

Diagnostična vrednost označevalcev pri sepsi

Biomarkers to diagnose sepsis

Anja Žargaj,^{1,2} Peter Korošec,¹ Franci Šifrer,¹ Mitja Košnik^{1,2}

¹ Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo, Golnik

² Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana

Korespondenca/ Correspondence:

Mitja Košnik,
e: mitja.kosnik@klinika-golnik.si

Ključne besede:

sepsa; indeks CD 64; CRP; prokalcitonin; nevtrofilci

Key words:

sepsis; CD 64 antigen; C-reactive protein; procalcitonin; neutrophil

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn. 2017; 86:481–92.

Prispelo: 19. 8. 2016
Sprejeto: 19. 10. 2017

DOI 10.6016/
ZdravVestn.2022

Izvleček

Izhodišča: Sepsa je življenje ogrožajoče nedelovanje organov zaradi nezadostnega odgovora gostitelja na okužbo, kadar bakterije vstopijo v kri oz. se v krvi razmnožujejo. V zadnjih letih za prepoznavanje motenj v delovanju organov uporabljamo točkovanje lestvice SOFA. Zlati standard pri diagnosticiranju sepse je mikrobiološka preiskava krvi. Zanesljivi označevalci za odkrivanje sepse v zgodnji fazi bi bistveno pripomogli k hitremu in učinkovitemu zdravljenju sepse.

Metode: V prospektivni neinterventni raziskavi smo proučevali uporabnost C-reaktivnega proteina (CRP), prokalcitonina, indeksa CD 64 na nevtrofilcih, koncentracijo nevtrofilcev in koncentracijo paličastih nevtrofilcev pri diagnosticiranju sepse. Vključenih je bilo zaporednih 46 bolnikov intenzivnega oddelka, ki so bili tja sprejeti zaradi težke okužbe, ter 10 zdravih oseb za kontrolno skupino. Bolnike so obravnavali rutinsko po načelih dobre klinične prakse.

Rezultati: Statistično značilne razlike med skupinama smo ugotovili pri indeksu CD 64, prokalcitoninu in koncentraciji paličastih nevtrofilcev, medtem ko pri CRP in koncentraciji nevtrofilcev razlika ni bila statistično značilna. Najvišjo diagnostično vrednost sta imela koncentracija paličastih nevtrofilcev (AUC 0,91) in PCT (AUC 0,84). Kombinacija označevalcev pa ni imela boljše napovedne vrednosti kot koncentracija paličastih nevtrofilcev oziroma PCT.

Zaključki: Indeks CD64 je bil eden manj diskriminativnih za ločevanje med sepsa in okužbo brez sepse pri bolnikih v enoti intenzivne interne medicine.

Abstract

Background: Sepsis is a life-threatening organ dysfunction that arises when a host responds insufficiently to an infection as bacteria enter the bloodstream. In recent years, SOFA scoring system has been used to identify poor organ functioning. Microbiological blood tests represent a gold standard in sepsis diagnostics. Reliable biomarkers for early detection of sepsis would greatly facilitate rapid and efficient treatment of sepsis.

Methods: In a prospective non-interventional study we studied the diagnostic value of C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT), neutrophil CD64 index, neutrophil granulocyte count and immature neutrophil count in patients with sepsis and patients with severe infection without sepsis. A total of 46 consecutive intensive-care-unit patients admitted for severe infection and 10 healthy controls were included. The patients were treated routinely according to the principles of good clinical practice.

Results: Statistically significant differences between the two groups of patients have been established for the CD64 index, the PCT and the immature neutrophil count, whereas the differences in the CRP and the neutrophil granulocyte count are statistically non-significant. The highest diagnostic values were measured for the immature neutrophil count (AUC 0.91) and PCT (AUC 0.84). The combination of biomarkers has been shown to have same predictive values as the immature neutrophil count and the PCT.

Conclusions: The CD64 index was one of the less discriminating for drawing distinction between sepsis and severe infection without sepsis in intensive-care-unit patients.

1. Uvod

Sepsa sodi med vodilne vzroke smrti zaradi okužbe. V ZDA je pogostost sepse narasla s 621.000 primerov v letu 2000 na 1.141.000 primerov v letu 2008 (1). V Sloveniji incidenco hude sepse pri odraslih ocenjujejo na 118 primerov/100.000 prebivalcev (2).

Smrtnost sepse je med 17,4 % in 42,9 % (3). V razvitih državah je smrtnost zaradi sepse preseгла število umrlih zaradi miokardnega infarkta (4) oziroma skupno število umrlih zaradi raka pro-

state, raka dojke in aidsa. V ZDA so leta 2011 stroške zdravljenja ocenili na prek 20 milijard dolarjev in še naraščajo (5).

V preteklosti je diagnoza sepse temeljila na dveh komponentah – sistemskem vnetnem odzivu (*angl.* systemic inflammatory response syndrome, SIRS) in okužbi (6). Merila SIRS so: telesna temperatura $> 38^{\circ}\text{C}$ ali $< 36^{\circ}\text{C}$, srčni utrip > 90 udarcev/min, frekvenca dihanja > 20 vdihov/min (ali arterijski $\text{pCO}_2 < 4,3$ kPa, ki odraža hiperventila-

Tabela 1: Lestvica SOFA (9).

		Točkovanje				
Organski sistem		0	1	2	3	4
Dihanje	$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$, mmHg (kPa)	> 400 ($> 53,3$)	< 400 ($< 53,3$)	< 300 (< 40)	< 200 ($< 26,7$) s podporo dihanju	< 100 ($< 13,3$) s podporo dihanju
Koagulacija	Trombociti, $\times 10^3/\mu\text{L}$	≥ 150	< 150	< 100	< 50	< 20
Jetra	Bilirubin, (mol/L)	< 20	20–32	33–101	102–204	> 204
Srčno-žilni sistem		SAP > 70 mmHg	SAP < 70 mmHg	Dopamin < 5 ali dobutamin (katerikoli odmerek) ^a	Dopamin 5,1–15 ali adrenalin $< 0,1$ ali noradrenalin $< 0,1^a$	Dopamin > 15 ali adrenalin $> 0,1$ ali noradrenalin $> 0,1^a$
Centralni živčni sistem	Glasgowska koma lestvica	15	13–14	10–12	6–9	< 6
Ledvice	Kreatinin, ($\mu\text{mol/L}$)	< 110	110–170	171–299	300–440	> 440
	Diureze, mL/dan				< 500	< 200

Legenda: PaO_2 – delni tlak kisika, FiO_2 – količina vdihanega kisika, SAP – srednji arterijski tlak, a – kateholamini se odmerjajo $\mu\text{g/kg/min}$ vsaj 1 uro.

cijo) ter število levkocitov $> 12.0 \times 10^9/L$ ali $< 4.0 \times 10^9/L$ (ali $> 10\%$ nezrelih nevtrofilcev) (7). Zaradi nespecifičnosti meril se v klinični praksi ta pristop ni izkazal za učinkovitega.

Po novi definiciji je sepsa življenje ogrožajoče odpovedovanje funkcije organov, ki nastane zaradi neustreznega odziva gostitelja na okužbo (8). Za oceno motenj v delovanju organov uporabljamo točkovanje po lestvici SOFA (*angl.* Sequential (Sepsis-related) Organ Failure Assessment) (Tabela 1) (9). Za postavitev diagnoze sepsa je potrebno, da se bolniku z okužbo ali sumom na okužbo akutno poveča točkovnik SOFA za vsaj 2 točki (8).

Pri bolnikih z dolgotrajnimi hospitalizacijami zunaj enot intenzivnega zdravljenja je za hitro prepoznavanje sepse priporočljivejša uporaba obpostelnega točkovanja qSOFA (Quick SOFA): frekvenca dihanja $\geq 22/\text{min}$, spremenjen mentalni status, sistolni krvni tlak $\leq 100 \text{ mmHg}$ (8,9). Stopnja umrljivosti je odvisna od stopnje bolezni in znaša pri hudi sepsi od 20% do 50% in pri septičnem šoku tudi več kot 50% (10,11).

Septični šok nastane zaradi zmanjšane oskrbe tkiv s kisikom in motene presnove (12). Zanj sta značilni hipotenzija in hiperlaktatemija (8,13). Prepoznamo ga po vztrajajoči hipotenziji, ki potrebuje vazopresijsko podporo za vzdrževanje srednjega arterijskega tlaka $> 65 \text{ mmHg}$ ter vrednosti serumskega laktata $> 2 \text{ mmol/L}$ kljub ustreznemu nadomeščanju tekočin (8).

Zlati standard pri diagnosticiranju sepse je mikrobiološka preiskava krvi. Bolnikom praviloma odvzamemo po 2–3 vzorce krvi za hemokulturo v 30-minutnih presledkih ali pogosteje. Za večino bakterijskih povzročiteljev znaša mediana

časa do pozitivnosti hemokultur 12–36 ur, medtem ko je čas za določene bakterije in glive daljši. Pri uporabi tradicionalnih mikrobioloških metod potrebuje mo za prepoznavanje povzročitelja sepse in opredelitev njegove občutljivosti na protimikrobna zdravila nadaljnjih 48–72 ur (14–16).

Zdraviti začnemo izkustveno z antibiotiki širokega spektra, ki niso le dragi, temveč tudi olajšajo razvoj bakterijske odpornosti proti antibiotikom. Zanesljivi označevalci za odkrivanje sepse v zgodnji fazi bi bistveno pripomogli k hitremu in učinkovitemu zdravljenju sepse. Zato potrebujemo označevalce, ki nam lahko z veliko verjetnostjo napovejo sepsa v zgodnji fazi (17). Eden prvih odkritih označevalcev za diagnosticiranje okužbe je bil C-reaktivni protein (CRP), ki se tvori v hepatocitih pod vplivom vnetnih citokinov (IL-1, IL-6 in TNF- α), vrednosti pa se povišajo v 6–12 urah po začetku vnetnega procesa in doseže največjo vrednost po 48 urah; povišan ostane nekaj dni (16,18). Prokalcitonin (PCT) je prekurzor hormona kalcitonina, sestavljen iz 116 aminokislin, z molekularno maso 14,5 kDa. V normalnih okoliščinah PCT tvori le ščitnica, krvne vrednosti pa so zelo nizke, nasprotno pa med okužbo PCT tvorijo vsa tkiva in vrednosti se povišajo (17). Čeprav natančen mehanizem aktiviranja ni znan, so najverjetneje sprožilec zgodnji vnetni signali, kot so TNF- α , IL-1 β in IL-6 (19). V nasprotju s kalcitoninom, ki ima kratko razpolovno dobo 10 minut, ima prokalcitonin daljšo, tj. 25–30 ur. Vrednosti PCT so navadno povišane pred vrednostjo CRP in tudi vrh doseže v krajšem času. Če bolnik dobro odgovori na zdravljenje, se PCT vrne na normalno raven hitreje kot CRP (20).

CD64 je celična površinska molekula iz naddružine imunoglobulinov, znana

tudi kot Fc γ R1 (21). Je eden od treh vrst receptorjev na nevtrofilcih, katerih funkcija je vezava Fc podenote protitelesa IgG (verige γ), ki olajša bakterijsko opsonizacijo in fagocitozo (22). CD64 je v manjši meri konstantno izražen na nevtrofilcih, tj. do 1.000 molekul na celico nevtrofilca. V prisotnosti delov celične stene mikrobov, komplementa ali vnetnih citokinov (interferoni, granulocitno-makrofagne kolonije stimulirajoči faktor) se izražena močno poveča (23). Ob odsotnosti stimulirajočih dejavnikov se izražena zmanjša v 48 urah in normalizira v sedmih dneh (24).

Namen naše raziskave je bila primerjava indeksa CD64 na nevtrofilcih, CRP, PCT, koncentracije nevtrofilcev in paličastih nevtrofilcev kot diagnostičnih označevalcev sepse. Zanimalo nas je tudi, kakšna je napovedna vrednost kombinacije označevalcev.

2. Metode dela

Raziskava je potekala na vzorcih, zbranih od januarja 2009 do februarja 2010. Raziskavo je odobrila državna etična komisija (številka 63/05/04). Vključenih je bilo zaporednih 46 bolnikov intenzivnega oddelka Univerzitetne klinike za pljučne bolezni in alergijo Golnik, ki so bili tja sprejeti zaradi težke okužbe, ter 10 zdravih oseb za kontrolno skupino. Bolnike so na intenzivnem oddelku obravnavali rutinsko po načelih dobre klinične prakse. Večina bolnikov je že pred sprejemom na intenzivni oddelek prejela antibiotik. Ob sprejemu na intenzivni oddelek so bolnikov vzorec krvi poleg redno naročenih krvnih preiskav (CRP, diferencialna krvna slika, PCT) poslali tudi na določitev CD64 na nevtrofilcih. V analizi smo upoštevali le tiste rezultate CRP, diferencialne krvne slike in PCT, ki so bili določeni isti dan kot CD64. Zdravniki, ki so bolnika

obravnavali, niso poznali rezultata testa CD64 na nevtrofilcih.

Preiskovance z okužbo smo na podlagi klinične slike in njenega poteka, laboratorijskih in mikrobioloških izvidov razdelili v skupini sepsa ter okužba brez sepse. V skupino sepsa smo vključili bolnike s pozitivno hemokulturo in bolnike z dokazano okužbo, ki so bili z intenzivnega oddelka odpuščeni z diagnozo sepse. Ostale bolnike z okužbo ali sumljivo okužbo, ki so se zaradi te zdravili na intenzivnem oddelku, smo uvrstili v skupino »okužba brez sepse«. Koncentracijo CRP smo določali imunoturbidimetrično (Roche Diagnostics) na analizatorju Hitachi, PCT pa z elektro-kemiluminescentno metodo (Roche Diagnostics). Izražanje površinskih molekul CD64 (označevalec aktivacije) na nevtrofilcih smo določali z metodo kvantitativne večbarvne pretočne citometrije s pretočnim citometrom FACSCalibur (Becton Dickinson, NY, ZDA) s setom Leuko64 (Trillium Diagnostics, LLC, Maine, ZDA). Set Leuko64 vsebuje mešanico treh monoklonskih protiteles: dveh protiteles, specifičnih za CD64 (klona 22 in 32.2) in označenih s fluorescenčnim barvilom PE (R-fikoeritrin), ter protiteles, specifično za CD163 (klon Mac2-158), označeno s fluorescenčnim barvilom FITC (fluorescein), ki omogoča lažje ločevanje levkocitnih subpopulacij. Set vsebuje tudi polisterenske mikrokroglice za kalibriranje in interno kontrolo. Izvedba testa in analiza je potekala natančno po navodilih proizvajalca. Za test je potrebnih 50 mikrolitrov krvi in mora biti izveden najkasneje v 72 urah od odvzema vzorca. Inkubacija s protitelesi se izvaja 10 minut pri sobni temperaturi, nato sledi liza vzorca in dodajanje polisterenskih mikrokroglic. Po zajemanju celic s pretočnim citometrom so se vzorci analizirali s programom Leuko64 QuantiCALC (Trillium Diagnostics).

Analiza je temeljila na merjenju povprečne PE svetilnosti CD64 na nevtrofilcih, izražena kot indeks glede na svetilnost kalibratorja PE.

Za analizo podatkov smo uporabili programa GraphPad Prism (verzija 5.03) in R. Rezultate smo izrazili z mediano in interkvartilnim presledkom, prikazali pa z vertikalnimi točkovnimi diagrami. Nekatero grafo smo zaradi velike razpršenosti podatkov prikazali na logaritemski lestvici. Podatke smo testirali z neparametričnim testom Mann-Whitney U. Statistično značilne vrednosti so bile $p < 0,05$. Diagnostično zanesljivost označevalcev smo ocenili s površino pod krivuljo ROC (*angl.* receiver operating characteristic area under the curve, ROC AUC). Test ima veliko diskriminativnost, če je AUC $> 0,90$, in majhno diskriminativnost, če je AUC med 0,50 in 0,70 (25).

Primerjave med občutljivostmi različnih označevalcev in kombinacije zaradi pomanjkanja meritev nismo mogli zanesljivo opraviti, kar se pozna tudi v večjem razponu 95-odstotni CI za kombinacijo testov kot za posamezne označevalce.

Označevalce smo primerjali v skupini bolnikov s sepsa, ki so imeli vsaj en označevalec nad diskriminativno vre-

dnostjo ali pa vse označevalce pod diskriminativno vrednostjo.

Diskriminativno diagnostično vrednost označevalca za diagnozo sepsa smo opredelili z vrednostjo, ki je bila večja od največje vrednosti pri bolnikih z okužbo brez sepse. Minimalno vrednost za diagnozo sepse smo opredelili kot največjo vrednost označevalca, ki je v naši raziskavi še izključila diagnozo sepse.

3. Rezultati

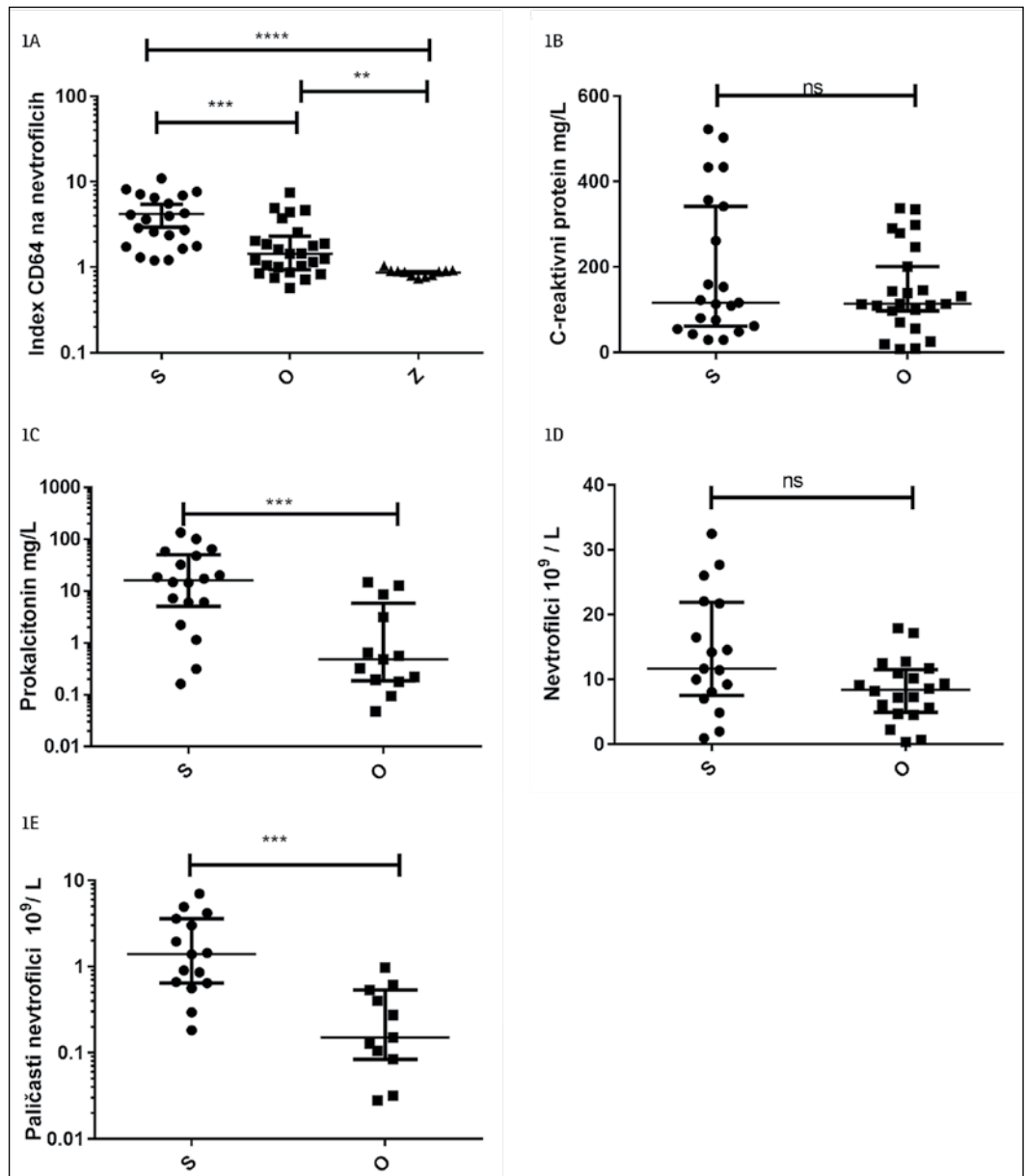
Vključili smo 46 bolnikov in 11 zdravih oseb za kontrolno skupino za indeks CD 64 na nevtrofilcih (Tabela 2).

V skupini s sepsa je bilo 21 bolnikov (47,6 % moških), starih 70 (55, 76) let. Hemokulture so bile pozitivne pri 13 (62 %) bolnikih. Vzroki okužbe so bili: 14-krat pljučnica (11-krat *S. pneumoniae*, 1-krat *S. aureus*, 1-krat *P. aeruginosa*, 1-krat neopredeljen povzročitelj), 4-krat okužba sečil (3-krat *E. coli*, 1-krat neopredeljen povzročitelj), 1-krat endokarditis (*S. aureus*), 1-krat zagnojen ulkus noge (*P. aeruginosa*), 1-krat okužba centralnega katetra (*P. aeruginosa*). Vsi ti bolniki so potrebovali inotropno in tlačno podporo. Sedem bolnikov je imelo pomembno pridruženo bolezen

Tabela 2: Primerjava preiskovancev.

Preiskovanci	Število (ženske, moški)	p	Starost (leta) mediana, interkvartilni presledek	p	Smrtnost
Bolniki s sepsa	21 (11, 10)	NS	70 (55, 76)	*** z zdravimi, NS z ostalimi	4 (19 %)
Bolniki z okužbo brez sepse	25 (12, 13)	NS	68 (56, 77)	*** z zdravimi, NS z ostalimi	7 (28 %)
Zdravi (kontrolna skupina)	11 (5, 6)	NS z ostalimi skupinami	32 (29, 35)	*** z ostalimi	0 (0 %)

Legenda: *** – $p < 0,01$; NS – razlika med skupinami ni statistično značilna.



Slika 1A–E: Označevalci sepse pri bolnikih s sepsjo (S) in okužbo brez sepse (O) (zdrave v kontrolni skupini (Z) smo vključili le pri CD64 na neutrofilcih).

Legenda: Daljša črta označuje mediano, krajša pa interkvartilni presledek; ns – statistično nepomembna razlika, **** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,05$.

(2-krat napredovala KOPB, 5-krat srčno popuščanje). Štirje (19 %) bolniki so umrli.

V skupini okužba brez sepse je bilo 25 bolnikov (52 % moških), starih 68 (56,77) let. Vzroki okužbe so bili: 13-krat pljučnica (5-krat *virus influenza H1N1*, 1-krat *S. pneumoniae*, 1-krat *S. haemolyticus*,

6-krat neopredeljen povzročitelj), 5-krat poslabšanje KOPB ob okužbi (neopredeljeni povzročitelji), 3-krat empiem, 1-krat tuberkuloza, 1-krat šen, 1-krat bronhitis, povzročen s *P. aeruginosa*, 1-krat poslabšanje polimiozitisa ob okužbi dihal (povzročitelja nismo opredelili). 17 bolnikov je imelo pomembno pridruženo bole-

zen (10-krat napredovala KOPB, 2-krat fibroza pljuč, 5-krat srčno popuščanje). Umrlo je 7 (28 %) bolnikov.

Skupini sta bili primerljivi glede na razmerje med spoloma in starostjo. V skupini z okužbo brez sepse je bilo pomembno več bolnikov s pomembnimi pridruženimi boleznimi ($p < 0,05$). Čeprav je v skupini bolnikov z okužbo brez sepse umrlo nekaj več bolnikov kot v skupini bolnikov s sepso, razlika ni bila statistično pomembna.

Kot kontrolno skupino za indeks CD 64 na nevtrofilcih smo vzeli še 11 zdravih preiskovancev (55 % moških), starih 32 (29, 35) let. Zdravi preiskovanci so bili statistično značilno mlajši.

Vrednosti označevalcev v vseh treh skupinah prikazujejo Grafi 1A–E.

V Tabeli 3 prikazujemo diagnostično vrednost posameznih označevalcev.

V Tabeli 4 prikazujemo vrednosti označevalcev nad diskriminativno vrednostjo pri vsakem bolniku s sepso. Pri 13 od 21 bolnikov je bil nad diskriminativno vrednostjo vsaj en označevalec. 10 bolnikov je imelo hkrati nad mejno vrednostjo več označevalcev, pri treh bolnikih pa je bil nad diskriminativno vrednostjo le en označevalec. Ker so se bolniki rutinsko obravnavali, nekateri

bolniki nimajo na dan, ko je bil določen indeks CD64, narejenih vseh laboratorijskih preiskav. Kombinacija označevalcev je z večjo verjetnostjo razločila sepso od okužbe brez sepse kot posamezni označevalec.

4. Razpravljanje

V raziskavi smo primerjali diagnostično vrednost nekaterih označevalcev vnetja za postavitev diagnoze sepse. Zanimala nas je zlasti uporabnost indeksa CD64 na nevtrofilcih. Ta označevalec so precej raziskovali za diagnosticiranje sepse pri otrocih (23,26) in pri razločevanju bolezni, ki jih klinično težko ločimo med seboj, na primer sepso od težke okužbe brez sepse. Zato smo tudi mi preiskovance z okužbo na podlagi klinične slike in poteka ter laboratorijskih in mikrobioloških izvidov razdelili v skupini sepse ter okužba brez sepse. V skupino sepse smo, podobno kot v drugih študijah (22,27,28), vključili bolnike s pozitivno hemokulturo in bolnike z dokazano okužbo, ki jim je zdravnik postavil diagnozo sepse, ter so potrebovali inotropno in tlačno podporo. Preiskovanci v skupini okužba brez sepse v naši raziskavi so bili pretežno bolniki z napredova-

Tabela 3: Primerjava diagnostičnih označevalcev pri bolnikih s sepso v primerjavi z bolniki z okužbo brez sepse.

Označevalec	Diskriminativna vrednost	Minimalna vrednost	Občutljivost	ROC AUC	95 % CI za občutljivost	95 % CI za specifičnost
CD 64	7,54	1,2	14,3 %	0,78	3–36,3 %	86,3–100 %
CRP	339,6 mg/L	29,2 mg/L	28,6 %	0,56	11,3–52,2 %	85,8–100 %
PCT	14,8 µg/L	0,17 µg/L	55,6 %	0,84	30,8–78,5 %	76,8–100 %
Nevtrofilci	$19,8 \times 10^9/L$	$1,44 \times 10^9/L$	29,4 %	0,69	10,3–56,0 %	83,2–100 %
Paličasti nevtrofilci	$1,18 \times 10^9/L$	$0,23 \times 10^9/L$	53,3 %	0,91	26,6–78,8 %	71,5–100 %

Legenda: Diskriminativna vrednost – vrednost, ki je večja od največje vrednosti pri bolnikih z okužbo brez sepse; Minimalna vrednost – največja vrednost označevalca, ki je v naši raziskavi še izključila diagnozo sepse; Občutljivost – delež bolnikov s sepso, pri katerih je označevalec nad diskriminativno vrednostjo; ROC AUC – površina pod krivuljo ROC; 95-odstotni CI – 95-odstotni interval zaupanja.

limi boleznimi pljuč in srca, pri katerih okužba povzroči poslabšanje delovanja teh organov. Pogostost pomembnih pridruženih bolezni je bila statistično večja kot v skupini bolnikov s sepo. V skupini bolnikov brez sepse je bila pogosta pljučnica, povzročena z virusom gripe, ki ima težek potek in visoko smrtnost. S tem lahko razložimo visoko smrtnost tudi pri bolnikih z okužbo brez sepse.

V naši analizi serumska koncentracija CRP pri bolnikih s sepo ni bila statistično značilno večja v primerjavi z bolniki z okužbo brez sepse. AUC krivulje ROC je bila 0,56 za bolnike s sepo v primerjavi z bolniki z okužbo brez sepse, kar pomeni, da je imel test majhno diagnostično vrednost. Večina raziskav dokazuje, da je PCT boljši biološki označevalec sepse kot CRP (29). Patil je ugotovil, da so bile serumske koncentracije prokalci-

Tabela 4: Označevalci nad diskriminativno vrednostjo pri bolnikih s sepo.

Bolnik	Indeks CD64 na nevtrofilcih > 7,54	CRP > 339,6 mg/L	Prokalcitonin > 14,8 µg/L	Koncentracija nevtrofilcev > 19,8 × 10 ⁹ /L	Koncentracija paličastih nevtrofilcev > 1,18 × 10 ⁹ /L
1	*	*	*	*	*
2		*	*	*	*
3	*	*	nd		
4		*	*		*
5		*	*		
6		*	*		
7	*		*	*	*
8			nd	*	*
9			*	*	*
10			*		*
11					*
12			*		nd
13			*	nd	nd
14			nd		
15					nd
16				nd	nd
17				nd	Nd
18				nd	Nd
19					
20					
21					

Legenda: * – označevalec je nad diskriminativno vrednostjo; nd – ni izmerjeno; prazno polje – označevalec ni nad diskriminativno vrednostjo.

tonina pri odraslih bolnikih s pozitivno hemokulturo večje (8,66 ng/mL) kakor pri bolnikih z negativno hemokulturo (1,03 ng/mL) ($p < 0,001$) (30). Llewelyn je povzel, da so vrednosti prokalcitonina višje pri težje potekajočih okužbah, torej pri bolnikih s sepsjo, kakor pri bolnikih s SIRS (3,1 ng/mL [0,8–3,9] proti 0,2 ng/mL [0,1–0,8] ($p < 0,001$)) (18). Gibot je v analizi bolnikov v enoti intenzivne nege ugotovil, da prokalcitonin loči bolnike s sepsjo od ostalih bolnikov, sprejetih v enoto intenzivne nege, ki pa niso imeli sepse, ($p > 0,001$) z diagnostično vrednostjo AUC krivulje ROC 0,91 (31). Po drugi strani v raziskavi Tanga in sodelavcev prokalcitonin ni razlikoval sepse od SIRS in drugih bolezni brez okužbe (32). Gibot je zaključil tudi, da je koncentracija prokalcitonina večja pri bolnikih, okuženih s po Gramu-negativnimi 30,09 ng/ml (4,55–76,01) kot s po Gramu-pozitivnimi organizmi 1,33 ng/ml (1,04–4,98) ($p < 0,0001$) (31).

V naši analizi je bila serumska koncentracija prokalcitonina statistično značilno večja pri bolnikih s sepsjo v primerjavi z bolniki z okužbo brez sepse. PCT (AUC 0,84) se je, skladno z drugimi raziskavami, izkazal za boljši diagnostični označevalec pri bolnikih s sepsjo v primerjavi z bolniki z okužbo brez sepse od CRP (AUC 0,56) (29–31). Prokalcitonin je imel tudi boljšo diagnostično vrednost za sepsjo kakor indeks CD64 (AUC 0,78) in koncentracija nevtrofilcev (AUC 0,69). Indeks CD64 na nevtrofilcih je bil pričakovano bistveno večji v obeh skupinah v primerjavi z zdravimi v kontrolni skupini našega testiranja. Indeks CD64 na nevtrofilcih je bil višji tudi pri bolnikih s sepsjo v primerjavi z bolniki z okužbo brez sepse, vendar je bila diagnostična vrednost indeksa CD64 pri naših bolnikih majhna (AUC 0,78).

Čeprav je nekaj publikacij nakazalo visoko diagnostično vrednost tega indeksa (33,34), pa tega poleg naše tudi številne druge raziskave niso potrdile (35,36). Eden od razlogov, da so nekatere študije potrdile diagnostično vrednost, druge pa ne, je izbira bolnikov – predvsem bolnikov v primerjalnih skupinah (Tabela 5).

Naši bolniki v kontrolnih skupinah so bili internistični bolniki večinoma s težkimi spremljajočimi boleznimi, klinično težko ločljivimi od sepse. Podoben rezultat je dobila Gamez-Diaz, ki je vključila bolnike na podoben način kot mi, torej prizadete bolnike, ki so potrebovali zdravljenje na intenzivnem oddelku, ter šele med hospitalizacijo postavila diagnozo sepse oziroma druge bolezni (35). Študije, ki so ugotovile dobro diagnostično vrednost indeksa CD64, pa so za kontrolo uporabile zdrave preiskovance ali bolnike po operacijah (22,28,33).

Pričakovano je bil test CD64 najbolj diskriminativen, AUC krivulje ROC je bila 1,0, kadar smo bolnike primerjali z zdravimi posamezniki. Seveda pa za razločevanje med bolniki s sepsjo in zdravimi ljudmi ne potrebujemo laboratorijskega testa. V klinični praksi je treba razlikovati med različnimi boleznimi. Meja, pri kateri je test zanesljivo ločil med bolniki s sepsjo in bolniki z okužbo brez sepse, je bila šele pri vrednosti indeksa CD64 nad 7,5, kar je visoka vrednost, saj so imeli mnogi bolniki s sepsjo tudi precej nižje vrednosti. Se je pa indeks CD64 izkazal za dobrega v negativni napovedni vrednosti, saj noben bolnik s sepsjo ni imel indeksa, nižjega od 1,2. Indeks, nižji od 1,2, je v naši študiji zagotovo izključil sepsjo.

V naši raziskavi nismo dokazali razlik v koncentraciji nevtrofilcev med skupinama bolnikov, medtem ko je bila koncentracija paličastih nevtrofilcev statistično značilno večja pri bolnikih s sepsjo

kakor pri bolnikih z okužbo brez sepse. Ugotovili smo, da ima indeks CD64 na nevtrofilcih večjo diagnostično vrednost kakor koncentracija nevtrofilcev pri bolnikih s sepso v primerjavi z bolniki z okužbo brez sepse. Najboljšo diagnostično vrednost pa je imela koncentracija paličastih nevtrofilcev (AUC 0,91).

Več študij (31,35) je ugotovilo, da ima največjo napovedno vrednost pri diagnosticiranju sepse kombinacija večjega števila označevalcev. V naši raziskavi je imelo vsaj en označevalec (CRP, PCT, indeks CD64, koncentracija nevtrofil-

cev ali koncentracija paličastih nevtrofilcev) nad diskriminativno vrednostjo za ločitev bolnikov s sepso od bolnikov z okužbo brez sepse 62 % bolnikov. Veliko večino bolnikov pa smo zaznali samo z uporabo dveh označevalcev, in sicer s koncentracijo paličastih nevtrofilcev in PCT.

Šibka stran naše raziskave je bila heterogenost kontrolne skupine bolnikov z okužbo brez sepse. Pomanjkljivost je bila tudi, da nismo imeli večjega števila vzorcev istega bolnika, da bi lahko sledili spreminjanju indeksa CD64 v poteku

Tabela 5: Povzetek študij o diagnostični vrednosti nevtrofilcev CD64 pri sepsi pri odraslih.²¹

Študija (leto publikacije)	Št. pacientov	Izbira bolnikov	Izbira primerjalne skupine	Občutljivost /specifičnost	ROC AUC
Davis (2005)	160	naključni bolniki v hematološkem laboratoriju – retrospektivno opredeljeni kot bolniki z vnetjem, okužbo ali sepso	bolniki s hudimi poškodbami tkiva	94 %/85 %	-
Davis (2006)	100	naključni bolniki v urgentnem bloku – retrospektivno opredeljeni kot bolniki z vnetjem, okužbo ali sepso	zdravi	88 %/77 %	-
Livaditi (2006)	47	sepsa, huda sepsa, septični šok	študija primerja težo sepse, nima kontrolne skupine	-	-
Cardelli (2008)	112	sepsa s pozitivno hemokulturo, sum na sepso in negativna hemokultura	zdravi	96 %/95 %	0,97
Danikas (2008)	32	huda sepsa, septični šok	zdravi	60 %/100 %	0,892
Lobreglio (2008)	30	sepsa s pozitivno hemokulturo	bolniki brez okužbe	92 %/100 %	-
Hsu (2011)	66	septični šok, huda sepsa, SIRS z akutno odpovedjo dihanja	SIRS z akutno odpovedjo dihanja	89 %/96 %	0,928
Gamez-Dias (2011)	361	bolniki v urgentnem bloku s sumom na sepso (okužba, nepojasnjeni vročina, delirij ali hipotenzija)	bolniki, za katere se je kasneje izkazalo, da niso imeli sepse	66 %/65 %	0,706
Gerrits (2013)	75	sepsa	SIRS po operaciji, zdrave kontrole	100 %/95 %	
Icardi (2009)	119	bolniki z okužbo	bolniki brez okužbe	95 %/89 %	
Žargaj (2016)	46	sepsa s pozitivno hemokulturo ali dokazana okužba, s strani zdravnika postavljena diagnoza sepse in potreba po inotropni podpori.	huda okužba brez sepse	14,3 %/40 %	0,78

bolezni. Poleg tega zaradi ne dovolj standardiziranega dokumentiranja funkcije organskih sistemov v popisu bolezni nismo mogli primerjati vrednosti indeksa CD64 glede na težo sepse (septični šok ali odpoved organov). Bolnikom nismo sledili po odpustu iz bolnišnice, tako da se podatki o smrtnosti nanašajo le na bolnike, ki so umrli v bolnišnici med hospitalizacijo, v kateri se je meril indeks CD64.

5. Zaključek

Indeks CD64 je bil eden manj diskriminativnih za ločevanje med sepsa in okužbo brez sepse pri bolnikih v enoti intenzivne interne medicine. Najbolj diskriminativna sta bila PCT in koncen-

tracija paličastih nevtrofilcev. Se je pa indeks CD64 izkazal za dobrega v negativni napovedni vrednosti, saj noben bolnik s sepsa ni imel indeksa, nižjega od 1,2. Merjeni parametri – CRP, PCT, indeks CD64 na nevtrofilcih, koncentracija nevtrofilcev in koncentracija paličastih nevtrofilcev v krvi, vsak zase niso imeli dobre občutljivosti za diagnosticiranje sepse. Kombinacija označevalcev je bolj verjetno razmejila sepsa od okužbe brez sepse kakor le en označevalec. Najboljša označevalca sta bila koncentracija paličastih nevtrofilcev oziroma PCT.

6. Zahvala

Juliju Šelbu, dr. med., se zahvaljujemo za pomoč pri statistični analizi.

Literatura

- Hall MJ, Williams SN, DeFrances CJ, Golosinskiy A. Inpatient care for septicemia or sepsis: a challenge for patients and hospitals. NCHS Data Brief. 2011 Jun;(62):1–8. PMID:22142805
- Beovic B, Hladnik Z, Pozenel P, Siuka D; Slovenian Severe Sepsis Study Group. Epidemiology of severe sepsis in Slovenian intensive care units for adults. J Chemother. 2008 Feb;20(1):134–6. <https://doi.org/10.1179/joc.2008.20.1.134> PMID:18343757
- Wang JY, Chen YX, Guo SB, Mei X, Yang P. Predictive performance of quick Sepsis-related Organ Failure Assessment for mortality and intensive care unit admission in patients with infection at the ED. Am J Emerg Med. 2016 Jun;(16):30227–3.
- Yeh RW, Sidney S, Chandra M, Sorel M, Selby JV, Go AS. Population trends in the incidence and outcomes of acute myocardial infarction. N Engl J Med. 2010 Jun;362(23):2155–65. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0908610> PMID:20558366
- Torio CM, Andrews RM. National Inpatient Hospital Costs: The Most Expensive Conditions by Payer, 2011: Statistical Brief #160. Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP) Statistical Briefs [Internet]. 2006–2013. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK169005/>
- Lever A, Mackenzie I. Sepsis: definition, epidemiology, and diagnosis. BMJ. 2007 Oct;335(7625):879–83. <https://doi.org/10.1136/bmj.39346.495880.AE> PMID:17962288
- Faix JD. Biomarkers of sepsis. Crit Rev Clin Lab Sci. 2013 Jan-Feb;50(1):23–36. <https://doi.org/10.3109/10408363.2013.764490> PMID:23480440
- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA. 2016 Feb;315(8):801–10. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.0287> PMID:26903338
- Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. Intensive Care Med. 1996 Jul;22(7):707–10. <https://doi.org/10.1007/BF01709751> PMID:8844239
- Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. N Engl J Med. 2003 Apr;348(16):1546–54. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa022139> PMID:12700374
- Kaukonen KM, Bailey M, Suzuki S, Pilcher D, Bellomo R. Mortality related to severe sepsis and septic shock among critically ill patients in Australia and New Zealand, 2000–2012. JAMA. 2014 Apr;311(13):1308–16. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.2637> PMID:24638143
- Klein Klouwenberg PM, Ong DS, Bonten MJ, Cremer OL. Classification of sepsis, severe sepsis and septic shock: the impact of minor variations in data capture and definition of SIRS criteria. Intensive Care Med. 2012 May;38(5):811–9. <https://doi.org/10.1007/s00134-012-2549-5> PMID:22476449

13. Casserly B, Phillips GS, Schorr C, Dellinger RP, Townsend SR, Osborn TM, et al. Lactate measurements in sepsis-induced tissue hypoperfusion: results from the Surviving Sepsis Campaign database. *Crit Care Med*. 2015 Mar;43(3):567–73. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000000742> PMID:25479113
14. Kirn TJ, Weinstein MP. Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Jun;19(6):513–20. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12180> PMID:23490046
15. Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, Mirrett S, Reimer LG, Parmigiani G, et al. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis*. 1997 Apr;24(4):584–602. <https://doi.org/10.1093/clind/24.4.584> PMID:9145732
16. Pien BC, Sundaram P, Raoof N, Costa SF, Mirrett S, Woods CW, et al. The clinical and prognostic importance of positive blood cultures in adults. *Am J Med*. 2010 Sep;123(9):819–28. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2010.03.021> PMID:20800151
17. Standage SW, Wong HR. Biomarkers for pediatric sepsis and septic shock. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2011 Jan;9(1):71–9. <https://doi.org/10.1586/eri.10.154> PMID:21171879
18. Llewelyn MJ, Berger M, Gregory M, Ramaiah R, Taylor AL, Curdt I, et al. Sepsis biomarkers in unselected patients on admission to intensive or high-dependency care. *Crit Care*. 2013 Mar;17(2):R60. <https://doi.org/10.1186/cc12588> PMID:23531337
19. Hatzistilianou M. Diagnostic and prognostic role of procalcitonin in infections. *Sci World J*. 2010 Oct;10:1941–6. <https://doi.org/10.1100/tsw.2010.181> PMID:20890583
20. Adib M, Bakhshiani Z, Navaei F, Saheb Fosoul F, Fouladi S, Kazemzadeh H. Procalcitonin: a reliable marker for the diagnosis of neonatal sepsis. *Iran J Basic Med Sci*. 2012 Mar;15(2):777–82. PMID:23493845
21. Hoffmann JJ. Neutrophil CD64 as a sepsis biomarker. *Biochem Med (Zagreb)*. 2011;21(3):282–90. <https://doi.org/10.11613/BM.2011.038> PMID:22420242
22. Davis BH, Olsen SH, Ahmad E, Bigelow NC. Neutrophil CD64 is an improved indicator of infection or sepsis in emergency department patients. *Arch Pathol Lab Med*. 2006 May;130(5):654–61. PMID:16683883
23. Groselj-Grenc M, Ihan A, Derganc M. Neutrophil and monocyte CD64 and CD163 expression in critically ill neonates and children with sepsis: comparison of fluorescence intensities and calculated indexes. *Mediators Inflamm*. 2008;2008:202646. <https://doi.org/10.1155/2008/202646> PMID:18604302
24. Allen E, Bakke AC, Purtzer MZ, Deodhar A. Neutrophil CD64 expression: distinguishing acute inflammatory autoimmune disease from systemic infections. *Ann Rheum Dis*. 2002 Jun;61(6):522–5. <https://doi.org/10.1136/ard.61.6.522> PMID:12006325
25. Karimollah Hajian-Tilaki, Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve Analysis for Medical Diagnostic Test Evaluation. *Caspian J Intern Med*. 2013;4(2):627–35. PMID:24009950
26. Zeitoun AA, Gad SS, Attia FM, Abu Maziad AS, Bell EF. Evaluation of neutrophilic CD64, interleukin 10 and procalcitonin as diagnostic markers of early- and late-onset neonatal sepsis. *Scand J Infect Dis*. 2010 Apr;42(4):299–305. <https://doi.org/10.3109/00365540903449832> PMID:20085423
27. Li S, Huang X, Chen Z, Zhong H, Peng Q, Deng Y, et al. Neutrophil CD64 expression as a biomarker in the early diagnosis of bacterial infection: a meta-analysis. *Int J Infect Dis*. 2013 Jan;17(1):e12–23. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2012.07.017> PMID:22940278
28. Gerrits JH, McLaughlin PM, Nienhuis BN, Smit JW, Loeff B. Polymorphic mononuclear neutrophils CD64 index for diagnosis of sepsis in postoperative surgical patients and critically ill patients. *Clin Chem Lab Med*. 2013 Apr;51(4):897–905. <https://doi.org/10.1515/cclm-2012-0279> PMID:23045384
29. Cardelli P, Ferraironi M, Amodeo R, Tabacco F, De Blasi RA, Nicoletti M, et al. Evaluation of neutrophil CD64 expression and procalcitonin as useful markers in early diagnosis of sepsis. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2008 Jan-Mar;21(1):43–9. <https://doi.org/10.1177/039463200802100106> PMID:18336730
30. Patil VK, Morjaria JB, De Villers F, Babu SK. Associations between procalcitonin and markers of bacterial sepsis. *Medicina (Kaunas)*. 2012;48(8):383–7. PMID:23128457
31. Gibot S, Béné MC, Noel R, Massin F, Guy J, Cravoisy A, et al. Combination biomarkers to diagnose sepsis in the critically ill patient. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012 Jul;186(1):65–71. <https://doi.org/10.1164/rccm.201201-0037OC> PMID:22538802
32. Tang BM, Eslick GD, Craig JC, McLean AS. Accuracy of procalcitonin for sepsis diagnosis in critically ill patients: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2007 Mar;7(3):210–7. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(07\)70052-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70052-X) PMID:17317602
33. Gros A, Roussel M, Sauvadet E, Gacouin A, Marqué S, Chimot L, et al. The sensitivity of neutrophil CD64 expression as a biomarker of bacterial infection is low in critically ill patients. *Intensive Care Med*. 2012 Mar;38(3):445–52. <https://doi.org/10.1007/s00134-012-2483-6> PMID:22310872
34. Hsu KH, Chan MC, Wang JM, Lin LY, Wu CL. Comparison of Fcγ receptor expression on neutrophils with procalcitonin for the diagnosis of sepsis in critically ill patients. *Respirology*. 2011 Jan;16(1):152–60. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1843.2010.01876.x> PMID:20946336
35. Gámez-Díaz LY, Enriquez LE, Matute JD, Velásquez S, Gómez ID, Toro F, et al. Diagnostic accuracy of HMGB-1, sTREM-1, and CD64 as markers of sepsis in patients recently admitted to the emergency department. *Acad Emerg Med*. 2011 Aug;18(8):807–15. <https://doi.org/10.1111/j.1553-2712.2011.01113.x> PMID:21762470
36. Icardi M, Erickson Y, Kilborn S, Stewart B, Grief B, Scharnweber G. CD64 index provides simple and predictive testing for detection and monitoring of sepsis and bacterial infection in hospital patients. *J Clin Microbiol*. 2009 Dec;47(12):3914–9. <https://doi.org/10.1128/JCM.00628-09> PMID:19846647