

Novorozenecká sepsa a její diagnostická úskalí

Jan Hálek, Anna Medková

Novorozenecké oddělení a Dětská klinika FNO

Diagnostické problémy

- Klasická definice – **SIRS** + **průkaz** původce (hemokultura)
- **SIRS – kritéria** – (2005 IPSCC)(2/4)
 - T nad 38,5 nebo pod 36st
 - Leukocytoza nebo leukopenie nebo nad 10% nezr.
 - Tachykardie nebo bradykardie nad 1 / 2hod
 - Tachypnoe nebo UPV
- **SIRS kritéria – nezachytí 2/3 termínových a 1/3 předč. narozených dětí s EOS (hemokultura+)**

(Hofer et all. 2010)

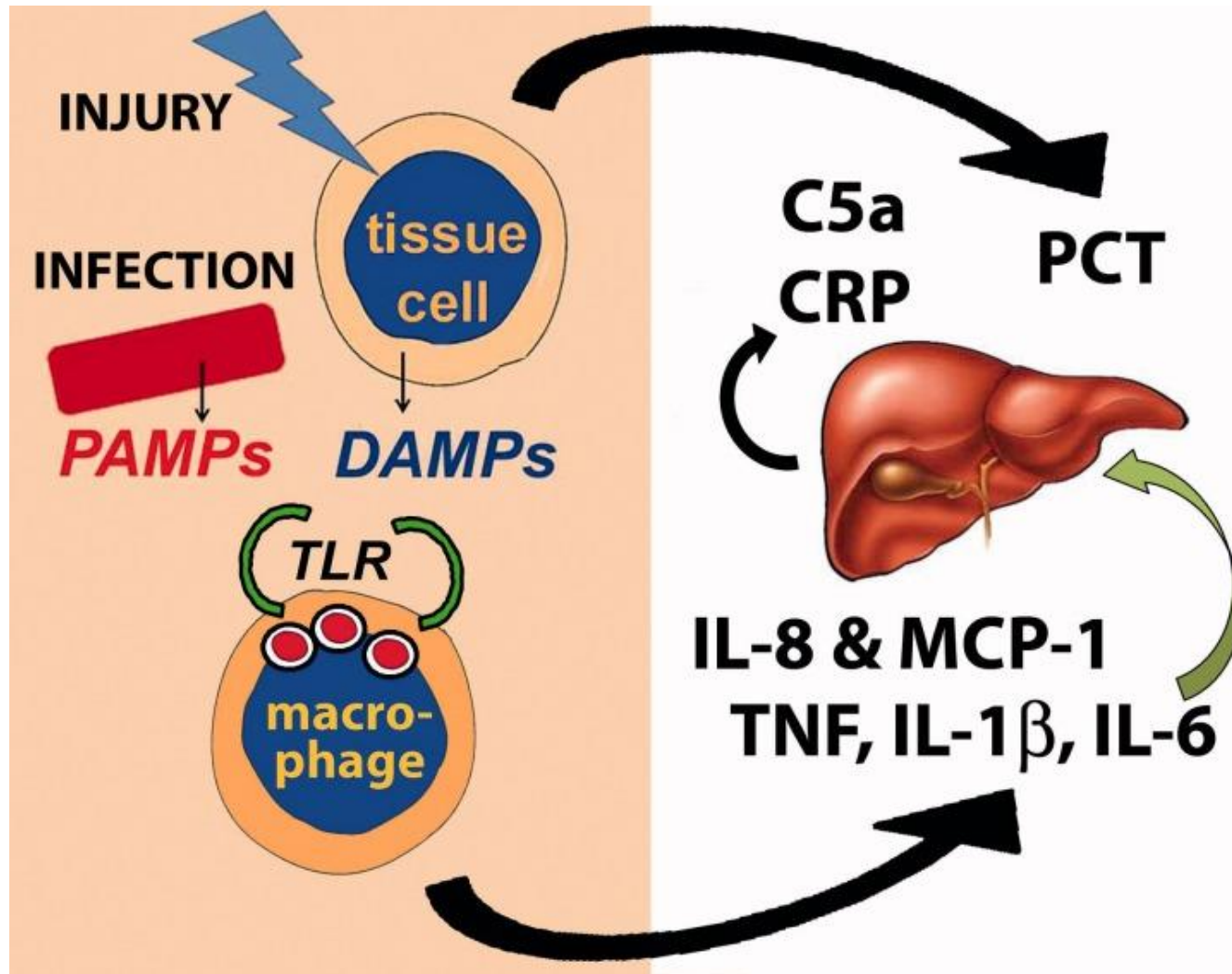
Diagnostické problémy

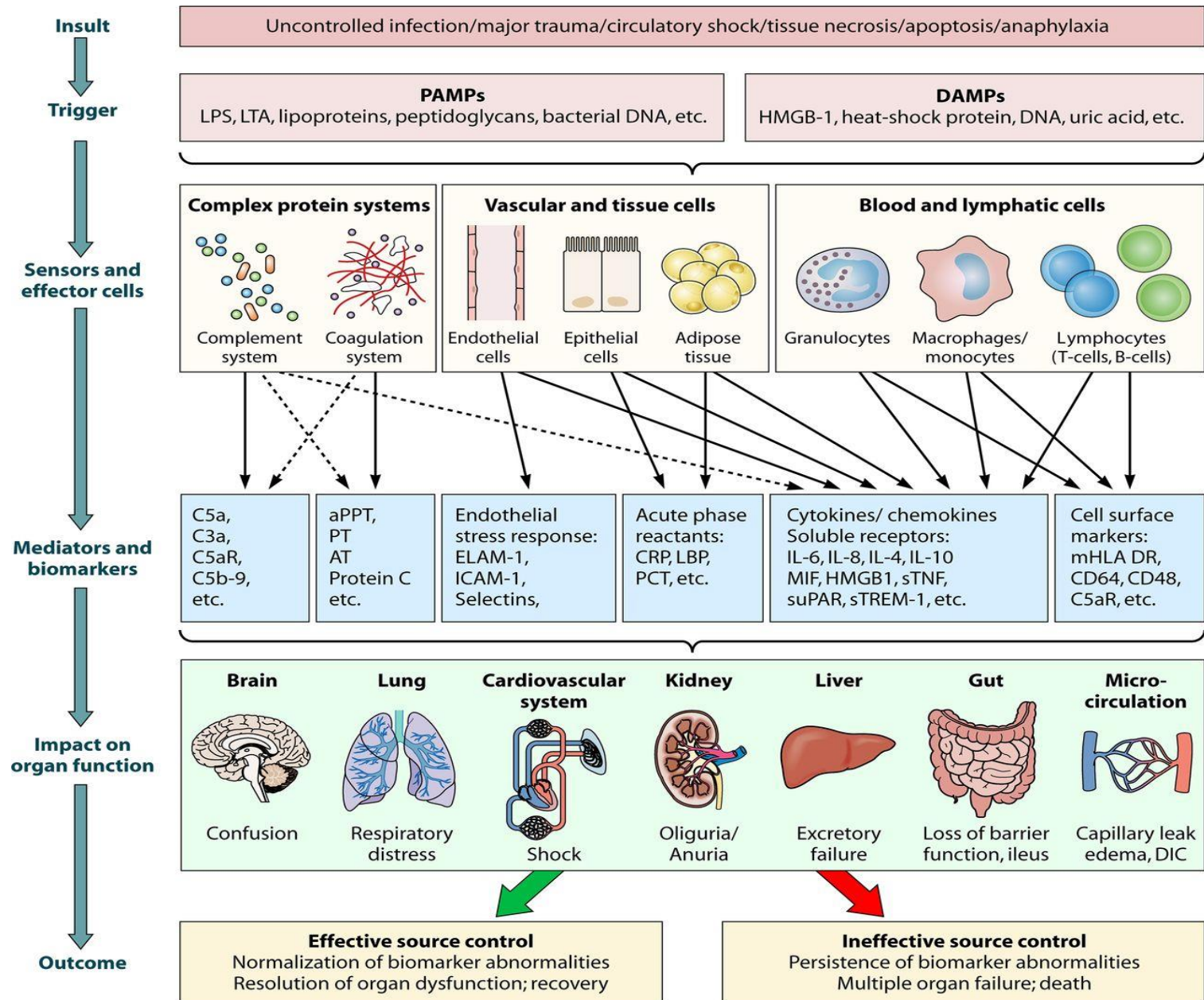
- **Hemokultura**
- problémy – zejména předčasně narozené děti a EOS:
 - Odběr – množství krve (minimálně 1ml, spíše více)
 - ATB matce
 - Výsledky za 2-3 dny
 - Senzitivita: 30-60% u EOS???
 - Falešná pozitivita: ???
- Další biomarkery!!!

Problematika „hledání“ markerů novorozenecké sepsy

- Zlatý standard – hemokultura?
- Různorodost populace – gestační věk, postnatální věk
- EOS x LOS – arbitrární hranice (PROM...)
- Většina markerů:
 - Fyziologická postnatální dynamika
 - Odlišnosti dle gestačního věku
 - Různý metabolismus (vzestup, $T_{1/2}$, pokles)
- Většina studií – nerespektuje výše uvedené....

Pathogen-associated molecular pattern molecules (PAMPs)





KO a spol.

- **KO** – nízká prediktivní hodnota, ale opakované normální hodnoty – nižší riziko sepse
- asociace se sepsí: leukopenie, neutropenie, I/T index
- **I/T index** – různé S/S – různé cut-off (0,16-0,25)
- **Leukopenie** ($5-7000/\text{mm}^3$)(S/S - 29/91%)
- **Neutropenie** – definice – závisí na gestačním a postnatálním věku
 - **ANC**
 - narození nad 36tg...3500, 28-36...1000, pod 28tg500
 - po 6-8. hodině – růst (7500....3500....1500)

(Shah BA et al, 2014)

CRP

- Pozdní marker
 - T1/2 24-48hod, reakce 10-12hod
 - Senzitivitu zvyšuje opakované vyšetření – 24-48 hodin
- Nespecifický
 - (MAS, trauma, ischemie, hemolýza, chorioamnionitida)
- Postnatální dynamika
 - cut-off 1. den 4-5mg/L, dále 10-12mg/L
- **Pozdní marker, dobrá NPV až při opakování**
- **Vhodné v kombinacích s časnými markery**

(Chiesa et al, 2011)

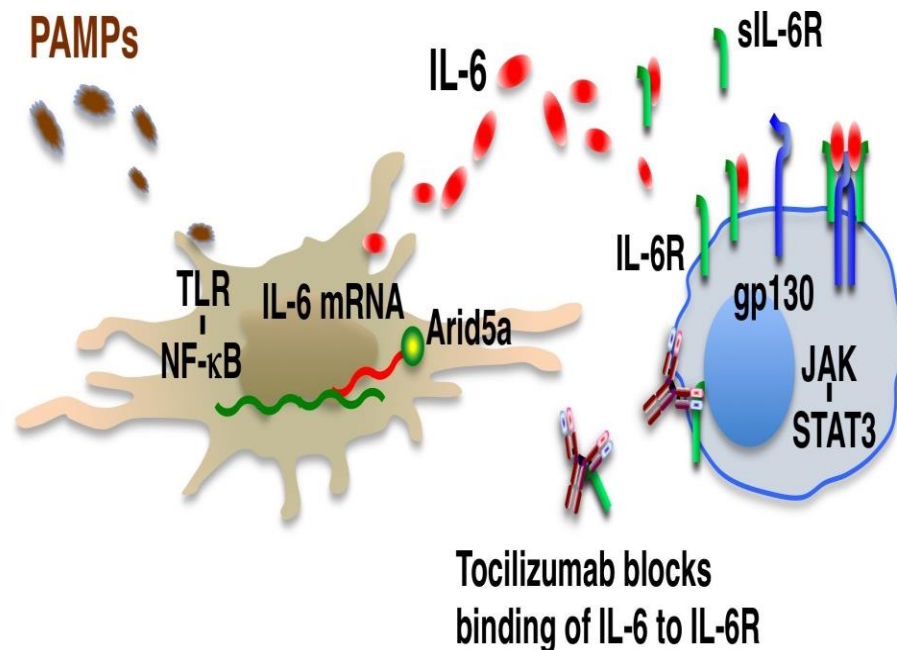
IL -6

- Jeden ze základních cytokinů nespecifické reakce
- Monocyтомakrofágový systém
- Aktivace – PAMPs – TLR – sekrece IL1, TNFalfa, IL6 – aktivace imunitního systému + systémové příznaky (zvýšení teploty atd.)
 - IL6 – játra – tvorba CRP
- Rychlý vzestup – 2-4 hodiny (teoreticky zároveň s klinickými příznaky, nebo i dříve)
- T1/2 100minut, pokles 24 h po léčbě, umbil.

Production of IL-6

IL-6 signal transduction

Effect of IL-6 on various cells



Hepatocyte	CRP ↑	
	amyloid A ↑	→ AA amyloidosis
	fibrinogen ↑	
	hepcidin ↑	→ anemia
	albumin ↓	
CD4 T cell	differentiation of Th17 ↑	Treg ↓
B cell	antibody production ↑	
Synovial fibroblast	RANKL ↑	→ osteoporosis
	VEGF ↑	→ angiogenesis
Dermal fibroblast	collagen ↑	

IL 6

- Nutno použít **věkově specifické cut off**
 - (nejsou nomogramy dle gestačního věku!!)
 - Plodová voda ???
- Pupečník – 5-100pg/mL . Postnatální dtto – 150-250pg/mL
- 24 hod – 30pg/mL
- 48 hod a dále 20pg/mL
- Pupečnickové hodnoty – senzitivita jen u předčasně narozených dětí po PROM (patogeneza)
- Výborný časný marker, vhodný v kombinaci s dalšími (CRP, PCT)
- Monitorace terapie?

(Machado et al., 2014)

IL 6

- Časný marker
- Vysoká senzitivita v časných fázích infekce
- Rychlý pokles po zvládnutí infekce, krátký poločas
- Vhodná kombinace s markery vhodnými k monitoraci terapie (CRP, PCT)

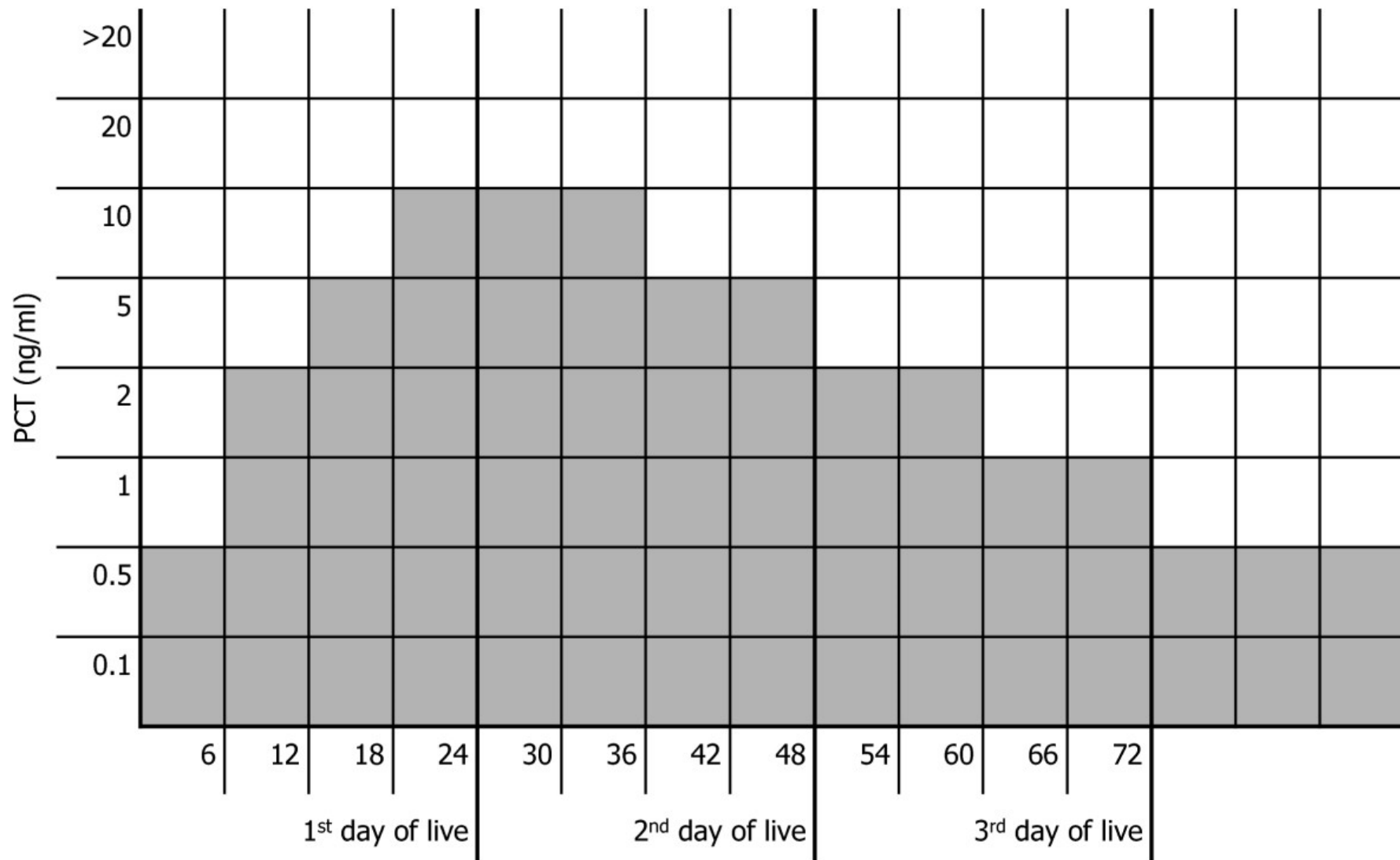
(pupečnicková krev – PROM x perinatální kolonizace)

Procalcitonin - PCT

- Prekursor Kalcitoninu – produkce – hojně tkání
- Význam nejasný, zvýšení u časně i pozdní novorozenecké sepse i NEC
- Specifický - není elevace – viry, trauma, MAS, hypoxémie X resuscitace, chorioamnionitis
- Oproti CRP: rychlejší vzestup, rychlejší pokles při úspěšné terapii (T1 / 2 24hod), neovlivněno virovými infekty, koreluje s tíží infekce
- Sérový PCT
 - zvýšení 2-4 hodiny po infekci
 - Vrchol 6-42 hodin

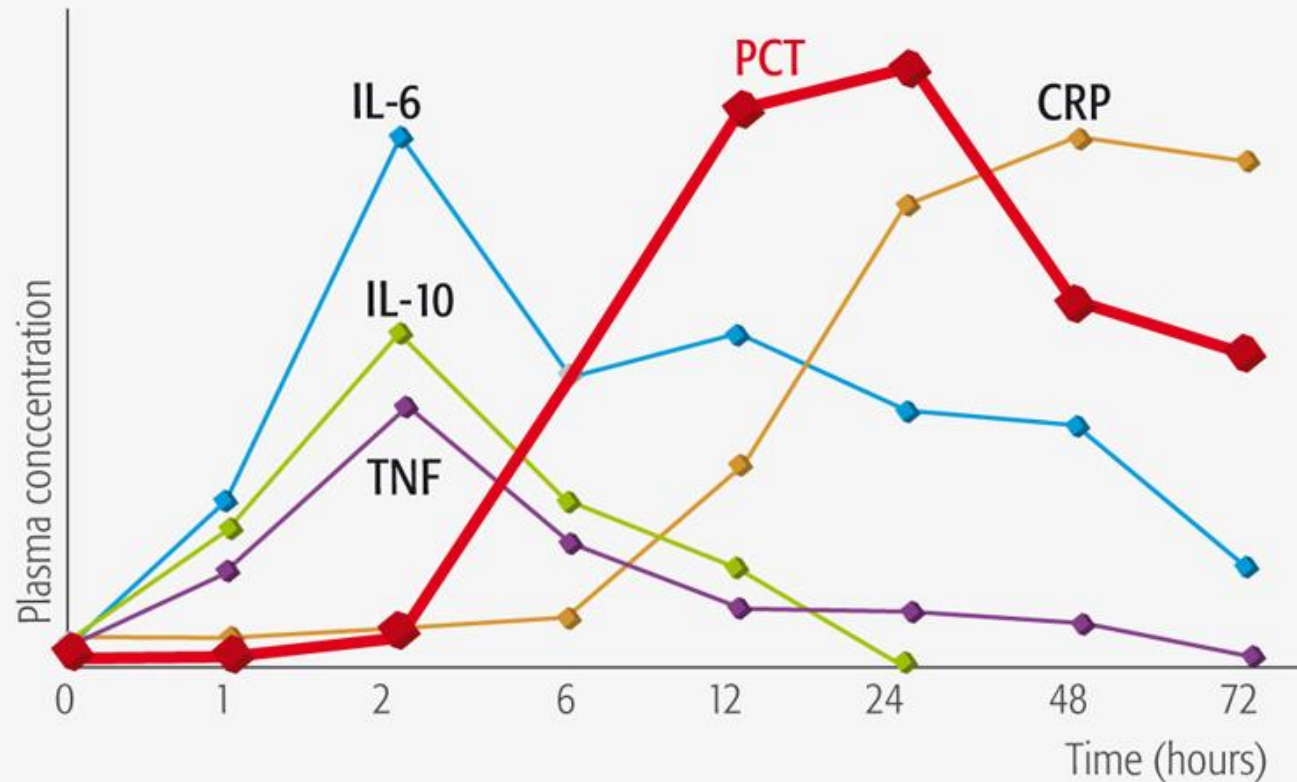
Procalcitonin - PCT

- Střednědobý marker
- Oproti CRP: rychlejší vzestup, rychlejší pokles při úspěšné terapii ($T_{1/2}$ 24hod), neovlivněno virovými infekty
- koreluje s tíží infekce
- Dobrá NPV při opakovaném stanovení v časovém odstupu 12-24 hodin



(Stocker et al. 2010)

Dynamika některých markerů sepsy



Kinetic profiles of different biomarkers of bacterial infection.

Adapted from Meisner M.¹

Diagnostická hodnota IL6, CRP a PCT u EOS

Table 6. Performance of CRP, IL-6, and PCT measurements at 0, 24, and 48 h of life in diagnosis of early-onset neonatal sepsis.

	Cutoff	Sensitivity (95% CI), ^a %		Specificity (95% CI), %
		Culture-positive (n = 11)	All patients (n = 19)	
CRP, mg/L				
At birth	≥4	73 (43–90)	74 (51–88)	83 (75–89)
At 24 h	≥10	91 (62–98)	89 (69–97)	87 (80–92)
At 48 h	≥10	91 (62–98)	89 (69–97)	84 (77–90)
IL-6, ng/L				
At birth	≥200	73 (43–90)	74 (51–88)	89 (82–93)
At 24 h	≥30	64 (35–85)	63 (41–81)	71 (63–79)
At 48 h	≥20	54 (28–79)	53 (32–73)	70 (62–78)
PCT, µg/L				
At birth	≥1	82 (52–95)	79 (57–92)	95 (89–98)
At 24 h	≥100	100 (74–100)	95 (75–99)	96 (91–99)
At 48 h	≥50	91 (62–98)	84 (62–95)	100 (97–100)

^a For group 1 patients.

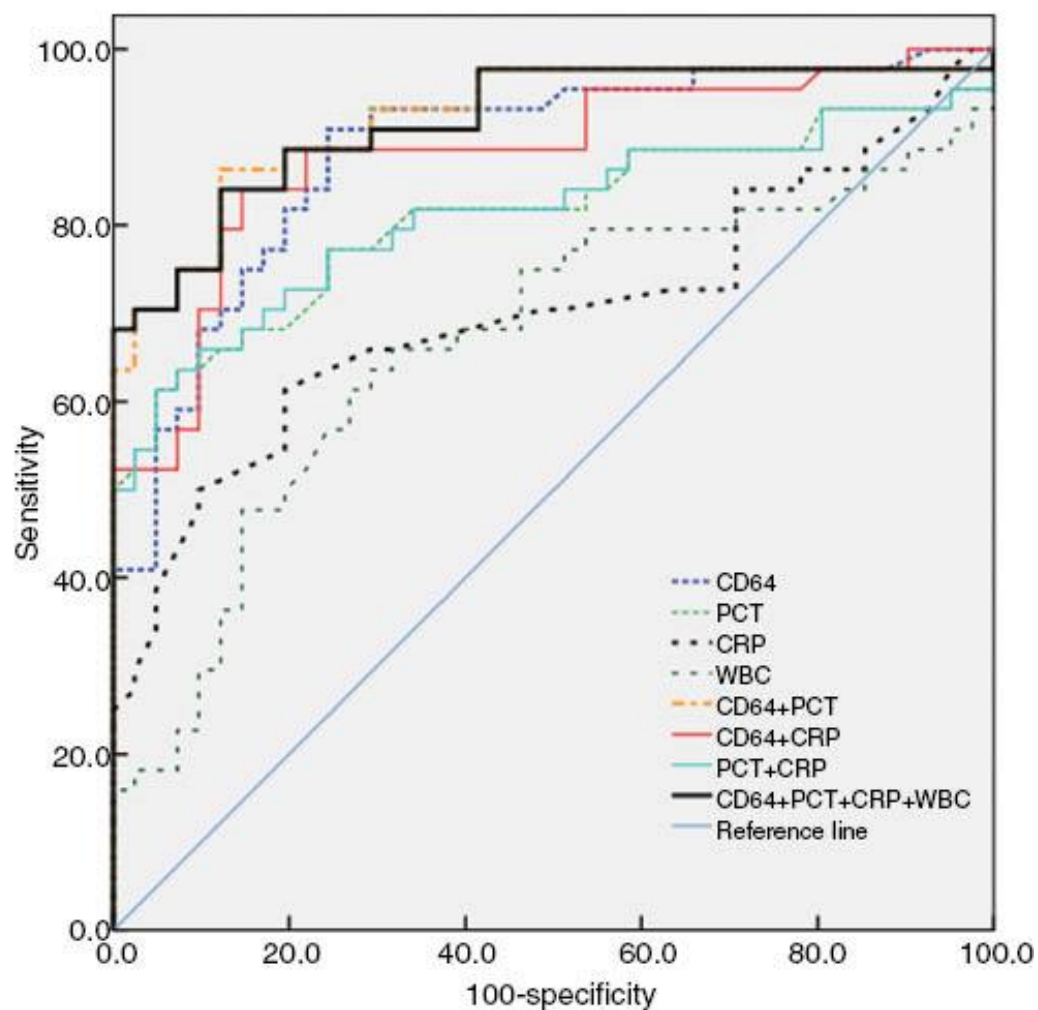
(Chiesa et al 2011)

CD 64 (Fc receptor) neutrofilů

- Upregulace – v časně fázi imunitní reakce
- časný marker
- Specifický
- Levný, ze zbytku KO (průtoková cytoflowmetrie)
- **Senz. 95-97%, NPV 97-99%.**
- Cut-off např. 2,38 EOS, LOS 3,62
- Nutno standardizovat
- Obvykle není ve statim režimu

(Shah et al, 2014)

Diagnostická výtěžnost markerů a jejich kombinací



Hemokultura

- ❑ Jako **zlatý standard** hraje ústřední roli v identifikaci pathogenemie u pacientů s příznaky SIRS a tím v identifikaci SEPSE
- ❑ **Vysoká analytická sensitivita**
- ❑ **Časová náročnost** (dny)
- ❑ **Nižší spolehlivost** - falešně negativní výsledky způsobené předchozím nasazením ATB, nutričními nároky mikroba a jeho viabilitou

PCR metodiky, proteomika

- ❑ **Rychlost** (hodiny)
- ❑ **Vyšší spolehlivost** - nezávislost na viabilitě detekovaného mikroorganismu, jeho nutričních nárocích a délce životního cyklu

- ❑ **Správná indikace**
- ❑ **Správný odběr a jeho načasování**
- ❑ **Metodická nejednotnost a pracnost**
- ❑ **Nízká analytická sensitivita**
- ❑ **Časté kontaminace**
- ❑ **Problematická interpretace**

- ❑ **Proteomická analýza**

(Edmond et al, 2010)

SeptiFast	multiplex real-time PCR	25 nejč. původců
SepsiTest™	universal real-time PCR + sequencing	jakýkoliv
Magicplex™	multiplex real-time PCR	27 nejč. původců + 3 rezistence
hybcell Bacteria DNA xA hybcell Fungi DNA xA	universal PCR + compact sequencing	jakýkoliv

Závěr

- Diagnostika novorozenecké sepsy zůstává problematická, zvláště u některých skupin pacientů
- Jako vhodná se jeví stratifikace pacientů i markerů (gestační i postnatální věk, zohlednění dynamiky, patogenetické faktory infekce)
- Nalezení ideálního markeru není pravděpodobné
- Diagnostika se nutně opírá o kombinaci klinických, mikrobiologických a ostatních vyšetření