

# **Současné možnosti monitorace systémového zánětu, správná interpretace zánětlivých markerů.**

Brodská H.

ÚLBLD VFN a 1. LF UK Praha

Praha 8.11.2014

## Markery zánětu - co očekáváme?

- Identifikace zánětu (Klinická dg. SIRS klinika Bone (1989...1991))
- Odhad tíže stavu, vývoj, prognóza, predikce komplikací a rozvoj MODS
- Příčina ( SIRS neinfekční vs. sepse)
- Rozlišení etiologie: bakteriální(Gram+, Gram-), virová, mykotická, parazitární ATB guide, monitorace odpovědi na terapii
  
- vysoká senzitivita a specificita (pro zánět)
- možnost statimového stanovení
- snadná interpretace výsledků
- cenová dostupnost

## Fokus- zánětlivá reakce

Obranná reakce-snaha lokalizovat škodlivé agens, ohraničit, zamezit dalšímu průniku, zneškodnit ho, navodit opravné mechanismy obnovující fyziolog.funkci poškozené tkáně.

Téměř uniformní odpověď při různých příčinách (bakteriální,virová,mykotická infekce,fyzikální,chemické poškození )

Rozsah odpovědi modifikován silou útoku, typem agens, imunitní hotovostí, genovým polymorfizmem, stavem antioxidační ochrany.....

# Infekční noxa

- Rozpoznání specifické matrice PAMs a DAMs pomocí TLR (na makrofázích a monocytech)
- aktivace NF-kapaB transkripce proximálních cytokinů (IL-1beta, IL- 6, TNF)
- monocyto-makrofágový systém, komplement, koagulační kaskáda, krevní destičky, deriváty kyseliny arachidonové (tromboxan, prostaglandin)
- adhezivní molekuly, proteiny akutní fáze, stresové hormony
- Exploze VKR, atakují endotel a akcelerují probíhající děje. (etiopatogeneze sepse).

## Markery zánětu

- TLRs , Cytokiny ( IL1, IL6, TNF..),
- Specifické markery (PCT, presepsin..)
- Proteiny akutní fáze (CRP, ale i alb, prealb.)
- Koagulační faktory (FBG, AT III, protein C)
- Komplement
- Leukocyty (počet, diferenciacie)
- Se, sRAGE...
- FW-změny plazmatických proteinů

## Monitorace zánětu- cytokiny

- Krátká životnost , poločas několik minut, význam má jejich přetrvávající elevace, obtížná interpretace
- TNF a, IL 1, IL 6, primární prozánětlivé, indukují syntézu PCT, CRP..
- **IL 6**- maximum za 2 hod, delší poločas -dg. neonatálních sepsí, v likvoru odliší bakteriální meningitis, korelace s APACHE II a mortalitou (48hod po přijetí). Imunochemické stanovení a autom.analyz.(18 minut) **lze stanovit statim, rychlý pokles vyšších hladin- falešná negat.**
- IL-10 Inhibuje syntézu prozánětlivých cytokinů imunitní hotovost (CARS)

# Monitorace zánětu- leukocyty

- IL 6 stimuluje bb kostní dřeň –vyplavení leuko, diferenciaci.
- Při bakteriálním infektu prudký pokles lymfo, mono, nárůst neutro, vyšší % tyčí..  
**Celkový počet - nízká specifita pro typ a rozsah zánětu.** Limitace- imunoprese, hematolog.pts
- **Immature granulocytes count-** diskriminační marker SIRS a sepsi v časně fázi. 89% a 76%. Nierhaus A. Revisiting the white blood cell count: immature granulocytes count as a diagnostic marker to discriminate between SIRS and sepsis. Immunology 2013
- Časná exprese povrchových antigenů na neutro i na monocitech - **CD64, CD 11b** (do 1 hodiny po invazi) stimulace prox.cytokiny
- CD 64 vysoká spec. i senz.pro sepsi v kombinaci s abs.počtem neutro 91% a 93%, udržení vysoké hladiny 24 hodin i při podání ATB, do 72 h pokles.
- Pro stanovení minimální objem vzorku 50ul plná krev. Du J. Diagnostic utility of neutrophil CD 64 as marker for early-onset sepsis in preterm neonates. Plos one 2014

## Proteiny akutní fáze (PAF).

- IL1,6,TNFalfa společné spouštěcí mechanismy, jednotlivé proteiny různé informace .
- Podle poměru syntézy a rozpadu se dělí na 3 skupiny.
- Pozitivní **CRP, PCT** (alfa 1,2., fibrinogen..)
- Vyrovnaná syntéza i rozpad
- Negativní albumin, prealbumin, HDL-cholesterol (rychlá dynamika, vychytávání LPS, účinek cytokinů)



# Markery zánětu

- Review: 3370 studií, 178 biomarkerů
- 34 biomarkerů specifických pro dg. sepse
  - 5 má senzitivitu a specifitu > 90% (CD64, CD11b, IL12, IP10, PLA-2)
- Laktát a HDL cholesterol v sepsi – prognostický marker v 28 denním přežití
- FDP marker negativní predikce sepse)

## Závěry:

- Nejčastěji klinicky využíván **CRP a PCT**
- Neexistuje “zlatý standart“
- Vhodná kombinace markerů s klinickými parametry zvyšuje dg. výtěžnost

# CRP, prokalcitonin

**CRP** má vysokou negativní predilekci, při normálních hladinách je sepsa nepravděpodobná

- Dynamika je důležitější než izolovaná hodnota
- Nediferencuje typy zánětu, nemá vztah k mortalitě
- Sérové hladiny CRP vždy interpretovat v kontextu s klinikou.
- J.L. Vincent, K. Donadello, X. Schmidt. Biomarkers in critically ill patients - CRP. Crit. Care Clin. 27 (2011): 241-251.

**PCT** nejčastěji používaný marker časně diagnózy sepsy

- Při odlišení infekčního od neinfekčního systémového zánětu má na rozdíl od CRP vyšší senzitivitu - 88% vs. 75% i specificitu 81% vs. 67%
- Hodnocení tíže stavu u bakteriálního zánětu. Dynamika má vztah k prognóze
- Pomáhá při indikaci a monitoraci ATB terapie
- K. Reinhardt, M. Meisner. Biomarkers in critically ill patients – Procalcitonin. Crit. Care Clin. 27 (2011): 253-263.

## CRP, PCT patofyziologické poznámky

- **CRP** - elevace po **6** hodinách-maximum **48** hodin, pokles do 7 dní
- nárůst i při lehčím průběhu, při zhoršení stavu (MODS) už výrazněji nestoupá na rozdíl od PCT.
  
- **PCT** vzestup po **3-4** hodinách, maximum do **24** hodin
- stoupá až u systémové odpovědi a výrazně se zvyšuje s tíží stavu. Pokles u nekomplikovaného průběhu (ATB th) rychlý- 50-80% z max.hodnoty za den. Při MODS- stagnace hodnot-pomalý pokles.
  
- **Odlišná kinetika**: PCT rychlejší vzestup, dříve max. hodnoty, rychlost poklesu závisí na tíži stavu. Castelli GP:Procalcitonin and CRP during systemic inflammator response syndrom, sepsis and organ dysfunction Critical care 2004

# Časná detekce infekčních komplikací po chirurg. výkonu- CRP, PCT

- CRP po 48 hod peak u pts bez komplikací klesá, u pts s komplikací mezi D2 a D3 klesá, pak mezi D4-D9 plato, event.stoupá. **CRP >120mg/l D4 spojeno s vysokým rizikem poop.inf.komplikací.**
- Slabý nebo žádný pokles v postoperační periodě je prediktorem infekčních komplikací u chirurg.pts.
- PCT bez signif. rozdílu mezi inf. a neinf. pts. ( infekce v místě rány, plicní, močový infek).Silvestre J.Diagnostic accuracy of CRP and PCT in the early detection of infection after elective colorectal surgery BMC Infectious Diseases 2014
- CRP u chirurg.pts rozliší akutní apendicitidu od “ ak.břicha“ neinfekčního původu Yu CW: CRP and white blood cell count for suspected acute apendicitis BrJSurg 2013

# Vhodné markery k detekci bakteriální peritonitidy

- Pro diagnostiku bakt.peritonitidy **PCT** vhodnější než CRP AUC 0,94 pro PCT, 0,85 pro CRP
- PCT stejná odpověď u cirhotických pts
- PCT v ascitu spíše než produkce z leko v ascitu –hladiny zvýšeny leakem.
- Metaanalýza 1827pts Yang S. Signifikance of serum PCT as biomarker for detection of bacterial peritonitis. BMC Infection Diseases 2014

# Rozlišení SIRS a sepse

- Pro průkaz agens mikrobiolog.vyš- časová prodleva ( Septifast..)
- Nejslibnější PCT- negat. kultivace-falešně pozit. PCT ???
- **PCT- lepší specifita pro odlišení než CRP, senzitivita??**
- PCT součástí skorovacího schematu sepse (New sepsis concept under development (PIRO) This model integrates a number of currently available parameters, which describe the Predisposition, the Infection, the Response and the Organ dysfunction. PCT has been proposed as one of the the most valuable parameters to be included into this assessment scheme.
- (2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference, Levy MM et al., Crit. Care Med. 2003, 31(4): 1250-1256)
- Při rozlišování SIRS a sepse musí být prokalcitonin indikován a interpretován velmi obezřetně v kontextu s klinickým obrazem. Cohn B: Annals of emergency medicine 2014

	<b>CRP</b>	<b>leukocyty</b>	<b>orosomukoid</b>	<b>PCT</b>
APACHE	0,580	0,596	0,571	0,605 ●
hemokultura	0,545	0,475	0,663 ●	0,520
bakteriologický nález	0,492	0,539	0,575	0,627 ●
MODS	0,490	0,569	0,540	0,683 ●
SIRS	0,564	-	0,512	0,694 ●
SOFA	0,557	0,657	0,523	0,756 ●
zjevný infekt	0,528	0,588	0,476	0,598 ●
přežití	0,546	0,610	0,472	0,716 ●

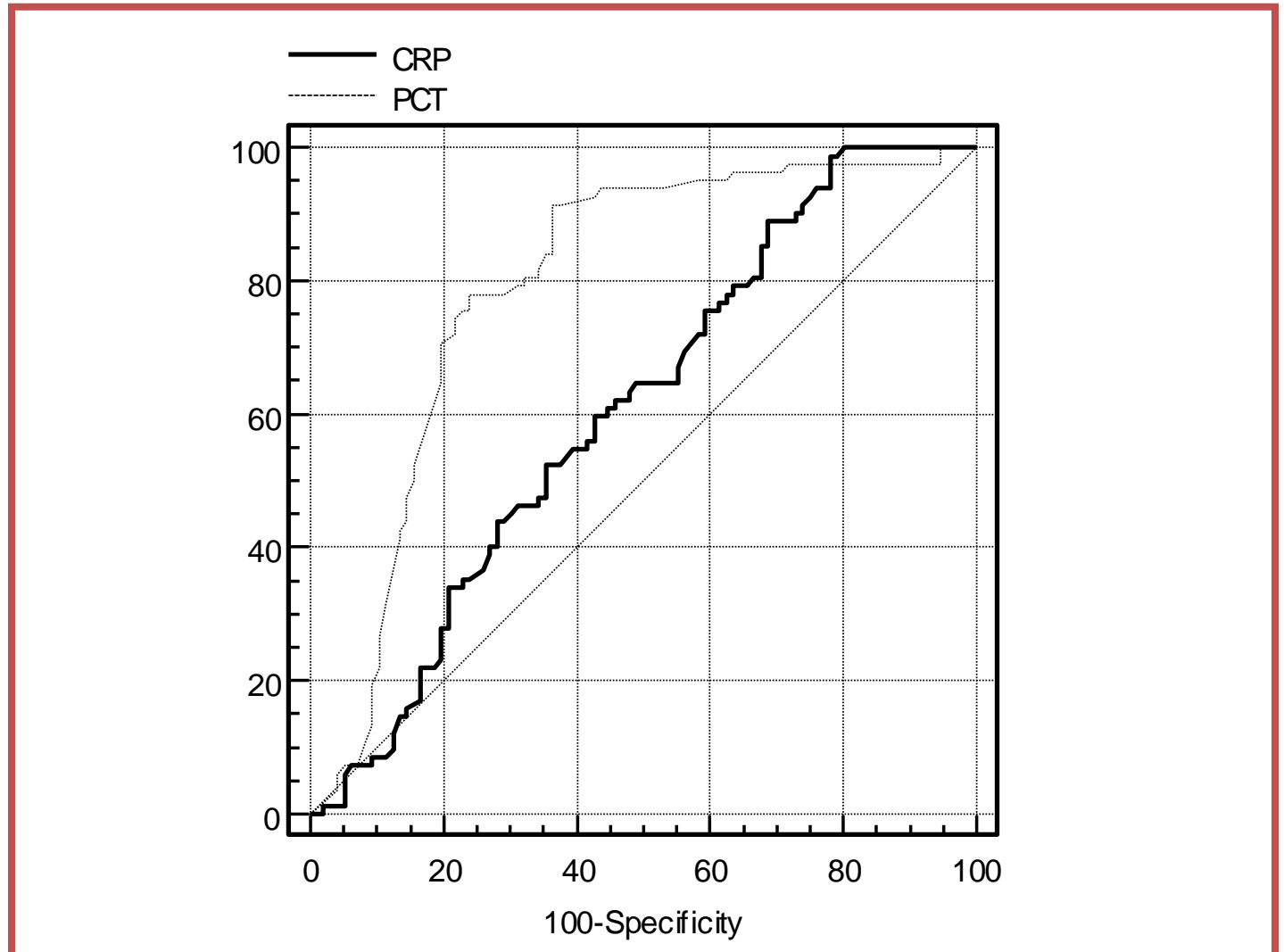
**Hodnoty plochy pod křivkou pro sledované parametry pro definované stavy při ROC analýze ve skupině pacientů s prokázaným SIRS.**

## Srovnání diagnostické efektivity PCT a CRP ve vztahu k SOFA skóre

ROC křivka pro CRP: plocha pod ROC křivkou = 0,608

ROC křivka pro PCT: plocha pod ROC křivkou = 0,792

Hladina významnosti:  $P = 0,000$



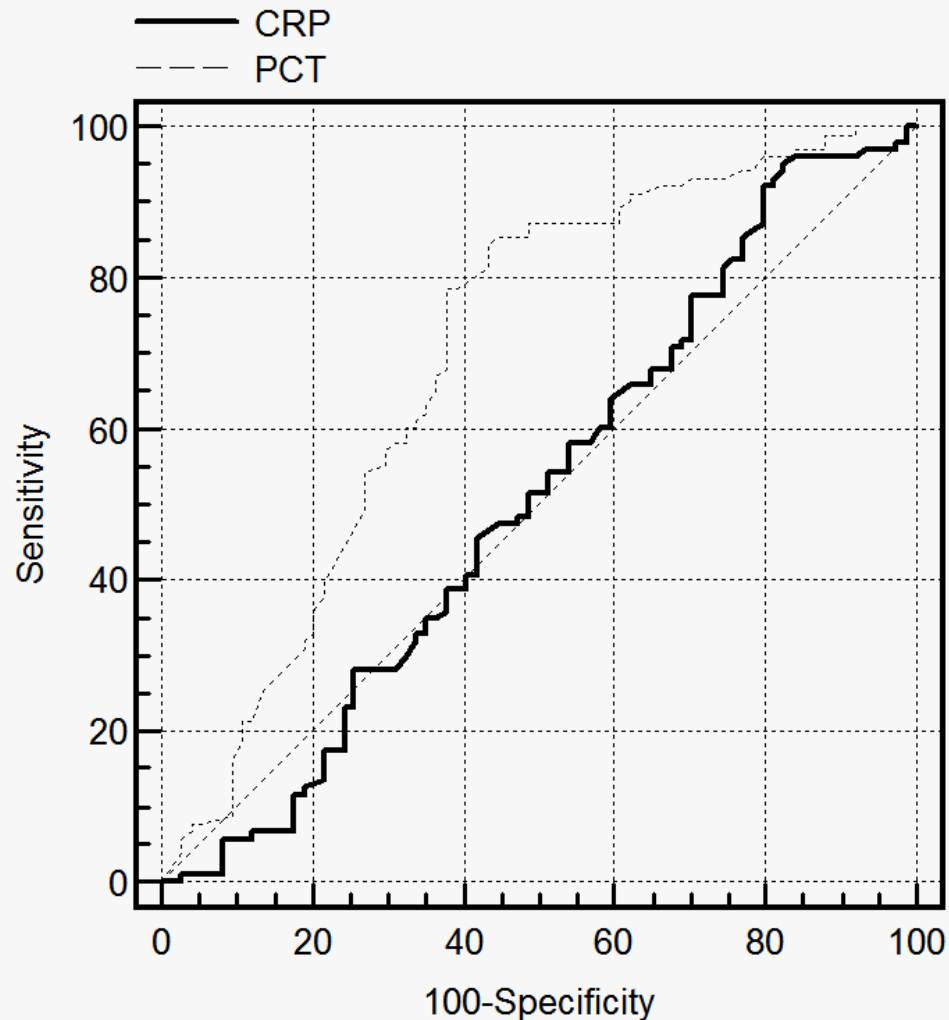


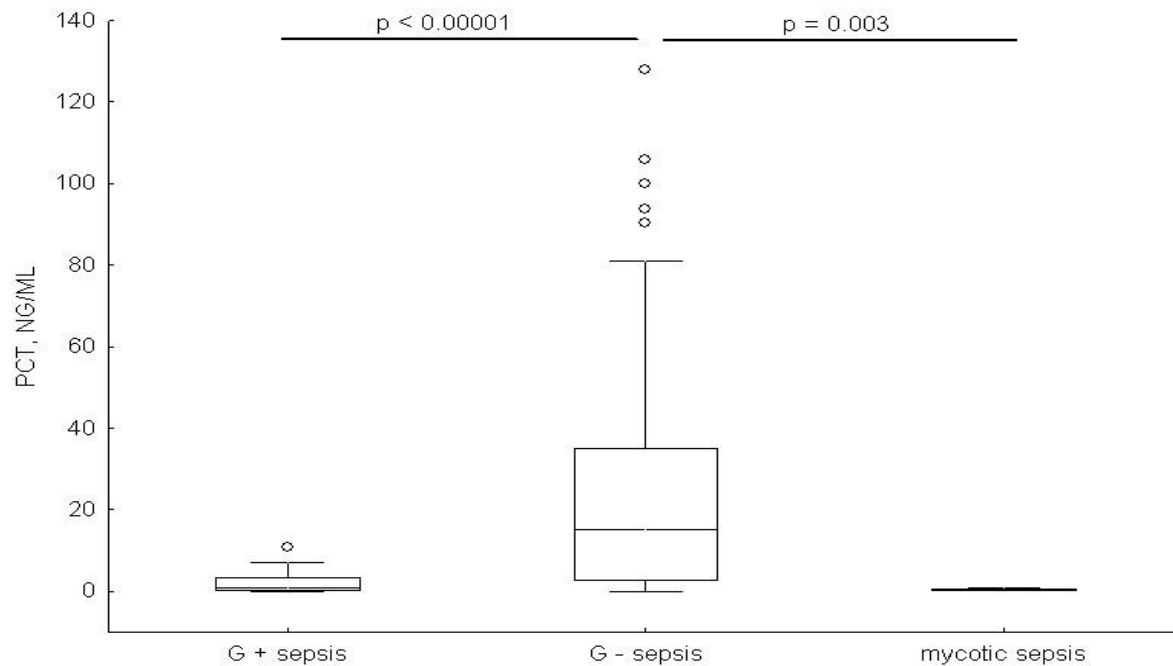
## Srovnání diagnostické efektivity PCT a CRP ve vztahu k MODS

ROC křivka pro CRP: Plocha pod ROC křivkou = 0,511

ROC křivka pro PCT: Plocha pod ROC křivkou = 0,698

Hladina významnosti:  $P = 0,000$

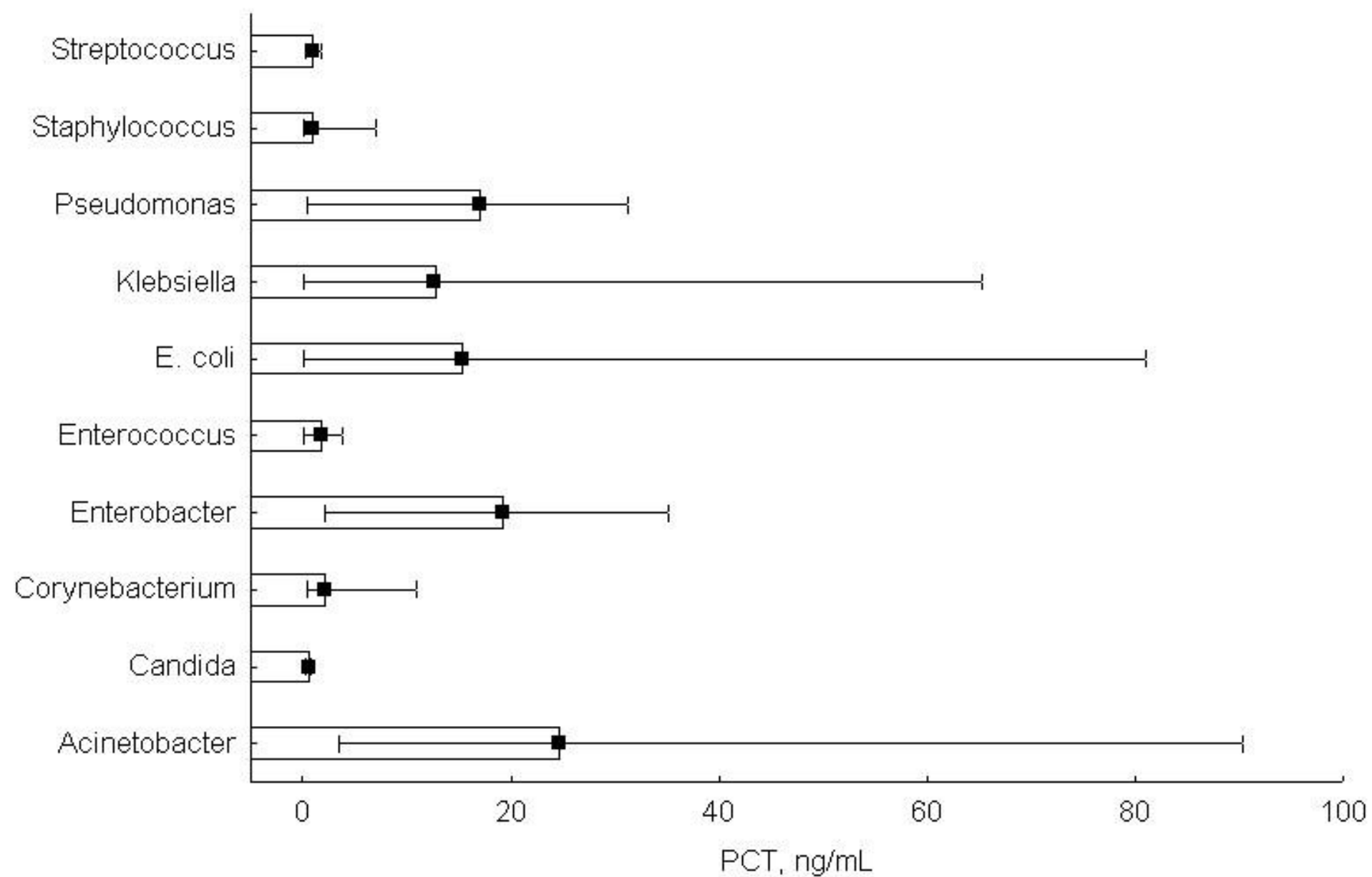




*F*-test:  $F = 11.114$ ;  $p = 0.00003$ ;  
*Kruskal-Wallis* test:  $KW-H = 53.7141$ ;  $p < 0.00001$

**Result of haemoculture n 166**

	CRP	PCT	
G + sepsis	119.00 (69.80;219.00)	0.81 (0.32;3.50)	
G - sepsis	129.90 (87;210)	0.92; NS	<b>p&lt;0.00001</b>
mycotic	149 (128;152)	0.58 (0.35;0.73)	

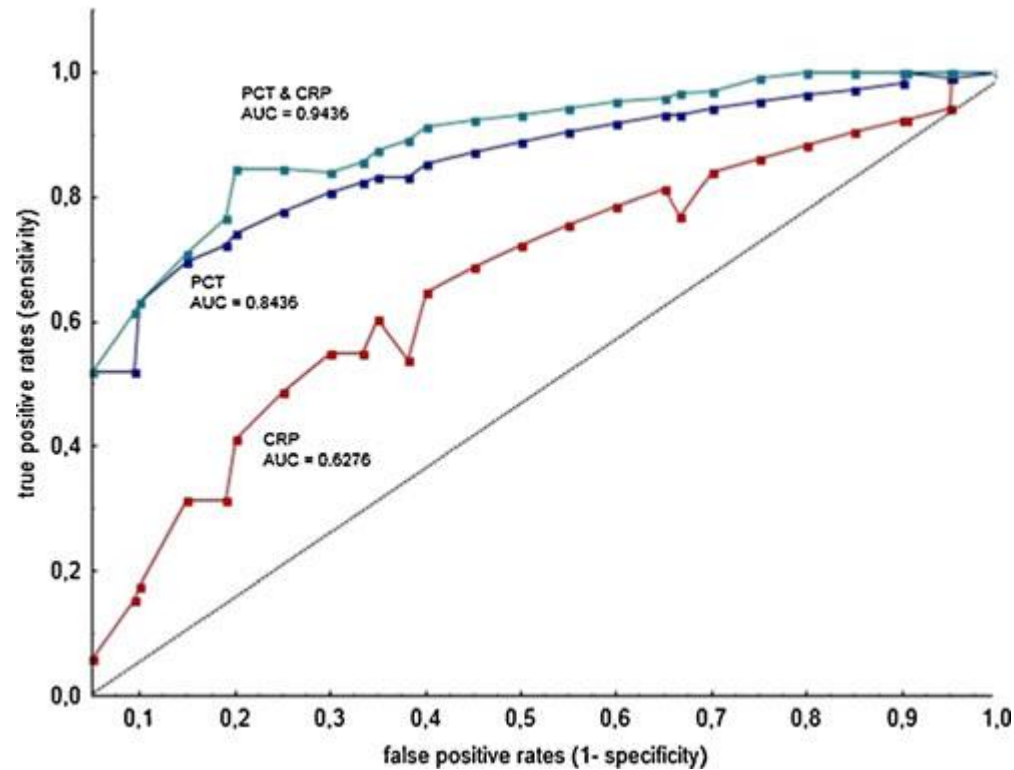


*F*-test:  $F = 2.4917$ ;  $p = 0.0109$ ;  
*kruskal-Wallis test*:  $KW-H = 49.5885$ ;  $p < 0.00001$

# Diagnostická výtěžnost PCT a CRP

**Substantially elevated C-reactive protein (CRP), together with low levels of procalcitonin (PCT), contributes to diagnosis of fungal infection in immunocompromised patients** Markéta Marková & Helena Brodská & Karin Malíčková & Veronika Válková & Petr Cetkovský & Michal Kolář & Martin Haluzík.

Support Care Cancer (2013) 21:2733–2742



**Table 1.** Diagnostic value and limitations of biomarkers to separate infectious from non-infectious causes of inflammation

Biomarker	Source	Sens.	Spec.	AUC	LR <sup>+</sup>	LR <sup>-</sup>	Limitations
C-reactive protein <sup>21</sup>	Metaanalysis (n = 1386)	0.75	0.67	-	2.43	0.42	Slow kinetic, independent of infection severity, increased in many inflammatory diseases
Procalcitonin <sup>35</sup>	Metaanalysis (n = 3244)	0.77	0.79	0.89	4.0	0.29	Increased in various non-infectious causes of SIRS (i.e., cardiac arrest, severe trauma)
Interleukin-6 <sup>57</sup>	Cohort study (n = 327)	0.82	0.75	0.86	-	-	Limited data, conflicting results
sTREM-1 <sup>78</sup>	Metaanalysis (n = 1795)	0.79	0.80	0.87	4.0	0.26	Present in inflammatory disease without infection
LBP <sup>57</sup>	Cohort study (n = 327)	0.57	0.85	0.73	-	-	Non-specific marker of inflammation
suPAR <sup>98</sup>	Cohort study (n = 273)	-	-	0.62	-	-	Limited data; low diagnostic value for sepsis

Data give sensitivity (sens.), specificity (spec.), area under the curve (AUC) from receiver operating characteristics, positive (LR<sup>+</sup>) and negative (LR<sup>-</sup>) likelihood ratios of a biomarker for differentiation of infectious vs. non-infectious causes of inflammation. LBP, lipopolysaccharide binding protein; suPAR, soluble urokinase plasminogen activator receptor; sTREM 1, soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1.

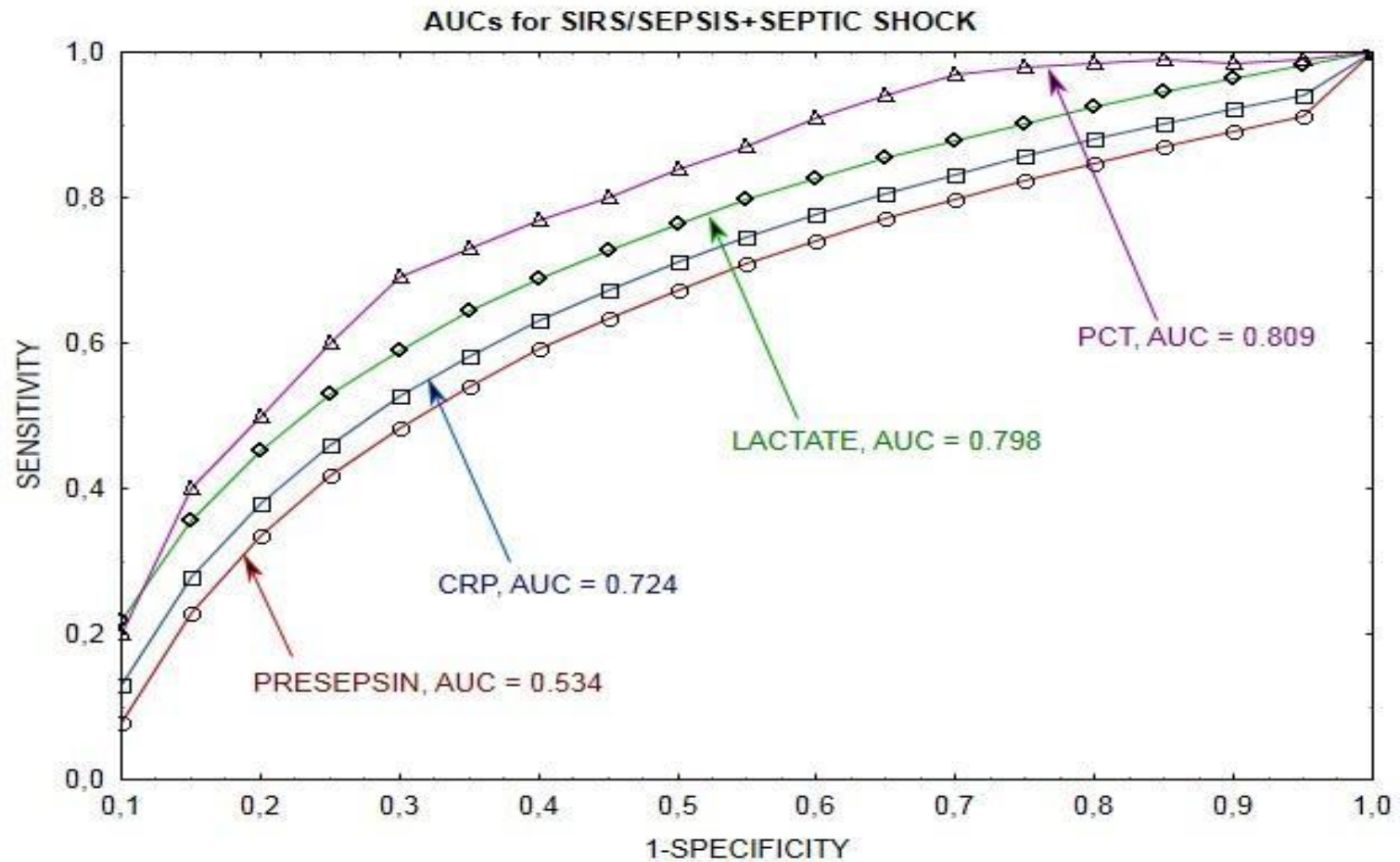
## Presepsin- nový marker sepse? očekávání

- **Presepsin Soluble CD14** je volný fragment glykoproteinu exprimovaný na monocytech /makrofázích. Jeho produkce je během zánětlivé reakce indukována enzymovou degradací při aktivaci leukocytů. Minimální koncentrace bez stimulu, stoupá i při lok.infektu.
- Předpoklad: Vyšší senzitivita, specificita, pozitivní predilekce sepse, lepší rozlišení SIRS a sepse, lokalizovaného infektu a sepse, bez nespecifických, nezánětlivých elevací. Dobrá diferenciacie etiologie sepse: bakterie G+,G-, viry, myko, přiléhavá monitorace ATB terapie
- Porovnání s PCT, CRP, IL 6 - větší AUC 0,845 (0,652, 0,815, 0,672). Zjištěna signifikantní korelace s APACHE II. Shozushima, Takahashi J. Infect Chemoth. May 2011
- Diagnostický marker závažnosti sepse a predikce mortality. Spanuth, Wilhelm, Lopponow. EuroMedLab 2011

## Rozložení souboru KARIM VFN

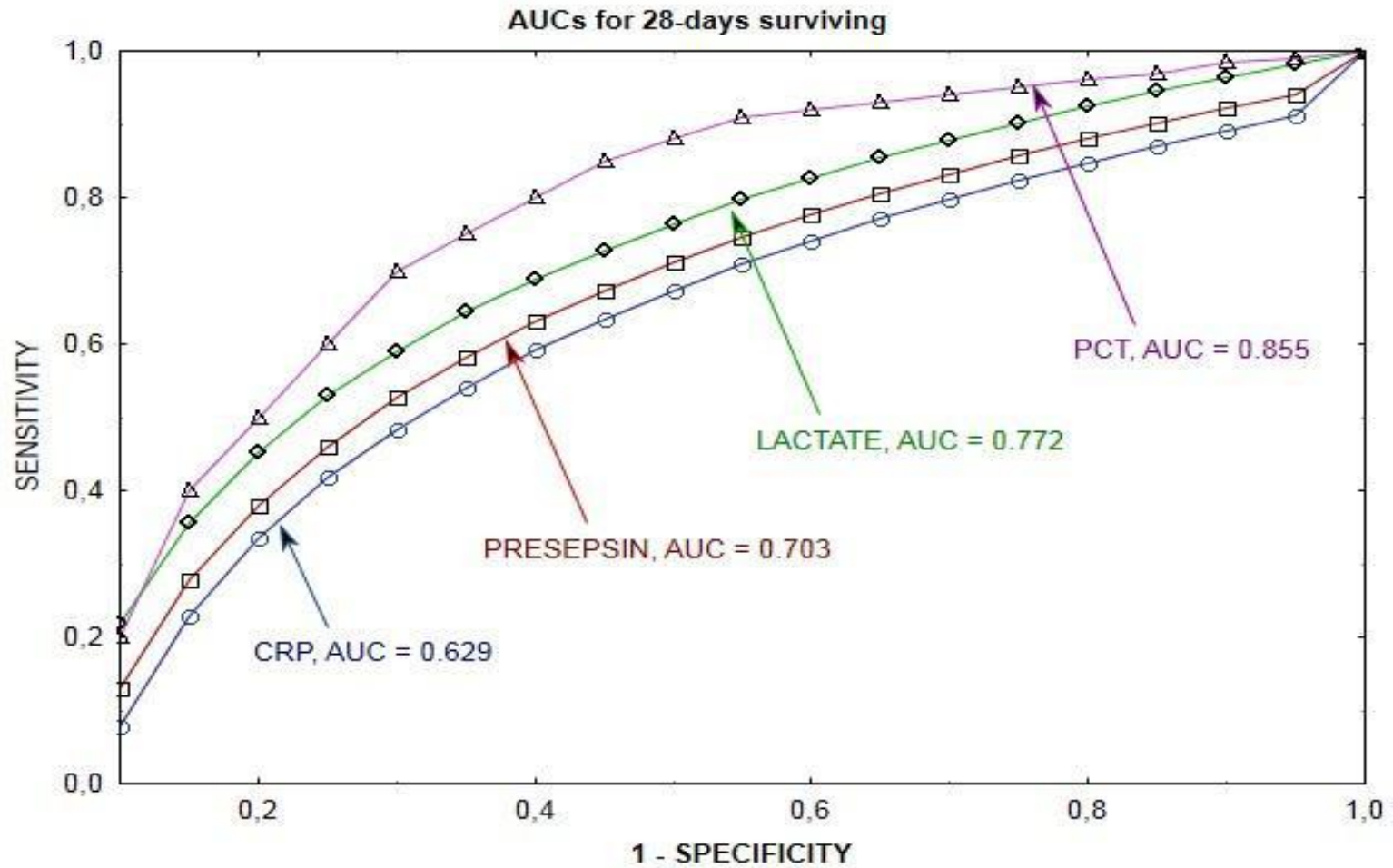
- 84 měření (44 pac.) s dg. SIRS (exclude-hematoonko, <18, intoxikace).
- Sepsis dg. –klinické známky, evidentní infekce.
- Klinický stav pacienta hodnocen podle SOFA, APACHE II.
- Presepsin, procalcitonin (PCT), C-reactive protein (CRP), lactate, počet leuko+dif.rozpočet, kreatinin.
- Pathfast (Mitsubishi) enzymová chemiluminiscence
  
- 1. Rozliší Presepsin mezi inf. a neinf. SIRS? Jestli ano, může být použit jako prognostický marker ( 28d mortalita)?
- 2. Zjistit případné vztahy mezi jednotlivými markery. Posoudit vztah Presepsinu k tíži stavu.

# Rozlišení jednotlivých typů zánětu

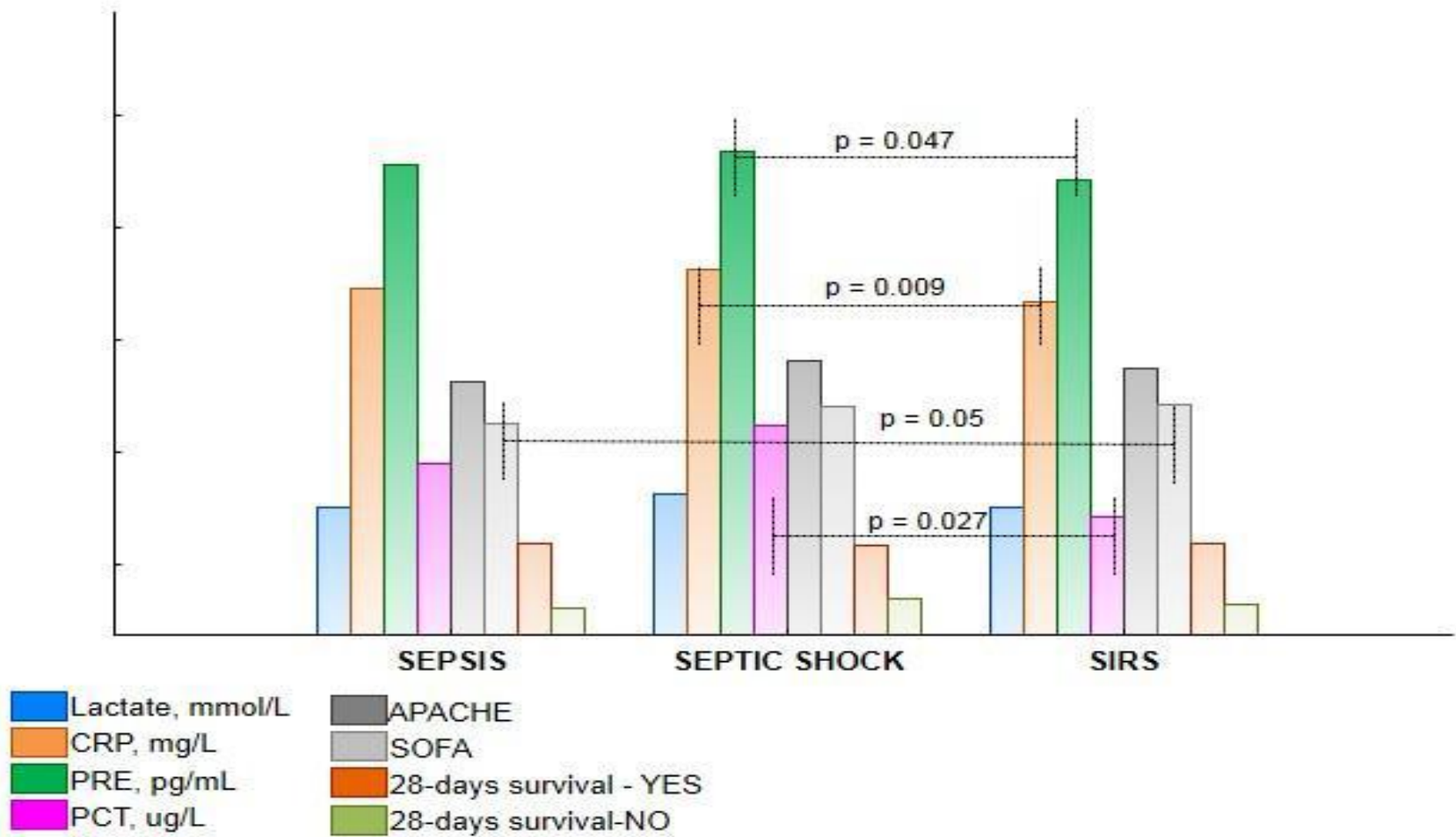




## 28-denní mortalita u jednotlivých markerů



# Rozlišení SIRS a sepse- hladiny markerů



## Užití presepsinu?

- Presepsin je užitečný marker pro časnou identifikaci pacientů se SIRS
- Kombinací s PCT může zlepšit diagnostiku sepse.
- The association between serum **PRE** soon after the appearance of signs of preterm delivery and preterm delivery within 48 hours, before the 34th and 37th gestational weeks. The possible additional value of concurrently evaluated ultrasound vaginal cervicometry with serum presepsin measurement. A total of **60 females**
- Patients who delivered within 48 hours after analysis showed significantly higher PRE compared to females with later deliveries. Higher PRE was proven also for deliveries before weeks 34 and 37.
- A combined finding of **cervical length shortening below 18 mm and presepsin level increasing above 623.5 pg/mL** could point to the significantly high risk of preterm delivery.
- Conclusion: **Elevated maternal serum concentration of sCD14-ST could be an independent and relevant risk factor for preterm delivery.** K.Malíčková

Diagnostic and Prognostic Value of Presepsin in Preterm Deliveries American Journal of Reproductive Immunology 2014

# 1. Porovnání senzitivity a specivity, vhodnost indikace a výpovědní hodnoty v různých fázích a typech zánětlivé odpovědi ve skupině pacientů s prokázaným SIRS.

Parametr / jednotka	Sepse (S)	těžká seps (TS)	septický šok(SŠ)	významnost rozdílů pro		
	n=36	n=50	n=48	S/ TS	S / SŠ	TS /SŠ
<b>CRP mg/l</b>	108	169	151	p<0,05	p<0,01	
<b>PCT µg/l</b>	0,5	1,17	1,7	p<0,01	p<0,01	
<b>orosomukoid g/l</b>	1,79	1,8	1,79			
<b>a<sub>1</sub>-antitrypsin g/l</b>	2,58	3,6	2,7	p<0,01		
<b>teplota °C</b>	38,2	38,7	39	p<0,01	p<0,01	p<0,01
<b>SOFA</b>	5	9	10	p<0,01	p<0,01	
<b>INR</b>	1,1	1,16	1,16	p<0,01	p<0,01	
<b>prealbumin g/l</b>	0,14	0,1	0,09		p<0,01	
<b>cholinesteráza µkat/l</b>	72	64	80	p<0,05		

## Fever in sepsis: is it cool to be hot? Young and Bellomo Critical Care 2014, 18:109

- The majority of patients with diagnosed sepsis have a fever
- 10% to 20% of patients are hypothermic
- The study by Kushimoto demonstrates that hypothermia is a very important manifestation of infection.
- 624 patients with severe sepsis and demonstrated that those with a temperature of not more than 36.5°C had higher illness severity scores, more disseminated
- intravascular coagulation, and higher in-hospital and 28-day mortality rates than those with a temperature of more than 36.5°C .
- The risk of death at hospital discharge and at 28 days for septic patients with hypothermia was more than double that of patients who were not hypothermic.

## Závěry

- kombinace několika markerů
- respektování jejich patofyziologie- vhodnost indikace
- dynamika
- posuzování vždy v kontextu s klinickým stavem