

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

MARIJA CRNKOVIĆ

**ANALIZE REZULTATOV PROKALCITONINA, C-REAKTIVNEGA PROTEINA
IN LEVKOCITOV PRI BOLNIKIH S SUMOM NA SEPSO V BOLNIŠNICI
KOPRIVNICA**

**EVALUATION OF PROCALCITONIN, C-REACTIVE PROTEIN AND
LEUKOCYTES IN PATIENTS WITH SEPSIS SUSPICION IN KOPRIVNICA
HOSPITAL**

MAGISTRSKA NALOGA

MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM LABORATORIJSKA BIOMEDICINA

Ljubljana, 2011

Magistrsko delo sem izdelala na Katedri za klinično biokemijo Fakultete za farmacijo pod mentorstvom prof. dr. Boruta Božiča, mag. farm., spec. med. biokem. in v Općoj bolnici „Dr. Tomislav Bardek“ v Koprivnici pod somentorstvom mag. Źeljka Sinjerija, mag. biokem., spec. med. biokem.

Zahvala

Iskreno se zahvaljujem mentorju in dekanu Fakultete za farmacijo, prof. dr. Borutu Božiču, mag. farm., spec. med. biokem. da mi je omogočil opravljanje magistrske naloge, tudi za veliko strokovno pomoć in za vse nasvete.

Zahvaljujem se somentorju in vodji Medicinsko biokemićnega laboratorija Opće bolnice „Dr. Tomislav Bardek“ v Koprivnici mag. Źeljku Sinjeriju, mag. biokem., spec. med. biokem. za pomoć v strokovnem delu tudi v raziskavi.

Predvsem se Źelim zahvaliti moji druŹini za nesebićno podporo skozi študij in izdelavo magistrske naloge.

Izjava

Izjavljam da sem magistrsko delo samostojno izdelala pod vodstvom mentorja prof. dr. Boruta Božiča, mag. farm., spec. med. biokem. in somentorstvom mag. Željka Sinjerija, mag. med. biokem., spec. med. biokem.

Marija Crnković

Komisija za zagovor:

Predsednik: prof. dr. Aleš Mrhar

Mentor: prof. dr. Borut Božič

Somentor: mag. Željko Sinjeri

Članica: doc. dr. Lucija Peterlin Mašič

Ljubljana, december 2011

VSEBINA

POVZETEK	5
ABSTRACT	6
SEZNAM OKRAJŠEV	7
1. UVOD	9
1.1. SEPSA	9
1.2. REAKTANTI AKUTNE FAZE	11
1.2.1. Prokalcitonin	11
1.2.2. C-reaktivni protein	16
1.2.3. Levkociti	21
1.2.3.1. Granulociti	23
1.2.3.2. Limfociti.....	24
1.2.3.3. Monociti	25
2. NAMEN DELA	28
3. METODE IN MATERIALI	29
3.1. METODE DELA	29
3.1.1. Retrospektivni pregled dokumentacije	29
3.1.2. Napovedne vrednosti	29
3.1.3. Diagnostična specifičnost in diagnostična občutljivost	30
3.2. LABORATORIJSKE METODE	31
3.2.1. Prokalcitonin	31
3.2.2. C-reaktivni protein	31
3.2.3. Levkociti	32
3.3. MATERIALI ZA MAGISTRSKO NALOGO	32
3.3.1. Podatki o pacientih	32
3.3.2. Drugo	32
4. REZULTATI	33
4.1. PROKALCITONIN	35
4.1.1. PCT pri sepsah	37
4.1.2. PCT pri sepsah in bakteriemijah, obravnavanih skupaj	38
4.2. C-REAKTIVNI PROTEIN	39

4.3. LEVKOCITI	41
4.4. DIAGNOSTIČNA UPORABNOST MERITEV PCT, CRP in Lkc	42
5. RAZPRAVA	44
6. SKLEP	50
7. LITERATURA	51
8. PRILOGA	54
8. 1. Kumulativna preglednica	54
8. 2. Seznam diagnoz bolnikov v raziskavi	59

SEZNAM SLIK, PREGLEDNIC IN GRAFOV

Slika 1: Aminokislinsko zaporedje prokalcitonina	12
Slika 2: Hitrost naraščanje PCT in sepsa	14
Slika 3: Sorazmerna povezava koncentracije PCT s težo klinične slike.....	15
Slika 4: Vezava CRP v prisotnosti kalcievih ionov	17
Slika 5: Sinteza proteinov, proteini akutne faze	20
Slika 6: Hematopoeza	22
Slika 7: Vloga levkocitov pri sepsah	27
Preglednica I: Prikaz značilnosti preiskovancev	33
Preglednica II: Število bolnikov s posameznimi diagnozami	34
Preglednica III: Povprečja koncentracij PCT pri sepsah in bakteriemijah	35
Preglednica IV: Število bolnikov glede na koncentracijo PCT in določene diagnoze	35
Preglednica V: PCT v povezavi s sepsa in drugimi boleznimi	37
Preglednica VI : PCT v povezavi s sepsa ter bakteriemijo in drugimi boleznimi	38
Preglednica VII: CRP v povezavi s sepsa in drugimi boleznimi	39
Preglednica VIII: Levkociti v povezavi s sepsa in drugimi boleznimi	41
Preglednica IX: Diagnostična občutljivost, specifičnost in uporabnost, PNV in NNV: PCT,CRP in Lkc	43
Graf 1: Prikaz števila bolnikov, glede na povzročitelja sepse	34
Graf 2: Število bolnikov, po diagnozah in koncentracijah PCT.....	36

POVZETEK

Sepsa je klinično stanje organizma, ki je posledica systemskega vnetnega odziva gostitelja, povzročena z vdorom patogenih mikrobov, in je za življenje ogrožajoča. Klinični znaki so zelo nespecifični: vročica ali hipotermija, tahikardija, tahipneja ter levkocitoza ali levkopenija z pojavom nezrelih nevtrofilcev v diferencialni krvni sliki. Bolnike z sepsa je potrebno hitro zdraviti s ciljno terapijo. Bakteriološke preiskave so počasne in se zdravljenje začne pred bakteriološko potrditvijo povzročitelja. Laboratorijskih kazalcev vnetja je več (sedimentacija, C-reaktivni protein, število levkocitov, citokini), vendar ne odražajo samo bakteriemije, oziroma sepse, temveč tudi drugače povzročeno systemsko vnetje (virusne infekcije, avtoimunske bolezni, zastrupitve). Namen dela je bil preveriti hipotezo, da je prokalcitonin boljši kazalec za sepsa kot C-reaktivni protein in levkociti. V retrospektivno raziskavo smo vključili 255 bolnikov s sumom na sepsa, ki so bili sočasno napoteni na preiskave prokalcitonina (PCT), C-reaktivnega proteina (CRP) in levkocitov (Lkc). V naši raziskavi smo našli enajst bolnikov s sepsa in pri vseh je bil zelo zvišan prokalcitonin, v primerjavi z drugimi diagnozami, pri katerima so koncentracije prokalcitonina bile nižje, razen pri nekaterih primerih z pljučnico, kjer smo zasledili zelo visoke koncentracije prokalcitonina. To nam lahko potrди, da se prokalcitonin sintetizira v endokrinih celicah pljuč pod vplivom lokalnega vnetja. Povišane koncentracije C-reaktivnega proteina in zvišano število levkocitov smo našli tudi pri sepsah, ali manj specifično kot smo njihove spremembe zasledili pri vseh ostalih diagnozah. Pozitivne napovedne vrednosti vseh rezultatov so pod 10%, negativne napovedne vrednosti za vse rezultate so nad 98%. Diagnostična občutljivost je za prokalcitonin in C-reaktivni protein 100% in za levkocite 91%. Slednje ne zadošča za diagnostiko sepse, ki potrebuje 100% občutljivost rezultatov, vendar so rezultati diagnostične specifičnosti za levkocite najvišji 47%, za prokalcitonin 32% in za C-reaktivni protein samo 5%. Prav tako je izračunana diagnostična uporabnost: število levkocitov najvišja 49%, prokalcitonina 35% in C-reaktivnega proteina 9%. Potrdili smo, da je prokalcitonin boljši kazalec sepse kot C-reaktivni protein in levkociti, in to zaradi 100% diagnostične občutljivosti in sorazmerno visoke diagnostične uporabnosti v fazi opredelitve sepse, ter zaradi svoje negativne napovedne vrednosti pri izključevanju sepse.

ABSTRACT

Sepsis is a clinical state of an organism, that is a consequence of systemic inflammatory response in the host, caused by a breach of pathogenic microorganisms and is a life – threatening medical condition. Clinical symptoms are very nonspecific: a rise in body temperature or hypothermia, tachycardia, tachypnea and leukocytosis or leukopenia with the appearance of immature neutrophils in differential blood count. Septic patients need immediate appropriate therapy. Due to dilatory bacteriological tests the treatment starts before the confirmation of the source. There are several laboratory inflammatory indicators (sedimentation, C-reactive protein, leukocyte count, cytokines) that reflect otherwise caused systemic inflammation (viral infections, autoimmune diseases, poisoning) and not just bacteremia or sepsis. The aim of the study was to test the hypothesis whether procalcitonin is a better indicator of sepsis than C-reactive protein and leukocytes. 225 patients with possible sepsis were included into our retrospective study. They were measured for procalcitonin (PCT), C-reactive protein (CRP) and leukocyte count (Lkc). Our research found eleven patients with sepsis and all of them had a very high level of procalcitonin compared with the other diagnoses, where concentrations of procalcitonin were much lower, except for the cases with pneumonia where concentrations of procalcitonin were extremely high. That confirms that procalcitonin is synthesized in the endocrine cells of the lungs under the influence of the local inflammatory process. Elevated concentrations of C-reactive protein and higher leukocyte count were also found in sepsis, but less typical than found in other diagnosis. Positive predictive values of all the tests are below 10% and negative predictive values of all the tests are above 98%. Diagnostic sensitivity for procalcitonin and C-reactive protein is 100% and 91% for leukocytes. That is not sufficient for the diagnosis of sepsis which needs 100% diagnostic sensitivity of the results, although the highest results of diagnostic specificity for leukocytes are the 47% and for procalcitonin 32%, and for C-reactive protein only 5%. Accordingly, the diagnostic efficiency has been calculated: for leukocytes the highest 49%, for procalcitonine 35% and C-reactive protein 9%. This study confirms that procalcitonin is a better indicator of sepsis than C-reactive protein or leukocyte count because of its 100% diagnostic sensitivity and proportionally high diagnostic efficiency in the phase of distinguishing sepsis and also for its negative predictive value that excludes sepsis.

SEZNAM OKRAJŠEV

- Ak** aminokislina
- ARDS** (angl.Acute Respiratory Distress Syndrome)akutni respiratorni distresni sindrom
- Arg** aminokislina arginin
- C3b** biološko aktivni fragment komponente komplemента C3
- CD** (angl.Cluster of Differentiation) membranski antigeni limfocitov in monocitov
- CMV** citomegalo virus
- CRP** C-reaktivni protein
- CSF** (angl.Colony Stimulating Factors) kolonije spodbujajoči faktorji
- DNA** deoksiribonukleinska kislina
- EDTA** etilendiamin tetraacetna kislina
- ER** endoplazemski retikulum
- ESR** (angl.Erythrocyte Sedimentation Rate) sedimentacija eritrocitov
- Gly** aminokislina glicin
- H₂O₂** vodikov peroksid
- HIV** (angl.Human Immunodeficiency Virus) človeški virus imunske pomanjkljivosti
- IGE** imunoglobulin E
- IL** 1/5/6/8–interlevkini-1/5/6/8
- Lkc** levkociti
- Lys** aminokislina lizin
- mg/L** miligram snovi raztopljen v litri raztopine
- µg/L** mikrogram snovi raztopljen v litri raztopine
- MODS** (angl.Multiorgan Disfunction Syndrom)sindrom večkratne odpovedi organov
- MPO** mijeloperoksidaza
- mRNA** (angl.Messenger) informacijska ribonukleinska kislina
- NADPH** reducirana oblika nikotin adenin dinukleotidnegafosfata NADP⁺
- ng/L** nanogram snovi raztopljen v litri raztopine
- NO** dušikov oksid
- NNV** negativna napovedna vrednost
- N-ProCT** N-terminalna regija prokalcitonina
- PC** (angl. Personal Computer)osebni računalnik

PCR (angl.Polymerase Chain Reaction) verižna reakcija z polimerazo
PCT prokalcitonin
PNV pozitivna napovedna vrednost
ROS (angl. Reactive Oxygen Species) reaktivne kisikove spojine
SAA serumski amiloid A
SIRS (angl.Systemic Inflammatory Response Syndrome) sistemski vnetni odziv
TBC tuberkuloza
TNF α (angl.Tumor Necrosis Factor- α) tumor nekrotizirajoči faktor- α

SEZNAM SKUPIN DIAGNOZ (bolnikov v raziskavi)

- | | | |
|-------|----------------|--|
| I | A00-B99 | Infekcijske bolezni in bolezni povzročene z paraziti
Povzročitelji sepsi: A 40.3 Streptococcus pneumoniae
A 41.3 Haemophilus influenzae
A 41.5 Gram negative bacteriae (organizmi)
A 41.9 Septični šok (nespecificirani)
A 49.9 Bacteriemiae |
| II | C00-D48 | Neoplazme |
| III | D50-D89 | Bolezni krvi in krvotvornega sistema ter določene bolezni imunološkega sistema |
| IV | E00-E90 | Endokrine, bolezni prehrane in presnove |
| V | F00-F99 | Mentalne spremembe in spremembe obnašanja |
| VI | G00-G99 | Bolezni živčnega sistema |
| IX | I00-I99 | Bolezni krvnega obtoka |
| X | J00-J99 | Bolezni dihalnega sistema |
| XI | K00-K93 | Bolezni prebavnega sistema |
| XII | L00-L99 | Bolezni kože in podkožnega tkiva |
| XIII | M00-M99 | Bolezni mišično-kostnega sistema in vezivnega tkiva |
| XIV | N00-N99 | Bolezni genitourinarnega sistema |
| XVIII | R00-R99 | Simptomi, znaki in nenormalni klinični in laboratorijski izvidi nerazvrščani drugam |
| XIX | S00-T98 | Poškodbe, zastrupitve in druge posledice zunanjih povzročiteljev |

1. UVOD

1.1. SEPSA

Sepsa je klinično stanje organizma, ki je posledica sistemskega vnetnega odziva gostitelja, povzročena z vdorom patogenih mikrobov oz. z delovanjem njihovih encimov, ki so posledica bakteriemije. Sama bakteriemija pomeni prisotnost bakterij v krvi, vendar šele z razvojem kliničnih znakov sistemskega odziva na okužbo lahko govorimo o sepsi. Pomembno vlogo v nastanku sepse ima imunost kot nesprejemljivost za invazivnost in patogenost mikroorganizmov ali za toksične učinke antigenskih snovi, oz. stanje povečane odzivnosti na antigen. Zajema vse tipe humoralnega in celično posredovanega imunskega odziva. To je zaporedje dogodkov, s katerimi se organizem odzove na prepoznano motnjo/tujek in jo odstrani. Motnje so lahko: virus, bakterija, tuj presadek, posamezne tuje molekule iz okolja, rakavo spremenjene celice ali spremenjene lastne molekule. Zato je osnovna naloga imunskega sistema ločevanje med lastnim in nelastnim, oz. med ogrožujočim in neogrožujočim (1). Pri tem neposredno ali posredno sodelujejo vse krvne celice, ki posamično krožijo po krvi in mezgi, ali pa so v skupkih v limfatičnih organih in drugih tkivih, razen v osrednjem živčevju (2).

Vhodno mesto mikrobov v kri pogosto ni znano. Za preprečevanje vdora imata pomembno vlogo cela in neokrnjena koža in sluznica. Črevesna sluznica je s svojo površino največji organ imunskega odziva in je ključna v vzdrževanju homeostaze mehanizmov naravne odpornosti pred mikrobi. Najpogosteje se črevesna sluznica okvari zaradi šoka in sicer zaradi zmanjšane dobave kisika, povečanih potreb po kisiku ali neenakomerne porazdelitve kisika v črevesnih resicah. Vsa navedena stanja so povezana tudi z radikali in reaktivnimi kisikovimi snovmi, ki okvarijo zlasti površinski sloj črevesne sluznice. Posledica je prekinjena naravna obrambna linija med črevesno votlino in notranjostjo organizma, kar omogoči translokacijo bakterij in endotoksinov v mezenterijske bezgavke in portalni krvni obtok. To pa že pomeni nevarnost bakteriemije in razvoja sepse. Sepse so povezane z visoko umrljivostjo kljub zdravljenju z novimi antibiotiki in izboljšanim podpornem zdravljenju (3). Da bi sepsa pravočasno prepoznali in ustrezno zdravili, moramo poznati merila za njeno opredelitev. Poznavanje kliničnih simptomov in znakov pri sepsi usmerja zdravnika k pravočasnemu odvzemu kužnin, tj. še pred uvedbo protimikrobnih zdravil. Sepsa opredeljujemo s pojavom značilnih kliničnih znakov okužbe in očitnimi znaki sistemskega odziva nanjo, ki se kažejo vsaj z dvema od naslednjih stanj:

- hipertermijo ($> 38^{\circ}\text{C}$) ali hipotermijo ($< 36^{\circ}\text{C}$);
- tahikardijo (> 90 utripov/min ali 10 udarcev nad predvideno frekvenco);
- tahipnejo (> 20 vdihov/min ali $\text{pCO}_2 < 32$ mmHg);
- levkocitozo ($> 12 \times 10^9/\text{L}$ ali levkopenijo $< 4 \times 10^9/\text{L}$) oz. $> 10\%$ nezrelih oblik levkocitov (4, 5, 6, 7, 8)

Osnovni kriterij za sepsa pri otrocih se razlikuje glede tahikardije in tahipneje: >2 standardni devijaciji od referenčne za določeno starost (5). Kadar ima septični bolnik pridruženo motnjo delovanja vsaj enega od organov ali organskih sistemov (pljuča, ledvice, jetra, strjevanja krvi, centralni živčni sistem), hipoperfuzijo (oligurija, laktacitoza, akutna sprememba mentalnega stanja) ali hipotenzijo, takrat govorimo o težki sepsi. Če v klinični sliki ugotavljamo hipotenzijo, ki se ne popravi z infuzijo nadomestnih tekočin, pa že lahko govorimo o septičnem šoku. Če ta traja več kot eno uro in se ne popravi ob zadostnem infuzijskem zdravljenju in dajanju zdravil, so izpolnjeni pogoji za t.i. refraktni septični šok, ki ima najvišjo stopnjo umrljivosti (4). Septični šok je sepsa s hipotenzijo (<90 mmHg ali redukcija sistoličnega tlaka za > 40 mmHg od bazalne vrednosti) kljub nadomeščanju tekočin s prisotnimi perfuzijskimi spremembami (laktacidoza, oligurija, spremembe zavesti) (7, 8).

Pri sepsah so združeni klinični znaki bolezni (telesna temperatura, tahikardija, tahipnea) s patološkimi laboratorijskimi izvidi kot so sprememba v številu levkocitov in trombocitov ter povišane koncentracije označevalcev celične aktivacije, kot so TNF α , IL-1, IL-6, IL-8 in drugi. Noben od naštetih parametrov ni specifičen za sepsa in še manj za težo septičnega sindroma. Zaradi tega je zelo težko določiti diferencialno diagnozo med bolniki s sepsa, septičnim šokom ali organsko disfunkcijo od vročinskih bolnikov s podobnimi kliničnimi znaki in laboratorijskimi izvidi brez okužbe. Potrebna ja bila vpeljava dodatnih ali drugih parametrov, boljših označevalcev generalizirane vnetne reakcije gostitelja, v zgodnje določanje diagnoze (9). Tako si v zgodnji diagnostiki sepse pomagamo z nekaterimi osnovnimi in nekaterimi specifičnimi preiskavami: levkociti, diferencialna krvna slika, C-reaktivni protein (CRP), prokalcitonin (PCT), protein-C, vnetni citokini- IL-6, IL-8, plinska analiza krvi, laktat v krvi (10). Po potrebi se odloči še za ciljne laboratorijske preiskave odvisno od prizadetosti posameznih organov. Pri vseh teh bolnikov obvezno se vzamejo tudi ustrezne kužnine (kri, likvor, urin, punktati).

1.2. REAKTANTI AKUTNE FAZE

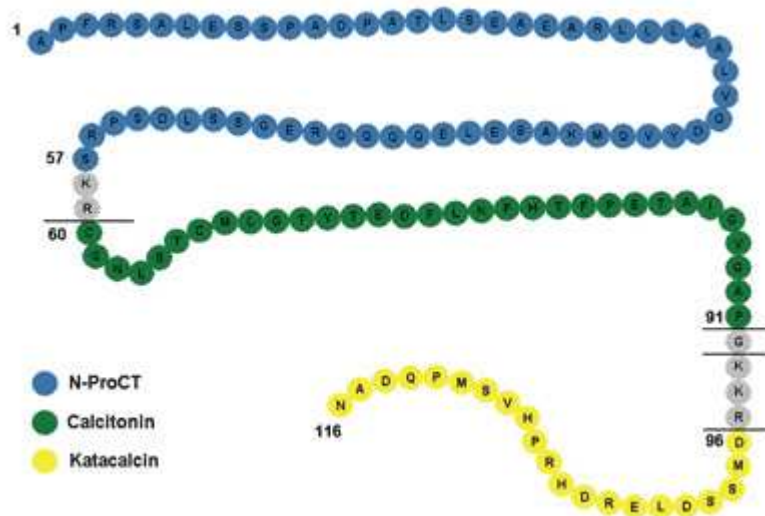
Reaktanti akutne faze vnetja so proteini, za katere je značilno zvišanje koncentracij kot odziv na stresna ali vnetna stanja, ki so posledica okužbe, poškodbe ali nekroze. Vključujejo α 1-aminotripsin (AAT), α 1-kisliglikoprotein, haptoglobin, ceruloplazmin, fibrinogen, serumski amiloid A (SAA) in CRP . Vnetje povzroči sproščanje proteolitičnih encimov iz levkocitov, katerih aktivnost se mora nevtralizirati s encimskimi inhibitorji zaradi omejitve in obsežnosti destrukcije; odstranjevalni proteini (haptoglobin, CRP) kateri pomagajo pobrati in transportirati celične ostanke , drobce za fagocitozo ali konzervirati pomembne snovi kot je železo. Celotni odziv vključuje začetek, indukcijo temperature, zvišanje števila levkocitov v periferni krvi, katabolizem mišic in spremembe v sintezi proteinov z zmanjšano sintezo albuminov. Za klinično uporabo, za določanje diagnoze lahko pomagajo zvišana temperatura, levkocitoza ali sedimentacija eritrocitov (ESR), medtem ko s pomočjo proteinov lahko spremljamo tok bolezni in zdravljenje (11).

1.2.1. PROKALCITONIN

Številne diagnostične parametre rabimo za razmejitve akutnih od kroničnih vnetij, pri čemer je PCT pokazatelj vnetne aktivnosti pri sepsi in večkratni odpovedi organov (MODS) , in je sočasno dostopen za rutinsko delo. Prva mnenja o zvišani koncentraciji kalcitonina - molekule prekursorja pri bolnikih z sepsa sta dala 1992 in 1993 leta Nylon in Assicot.

Kalcitonin je polipeptid, sestavljen iz 32 aminokislin. Tvorijo ga C-celice ščitnice. Ni poznan fiziološki vpliv na homeostazo kalcija, saj bolniki po popolni odstranitvi ščitne žleze nimajo kliničnih ali biokemičnih znakov, ki bi jih lahko pripisali popolnemu pomanjkanju kalcitonina. Obratno, bolniki z medularnim karcinomom ščitnice, ki imajo visoke koncentracije kalcitonina, ne kažejo skeletnih ali drugih znakov presežka kalcitonina. V poskusih z visokimi odmerki kalcitonina so dokazali, da zavre delovanje osteoklastov in zmanjša resorpcijo kosti. Plazemske vrednosti kalcitonina so zvišane med nosečnostjo in dojenjem, nekoliko nižje so pa v menopavzi. Kalcitonin so našli tudi v steni črevesa in v centralnem živčnem sistemu, kjer deluje kot nevrottransmitter (12).

PCT je protein akutne faze vnetja in je polipeptid, sestavljen iz 116 aminokislin z molekulsko maso 13.000 (5,13) (Slika 1).



Slika 1: Aminokislinsko zaporedje prokalcitonina (14)

Pod normalnimi pogoji se začne sinteza PCT s translacijo 141-aminokislinskega prekursorja proteina, preprokalcitonina (molekulska masa 16.000) po transkripciji CALC-1-gena v C-celicah ščitnice. Preprokalcitonin vsebuje signalno sekvenco (-1-25 aminokislin-), N-terminalno regijo PCT (N-ProCT), sekvenco in C-terminalno regijo, imenovano katakalcin. Sekvenci sta hidrofobna in povzročata vezavo proteina na endoplazemski retikulum (ER), najpomembnejšo strukturo celice za nastajanje eksogenih proteinov. Signalna sekvenca se razgrajuje v ER s pomočjo endopeptidaze, preostali protein je PCT (116 Ak).

Srednji del molekule vsebuje aminokislinske sekvence kalcitonina na mestih od 61 do 91, ki so obkrožene s polibazičnimi aminokislinami (Lys-Arg in Gly- Lys –Arg) in predstavlja signalne sekvence za specifično proteolizo s encimom prohormona konvertaze (PC), in nastankom produktov PCT-a: N-ProCT (57 Ak), katakalcin (21Ak) in njihovih kombinacij (Slika 1).

Poreklo sinteze z vnetjem inducirane PCT še ni razloženo. Mnenja so, da so glavni izvori PCT-a neuroendokrine celice pljuč ali prebavil, ker so bolniki s popolno tireoidektomijo v pogojih vnetja sposobni ustvarjati PCT (13). Z raziskavo na živalskem modelu sepse so v tkivih različnih organov našli mRNA, ki kodira nastanek kalcitonina. Imunoreaktivni kalcitonin so dokazali v pljučih, jetrih, ledvicah, možganih, trebušni

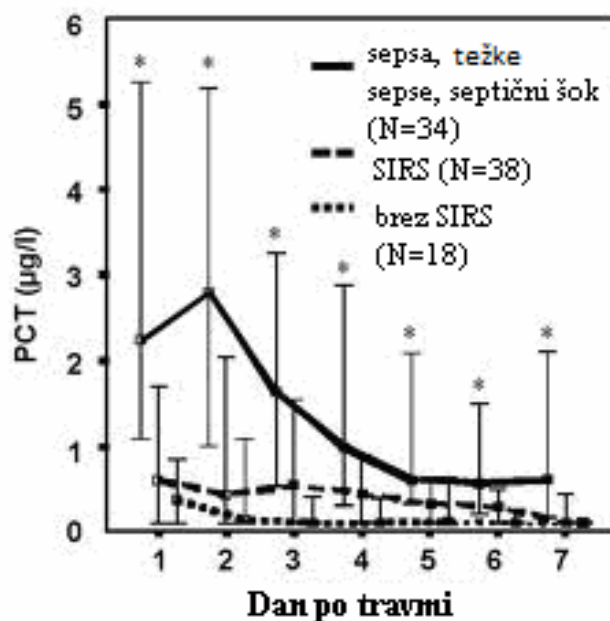
slinavki, tankem črevesju in srcu. Pri ljudeh so nedvoumno dokazali, da ob prisotnosti posrednikov vnetja PCT nastaja in se izplavlja iz maščobnih celic (15).

PCT je protein, katerega zvišane vrednosti najdemo pri težkih okužbah z bakterijami, glivami in paraziti, in v stanjih, ko sočasno odpove več organov. Avtoimunske, alergijske in virusne bolezni ne povzročajo dviga vrednosti PCT. Lokalne bakterijske infekcije in kronična vnetja nimajo značilnega porasta koncentracije. PCT je odziv na sistemsko vnetno reakcijo (Slika 3). Faktorji, ki vplivajo na višino PCT, vključujejo tip in velikost inficiranih organov, bakterijske vrste, stopnjo vnetja in stopnjo imunoreaktivnosti. Po kirurškem težkem posegu lahko zaznamo zvišan PCT samo pri nekaterih bolnikih prve štiri dni. Zvišane vrednosti PCT najdemo pri značilnih spremembah sistema odziva (SIRS) in MODS-o. PCT določamo kot akutni parameter v diferencialni diagnostiki bakterijskih in nebakterijskih okužb in vnetij, ter za spremljanje pacientov, ki so izpostavljeni tveganju okužb (po kirurškem posegu, transplantaciji organov, v obdobju imunosupresije, ob večkratnih traumah) ali pri bolnikih, ki potrebujejo intenzivno skrb, z namenom odkritja bakterijske okužbe ali zapletov sepse.

Zvišane vrednosti PCT najdemo pri bakterijskih okužbah s sistemskimi vnetnimi reakcijami, kot so npr. peritonitis, okužbe mehkih tkiv, sepsah, MODS, parazitske okužbe (malarija) pankreatitis bilijarne etiologije, bakterijski meningitis, novonastala sepsa in nekateri primeri po težkih posegih. Pri neobvladani okužbi lahko ostajajo zvišane več dni in tudi tednov.

Malo zvišane vrednosti, ki pa so še vedno v referenčnih mejah, najdemo pri virusnih okužbah, npr. hepatitis B, HIV, CMV, avtoimunske bolezni in kronične vnetne bolezni, alergijske reakcije (tip I-IV), lokalne bakterijske okužbe, čiri, površinska kolonizacija s mikrobi, ARDS toksičnega vzroka, toksični pankreatitis, virusni meningitis, mali do srednje velikosti posegi (16). PCT poraste po vbrizganju bakterijskega endotoksina zdravim prostovoljcem (13). Po intravenskem vbrizganju endotoksina (po Gramu negativne bakterije) pri zdravih prostovoljcih, se je v 3 do 6 urah koncentracija serumskega PCT značilno povečala (15, 17, 18).

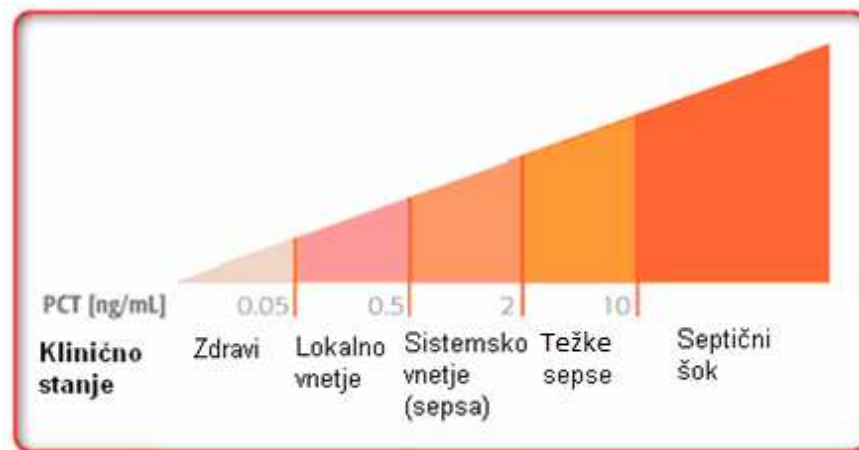
Zvišane koncentracije so prisotne 2 uri po vbrizganju endotoksina, naglo zvišanje pa je vidno 6-8 ur po vbrizganju, z doseženim platojem po 12 urah. Znotraj 2-3 dni pade koncentracija PCT do ravni referenčnih mej $< 0,5 \mu\text{g/L}$. Še dodatno vbrizganje endotoksina ne povzroči pomembnejšega zvišanja koncentracije PCT in ne prepreči znižanje koncentracije po 72 urah od prve doze.



Slika 2: Hitrost naraščanje PCT in sepsa (19)

Mnenja so, da je ta regulacija nastajanja PCT povezana s supresijo, faktorja tumorske nekroze (TNF- α), ki je stimulirana z endotoksinom in je v povezavi z umetno vbrizganim endotoksinom. Pri težkih sepsah ostajajo vrednosti PCT zvišane in koncentracije so sorazmerne teži klinične slike in aktivnosti imunske reakcije (13). Zmerno povečanje koncentracije PCT opazamo tudi pri politravmatiziranih in kirurških bolnikih. Pri obsežnejših kirurških posegih, kot je operacija na srcu, v prsni votlini ali v trebuhu, pričakujemo povečano koncentracijo PCT. Če koncentracija preseže 1,5 $\mu\text{g/L}$, to z večjo verjetnostjo napoveduje dodaten zaplet oz. okužbo. Povečanje koncentracije PCT opazamo tudi pri bolnikih v prvih dneh po presaditvi organov, predvsem jeter in ledvic. Koncentracije so v teh primerih povišane, vendar praviloma ne presežejo 3 do 5 $\mu\text{g/L}$. Pri šoku, ki ni posledica okužbe, se koncentracija PCT sicer zviša, vendar je manjša kot pri septičnem šoku (Slika 2, 3). Pri rakavih boleznih, alergijah, sistemskih vezivnotkivnih boleznih in različnih virusnih okužbah se PCT praviloma ne poveča čez mejno vrednost 0,5 $\mu\text{g/L}$, ne glede na sistemske znake vnetja. V posameznih primerih bolnikov z vaskulitisom opisujejo posamezni avtorji povečano koncentracijo PCT, vendar nikoli čez 3,3 $\mu\text{g/L}$. Izjema so lahko nekateri tumorji, kot so C-celični karcinom ščitnice, mikrocelularni karcinom pljuč in bronhialni tumor v celicah, katerih so dokazali zvišano koncentracijo PCT. Pri številnih bolnikih z rakavimi obolenji, s sistemskimi vezivnotkivnimi boleznimi ali pri bolnikih po presaditvi organov, ki dobivajo

imunosupresivna zdravila, zdravila proti bolečini, sredstva, ki preprečujejo strjevanje krvi, antibiotike ali zdravila, ki učinkujejo na žilno steno, ni opaznega neposrednega vpliva na koncentracijo PCT v serumu. Pri jemanju zdravil, ki vplivajo na sproščanje citokinov, se koncentracija lahko neznatno zviša (15).



Slika 3: Sorazmerna povezava koncentracije PCT s težo klinične slike (20)

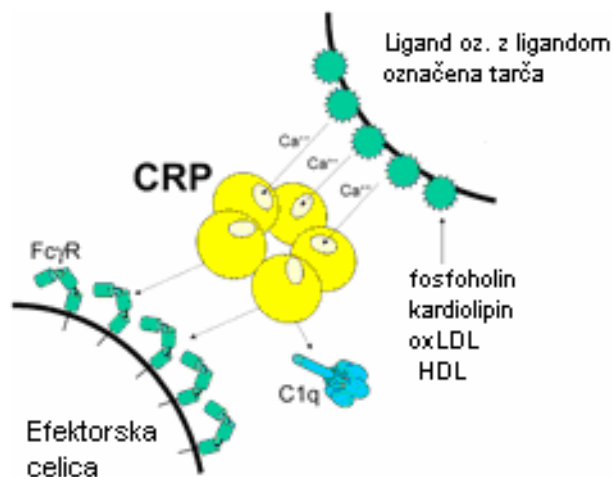
Drugi induktorji zvišanih vrednosti PCT so lahko interleukini in citokini. Aplikacija interleukina-2 (IL-2) lahko zviša vrednosti PCT-a, in IL-3 ne inducira niti PCT ni TNF- α , ampak inducira IL-6. Bakterijski endotoksini in TNF sta najmočnejša induktorja PCT pod eksperimentalnimi pogoji in vivo. Hiter dvig PCT po infekciji z endotoksini in medsebojni odnos s citokini (TNF) nam kažejo na tesno povezavo s indukcijo vnetnih citokinov. Pri akutnih vnetjih začnejo vrednosti PCT rasti nekaj ur po dvigu vrednosti IL-6 in TNF- α . Po zmanjšanju vnetja začne koncentracija PCT padati po padcu IL-6, ampak pred padcem CRP-a. V subakutnem in kroničnem vnetju imajo PCT, IL-6 in CRP pogosto podobno dinamiko. V primerjavi s citokini pa mehanizem „down“ regulacije ni opažen pri PCT. To je lahko vzrok, da ima PCT dobro, sorazmerno povezavo s klinično sliko in je dober bioznačevalec za spremljanje bolezni.

Citokini, (npr. TNF in IL-6), so stimulirani nespecifično, s traumami in z operacijskimi posegi, in velike dnevne spremembe lahko povzročijo akutno stimulacijo imunskega sistema, zaradi česar so nesprejemljivi za spremljanje poteka bolezni (13).

1.2.2. C-REAKTIVNI PROTEIN

Tillet in Francis sta leta 1930 opisali substanco, ki je bila prisotna pri akutno bolnih pacientih in se je bila sposobna povezati na C- polisaharide *Streptococcus pneumoniae* in jih aglutinirati. Leta 1941 so dokazali, da gre za beljakovino in jo poimenovali C-reaktivni protein (CRP) (21). C-reaktivni protein (CRP) je glikoprotein, uvrščen v družino pentraksina, sestavljen iz petih enakih polipeptidnih neglikoliziranih monomerov polipeptidne verige iz 206 aminokislin (22). Polipeptidi so nekovalentno povezani v obliko cikličnega polimera (21). Molekulska masa CRP je 118.000. Sintetizira se v jetrih in sicer pod normalnimi okoliščinami 1-10 mg/dan in v akutnem vnetju pod vplivom IL-6 > 1 g/dan. Čas pomembno zvišanih vrednosti v plazmi je 6-12 ur po sproženju, pri čemer gre za do 2000 krat zvečane koncentracije. Če ni prisoten induktor IL-6, se sinteza zmanjša na fiziološke vrednosti po 2-4 urah (14). Raziskovanja so pokazala na povezavo med koncentracijo CRP in tveganjem za razvoj akutnog infarkta miokarda (moški med 50 in 60 letom ter ženske med 60 in 70 letom življenja) in možganske kapi kot posledice ateroskleroze. Ateroskleroza ni samo mesto kopičenja maščob na arterijski steni, ampak kronični vnetno degenerativni proces. Pomembno vlogo pri inicijaciji, progresiji in destabilizaciji aterosklerotičnega plaka ima vnetje. CRP deluje v neadaptacijskem obrambnem mehanizmu, opsonizira mikroorganizme za fagocitozo. Možnost vezave velikega razpona endogenih in eksogenih ligandov olajša njihovo odstranjevanje iz tkiva in krvi. V prisotnosti kalcijevih ionov se lahko veže razen na polisaharide, ki so prisotni v večini bakterij, gliv in nekaterih parazitov, tudi na produkte nekrotičnih celic in membranskih fragmentov (fosfatidilholin, lecitin, DNA). V odsotnosti kalcijevih ionov se veže na polikatione (histone) (21, 22, 23). Vezan aktivira klasično pot komplementa. Veže se na receptorje limfocitov T in B in zvišuje aktivnost NK-celic (Slika 4). Biološki razpolovni čas je 19 ur in je nižji, ko se veže s ligandom. Razgrajuje se s topnimi proteazami na mestu vnetja. Koncentracija v zdravih odraslih osebah je pod 5 mg/L, a se lahko zviša pri vnetju in do 500 mg/L.

Zvišane vrednosti najdemo pri karcinomu debelega črevesa (kolorektalni), metastazah raka dojk, infarktu miokarda, postoperacijskih zapletih, okužbah živčnega sistema in neonatalni septikemiji. CRP se lahko zviša pri aterosklerozi in je takrat kazalec vnetja. CRP uporabljamo za razlikovanje bakterijskih od virusnih okužb (22).



Slika 4: Vezava CRP v prisotnosti kalcijevih ionov (24)

CRP je klasični protein akutne faze vnetja, eden od prvih prepoznanih v zgodovini. Zvišane koncentracije v serumu ali plazmi so posledica sproščanja vnetnih citokinov kot je IL-6. To vedno kaže na prisotnost vnetja, toda nekateri maligni tumorji kot je Hodgkinova bolezen in ledvični karcinom lahko sintetizirajo določene citokine kot odziv v akutnem obdobju, ki zajemajo vročino in beljakovino akutne faze vnetja, CRP. CRP uporabljamo za odkrivanje akutnega vnetnega procesa, za odkrivanje akutne organske bolezni kot je infarkt miokarda, globoke venske tromboze in okužbe ali kronične bolezni za odkrivanje rakave bolezni, revmatske bolezni in vnetne črevesne bolezni. Za spremljanje in diagnosticiranje je mikrobiološko določanje počasno in nemožno.

CRP najpogosteje uporabljamo za:

- določanje zapletov po kirurškem posegu
- hitro določanje okužb, ko je bolnik na intenzivnem zdravljenju, okužb novorojenčkov, v obdobju citotoksičnih terapij – povezave obdobja nevtropenij in pri transplantaciji kostnega mozga
- razlikovanje med virusnimi ali bakterijskimi boleznimi s povišano telesno temperaturo, kot so meningitis in pljučnica
- spremljanje odziva na antibakterijsko zdravljenje in za uporabo cenejših zdravil

- odkrivanje prisotnosti vnetja prezgodnje rupture membran
- sočasne bolezni tkiv
- pomoč pri zdravljenju revmatskih bolezni, in bolezni črevesja

Zvišana koncentracija CRP v plazmi je značilni kazalec akutnega ali kroničnega vnetja, povzročena z različnimi bakterijami (najmočnejši stimulans za produkcijo CRP), avtoimunskih in avtoimunskih kompleksnih bolezni, nekroze ali raka. V akutnih primerih, kot je travma, koncentracija v plazmi naraste v 6 urah in je najvišja po 48 urah z razpolovno dobo 48 ur. Eno določanje CRP je koristno za odkrivanje vnetja znotraj 3 dni. Zvišane vrednosti CRP vedno kažejo na vnetne spremembe, čeprav so vrednosti rahlo zvišane tudi pri kadilcih in maratoncih. Bakterijski endotoksin je velik stimulans sinteze akutne faze proteinov, vključno CRPja. Najvišje vrednosti povzročajo Gram-negativne bakterije celo do 500 mg/L. Gram pozitivne okužbe in paraziti pogosto povzročajo zmeren odziv okrog 100 mg/L. Virusne okužbe povzročajo najmanjši odziv pogosto ne več kot 50 mg/L in redko več od 10 mg/L. Raven CRP nam lahko kaže na interkurentno okužbo, če so že pred tem obstajale zvišane vrednosti zaradi vnetja v povezavi s kirurškim posegom ali kot posledica citotoksičnega zdravljenja. Akutna faza vnetja je nespecifičen odziv, zato je pomembno analizirati celotno klinično sliko z vsemi dogajanjem kot so npr. globoka venska tromboza in pljučne embolije, ki prav tako lahko povzročajo odgovor akutne faze vnetja. Kljub temu je CRP zelo koristna preiskava, saj lahko pokaže zaprte okužbe, katere so nedostopne mikrobiološki diagnostiki in za razliko od krvnih gojišč daje hiter rezultat. Razliko med virusnimi in bakterijskimi okužbami lahko pogojno določamo na osnovi višine CRP: pri okužbah dihalnih poti in meningitisu vrednosti CRP nad 100 mg/L jasno kažejo na bakterijsko poreklo. Normalna raven CRP je lahko prisotna pri manjših in lokaliziranih vnetjih in nekaterih kroničnih boleznih kot so: sistemski lupus eritematozus, progresivna sistemska skleroza, dermatitis in ulcerozni kolitis (14). Stopnja zvišanja CRP odraža količino ali aktivnost vnetnega tkiva in v akutnih vnetjih in v okužbah korelira s aktivnostjo bolezni. Izjema so kronična vnetja kot so revmatoidni artritis, Crohnova bolezen in revmatične polimialgije. Ravni CRP 10-50 mg/L so v povezavi s šibkimi vnetji kot so cistitis, bronhitis in absces, s kirurškimi posegi, poškodbami z infarktom miokarda, s trombozo globokih ven, z revmatičnimi boleznimi, pogosto z rakavimi spremembami in najpogosteje z virusnimi okužbami. Ravni CRP do 100 mg/L kažejo na resnejše bolezni in stopnjo vnetja, ki potrebuje intervencijo. Ravni CRP nad 100 mg/L, kažejo na resne procese in velikokrat pomenijo bakterijsko okužbo. Kinetika CRP zaostaja za

spremembami vnetne aktivnosti 12-24 ur, toda klinični simptomi so velikokrat še počasnejši, kot je primer v revmatoidnem artritisu 4-6 tednov. Zvišana vrednost CRP kljub terapiji kaže na neučinkovitost terapije, ki jo je potrebno zamenjati.

Koncentracije CRP lahko uporabljamo za spremljanje terapije v naslednjih primerih:

- za optimizacijo antibiotične terapije v številnih akutnih vnetjih
- za vpeljavo antibiotične terapije pri visoko rizičnih pacientih zaradi nezadostnosti mikrobioloških preiskav
- za prekinitev antibiotične terapije, ko se raven CRP spušča na normalno mejo
- za prilagoditev doze protivnetnih zdravil sorazmerno spremembam ravni CRP

Nenormalno znižane vrednosti CRP najdemo pri osebah, ki jemljejo zdravila za znižanje maščob (statini) ali zaradi jemanja acetilsalicilne kisline (16).

Epidemiološke študije so pokazale, da so zvišane vrednosti pozitivno povezane s tveganjem nastanka koronarnih bolezni. Uporaba CRP v te namene mora biti določena z metodami visoke analize občutljivosti (hs-CRP) z mejo detekcije pod 0,3 mg/L (13).

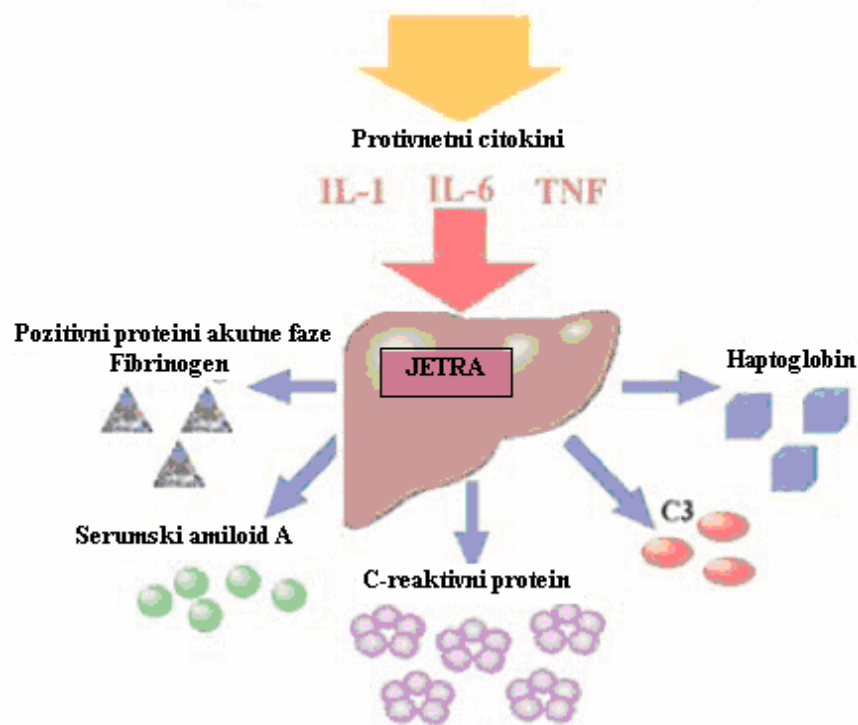
Glede na vrednosti visoko občutljivega CRP (angl. high sensitivity-hs-CRP), se oceni tveganje za srčno žilne bolezni:

- hs-CRP < 1 mg/L – nizko tveganje
- hs-CRP od 1-3 mg/L – zmerno tveganje
- hs-CRP > 3 mg/L – visoko tveganje (25)

Od proteinov akutne faze vnetja je CRP eden najbolj občutljivejših in hitrih pokazateljev (11,16). Zvišane vrednosti so lahko do 1000 krat višje od normalnega stanja, med tem ko se koncentracije ostalih reaktantov povečajo samo za nekaj krat. Izjema je edino feritin s povišanjem do 20 000 ng/mL (11).

Za prepoznavanje in spremljanje vnetja se še uporabljajo: povišana telesna temperatura, sedimentacija eritrocitov, število levkocitov in diferencialna krvna slika, elektroforeza serumskih proteinov in ocena α 1 in α 2 globulinov, SAA, IL-6, IL-8, IL-2 (16) (Slika 5).

VNETJE



Slika 5: Sinteza proteinov, proteini akutne faze (26)

Povišana temperatura je nezanesljiv pokazatelj, saj je pod vplivom mnogih dejavnikov, ne pojavi se pri vseh navedenih boleznih, zniža se ob uporabi antipiretikov neodvisno od vnetnega procesa, lahko je pod vplivom sproščenega pirogena levkocitov (granulocitov v akutnem ali monocitov v kroničnem vnetju) ali posledica poškodbe možganov. Glede na diferencialno diagnozo razlikujemo 4 tipe povišane telesne temperature:

- povratna temperatura: gre za dvig in spust za 1-2 °C dnevno, npr. pri gnojnem vnetju in tuberkulozi
- septična temperatura: gre za dvig za 2-3 °C, pogosto z vročico in mraženjem npr. pri pneumoniji in cistitisu
- trajna temperatura: nespremenjeno je visoka, z dnevnim nihanjem za manj kot 1°C, pogosta je pri virusnih okužbah, bakterijskem endokarditisu, rakavim spremembama, tifusu in boleznim centralnega živčnega sistema

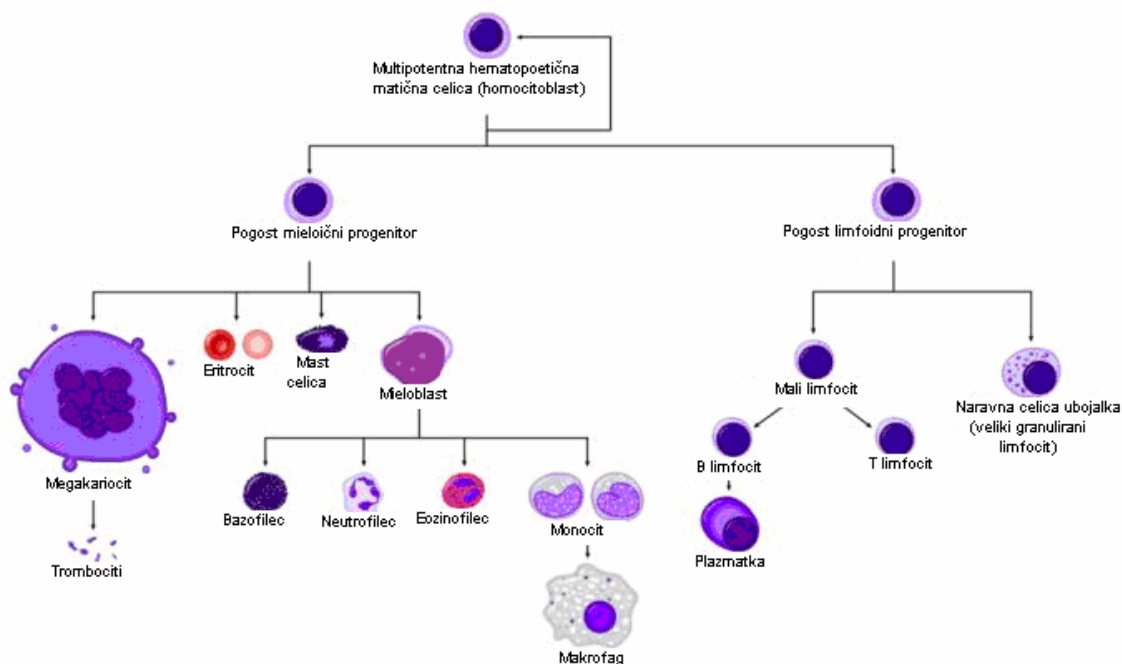
▪ bifazna temperatura: obdobja povišane temperature so prekinjena z obdobji brez zvišane temperature za dan ali več, kar je pogosto prisotno pri Hodgkinevem limfomu, boreliozni in malariji

Najpogostejši vzroki zvišane temperature, za katero vzroki niso določeni več kot teden dni so: 40 % zaradi okužb, 20 % zaradi rakavih bolezni, 20 % zaradi bolezni tkiv in 10 % pod vplivom zdravil ali jetrnih bolezni ter v 10 % vzrok obstaja nepotrjen (16).

1.2.3. LEVKOCITI

Levkociti kot vse krvne celice nastajajo pri človeku v krvotvornem ali hematopoetskem tkivu. Pri odraslem človeku sta to rdeči kostni mozeg in limfatično tkivo. Pri zdravem človeku nastajajo samo v kostnem mozgu: eritrociti, granulociti, monociti in megakariociti. V kostnem mozgu nastajajo tudi limfociti. Kostni mozeg je v kosteh že v petem fetalnem mesecu, ob rojstvu je rdeči v vseh kosteh, po četrtem letu starosti pa ga začne nadomeščati rumeni kostni mozeg in ga delajo predvsem maščobne celice. Retikulinska vlakna in retikulumske celice delajo oporno tkivo kostnemu mozgu. Kapilarno mrežje v kostnem mozgu gradi sinusoide, preko katerih pristopajo dozorele krvne celice v kri. Matičnim celicam v kostnem mozgu hematopoetsko mikrookolje omogoča proliferacijo in diferenciacijo. Matičnih celic ne moremo prepoznati, večina meni da so podobne malim limfocitom. Glavna lastnost matičnih celic je sposobnost samoobnove, ona je pluripotentna, z delitvijo se obnavlja, po drugi strani dozoreva v multipotentne matične celice: mieloične in limfatične. Od multipotentne matične celice mieloične vrste dozorevajo matične celice rdeče vrste, nevtrofilno - monocitne, eozinofilne in bazofilne vrste ter megakariocitno - trombocitne vrste. Iz multipotentne matične celice limfatične vrste med posebnom transformacijo se razvijejo v limfatičnem tkivu limfociti B in T ter plazmatke (Slika 6). Zorenje krvnih celic uravnavano je ravnim dejavnikom. Faktor ki spodbuja razvoj predhodnikov monocitov je CSF-1; granulocitov G-CSF; granulocitov in monocitov GM-CSF; monocitov M-CSF. Faktor ki spodbuja nastanek granulocitov monocitov in eritrocitov je IL-3. Eritropoetin spodbuja nastanek eritrocitov. Krvne celice so še pod vplivom drugih dejavnikov kot sta interleukini in interferoni ki imajo vlogo pri spodbujanju in zaviranju zorenja krvnih celic (12). En od pomembnih limfokinov je TNF, kateri obstaja v α in β obliki. TNF α je sestavljen od 157 aminokislin in se producira s pomočjo makrofagov, eozinofilcev in NK celic. TNF β je limfotoksin in je sestavljen od

171 aminokislina. TNF-ji imajo možnost in vivo povzročiti hemoragično nekrozo določenih tumorskih celic brez poškodbe normalnih celic (21).



Slika 6: Hematopoeza (27)

Matične celice v kostnem mozgu imajo sposobnost delitve in dozorevanja. Med dozorevanjem se spreminja oblika in velikost celic. Poleg tega se spreminjajo tudi antigeni na njihovi površini in v citoplazmi (diferencijski antigeni) ki so večinoma makromolekule. Če proti njim izdelamo protitelesa, jih lahko uporabljamo za identifikacijo celic (11). Monoklonska protitelesa, ki omogočajo prikazovanje tako dobro opredeljenih levkocitnih antigenov sistematizirajo jih v skupine CD (angl.Cluster of Differentiation). Vsa monoklonska protitelesa, ki imajo isto številko CD, so uporabna za prikazovanje istega, dobro opredeljenega antigena na površini levkocitov (21).

Glede na morfološke lastnosti in funkcijo v telesu, ločimo: granulocite, monocite in limfocite.

1.2.3.1. GRANULOCITI

Granulociti, glede na značilne granule so nevtrofilni granulociti, nevtrofilci, eozinofilni granulociti ali eozinofilci in bazofilni granulociti ali bazofilci. Dozorevanjem matičnih celic v kostnem mozgu, prva granulocitna celica je mieloblast, po tem pa sledi promielocit, mielocit, metamielocit, paličasti granulocit ki dozori do končne oblike in je to segmentirani granulocit ali segmentiranec. V periferno kri jih prestopi le manjši del, medtem ko jih večina ostane uskladiščena v kostnem mozgu i se po potrebi lahko sprostijo v kri (12). Fagociti, nevtrofilni granulociti in tkivni makrofagi, so prva obramba pred okužbami in tumorji ter pomembni dejavniki vnetja. Med fagocitozo fagocit prepozna, prebavi in uniči tujek (23). Nevtrofilni granulociti so hitrejši od makrofagov in se takoj odzovejo na medijatorje vnetja. Za odziv nevtrofilcev, vnetni medijatorji sprožijo adhezijo, migracijo nevtrofilcev iz krvnega obtoka v tkivo, kemotakso, fagocitozo in znotrajcelično ubijanje. Odziv makrofagov je bolj zapleten, ker je odvisen od dejavnikov, ki jih celice izločajo v okolje (citokini, komponente komplemента, koagulacijski dejavniki, encimi in njihovi inhibitorji, prenašalni proteini, bioaktivni lipidi, reaktivne kisikove spojine, dušikovi oksidi in druge bioaktivne snovi z nižjo molekulsko maso) (21). Nevtrofilci ostanejo v krvi le kratek čas, del jih kroži v krvnem obtoku in del se zadržuje na žilni steni. Po 6-7 urah jih del iz krvi pride v okolna tkiva kje preživijo 2-4 dni. V tkivih, pred vsem v sluznicah, nevtrofilci fagocitirajo bakterije in druge mikrobe, delno pa tudi anorganske snovi in celo nekatere celice. Nevtrofilci s pomočjo aktivnega gibanja pridejo do vnetnih tkiv (12). Citoplazma nevtrofilcev je napolnjena z azurofilnimi in specifičnimi zrn (lizosomi). Lizosomi imajo v sebi številne razgrajevalne encime, ki delujejo lahko zunaj ali znotraj celice. Nevtrofilci so učinkoviti fagociti in se odzivajo na številne kemične dražljaje. Za njihovo antimikrobno delovanje so potrebne kompleksne interakcije s protitelesi, komplemantom in kemotaktičnimi faktorji. 5-90 % nevtrofilcev ima receptorje za protitelesa razreda IgG in za komponente komplemента, kar pomaga fagocitozo opsoniziranih delcev. Nevtrofilci, ko pridejo na vnetišče, lahko sprostijo vsebino citoplazemskih zrn v zunajcelični prostor. Zunajcelična degranulacija bistveno prispeva k vnetju zaradi prisotnosti nevtralnih in kislih proteaz, ki lahko aktivirajo komplement, povečajo prepusnost žilja ter razgradijo elastin, kolagen in različne druge proteine. Nevtrofilci so zato najpomembnejše celice v akutnem vnetišču. Da lahko uresničijo svoje

funkcije, se nevtrofilci vežejo na žilni endotelij in prehajajo skozi stene tankih žil ter potujejo proti delcem, ki jih bodo fagocitirali (2).

Eozinofilci so tudi uskladiščeni v kostnem mozgu in le manjši del jih prehaja v kri. Enako kot nevtrofilci prehajajo iz krvi v tkiva in so predvsem v podkožju in v sluznicah. Eozinofilci fagocitirajo bakterije in delce - tudi imunske komplekse. Pomembna je njihova vloga pred vsem v zgodnji preobčutljivosti in obrambi organizma pred paraziti (12). Velika eozinofilna zrna v citoplazmi eozinofilcev so bogata s bazičnimi beljakovinami, kje se vežejo kislina barvila kot je eozin. Najpomembnejša bazična proteina v eozinofilnih zrnih sta poglavitni bazični protein in eozinofilni kationski protein. Eozinofilci so pomembne efektorske celice pri celični citotoksičnosti, poglavitni bazični protein je toksičen za helminte. Eozinofilci imajo receptorje za razred imunoglobulinov IgE in zato močno vežejo z IgE prekrute delce. Bazični protein je toksičen za epitelij dihal. Prispevajo k okvari tkiva in vnetja. Razmnoževanje in diferenciacijo spodbujajo citokini, katere izločajo aktivirane celice T-pomagalka, zlasti IL-5 (2).

Zvišane vrednosti eozinofilcev so pogosto v povezavi s parazitskimi okužbami, alergijskimi reakcijami in hematološkimi rakavimi spremembami (11). Bazofilcev je relativno malo in se nahajajo predvsem v tkivih. Pomembno vlogo imajo pri anafilaktični reakciji, ker se na membrano bazofilcev lahko vežejo IgE in se med drugimi medijatorji vnetja sprosti histamin. Tkivni bazofilci ali pistanke (mastociti), so celice ki jih najdemo v limfatičnem tkivu, sluznicah in kostnem mozgu, podobni so bazofilcem in verjetno se razvijejo iz bazofilcev, kot makrofagi iz monocitov (12). Zvišane vrednosti bazofilcev najdemo pri hematoloških rakavih boleznih ali pri nekaterih vnetnih in alergijskih reakcijah (11).

1.2.3.2. LIMFOCITI

Limfociti B in T nastanejo iz multipotentne, v limfatično vrsto usmerjene matične celice. Celica pre-T (T-timus), zapusti kostni mozeg in zori pretežno v skorji prižljeca. Zori v zgodnji timocit, nezrel ali skupni in po tem v zreli timocit. Kostni mozeg in prižljec sta primarna limfatična organa. Dozorevanje in preobrazba zrelih limfocitov T po stiku s specifičnim antigenom poteka v sekundarnih ali perifernih limfatičnih organih (bezgavke, vranica in drugo limfatično tkivo). Nastanejo veliki imunoblasti T ki dozori v imunocite T. Nekateri dozori do spominskih celic T, drugi do končnih celic T, kot so limfociti T

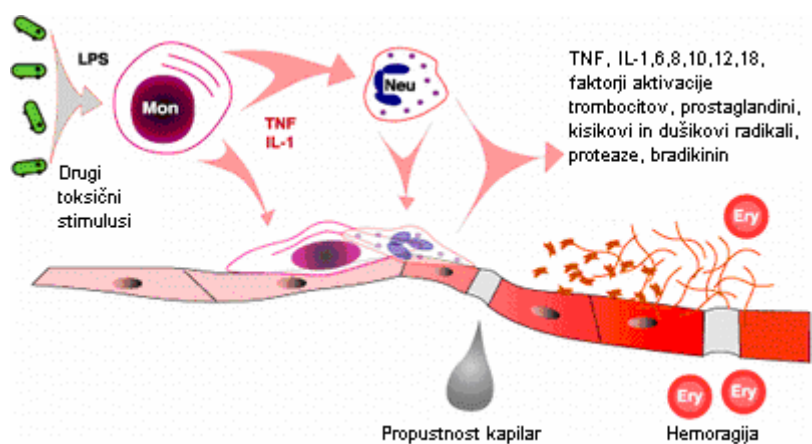
celice pomagalk, limfociti T celice zaviralke in limfociti T celice ubijalke. Spominski limfociti T ohranijo spomin na antigen in se po prvem stiku z istim antigenom zopet preobrazijo v imunoblaste T. Limfocite T najdemo v okolici primarnih in sekundarnih limfatičnih foliklov parakortikalnega dela bezgavke ter v vranici v beli pulpi ob centralni arteriji. Limfociti T lahko po krvnem obtoku pridejo iz sekundarnih limfatičnih organov v kri.

Limfociti B nastanejo v kostnem mozgu iz multipotentne matične celice, usmerjene v limfatično vrsto. V kostnem mozgu se deli in zori do celice pre-B (B=bone marrow ali fabricijeva burza) do zgodnjega nezrelega, vmesnega in zrelega limfocita B. Zreli limfociti B preidejo v kri in sekundarne limfatične organe. V bezgavki so pretežno v skorji v primarnih limfatičnih foliklih, v vranici pa v oddaljenem periarterijskem predelu v primarnih in sekundarnih limfatičnih foliklih. Limfociti B se pod vplivom antigena, limfocitov T in makrofagov preobrazijo v velike imunoblaste B, nastanejo sekundarni limfatični folikli ali germinalni centri s centroblasti, centrociti in spominskami celicami B. Imunoblast se deli in zori od plazmoblasta, plazmocita v plazmatke in limfoplazmocitoidne celice (12). Plazmatka je poglobljena celica humoralne imunosti. Ima obilno citoplazmo s močno izraženim, kolesasto urejenim zrnatim endoplazemskim retikulomom, kje nastajajo protitelesa in drugi proteini (2). Plazmatke živijo le nekaj dni v nasprotju 10% limfocitov T, spominskih limfocitov ki živijo zelo dolgo. V germinalnih centrih iz centroblastov nastanejo tudi spominski limfociti B (12). Zvišane vrednosti limfocitov pogosto so v povezavi s akutnimi virusnimi infekcijami in pri bolnikih s tuberkulozo, brucelozo in pertusisom kot tudi s hematološkimi in imunološkimi boleznimi (11).

1.2.3.3. MONOCITI

Monociti nastajajo iz matičnih celic v kostnem mozgu. Prva celica v kostnem mozgu je monoblast, potem promonocit in monocit. Monociti se v krvi zadržujejo le od 20 do 40 ur in iz krvi prehajajo v tkiva. V tkivih se preobrazijo v makrofage - histiocite, ki imajo življenjsko dobo več mesecev ali celo več let. Makrofage imenujemo različno, glede na njihovo mesto in videz. Največ jih je v kostnem mozgu, sluznicah in limfatičnih organih, predvsem v vranici. V pljučih so alveolarni makrofagi v jetrih Kupfferjeve celice, v osrednjem živčevju mikroglijske celice (12). Ko monociti dospejo v različna tkiva, se vključujejo številne spremembe: celica se zveča 5 do 10 krat, zveča se število

znotrajceličnih organelov, postane učinkovito fagocitna, izloča večje količine topnih faktorjev in postane makrofag. Makrofagi zajemajo in požrejo tuje delce: mikrobe, makromolekule, antigene in lastne poškodovane ali mrtve celice npr. ostarele eritrocite. Mononuklearni fagociti izdelujejo citokine, ki prebavljajo druge vnetne celice, nevtrofilce ter pospešujejo obnovo okvarjenega tkiva. Makrofagi izražajo na svoji površini tuje antigene in so za to antigen predstavljajoče celice specifičnim limfocitom. Aktivatorji makrofagov z vezavo na membranske receptorje, ki nato prenesejo signal v celico, so citokini, ki jih izločajo aktivirani limfociti T, predvsem IL-2, INF γ in endotoksini. Pri humoralnem imunskem odzivu se npr. mikrobi prekrijejo ali opsonizirajo s protitelesi in komplementnimi proteini (C3b). Makrofagi, ker imajo receptorje za protitelesa in nekatere proteine komplemента, prekrute delce fagocitirajo lažje kot neprekrute in tako sodelujejo v humoralnem imunskem odzivu (2). Makrofagi uravnavajo vnetni odziv posredno, tako da spodbujajo limfocite T in B in fibroblaste, ter sodelujejo pri hemopoezi, hemostazi, fibrinolizi in celjenju ran. Med fagocitozo, se plazemska membrana zavija v citoplazmo in omeji fagosom in s pomočjo prenašalcev elektronov, NADPH-oksidaža katalizira enoelektronsko redukcijo kisika v superoksid, pa tudi dvoelektronsko redukcijo kisika v vodikov peroksid (H₂O₂). Aktivaciji NADPH-oksidaže sledi oksidativni izbruh, hiter nastanek reaktivnih kisikovih spojin (ROS), kot so vodikov peroksid, ozon, singletni kisik, hidroksilni radikal in hipoklorasta kislina. NADPH-oksidaža in oksidativni izbruh imata v fagocitih ključno vlogo pri uničenju zajetih mikrobov v smeri halogenacije in oksidacije njihovih značilnih kemijskih skupin. Aktivaciji NADPH-oksidaže sledi degranulacija citoplazemskih primarnih (azurofilnih) in sekundarnih granul s fagosomi. Primarne azurofilne granule vsebujejo veliko količino mijeloperoksidaze (MPO), ki z NADPH-oksidažo tvori od kisika odvisen citotoksični ustroj. MPO uporabi vodikov peroksid in v prisotnosti halogenidnih ionov katalizira izdelovanje hipohalogenjskih kislin in elementarnih halogenov. Granule vsebujejo tudi številne protimikrobne dejavnike in proteaze, ki skupaj z ROS v fagolizosomih zajete mikrobe smrtno poškodujejo in razgradijo (28). Monocitoza je pogosto v povezavi s hematološkimi boleznimi, kot je kronična mielomonocitna levkemija, in nekaterimi infekcijskimi procesi: TBC, rikecioze in listerioze (11).



Slika 7: Vloga levkocitov pri sepsah (29)

Akutna vnetna mikrobna okužba je najpogostejši vzrok dviga levkocitov nad $15\ 000/\mu\text{L}$, od katerih jih je več kot 80 % nevtrofilcev, tudi s prisotnimi nesegmentiranimi nevtrofilci, in so včasih edini znak vnetja. Nekroza tkiva in sterilno vnetje spremljajo malo zvišani levkociti, redko s pojavom paličastih levkocitov, med tem ko je pri kroničnem vnetje pogosto normalno število levkocitov ali so rahlo zvišano število levkocitov, pogosto z monocitozo. Pri akutni alergijski reakciji in parazitozi je število levkocitov pogosto normalno, ali rahlo zvišano, pogosto s eozinofilijo. Pri virusnih infekcijah so levkociti lahko v referenčnih mejah, rahlo zvišani ali znižani, velikokrat s limfocitozo. Številne vnetne reakcije in okužbe in celo nekatere septične primere spremlja normalno število levkocitov, ki ne odražajo intenzivnosti in obsega vnetja (16).

2. NAMEN DELA

Bolnike z sepsa je potrebno hitro zdraviti s ciljno terapijo. Bakteriološke preiskave so počasne in se zdravljenje začne pred bakteriološko potrditvijo povzročitelja, zato uporabljamo druge laboratorijske kazalce vnetja, med njimi sedimentacijo eritrocitov, C-reaktivni protein, prokalcitonin, število levkocitov, ki pa imajo različno diagnostično uporabnost v prepoznavi bolnikov z bakteriemijo in sepsa.

Analizirali bomo rezultate PCT, CRP in Lkc bolnikov, ki so jim bili navedeni parametri določeni ob prvi analizi vzorcev polne krvi oz. seruma pri sumu na sepsa. Izračunali bomo pozitivno napovedno vrednost (PNV) in negativno napovedno vrednost (NNV). Posebno pozornost bomo dali ugotavljanju diagnostične občutljivosti pri bolnikih, ki imajo potrjeno diagnozo sepse, in ugotavljanju diagnostične specifičnosti PCT pri zdravih, oz. pri pacientih brez sepse.

Z izračunom diagnostične občutljivosti in diagnostične specifičnosti bomo poskusili potrditi, da je PCT pomembni kazalec bakterijskih okužb, bakteriemije in sepse.

3. METODE IN MATERIALI

3.1. METODE DELA

3.1.1. Retrospektivni pregled dokumentacije

V klinično retrospektivno in opazovalno raziskavo smo na osnovi pregleda 800 kartotek vključili rezultate 255 bolnikov, ki so v obdobju od julija 2010 do avgusta 2011 bili prvič in sočasno napoteni na preiskave PCT, CRP in Lkc v Medicinsko biokemični laboratorij Opče bolnice „Dr. Tomislav Bardek“ v Koprivnici.

Bolniki so imeli ob prvem določanju PCT, CRP in Lkc verjetno klinične znake hudega vnetja in zaradi tega lahko sum na sepso. Napoteni v laboratorij so bili ali ob prvem obisku v bolnišnico, ali pa ob nastopu kliničnih znakov, ki so bili posledica posameznih posegov v zadnjem obdobju v bolnišnici (kirurški poseg, porod...).

Glede na končne diagnoze, ki so določene in potrjene z mikrobiološkimi izvidi, smo bolnike razdelili v tri skupine. V prvi skupini (n=11) so bili bolniki s sepso, potrjeno z mikrobiološko diagnozo, v drugi skupini (n=7) so bili bolniki, pri katerih so bila krvna gojišča pozitivna in se sepsa še ni razvila, v tretjo skupino (n=237) smo uvrstili bolnike z virusnimi, parazitnimi ali vnetnimi boleznimi vendar brez sepse krvna gojišča so bila sterilna.

3.1.2. Napovedne vrednosti

Glede na občutljivost in specifičnost (ločljivost) rezultatov analize ali preiskave, lahko izračunamo njihovo pozitivno napovedno vrednost (PNV) in negativno napovedno vrednost (NNV). To so značilnosti rezultatov in ne analize.

PNV ima ponavadi večji pomen od NNV. PNV predstavlja verjetnost, da gre za bolezen, če ima pacient pozitiven rezultat preiskave. Idealna preiskava bi morala prepoznati vse osebe z boleznijo ali brez nje. Karakteristike zdravih in bolnih, ki jih določamo s preiskavo ali testom, se ne smejo prekrivati (30). PNV je odvisna od pogostosti bolezni (verjetnosti nekega dogodka pridobljenega z epidemiološkimi raziskavami ali nekaterim drugim testom), v preiskovani populaciji. Pri zelo majhni pogostosti neke bolezni bo PNV rezultatov analize ali preiskave vedno zelo majhna ne glede na visoko specifičnost in občutljivost uporabljene analize. PNV izračunamo kot količnik resnično pozitivnih (patoloških) rezultatov (pri bolnikih) in vseh pozitivnih rezultatov pri dani pogostosti

bolezni. NNV je verjetnost, da ne gre za bolezen, če dobimo negativen rezultat testa. NNV je tudi odvisna od pogostosti bolezni v preiskovani populaciji. Izračunamo jo kot količnik pričakovano pravilno negativnih rezultatov pri zdravih in vseh negativnih rezultatov pri dani pogostosti bolezni. Pri zelo majhni pogostosti neke bolezni bo NNV rezultatov zelo zanesljivo napovedala odsotnost bolezni. PNV in NNV običajno izražamo v odstotkih (31).

3.1.3. Diagnostična specifičnost in diagnostična občutljivost

Diagnostična specifičnost pove delež zdravih (ali bolnih z drugo boleznijo) z nepatološkim izvidom (16). Specifičnost (ločljivost) rezultatov testa podaja verjetnost, da dobimo negativen rezultat testa, ko bolezen ni prisotna, in ni odvisna od pogostosti bolezni v preiskovani populaciji. Diagnostično specifičnost izračunamo kot količnik resnično (pričakovano) negativnih rezultatov in rezultatov vseh zdravih oseb (31). Diagnostična specifičnost in diagnostična občutljivost sta v večini parametrov povezani preko razmejitev med zdravo in bolno populacijo. Obe bi morali biti čim bližje 100%, kar pa večinoma ni dosegljivo. Diagnostična občutljivost rezultatov testa senzitivnost, pove delež bolnikov z iskano boleznijo, ki imajo patološki rezultat in podaja verjetnost, da dobimo pozitiven rezultat, ko je bolezen prisotna. Neodvisna je od pogostosti bolezni v preiskovani populaciji. Izračunamo jo kot količnik resnično pozitivnih rezultatov in rezultatov vseh bolnih oseb in se izraža v odstotkih (31). Občutljivost je večja, če odkriva nižje koncentracije, in če zgodneje odkriva povzročitelja in njegove označevalce (30).

FORMULE ZA IZRAČUN: (16)

Diagnostična občutljivost (%) = $A / (A+B)$

Diagnostična specifičnost (%) = $D / (C+D)$

Diagnostična uporabnost (%) = $(A+D) / (A+B+C+D)$

PNV (%) = $A / (A+C)$

NNV (%) = $D / (B+D)$

A = bolni (+) rezultat

B = bolni (-) rezultat

C = zdravi (+) rezultat

D = zdravi (-) rezultat

3.2. LABORATORIJSKE METODE

Vse preiskave so bile opravljene v Medicinsko biokemičnem laboratoriju v Opći bolnici „Dr. Tomislav Bardek“ v Koprivnici. Medicinsko biokemični laboratorij dela skladno s standardom ISO 15189 po katerem je akreditiran od 01.03.2010

3.2.1. Prokalcitonin

Analize PCT-a so bile narejene na biokemičnem analizatorju Cobas e411 z Elecsis BRAHMS PCT testom za kvantitativno določanje PCT-a v humanem serumu.

Imunokemično sendvič metodo za določanje prokalcitonina v serumu in plazmi sestavlja več korakov:

- 1. inkubacija: Antigen iz vzorca se poveže z biotiniranim monoklonskim za PCT specifičnim protitelesom in z rutenijevim kompleksom označenim monoklonskim protitelesom za drug epitop PCT, tako da nastane sendvič kompleks.
- 2. inkubacija: Po dodajanju s streptavidinom prekritih mikrodelcev se nanje veže kompleks iz prvega koraka preko biotina.
- Reakcijska mešanica je aspirirana v merilno celico, kjer se mikrodelci ujamejo na površino elektrode. Nevezane snovi se sperejo. Aplikacija napetosti na elektrode inducira kemiluminiscenco, rutenijevega kompleksa ki jo merimo s pomočjo fotodetektorja.
- Rezultati so izračunani s pomočjo kalibracijske krivulje, katera je specifično narejena s pomočjo dveh kalibracijskih stopenj.

Referenčni interval: < 0,1 µg/L

Linearnost: Test je linearen 0,02-100 µg/L (32)

3.2.2. C-reaktivni protein

Analize vzorcev za CRP so bile narejene na biokemičnem analizatorju Architect ci4100 z imunokemično aglutinacijo na lateksu med antigenom iz vzorca in protitelesi proti CRP-u.

Vzorec: serum

Referenčni interval: serum < 5mg/L

Linearno območje: 0,2 - 480 mg/L (33)

3.2.3. Levkociti

Levkociti so bili določeni s pomočjo hematološkega analizatorja CELL-DYN Ruby v venski ali kapilarni krvi, odvzeti z Na-EDTA ali K-EDTA kot del kompletne krvne slike. Kompletna krvna slika zajema število eritrocitov, levkocitov (+ DKS) in trombocitov, določanje vrednosti hemoglobina in hematokrita, ter izračunane eritrocitne konstante.

Optično merjenje vseh celic poteka s pomočjo sipanja svetlobe pod različnimi koti:

- 0° Light Loss - velikost
- 7° Scatter - kompleksnost
- 90° Scatter - lobularnost
- 90° D Scatter - granuliranost

Določanje koncentracije hemoglobina: po lizi eritrocitov, hemoglobin se določa fotometrijski na 555 nm (34).

3.3. MATERIALI IN OPREMA ZA MAGISTRSKO NALOGO

3.3.1. Podatki o pacientih

Na posnovi pregleda 800 kartotek so bili v študijo vključeni rezultati 255 pacientov.

Vključitveni pogoji so bili:

- rezultati preiskav PCT, CRP in Lkc ne glede na spol in starost
- rezultati preiskav bolnika, ki je bil prvič napoten v medicinsko biokemični laboratorij
- analize vzorcev krvi, sočasno so morala biti določena v vsa tri testa PCT, CRP in Lkc
- določena in potrjena diagnoza

3.3.2. Drugo

- informacijski sistem bolnišnice in medicinsko biokemičnega laboratorija
- arhiv bolnišnice; medicinsko biokemičnega laboratorija, oddelka intenzivnega zdravljenja, pediatričnega in infekcijskega oddelka
- osebni računalnik z računalniškim programom Excel

4. REZULTATI

Na osnovi pregleda kartotek več kot 800 bolnikov, smo v raziskavo vključili 255 bolnikov, pri katerih so bili določeni PCT, CRP in Lkc zaradi možnega obstoja ali razvoja sepse.

Razlogi so bili naslednji:

- največkrat je bil manjkajoči posamezni parameter analize (PCT, CRP in Lkc)
- pacient ni bil prvič napoten na določene preiskave
- večkrat so se ponavljali isti pacienti (kontrola terapije, spremembe klinične slike zaradi zapletov v smislu napredovanja bolezni, spremeščanje na drugi oddelek)
- manjkajoča diagnoza

Od 255 bolnikov, je bila sepsa potrjena pri 11 (4,31%) od katerih je bilo 5/11 moških in 6/11 žensk, po starosti 6/11 odraslih in 5/11 otrok.

Bakteriemija je bila ugotovljena pri 7/255 bolnikov, in sicer 4/7 moških in 3/7 žensk, vsi so bili otroci (Preglednica I).

Preglednica I: Prikaz značilnosti preiskovancev

PREISKOVANCI	SEPSA	BAKTERIEMIJA	DRUGE BOLEZNI	SKUPAJ
ŠTEVILO	N=11	N=7	N=237	N=255
SPOL m/ž	5/6	4/3	129/108	138/117
STAROST odrasli/otroci	6/5	0/7	171/66	177/78

Poleg sepse in bakteriemije je bilo določeno 237/255 bolnikov s drugimi diagnozami. Največ, 102/237 je bilo bolnikov z simptomi, znaki in nenormalni kliničnimi in laboratorijskimi izvidi nerazvrščenih drugam (R00-R99), od katerih je najpogostejša bila vročica neznanega povzročitelja (R50), 66/102 bolnikov. 58/237 bolnikov je bilo z boleznimi dihalnega sistema (J00-J99), od katerih je bila najpogostejša pljučnica pri 34 bolnikov, neznanega povzročitelja (J18), 32/58 in s bakterijsko okužbo 2/58 bolnikov. Sledile so jih bolezni krvnega obtoka (I00-I99), 22/237 bolnikov, od katerih je bilo največ

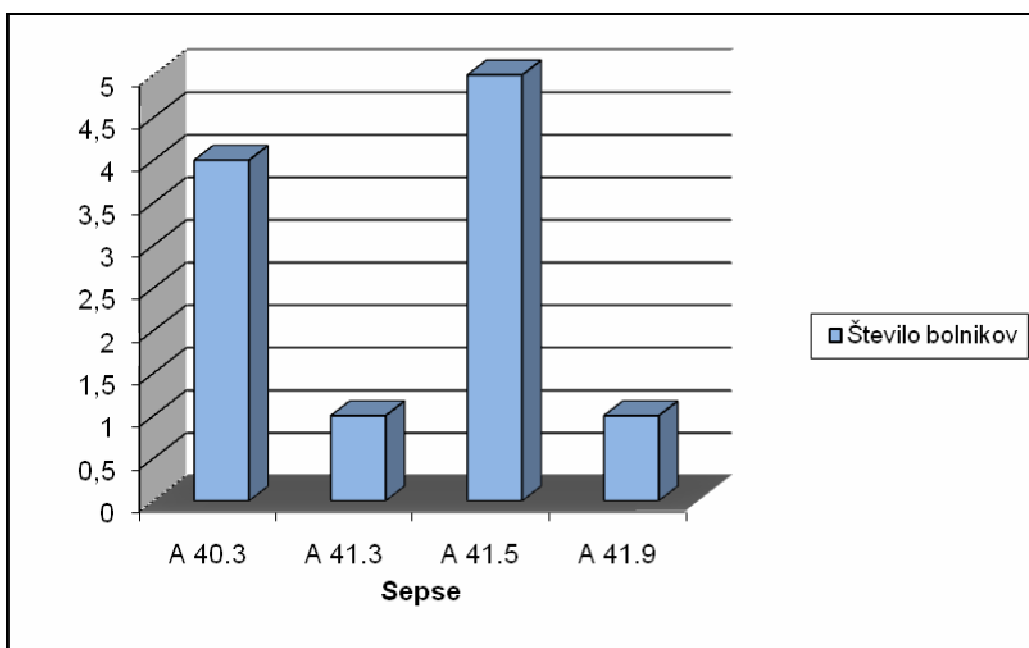
5/22 z angino pectoris (I20), in na četrtem mestu so bili bolniki, pri katerih so bile določene sepse 11/19 in septikemije 7/19 (A00-B99), razen ene, pri kateri je bila diagnosticirana TBC (Preglednica II).

Preglednica II: Število bolnikov s posameznimi diagnozami

A/B	C	D	E	F	G	I	J18/J	K	L	M	N	R50/R	S/T
11/19	9	1	1	1	2	5/22	32/58	19	2	2	7	66/102	10

Sepsa je bila potrjena v 11/255 primerih. Povzročitelji sepse so bili:

- Streptococcus pneumoniae (A 40.3) pri 4/11 bolnikov
- Haemophilus influenzae (A 41.3) pri enem/11 bolnikov
- Gram negativni mikrobi (A 41.5) 5/11 bolnikov
- Septični šok (nespecificirani) (A 41.9) en/11 bolnikov (Graf 1)



Graf 1: Prikaz števila bolnikov, glede na povzročitelja sepse

Povzročitelji sepse, so povzročili sproščanje veliko višjih koncentracij PCT-a kot pri lokalnih vnetjih. Največje povprečne koncentracije PCT-a so povzročili Streptococci pneumoniae (A 40.3), 119,41 µg/L in Gram negativni mikrobi (A 41.5) 117,09 µg/L najnižje koncentracije (3,08 µg/L PCT-a) smo zasledili pri bakteriemijah neznanega povzročitelja (A 49.9) (Preglednica III).

Preglednica III: Povprečja koncentracij PCT pri sepsah in bakteriemijah

DIAGNOZE SEPSE	Povprečje koncentracij PCT µg/L
A 40.3	119,41
A 41.3	28,3
A 41.5	117,09
A 41.9	26,68
A 49.9	3,08

4.1. PROKALCITONIN

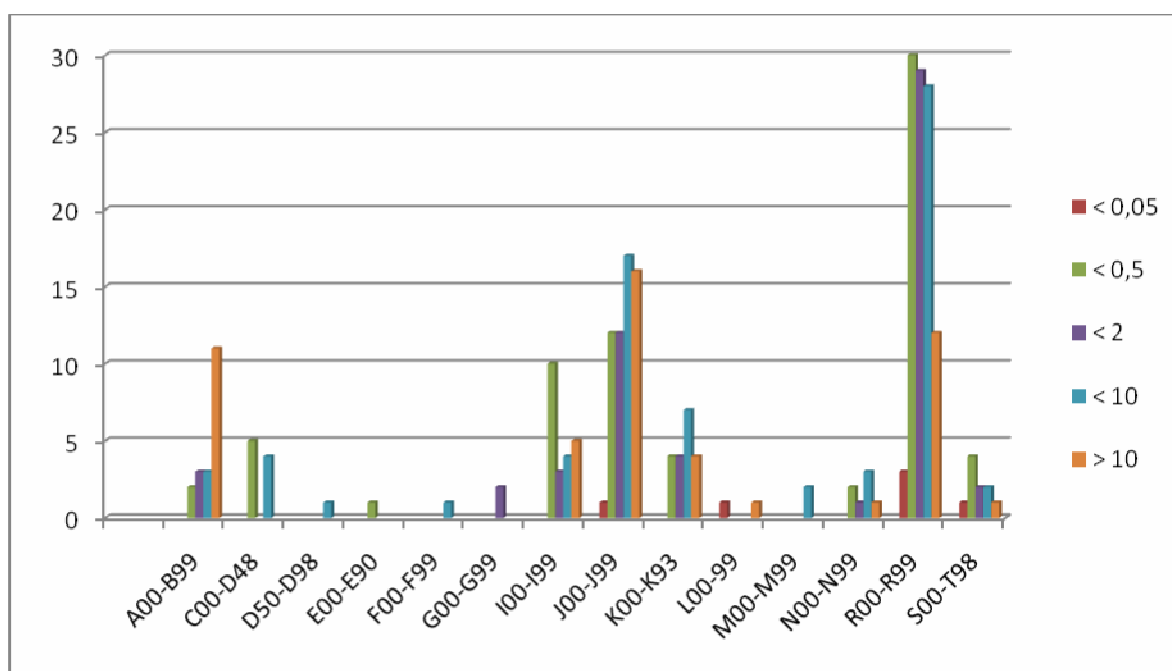
- Glede na koncentracijo PCT (Slika 3), bilo je največ bolnikov (72/255) v skupini < 10 µg/L, najmanj pa v skupini z < 0,05 µg/L (6/255 bolnikov) (Preglednica IV).

Preglednica IV: Število bolnikov glede na koncentracijo PCT in določene diagnoze

Konc. PCT µg/L pri diagnozah	<0,05	<0,5	<2	<10	>10	SKUPAJ
A00-B99		2	3	3	11	19
C00-D48		5		4		9
D50-D98				1		1
E00-E90		1				1
F00-F99				1		1
G00-G99			2			2
I00-I99		10	3	4	5	22
J00-J99	1	12	12	17	16	58
K00-K93		4	4	7	4	19
L00-L99	1				1	2
M00-M99				2		2
N00-N99		2	1	3	1	7
R00-R99	3	30	29	28	12	102
S00-T98	1	4	2	2	1	10
SKUPAJ	6	70	56	72	51	255

■ Glede na število bolnikov, po diagnozah in koncentracijah PCT sledi:

- z simptomi, znaki in abnormalnimi klinični izvidi nerazvrščeni drugam (R00-R99), 102/255 ali 40% bolnikov v raziskavi. Določene koncentracije PCT: največ 30/102 < 0,5 µg/L po tem 29/102 < 2 µg/L; 28/102 < 10 µg/L; 12/102 >10 µg/L in 3/102 < 0,05 µg/L.
- z boleznimi dihalnega sistema (J00-J99), 58/255 ali 22,75%, največ 17/58 v skupini <10 µg/L, po tem 16/58 >10 µg/L; po 12/58 so bili v skupinah < 0,5 in < 2 µg/L in en bolnik je imel PCT < 0,05 µg/L.
- z boleznimi krvnega obtoka (I00-I99), 22/255 ali 8,63%. Največ 10/22 v skupini < 0,5 µg/L; po tem 5/22 >10 µg/L; 4/22 <10 µg/L in 3/10 <2 µg/L.
- z infekcijskimi boleznimi in boleznimi, ki jih povzročajo paraziti (A00-B99), 19/255 ali 7,45% in sicer kot sledi: največ jih je bilo v skupini >10 µg/L 11/19, po 3/19 sta bila v skupinah < 2 in < 10 µg/L in 2 v skupini < 0,5 µg/L (Graf 2).



Graf 2: Število bolnikov, po diagnozah in koncentracijah PCT

- Zvišane vrednosti nad zgornjo referenčno mejo za PCT > (0,5 µg/L) smo našli pri 177/255 bolnikov (med njimi je, vseh 11/177 s sepsa), pri 78/255 bolnikov so rezultati bili znotraj referenčne meje (Preglednica V).

Preglednica V: PCT v povezavi s sepsa in drugimi boleznimi

PCT	BOLEZNI		
REZULTAT	SEPSA	DRUGE BOLEZNI	SKUPAJ
(+)POZITIVEN	11	166	177
(-)NEGATIVEN	0	78	78
SKUPAJ	11	244	255

*(+) rezultat pomeni, da je koncentracija PCT nad referenčno vrednostjo (>0,5 µg/L)

4.1.1. PCT pri sepsah

- Diagnostična občutljivost rezultatov za PCT je verjetnost, da dobimo pozitiven rezultat (>0,5µg/L), ko je bolezen (sepsa) prisotna. V naši študiji smo izračunali 100% diagnostično občutljivost PCT za sepsa.

DIAGNOSTIČNA OBČUTLJIVOST (PCT) =

$$= \frac{(+)\text{REZULTAT (SEPSA)}}{(+)+(-)\text{REZULTAT (VSI BOLNI)}} = \frac{11 * 100}{11} = \mathbf{100\%}$$

- Diagnostična specifičnost rezultatov za PCT je verjetnost, da dobimo negativen rezultat (<0,5 µg/L) ko bolezen (sepsa) ni prisotna. Izračunali smo 32% specifičnost PCT za sepsa.

DIAGNOSTIČNA SPECIFIČNOST (LOČLJIVOST) (PCT) =

$$= \frac{(-)\text{REZULTAT (DRUGE BOLEZNI)}}{(+)+(-)\text{REZULTAT (VSI S DRUGIMI BOLEZNIMI)}} = \frac{78 * 100}{244} = \mathbf{32,0\%}$$

- Pozitivna napovedna vrednost (PNV) za PCT je verjetnost, da gre za bolezen (sepsa), če dobimo pozitiven (>0,5µg/L) rezultat.

POZITIVNA NAPOVEDNA VREDNOST (PNV) =

$$= \frac{(+)\text{REZULTAT (SEPSA)}}{(+)\text{REZULTAT (SEPSA + DRUGE BOLEZNI)}} = \frac{11 * 100}{177} = \mathbf{6,2\%}$$

- Negativna napovedna vrednost (NNV) je verjetnost, da ne gre za bolezen (sepsa), če dobimo negativen rezultat (<0,5 µg/L).

NEGATIVNA NAPOVEDNA VREDNOST (NNV) =

$$= \frac{(-) \text{ REZULTAT (DRUGE BOLEZNI)}}{(-) \text{ REZULTAT (SEPSA + DRUGE BOLEZNI)}} = \frac{78 * 100}{78} = \mathbf{100\%}$$

4.1.2. PCT pri sepsah in bakteriemijah, obravnavanih skupaj

Zvišane koncentracije PCT so bile izmerjene pri 177/255 bolnikov, znotraj referenčne meje PCT je imelo 78 /255 bolnikov (Preglednica VI). S sepsa in bakteriemijo je bilo 18/255 bolnikov, 17 bolnikov je imelo zvišani PCT, en bolnik pa je imel PCT znotraj referenčne meje.

Preglednica VI: PCT v povezavi s sepsa ter bakteriemijo in drugimi boleznimi

PCT	BOLEZNI		
	SEPSA+ BAKTERIEMIJA	DRUGE BOLEZNI	SKUPAJ
(+)POZITIVEN	17	160	177
(-)NEGATIVEN	1	77	78
SKUPAJ	18	237	255

*(+) rezultat pomeni, da je koncentracija PCT nad referenčno vrednostjo (>0,5 µg/L)

- Diagnostična občutljivost testa za PCT je verjetnost, da dobimo pozitiven rezultat, (>0,5µg/L), če je bolezen (sepsa + bakteriemija) prisotna.

DIAGNOSTIČNA OBČUTLJIVOST (PCT) =

$$= \frac{(+) \text{ REZULTAT (SEPSA + BAKTERIEMIJA)}}{(+) + (-) \text{ REZULTAT (VSI BOLNI)}} = \frac{17 * 100}{18} = \mathbf{94,4\%}$$

- Diagnostična specifičnost rezultata za PCT je verjetnost, da dobimo negativen rezultat (<0,5 µg/L), ko bolezen (sepsa + bakteriemija) ni prisotna.

DIAGNOSTIČNA SPECIFIČNOST (LOČLJIVOST) (PCT) =

$$= \frac{(-) \text{ REZULTAT (DRUGE BOLEZNI)}}{(+)+(-) \text{ REZULTAT (VSI S DRUGIMI BOLEZNIMI)}} = \frac{77 * 100}{237} = \mathbf{32,5\%}$$

- Pozitivna napovedna vrednost (PNV) rezultata za PCT je verjetnost, da gre za bolezen (sepsa + bakteriemijo), če dobimo pozitiven (>0,5µg/L) rezultat.

POZITIVNA NAPOVEDNA VREDNOST (PNV) =

$$= \frac{(+) \text{ REZULTAT (SEPSA + BAKTERIEMIJA)}}{(+)\text{ REZULTAT (SEPSA + DRUGE BOLEZNI)}} = \frac{17 * 100}{177} = \mathbf{9,6\%}$$

- Negativna napovedna vrednost (NNV) rezultata za PCT je verjetnost, da ne gre za bolezen (sepsa + bakteriemijo), če dobimo negativen (<0,5µg/L) rezultat.

NEGATIVNA NAPOVEDNA VREDNOST (NNV) =

$$= \frac{(-) \text{ REZULTAT (DRUGE BOLEZNI)}}{(-) \text{ REZULTAT (SEPSA + DRUGE BOLEZNI)}} = \frac{77 * 100}{78} = \mathbf{98,7\%}$$

4.2. C-REAKTIVNI PROTEIN

Zvišane vrednosti CRP nad zgornjo referenčno mejo (>5,0mg/L), je imelo 242/255 bolnikov, pri 13/255 bolnikov pa je bil CRP znotraj referenčne meje (Preglednica VII).

Preglednica VII: CRP v povezavi s sepsa in drugimi boleznimi

C R P	B O L E Z N I		
	SEPSA	DRUGE BOLEZNI	SKUPAJ
REZULTAT			
(+)POZITIVEN	11	231	242
(-)NEGATIVEN	0	13	13
SKUPAJ	11	244	255

* (+) rezultat pomeni, da je koncentracija CRP nad referenčno vrednostjo (>5,0mg/L)

- Diagnostična občutljivost za CRP je verjetnost, da dobimo pozitiven rezultat (>5,0mg/L), če je bolezen (sepsa) prisotna.

DIAGNOSTIČKA OBČUTLJIVOST (CRP) =

$$= \frac{(+)\text{REZULTAT (SEPSA)}}{(+)+(-)\text{REZULTAT (VSI BOLNI)}} = \frac{11 * 100}{11} = \mathbf{100\%}$$

- Diagnostična specifičnost testa za CRP pomeni, da dobimo negativen rezultat (< 5,0 mg/L) če bolezen (sepsa), ni prisotna.

DIAGNOSTIČNA SPECIFIČNOST (LOČLJIVOST) (CRP) =

$$= \frac{(-)\text{REZULTAT (DRUGE BOLEZNI)}}{(+)+(-)\text{REZULTAT (VSI S DRUGIMI BOLEZNIMI)}} = \frac{13 * 100}{244} = \mathbf{5,3\%}$$

- Pozitivna napovedna vrednost (PNV) rezultata za CRP je verjetnost, da gre za bolezen (sepsa), če dobimo pozitiven (> 5,0 mg/L) rezultat testa.

POZITIVNA NAPOVEDNA VREDNOST (PNV) =

$$= \frac{(+)\text{REZULTAT (SEPSA)}}{(+)\text{REZULTAT (SEPSA + DRUGE BOLEZNI)}} = \frac{11 * 100}{242} = \mathbf{4,5\%}$$

- Negativna napovedna vrednost rezultata za CRP je verjetnost, da ne gre za bolezen (sepsa), če dobimo negativen (< 5,0 mg/L) rezultat.

NEGATIVNA NAPOVEDNA VREDNOST (NNV) =

$$= \frac{(-)\text{REZULTAT (DRUGE BOLEZNI)}}{(-)\text{REZULTAT (SEPSA + DRUGE BOLEZNI)}} = \frac{13 * 100}{13} = \mathbf{100\%}$$

4.3. LEVKOCITI

Zvišane vrednosti levkocitov smo našli pri 128/255 bolnikov nad zgornjo referenčno mejo ($>12,0 \cdot 10^9/L$) za levkocite v krvi, pri 12/255 bolnikov so levkociti bili pod spodnjo referenčno mejo ($<4,0 \cdot 10^9/L$). Skupaj 140/255 bolnikov je imelo zvišane ali znižane levkocite in pri 115/255 bolnikov so levkociti bili znotraj referenčnega območja.

Preglednica VIII: Levkociti v povezavi s sepsa in drugimi boleznimi

LEVKOCITI	BOLEZNI		
	SEPSA	DRUGE BOLEZNI	SKUPAJ
(+)POZITIVEN	10	130	140
(-)NEGATIVEN	1	114	115
SKUPAJ	11	244	255

*(+) rezultat pomeni, da je število levkocitov zunaj referenčnih mejah: nad zgornjo ($>12,0 \cdot 10^9/L$), ali pod spodnjo ($<4,0 \cdot 10^9/L$)

- Diagnostična občutljivost za Lkc je verjetnost, da dobimo pozitiven rezultat ($>12,0 \cdot 10^9/L$) ali ($<4,0 \cdot 10^9/L$), če je bolezen (sepsa) prisotna.

DIAGNOSTIČNA OBČUTLJIVOST (Lkc) =

$$= \frac{(+)\text{REZULTAT (SEPSA)}}{(+)+(-)\text{REZULTAT (VSI BOLNI)}} = \frac{10 \cdot 100}{11} = \mathbf{90,9\%}$$

- Diagnostična specifičnost testa za Lkc je verjetnost da dobimo negativen (Lkc so znotraj referenčnega območja) rezultat, ko bolezen (sepsa) ni prisotna.

DIAGNOSTIČNA SPECIFIČNOST (LOČLJIVOST) (Lkc) =

$$= \frac{(-)\text{REZULTAT (DRUGE BOLEZNI)}}{(+)+(-)\text{REZULTAT (VSI S DRUGIMI BOLEZNIMI)}} = \frac{114 \cdot 100}{244} = \mathbf{46,7\%}$$

- Pozitivna napovedna vrednost (PNV) za Lkc je verjetnost, da gre za bolezen (sepsa), če dobimo pozitiven ($>12,0 \cdot 10^9 / L$) ali ($<4,0 \cdot 10^9 / L$) rezultat.

POZITIVNA NAPOVEDNA VREDNOST (PNV) =

$$= \frac{(+)\text{ REZULTAT (SEPSA)}}{(+)\text{ REZULTAT (SEPSA + DRUGE BOLEZNI)}} = \frac{10 \cdot 100}{140} = \mathbf{7,1\%}$$

- Negativna napovedna vrednost (NNV) za Lkc je verjetnost, da ne gre za bolezen, če dobimo negativen (Lkc so znotraj referenčnega območja) rezultat.

NEGATIVNA NAPOVEDNA VREDNOST (NNV) =

$$= \frac{(-)\text{ REZULTAT (DRUGE BOLEZNI)}}{(-)\text{ REZULTAT (SEPSA + DRUGE BOLEZNI)}} = \frac{114 \cdot 100}{115} = \mathbf{99,1\%}$$

4.4. DIAGNOSTIČNA UPORABNOST MERITEV: PCT, CRP in Lkc

Diagnostična uporabnost meritev (PCT, CRP, Lkc) določa razmerje med seštevkom resničnih pozitivnih in negativnih rezultatov proti vsem rezultatom ($n=255$), a odvisna je od diagnostične občutljivosti in specifičnosti rezultatov tudi prevalenca bolezni.

Diagnostična občutljivost PCT in CRP za sepsa je 100%, levkocitov pa le 91%. Toda hkrati je diagnostična specifičnost PCT za sepsa 32%, CRPja pa le 5% (Preglednica IX).

DIAGNOSTIČNA UPORABNOST (PCT) =

$$= \frac{(+)\text{ REZULTAT (SEPSA)} + (-)\text{ REZULTAT (DRUGE BOLEZNI)} \cdot 100}{(+)+(-)\text{ REZULTAT (VSI PACIENTI)}} =$$

$$= \frac{(11+78) \cdot 100}{255} = \mathbf{34,9\%}$$

DIAGNOSTIČNA UPORABNOST (PCT) =

$$= \frac{(+)\text{ REZULTAT (SEPSA + BAKTERIEMIJA)} + (-)\text{ REZULTAT (DRUGE BOLEZNI)} \cdot 100}{(+)+(-)\text{ REZULTAT (VSI PACIENTI)}} =$$

$$= \frac{(17+77) \cdot 100}{255} = \mathbf{36,9\%}$$

DIAGNOSTIČNA UPORABNOST (CRP) =

$$= \frac{(+)\text{REZULTAT (SEPSA)} + (-)\text{REZULTAT (DRUGE BOLEZNI)} * 100}{(+)+(-)\text{REZULTAT (VSI PACIENTI)}} =$$

$$= \frac{(11+13)*100}{255} = \mathbf{9,4\%}$$

DIAGNOSTIČNA UPORABNOST (Lkc) =

$$= \frac{(+)\text{REZULTAT (SEPSA)} + (-)\text{REZULTAT (DRUGE BOLEZNI)} * 100}{(+)+(-)\text{REZULTAT (VSI PACIENTI)}} =$$

$$= \frac{(10+114)*100}{255} = \mathbf{48,6\%}$$

Tako je izračunana diagnostična uporabnost PCT za sepso 35% in za sepso ali bakteriemijo 37%. Pozitivne napovedne vrednosti so za vse tri parametre nizke, pod 10%. Toda negativne napovedne vrednosti rezultatov so za vse parametre nad 98% (Preglednica IX).

Diagnostična uporabnost meritev PCT je 35%, PCT in bakteriemij 37%, Lkc 49% in CRP 9% (Preglednica IX).

Preglednica IX: Diagnostična občutljivost, specifičnost in uporabnost, PNV in NNV: PCT, CRP in Lkc

	PCT/SEPSE	PCT/SEPSE +BAKTERIEMIJE	CRP/SEPSE	Lkc/SEPSE
OBČUTLJIVOST(%)	100	94,4	100	90,9
SPECIFIČNOST(%)	32,0	32,5	5,3	46,7
UPORABNOST	34,9	36,9	9,4	48,6
PNV (%)	6,2	9,6	4,5	7,1
NNV (%)	100	98,7	100	99,1

5. RAZPRAVA

Sepsa je klinično stanje organizma, ki je posledica systemskega vnetnega odziva gostitelja, povzročenega z vdorom patogenih mikrobov, oziroma z delovanjem njihovih encimov, ki so posledica bakteriemije, prisotnosti bakterij v krvi. Zaradi težke klinične slike z visoko umrljivostjo je pomembno čim prej določiti diagnozo, zdraviti s ciljnim antibiotiki in bolnike povrniti v vsakdanje življenje. Mikrobiološke preiskave so metode izbora, vendar se izvajajo ali samo ciljano (virusne), ali pa trajajo predolgo za reševanje bolnika s sepo (bakterijske). Krvna gojišča, ki so „zlata standard“ za določanje bakterij v krvi (35), dajo v zgodnjih fazah pogosto negativne rezultate (36). V klinični praksi obstaja od leta 2005 možnost uporabe PCR-a (PCR-M) za spekter najrelevantnejših mikrobov v povezavi z sepo, kar zmanjša obdobje čakanja (36).

Nekatere biokemične ali hematološke preiskave (npr. sedimentacija eritrocitov, CRP, komponente komplemента) so sicer hitrejše kot klasične mikrobiološke, toda ne določijo povzročitelja, temveč vnetje, ki je lahko posledica bakteriemije ali sepse. Pogosto lahko podobni klinični znaki pri drugih boleznih skrijejo resno sliko sepse. Zaradi tega je pomembno najti kazalce, ki bolj opredeljujejo vnetje zaradi bakteriemije in sepse.

V okviru magistrske naloge nas je zanimalo, ali je PCT biokemijski parameter, ki nas najbolje usmerja pri določanju težke diagnoze kot je sepsa, ali enako pomembne bakteriemije. Zato smo retrospektivno primerjali rezultate PCT-a, CRP-a in Lkc-ov 255 bolnikov. Ker je bil vključitveni pogoj, da so jim bili ob prvem obisku v medicinsko biokemičnem laboratoriju določeni sočasno vsi trije parametri, je bilo potrebno narediti raziskavo na veliko večjem vzorcu. Tako smo pregledali več od 800 kartotek bolnikov. Najpogostejši izključitveni kriteriji so bili manjkajoča katera od naštetih preiskav, podatki iz drugega, ali kasnejšega obiska ter manjkajoča diagnoza. Te pogoje smo upoštevali zaradi tega, da preverimo, ali je PCT izmed navedenih najhitrejši in najboljši kazalec sepse.

Taki vključitveni in izključitveni pogoji mogoče niso bili najboljša rešitev. Na ta način, mogoče nismo dobili prave diagnostične slike bolnikov, saj je dinamika naraščanja in upadanja merjenih parametrov različna. PCT narašča po injekciji bakterijskega endotoksina pri zdravih prostovoljcih in povišane koncentracije se lahko zasledijo že po dveh urah; naglo naraščajo 6-8 ur, plato dosežejo po 12 urah in upadejo v 2-3 dneh do referenčne meje (13,17). CRP je občutljiv kazalec vnetja, ampak ni uporaben v

razlikovanju bakterijske od drugih okužb. CRP obstaja več časa zvišan kot PCT, kar pa predstavlja pomanjkljivost v spremljanju vnetij in učinkovitosti terapij (13). Levkociti tudi niso specifični kazalci sepse, ampak so lahko med kazalci z levkocitozo $>12 \times 10^9/L$ ali levkopenijo $< 4 \times 10^9/L$; oz. $> 10\%$ nezrelih oblik levkocitov, in če je že prisotna klinična slika vnetja (4, 5, 6, 7, 8). Tako je lahko nekateri bolnik prvič že bil napoten na npr. PCT, ki je bil takrat recimo zvišan, medtem ko CRP ali Lkc niso bili določeni, bili pa bi lahko še v referenčnih mejah, kar bi potrdilo hipotezo, da je PCT zgodnejši kazalec vnetja. In obratno, če so bile narejene samo preiskave CRP-a, ali samo Lkc-ov, ki so lahko že bili v referenčnih mejah, medtem ko bi bil PCT lahko zvišan, je to onemogočilo ali vsaj otežilo zdravniku določitev prave diagnoze. Obstaja tudi možnost, da so ob prvi preiskavi že bili zvišani Lkc ali CRP, na podlagi česar zdravnik ni mogel opredeliti, ali gre za virusno, toksično ali bakterijsko vnetje in je ponovno naročil obe preiskavi hkrati s PCT. To je lahko vzrok, da je imel bolnik ob vključitvi v študijo vse tri parametre povišane. To je zagotovo težava retrospektivne študije, toda nesmiselno bi bilo analizirati rezultate preiskav, ki niso narejene iz istega vzorca krvi, ker se njihove vrednosti spremenijo že v nekaj urah in bi bili zaključki manj zanesljivi. Težavi bi se lahko izognili s prospektivno študijo, ko bi vsem bolnikom s sumom na sepsa ali bakteriemijo ob prvem pregledu opravili vse tri preiskave hkrati. Vendar bi taka preiskava časovno in organizacijsko preseгла obseg magistrske naloge, saj smo še pri retrospektivni študiji pregledali izvide bolnikov iz obdobja celega leta.

Pri 11 od 255 bolnikov smo našli diagnozo sepsa (5 moških, 6 žensk, 1 bolnik septični šok) in pri 7 bolnikih s hemokulturo potrjeno bakteriemijo (4 moški, 3 ženske). Po starosti je bilo med navedenimi bolniki 12 otrok – 5/11 s sepsa ter vsi z bakteriemijo. Vzrok za odkritje bakterijemij je verjetno v tem, da so zdravniki še posebej pozorni pri otrocih, saj je zanje sepsa bolj ogrožujoča kot za odrasle. Z vidika obravnave pacienta in terapije ima bakteriemija enako mesto kot sepsa (osebna komunikacija prof.dr.sc. Bruno Baršić, dr.med., Pročelnik Zavoda Klinike za infektivne bolezni v Zagrebu), zato smo tudi te podatke vključili v študijo.

Med drugimi diagnozami je bilo največ bolnikov v skupini s simptomi, znaki in nenormalnimi klinični izvidi (102/237), od katerih je bila najpogostejša vročica neznanega povzročitelja. Težko je potrditi vzrok prisotne vročice (zaradi virusne ali zaradi bakterijske okužbe), poleg tega je eden od kazalcev sepse povišana telesna temperatura $>38^\circ C$. Veliko število pacientov v tej skupini je popolnoma razumljivo, saj so bili napoteni na preiskave

PCT, CRP in Lkc zaradi znakov, pogosto podobnih znakom sepse ali hudega vnetja. Koncentracije PCT nam v relativno kratkem času omogočajo razločiti virusno od bakterijske okužbe. Pri največ bolnikov v tej skupini ni bila prisotna akutna bakterijska okužba ali vnetje. Ostali, ki so imeli zvišane koncentracije PCT-a, so lahko dobili antibakterijsko terapijo in se na ta način izognili mogočim zapletom kot je sepsa.

Med bolniki z znanimi povzročitelji sepse so s svojimi endotoksini povzročili zelo zvišane koncentracije PCT-a *Streptococci pneumoniae* (4/11 bolnikov) in Gram negativni mikrobi (5/11 bolnikov). Zanimivo je, da je eden od 11 bolnikov imel štirikrat nižje koncentracije PCT od povprečij ostalih, in tudi kot bolnik z septičnim šokom. Posamezni organizmi sprožijo različne imunske odzive na vnetje. Mogoče je ta bolnik sprožil boljši imunski odziv in preprečil vdor večjega števila povzročitelja, ali pa so ga uspeli že nekaj uničiti z lastnimi mehanizmi npr. fagocitozo in je na ta način bila zmanjšana koncentracija endotoksina, posledično pa tudi koncentracija PCT. Možno je tudi, da je bil bolnik pred preiskavami že na antibakterijski terapiji, kar bi se lahko poznalo na znižanju vnetnih parametrov. Pri bolniku z septičnim šokom bi mogoče kdo pričakoval najvišje vrednosti merjenih parametrov, vendar to ni nujno. Zasledili smo samo zelo visoko koncentracijo CRP, ki je verjetno posledica dolge okužbe in počasnega sproščanja CRP-a. Na znižano število Lkc je potrebno biti še posebej pozoren, saj je lahko pokazatelj, da gostitelj že ni več sposoben obrambe pred mikrobi, kar lahko vodi v padec krvnega tlaka, ki se ne popravi z infuzijo, in v smrt.

Na drugem mestu so bili bolniki z boleznimi dihalnega sistema, od katerih je najpogostejša bila pljučnica neznanega povzročitelja. PCT je preiskava, ki ima pri bolniki z znaki bolezni dihalnega sistema zelo pomembno mesto. Pri akutnih bakterijskih pljučnicah ni nujno, da bo koncentracija PCT zelo visoka, ker je odvisna od obsega vnetja. Zapletene pljučnice s septičnimi znaki ali ARDS pa lahko povzročijo visok dvig PCT. Prav za ARDS je nujno zelo hitro določiti etiologijo, ker bolniki z nebakterijskim vzrokom pogosto potrebujejo umetno respiracijo, pri neinfekcijskih vzrokih mogoče kortikosteroidno zdravljenje. Prav v takih primerih je PCT boljši kazalec od CRP, ker je CRP zvišan v obeh primerih (13).

V skupini bolnikov z boleznimi krvnega obtoka jih je bilo največ z angino pectoris. V tej skupini smo ugotovili pri eni bolnici zelo zvišane PCT, CRP in Lkc, ter hipotenzijo. Vse to so znaki, ki podpirajo sum na sepsa. Nekaj dni kasneje je bil ugotovljen padec koncentracije PCT za 50%, kaj je bila verjetno posledica uspešnega zdravljenja.

Šele na četrtem mestu so bili bolniki z infekcijskimi boleznimi (virusne, bakterijske, glivne in parazitske). Vendar pa sodijo vsi pacienti s sepsa v to skupino. Pri vseh 11/19 bolnikov je bila določena zelo visoka koncentracija PCT-a, $> 10 \mu\text{g/L}$. Ostalo so bile bakteriemije, pri katerih smo zasledili nekaj nižje vrednosti, in en bolnik s TBC s koncentracijo PCT-a v referenčnem območju.

Napovedne vrednosti so pomemben pokazatelj stanja bolnika, saj nam povedo, s kakšno verjetnostjo bo imel bolnik s povišanim rezultatom preiskave iskano bolezen (pozitivna napovedna vrednost) in s kakšno verjetnostjo lahko iskano bolezen izključimo pri negativnem rezultatu (negativna napovedna vrednost). Izračunana PNV za PCT pri sepsah je 6,2%, kar pomeni, da ima vsak bolnik v naši študiji z izmerjeno koncentracijo PCT $> 0,5 \mu\text{g/L}$, 6,2% verjetnost, da ima sepsa. Pražna (razmejitvena) koncentracija je relativno nizka glede na diagnozo sepse, zaradi tega ima velik delež bolnikov z drugimi boleznimi zvišane vrednosti, kar posledično zniža pozitivno napovedno vrednost rezultata. Po drugi strani pa nizka razmejitvena vrednost vpliva na negativno napovedno vrednost rezultata za PCT, ki znaša 100%. To pomeni, da bolnik s koncentracijo PCT pod pražno ali razmejitveno vrednostjo zagotovo nima sepse. Enako NNV ima tudi rezultat za CRP (100%), ki pa ima še nižjo PNV (4,5%). Zvišan ali znižan rezultat za število levkocitov izven referenčnega območja ima najvišjo PNV med vsemi tremi izmerjenimi parametri (7,1%), vendar pa je PNV nekoliko pod pričakovano vrednostjo 100% (99,1% NNV). V kolikor upoštevamo rezultate združene skupine bolnikov s sepsa ali z bakteriemijo, se rezultatom PCT zviša PNV na še vedno nizkih 9,6% PNV, hkrati pa pade NNV na 98,7%. To pomeni, da sta uporabnosti napovednih vrednosti rezultatov PCT in Lkc pri diagnostiki sepse primerljivi.

Kljub temu, da so napovedne vrednosti najrealnejši odraz dejanskega stanja v diagnostiki (imamo bolnika z laboratorijskimi rezultati in iščemo ali preverjamo diagnozo), pa se pogosteje uporabljata parametra diagnostična specifičnost in diagnostična občutljivost. Diagnostična specifičnost in diagnostična občutljivost sta povezana parametra. Zaželeno bi bilo imeti 100% diagnostično občutljivost in 100% diagnostično specifičnost, kar bi pomenilo popolno ločevanje med zdravimi in bolnimi. To največkrat ni možno, pa za to niso krive laboratorijske metode, ampak dejstvo, da je prehod iz zdravja v bolezen pogosto postopen in neoster. Z izbiro razmejitvene (referenčne) vrednosti lahko vplivamo na povečanje enega parametra toda ob znižanju drugega. Za slednje je pomembno, da vemo, v kakšne namene uporabljamo rezultate določene preiskave in za kakšen tip bolezni gre. Če gre za presejalno preiskavo, potem želimo odkriti vse bolnike, pa čeprav na račun

določenega števila zdravih, ki jih v drugi stopnji s potrditveno preiskavo izločimo. Tak pristop je pomemben tudi pri boleznih, ki so ogrožujoče, pa so hkrati ozdravljive, in pri katerih zdravljenje v primeru napačno pozitivnega rezultata ne pomeni nevarnosti za pacienta. Pri sepsi se srečujemo z obema dejstvoma: bolezen je življenjsko ogrožujoča, zato moramo odkriti vsakega pacienta – 100% diagnostična občutljivost je zato nujna. Bolezen je ozdravljiva, če jo odkrijemo pravočasno, hkrati pa terapevtski posegi praviloma nimajo hudih posledic, če jih je deležen bolnik, ki nima sepse. Torej lahko iščemo laboratorijske parametre s 100% diagnostično občutljivostjo na račun nižje diagnostične specifičnosti. Vsekakor pa moramo obravnavati oba diagnostična parametra skupno, kar je zajeto v pojmu diagnostična uporabnost.

Izračunana 100% diagnostična občutljivost PCT pri bolnikih s sepsom pomeni, da je koncentracija PCT zvišana pri vseh bolnikih z sepsom. 32% diagnostična specifičnost PCT pa pomeni, da v tem deležu lahko dobimo normalne koncentracije PCT, tj. negativen rezultat pri bolnikih, ki nimajo sepse. V našem primeru so to bolniki z drugimi bakterijskimi boleznimi. Enako (100%) diagnostično občutljivost ima CRP, vendar z bistveno nižjo diagnostično specifičnostjo (5,3%), kar pomeni, da s CRP slabše razlikujemo vnetna stanja različnih vzrokov. Število levkocitov izven referenčnega območja (znižano ali zvišano) ima najvišjo diagnostično specifičnost (46,7%), vendar ne dosega 100% diagnostične občutljivosti – to pomeni, da lahko spregledamo bolnika s sepsom zaradi normalnega števila levkocitov. Podobno razmerje dobimo, če za izračun uporabimo združeno skupino bolnikov s sepsom ali z bakteriemijo: 32,5% diagnostična specifičnost toda na račun 94,4% diagnostične občutljivosti za rezultate PCT. To pomeni, da v s PCT prepoznamo vse bolnike s sepsom, da pa lahko spregledamo okoli 6% bolnikov, ki sicer imajo bakteriemijo, toda niso še razvili sepse.

Če združimo podatke, ugotovimo, da imajo najnižjo diagnostično uporabnost v naši študiji rezultati CRP (9,4%), nato sledijo z bistveno višjo vrednostjo PCT (34,9%) in levkociti (48,6%). Pri tem moramo seveda upoštevati zahteve za preiskave ogrožujočih, toda ozdravljivih boleznih, to je 100% diagnostična občutljivost, kar postavlja pa pri izbiri v diagnostičnem postopku preiskavo PCT pred levkociti. Seveda ne moremo pričakovati, da bi preiskavo na levkocite opustili, saj nam daje tudi druge informacije, ki v magistrski nalogi niso bile obravnavane.

Seveda je potrebno pri vrednotenju upoštevati tudi pomisleke, izražene na začetku razprave ob vključitvenih in izključitvenih kriterijih pri naši retrospektivni študiji zaradi

dinamike spreminajnja koncentracij merjenih analitov. Zagotovo bi več podatkov o pomenu spremljanja PCT pridobili s prospektivno in longitudinalno študijo, pri čemer bi spremljali koncentracije vseh treh merjenih parametrov in hkrati upoštevali vse medicinske oz. terapevtske posege. Vendar pa nam tudi presečna retrospektivna študija daje pomembni podatek o uporabnosti rezultatov preiskave za PCT. V retrospektivni študiji smo ugotovili, da je ob 100% diagnostični občutljivosti in 35% diagnostični uporabnosti določanje PCT pri bolnikih s sumom na sepso v prednosti pred določanjem CRP ali Lkc.

6. SKLEP

V našem raziskovalnem delu smo prišli do naslednjih sklepov, ki se navezujejo na laboratorijsko opredelitev bolnikov s sepsa s pomočjo **PCT, CRP** in **Lkc**:

1. Največ je bilo bolnikov, ki so jim bile sočasno naročene preiskave **PCT, CRP** in **Lkc**, v skupini s simptomi, znaki in abnormalnimi klinični izvidi nerazvrščeni drugam (R00-R99), (**102/255**) ali **40%** bolnikov v raziskavi.
2. Sepsa je bila diagnosticirana pri **11/255** bolnikov.
3. Pri sepsah je imelo zvišane koncentracije **PCT 11/11** bolnikov, **CRP 11/11** bolnikov, **Lkc** zunaj referenčnega območja **10/11**
4. Koncentracija **PCT** je bila **zelo zvišana** nad zgornjo referenčno mejo **pri vseh bolnikih s sepsa**.
5. **PNV** so bile pri vseh rezultatih (**PCT, CRP, Lkc**) **pod 10%**
6. **NNV** so bile pri vseh rezultatih (**PCT, CRP, Lkc**) **nad 98%**
7. Diagnostična občutljivost **PCT** in **CRP** je bila **100%**, **Lkc** pa **91%**
8. Diagnostična specifičnost je bila pri **Lkc 46%**, **PCT 32%** in **CRP 5%**
9. Diagnostična uporabnost je bila pri **Lkc 49%**, **PCT 35%** in **CRP 9%**
10. **Sepsa**, kot težko klinično stanje **zahteva prepoznavo vsakega bolnika** in njegovo hitro zdravljenje, zato je **PCT** kljub diagnostični uporabnosti ustrežnejša preiskava kot **Lkc**, saj pri slednji lahko spregledamo 9% pacientov (diagnostična občutljivost 91%).
11. Glede na pridobljene rezultate, smo potrdili, **da je koncentracija PCT boljši kazalec kot koncentracija CRP in število levkocitov:**
 - **za odkrivanje pacientov s sepsa ali bakteriemijo**
 - **za zavrnitev diagnoze sepse**

7. LITERATURA

1. Božič B: Merjenje imunosti od molekule do bolnika V: Božič B, Obreza A, Marc J, Lukač Bajalo J, Merjenje imunosti od molekule do bolnika, UL-FFA , Ljubljana, 2007; 5-10
2. Vozelj M: Temelji imunologije, DSZ Ljubljana 2000
3. Lesničar G, Blatnik J, ŠAIBANC B: Sepsa na oddelku za infekcijske bolezni in vročinska stanja Splošne bolnišnice v Celju v letih 2000-2003; ZDRAV VESTN 2005; 74:27-32
4. Grabršček L, Voga G, Krivec B, Skale R, Parežnik R, Podbregar M: Pomen prokalcitonina pri prepoznavanju bakterijske okužbe, ZDRAV VESTN 2001; 70 Supl.I:11-
5. Baršić B: Sepsa V: Begovac J, Božinović D, Lisić M, Baršić B, Schönwald S; Infektologija, 1. izdanje; Profil International, Zagreb, 2006, 209-315
6. <http://hr.wikipedia.org/wiki/Sepsa>, julij 2011
7. <http://www.plivazdravlje.hr/bolest-clanak/bolest/3381/Sepsa.html>, avgust 2011
8. <http://www.centar-zdravlja.net/bolesti/188/sepsa>, avgust 2011
9. Mikić D. Prokalcitonin – novi marker i medijator sistemske inflamatorne reakcije domačina na infekciju; Vojnomedicinska akademija, Klinike za infektivne i tropske bolesi, Beograd, Vojnosanit Pregl 2003, 60(5):597-604
10. Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C. in sodelavci; Diagnostic Value of Procalcitonin, Interleukin-6, and Interleukin-8 in Critically Ill Patients Admitted with Suspected Sepsis; Am.J. Resip.Crit.Care Med., Volume 164, Number 3, August 2001, 396-402
11. McPherson R, Pincus M: Henry's Clinical Diagnosis AND Management By Laboratory Methods ; TWENTI- FIRST EDITION, SAUNDERS ELSEVIER, New York, USA, 2007
12. Kocijančič A, Mrevlje F, Štajer D; Interna medicina, Založba Littera Picta d.o.o. Ljubljana, 2005: 903-9, 1172-1178
13. Petres B, Sokolić B: Prokalcitonin (PCT) – Novi dijagnostički parametri za praćenje bakterijskih upala i sepsi; Odjel za kliničku kemiju Klinike za infektivne bolesi „Dr. Fran Mihaljević; BIOCHEMIA MEDICA, god.8, br.3-4; Zagreb, 1998
14. <http://www.aacc.org/publications/cln/2009/july/Pages/series0709.aspx> oktober 2011
15. Jereb M, Derganac B, Kitanovski L; Prokalcitonin v klinični praksi; Onkologija KC, Ljubljana, 2009

16. Lothar,T: Clinical Laboratory Diagnostics, Use and Assissment of Clinical Laboratory Results, First Edition, TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt/Main Germany, 1998, 696- 713,1461-1463
17. Carrigan S, Scott G, and Tabrizian M; Toward Resolving the Challenges of Sepsis Diagnosis; Clinical Chemistry.2004;50:1301-1314
18. Enguix A, Rey C, Concha A, Coto D, Dieguez MA; Comparison of procalcitonin with C-reactive protein and serum amyloid for the early diagnosis of bacterial sepsis in critically ill neonates and children; Intensive Care Med, 2001 Jan;27(1):211-5
19. <http://www.antibodyreview.com/protein>, oktober 2011
20. <http://www.biomerieux-usa.com/servlet/srt/bio/usa/dynPage>, oktober 2011
21. Burtis C, Ashwood E, Bruns D; TIETZ Textbook of CLINICAL CHEMISTRY AND MOLECULAR DIAGNOSTICS; SAUNDERS ELSEVIER, FOURTH EDITION, Philadelphija, USA, 2006, 555-556;702
22. Štraus B, Barišić K: Proteini V: Čvorišćec D, Čepelak I: Štrausova Medicinska biokemija, Medicinska naklada, Zagreb, 2009,185-186
23. Bresjanac M, Rupnik M; Patofiziologija s temelji fiziologije,-3.,popravljena in dopolnjena izd.-Ljubljana : Inštitut za patološko fiziologijo, 2002
24. <http://content.onlinejacc.org/cgi/content/full/50/12/1115>, avgust 2011
25. <http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/1394/>, avgust 2011
26. www.medscape.com, oktober 2011
27. <http://en.wikipedia.org/wiki/Haematopoiesis>, oktober 2011
28. Simčič S: Fagocitoza in znotrajcelično ubijanje V: Božič B, Obreza A, Marc J, Lukač Bajalo J, Merjenje imunosti od molekule do bolnika, UL-FFA , Ljubljana, 2007; 17-22
29. <http://www.inflammation.dk/iir/08vasc/sepCK.htm>, oktober 2011
30. Grgičević D. in sodelavci; Transfuzijska medicina u kliničkoj praksi; Medicinska naklada, Zagreb, 2006; 229-231
31. <http://www.musc.edu/dc/icrebm/sensitivity.html> ,oktober 2011
32. PROKALCITONIN; RU-SPEC 068, Opća bolnica Dr.T.Bardek, Jedinica samostalne djelatnosti medicinske biokemije, Koprivnica, uporaba od 01.11.2009
33. CRP LATEX; RU-SPEC 026, Opća bolnica Dr.T.Bardek, Jedinica samostalne djelatnosti medicinske biokemije, Koprivnica, uporaba od 21.12.2010

34. KRVNA SLIKA; RU-SPEC 052, Opća bolnica Dr.T.Bardek, Jedinica samostalne djelatnosti medicinske biokemije, Koprivnica, uporaba od 21.12.2010
35. Mancini N, Carletti S, Ghidoli N, Cichero P, Burioni R, and Clementi M; The Era of Molecular and Other Non-Culture-Based Methods in Diagnosis of Sepsis; Clinical Microbiology Reviews, American Society for Microbiology; January 2010,p.235-251
36. Lodes U, Lippert H, Meyer F; Molecular biological sepsis diagnostic using multiplex PCR in surgical intensive care as suitable alternative to conventional microbial culture – a representative overview;Zentralbl Chir, 2011 Apr; 136(2):135-42
37. <http://www.hzzo-net.hr>, julij 2011

8. PRILOGA

8.1. KUMULATIVNA PREGLEDNICA

	PCT $\mu\text{g/L}$	CRP mg/L	Lkc $\times 10^9/\text{L}$	Spol	Starost	Diagnoze
1	0,1	40	6,93	Ž	S	A 15
2	22,89	112,2	45,11	Ž	O	A 40.3
3	14,75	119	29,1	M	S	A 40.3
4	125,66	200,9	34,5	M	S	A 40.3
5	314,35	210,1	15,4	M	S	A 40.3
6	28,03	112,5	31,65	Ž	O	A 41.3
7	13,7	66,1	9,96	Ž	O	A 41.5
8	21,3	461,6	21,82	Ž	O	A 41.5
9	411,19	203,9	34,6	M	S	A 41.5
10	99,7	194,4	28,4	Ž	S	A 41.5
11	39,56	256,4	24,9	Ž	O	A 41.5
12	26,68	305,8	2,6	M	S	A 41.9
13	0,977	43	8,1	Ž	O	A 49.9
14	1,76	147	37,24	Ž	O	A 49.9
15	6,55	139,8	41,5	M	O	A 49.9
16	4,49	109,9	10,9	Ž	O	A 49.9
17	6,02	19,7	39,69	M	O	A 49.9
18	1,29	85,8	25,37	M	O	A 49.9
19	0,498	88,8	36,95	M	O	A 49.9
20	0,12	200,7	16,6	Ž	S	C 15
21	2,88	138	19,38	M	S	C 15
22	2,67	380	13	M	S	C 16
23	1,18	251	11,9	M	S	C 18
24	3,91	266,3	15,09	Ž	S	C 20
25	0,479	77,1	7,05	M	S	C 64
26	2,83	164,2	5,7	M	S	C 83.3
27	0,188	26,8	11,46	M	S	C 83.3
28	0,061	29,9	0,83	Ž	S	C 92
29	2,17	253	9,72	Ž	S	D 69
30	0,195	157,1	17,61	M	S	E 11.0
31	2,94	91	10,01	Ž	S	F 07
32	1,51	47,9	3,03	M	S	G 20
33	1,55	88,5	6,6	M	S	G 93.5
34	0,277	136,8	16,87	Ž	S	I 10
35	2,06	223,2	8,27	Ž	S	I 20
36	0,14	106,8	11,5	M	S	I 20
37	0,5	99,7	8,8	Ž	S	I 20
38	0,782	110,2	11,28	Ž	S	I 20
39	0,061	117,2	22,05	Ž	S	I 20
40	3,65	369,2	26,06	M	S	I 21
41	0,104	122,7	8,45	Ž	S	I 26
42	3,2	189,3	11,64	Ž	S	I 46
43	0,1	10,8	10,4	M	S	I 46
44	39,28	25,8	3,4	M	S	I 50
45	0,099	97,7	10,6	Ž	S	I 50
46	5,72	63,2	7,25	Ž	S	I 50

47	1,9	221,7	17,6	M	S	I 63
48	0,159	24,1	9,35	M	S	I 64
49	0,296	64,8	6,65	Ž	S	I 64
50	0,302	150,8	8,52	Ž	S	I 64
51	0,227	197,5	12,02	Ž	S	I 64
52	2,64	400,5	11,11	M	S	I 69
53	10,26	115,7	15,42	M	S	I 84
54	139,95	15,65	20,94	Ž	S	I 95
55	11,37	94	15,02	Ž	S	I 95
56	0,116	71,9	15,12	Ž	O	J 03
57	0,676	135,6	21,88	M	O	J 03
58	0,706	109,5	7,26	M	O	J 03
59	3,77	154,6	17,6	Ž	O	J 03
60	0,17	27,5	7,3	Ž	O	J 03
61	0,18	8,9	9,87	Ž	O	J 03
62	2,84	4,5	11,3	M	O	J 03
63	0,53	72,5	23,2	M	O	J 03
64	2,53	17,8	21,6	Ž	O	J 03
65	17,69	63,8	31	M	O	J 03
66	0,07	1,9	4,7	Ž	O	J 10
67	2,83	105,4	21,8	Ž	O	J 13
68	19,5	240,5	5	M	S	J 13
69	17,54	48,6	23,31	M	O	J 18
70	2,16	159,7	28,6	M	O	J 18
71	0,265	108,2	15,75	M	O	J 18
72	2,46	45,9	14,25	M	O	J 18
73	0,146	25,1	16,36	Ž	O	J 18
74	9,39	420,9	30,6	Ž	O	J 18
75	41,22	192,4	11,23	M	O	J 18
76	86,33	166,7	38,6	M	O	J 18
77	22,66	365,7	23,2	M	O	J 18
78	4,86	192,8	11,34	Ž	S	J 18
79	2,08	165,9	4,23	M	S	J 18
80	48,1	516	8,9	Ž	S	J 18
81	16,41	267	12,9	Ž	S	J 18
82	199	390	2,1	M	S	J 18
83	11,47	233	44,6	M	S	J 18
84	2,35	185,6	23,3	M	S	J 18
85	6,55	109,8	11,1	Ž	S	J 18
86	0,71	338,6	20	M	S	J 18
87	1,47	94,4	14,5	Ž	S	J 18
88	0,43	75,4	16,4	M	S	J 18
89	110,63	171,9	2	M	S	J 18
90	110,63	171,9	2	M	S	J 18
91	9,04	15,9	33,4	M	S	J 18
92	3,14	99	12,8	Ž	O	J 18
93	8,91	100,8	7,6	M	O	J 18
94	2,39	59,2	16,7	Ž	O	J 18
95	34,07	241,5	20,5	Ž	O	J 18
96	0,14	118	31	M	O	J 18
97	0,07	11,9	31,5	Ž	O	J 18

98	0,12	43,4	5,4	M	O	J 18
99	0,355	235,1	5,28	Ž	S	J 18
100	1,38	108,6	14,08	Ž	S	J 18
101	0,039	2,1	11,92	M	O	J 21
102	0,05	7,2	12,5	Ž	O	J 21
103	51,85	311,7	17,6	M	S	J 42
104	7,01	159,1	51,2	M	S	J 42
105	22,89	218,1	13,5	M	S	J 42
106	2,63	88,8	12,45	M	S	J 42
107	0,073	11	11,91	M	S	J 44
108	0,947	157	13,18	Ž	S	J 81
109	1,06	45	9,18	Ž	S	J 81
110	17,91	295	32,2	M	S	J 96
111	239,38	272	0,6	M	S	J 96
112	0,32	123,2	13,7	M	S	J 96
113	0,55	269,4	10,5	M	S	J 96
114	0,122	12,4	12,14	Ž	O	K 05
115	1,25	24,7	23,2	M	S	K 20
116	3,4	3,7	5,49	M	S	K 25
117	7,19	156,3	11,5	Ž	S	K 29
118	4,13	201,5	11,87	M	S	K 29
119	2,52	119,3	20,93	Ž	O	K 35
120	6,9	110	8,75	M	S	K 52
121	0,074	0,6	21,02	M	O	K 56
122	2,31	253	9,7	Ž	S	K 56
123	14,24	114	16	M	S	K 56
124	0,09	7,8	6,4	M	O	K 56
125	101,4	0,4	10,6	M	O	K 56
126	0,371	28,3	8,91	M	S	K 70.4
127	6,69	147,5	11,71	Ž	S	K 70.4
128	1,32	446,4	10,48	Ž	S	K 80
129	0,136	115,7	4,69	Ž	S	K 92.2
130	35,83	80,8	13,37	Ž	S	K 92.2
131	64,75	89,8	23,8	Ž	S	K 92.2
132	1,72	207,6	11,99	M	S	K 92.2
133	121,95	168,3	14,48	M	O	L 02
134	0,02	60,6	6,02	Ž	S	L 50
135	8,82	84,5	11,26	M	S	M 51
136	8,91	221	21,12	Ž	S	M 83
137	7,39	243,5	12,69	Ž	S	N 10
138	1,06	117	27,6	Ž	S	N 17,9
139	0,118	123,8	18,97	M	S	N 17,9
140	8,58	220,9	37,1	Ž	S	N 96,6
141	5,31	97,8	30,9	Ž	S	N10
142	143,56	87,8	10,7	M	S	N30
143	0,311	173,8	1,02	M	S	N30
144	6,76	119,9	48,53	Ž	S	R 07
145	3	330,8	24,17	M	S	R 07
146	3	330,8	24,17	M	S	R 07
147	6,99	153,7	25,64	Ž	S	R 10
148	6,59	21,1	9,37	M	S	R 10

149	0,528	303	20,94	M	S	R 10
150	2,6	48,8	9,51	M	S	R 10
151	1,19	68,2	18,02	M	S	R 10
152	6,49	245,8	29,99	Ž	S	R 10
153	16,31	282,5	12,8	M	S	R 10
154	0,743	283,2	14,12	M	S	R 10
155	98,94	125,1	9,88	Ž	S	R 10
156	0,781	342,7	22,74	Ž	S	R 10
157	40,23	71,5	6,14	Ž	S	R 10
158	15,23	422,8	1,73	Ž	S	R 10
159	0,428	161,8	18,18	Ž	S	R 10
160	9,11	91,5	6,81	M	S	R 10
161	7,64	92,6	15,65	Ž	S	R 10
162	0,88	150	10	Ž	S	R 10
163	5,67	347,5	19,3	M	S	R 10
164	0,59	235,5	18	Ž	S	R 10
165	0,09	5,6	10,1	M	O	R 10
166	3,1	110,1	13,6	Ž	O	R 10
167	1,38	6,5	6,1	M	O	R 10
168	0,94	4,7	5,13	M	O	R 10
169	0,05	0,3	15,3	Ž	O	R 10
170	27,64	25,9	13,8	Ž	S	R 10
171	1,37	16,5	5,53	M	S	R 10
172	1,11	318,2	17,38	Ž	S	R 10
173	2,85	96,6	13,13	M	S	R 10
174	4,84	192,2	21,88	Ž	S	R 10
175	0,402	124,4	24,34	M	S	R 13
176	82,48	104,1	20,84	M	S	R 19
177	20,6	325,9	8,99	Ž	S	R 42
178	3,19	102	4,53	M	S	R 42
179	0,713	3	7,14	M	O	R 50
180	0,373	1,2	5,21	Ž	O	R 50
181	7,25	234,3	40,69	Ž	O	R 50
182	1,07	111,2	37,16	Ž	S	R 50
183	0,303	94,9	11,15	M	S	R 50
184	8,78	174,8	10,98	Ž	S	R 50
185	0,147	154,8	6,32	Ž	S	R 50
186	28,31	435,1	27,19	M	S	R 50
187	3,73	330,7	25,58	M	S	R 50
188	0,868	72,9	7,21	M	S	R 50
189	1,03	140,6	8,81	Ž	S	R 50
190	0,035	105,5	12,95	M	S	R 50
191	0,461	31,7	8,44	Ž	S	R 50
192	0,334	172,4	28,96	Ž	S	R 50
193	0,19	198,7	12,24	M	S	R 50
194	0,311	173,8	1,02	M	S	R 50
195	0,191	78,5	7,5	M	S	R 50
196	0,427	29,7	8,19	M	S	R 50
197	0,135	25,2	8,57	Ž	S	R 50
198	0,177	28,4	1,81	M	S	R 50
199	3,18	107,8	10,7	M	S	R 50

200	0,82	15,6	12,3	Ž	S	R 50
201	2,09	211,4	9,4	Ž	S	R 50
202	0,49	132	6,6	M	S	R 50
203	0,13	49,4	8,8	M	S	R 50
204	0,49	28,6	12,4	M	S	R 50
205	0,87	160,2	17,7	Ž	S	R 50
206	1,26	15,8	5,1	Ž	S	R 50
207	3,79	298,2	12,7	Ž	S	R 50
208	11,92	102	21	Ž	S	R 50
209	6,86	250,8	14,5	M	S	R 50
210	0,78	18,4	6,3	Ž	S	R 50
211	1,83	20	8,4	Ž	S	R 50
212	270,83	283	25,3	M	S	R 50
213	3,7	190,5	12,5	M	S	R 50
214	0,64	6,9	14,3	M	O	R 50
215	0,45	10,7	6,4	M	O	R 50
216	0,33	5,3	5,5	M	O	R 50
217	0,42	135	12,2	M	O	R 50
218	0,09	20,3	10,6	Ž	O	R 50
219	0,05	11	9,33	Ž	O	R 50
220	1,24	2,6	6,6	Ž	O	R 50
221	0,38	5,1	5,8	M	O	R 50
222	0,05	4	11,3	Ž	O	R 50
223	0,27	40,9	17,1	Ž	O	R 50
223	1,05	59,6	13,7	Ž	O	R 50
224	0,2	19,8	6,2	M	O	R 50
225	0,43	1,1	9	M	O	R 50
227	3,13	271,3	23,6	Ž	O	R 50
228	1,33	12,1	8,1	M	O	R 50
229	3,56	317,6	15,55	M	S	R 50
230	1,58	190,8	10,19	M	S	R 50
231	0,186	96,3	5,83	Ž	S	R 50
232	0,07	95,7	8,02	M	S	R 50
233	0,755	126	15,5	M	S	R 50
234	1,02	164,5	4,45	M	S	R 50
235	0,02	112,1	10,75	Ž	S	R 50
236	2,74	109	7,98	Ž	O	R 50
237	12,31	143,1	5,96	Ž	S	R 50
238	4,21	84,7	15,09	M	O	R 50
239	1,29	85,8	25,37	M	O	R 50
240	21,81	177,3	17,8	Ž	S	R 50
241	2,83	105,4	21,8	Ž	O	R 50
242	1,37	66,1	9,96	Ž	O	R 50
243	7,45	195,8	5,68	M	S	R 50
244	0,947	23,6	22,42	M	O	R 56
245	1,01	48,6	4,9	M	O	R50
246	0,208	33,3	3,19	M	S	S 00
247	2,3	6	10,09	M	S	S 01
248	0,255	132,8	16,55	Ž	S	S 06
249	0,87	86,9	9,75	M	S	S 30
250	96,78	237,4	11,67	M	S	S 72

251	0,194	7,3	14,03	Ž	S	S 72
252	0,026	157,3	9,6	M	S	S 82
253	0,077	90,6	12,3	M	S	T 07
254	2,7	211,1	9,49	M	S	T 07
255	0,95	180,5	28,59	M	S	T 25

Bolniki z sepso
Bolniki z septikemijo

M = moški Ž = ženske O = otroci S = odrasli

8.2. SEZNAM DIAGNOZ BOLNIKOV V RAZISKAVI (37)

- A 15** Tuberkuloza, bolezen dihal dokazana bakteriološko in histološko
- A 40.3** Sepsa, ki jo povzroča *Streptococcus pneumoniae*
- A 41.3** Sepsa, ki jo povzroča *Haemophilus influenzae*
- A 41.5** Sepsa, ki jo povzročajo druge Gram negativne bakterije
- A 41.9** Sepsa, nespecifična, septični šok
- A 49.9** Bakteriemija
- C 15** Maligna neoplazma požiralnika
- C 16** Maligna neoplazma želodca
- C 18** Maligna neoplazma debelega črevesa
- C 20** Maligna neoplazma končnega dela debelega črevesja
- C 64** Maligna neoplazma ledvic
- C 83.3** Celice velikanke (difuzni) ne-Hodkinov limfom
- C 92** Mieloična levkemija
- D 69** Purpura in ostala hemoragična stanja
- E 11.0** Diabetes melitus neodvisen od insulina
- F 07** Motnje osebnosti in vedenjske motnje, ki so posledica bolezni, poškodbe ali disfunkcije možganov
- G 20** Parkinsonova bolezen
- G 93.5** Kompresija možganov
- I 10** Esencialna (primarna) hipertenzija
- I 20** Angina pectoris
- I 21** Akutni miokardni infarkt

I 26	Pljučna embolija
I 46	Zastoj srca
I 50	Popuščanje srca
I 63	Cerebralni infarkt
I 64	Inzult, nespecificiran kot krvavitev ali infarkt
I 69	Posledice cerebrovaskularnih bolezni
I 84	Hemoroidi
I 95	Hipotenzija
J 03	Akutno vnetje mandljev
J 10	Gripa, ki jo povzroča virus influence
J 13	Pljučnica, ki jo povzroča Streptococcus pneumoniae (Pneumococcus)
J 18	Pljučnica neznanega vzroka
J 21	Akutni bronhiolitis
J 42	Nespecifični kronični bronhitis
J 44	Druge kronične obstruktivne pljučne bolezni
J 81	Pljučni edem
J 96	Respiratorna insuficienca
K 05	Gingivitis in periodontalne bolezni
K 20	Vnetje požiralnika
K 25	Želodčna razjeda
K 29	Gastritis in duodenitis
K 35	Akutno vnetje slepiča
K 52	Druga nenelezljiva vnetja tankega in debelega črevesa
K 56	Paralitični ileus in obstrukcija črevesa brez hernije
K 70.4	Alkoholna bolezen jeter
K 80	Žolčni kamni
K 92.2	Ostale bolezni prebavnega trakta
L 02	Absces, furunkli in karbunkli kože
L 50	Urtikarija
M 51	Erytema multiforme
M 83	Osteomalacija v odrasli dobi
N 10	Akutni tubulointersticijski nefritis
N 17.9	Akutna ledvična odpoved

N 30	Vnetje mehurja
N 96.6	Ženska z habitularnimi motnjami
R 07	Bolečina v grlu in prsih
R 10	Bolečina v trebuhu in medenici
R 13	Disfagija
R 19	Ostali simptomi in znaki, ki se nanašajo na prebavni trakt in trebušno votlino
R 42	Vrtoglavica, omotica
R 50	Vročina neznanega izvora
R 56	Konvulzije
S 00	Površinska poškodba glave
S 01	Odprta rana na glavi
S 06	Interkranialna poškodba
S 30	Površinska poškodba trebušne votline, spodnjega dela hrbta in medenice
S 72	Zlom stegenice
S 82	Prelom goleni, vključno z gležnjem
T 07	Več nespecifičnih poškodb
T 25	Opekline in korozija gležnja ter stopala