

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZDRAVOTNĚ SOCIÁLNÍ FAKULTA**

LABORATORNÍ MARKERY SEPSE

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor: Ochozková Šárka

Vedoucí práce: MUDr. Miroslav Verner

14.05.2008

ABSTRAKT

Laboratory markers of sepsis

Sepsis and its complications are currently the most frequent cause of death owing to multi organ failure at intensive care units. Despite all modern procedures the mortality stays high. That is why it is very important in term of clinical practice to diagnose sepsis soon and start effective treatment early. Diagnostics of sepsis can be complicated because clinical symptoms are not specific. Parameters of systemic inflammatory response syndrome used most frequently in clinical practice are neither quite specific nor 100 % sensitive.

The aim of this thesis is to evaluate the most suitable usable marker with sufficient diagnostic sensitivity and specificity for early catch of sepsis development. For my thesis a chosen data collection patients of intensive care units and patients of neonatology department in Nemocnice a.s. (Hospital Inc.) in České Budějovice was used; from these patients the half fulfilled sepsis criteria. In patients, determinations of following concentration parameters were carried out: procalcitonin, C-creative protein and Interleukin-6. 1855 measurements were evaluated in total and in term of sepsis 285 patients were examined. The author participated in a part of carried out examinations.

Procalcitonin (PCT) is a precursor of the hormone calcitonin eliminated by various types of cells from numerous organs as a reaction to for-inflammatory stimulation, especially to bacterial stimulation. To determine the concentration of PCT we used automated test VIDAS B·R·A·H·M·S PCT for the use at mini VIDAS machine in human serum using the help of method ELFA (Enzyme-Linked Fluorescent Assay). If the concentration of PCT is > 0.5 ng/ml it is necessary to consider a patient as threatened by severe sepsis or septic shock.

C-creative protein (CRP) is a protein of acute phase, index of either acute or chronic inflammation process. Concentration of CRP was determined at analyzer unit ADVIA 1650 by immunoturbidimetric method.

Interleukin -6 (IL-6) is both dominant cytokine in term of wide spectre of effects and the most important cytokine in term of clinical use. IL-6 was determined at analyzer IMMULITE 2500 by sequence enzyme chemiluminescent immunometric reaction.

The results of measurements were correlated either between particular markers or to diagnose sepsis. For the sepsis diagnoses in chosen collection of inpatients was found out sensitivity 93 % and approximately specificity in PCT. PCT correlates well to systemic inflammatory response syndrome, it is a very sensitive and quickly reacting marker to changes of clinical state. CRP has the sensitivity 95 % in sepsis, but the increase is not bound only to sepsis. Owing to the different half-life both markers do not correlate well together. It is economically convenient to combine both markers. For diagnosis and evaluation of clinical state change in relation to sepsis PCT is convenient. For monitoring of steady course and clinical state it is useful and sufficient to watch dynamics of CRP. In premature newborns the sensitivity PCT decreases in sepsis probably due to immaturity of liver and immunity system. That is why according to experience gained in Nemocnice a.s. (Hospital Inc.) České Budějovice it is more convenient to determine IL-6 instead of PCT. In newborns the PCT sensitivity is 76% at specificity of 52% (data from study by cut off 0,5 ng/ml). IL-6 sensitivity is 62,5% at specificity of 90% by cut off 150 pg/ml and IL-6 sensitivity is 98% at specificity of 67% by cut off 300 pg/ml. Sensitivity and specificity of applied markers for sepsis change according to the kind of disorder or injury complicated by sepsis and timing of blood taking and off course cut off setting. However, this was not the object of detailed investigation of this thesis.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Laboratorní markery sepse vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. V platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě/v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zdravotně sociální fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách.

V Českých Budějovicích 14.05.2008

.....
Šárka Ochozková

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla především poděkovat panu MUDr. Miroslavu Vernerovi za příkladné vedení mé bakalářské práce, za jeho trpělivost a čas, který mi věnoval. Rovněž mé díky patří oddělení neonatologie Nemocnice České Budějovice a.s. za poskytnutí dat a mé rodině za trpělivost a podporu.

OBSAH

	ÚVOD	8
1.	SOUČASNÝ STAV	9
1.1	<i>Historie a definice sepse</i>	9
1.1.1	<i>Historie</i>	9
1.1.2	<i>Definice</i>	9
1.1.3	<i>Původci sepse</i>	10
1.1.4	<i>Klinické a laboratorní příznaky</i>	10
1.2	<i>Reakce imunitního systému na sepsi</i>	11
1.2.1	<i>Nespecifická imunita</i>	11
1.2.2	<i>Cytokiny</i>	12
1.2.2.1	<i>Interleukin-1</i>	12
1.2.2.2	<i>Interleukin-6</i>	13
1.2.2.3	<i>Interleukin-8</i>	13
1.2.2.4	<i>Tumor necrosis factor-α</i>	13
1.2.3	<i>Specifická imunita</i>	14
1.3	<i>Diagnostika sepse</i>	15
1.3.1	<i>Klinicko-biochemická vyšetření</i>	15
1.3.2	<i>Ostatní laboratorní vyšetření</i>	16
1.4	<i>Terapie a prognóza sepse</i>	17
2.	CÍL PRÁCE A HYPOTÉZY	19
2.1	<i>Cíl práce</i>	19
2.2	<i>Předpokládané hypotézy</i>	19

3.	METODIKA	20
3.1	<i>Charakteristika zkoumaného souboru</i>	20
3.2	<i>Kvantitativní stanovení markerů</i>	20
3.2.1	<i>C-reaktivní protein</i>	20
3.2.2	<i>Prokalcitonin</i>	21
3.2.3	<i>Interleukin-6</i>	23
3.3	<i>Vlastnosti laboratorní metody z klinického hlediska</i>	23
3.3.1	<i>Diagnostická senzitivita</i>	24
3.3.2	<i>Diagnostická specificita</i>	24
4.	VÝSLEDKY	26
4.1	<i>Pacienti z oddělení s intenzivní péčí</i>	26
4.2	<i>Pacienti z oddělení neonatologie</i>	31
5.	DISKUSE	39
6.	ZÁVĚR	42
7.	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	43
8.	KLÍČOVÁ SLOVA	46
9.	PŘÍLOHY	47
9.1	<i>Seznam příloh</i>	47

ÚVOD

„Teprve, když zdravý onemocní, uvědomí si, co měl.“

(Carlyle Thomas)

Sepse je systémová zánětlivá odpověď organismu na přítomnost infekce. Každý rok ve světě postihne asi tři lidi z tisíce (cca 18 milionů postižených za rok) a její komplikace bývají jednou z nejčastějších příčin nemocničních úmrtí. Její výskyt v poslední době narůstá asi o 1,5 % ročně. Podle údajů odborníků na ni každý den ve světě umírá 1 400 lidí. Náklady na léčbu sepse se počítají každoročně v desítkách miliard dolarů. Rychlé stanovení příčiny sepse má zásadní význam pro zahájení správné léčby a lepší prognózu pacienta.

Sepse se může vyvinout u kohokoliv, ale častěji se objeví u pacientů po úrazu, se zápallem plic, popáleninami, rakovinou, nebo u těch, kteří podstoupili operaci. Sepse může zasáhnout pacienty v kterémkoliv věku, ale častěji se vyskytuje u starších osob a takéž u vysoce rizikových skupin, jako jsou pacienti s rakovinou či HIV.

Diagnostikovat sepsi může být obtížné, neboť některé příznaky sepse, jako horečka, zrychlený puls, změna počtu bílých krvinek a dýchací problémy, nacházíme často u řady jiných nemocí. Navíc neexistuje žádný běžně dostupný ukazatel nebo laboratorní test, který by jednoznačně sepsi diagnostikoval.

Počet úmrtí následkem sepse je srovnatelný s počtem úmrtí na rakovinu plic, tlustého střeva a prsu dohromady a to jak v Evropě tak i v USA. Myslím, že najít vhodný ekonomicky přijatelný parametr pro časný záchyt rozvoje sepse je přání všech lékařů na jednotkách intenzivní péče. Toto téma se může dotknout každého z nás, proto jsem se mu chtěla více věnovat ve své bakalářské práci a současně bych si přála, aby našla využití v praxi pro časnou detekci septických stavů.

1. SOUČASNÝ STAV

1.1 Historie a definice sepse

1.1.1 Historie

Termín sepse pochází z řečtiny, kde původně znamenal hnilobu. Do češtiny se překládal slovy „otrava krve“. Název septický se označoval proces vyznačující se páchnoucím hnisem, zatímco bílý, nepáchnoucí hnis byl považován za „pus bonum et laudabile“. Až klasičtí bakteriologové dokázali, že ze „septické“ rány se, obvykle lymfatickými cestami, šíří mikroby do krve a vyvolávají stav, který byl označován jako septikémie („septická krev“) či pyémie („hnis v krvi“). (20)

V posledních letech se ukázalo nutné rozlišovat mezi sepsí a bakteriemií (tj. přítomnost bakterií v krvi). Názory na povahu sepse se značně změnily. U stavu definovaného původně klinicko-mikrobiologicky byly vymezeny charakteristické znaky patologicko-fyziologické. (20)

1.1.2 Definice

O sepsi v současném pojetí se v literatuře začalo postupně psát od 80. let 19. století. V roce 1914 podal Schottmüller následující definici sepse: „O sepsi jde tehdy, je-li v organismu přítomné ložisko, z něhož se periodicky nebo trvale vyplavují do krve mikroby a působí-li tato bakteriální invaze subjektivní a objektivní příznaky nemoci.“ Tato definice platí dodnes, ale v rámci současných znalostí odráží pouze jednu z podmnožin, z nichž se skládá množina sepse. (4, 21)

Definice sepse a jejího vývoje, tj. dělení do jednotlivých stádií, prošla v minulosti řadou variant. Vznikla značná terminologická nejednotnost, která zhoršovala diagnostiku jednotlivých stádií sepse a vzájemnou srovnatelnost publikací, které se touto tematikou zabývaly. Situaci dále zhoršovaly komplikace, především

multiorgánové dysfunkce a selhání. Nakonec dospěla konsenzuální konference v roce 1992 v USA k definici a dělení na stadia sepse, které uznáváme v současné době. Sepse (= septický syndrom) je definována jako systémová zánětlivá reakce organismu na infekci. Její průběh se dělí na tři stadia: Sepse, těžká sepsa a septický šok. (4, 5, 21)

1.1.3 Původci sepse

Přítomnost infekce je nezbytným předpokladem vzniku sepse. Rozvojem sepse může být komplikovaná jakákoliv infekce, nejčastěji jde o infekce v oblasti respiračního traktu, v dutině břišní nebo v krevním oběhu. Více než 90% případů sepse způsobují bakterie, a to jak grampozitivní tak gramnegativní, fragmenty bakterií, endotoxiny nebo peptidoglykany z jejich pouzder. Vyvolávajícími kmeny bakterií mohou být *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, enterokoky, anaerobní flóra, hemolytické streptokoky, meningokok C. Dalšími původci mohou být viry, plísňe, zvláště kmen *Candida*. (5, 16, 21)

Nejčastější příčinou sepse jsou gramnegativní bakterie pro svoji masivní produkci endotoxinu. V současnosti stoupá výskyt sepsí vyvolaných MRSA (methicilin rezistentní kmen *Staphylococcus aureus*). (16)

Včasná diagnostika sepse a identifikace zdroje infekce jsou základními předpoklady zahájení účinné terapie s cílem zabránění vzniku progresu stavu, rozvoje orgánové dysfunkce a smrti. (5)

1.1.4 Klinické a laboratorní příznaky

Sepsa, těžká sepsa a septický šok představují jednotlivé fáze dynamického děje, manifestující se řadou klinických a laboratorních změn, a progresu stavu je v těsné korelaci jak s rozsahem orgánové dysfunkce, tak s mortalitou. (21)

Charakteristickými příznaky sepse je hypotermie pod 36 °C, hypertermie nad 38 °C, tachykardie vyšší než 90/min, tachypnoe vyšší než 20/min, pCO₂ nižší než 4,3 kPa,

leukocytóza nad $12 \cdot 10^9/l$ nebo leukopenie pod $4 \cdot 10^9/l$, nebo přítomnost více než 10% nezralých forem, tj. tyčů, v diferenciálním rozpočtu. (16, 21)

Příznaky těžké sepse jsou stejné jako u sepse. Přibývají však změny chování a vědomí, příznaky dysfunkce nebo hypoperfúze orgánů a hypotenze. (21)

Příznaky uvedené v předchozích dvou skupinách jsou typické též pro septický šok, při kterém však organismus v hypotenzi nereaguje zvýšením krevního tlaku na vybalancované doplnění objemu kolující tekutiny a příznaky hypoperfúze orgánů trvají. (21)

Mezi laboratorní příznaky patří laktátová acidóza, abnormality ve vyšetření jaterních nebo ledvinných funkcí, trombocytopenie, známky diseminované intravaskulární koagulace, zvýšená koncentrace prokalcitoninu, C-reaktivního proteinu, cytokinů. Absolutní hodnoty jsou méně důležité, větší význam má hodnocení jednotlivých ukazatelů v čase a sledování jejich dynamiky. (21)

1.2 Reakce imunitního systému na sepsi

1.2.1 Nespecifická imunita

Při sepsi dochází k řadě nekontrolovaných dějů, mnohdy vedoucích k poškození endotelu, projevům trombózy a narušení fibrinolýzy. To přispívá k poškození tkání a vede k postižení orgánů, včetně jejich funkce a dále stupňuje nároky na kardiovaskulární systém. V etiologii sepse se může uplatnit jakýkoliv mikroorganismus. Invaze do krevního řečiště pro rozvoj sepse není nezbytná. Důležitá role se přičítá lokálnímu nebo systémovému rozsevu mikrobiálních signalizačních molekul. (5, 21)

Na bakteriální infekci, rovněž virovou a parazitární infekci, odpovídá imunitní systém organismu místní i celkovou obrannou reakcí. Jde o stereotypní odpověď, tzv. akutní fázi zánětu. V počátku jak lokální tak i celkové imunitní reakce dochází k aktivaci nespecifické imunity. Jako první se aktivuje komplement. Výsledkem aktivace je vznik komplementových štěpů, kde k nejvýznamnějším patří štěpy C3a a C5a. Jejich

působením dochází k vazodilataci, zvyšuje se permeabilita kapilár a mění se vlastnosti endotelových buněk. Vlivem chemotaktické aktivity těchto štěpů a působením tkáňových chemokinů, oligopeptidů s interkrinní funkcí dochází k atrahování polymorfonukleárů současně se zvýšením jejich adherence. Vyšší permeabilita cévních stěn a změna vlastností endotelových buněk umožňuje prostup plazmatických mediátorů (histamin, serotonin, bradykinin) a specifických obranných látek (imunoglobulinů) do tkání. Posléze dochází působením C5a k aktivaci monocytů/makrofágů. Aktivované monocyty/makrofágy ve zvýšené míře produkují cytokiny. (7, 12, 14)

1.2.2 Cytokiny

Cytokiny jsou rozpustné, nízkomolekulární, termolabilní glykoproteiny, které vedle mnohostranných fyziologických funkcí jsou nezbytné pro normální funkci imunitního systému, pokud jsou produkovány ve správnou dobu a ve správném množství. Při sepsi, ale i v dalších závažných stavech mohou být tvořeny v nadměrném množství. Cytokiny řídí aktivaci buněk imunitního systému, kontrolují genovou expresi a rovněž expresi povrchových molekul. Současně ovlivňují i další systémy, především endokrinní a nervový systém. Je rovněž známo, že rozdílné buňky mají receptory pro stejné cytokiny a stejné buňky pro různé cytokiny. Na tomto pozorování je založena představa o existenci tzv. cytokinové sítě, která je zodpovědná za komplexní účinky cytokinů. Z hlediska akutního zánětu patří k nejdůležitějším tzv. prozánětlivým cytokinům IL-1, IL-6, IL-8 a TNF- α . Prozánětlivé cytokiny představují mocnou, účelnou a cílenou odpověď určenou k obraně napadeného organismu a obnově tělesných funkcí k normálu. (6, 21)

1.2.2.1 Interleukin-1

Interleukin-1 (IL-1), který byl původně nazván endogenním pyrogenem, je zodpovědný, společně s TNF- α a IL-6, za řadu systémových projevů při sepsi a je

hlavním mediátorem zánětu. Pokud je v cirkulaci, působí podobně jako hormony na řadu vzdálených orgánů. Ovlivňuje růst a diferenciaci regulačních faktorů T a B lymfocytů, indukuje další cytokiny, především IL-2 a IL-6, a zvyšuje expresi adhezivních molekul na povrchu endoteliálních buněk. Je rovněž zodpovědný za zvýšení cytotoxicity a za chemotaxi monocytů/makrofágů. (7)

1.2.2.2 Interleukin-6

Interleukin-6 (IL-6) je zodpovědný za aktivaci hepatocytů, které pak následně produkují C-reaktivní protein a komplementový faktor C3. Jeho účinek je potencován IL-1 a TNF- α . IL-6 pak působí negativní zpětnou vazbou proti produkci nadměrného množství TNF- α . (7)

1.2.2.3 Interleukin-8

Interleukin-8 (IL-8) se uplatňuje především při aktivaci polymorfonukleárních leukocytů. Patří mezi chemokiny. (7)

1.2.2.4 Tumor necrosis factor - α

Tumor necrosis faktor- α (TNF- α) stimuluje polymorfonukleární leukocyty a endoteliální buňky k produkci cytokinů, zvyšuje expresi adhezivních molekul na buněčných membránách a metabolický obrat kyseliny arachinodonové. Pozitivní zpětnou vazbou zesiluje i vlastní produkci. Má také vliv na uvolňování faktoru aktivujícího trombocyty. TNF- α také inaktivuje lipoproteinovou lipázu, což je příčinou sérové hypertriglyceridémie u sepse. Způsobuje rovněž zvýšení produkce proteinů akutní fáze. (7)

1.2.3 Specifická imunita

Intenzita imunitní reakce při sepsi je rovněž ovlivněna charakterem antigenního podnětu. K nejvíce imunogenním antigenům patří vedle endotoxinu LPS (bakteriální lipopolysacharid) gramnegativních bakterií. LPS se váže pomocí sérového proteinu lipopolysacharid vázacího globulinu na CD14 receptor monocytů/makrofágů. Tímto mechanismem je zesílena interakce s cílovou buňkou. Obdobně peptidoglykan a lipoteichová kyselina grampozitivních bakterií, případně určité polysacharidy, extracelulární enzymy a toxiny spouštějí stejnou reakci. (6, 7, 14)

Specifická imunita se aktivuje později a zvláště tehdy, kdy nespecifická imunita nebyla schopna bakteriální infekci zvládnout. Předpokládá se, že k aktivaci specifické imunity nedochází u nemocných, kde bakteriální patogen je zlikvidován fagocytózou. Jestliže fagocytující buňky intracelulárně antigen nezlikvidují, dochází následně k jeho prezentaci na povrch těchto imunitních buněk. Centrální roli v procesu aktivace specifické imunity hrají monocyty/makrofágy. Monocyty/makrofágy jsou aktivovány působením C5a, TNF- α , IL-1 a komplexy Ag-Ab. Aktivace se projeví zvýšenou expresí molekul hlavního histokompatibilního systému (MHC) II. třídy. Na molekulách MHC II. třídy typ DR dochází k prezentaci bakteriálních antigenů, které jsou následně rozpoznávány imunokompetentními buňkami, především CD4 T lymfocyty. Bakteriální antigen je tak specifickou imunitou rozpoznán pouze ve vazbě na vlastní struktury, molekuly HLA-DR. Monocyty/makrofágy zde působí jako antigen prezentující buňky, na nichž díky vazbě molekul HLA-DR, bakteriálního antigenu a lymfocytární molekuly CD4 dochází ke spouštění specifických imunitních dějů. Předpokládá se, že výsledkem aktivace CD4 lymfocytů je u sepsi přechod těchto lymfocytů do terminální fáze, kdy se mění na subpopulaci Th2. Th2 subpopulace aktivuje B lymfocyty a stimuluje produkci imunoglobulinů. Aktivace B lymfocytů probíhá za spoluúčasti pomocných buněk, subpopulace Th2 lymfocytů, nebo přímou vazbou se silným antigenem. Výsledkem je produkce efektorových protilátek. Při sepsi se uplatní především protilátky opsonizující

mikroorganismy, neutralizující jejich produkty a vazbou na Fc-receptory fagocytujících buněk, zvyšující účinnost jejich fagocytózy především polymorfonukleárů. (6, 7, 14)

Zvláštní kapitolu tvoří pacienti s nezralým imunitním systémem nebo s imunodeficiencí nejrůznější etiologie. Novorozenci, zvláště předčasně narození, jsou velmi náchylní k infekčním komplikacím. To je zčásti podmíněno vlastnostmi fetoplacentární jednotky, přes kterou nepřestupuje IgM, nedostatek IgG ještě umocňuje rizika. Sama zánětlivá odpověď hraje významnou roli v etiopatogenezi předčasného porodu, novorozenecké mortalitě a závažné morbiditě. Příčinou může být i úbytek přirozené mikroflóry, kromě jiného i z důvodu antibiotické léčby. Na podmínkách pro rozvoj sepsí se podílejí též invazivní postupy v medicíně. (18)

1.3 Diagnostika sepse

Výše uvedené skutečnosti navozují potřebu včasné diagnózy sepse jak klinicky, tak laboratorně. Laboratorní testy mají význam tehdy, je-li odezva laboratoře rychlá a zároveň je vysoká senzitivita a specificita použitých laboratorních zkoušek. V běžném provozu hraje navíc roli i provozní a ekonomická náročnost provedení. (18)

Stanovení diagnózy sepse a vyloučení neinfekční etiologie systémové zánětlivé reakce SIRS může být velmi obtížné, a proto prvním krokem je vždy důkladné zvážení možných neinfekčních příčin stavu. Znalost stavů, které mohou vyvolat SIRS, je významným předpokladem úspěšného klinického zhodnocení nemocných. Neinfekční příčiny SIRS jsou např. poranění tkání, metabolické příčiny, příčiny související s léčbou, maligní onemocnění nebo neurologické příčiny. (5, 21)

1.3.1 Klinicko-biochemická vyšetření

U nemocných, kteří jsou hospitalizováni na ARO nebo jednotkách intenzivní péče chirurgických i nechirurgických oborů, je nutné sledovat řadu biochemických parametrů. K optimálnímu hodnocení biochemických parametrů je ovšem zapotřebí brát

v úvahu i anamnézu a klinický stav nemocného. Jedině v takovém širším kontextu bude informace, kterou klinicko-biochemické vyšetření poskytuje, využita spolehlivě a optimálně. (5, 21)

Mezi běžně vyšetřované biochemické parametry u pacientů se sepsí patří:

- pravidelný běžný screening - Na, K, chloridy, glykémie, urea, kreatinin, ALT, laktátémie, celkové bílkoviny, albumin, myoglobin
- C-reaktivní protein, prokalcitonin, AST
- clearance kreatininu - glomerulární filtrace a tubulární resorpce, cystatin, α_2 -mikroglobulin v moči
- hodinová diuréza, bilance tekutin, výdej iontů, urey, kreatininu diurézou
- moč chemicky, zejména obsah bílkoviny, urobilinogenu, glukózy, myoglobinu, močový sediment, odpad bílkovin, glukózy kvantitativně
- krevní plyny a parametry acidobazické rovnováhy, oxygenační index

(5, 12, 16, 21)

1.3.2 Ostatní laboratorní vyšetření

Kromě biochemických parametrů je zapotřebí vyšetřovat i další důležité parametry, jsou to:

Hematologické a hemokoagulační parametry:

- KO - hodnota hematokritu a hemoglobinu, počet leukocytů a jejich diferenciální procentuální i absolutní rozpočet, počet lymfocytů a trombocytů v opakovaných odběrech podle léčebného postupu a klinického vývoje
- APTT, PT, fibrinogen, AT, D – dimery
- event. tromboelastrografický obraz

Kultivační vyšetření:

- jsou odesílána ze suspektních oblastí s požadavkem okamžité mikroskopické diagnostiky a dále identifikace kmenů, určení jejich citlivosti, minimální inhibiční koncentrace, popř. hladiny antibiotik v séru, v mozkomíšním moku

Specifická vyšetření:

- HIV, HbsAg, sérologická vyšetření na lymeskou borreliózu, klostridiový toxin, hemokultury anaerobní a aerobní, kultivace z mozkomíšního moku apod.

(5, 12, 16, 21)

1.4 Terapie a prognóza sepse

Léčba pacientů v sepsi, těžké sepsi nebo v septickém šoku vyžaduje komplexní přístup, jehož základní součástí musí být snaha o účinnou kontrolu zdroje infekce. Stěžejním bodem léčby zůstává stále antimikrobiální terapie spolu s postupy chirurgické kontroly zdrojů infekce, tím se myslí drenáž abscesů, odstranění infikovaných cizích těles nebo nekrotizujících tkání. (5)

Detekce primárního zdroje infekce a jeho kontrola je nejdůležitější částí péče o nemocného se sepsí. Zdroj infekce se podaří určit až u 92% pacientů. Během posledních třiceti let došlo u nemocných se sepsí k zásadním změnám v relativní četnosti ložisek infekce. Dutina břišní a močové cesty byly nejčastější příčinou sepse (27%) ve studiích prováděných v šedesátých a sedmdesátých letech, výsledky prací z devadesátých let prokazují převahu plicních infekcí (36%), primární infekce krevního oběhu byly zaznamenány až ve 20%, infekce dutiny břišní a močového traktu byly na třetím a čtvrtém místě lokalizace ložisek sepse. (5)

Léčba budoucnosti bude pojata biochemicky a imunologicky. Začíná se používat řada postupů a farmak schopných modulovat zánětlivou reakci organismu. Některá farmaka se rutinně používají v jiných oblastech medicíny, jiná byla vyvíjena s předpokladem užití u nemocných se sepsí. (21)

Sepse je vždy spojena s různým stupněm orgánové dysfunkce, je tedy logické, že součástí komplexní léčebné strategie jsou i podpůrné postupy, které k vlastnímu septickému stavu nemají bezprostřední vztah. Přestože většina těchto podpůrných postupů byla ověřena v kontrolovaných klinických studiích, jen malá část byla ověřována na populaci nemocných v sepsi. Prevence a profylaxe hluboké žilní

trombózy, nutriční podpora a profylaxe stresových vředů jsou významné podpůrné postupy i v léčbě nemocných v sepsi. (5)

Při pozdním léčebném záchytu činí letalita sepse až 40%. Septický šok, jehož vyvolatelem jsou virulentní gramnegativní tyčky ve velkém množství v centrálním krevním řečišti, dosahuje letality více než 50%. (21)

2. CÍL PRÁCE A HYPOTÉZY

2.1 Cíl práce

Cílem mé práce je posoudit nejvhodnější rutinně použitelný marker s dostatečnou diagnostickou senzitivitou a specificitou pro časný záchyt rozvoje sepse a monitorování průběhu.

K analýze použiji séra od vybraného souboru pacientů z Nemocnice České Budějovice a.s..

Během studie vyšetřím dva laboratorní markery: Prokalcitonin, C-reaktivní protein a výsledky statisticky vyhodnotím.

2.2 Předpokládané hypotézy

Používání běžných markerů nemá dostatečnou diagnostickou senzitivitu pro časný záchyt sepse. Pro svou bakalářskou práci jsem si stanovila dvě hypotézy.

Hypotéza č.1: Prokalcitonin je marker s dostatečnou diagnostickou senzitivitou a specificitou pro časný záchyt sepse.

Hypotéza č.2: Prokalcitonin je výhodnější marker než C-reaktivní protein.

3. METODIKA

Teoretická část mé bakalářské práce je zaměřena na zpracování informací o sepsi, které jsem získala studiem dostupné literatury, časopisů a internetu.

Praktická část je zaměřena na sběr dat, účast při měření vzorků, porovnání těchto dat se závažností sepse a jejich statistické vyhodnocení.

3.1 Charakteristika zkoumaného souboru

Sledovaný soubor mé práce tvořila data pacientů z oddělení s intenzívní péčí z Nemocnice České Budějovice a.s.. Bylo vybráno 285 současných stanovení CRP a PCT ze souboru více jak 1855 měření rozdělených do tří skupin podle klinické závažnosti. Měřeními byly získány kvantitativní hodnoty prokalcitoninu a C-reaktivního proteinu.

Na studii u dětských pacientů z oddělení neonatologie byla převzata data též ze spřátelených pracovišť, a to kvantitativní hodnoty C- reaktivního proteinu a interleukinu-6.

3.2 Kvantitativní stanovení markerů

Do poloviny 90. let minulého století byl nejvíce používaným parametrem, který přispíval k určení diagnózy sepse, C-reaktivní protein, často používaný též k rozlišení bakteriální a virové etiologie. Od 90. let minulého století se začaly v této oblasti uplatňovat další markery – prokalcitonin a interleukin-6. (21)

3.2.1 C-reaktivní protein

CRP je nejznámější z proteinů akutní fáze o Mr 110 000-140 000, což je skupina proteinů, jejichž koncentrace v krvi se zvyšuje jako reakce na zánětlivá onemocnění. Je syntetizován v játrech. Je součástí imunologického obranného systému. Jako opsonin je

schopen klasicky aktivovat systém komplementu. Kromě toho váže C-polysacharid z pneumokoků. V klinické praxi je neužívanější. Je to parametr citlivý, ale nespecifický. Ke stimulaci sekrece CRP stačí poměrně malá zánětlivá reakce. Je indukován infekcí, zvláště bakteriální. Zvyšuje se při lokalizované infekci i při sepsi, méně při virových infekcích, ale i při rejekci štěpu, po operaci a dalších zánětlivých odpovědích či systémových onemocněních. CRP je normálně přítomen v nízké koncentraci v krvi zdravých jedinců. Dynamika jeho změn je rychlá, zvyšuje se již po 6 hodinách, přičemž vrcholu dosahuje po 48 hodinách. Patologické hodnoty často dosahují 100-200mg/l, ale vzácností nejsou ani hodnoty vyšší. Jen výjimečně je však dosahováno hodnot 400-450 mg/l. Vysoká senzitivita vede k tomu, že CRP dosahuje rychle maxima při sepsi i septickém šoku, a to znesnadňuje jednak vzájemné odlišení těchto stavů, jednak sledování průběhu. V nedávných studiích se prokázalo, že u zjevně zdravých jedinců je přímá korelace mezi koncentracemi CRP a rizikem vzniku kardiovaskulárních onemocnění. (8, 13, 21)

Koncentrace CRP byly stanovovány na analyzátoru ADVIA 1650 imunoturbidimetrickou metodou. Stanovení koncentrace CRP pomocí fotometrického měření je založeno na reakci antigen-protilátka mezi protilátkami proti lidskému CRP a CRP přítomným ve vzorku. Koncentrace CRP ve vzorku je odvozena z kalibrační křivky pomocí vhodného matematického modelu. Výsledek se udává v mg/l na 1 platné desetinné místo.

Referenční hodnoty CRP:

- Dospělí < 5 mg/l (hodnoty > 3 mg/l mohou predikovat riziko kardiovaskulárních onemocnění)
- Novorozenci starší 3 týdnů < 4,1 mg/l
- Kojenci a děti < 2,8 mg/l

3.2.2 Procalcitonin

PCT je bílkovina o 116 aminokyselinách s Mr 13 000, identická s prohormonem kalcitoninu. Ve zdraví je PCT produkován C-buňkami štítné žlázy. Zvyšuje se při sepsi i u nemocných po thyreoidektomii. V kritických stavech je zřejmě rozhodující produkce v játrech, zatímco jiné, dříve uvažované zdroje, jako neuroendokrinní buňky plic nebo monocyty, mají jen okrajový význam. Referenční hodnoty v plazmě či séru jsou menší než 0,5 µg/l. Hodnoty při sepsi bývají nad 10 µg/l, mohou ale dosahovat i více než 500 µg/l. Poločas PCT je asi 24 hodin a proto vykazuje stabilní dobře sledovaný průběh plazmatických hladin. Je dokázáno, že hladiny PCT narůstají včasné především u pacientů s bakteriální infekcí. Pro laboratorní diagnostiku je tedy PCT důležitým ukazatelem, který umožňuje specifické rozlišení mezi bakteriální infekcí a jinými příčinami zánětlivých reakcí. V určitých situacích, jako jsou polytraumata, popáleniny, velký chirurgický zásah, dlouhodobý kardiogenní šok, ale také u novorozenců může být zvýšení PCT nezávislé na napadení infekcí. Návrat k normálním hodnotám je obvykle velmi rychlý. Virové infekce, alergie, autoimunitní nemoci a odmítnutí transplantátu nevedou k významnému zvýšení PCT. Lokalizovaná bakteriální infekce může vést k mírnému nárůstu hladin PCT. (1, 8, 9, 10, 11, 13)

Na stanovení koncentrace PCT byl použit automatizovaný test VIDAS B·R·A·H·M·S PCT pro použití na přístroji mini VIDAS v lidském séru pomocí metody ELFA (Enzyme-Linked Fluorescent Assay). Princip analýzy kombinuje jednostupňovou sendvičovou metodu imunoanalýzy s konečným zjištěním pomocí imunofluorescence. Fluorescence se měří při 450 nm. Intenzita fluorescence je úměrná přítomnosti koncentrace antigenu ve vzorku. Po skončení testu analyzuje počítač výsledky automaticky za použití dvou kalibračních křivek. Koncentrace jsou vyjádřeny v ng/ml.

Referenční hodnoty PCT:

- koncentrace < 0,5 ng/ml představuje nízké riziko těžké sepse nebo septického šoku

- koncentrace > 2 ng/l představuje vysoké riziko těžké sepse nebo septického šoku

Přesto ani koncentrace $< 0,5$ ng/ml nevyklučují infekci kvůli možným lokálním infekcím, bez systémových symptomů, kterým mohou být připsány tyto nízké koncentrace, nebo kvůli systémové infekci v počátečním stádiu (< 6 hod). Dále se zvýšený PCT může objevit bez infekce. Koncentrace PCT mezi 0,5 a 2,0 ng/ml by měly být interpretovány s ohledem na pacientovu anamnézu. Pokud je koncentrace < 2 ng/ml doporučuje se PCT opakovaně testovat během 6-24 hodin.

3.2.3 Interleukin-6

IL-6 je jak dominantním cytokinem z hlediska širokého spektra účinků, tak nejdůležitějším cytokinem z hlediska klinického využití. Jeho syntéza je výrazně stimulována oběma typy cytokinů, jak prozánětlivými, tak protizánětlivými, ale i např. hypoxií. Maximální nástup syntézy, a tím i plazmatických koncentrací, je asi za 3-5 hodin a delší biologický poločas dovoluje jeho diagnostické využití. Není prvoliniovým prozánětlivým cytokinem, ale jeho účinky jsou ve výsledku pro makroorganismus příznivé. Je hlavním induktorem syntézy proteinů akutní fáze v hepatocytu, které zasahují všeobecně prospěšně v regulaci zánětu, stimuluje B-lymfocyty a tím protilátkovou odpověď. Diagnostická úloha IL-6 je důležitá v diagnostice neonatální infekce a sepse, kdy ještě nemusí být plně rozvinuta odpověď proteinů akutní fáze. (13, 19, 21)

IL-6 se na oddělení klinické biochemie v Nemocnici České Budějovice a.s. stanovuje na analyzátoru IMMULITE 2500 sekvenční enzymovou chemilumiscenční imumetrickou reakcí v pevné fázi. Výsledky se udávají v pg/ml.

Referenční hodnoty IL-6:

- koncentrace < 10 pg/ml (zvýšené koncentrace se vyskytují při různých onemocnění včetně sepsí)

3.3 Vlastnosti laboratorní metody z klinického hlediska

Pro správné hodnocení laboratorních výsledků je třeba znát nejen parametry analytické, ale i klinické vlastnosti. Některé klinické vlastnosti užívají stejný název, který známe u analytických vlastností, jde však o zcela jiné parametry, mající zde vztah ke stanovení diagnózy. (15)

Vyšetřované osoby mohou z hlediska přítomnosti určité nemoci patřit k jedné ze dvou populací: k nemocným nebo zdravým. Laboratorní test by měl mít za úkol tyto dvě skupiny od sebe oddělit. V ideálním případě by měl být pozitivní test u všech nemocných, zatímco všichni zdraví jedinci by měli mít test negativní. Převážná část testů však dává pozitivní výsledek i u malé části zdravých jedinců a určitý podíl nemocných má zase výsledek testu negativní. Z tohoto hlediska se vyšetřovaní jednotlivci rozdělují na čtyři subpopulace:

- nemocní s pozitivním testem (správná pozitivita = SP)
- nemocní s negativním testem (falešná negativita = FN)
- zdraví s negativním testem (správná negativita = SN)
- zdraví s pozitivním testem (falešná pozitivita = FP)

Na základě výsledků testu u těchto skupin vyšetřovaných osob rozlišujeme následující klinické vlastnosti laboratorních metod. (15)

3.3.1 Diagnostická senzitivita

Diagnostická senzitivita (citlivost) je definována jako podíl počtu nemocných s pozitivním testem a celkového počtu testovaných nemocných. (15)

Diagnostická senzitivita je tedy ukazatelem schopnosti metody odhalit nemoc, udává pravděpodobnost, že výsledek testu bude pozitivní, je-li vyšetřovaná osoba nemocná. Její hodnoty se pohybují od 0 do 1 (1-100%). Diagnosticky nejcennější testy mají samozřejmě nejvyšší citlivost. (15)

Senzitivita = nemocní s pozitivním testem (SP) / všichni nemocní (SP + FN)

3.3.2 Diagnostická specificita

Diagnostická specificita je definována jako podíl počtu zdravých osob s negativním testem a celkovému počtu testovaných jedinců. (15)

Diagnostická specificita je tedy měřítkem schopnosti vyloučit přítomnost nemoci, vyjadřuje pravděpodobnost negativního výsledku u zdravé osoby. Její hodnota se opět pohybuje v rozmezí 0-1 (0-100%) a i zde je žádoucí, aby metoda měla co největší specificitu. (15)

Specificita = zdraví s negativním testem (SN) / všichni zdraví (SN + FP)

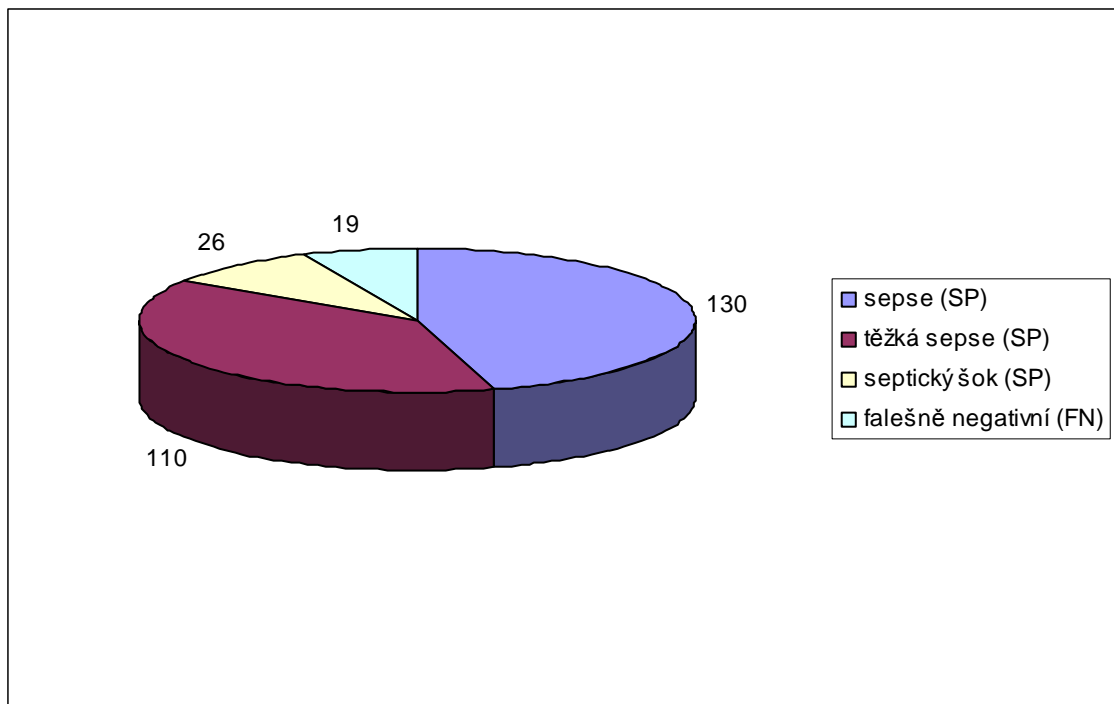
Diagnostická senzitivita se týká populace nemocných jedinců. Diagnostická specificita vyjadřuje výsledky metody ve vztahu ke zdravým jedincům. Protože však v praxi vyšetřujeme jak populaci zdravých osob, tak i nemocných osob nemůžeme tyto dvě vlastnosti laboratorní metody nikdy oddělit. (15)

4. VÝSLEDKY

4.1 Pacienti z oddělení s intenzivní péčí

Z víc jak 1855 měření prokalcitoninu a C-reaktivního proteinu jsem vybrala 285 výsledků od každého markeru. 266 výsledků jsem rozdělila do tří skupin podle závažnosti sepse. Další skupinu (19 výsledků) tvořili pacienti, kteří měli falešně negativní výsledky. Vše bylo zpracováno do tabulek a grafů.

Graf 1 znázorňuje složení souboru hospitalizovaných pacientů na oddělení s intenzivní péčí podle závažnosti sepse. U 130 pacientů byla diagnostikována sepse, u 110 pacientů těžká sepse a u 26 septický šok. 19 pacientů mělo také diagnostikovanou sepsi, ale výsledky měření PCT byly falešně negativní.



Zdroj: Vlastní výzkum

Graf 1: Soubor 285 vybraných pacientů

Tab. 1: PCT a CRP u pacientů v sepsi

	PROKALCITONIN	C-REAKTIVNÍ PROTEIN
Počet měření	130	130
Průměr	3,75	148,18
Směrodatná odchylka	5,27	84,1
Minimum	0,5	3,6
Maximum	33,7	375
Medián	2	145,7
Variační koeficient (%)	140,53	56,75

Zdroj: Vlastní výzkum

Tabulka 1 zobrazuje základní statistiku vyšetření PCT a CRP u pacientů, kteří měli diagnostikovanou sepsi.

Tab. 2: PCT a CRP u pacientů v těžké sepsi

	PROKALCITONIN	C-REAKTIVNÍ PROTEIN
Počet měření	110	110
Průměr	19,78	185,57
Směrodatná odchylka	27,22	99,2
Minimum	0,6	4,2
Maximum	179,6	444
Medián	10	170,95
Variační koeficient (%)	137,16	53,46

Zdroj: Vlastní výzkum

Tabulka 2 zobrazuje základní statistiku vyšetření PCT a CRP u pacientů, kteří měli diagnostikovanou těžkou sepsi.

Tab. 3: PCT a CRP u pacientů v septickém šoku

	PROKALCITONIN	C-REAKTIVNÍ PROTEIN
Počet měření	26	26
Průměr	159,25	258,62
Směrodatná odchylka	101,84	97,76
Minimum	21,6	74,8
Maximum	360,5	504
Medián	147,8	283,25
Variační koeficient (%)	63,95	37,80

Zdroj: Vlastní výzkum

Tabulka 3 zobrazuje základní statistiku vyšetření PCT a CRP u pacientů, kteří měli diagnostikován septický šok.

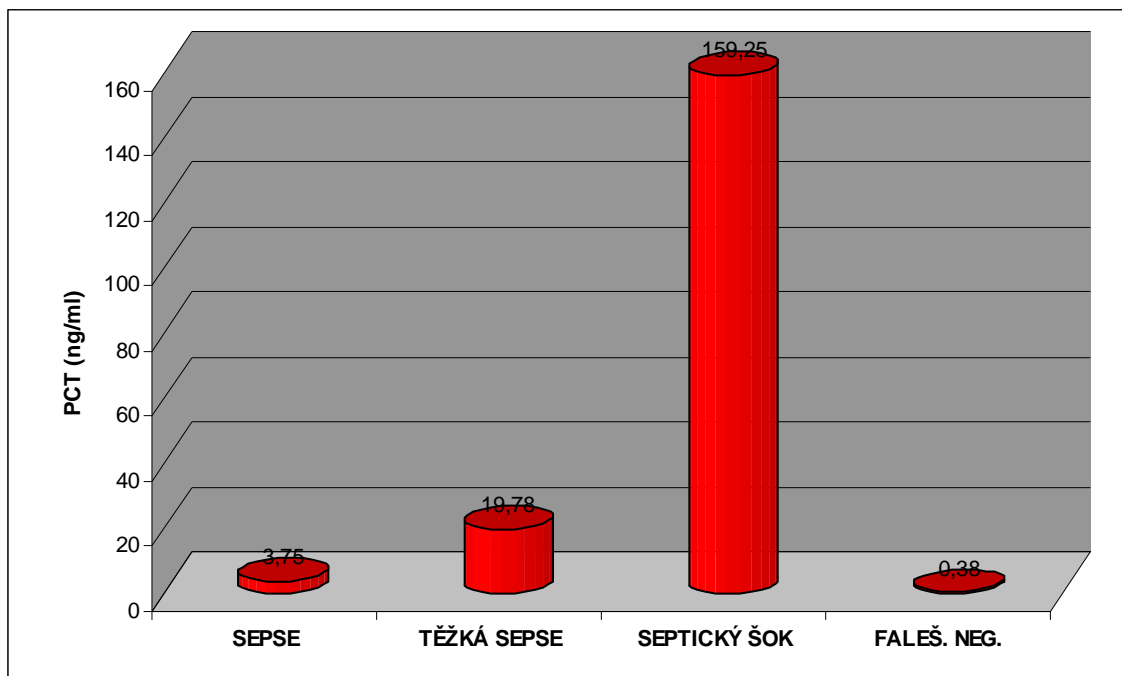
Tab. 4: Falešně negativní výsledky vyšetření PCT a CRP u pacientů v sepsi

	PROKALCITONIN	C-REAKTIVNÍ PROTEIN
Počet měření	19	19
Průměr	0,38	122,58
Směrodatná odchylka	1,13	60,98
Minimum	0,1	26,2
Maximum	0,5	239,2
Medián	0,4	109,5
Variační koeficient (%)	34,21	49,75

Zdroj: Vlastní výzkum

Tabulka 4 zobrazuje základní statistiku falešně negativních výsledků vyšetření PCT a CRP u pacientů, kteří měli také diagnostikovanou sepsi.

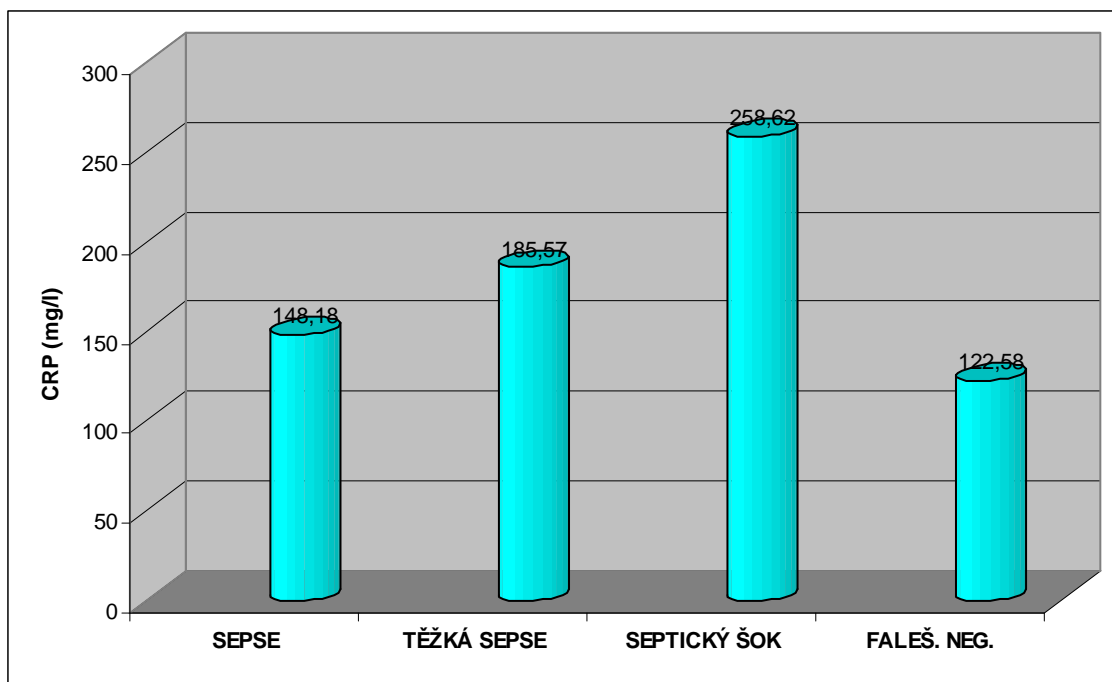
Graf 2 znázorňuje rozdíly mezi průměrnými hodnotami vyšetření PCT u jednotlivých skupin pacientů. Průměrná hodnota PCT u pacientů v sepsi byla 3,75, v těžké sepsi 19,78, v septickém šoku 159,25 a falešně negativní měli 0,38.



Zdroj: Vlastní výzkum

Graf 2: PCT u jednotlivých skupin pacientů

Graf 3 znázorňuje rozdíly mezi průměrnými hodnotami vyšetření CRP u jednotlivých skupin pacientů. Průměrná hodnota CRP u pacientů v sepsi byla 148,18, v těžké sepsi 185,57, v septickém šoku 258,62 a falešně negativní měli 122,58.



Zdroj: Vlastní výzkum

Graf 3: CRP u jednotlivých skupin pacientů

U tohoto vybraného souboru hospitalizovaných pacientů na oddělení s intenzívní péčí s diagnózou sepse byla vypočítána senzitivita PCT 93,3% při cut off 0,5 ng/ml.

Výpočet jsem provedla dosazením do vzorce pro výpočet senzitivity:

$$\text{Senzitivita} = \text{nemocní s pozitivním testem (SP)} / \text{všichni nemocní (SP + FN)}$$

$$\text{Senzitivita} = 266 / 266 + 19$$

$$\text{Senzitivita} = 266 / 285$$

$$\text{Senzitivita} = 0,933 \cdot 100$$

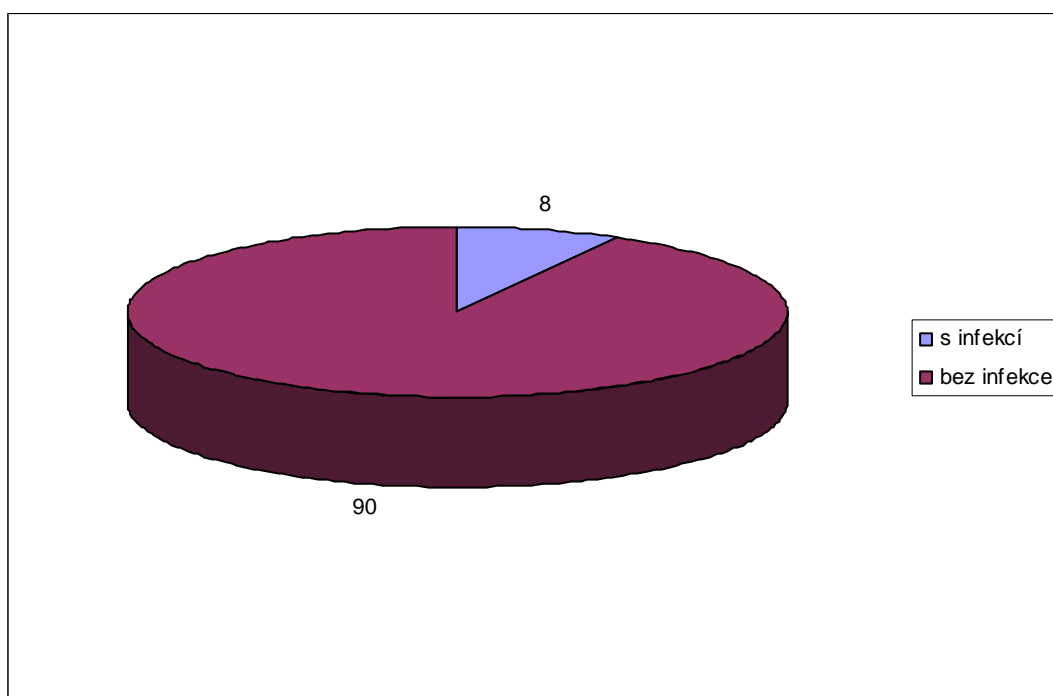
$$\text{Senzitivita} = \mathbf{93,3 \%}$$

Jednotlivé hodnoty dosazené do vzorce vycházejí z grafu 1.

4.2 Pacienti z oddělení neonatologie

Na studii u dětských pacientů z oddělení neonatologie byla získána též data ze spřátelených pracovišť. Jedná se o soubor dat 98 novorozenců s podezřením na časnou novorozeneckou infekci, u kterých byl stanovován Interleukin-6 a C-reaktivní protein a rozšířený soubor dat 204 novorozenců, u kterých byl stanovován pouze Interleukin-6. Novorozenci byli rozděleni do dvou skupin podle přítomnosti infekce. Data byla zpracována do tabulek a grafů.

Graf 4 znázorňuje složení souboru 98 novorozenců podle přítomnosti infekce. U 8 novorozenců byla infekce prokázána, 90 novorozenců bylo bez prokázané infekce.



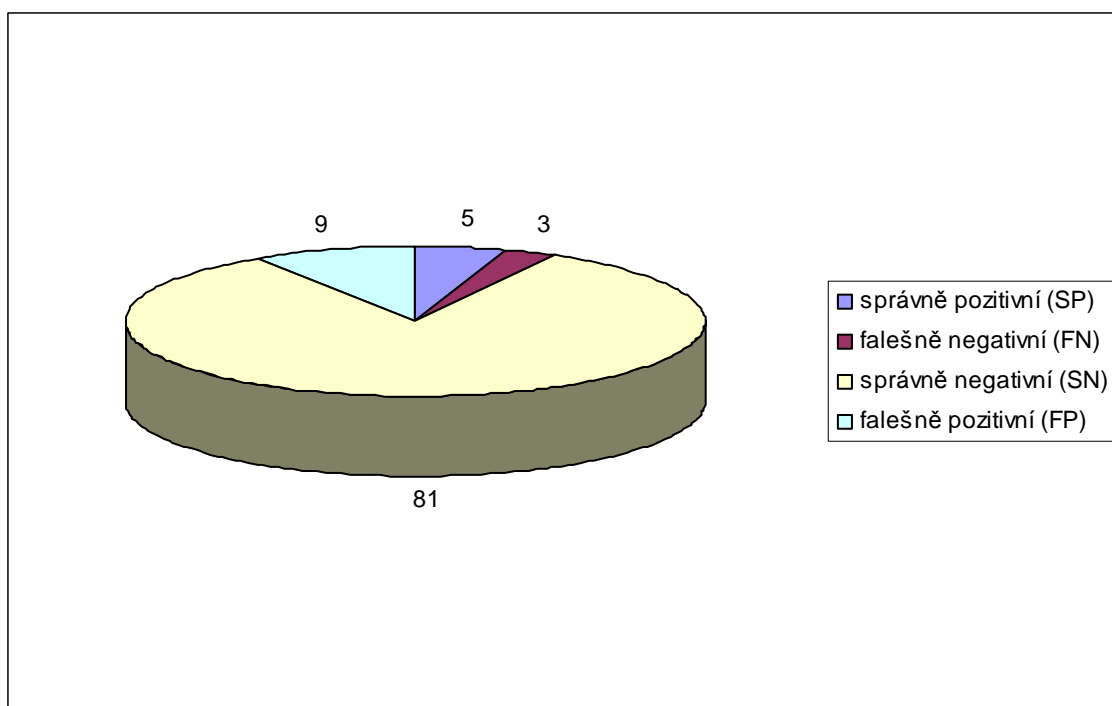
Graf 4: Soubor 98 novorozenců

Tab. 5: Vyšetření Interleukinu-6

	DĚTI S INFEKČÍ	DĚTI BEZ INFEKCE
Počet měření	8	90
negativní	1	81
> 50 (pg/ml)	2	5
> 100 (pg/ml)	0	1
> 150 (pg/ml)	5	3

Tabulka 5 zobrazuje jednotlivé počty novorozenců rozdělených podle výsledků měření IL-6.

Graf 5 znázorňuje rozdělení souboru 98 novorozenců podle správnosti laboratorních výsledků u vyšetření IL-6. 5 novorozenců s prokázanou infekcí mělo hodnotu IL-6 > 150 pg/ml a proto jsou označeni za správně pozitivní. Žádný novorozenec neměl hodnotu IL-6 > 100 pg/ml, 2 novorozenci měli hodnotu IL-6 > 50 pg/ml a 1 novorozenec negativní a prokázanou infekci. Proto jsou tyto 3 novorozenci označeni za falešně negativní. 81 novorozenců bez infekce mělo vyšetření IL-6 negativní, proto jsou označeni jako správně negativní. 5 novorozenců mělo vyšetření IL-6 > 50 pg/ml, 1 novorozenec > 100 pg/ml a 3 novorozenci > 50 pg/m, ale infekce u nich nebyla prokázána a proto jsou označeni jako falešně pozitivní.



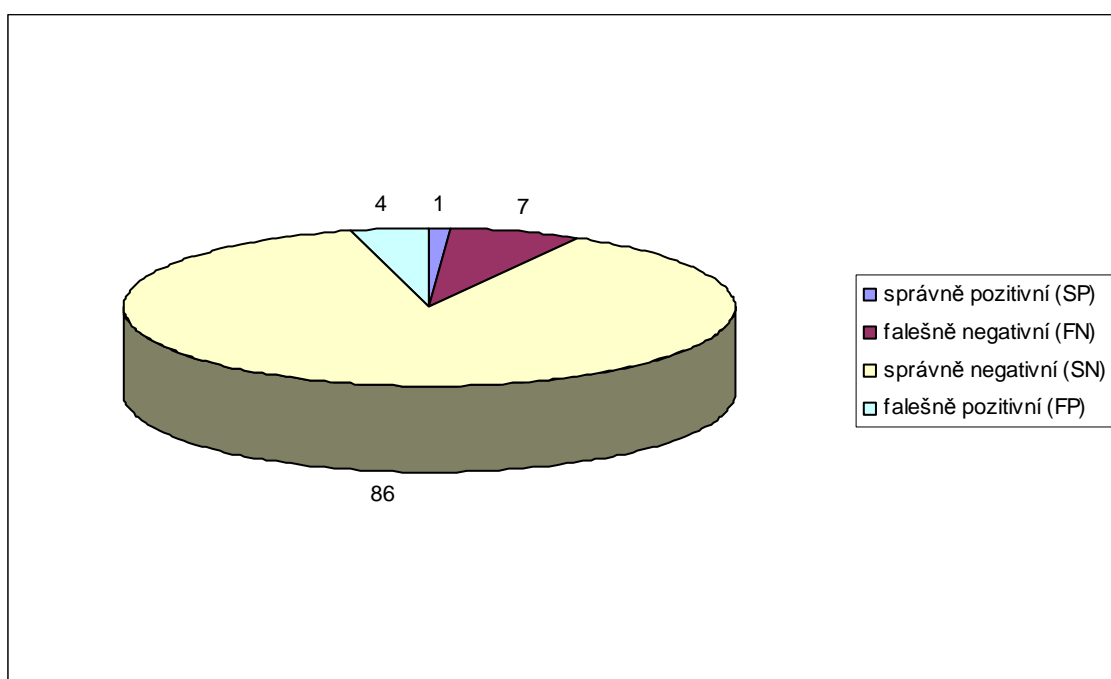
Graf 5: Rozdělení správnosti laboratorních výsledků IL-6

Tab. 6: Vyšetření C-reaktivního proteinu

	DĚTI S INFEKČÍ	DĚTI BEZ INFEKCE
Počet měření	8	90
negativní	6	86
> 5 (mg/l)	1	2
> 10 (mg/l)	1	2

Tabulka 6 zobrazuje jednotlivé počty novorozenců rozdělených podle výsledků měření CRP.

Graf 6 znázorňuje rozdělení souboru 98 novorozenců podle správnosti laboratorních výsledků u vyšetření CRP. 1 novorozenec s prokázanou infekcí mělo hodnotu CRP > 10 mg/l a proto je označen jako správně pozitivní. 1 novorozenec měl hodnotu CRP > 5 mg/l, 6 novorozenců mělo hodnotu CRP negativní a měli prokázanou infekci, proto jsou označeni jako falešně negativní. 86 novorozenců bez prokázané infekce mělo vyšetření CRP negativní, proto jsou označeni jako správně negativní. 2 novorozenci měli hodnotu CRP > 5 mg/l, 2 novorozenci > 10 mg/l, ale infekce u nich nebyla prokázána. a proto jsou označeni jako falešně pozitivní.



Graf 6: Rozdělení správnosti laboratorních výsledků CRP

U tohoto souboru 98 novorozenců s diagnózou časně novorozenecké sepse byla vypočítána senzitivita a specificita IL-6 při cut off 150 pg/ml a CRP při cut off 10 mg/l. Výpočty jsem provedla dosazením do vzorce pro výpočet senzitivity a specificity:

Senzitivita = nemocní s pozitivním testem (SP) / všichni nemocní (SP + FN)

Specifická = zdraví s negativním testem (SN) / všichni zdraví (SN + FP)

$$\text{Senzitivita IL-6} = 5 / 5 + 3$$

$$\text{Senzitivita IL-6} = 5 / 8$$

$$\text{Senzitivita IL-6} = 0,625 \cdot 100 = 62,5 \%$$

$$\text{Specifická IL-6} = 81 / 81 + 9$$

$$\text{Specifická IL-6} = 81 / 90$$

$$\text{Specifická IL-6} = 0,9 \cdot 100 = 90 \%$$

$$\text{Senzitivita CRP} = 1 / 1 + 7$$

$$\text{Senzitivita CRP} = 1 / 8$$

$$\text{Senzitivita CRP} = 0,125 \cdot 100 = 12,5 \%$$

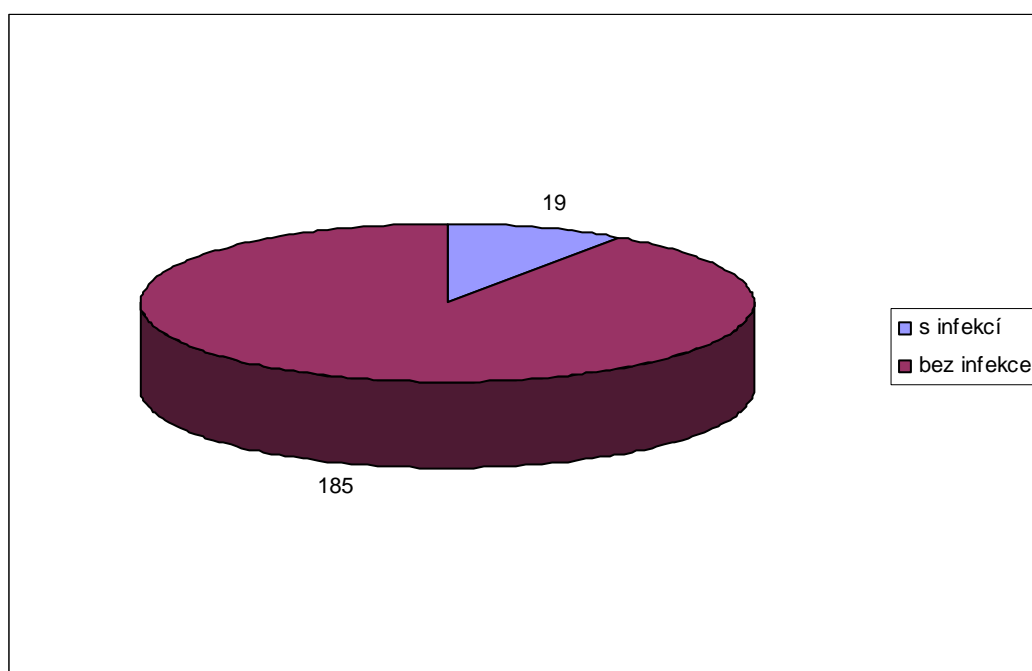
$$\text{Specifická CRP} = 86 / 86 + 4$$

$$\text{Specifická CRP} = 86 / 90$$

$$\text{Specifická CRP} = 0,955 \cdot 100 = 95,5 \%$$

Jednotlivé hodnoty dosažené do vzorců vycházejí z grafu 5 a grafu 6.

Graf 7 znázorňuje složení souboru 204 novorozenců podle přítomnosti infekce. U 19 novorozenců byla infekce prokázána a 185 novorozenců bylo bez prokázané infekce.



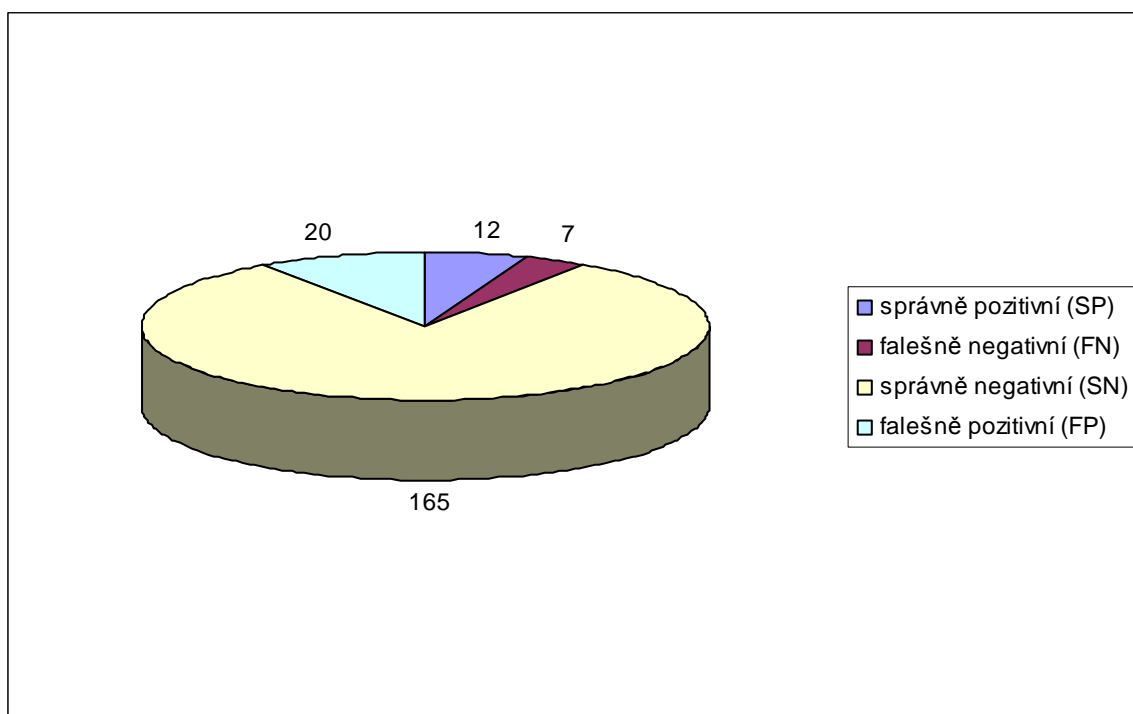
Graf 7: Soubor 204 novorozenců

Tab.7: Samotný Interleukin-6

	DĚTI S INFEKČÍ	DĚTI BEZ INFEKCE
Počet měření	19	185
negativní	2	165
> 50 (pg/ml)	4	11
> 100 (pg/ml)	1	3
> 150 (pg/ml)	12	6

Tabulka 7 zobrazuje jednotlivé počty novorozenců rozdělených podle výsledků měření IL-6. U této skupiny novorozenců se CRP již nestanovoval.

Graf 8 znázorňuje rozdělení souboru 204 novorozenců podle správnosti laboratorních výsledků u vyšetření samotného IL-6. 12 novorozenců s prokázanou infekcí mělo hodnotu IL-6 > 150 pg/ml a proto jsou označeni jako správně pozitivní. 1 novorozenec měl hodnotu IL-6 > 100 pg/ml, 4 novorozenci > 50 pg/ml, 2 novorozenci negativní, ale prokázanou infekci. Proto jsou označeni jako falešně negativní. 165 novorozenců bez prokázané infekce mělo hodnotu IL-6 negativní a proto jsou označeni jako správně negativní. 11 novorozenců mělo hodnotu IL-6 > 50 pg/ml, 3 novorozenci > 100 pg/ml, 6 novorozenců > 150 pg/ml, ale infekce u nich nebyla prokázána a proto jsou označeni jako falešně pozitivní.



Graf 8: Rozdělení správnosti laboratorních výsledků samotného IL-6

U tohoto souboru 204 novorozenců s diagnózou časně novorozenecké sepsy byla také vypočítána senzitivita a specificita samotného IL-6 při cut off 150 pg/ml.

$$\text{Senzitivita} = 12 / 12 + 7$$

$$\text{Senzitivita} = 12 / 19$$

$$\text{Senzitivita} = 0,632 \cdot 100 = 63,2 \%$$

$$\text{Specificita} = 165 / 165 + 20$$

$$\text{Specificita} = 165 / 185$$

$$\text{Specificita} = 0,892 \cdot 100 = 89,2 \%$$

Jednotlivé hodnoty dosazené do vzorců vycházejí z grafu 8.

5. DISKUSE

V poslední době přibývá prací zabývajících se sledováním C-reaktivního proteinu (CRP) a prokalcitoninu (PCT) k odlišení stavů, které se mohou chovat jako sepse. CRP patří k tzv. proteinům akutní fáze. Úloha PCT v patogenezi sepse není zcela objasněna. Zvýšené hladiny CRP bývají nalezeny u bakteriálních infekcí, nicméně řada dalších prací prokazuje vzestup CRP i u neinfekčních stavů. Zvýšené hladiny PCT bývají nalezeny u nemocných s bakteriální infekcí v porovnání s pacienty s virovou infekcí. Další práce prokazují zvýšené hladiny PCT jako poměrně spolehlivý ukazatel rozvoje nekrózy u pacientů s pankreatitis, rozvoje bakteriální či mikotické infekce u popálenin a rozvoje sepse a orgánové dysfunkce u nemocných s traumaty.

Tradiční ukazatele přítomnosti infekce, jako je např. zvýšený počet neutrofilů, postrádají dostatečnou senzitivitu, nicméně mohou mít určitý prognostický význam. Sledování hladin PCT a CRP se považuje v současné době za jednoduché z pohledu dostupnosti a snadnosti metody a umožňuje odlišení infekce od jiných příčin zánětlivé odpovědi. Hladiny PCT a CRP dobře korelují s intenzitou zánětlivé odpovědi a mají význam při sledování účinnosti nasazené terapie. Podle (5) se PCT jeví výhodnější v porovnání s CRP v rychlosti nástupu změn jak v úvodu zánětlivé odpovědi, tak při jejím odeznívání. Jako nevýhodu uvádí vyšší cenu. U CRP > 50 mg/l uvádí senzitivitu 98,5% a specificitu 75% při odlišení tzv. pravděpodobné nebo jednoznačné sepse. PCT > 1.5 ng/ml vykazuje u nemocných v intenzivní péči 100% senzitivitu a 72% specificitu. V mé práci u vybraného souboru pacientů z oddělení s intenzivní péčí s diagnózou sepse mi vyšla hodnota senzitivity u PCT 93,3% při cut off 0,5 ng/ml a specificita byla odhadnuta z validovaného souboru a převzatých dat na přibližně 80%. Hodnoty senzitivity a specificity u CRP jsem nestanovovala z důvodu velmi heterogenního souboru pacientů z pohledu dalších onemocnění.

Průměrná hodnota koncentrace PCT u pacientů v sepsi mi vyšla 3,75 ng/ml, u pacientů v těžké sepsi 19,78 ng/ml a u pacientů v septickém šoku 159,25 ng/ml. Průměrná hodnota koncentrace CRP u pacientů v sepsi mi vyšla 148,18 mg/l, u pacientů

v těžké sepsi 185,52 mg/l a u pacientů v septickém šoku 258,62 mg/l. Koncentrace PCT se statisticky významně lišily mezi jednotlivými skupinami pacientů. U CRP nebyl mezi jednotlivými skupinami vykázan statisticky významný rozdíl. Tento výsledek mi prakticky vyšel stejný, jak je uvedeno ve studii (13).

Při posuzování svých výsledků jsem došla k závěru, že u pacientů s prokázaným infekčním agens je PCT vhodnější marker pro záchyt sepse, díky své rychlejší dynamice nárůstu a odpovědi na infekčního původce, než CRP, který se nachází zvýšený u mnoha, nejen bakteriálního, poškození organismu. Rovněž si myslím, že pro další monitorování pacientů s diagnostikovanou sepsí a zahájenou úspěšnou léčbou by mohlo stačit sledování dynamiky CRP, i z důvodu ekonomického. Stanovení CRP laboratoř přijde na minimální náklady, desítky korun, zatímco při stanovení PCT jsou náklady mnohem vyšší, až několik stovek korun. Záleží také na režimu vyšetření, zda je v sérii či samostatně.

Vedle pacientů z oddělení s intenzivní péčí jsem se zabývala také pacienty z oddělení neonatologie. Potřebná data pro porovnání jsem získala z oddělení neonatologie z Nemocnice České Budějovice a.s.. U nezralých novorozenců klesá senzitivita PCT u sepse asi díky nezralosti jater a imunitního systému, proto se jeví podle zkušeností získaných v Nemocnici České Budějovice a.s. a převzatých ze spřátelených pracovišť vhodnější místo PCT stanovit Interleukin-6 (PCT při cut off 0,5 ng/ml má senzitivitu 76% při specificitě 52% - převzato ze studie). K dispozici jsem měla dvě skupiny novorozenců. U první skupiny, kterou tvořilo 90 novorozenců bez prokázané infekce a 8 novorozenců s prokázanou infekcí byly stanoveny hodnoty jak IL-6, tak i CRP. U druhé skupiny, která byla tvořena 185 novorozenci bez prokázané infekce a 19 novorozenci s prokázanou infekcí byly stanoveny pouze hodnoty IL-6, protože z dalších výzkumů na oddělení neonatologie v Nemocnici České Budějovice a.s. usoudili, že postačující pro diagnostiku sepse z pupečnickové krve je stanovení pouze IL-6. Z dat, která jsem měla k dispozici, vypočetla jsem senzitivitu a specificitu jednotlivých markerů. Výsledky jsou následující: Senzitivita IL-6 u první skupiny novorozenců mi vyšla 62,5%, u druhé skupiny 63%. Specificita IL-6 u první skupiny

novorozenců vyšla 90% a u druhé 89%. Hodnota senzitivity CRP byla 12,5% a specificity 96,9%.

Ve vztahu k senzitivě a specificitě jednotlivých markerů dospěla jsem k závěru, že více senzitivní marker pro stanovení časně novorozenecké sepse je Interleukin-6, proto stačí pouze jeho stanovení.

6. ZAVĚR

Cílem mé práce bylo posoudit nejvhodnější marker s dostatečnou senzitivitou a specificitou pro časný záchyt sepse. U pacientů z oddělení s intenzivní péčí byly porovnány dva markery: Prokalcitonin a C-reaktivní protein. Z výsledků vyplynulo, že PCT je vhodnější marker pro diagnózu sepse a CRP postačující pro další monitorování průběhu a úspěšné léčby nemocných v sepsi. Nejlepší je tedy tyto markery vhodně kombinovat. U pacientů z oddělení neonatologie byly porovnány Interleukin-6 a C-reaktivní protein. Z výsledků této studie jednoznačně vyplývá, že vhodnější marker pro diagnostiku časně novorozenecké sepse je IL-6.

Hypotéza č.1, že PCT je marker s dostatečnou senzitivitou a specificitou pro časný záchyt sepse byla potvrzena. Hypotéza č.2, že PCT je výhodnější než CRP se však nepotvrdila, to se mění s ohledem na fázi onemocnění a nelze paušalizovat. U skupiny pacientů z neonatologie je prokazatelně výhodnější než PCT stanovení IL-6.

Závěrem bych chtěla ještě zmínit, že senzitivita a specificita se jednotlivých použitých markerů pro sepsi mění podle druhu onemocnění či úrazu, které jsou sepsí komplikovány a dále časováním odběrů. Toto však nebylo předmětem detailního zkoumání mé práce.

7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- (1) **BOČEK, Stanislav** *Prokalcitonin* [online]. [cit. 2008-03-20]. Dostupné z <<http://www.bnzlin.cz/oddeleni/ikipvz/dokument/vdownload.php?file=Prokalcitonin.ppt>>.
- (2) **BOLDIŠ, Petr** *Bibliografické citace dokumentů podle ČSN ISO 690 a ČSN ISO 690-2 (01 0197): Část 1 – Citace, metodika a obecná pravidla* [online]. Verze 3.3. Poslední aktualizace 11.11.2004. [cit. 2008-05-05]. Dostupné z <<http://www.boldis.cz/citace/citace1.pdf>>.
- (3) **BOLDIŠ, Petr** *Bibliografické citace dokumentů podle ČSN ISO 690 a ČSN ISO 690-2: Část 2 – Modely a příklady citací u jednotlivých typů dokumentů* [online]. Verze 3.0. Poslední aktualizace 11.11.2004. [cit. 2008-05-05] Dostupné z <<http://www.boldis.cz/citace/citace2.pdf>>.
- (4) **ČESKO – SLOVENSKÉ FÓRUM PRO SEPSI** [online]. 10 09 2007. [cit. 2008-01-15]. Dostupné z <<http://www.csfps.cz/index.html>>.
- (5) **ČERNÝ, Vladimír, a kol.** *Sepse v intenzivní péči. Vybraná doporučení v diagnostice a terapii*. 2. rozšířené vydání. Praha: Maxdorf, 2005, 212 str. ISBN 80-7345-054-1
- (6) **GUTVIRTH Jaroslav** *Na začátku sepse jsou receptory (minireview)*. Klin. Mikrobiol. Inf. Lék., 2000, ročník 6, číslo 8, str. 238-241.
- (7) **HOLUB, Michal** *Imunologické aspekty sepse*. Klin. Mikrobiol. Inf. Lék., 1998, ročník 4, číslo 7, str. 200-204.

- (8) **KAZDA, Antonín a kol.** *Prokalcitonin u kriticky nemocných.* Klin. Biochem. Metab., 2005, ročník , číslo 1, str. 4-9.
- (9) **MARUNA, Pavel** *Prokalcitonin.* 1. vydání. Praha: Triton, 2003, 140 str.
ISBN 80-7254-410-1
- (10) **MEISNER, Michael** *Procalcitonin (PCT): A new, innovative infection parameter; biochemical and clinical aspects.* 3. vydání. Stuttgart, New York: Tyjeme, 2000, 196 str.
ISBN 3-13-105503-0
- (11) **NOVÁK, Ivan** *Prokalcitonin, časná diagnostika sepse a léčba antibiotiky.* Anest. Intenziv. Med., 2006, ročník 17, číslo 3, str. 135-136.
- (12) **PRŮCHA, Miroslav** *Imunologie sepse* [online]. 06.04.2007. [cit. 2007-05-14].
Dostupné z <http://imunologie.if2.cuni.cz/soubory_vyuka/cz_medici5_5.pdf>.
- (13) **PRŮCHA, Miroslav, a kol.** *Srovnání prokalcitoninu, interleukinu-6 a C-reaktivního proteinu v diferenciální diagnostice pacientů JIP se syndromem sepse.* Vnitř. Lék., 2003, ročník 49, číslo 7, str. 541-547.
- (14) **PRŮCHA, Miroslav, DOSTÁL, Miroslav, KAVKA, Bohumil** *Sepse a poruchy imunitních funkcí.* Alergie, 2000, ročník 2, číslo 5, str. 172-174.
- (15) **RACEK, Jaroslav a kol.** *Klinická biochemie.* 2. přepracované vydání. Praha: Galén, 2006, 329 str.
ISBN 80-7262-324-9

(16) **SEPSE** [online]. 22.10.2006. [cit. 2008-03-06].

Dostupné z <<http://wiki.medik.cz/wiki/sepse>>.

(17) **UČEBNÍ TEXT** [online]. [cit. 2008-03-12].

Dostupné z <<http://old.if3.cuni.cz/ustavy/mikrobiologie/horsta/pdf/infekce.pdf>>.

(18) **VERNER, Miroslav, a kol.** *Stanovení parametrů zánětlivé odpovědi v urgentní diagnostice – důvody požadavků a současné možnosti.* Edukační přednáška, 2006.

(19) **VERNER, Miroslav, a kol.** *Zkušenosti s IL-6 jako časným ukazatelem perinatální infekce.* Edukační přednáška, 1998.

(20) **VOTAVA, Miroslav, ONDROVČÍK, Petr** *Vybrané kapitoly z klinické mikrobiologie.* 1. vydání. Brno: Lékařská fakulta, 2002, 90 str.

ISBN 80-210-1805-4

(21) **ZIMA, Tomáš** *Laboratorní diagnostika.* 2. doplněné a přepracované vydání. Praha: Galén, Karolinum, 2002, 2007, 906 str.

ISBN 978-80-7262-372-3 (Galén)

ISBN 978-80246-1423-6 (Karolinum)

8. KLÍČOVÁ SLOVA

C-reaktivní protein

Interleukin-6

Marker

Prokalcitonin

Senzitivita

Sepse

Specificita

9. PŘÍLOHY

9.1 Seznam příloh

Příloha č.1: Hodnoty měření PCT a CRP pacientů v sepsi.

Příloha č.2: Hodnoty měření PCT a CRP pacientů v těžké sepsi.

Příloha č.3: Hodnoty měření PCT a CRP pacientů v septickém šoku.

Příloha č.4: Falešně negativní hodnoty měření PCT a CRP pacientů v sepsi.

Příloha č.1: Hodnoty měření PCT a CRP pacientů v sepsi.

	PCT (ng/ml)	CRP (mg/l)
1	33,7	195,2
2	27,4	37,7
3	24,6	177,7
4	23,7	278,4
5	19,3	109,6
6	17,4	136,8
7	11,5	115,4
8	10,6	41,5
9	10	216,2
10	10	5,6
11	9,6	205
12	8,7	194,3
13	8,6	273,5
14	7,4	132,2
15	6,9	140,7
16	6,9	125,6
17	6,9	91,9
18	6,9	20,2
19	6,8	117,9
20	6,5	269
21	6,4	152,4
22	6,4	148,5
23	6,3	47,5
24	5,3	257,5
25	5,3	170,8
26	4,7	180
27	4,7	98

28	4,3	50,7
29	4,2	180,3
30	4,2	130,6
31	4,2	6,6
32	4	315,4
33	4	144,8
34	4	163,6
35	3,8	182,3
36	3,8	105,6
37	3,7	105,8
38	3,6	152,2
39	3,5	220,2
40	3,4	196,8
41	3,4	142,8
42	3,4	87,3
43	3,4	3,6
44	3,2	183,9
45	3,2	95,9
46	3	160,3
47	2,9	260,4
48	2,9	124,4
49	2,8	208,1
50	2,6	186,9
51	2,6	17,9
52	2,5	351
53	2,4	202,8
54	2,3	217,5
55	2,2	178,6
56	2,2	66,3

57	2,1	178,9
58	2,1	65,8
59	2	277,5
60	2	244,2
61	2	241,8
62	2	241,7
63	2	238,2
64	2	226,9
65	2	210,7
66	2	179,6
67	2	163,4
68	2	146,6
69	2	84,5
70	2	59,4
71	2	48,6
72	2	46,5
73	1,9	105,9
74	1,8	18,2
75	1,7	337
76	1,7	187,4
77	1,6	228,9
78	1,6	151,2
79	1,6	143,5
80	1,6	65,6
81	1,6	21,8
82	1,5	29,7
83	1,4	312
84	1,4	101,4
85	1,4	11,1

86	1,3	263,7
87	1,3	97,6
88	1,2	219
89	1,2	187,9
90	1,2	90,2
91	1,2	83,2
92	1,1	375
93	1,1	232,7
94	1	237,1
95	1	203,4
96	1	146,9
97	1	92,4
98	1	67,1
99	0,9	260,3
100	0,9	137,3
101	0,9	111,5
102	0,9	79,6
103	0,8	204,6
104	0,8	174,7
105	0,8	157,7
106	0,8	108,9
107	0,8	103,9
108	0,8	100,1
109	0,8	23,8
110	0,7	265,1
111	0,7	122,9
112	0,7	99,2
113	0,6	307
114	0,6	206,4

115	0,6	192,4
116	0,6	165,4
117	0,6	130,7
118	0,6	46,7
119	0,6	36
120	0,6	27,9
121	0,5	239,7
122	0,5	235,9
123	0,5	220,6
124	0,5	172,6
125	0,5	91,2
126	0,5	86,2
127	0,5	80,2
128	0,5	38,7
129	0,5	10,5
130	0,5	6,3

Zdroj: Vlastní výzkum

Příloha č.2: Hodnoty měření PCT a CRP pacientů v těžké sepsi.

	PCT (ng/ml)	CRP (mg/l)
1	179,6	299,7
2	106,2	112,8
3	99,5	216,1
4	98,4	140,6
5	92	373
6	89,8	4,2
7	74,9	87,1
8	69,6	52
9	58	177,9
10	58	134,9
11	52,2	327
12	43,9	144,2
13	43,6	292
14	42,8	402
15	38,6	152,7
16	35,6	337
17	33,5	268,3
18	31,8	224,3
19	31	118,9
20	30,9	31,9
21	30,8	169,9
22	25,8	246,4
23	25,5	160,6
24	24,1	253,1
25	23,8	57,8
26	23,7	209,2
27	21,6	148,9

28	21,3	225,3
29	18,9	313
30	18,7	237,7
31	18,2	123
32	17,7	72,1
33	16,7	195,3
34	16,4	287,8
35	15,8	178,5
36	15,7	124,1
37	15,5	231,9
38	15,4	293,6
39	15,3	204,6
40	14,6	318
41	14,5	116,6
42	13,8	81,8
43	13,4	282,7
44	13,3	258,9
45	13,2	174,8
46	12,8	305
47	12,7	84,4
48	12,4	55,3
49	10,6	119,2
50	10,3	78,9
51	10,2	59,6
52	10	425
53	10	370
54	10	318,3
55	10	293
56	10	172

57	10	141,1
58	10	132,8
59	10	128
60	10	123,7
61	10	120
62	10	101,9
63	10	99,8
64	10	98,5
65	10	64,5
66	10	23,4
67	10	15
68	9,3	297
69	8,6	111,3
70	8,3	444
71	8,3	247,2
72	8,3	59,6
73	7,9	173,6
74	7,4	327
75	7,4	274,6
76	7,3	186,7
77	6,3	140
78	6,2	183,5
79	6,1	258,7
80	5,9	212,4
81	5,5	251,8
82	5	83,8
83	4,6	237,4
84	4,3	136,7
85	3,8	88,4

86	3,7	124,6
87	3,3	139,8
88	3,3	88,3
89	3,2	238,2
90	3,2	32,7
91	3,1	116,9
92	2,7	60,2
93	2,5	379
94	2,5	265,7
95	2,2	161,4
96	2,1	115,1
97	2	308
98	2	197,9
99	2	142,9
100	2	130,5
101	2	106,6
102	1,8	243
103	1,8	225,4
104	1,7	272,8
105	1,3	218
106	1,2	100,9
107	0,9	56,5
108	0,6	345
109	0,6	278,7
110	0,6	159,6

Zdroj: Vlastní výzkum

Příloha č.3: Hodnoty měření PCT a CRP pacientů v septickém šoku.

	PCT (ng/ml)	CRP (mg/l)
1	360,5	74,8
2	355,1	504
3	331,7	326
4	312,8	150,6
5	268,7	215,8
6	250,5	213,3
7	241,5	410
8	191,9	203,1
9	191,3	296
10	162,7	298,8
11	161,9	372
12	157,8	241,5
13	151,5	262,7
14	144,1	111,9
15	140,8	288,6
16	114,7	181
17	109,3	75,2
18	100,1	161,3
19	73,7	208,2
20	69,9	286,3
21	66,3	337
22	52,3	340
23	48,4	300
24	36,6	296,6
25	24,9	289,3
26	24,6	280,3

Zdroj: Vlastní výzkum

Příloha č.4: Falešně negativní hodnoty měření PCT a CRP pacientů v sepsi.

	PCT (ng/ml)	CRP (mg/l)
1	0,1	168,5
2	0,2	93,1
3	0,2	55,3
4	0,2	26,2
5	0,3	153
6	0,3	109,5
7	0,3	74,9
8	0,4	184,1
9	0,4	77,3
10	0,4	67,3
11	0,5	239,2
12	0,5	214,6
13	0,5	208,4
14	0,5	175,9
15	0,5	134,7
16	0,5	127,8
17	0,5	94,3
18	0,5	86,2
19	0,5	38,7

Zdroj: Vlastní výzkum