Применение пресепсина в диагностике и мониторинге эффективности лечения сепсиса при ожоговой болезни

УДК 616-001.17+616-079

Резюме. *Статья посвящена диагностике сепсиса при ожогах и адресована врачам ожоговых отделений Республики Беларусь. Ее актуальность обусловлена ростом инфекционных осложнений у тяжело обожженных людей. В работе для распознавания системной воспалительной реакции использован специфический маркер инфекционного процесса – пресепсин. Автором определен его оптимальный порог, адаптация которого позволила получить метод с высокой специфичностью (81,1%) и чувствительностью (94,9%). Изложена основная причина ложноположительных результатов пресепсинового теста у пациентов с ожоговой болезнью, показана необходимость мониторинга значений биомаркера для предупреждения сепсиса и экспресс-оценки эффективности проводимой терапии при генерализованной инфекции.*

Ключевые слова: *сепсис, пресепсин, биомаркер, ожоговая болезнь.*

Евгений Жилинский,

врач-хирург ожогового отделения Городской клинической больницы скорой медицинской помощи г. Минска, аспирант кафедры общей хирургии БГМУ

К наиболее тяжелым осложнениям ожоговой болезни относится ожоговый сепсис: он развивается у 8–42,5% тяжело обожженных пациентов и становится основной причиной их смерти (летальность 65% и выше) [1]. Диагностика сепсиса и других системных воспалительных реакций значительно затруднена из-за развития гиперметаболического синдрома, что сводит к нулю применение общепризнанных критериев Общества медицины критических состояний [2] и требует использования высокоспецифичных маркеров. Клинико-лабораторные шкалы, учитывающие гиперметаболический синдром (шкала Американской ожоговой ассоциации, критерии Согласительного совета по ожоговой инфекции Китайской медицинской ассоциации (КМА)), сложны для интерпретации и не позволяют контролировать эффективность проводимого лечения [2–4].

При ожоговой болезни наблюдается многократное повышение значений основных биомаркеров провоспалительного ответа (С-реактивного белка, прокальцитонина, интерлейкина-6 и др.) вне инфекционных осложнений, что препятствует применению их в ранней диагностике сепсиса [2, 5, 6]. Одним из новых биомаркеров, отражающих воспалительный ответ на заражение, является пресепсин. При связывании мембранного рецептора mCD14 с комплексом «липополисахарид – липополисахарид-связывающий белок» происходит активация TLR4, который инициирует синтез провоспалительных цитокинов и другие механизмы неспецифического иммунитета. После выполнения сигнальной функции mCD14 отсоединяется от клеточной мембраны и становится свободным (или растворимым, s – soluble). В случае бактериальной или грибковой инфекции образуется укороченный sCD14 – sCD14ST, или пресепсин. Он косвенно характеризует интенсивность продукции провоспалительных цитокинов (ФНО-α, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8 и др.) [6].

Отсутствие сведений об использовании пресепсина у больных с тяжелой ожоговой травмой на статистически достоверных выборках, а также сложность патофизиологии термического повреждения обосновали проведение данной работы. В целях оценки возможности применения пресепсина в диагностике и контроле эффективности лечения сепсиса при ожоговой болезни мы выполнили когортное проспективное исследование тяжело обожженных пациентов (индекс тяжести поражения (ИТП) свыше 30 ед.) в стационаре ожоговых отделений Городской клинической больницы скорой медицинской помощи г. Минска. Для распознавания системной воспалительной реакции использовали критерии Согласительного совета по ожоговой инфекции Китайской медицинской ассоциации (табл. 1) [4].

Определение пресепсина осуществлялось в плазме крови иммунохемилюминесцентным анализатором Pathfast (Япония). Статистическое сравнение выполнено при помощи Excel AtteStat 10. Для оценки распределения признака применяли критерий Шапиро – Уилка (W), достоверность определяли согласно критерию Манна – Уитни (U) и χ^2 (с расчетом критерия Фишера), достоверными отличия считались при $p<0,05$. Для оценки диагностической модели использован ROC-анализ. Корреляционные связи рассматривали при помощи коэффициента Спирмена (R) [7].

В исследовании приняли участие 76 человек старше 18 лет с ожоговой болезнью и с ИТП свыше 30 ед. Группу сравнения составили 37 пациентов без признаков системной инфекции. В основную группу выделены 39 пострадавших, у которых был диагностирован сепсис согласно критериям КМА, причем он был подтвержден положительной гемокультурой у 34 (87,2%) человек и положительным ответом на антибактериальную терапию – у 5 (12,8%). Клинико-эпидемиологическая характеристика групп приведена в табл. 2. Выборки с сепсисом и без были относительно однородны по основным характеристикам: ожоговой травмы, возрасту, гендерной принадлежности и коморбидности.

У 87,2% пациентов основной группы выявлены возбудители сепсиса (микробные ассоциации – у 25,6%, монокультуры – у 61,6%). Грамотрицательные палочки (*Klebsiella spp., Acinebacter spp., Pseudomonas aeruginosa*) составили 71,4% от всех обнаруженных патогенов, кокки (золотистый и эпидермальные стафилококки, энтерококки) – 21,4%, *Candida spp.*– 7,2%.

С целью определения диагностической способности пресепсина были проанализированы уровни данного маркера в день установления сепсиса у представителей основной группы и максимальные значения у пациентов без воспалений вне периода ожогового шока. Распределение параметров sCD14ST было отличным от нормального: в основной группе W=0,72, p=0,001, в группе сравнения W=0,61, p=0,001; медиана пресепсина при этом составила

Критерии воспалительного ответа	Подтверждающие инфекцию признаки
Гипертермия (более 39,0 °C) или гипотермия (менее 36,5 °C) Тахикардия (более 110 ударов в минуту) Тахипноэ (более 25 дыхательных движений в минуту) Тромбоцитопения (количество тромбоцитов менее 100 000/мкл) Гипергликемия при отсутствии сахарного диабета более 12 ммоль/л Невозможность продолжения энтерального кормления более 24 ч Лейкоциты более 15 000/мкл или менее 5 000/мкл Гипернатриемия более 155 ммоль/л Нарушение ментального статуса Прокальцитонин более 0,05 нг/мл	Ответ на антибиотикотерапию Гемокультура
Минимальное количество признаков	
6 и более критериев	1 и более признаков

Таблица 1. Критерии Согласительного совета по ожоговой инфекции Китайской медицинской ассоциации для диагностики сепсиса при термической травме, 2013 г.

Признак	Основная группа, n=39	Группа сравнения, n=37	U (χ^2), p
Возраст, Me (Me_{25}–Me_{75}), лет	50 (34,5–58,5)	47 (40–59)	U=681,5, p=0,678
Мужчины/женщины	3,3/1	11,5/7	χ^2=1,96, p=0,216
Агент «пламя», P, %	92,3%	86,5%	χ^2=1,32, p=0,303
S ожогов, Me (Me_{25}–Me_{75}), % п.т.	35 (30–46,5)	32 (20–45)	U=651,5, p=0,467
S глубоких ожогов, Me (Me_{25}–Me_{75}), % п.т.	15 (6,5–30)	12 (5–19)	U=695,5, p=0,255
Термоингаляционная травма, P, %	87,2%	81,1%	χ^2=0,53, p=0,539
Комбинированное поражение, P, %	17,9%	16,2%	χ^2=0,04, p=1,000
Сопутствующая патология, P, %	79,5%	75,7%	χ^2=0,16, p=0,786
Алкогольная болезнь, P, %	20,5%	5,4%	χ^2=3,79, p=0,087
ИТП, Me (Me_{25}–Me_{75}), ед.	85 (60,5–110,5)	63 (45–105)	U=576, p=0,131
Летальность, %	35,9%	35,1%	χ^2=0,01, p=1,000

Таблица 2. Клинико-эпидемиологическая характеристика групп пациентов, n=76

Примечание: п.т. – поверхность тела

Таблица 3. Клинико-лабораторные показатели при локальной инфекции у пациентов группы сравнения, n=12

	День до изменения лечения	День изменения лечения	2 дня после изменения лечения
Максимальная температура тела, Me, °C	37,8	38,2	37,5
Максимальная частота сердечных сокращений, Me, мин$^{-1}$	103	124	105
Максимальная частота вдохов, Me, мин$^{-1}$	20	22	19
Глюкоза капиллярной крови, Me, ммоль/л	5,5	6,8	5,7
Парез кишечника	Нет	Нет	Нет
Лейкоциты, Me, мкл$^{-1}$	11 200	13 800	10 300
Прокальцитонин, нг/мл	0,18	0,25	0,17
Количество раневого отделяемого	Умеренное	Обильное	Умеренное
Микробное число в ране, Me	10^4	10^5	10^3
Физикальные изменения над легкими	Влажные хрипы	Влажные хрипы, участки ослабления	Единичные влажные хрипы
Пресепсин, Me, пг/мл	391,5	690,5	422,5

Me (Me_{25}–Me_{75}) = 1402 (975–2632,25) пг/мл и Me (Me_{25}–Me_{75}) = 559 (428,5–725,5) пг/мл соответственно. Уровень биомаркера в день диагностирования сепсиса у представителей основной группы был достоверно выше в 2,51 раза, нежели в группе сравнения (U=155,5, p=0,001).

При ROC-анализе «точка отсечения» (оптимальный диагностический порог) для пресепсина с включением в положительный результат теста составила 784 пг/мл, а площадь под кривой – AUC = 0,90±0,07 (95% ДИ = 0,83–0,97, Z=5,35, p<0,001). Пресепсиновый тест является диагностической моделью «отличного качества» (AUC от 0,9 до 1). Чувствительность этого биомаркера при данной «точке отсечения» составила 94,9%, специфичность – 81,1%, точность – 88,2%. Таким образом, сепсис у пациентов с ожоговой болезнью может быть диагностирован при значении пресепсина, равном и превышающем 784 пг/мл.

Полученный оптимальный показатель достаточно высок и перекрывает критерии sCD14ST для нетяжелого воспаления при других патологиях [8]. Но у сильно обожженных людей сепсис всегда относится к тяжелому, поскольку развивается на фоне комплексного нарушения функций жизненно важных органов и систем, что в нашем случае мы и называем ожоговой болезнью [4]. Боу Лию с соавторами предлагают диагностический порог пресепсина для тяжелого пульмоногенного воспаления у пациентов без признаков почечной недостаточности, равный 787 пг/мл [9].

Уровни пресепсина демонстрируют сильную обратную корреляционную связь со скоростью клубочковой фильтрации [10]. При использовании пресепсинового теста у 7 (18,9%) больных группы сравнения был ложно диагностирован сепсис, у 5 из них было выявлено тяжелое нарушение функции почек (недостаточность (failure), потеря функции (loss of function), терминальная стадия (end stage)). Таким образом, тяжелые нарушения функции почек обусловили 71,4% всех ложноположительных результатов при ожоговой болезни.

Для оценки полезности теста было определено отношение правдоподобия (LR). При диагностике сепсиса у тяжело обожженных оно составило 5,01. То есть при значении пресепсина,

Таблица 4. Клинико-лабораторные показатели при ухудшении состояния пациентов с сепсисом, n=14

	День диагностики сепсиса	День ухудшения состояния	U (χ^2), p
Пресепсин, Me, пг/мл	1302	1807,5	U=140,5, p=0,051
Максимальная температура, Me, °C	38,6	38,9	U=134,5, p=0,094
ЧСС, Me, мин$^{-1}$	118	129	U=151, p=0,015
ЧД, Me, мин$^{-1}$	26	28	U=129, p=0,154
Доля нейтрофилов, Me, %	77,5	87,3	U=178, p<0,001
Частота тромбоцитопении, P, %	42,9%	50,0%	χ^2=0,14, p=0,723
Na сыворотки крови, Me, ммоль/л	138,5	145,0	U=140,5, p=0,051
Частота пареза кишечника, P, %	28,6%	42,9%	χ^2=0,62, p=0,695
Частота ментальных нарушений, P, %	16,7%	28,6%	χ^2=0,81 p=0,648
SAPS II, Me, баллы	49,5	54	U=138, p=0,0661

равном или более 784 пг/мл, у пациентов с ожоговой болезнью генерализованная инфекция встречается в 5,01 раза чаще. Следовательно, применение sCD14ST с оптимальным диагностическим порогом в 5,01 раза эффективнее стандартных методов.

Динамика пресепсина при ожоговой болезни была изучена у 15 пациентов с семидневным эпизодом сепсиса и благоприятным исходом. Повышение значений sCD14ST происходило за 1–2 дня до развития генерализации инфекции: медиана пресепсина во второй день была Me (Me_{25}–Me_{75}) = 419 (381–568) пг/мл, а в первый – Me (Me_{25}–Me_{75}) = 709 (621,5–749,5) пг/мл (U=185, p=0,003), то есть в 1,69 раза выше. В день развития сепсиса уровень sCD14ST у этих пациентов превышал оптимальный диагностический порог и составлял Me (Me_{25}–Me_{75}) = 1279 (1082–1543) пг/мл, что достоверно выше, чем за день до развития генерализации инфекции (U=225,00, p<0,001). Параметры пресепсина перекрывали стандартные показатели на протяжении всего эпизода сепсиса. К моменту купирования его проявлений (восьмые сутки) у пациентов наблюдалось снижение sCD14ST: Me (Me_{25}–Me_{75}) = 620 (559–704,5) пг/мл. Следовательно, рост уровня пресепсина в 1,5 и более раза при значениях ниже диагностического порога при ожоговой болезни (784 пг/мл) может являться предиктором развития сепсиса.

В ходе мониторинга уровней пресепсина у 12 пациентов группы сравнения с локальными инфекциями (раневая и респираторная) было отмечено их увеличение относительно предыдущих показателей в 1,47–1,99 раза (p=0,003); при этом все значения sCD14ST были ниже 784 пг/мл (табл. 3). С учетом факта достоверного повышения пресепсина в 1,5 и более раза за сутки до развития сепсиса у данных пострадавших был изменен режим антибактериальной терапии, начато антимикотическое и иммуноспецифическое лечение, 8 пациентам выполнены некрэктомии с тщательной санацией ран. Через два дня уровень биомаркера снизился в 1,43–1,71 раза по сравнению с днем корректировки лечения. Предпринятые действия позволили остановить прогрессирование локальных инфекций и предотвратить их генерализацию.

Уровни пресепсина демонстрировали достоверные корреляционные взаимодействия со значением шкал тяжести на протяжении всего сепсиса: SOFA (R=0,484, p=0,001) и SAPS II (R=0,493, p=0,027). Учитывая данный факт, sCD14ST был применен для мониторинга эффективности лечения. У 14 пациентов с сепсисом спустя 2–5 суток с момента установления указанного осложнения было отмечено ухудшение состояния (рост лихорадки, увеличение молодых форм лейкоцитов, ослабление перистальтики, падение ментального статуса, увеличение значений пресепсина и шкал тяжести SAPS II и SOFA) (табл. 4). В день ухудшения были проведены мероприятия, направленные на предупреждение прогрессирования заболевания: пересмотрена антибактериальная и антимикотическая терапия, назначены иммуноспецифические препараты, выполнены некрэктомия и хирургическая обработка ран. Перед изменением комплексного лечения у всех пациентов была взята кровь для бактериологического исследования.

У 10 человек через сутки после коррекции терапии наблюдалось достоверное снижение уровня пресепсина – Me (Me_{25}–Me_{75}) = 1334 (1027,5–1409,5) пг/мл (U=122,0, p=0,003) и улучшение общего состояния (медиана значения шкалы тяжести SAPS II – Me (Me_{25}–Me_{75}) = 48 (43,75–49,75) баллов). Результаты посева крови подтвердили, что возбудитель был чувствителен к вновь назначенным антибиотикам.

У 4 пациентов после изменения комплексного лечения, напротив, наблюдались рост значений sCD14ST (Me (Me_{25}–Me_{75}) = 2618,5 (2104,5–3107,5) пг/мл) и усугубление тяжести состояния согласно шкале SAPS II (Me (Me_{25}–Me_{75}) = 55 (52,5–57,2) баллов). У этих пострадавших возбудитель сепсиса не был чувствителен к назначенным ранее антибиотикам, что потребовало применения резервных препаратов и дополнительной санации очага (некрэктомий, лаважирований трахеобронхиального дерева, постановки новых венозных катетеров). Через сутки после повторной корректировки терапии отмечено уменьшение уровней sCD14ST (Me (Me_{25}–Me_{75}) = 1946,5 (1740,75–2297) пг/мл) и снижение показателя шкалы тяжести SAPS II (Me (Me_{25}–Me_{75}) = 51 (49–54) балл).

Следовательно, контроль пресепсина при сепсисе позволяет оценить эффективность лечебных мероприятий, а рост его уровней может являться показанием для смены режима антибиотикотерапии и санации очага.

Таким образом, при использовании пресепсина сепсис у ожоговых больных может быть зафиксирован при значении, равном и превышающем 784 пг/мл. Пресепсиновый тест с таким оптимальным порогом выступает диагностической моделью «отличного качества» для сепсиса

при ожоговой болезни (AUC = 0,90±0,07, 95%ДИ = 0,83–0,97, Z=5,35, p<0,001), с высокой чувствительностью (94,9%) и специфичностью (81,1%). При диагностике сепсиса 71,4% всех ложноположительных результатов использования пресепсина обусловлены тяжелыми нарушениями функции почек. Мониторинг значений пресепсина у тяжело обожженных пациентов позволяет контролировать эффективность проводимого лечения сепсиса и своевременно предотвращать прогрессирование генерализованной инфекции. НА

Статья поступила в редакцию 22.07.2016 г.

See: **http://innosfera.by/2016/10/Application_presepsina**

Summary

The development of hypermetabolic response significantly complicates the diagnosis of sepsis in burnt patients; it requires using the specific markers. Presepsin has a high sensitivity and specificity in the diagnosis of sepsis in burn patients. The values of presepsin depends on renal function. The monitoring of presepsin levels can be used for the treatment's correction and the assessment of its efficacy.

Литература

1. Chipp E. [et al.]. Sepsis in Burns // Annals of Plastic Surgery. 2010, N2(65). P. 228–236.
2. Orban C. Diagnostic criteria for sepsis in burn patients // Chirurgia. 2012, N106(6). P. 697–700.
3. Jeschke M.G., Kamolz L. P., Shahrokhi S. Burn Care and Treatment.– Wien, 2013.
4. Yizhi P. [et al.]. Diagnostic criteria and treatment protocol for post-burn sepsis // Critical Care. 2013, N17. P. 406.
5. Ушакова Т.А., Алексеев С.А., Крутиков М.Г., Бобровников А.Э. Маркеры воспаления в диагностике ожогового сепсиса // Комбустиология. 2015, № 54. С. 15–22.
6. Жилинский Е. В., Алексеев С. А., Женгерова И. А., Блыга Е.Г. Применение пресепсина и прокальцитонина в диагностике сепсиса у тяжело обожженных пациентов // Экстренная медицина. 2015, № 3. С. 35–41.
7. Петри А., Сэбин К. Наглядная медицинская статистика.– М., 2009.
8. Behnes M. [et al.]. Diagnostic and prognostic utility of soluble CD14 subtype (presepsin) for severe sepsis and septic shock during the first week of intensive care treatment // Critical Care. 2014, N18. P. 507–520.
9. Bo Liu [et al.]. Diagnostic value and prognostic evaluation of presepsin for sepsis in an emergency department // Critical Care. 2013, N17. P. 244–257.
10. Nakamuro Y. [et al.]. Usefulness of presepsin in the diagnosis of sepsis in patients with or without acute kidney injury // BMC Anesthesiology. 2014, N17. P. 88–96.

Новый метод анализа бактериальной биопленки

УДК 616-076-092.4/7:579.2

Резюме. *В статье представлен новый лабораторный метод анализа бактериальной биопленки, включающий количественную детекцию накопления биомассы и образования основного вещества. Моделирование формирования биопленки производилось в лунках иммунологических планшетов. Анализ велся по результатам оценки оптической плотности, измеренной при 540 и 490 нм. Метод является информативным и рекомендуется при диагностике инфекций, связанных с биопленкой, с целью оптимизации протоколов лечения.*

Ключевые слова: *биопленка; методы анализа биопленки; хронические инфекции; хронические раны; инфекции, ассоциированные с оказанием медицинской помощи.*

Юлия Ярец,
заведующий клинико-диагностической лабораторией РНПЦ радиационной медицины и экологии человека, кандидат медицинских наук, доцент

Наталья Шевченко,
заведующий лабораторией клеточных технологий РНПЦ радиационной медицины и экологии человека, кандидат биологических наук, доцент

Несмотря на значительные успехи, достигнутые в борьбе с инфекционным процессом, ассоциированным с оказанием медицинской помощи, уровень заболеваемости и развития осложнений данной патологии остается высоким. Кроме того, имеются серьезные проблемы в диагностике и лечении этих инфекций, что является основой формирования хронических недугов и развития рецидивов.

Последние 20 лет ознаменовались появлением новых представлений об организации жизни бактерий, особенностях их существования в организме человека. Основные открытия в этой области связаны с изучением биопленок. Свыше 20 тыс. публикаций посвящено исследованию инфекций, протекающих с формированием биопленки [1]. Накопленные данные свидетельствуют о свойствах бактерий в составе сообществ, наиболее актуальным из которых для практической медицины следует считать повышенную выживаемость микроорганизмов в биопленках. Поэтому именно последние считаются главным фактором, способствующим возрастанию числа воспалений инфекционной этиологии при нахождении пациента в стационаре [2]. По сведениям [3, 4], до 80% инфекционной патологии человека связано с образованием биопленок. Также отмечена роль микробных конгломератов в возникновении и развитии более чем 65% инфекций после получения медицинской помощи.