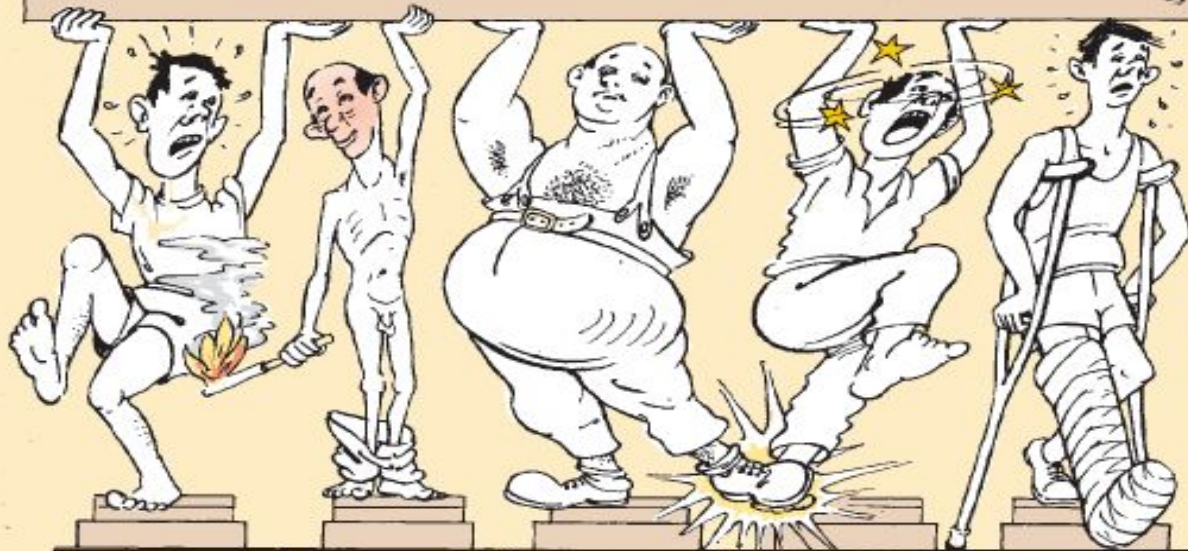


Белки острой фазы воспаления

Доцент курса клинической лабораторной
диагностики Пермской государственной
медицинской академии им. ак. Е. А. Вагнера
Дмитрий Юрьевич Соснин

Tumor, rubor, dolor, color,

INFLAMMATION



Calor	Rubor	Tumor	Dolor	Functio laesa
Local hypothermia, fever	Hyperemia (redness)	Tissue swelling (inflammatory tumor)	Burning pain	Functional impairment

Повреждающие факторы:

- хирургическая операция
- ожог
- бактериальная инфекция
- рост и развитие опухоли
- химические агенты
- другие

Местная реакция:

- изменение просвета кровеносных сосудов
- агрегация тромбоцитов и образование тромба
- аккумуляция нейтрофилов и макрофагов
- высвобождение протеаз и других лизосомальных ферментов
- образование кининов, простагландинов и других медиаторов

Общая реакция:

- боль
- ↑ температура
- лейкоцитоз
- ↓ Fe и Zn в сыворотке
- ↑ секреции гормонов
- ↑ синтеза белков ОФ

Острая фаза воспаления

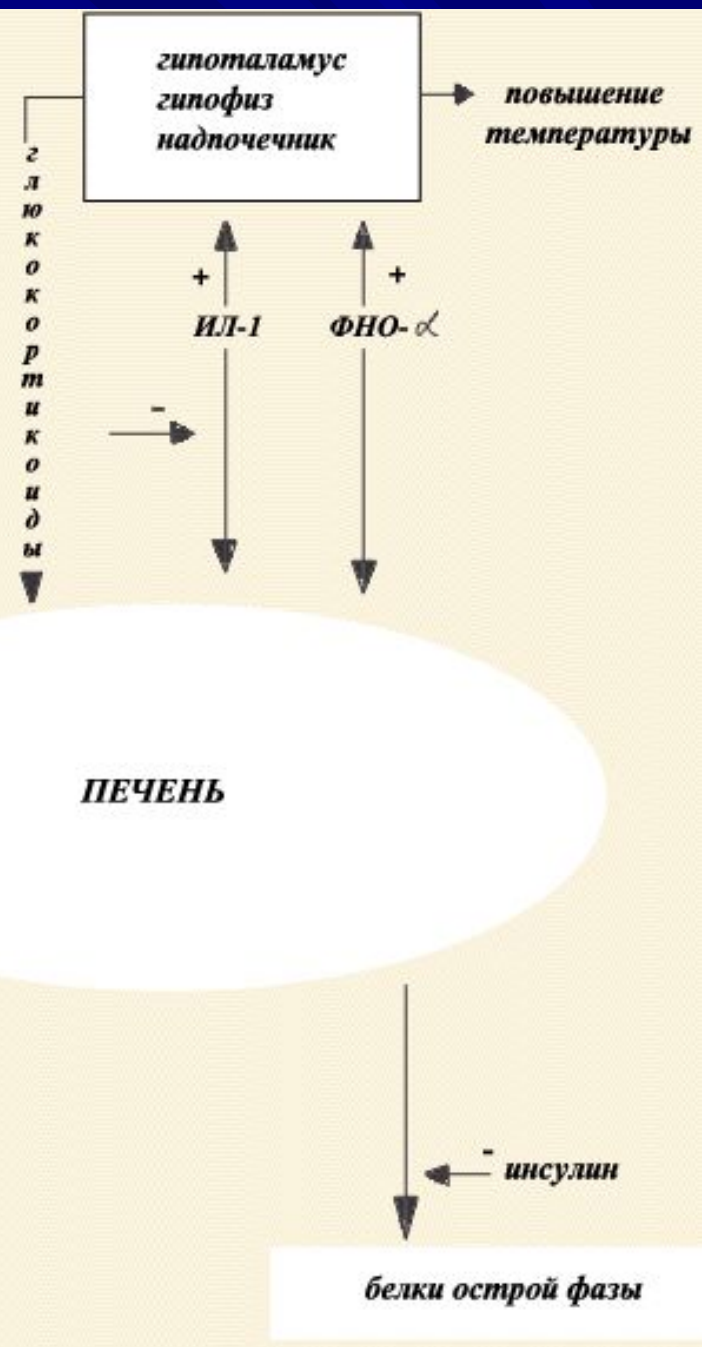
Повреждение и некроз клеток

Репаративные процессы

ИЛ-1 - интерлейкин - 1
ИЛ-6 - интерлейкин - 6
ИЛ-11 - интерлейкин - 11
ФНО- α - фактор некроза опухолей
ОСМ - онкостанин М
ИФ γ - интерферон
(+) - эффект усиления
(-) - ингибирующие действие

ИФ γ →
ОСМ →

ИЛ-11 →
ИЛ-6 →



Классификация медиаторов, регулирующих синтез белков

ОФВ

- 1. ИЛ – 6 и сходные с ним по действию цитокины (ИЛ-11, онкостатин М и др.)
- 2. ИЛ – 1 и факторы, сходные с ним по действию (ИЛ -1а, ИЛ – 1б, ФНО-ОС и ФНО-Р)
- 3. глюкокортикоиды
- 4. факторы роста (инсулин, факторы роста гепатоцитов, фибробластов, тромбоцитов)

Для острой фазы воспаления характерно

- неспецифичность и универсальность; сходный комплекс реакций может развиваться как после инфекций, так и после механической травмы
- Направленность на ограничение очага повреждения, осуществление репаративных процессов

«Острофазовые показатели» - маркеры воспаления и повреждения

- «Острофазовые показатели» (показатели острой фазы воспаления) – группа лабораторных тестов, характеризующихся закономерными изменениями при остром воспалении, но не являющиеся специфичными для типа и локализации воспалительного процесса.

Зачем исследуются ОФП

- Верификация воспаления
- Оценка интенсивности (выраженности) воспалительной реакции
- Оценка эффективности лечения
- Верификация выздоровления

- **НО!!!! Невозможно установить локализацию очага воспаления!, а часто и причину**

Старые тесты «Острой фазы воспаления»

- Сиаловые кислоты, ДФА – реакция
- Формоловая проба
- Серомукоид
- СРБ (реакция кольцепреципитации в капилляре)
- СИА -тест (тест по Sia)
- Форез белков с определением содержания белков во фракциях альфа1- и альфа-2 глобулинов
- СОЭ (в том числе методика по Панченкову)

Старые тесты «Острой фазы воспаления»

- **НЕДОСТАТКИ:**

- Плохая стандартизация результатов (результаты выдаются в не системных единицах, часто отсутствует возможность калибровки)
- Трудоемки (многостадийность)
- Длительность выполнения методик
- Часто, невозможность автоматизации методики

Старые тесты «Острой фазы воспаления»

ДОСТОИНСТВА:

- Доступность (даже для очень плохо оснащенных лабораторий, возможность приготовления реактивов непосредственно в лаборатории);
- Низкая себестоимость исследований;
- Многие методики общеприняты и их результаты регулярно запрашиваются клиницистами

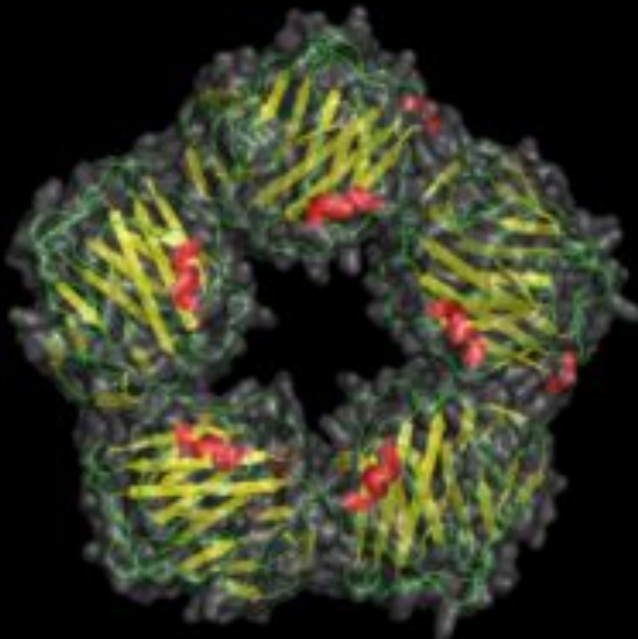
Белки острой фазы воспаления

- Классификация:
 - 1) главные положительные реактанты острой фазы воспаления
 - 2) умеренные положительные реактанты острой фазы воспаления
 - 3) слабые положительные реактанты острой фазы воспаления
 - 4) нейтральные реактанты острой фазы воспаления
 - 5) отрицательные реактанты острой фазы воспаления

главные положительные реактанты острой фазы воспаления

- Резкое увеличение в 10 – 100 и более раз в течение 6-12 часов:
 - С – реактивный белок ($N < 0,005$ г/л)
 - Амиллоидный сывороточный белок А

C – реактивный белок



- Пентраксины:
 - C-реактивный белок
 - Сывороточный амилоидный Р компонент (SAP)

- Играет защитную роль, связывая бактериальный полисахарид *Streptococcus pneumoniae*.
 - Ген CRP находится на 1-й хромосоме в локусе 1q21-q23. Молекула белка состоит из 224 остатков[1], имеет молярную массу мономера 25 106 Да и по форме представляет собой пятичленный кольцевой диск (М. в. 115 кДа)
 - Белок является членом небольшого семейства пентраксинов (англ. *pentraxin*).

Диагностическое значение

- **Отрицательный результат:** позволяет исключить бактериальную инфекции длительностью более 12 часов!!!
- **Положительный результат** – неспецифический признак воспаления

Трактовка положительных результатов

- < 6 мг/л – отрицательный результат
- 6-20 мг/л – локализованное воспаление
- 20-100 мг/л – распространенный воспалительный процесс
- > 100 мг/л – системная воспалительная реакция

умеренные положительные реактанты ОФВ

- Умеренное увеличение в 2 – 5 раз в течение 24 часов:
 - Орозомукоид (кислый альфа1-гликопротеин) (норма 0,4 - 1,3 г/л)
 - Альфа1-антитрипсин (норма 1,4 – 3,2 г/л)
 - Гаптоглобин (норма 0,5 – 3,2 г/л)
 - Фибриноген (норма 1,8 – 4,0 г/л)

Методы определения

концентрации фибриногена

Гравиметрический (по Р. А. Рутберг)

Клоттинговый (по Клаусу)

- **Ход исследования:**
 - 1,0 мл плазмы крови;
 - 0,1 мл 1%тромбопластина
 - 0,1 мл 5% CaCl₂
 - Перемешать и инкубировать 30 минут при 37 С
 - Отжать свежеполученногоо сгустка до тех пор, пока на фильтре (ткани) не будут оставаться следы влаги...
 - Взвесить сгусток на торсионных весах (мг)
 - Вес сгустка X 2,222
 - Найти концентрацию фибриногена по таблице

- **Ход исследования:**
- **Развести цитратную плазму крови**

.....
.....
.....
.....

слабые положительные реактанты ОФВ

- Незначительное увеличение концентрации (на 20 – 60%) в течение 48 часов:
 - Церулоплазмин (норма 0,2 – 0,5 г/л)
 - С3 – комплемент (норма 0,5 – 0,9 г/л)
 - С4 – комплемент (норма 0,1 – 0,4 г/л)

нейтральные реактанты ОФВ

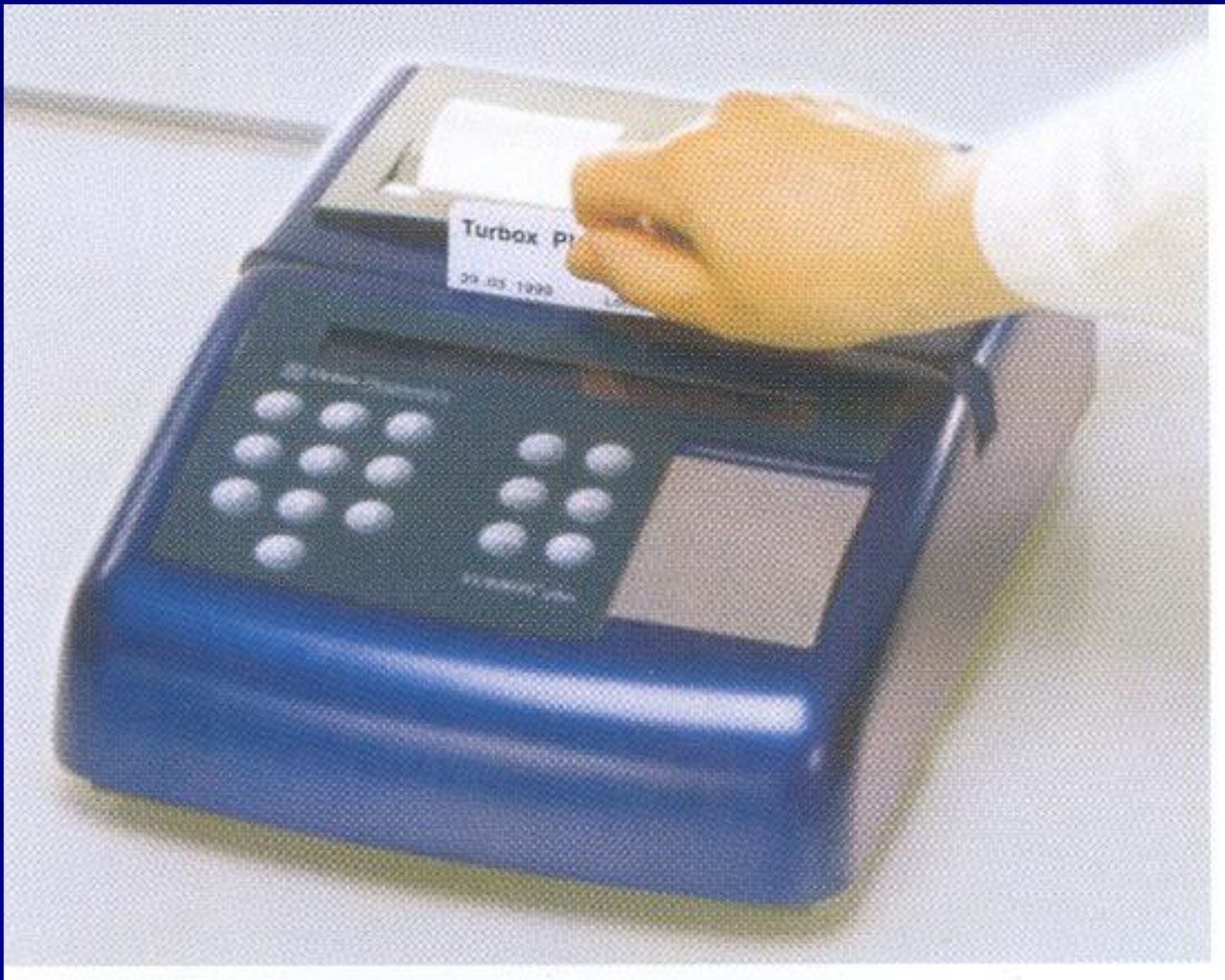
- Их концентрация может оставаться в пределах нормальных значений:
 - Иммуноглобулин G (норма 8 – 20 г/л)
 - Иммуноглобулин A (норма 0,9 – 4,5 г/л)
 - Иммуноглобулин M (норма 0,6 – 2,5 г/л)
 - Альфа2-макроглобулин (норма 1,2 – 3,2 г/л)
 - Гемопексин
 - Амилоидный белок P

«Негативные» реактанты ОФВ

- Их уровень снижается в течение 12 – 48 часов вопадения:
 - Альбумин (норма 35 – 53 г/л)
 - Трансферрин (норма 2,3 – 4,3 г/л)
 - Преальбумин (норма 0,25 – 0,45 г/л)

Методы определения концентрации белков ОФ

- Оптимальный метод – инструментальные методы иммунотурбидиметрии и нефелометрического анализа, позволяющие автоматизировать анализ и выполнять большое количество исследований
- Полуколичественные методы латекс – агглютинации предназначены для скринингового выявления повышенных концентраций ряда показателей (СРБ)
- Качественные методы - устарели



ЭКСПРЕСС



- Исследование концентрации индивидуальных белков выполняется на приборе **Turbox Plus System (Orion – Diagnostics, Финляндия)**
 - Прибор предназначен только для исследования концентрации индивидуальных белков, но зато имеет большой перечень тестов, все реагенты выпускаются с прекалибровкой, данные которой нанесены на магнитную карту тест-системы. Для контроля применяется калибровка по одной точке с калибратором, входящим в состав набора.

ЭКСПРЕСС

Каждый набор содержит:

- антисыворотку
- калибратор
- бланк буфер
- реакционный буфер
- магнитную карту

Один набор рассчитан на 60 анализов.



Особенности взаимодействия



Рис. 73. Кривая доза-эффект при образовании комплексов антиген-антитело в иммунохимической реакции (кривая Хайдельбергера-Кендаля).

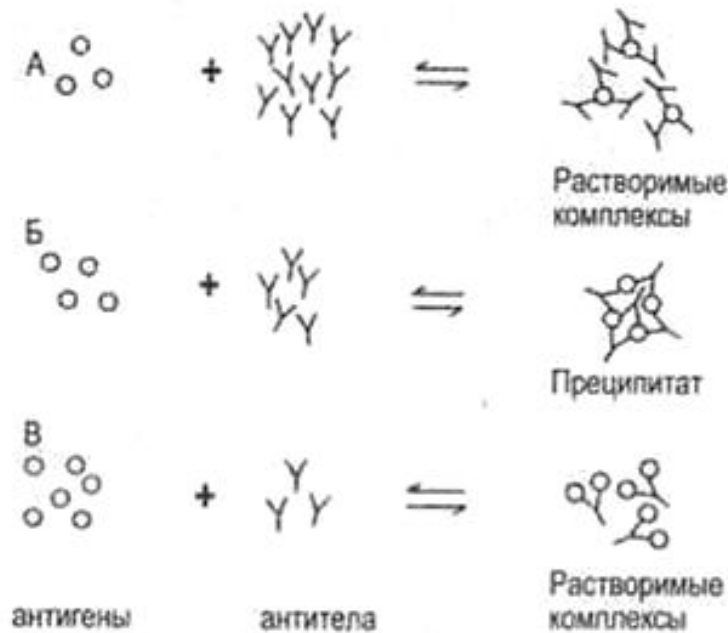


Рис. 72. Схематическая диаграмма формирования преципитата при взаимодействии антиген-антитело. А. Избыток антител. Все антигенные сайты (места связывания) заняты антителами и образование преципитата подавлено. Б. Пропорциональное содержание антигенов и антител. Оптимальная пропорция, когда 2–3 молекулы антитела приходится на молекулу антигена. Образуется преципитат. В. Избыток антигенов. Все антитела связаны, образования преципитата не происходит.

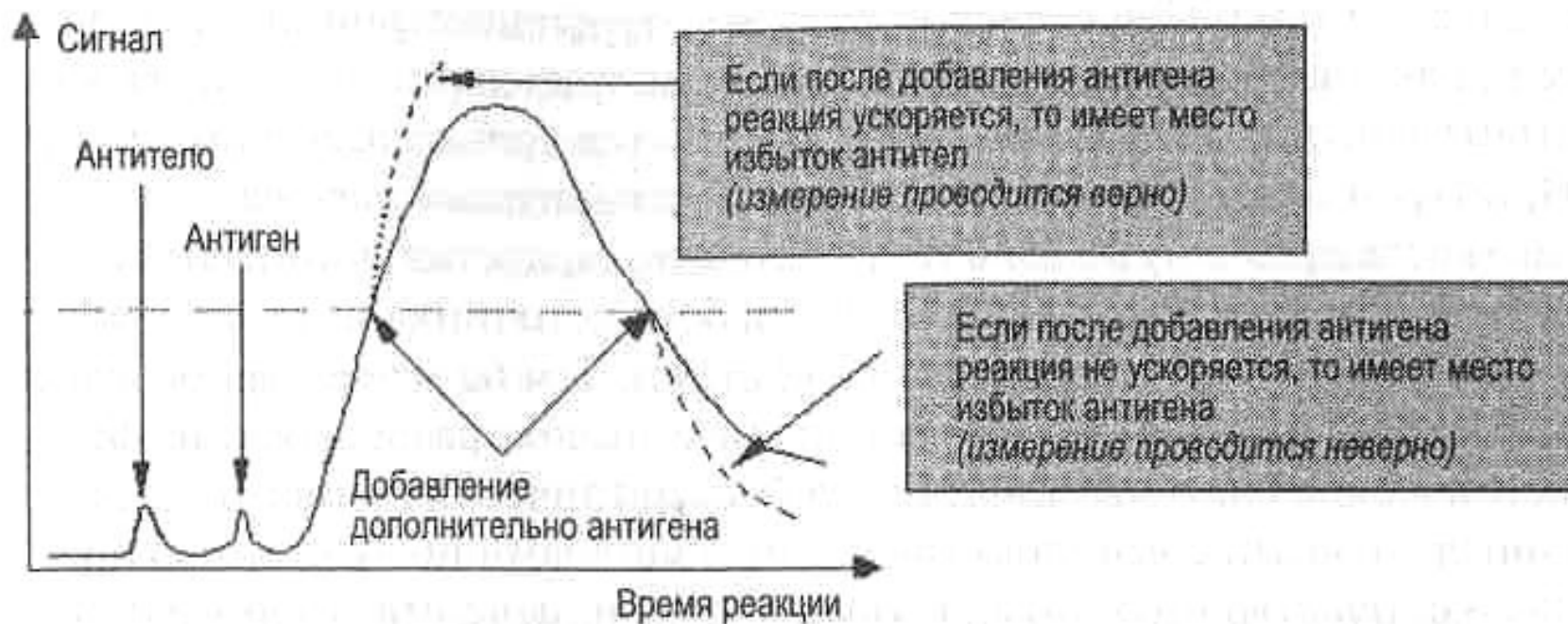


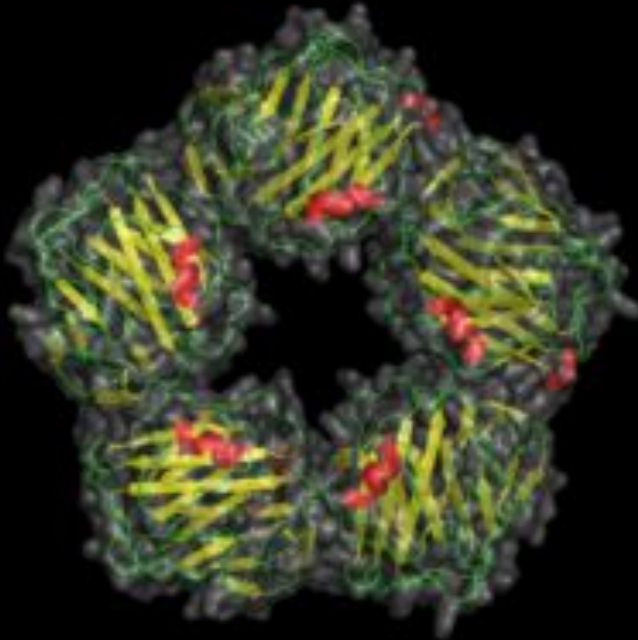
Рис. 75. Способ определения, в какой зоне кривой доза-эффект — избытка антител или избытка антигена — происходит измерение. Если реакция ускоряется после дополнительного добавления антигена (калибратора), то измерение проводится верно



Рис. 74. Калибровочный график, характерный для определения индивидуальных белков турбидиметрическим и нефелометрическим методами. Для построения графика требуется, по крайней мере, 5 стандартных растворов антигена.

C – РЕАКТИВНЫЙ БЕЛОК

C – РЕАКТИВНЫЙ БЕЛОК



- Пентраксины:
 - С-реактивный белок
 - Сывороточный амилоидный Р компонент (SAP)

- Играет защитную роль, связывая бактериальный полисахарид *Streptococcus pneumoniae*.
 - Ген CRP находится на 1-й хромосоме в локусе 1q21-q23. Молекула белка состоит из 224 остатков[1], имеет молярную массу мономера 25 106 Да и по форме представляет собой пятичленный кольцевой диск (М. в. 115 кДа)
 - Белок является членом небольшого семейства пентраксинов (англ. *pentraxin*).

НЕО – СРБ (МОНОМЕРНЫЙ СРБ)

- 1983 год – обнаружена новая форма С-РБ (нео – СРБ) или мСРБ (мономерный СРБ).
 - Большая подвижность и пониженная растворимость по сравнению с СРБ
 - Ускоряет агрегацию тромбоцитов и секрецию серотонина
 - Модулирует метаболизм арахидоновой кислоты
 - Стимулирует высвобождение интерлейкинов и др...

НЕО – СРБ (МОНОМЕРНЫЙ СРБ)

- 1983 год – обнаружена новая форма С-РБ (нео – СРБ) или мСРБ (мономерный СРБ).
 - Отличные от СРБ антигенные детерминанты
- ПРЕДПОЛОЖЕНИЕ:
 - Для индукции полноценного воспалительного ответа необходим переход пентамерной формы СРБ в мономерную

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

- **Отрицательный результат:** позволяет исключить бактериальную инфекции длительностью более 12 часов!!!
- **Положительный результат** – неспецифический признак воспаления

ТРАКТОВКА ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

- < 6 мг/л – отрицательный результат
- 6-20 мг/л – локализованное воспаление
- 20-100 мг/л – распространенный воспалительный процесс
- > 100 мг/л – системная воспалительная реакция

СРБ

- ▣ Обычный СРБ:
 - ▣ Минимальная обнаруживаемая концентрация СРБ 6 мг/л
- ▣ Обычный СРБ:
 - ▣ При концентрации СРБ в диапазоне 5 – 500 мг/л

hs – СРБ

- ▣ Высокочувствительный СРБ:
 - ▣ Чувствительность 0,05 мг/л
- ▣ Высокочувствительный СРБ:
 - ▣ При концентрации СРБ 0,05 – 10 мг/л

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ С-РБ

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

- **Отрицательный результат:** позволяет исключить бактериальную инфекции длительностью более 12 часов!!!
- **Положительный результат** – неспецифический признак воспаления

ТРАКТОВКА ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

- < 6 мг/л – отрицательный результат
- 6-20 мг/л – локализованное воспаление
- 20-100 мг/л – распространенный воспалительный процесс
- > 100 мг/л – системная воспалительная реакция

ТРАКТОВКА РЕЗУЛЬТАТОВ hs - СРБ

- Повышение уровня hs – СРБ предиктор:
 - Острого инфаркта миокарда
 - Мозгового инсульта
 - Внезапной сердечной смерти у лиц, не страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями
- РЕФЕРЕНСНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ hs – СРБ:
 - При hs – СРБ < 1 – риск низкий
 - При hs – СРБ 1-3 – риск средний
 - При hs – СРБ > 3 – риск высокий

Перед исследованием высокочувствительного СРБ сначала проводят анализ обычного СРБ, для исключения острого воспалительного процесса

СТРАТИФИКАЦИЯ РИСКОВ ПО УРОВНЮ hs - СРБ

- Риск ранней летальности (до 14 дней) при нестабильной стенокардии и ОИМ:
 - hs – СРБ (более 1,55 мг/л) + тропонин Т (более 0,1 мг/л) **высокий риск летального исхода**
- Осложнения после кардиохирургических операций:
 - ПРЕДОПЕРАЦИОННЫЙ УРОВЕНЬ hs – СРБ и церулоплазмينا:
 - hs – СРБ (< 5 мг/л) и нормальный церулоплазмин (более 2 г/л) рестеноз только в 12%
 - hs – СРБ (> 9 мг/л) и пониженный церулоплазмин (менее 2 г/л) **рестеноз в 100%**

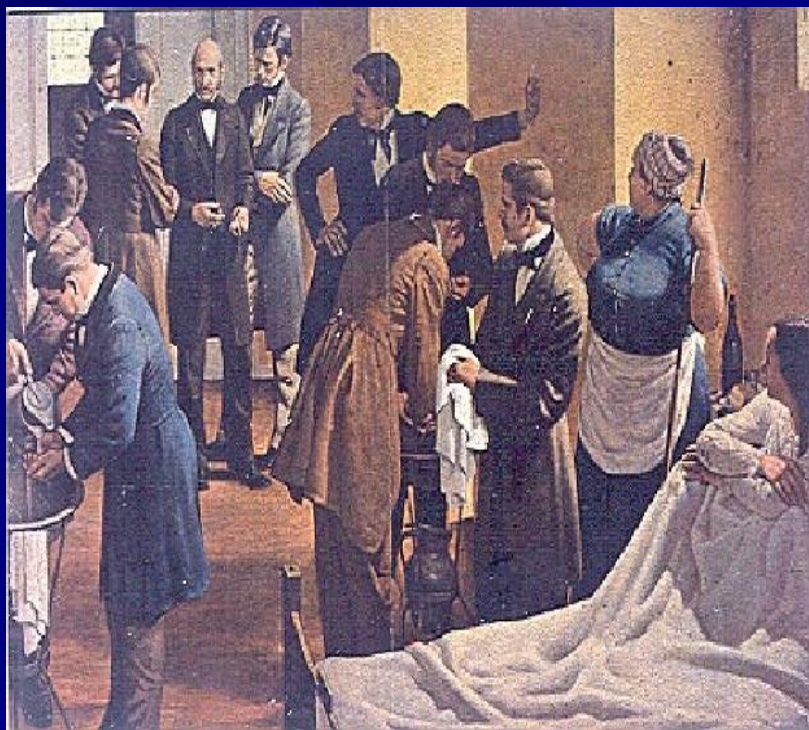
СТРАТИФИКАЦИЯ РИСКОВ ПО УРОВНЮ hs - CRP

- - независимый и сильный предиктор острого инфаркта миокарда у практически здоровых лиц среднего возраста обоего пола, у пожилых и у больных ИБС
- Повышение базовой концентрации hs - CRP связано с повышенным риском коронарных пир ступов даже в отсутствие гиперлипидемии

Диагностика сепсиса и прокальцитониновый тест



Сепсис- «старомодная» проблема



Ignaz Semmelweis
1818-1865

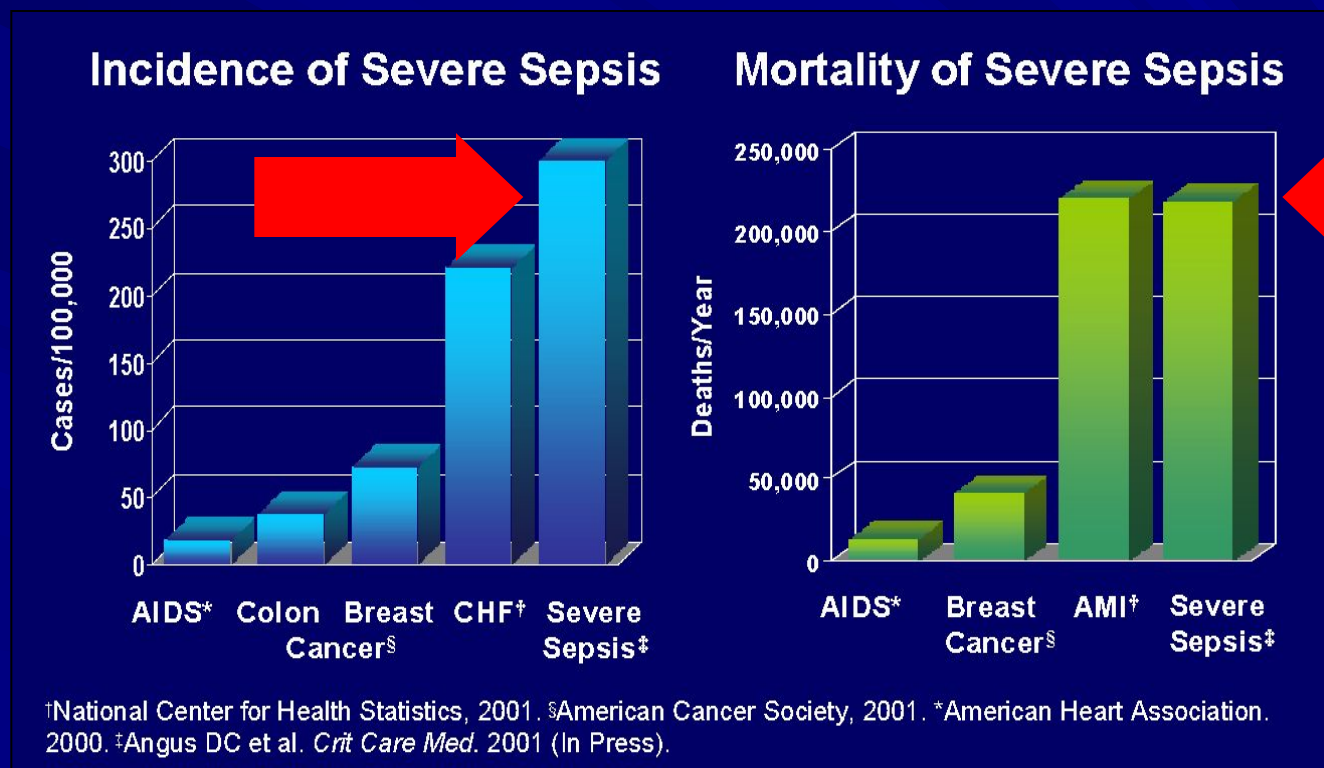
В 1847 г., пытаясь понять причины послеродовой горячки (**сепсиса**) у многих рожениц Земмельвейс предположил, что инфекцию заносят врачи из инфекционного и патологоанатомического отделений, и ввел для сотрудников больницы обязательное мытье рук перед манипуляциями с беременными и роженицами.

После этого смертность среди женщин и новорожденных упала с 18% до 2,5%,

Сепсис. Значимость проблемы.

- С 1979 по 2000 гг. в США ежегодный прирост частоты сепсиса 8,7% (164 тыс. в 1979 г. , 660 тыс. в 2000г.).
- Ожидается, что число случаев тяжелого сепсиса в США до конца десятилетия увеличится до 1 000 000
- Смертность от 30% до 56%
- В Германии примерно 60 000 смертей приходится сепсис, который занимает третье место среди причин смерти.
- Прямые экономические убытки 50 тыс. долларов на одного больного **17 billion (10⁹) US \$**
- Суммарные затраты на сепсис в США

Сепсис. Актуальность проблемы



18 миллионов людей по всему миру умирают от тяжелого сепсиса- это больше, чем число умерших от рака груди, кишечника, поджелудочной железы и простаты вместе взятых.

Данное обстоятельство продолжает оставаться наибольшей, хотя и недостаточно обсуждаемой, проблемой современной медицины.

Сепсис. Диагноз

- Диагноз сепсиса ставится, если на фоне микробной инфекции и/или bacteremia отмечается наличие системной воспалительной реакции (СВР, или SIRS-systemic inflammatory response syndrom).
- Сепсис- это СВР **микробной этиологии**

American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference (ACCP/SCCM), Чикаго, 1991г.

Критерии тяжелой инфекции согласно АССР, 2006

ССВО Синдром системного воспалительного ответа = синдром системной воспалительной реакции	Минимум два или более следующих клинических признаков: <ul style="list-style-type: none">• Температура тела > 38 °С или < 36 °С• ЧСС > 90 ударов/мин• Частота дыхания > 20/мин или $PaCO_2 < 32$ мм рт. ст. (менее 4,3 кПа)• Лейкоциты > 12 000/мм³, < 4 000/мм³ или незрелые формы > 10%
Сепсис	Явная инфекция на фоне минимум 2 признаков ССВО
Тяжелый сепсис	Сепсис в сочетании с недостаточностью функции органов, может сочетаться (но не ограничиваться) с лактатацидозом, олигурией, гипоксемией, нарушением свертывания или острыми нарушениями психического статуса.
Септический шок	Сепсис с гипотонией, несмотря на адекватную инфузионную терапию, в сочетании с нарушением перфузии. У пациентов, получающих инотропные или вазоактивные медикаменты, к моменту регистрации нарушений перфузии не всегда наблюдается гипотония.

Сепсис. Проблемы диагностики

Возможные причины «маскировки» признаков СВР у больных в критическом состоянии

Критерии диагностики СВР	Возможные неспецифические причины
Лихорадка $> 38^{\circ}\text{C}$ или гипотермия $< 36^{\circ}\text{C}$	Нарушения терморегуляции центрального генеза, наведенная гипотермия, нарушения сократительного термогенеза на фоне миорелаксации
ЧСС более 90 уд. в мин	Сердечная недостаточность, гиповолемия, применение препаратов с хронотропным эффектом, нарушения ритма сердца
ЧД более 20 дых. в мин, или $\text{PaCO}_2 < 32$ мм.рт.ст.	Сердечная и дыхательная недостаточность, ИВЛ в режиме гипервентиляции
Лейкоцитоз более $12 \times 10^9/\text{л}$	Хирургическая травма, трансфузионная терапия, применение глюкокортикоидов

Сепсис. Проблемы диагностики

Гипертермия неясного генеза. Что делать?

Специфичность микробиологического исследования (посев) крови 95-97%, чувствительность не превышает 25-42%.

Отрицательные результаты посева крови не могут гарантировать отсутствия бактериемии (Rangler-Frausto MS, 1995)

Рост культуры можно получить лишь при наличии достаточного кол-ва жизнеспособных бактерий, не поврежденных факторами иммунной защиты и лекарственных препаратами (антибиотиками)

Исследование крови на стерильность не позволяет выявить наличие химических субстанций бактериального происхождения

Проблема:

- Дифференцирование между инфекционной и другими причинами синдрома системного воспалительного ответа, такими как травма и иммунокомплексные заболевания.
- Необходимость быстро и объективно оценить эффективность терапии
- Оценка прогноза

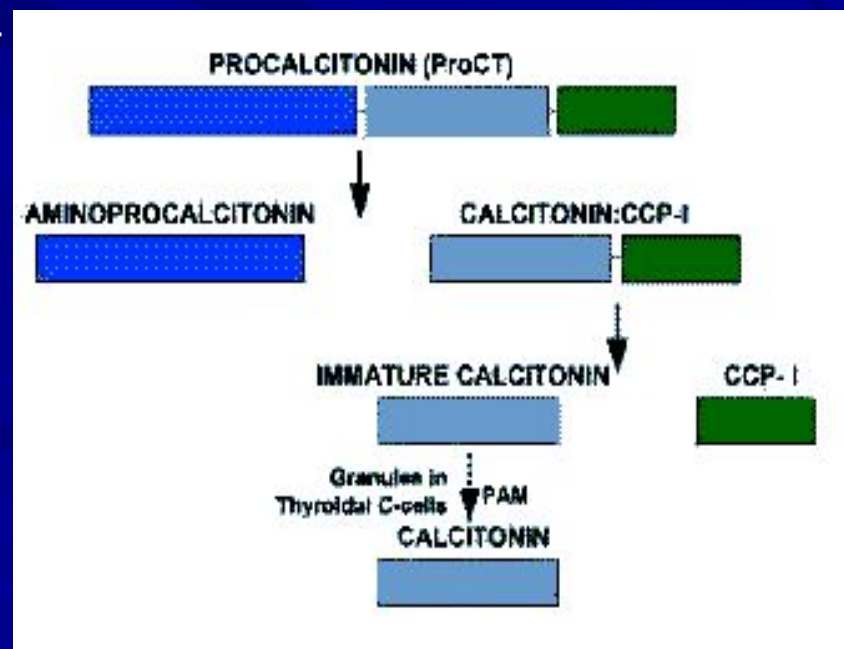
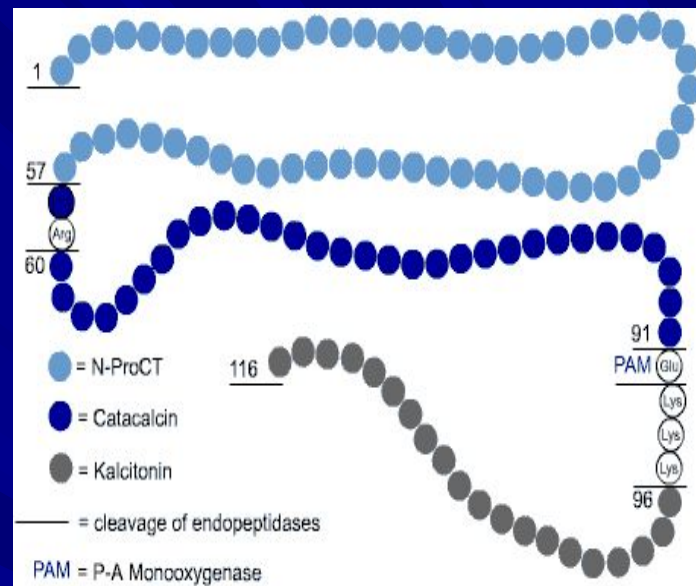
Прокальцитонин. История вопроса.

- Прокальцитонин был впервые описан в 1984 г. как маркер злокачественных новообразований щитовидной железы
- С 1990 г. интерес как к специфическому маркеру инфекции
- Внедрен в практику с 2000 г. для диагностики сепсиса
- В 2005 году иммунолюминиметрический тест на прокальцитонин «BRAHMS PCT LIA» одобрен управлением по контролю над пищевыми продуктами и лекарственными препаратами США (FDA)
- В 2008 г. начало продаж тест-системы Elecsys BRAHMS PCT для анализаторов линии Элексис



Что такое прокальцитонин?

- Прокальцитонин - гликопротеин, состоящий из 116 аминокислот и имеющий молекулярную массу 14.5 кДа, период полужизни – 24 часа
- Синтез прокальцитонина из препрокальцитонина в С-клетках щитовидной железы
- Является предшественником кальцитонина. Не обладает гормональной активностью, не оказывает влияния на метаболизм кальция и фосфора
- Концентрация PCT в крови здоровых пациентов крайне мала (менее 0,05 нг/мл)
- Концентрация PCT в артериальной крови на 4% выше, чем в венозной
- Лекарственные препараты не оказывают влияние на концентрацию PCT



Механизм повышения уровня прокальцитонина при сепсисе

- Точная локализация мест синтеза PCT при тяжелой инфекции окончательно не установлена.
- Синтез может осуществляться в лейкоцитах, нейроэндокринных клетках легких, кишечника и печени (исследование у больных с тотальной резекцией ЦЖ, Nylen et al 1996)
- Индукторами продукции являются липополисахарид грамотрицательных бактерий, провосполительные цитокины IL-6 и TNF- α
- Возможно «острофазовое происхождение» в печени
- Главными стимуляторами синтеза PCT являются бактериальные эндотоксины

Выделение PCT происходит только при системной реакции организма на инфекцию. Локальные воспалительные процессы и инкапсулированные абсцессы не приводят к значительному выбросу PCT в кровотоки

Уровни прокальцитонина в различных клинических ситуациях

РСТ, нг/мл	Категория
<0,05 (нормальное значение) Здоровый человек	Нормальный уровень РСТ. Отсутствие системной воспалительной реакции.
<0,5 измеряемая, но незначительная концентрация	Незначительная или недостоверная системная воспалительная реакция. Локальные бактериальные инфекции, легкое течение (например, отит, тонзиллит, бронхит, цистит). Низкая вероятность сепсиса
0,5-< 2 системная воспалительная реакция достоверная, но умеренной степени. Инфекция возможна.	«Серая зона» Поставить диагноз сепсиса с уверенностью нельзя, рекомендуется повторить измерение в течение 6-24 часов. При доказанной инфекции: диагноз сепсиса положительный.
> 2 но < 10 тяжелая системная воспалительная реакция, сепсис	тяжелый <i>ССВР</i> , высокий риск тяжелого сепсиса и/или септического шока (чувствительность 85%, специфичность 93%). При продолжительном повышенном значении (более 4 дней) коррекция терапии. Плохой прогноз. Ежедневное измерение РСТ.
>10 выраженная системная воспалительная реакция вследствие тяжелого бактериального сепсиса или септического шока	Данный уровень РСТ часто связан с органной недостаточностью. Большой риск летального исхода. Ежедневное измерение уровня РСТ.

Когда следует повторно проводить измерение ПКТ?

в течение 6-24 часов

- для дифференциальной диагностики сепсиса, в случае если концентрация только слегка повышена (менее 2 нг/мл) и/или если у пациента наблюдаются клинические признаки сепсиса.

каждые 24 часа

- пациентам с риском развития сепсиса и нарушения функции органов.
- септическим пациентам для оценки ответа пациента на терапию.

Контрольные диапазоны содержания прокальцитонина для новорожденных в возрасте 0-48 часов

Возраст (часы)	Концентрация прокальцитонина
0-6	2
6-12	8
12-18	15
18-30	21
30-36	15
36-42	8
42-48	2

С 3 дня жизни для новорожденных контрольные значения содержания *прокальцитонина* такие же, как и для взрослых

Неинфекционные причины повышения уровня прокальцитонина

- первые 2-3 дня после обширной травмы, ожогов, обширных операций (через 24-48 часов после операции наблюдается максимальный уровень *ПКТ* и, обычно, не превышает 2-3 нг/мл; только в отдельных случаях может быть 5-10 нг/мл)
- первые дни терапии иммуносупрессантами и другими препаратами, вызывающими высвобождение провоспалительных цитокинов
- первые 2 дня жизни после рождения
- длительный или тяжелый кардиогенный шок
- тяжелые и продолжительные нарушения микроциркуляции
- медуллярная карцинома С-клеток щитовидной железы, мелкоклеточный рак легких

Применение прокальцитонина в хирургии

- Дифференциальная диагностика и выбор тактики ведения больного при стерильном и инфицированном панкреатонекрозе (Гельфанд Б.Р., 2005г.).
- Отсутствие связи между уровнем PCT и хирургической травмой.
- Пороговый уровень PCT при инфицировании некротизированной ткани поджелудочной железы более 2 нг/мл (чувствительность-85%, специфичность-94%)

PCT не уступает диагностической ценности «золотому стандарту» инфицированного деструктивного панкреатонекроза тонкоигольной аспирации ткани поджелудочной железы.

Применение в кардиохирургии: с целью предиктора развития инфекционных осложнений (НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева)



Подозрение на инфекцию в послеоперационном периоде, наличие признаков СВР

Очаг инфекции или бактериемии отсутствуют

Имеется очаг инфекции или бактериемии

РСТ < 2
нг/мл

РСТ > 2
нг/мл

РСТ > 2
нг/мл

РСТ < 2, 2-10
нг/мл

РСТ > 10
нг/мл

РСТ > 10
нг/мл

АБ терапия не рекомендована. Посев крови

Деконтаминация ЖКТ, энтеросорбция, очистительные клизмы. Ципрофлоксацин монотерапия. Посев крови

АБ терапия локальной инфекции (в соответствии с протоколом). Посев крови, посев материала из очага

Деэскалационная терапия (карбанепемы), деконтаминация ЖКТ, энтеросорбция, заместительная иммунотерапия. Посев крови, посев материала из очага

Вновь возникшая органная недостаточность. Заместительная иммунотерапия. По показаниям-экстракорпоральная поддержка. Посев крови.

Вновь возникшая органная недостаточность. Деэскалационная терапия (карбанепемы), деконтаминация ЖКТ, энтеросорбция + зигрис, заместительная иммунотерапия. По показаниям-экстракорпоральная поддержка. Посев крови, посев материала из **очага**.

Клинический пример. Использование РСТ для контроля диагностической и терапевтической стратегии

- Больная Р., 76 лет. Госпитализирована с диагнозом «острого живота» Симптомы развивались в течение последних 24 часов. Сначала гемодинамика пациентки была нестабильна, но в результате инфузионной поддержки и введения катехоламинов гемодинамика стабилизировалась.
- Через 3 часа после поступления ПКТ - 60 нг/мл. Диагноз: «Септический шок»
- Проведена сигмоидэктомия с двойной колостомией и перитонеальный лаваж.
- Через 6 дней на фоне интенсивной терапии и нестабильной гемодинамики больная переведена на ИВЛ. ПКТ к этому времени - 80 нг/мл. Проведена КТ, по данным которой - перитонит.
- На 7-ой день была вновь проведена повторная лапаротомия и лаваж. На 9-ый день отмена катехоламинов и завершение ИВЛ
- Значение ПКТ в сыворотке снизилось до 30 нг/мл, на 12-ый день значение стало ниже 10 нг/мл.

Применение прокальцитонина в реанимации, отделениях неотложной терапии

- РСТ позволяет исключить инфекционный генез шокового состояния.
- В контролируемом исследовании, Швейцарской рабочей группой (S.Harbach et al.) у больных в септическом шоке, показана возможность сокращения длительности АБТ (на четверо суток) и пребывания в ОРИТ по данным теста на РСТ
- Мониторинг эффективности антибактериальной терапии
- Ведение больных с респираторным дистресс-синдромом
- В качестве критерия назначения заместительной иммунотерапии
- Прогноз течения заболевания

Применение прокальцитонина в педиатрии

У каких пациентов следует измерять ПКТ?

- Во всех случаях, когда возникает подозрение на сепсис на основании клинических признаков, свидетельствующих об опасности внутриутробного инфицирования.
- Клинические признаки для новорожденных: тахипноэ, брадикардия, тахикардия, артериальная гипотония, гепатоспленомегалия, синдром «бледного пятна», пониженный мышечный тонус, судороги, возбудимость, стоны, возрастание потребности в кислороде, ухудшение газов крови, апноэ и т.д.
- Факторы риска внутриутробного инфицирования: преждевременный разрыв околоплодных оболочек, сахарный диабет, ВИЧ-инфекция, иммуносупрессия.

Особенности определения PCT в педиатрии:

У здоровых новорожденных в первые 2 дня жизни уровень PCT повышен

К 3-м суткам нормализация уровня PCT и возможность использования референсных пределов для взрослых



Применение прокальцитонина в педиатрии

- Тест РСТ начиная с 3-х суток может быть использован для диагностики, дифференциальной диагностики и мониторинга тяжелых инфекций и сепсиса у новорожденных.
- Мониторинг антибактериальной терапии.

Недооценка уровня микробной нагрузки и выбор неадекватного АБ может привести к быстрой активации воспалительного процесса.

С другой стороны, тяжесть состояния ребенка на ИВЛ может быть обусловлена причинами, не связанными с инфекцией и широкий спектр АБ нецелесообразен

Оптимизация антибиотикотерапии у новорожденных состоит в раннем назначении карбапенемов, что становится возможным с внедрением в практику прокальцитонина (Н.В.Белобородова, НЦ ССХ им.А.Н.Бакулева, 2008)

У части новорожденных, оперированных по поводу пороков внутриутробного развития ЖКТ, уже в 1-е сутки определяется наличие СВР, но для подтверждения его инфекционного генеза необходимо исследование РСТ в крови (Мельникова Е. В., МОНИАГ, 2002)

Применение прокальцитонина в педиатрии, урологической практике

Инфекции мочевыводящих путей частая ситуация в детской амбулаторной и стационарной практике. По статистике в течение первых 6 лет жизни, эти инфекции диагностируются у 7% девочек и 2% мальчиков. Цистография сопряжена с риском ятрогенного инфицирования, лучевой нагрузкой в области малого таза.

- Многоцентровое исследование в 7 центрах Западной Европы, 398 детей в возрасте от 1 мес. До 4 лет. Вывод: прокальцитонин является альтернативой цистографии при инфекциях мочевыводящих путей, сопровождающихся лихорадкой. По уровню PCT можно судить о наличии пузырно-мочеточникового рефлюкса. (Leroy S. et al, 2007).
- У детей с уроинфекцией уровень PCT >0,5 нг/мл является предиктором инфекционного поражения почечной паренхимы (чувствительность 100%, специфичность 87%) (Bigot S. et al, 2005).

Динамика уровня РСТ в раннем постнатальном периоде

Исследование в Испании (317 новорожденных из 13 госпиталей)

Сроки исследования	Концентрация РСТ, нг/мл	Чувствительность	Специфичность
При рождении	0,55 нг/мл	75,4%	72,3%
12-24 часов жизни	4,7 нг/мл	73,8 %	80,8%
36-48 часов жизни	1,7 нг/мл	77,6 %	79,2%

Возраст в часах	ПКТ (нг/мл)
0-6	2
6-12	8
12-18	15
18-30	21
30-36	15
36-42	8
42-48	2

Lopes Sastre et al, 2007г.

Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 13 марта 2006 г. № 148

Стандарт оказания медицинской помощи больным
при бактериальном сепсисе новорожденного

- Модель пациента:
- Категория возрастная: новорожденные
- Нозологическая форма: Бактериальный сепсис новорожденного
- Код по МКБ-10: P36
- Фаза: любая
- Стадия: любая
- Осложнение: вне зависимости от осложнений
- Условие оказания: стационарная помощь

A09.05.215: Исследование уровня прокальцитонина в крови

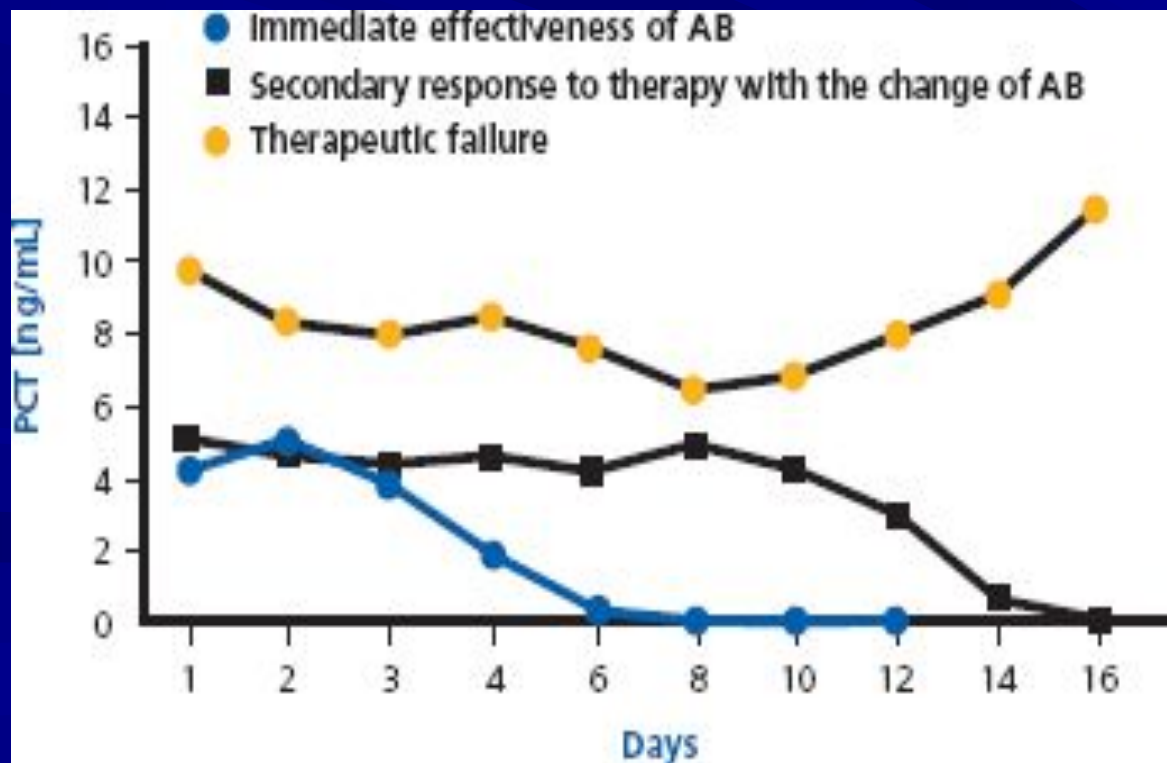


Применение прокальцитонина в клинике внутренних болезней

- Использование теста на PCT позволяет сократить частоту необоснованного назначения антибиотиков при инфекциях нижних дыхательных путей.
- Выбор этиотропной АБ терапии пневмонии когда возбудитель неизвестен. Дифференциальная диагностика этиологии внебольничных пневмоний (бактериальной и атипичной – микоплазменной и хламидийной)
- Дифференциальная диагностика инфекционной и аутоиммунной природы аллергосепсиса (выбор АБ или иммуносупрессивной терапии)

Уровень PCT, нг/мл	Интерпретация и рекомендуемая тактика
<0,1	Бактериальная инфекция отсутствует. Антибиотики настоятельно не рекомендуются.
0,1-0,25	Вероятность бактериальной инфекции мала. Антибиотики не рекомендуются.
0,25-0,5	Бактериальная инфекция вероятна. Рассмотреть необходимость назначения антибиотиков.
>0,5	Высокая бактериальной инфекции. Показана терапия антибиотиками

Динамика концентрации РСТ при различных вариантах антибиотикотерапии



Morgenthaler N et al., 2003

Применение прокальцитонина в онкологической практике

- Диагностика инфекций у онкологических больных с химиотерапевтической миелоаблацией, глубоким иммунодефицитом.
- Лихорадка зачастую является единственным проявлением инфекционных очагов.
- Исследование в США, 104 пациента с солидными опухолями, у которых на фоне химиотерапии развилась фебрильная нейтропения (лихорадка в сочетании со снижением уровня нейтрофилов $< 0,5 \times 10^9$)

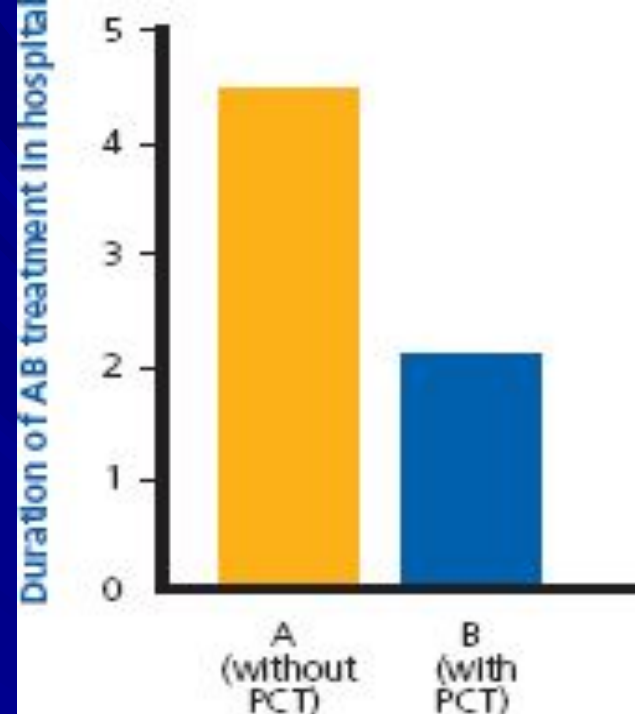
РСТ нормальный – антибиотики не назначаются.

РСТ повышен – антибиотики необходимы.

Экономические аспекты применения прокальцитонинного теста

1. Оптимизация антибиотикотерапии (снижение потребления антибиотиков без ущерба качеству лечения при помощи прокальцитонина, снижение частоты повторного назначения АБ)
2. Сокращение длительности пребывания больных в ОРИТ

В 1999 г. при лечении 149 больных экономический эффект составил 24000 долл.



Годы	Длительность АБ терапии, сут.	Длительность пребывания в ОРИТ, сут.	Повторные курсы АБ, %	Летальность, %
1996-1997	8,5±1,2	13	65	16
1998	7 ± 0,8	14	59	19
1999-2000	6,5 ± 0,9	11	51	17

Планируется IL-6 Elecsys

Биохимия

- гликопротеин из 184 аминокислот (26 кД)
- продуцируется фибробластами, Т-лимфоцитами, клетками эндотелия, моноцитами, астроцитами и некоторыми опухолевыми клетками.
- Влияет на иммунную систему, гематопоз и воспаление
- IL-6 является триггером продукции СРП печенью
- Ранний и чувствительный маркер (маркер тревоги) системного воспаления и сепсиса, в том числе неонатального сепсиса

Область применения:

- Раннее выявление бактериального сепсиса
- Раннее выявление сепсиса новорожденных
- Мониторинг критических состояний при остром воспалении

Планируемые сроки начала продаж в России – 4 кв. 2008

Алгоритм применения IL-6 и PCT при сепсисе



СВР

Сепсис

Тяжелый сепсис

Септический шок

- ♦ температура $\geq 38^\circ\text{C}$
- ♦ частота пульса (ЧСС > 90 уд. в мин)
- ♦ частота дыхания ЧДД > 20 в мин
- ♦ лейкоцитоз $\geq 12,000$ или $< 4,000$ в 1 мкл, кол-во незрелых форм более 10%)

IL-6 мониторинг

При повышении

PCT

→ Культура крови

→ **Septifast**

СВР+ предполагаемая или верифицированная инфекция

↓
Направленные поиски и мониторинг функций органов:

Легкие: x-ray, CT

МПС: sono, creatinine, urea

Печень: sono, ALT, AST, LDH

Сердце: ECG, TnT, **proBNP**

Мозг: cCT, CSF, NSE, **S100**

Кровь: blood count

Коагуляция: Quick, AT III, fibrinogen, thrombocytes, D-dime
Другие: glucose, lactate, CRP,

10%

20%

40%

80%



Ведение больных с сепсисом

Ранняя
диагностика

Идентификация
возбудителя

Мониторинг
терапии

Интерлейкин-6
Прокальцитонин

LightCycler
SeptiFast test

Прокальцитонин
S100- оценка функции
мозга
NT-proBNP, тропонины
– функции миокарда и
др.



Методы экспресс-исследования ПКТ



- ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕТОДА:
- Одностадийный иммунохроматографический метод (принцип «сэндвича») с использованием иммуносвязанного золота.
- Источник образца: сыворотка или плазма
- Объем образца: 200 мкл
- Время инкубации: 30 мин при комнатной температуре (18-300С).
- Результат: полуколичественный
- Интервалы измерения:
 - < 0,5 нг/мл
 - 0,5-< 2 нг/мл
 - 2 < 10 нг/мл
 - > 10 нг/мл

- Компания BRAHMS AG (Германия) разработала экспресс-диагностику сепсиса по Прокальцитонину (ПКТ)



B · R · A · H · M · S

PCT-Q



2...30°C

REF 106.025



B · R · A · H · M · S Aktiengesellschaft
16761 Hennigsdorf/GERMANY



Intended use



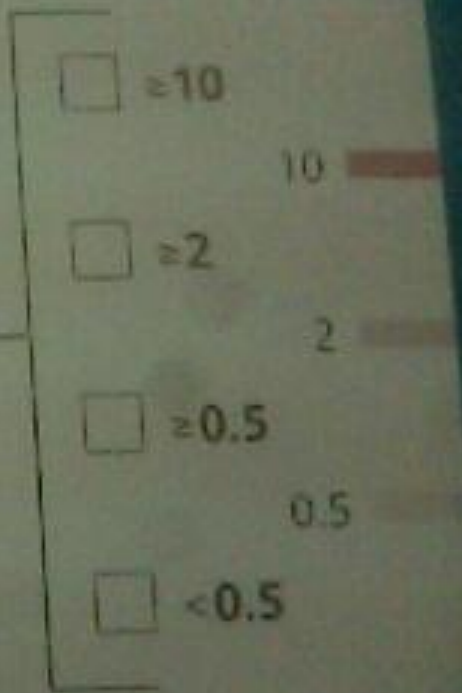
RS

B·R·A·H·M·S
Reference Card

PCT-concentration
after 30 min¹ [ng/ml]

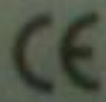
Patient:
Date:
Start of test:
Reading time:

LOT



B·R·A·H·M·S

IVD



REF 106

01.10.2003-19

Тест системы для автоматических анализаторов

- ADVIA CENTAUR B·R·A·H·M·S PCT
- ELECSYS® B·R·A·H·M·S PCT
- VIDAS® B·R·A·H·M·S PCT VIDAS®
B·R·A·H·M·S PCT

B·R·A·H·M·S
PCT
ADVIA CENTAUR

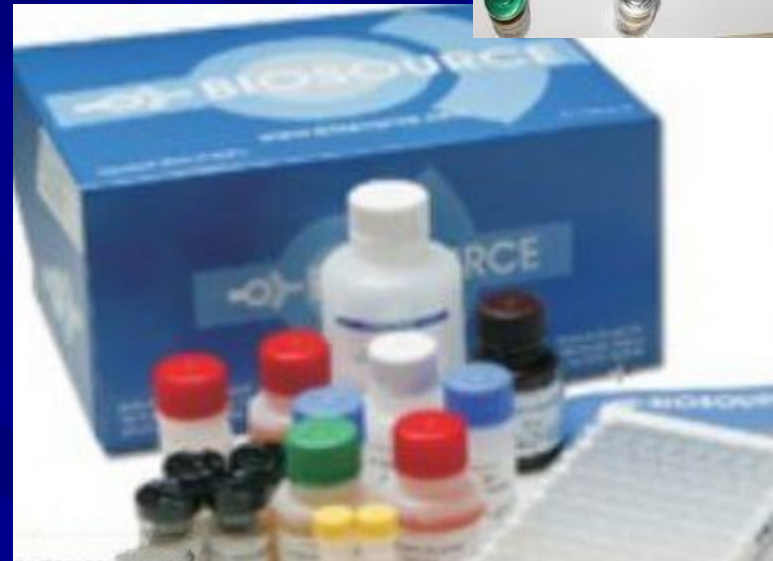
B·R·A·H·M·S
PCT
ELECSYS®

B·R·A·H·M·S
PCT
VIDAS®



ИФА-тест системы

- Вектор-Бест





СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!