med*. 2014; 5(1): 16-19. doi: 10.5847/wjem.j.issn.1920-8642.2014.01.002