

**17. međunarodni simpozij
Hrvatskog društva medicinskih biokemičara
i Slovenskog združenja za klinično kemijo**

**Sepsa – (Ne)rješivi klinički i
dijagnostički izazov?**

Organizatori

Hrvatsko društvo medicinskih biokemičara
Slovensko združenje za klinično kemijo
Zagrebački Velesajam

Organizacijski odbor

Ana-Maria Šimundić, Predsjednica
Vedran Čoporda
Nora Nikolac
Mario Štefanović
Marijana Žirović

Znanstveni odbor

Karmela Barišić
Ivan Malešić
Pika Meško Brguljan
Ana-Maria Šimundić
Renata Zadro

**17th International Symposium of the
Croatian Society of Medical Biochemists and
the Slovenian Association of Clinical Chemistry**

**Sepsis – clinical and diagnostic
challenge**

Organizers

Croatian Society of Medical Biochemists
Slovenian Association of Clinical Chemistry
Zagreb Fair

Organizing Committee

Ana-Maria Šimundić, chairperson
Vedran Čoporda
Nora Nikolac
Mario Štefanović
Marijana Žirović

Scientific Committee

Karmela Barišić
Ivan Malešić
Pika Meško Brguljan
Ana-Maria Šimundić
Renata Zadro

Sadržaj

Simpozijaska predavanja

Patofiziologija i epidemiologija sepsa
Jereb Matjaž

Upalni odgovor u sepsi
Jerin Aleš

Genetska osnova disregulacije imunološkog odgovora u sepsi
Šimundić Ana-Maria

Dijagnostički i prognostički biljezi u sepsi
Gorenjak Maksimilijan

Metabolički i respiratorni poremećaji u sepsi
Rumenjak Vlatko

Poremećaj hemostaze u sepsi
Zadro Renata

Neonatalna sepsa
Getaldić Biserka

Miopatija i neuropatija u sepsi
Bašić-Kes Vanja

Kongenitalne imunodeficijencije i sepsa
Mazul Sunko Branka

Posterski sažeci

Contents

Symposium lectures

Pathophysiology and epidemiology of sepsis
Jereb Matjaž

Inflammatory response in sepsis
Jerin Aleš

Genetic basis of immunologic response dysregulation in sepsis
Šimundić Ana-Maria

Diagnostic and prognostic markers in sepsis
Gorenjak Maksimilijan

Metabolic and respiratory disturbances in sepsis
Rumenjak Vlatko

Coagulopathy of sepsis
Zadro Renata

Neonatal sepsis
Getaldić Biserka

Critical illness polyneuropathy and myopathy in sepsis
Bašić-Kes Vanja

Congenital immunodeficiencies and sepsis
Mazul Sunko Branka

Poster abstracts

Patofiziologija i epidemiologija sepse

Matjaž Jereb

Odsjek za infektivne bolesti, Sveučilišni medicinski centar Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

Sepsa je teška klinička manifestacija bakterijske ili gljivične infekcije. Iako je aktivacija imunološkog sustava za vrijeme infekcije mikroorganizmima uglavnom protektivna, u određenog se broja bolesnika razvija sepsa sa višestrukim zatajavanjem organskih sustava kao posljedica disregulacije imunološkog odgovora na produkte mikroorganizama. Brojni mehanizmi koji su uključeni u patogenezu sepse obuhvaćaju oslobađanje citokina, aktivaciju neutrofila, monocita i endotelnih stanica, neuroendokrinološkog sustava, komplementa te sustava koagulacije i fibrinolize. Interakcija ovih sustava rezultira mikrovaskularnom ozljedom koja dovodi do višestrukog zatajavanja organa. Glavnu ulogu u indukciji Gram negativne sepse ima lipopolisaharidna komponenta stanične stijenke Gram negativnih bakterija. Sistemski odgovor na sepsu potaknut je endotoksinima putem aktivacije CD-14, *Toll-like* receptora 4, i MD-2 proteina te mnogih upalnih citokina koji se oslobađaju u krv. Međutim, ako sepsa perzistira dolazi od pomaka od upalnih prema protuupalnim citokinima. Koncentracije ovih citokina imaju prognostički značaj jer mogu predvidjeti disfunkciju organa i smrt.

Gram pozitivne bakterije uzrokuju sepsu egzotoksinima i komponentama stanične stijenke, koje stimuliraju imunološki odgovor mehanizmima vjerojatno sličnim kao i kod Gram negativnih bakterija.

U posljednjim desetljećima incidencija sepse raste. Rizik od smrtnosti je povećan kod starijih bolesnika te bolesnika s komorbiditetom – malignim bolestima ili HIV infekcijom. U SAD-u se godišnje teška sepsa dijagnosticira kod oko 750 tisuća bolesnika što predstavlja 2–4% bolničkih primitaka. Između 1979. i 2000. godine godišnji porast u incidenciji sepse povećan je od 83 na 240 na 100 tisuća stanovnika. Prema sadašnjoj literaturi, incidencija sepse u razvijenim europskim zemljama iznosi između 50 i 100 slučajeva na 100 tisuća stanovnika. Incidencija sepse u jedinicama intenzivne skrbi u Sloveniji slična je onoj u nekoliko drugih zemalja i iznosi oko 109 slučajeva na 100 tisuća stanovnika.

Smrtnost od sepse iznosi oko 30%, a kod bolesnika za teškim sindromom i septičkim šokom čak oko 50%. Rana dijagnoza i liječenje još su uvijek kritična točka u prevenciji razvoja višestrukog organskog zatajavanja. Napredak u razumijevanju imunopatofiziologije sepse može pružiti nove terapijske strategije te povećati preživljavanje.

Pathophysiology and epidemiology of sepsis

Matjaž Jereb

Department of Infectious Diseases, University Medical Centre Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

Sepsis is classically defined as severe clinical manifestation of bacterial or fungal infection. Although activation of the immune system during microbial invasion is generally protective, sepsis with multiorgan failure develops in a number of patients as a consequence of excessive or poorly regulated immune response to microbial products. Many mechanisms are involved in the pathogenesis of sepsis, including the release of cytokines, the activation of neutrophils, monocytes, and microvascular endothelial cells, as well as the activation of neuroendocrine system, complement, the intrinsic and extrinsic pathways of coagulation, and the fibrinolytic system. The interaction of these system produces a microvascular injury that leads to multiple organ dysfunction.

A pivotal role in inducing Gram negative sepsis has lipopolysaccharide, a component of the Gram negative cell wall. Systemic response to infection is triggered by endotoxin over activation of CD-14, *Toll-like* receptor-4, and protein MD-2 and many proinflammatory cytokines are released into blood. However when sepsis persists, there is a shift toward an antiinflammatory cytokines. The levels of pro- and antiinflammatory cytokines are of prognostic significance and can predict organ dysfunction and death. Gram positive bacteria can cause sepsis by producing exotoxins and by components of their cell walls stimulating immune cells. Immune response is probably induced through similar mechanisms to those in Gram negative sepsis.

In the last decades the incidence of sepsis increased. Very elderly and patients with comorbidity, with malignancy, and HIV disease are believed to be at higher risk of death. In the United States, an estimated 750.000 patients with severe sepsis are diagnosed each year, accounting for 2–4% of hospital admissions. Between 1979 and 2000, there was an annualized increase in the incidence of sepsis from 83 to 240 per 100.000 population. Based on the current literature, the incidence rate for severe sepsis in European industrialized nations consistently lies between 50 and 100 cases per 100.000 individuals. The attack rate of severe sepsis in Slovenian ICUs is similar to the rate found in several other countries. We estimated the incidence of severe sepsis to be 109 cases per 100.000 in our population.

The mortality rate of sepsis is approximately 30% and is 50% or greater in patients with more severe syndrome and septic shock. Early diagnosis and treatment are still a corne stone to prevent developement of multiorgan failure. Advances in our understanding of imunopathophysiology of sepsis may create the new therapeutical strategy and improve survival rate.

Upalni odgovor u sepsi

Aleš Jerin

Zavod za kliničku kemiju i biokemiju, Klinički bolnički centar Ljubljana, Ljubljana, Slovenija

Sepsa je stanje koje uključuje kompleksni sistemski upalni odgovor na infekciju. Prisutnost antigena mikroorganizama predstavlja okidač za taj odgovor koji za posljedicu ima poremećaj ravnoteže upalnih i protuupalnih procesa. Mnogi leukociti, uključujući makrofage, oslobađaju citokine i druge medijatore koji reguliraju upalni odgovor i igraju važnu ulogu u patologiji sepse. Najraniji medijatori sistemske upale su TNF i IL-1; kaskada se nastavlja oslobađanjem IL-6, IL-8 i interferona. Upalni odgovor dalje pojačavaju još neki drugi čimbenici. Arahidonska kiselina i njeni metaboliti moduliraju vaskularnu fazu upalne reakcije te također imaju značajan utjecaj na agregaciju trombocita. Endotelne stanice oslobađaju PAF koji regulira oslobađanje citokina. Funkcija protuupalnih medijatora je također i sprječavanje pretjeranog upalnog odgovora. IL-6 je predominantno upalni citokin koji u izvjesnoj mjeri može imati i protuupalno djelovanje. Drugi protuupalni medijatori koji se oslobađaju u sepsi su IL-10, IL-4, IL-13, TGF β , IL-1ra i topljivi receptori za TNF. Na samom kraju upalne kaskade su prokalcitonin, CRP i drugi kasni biljezi upale, koji se oslobađaju kao posljedica pojačane aktivnosti citokina. Ti su biljezi često korišteni pri postavljanju dijagnoze i praćenju sepse. Citokini i drugi čimbenici upalne reakcije posreduju pri nastanku patoloških poremećaja karakterističnih za sepsu. Aktivacija komplementa, sustava zgrušavanja i drugih bitnih biokemijskih sustava očituje se kliničkim manifestacijama sepse.

Genetska osnova disregulacije imunološkog odgovora u sepsi

Ana-Maria Šimundić

Klinički zavod za kemiju, Odsjek za molekularnu dijagnostiku, Klinička bolnica "Sestre milosrdnice", Zagreb

Sepsa je sindrom koji se razvija kao posljedica infekcijom potaknute upalne reakcije. Poznato je da neke osobe pokazuju veću sklonost za razvoj sepse. Također se zna kako u nekih osoba sepsa s većom vjerojatnosti progredira do teže kliničke slike s ozbiljnijim posljedicama. Sasvim je

Inflammatory response in sepsis

Aleš Jerin

Institute of Clinical Chemistry and Biochemistry, University Medical Centre Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

Sepsis involves a complex systemic inflammatory response caused by infection. The presence of microbial antigens triggers the response that results in disturbed balance of inflammatory and anti-inflammatory processes. Many white blood cells, including macrophages, release cytokines and other mediators, which regulate the inflammatory response and play an important role in the pathology of sepsis. Among the earliest mediators of systemic inflammation are TNF and IL-1; the cascade continues with the release of other pro-inflammatory parameters like IL-6, IL-8 and interferons. Pro-inflammatory response is further amplified by several non-cytokine factors. Arachidonic acid metabolites modulate the vascular phase of inflammation and they also influence platelet aggregation. Endothelial cells release PAF, which regulates the release of cytokines. Anti-inflammatory parameters are also synthesized in order to down regulate the excessive inflammatory response. IL-6 is predominantly a pro-inflammatory cytokine but also shows certain anti-inflammatory activity. Other anti-inflammatory mediators released in sepsis include IL-10, IL-4, IL-13, TGF β , IL-1ra and soluble TNF receptors. Distant in the inflammatory cascade, procalcitonin, CRP and other late parameters are released as a consequence of increased cytokine activity. These markers are frequently used for diagnosis and monitoring of sepsis. Cytokines and other inflammatory parameters mediate several pathological disturbances that are characteristic of sepsis. Activation of complement, coagulation and other important biochemical systems results in clinical manifestation of sepsis.

Genetic basis of immunologic response dysregulation in sepsis

Ana-Maria Šimundić

Clinical Institute of Chemistry, Department of Molecular Diagnostics, Sestre milosrdnice University hospital, Zagreb, Croatia

Sepsis is an inflammation-mediated infection-initiated syndrome. It is well known that some individuals show higher susceptibility to sepsis. It is also well established that some people carry higher individual susceptibility to develop severe sepsis with serious clinical course. There

neosporno da je ta sklonost barem djelomično genetski determinirana. Suština genetske predispozicije očituje se u varijabilnosti upalne reakcije, odnosno imunološkog odgovora. Ono što je nedovoljno poznato jest: znamo li koji su geni nosioci rizika i kako je moguće tu činjenicu pouzdana ispitati? Do sada je u literaturi opisan čitav niz gena kandidata: *Toll-like* receptori (TLR), *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), CD14, *mannose binding lectin* (MBL), ApoE, IL-1, IL-6, PAI-1, ACE i neki drugi. Istraživanja o doprinosu tih gena moguće je provesti na više razina, od kojih svaka nudi uvid u različiti aspekt tog potencijalnog mehanizma. Nadalje, važno je biti svjestan činjenice da postoje mnoga ograničenja takvih istraživanja od kojih su neka metodološka (neodgovarajući dizajn istraživanja), a neka se odnose na samu multifaktorijelnu prirodu imunološkog odgovora organizma. Razumijevanje načina na koji genetski ustroj pojedinca definira sklonost za razvoj sepse nužan je preduvjet za daljnji napredak u prevenciji, dijagnostici i terapiji sepse. U skoroj će budućnosti pristup bolesnicima slijediti načelo personaliziranog pristupa svakom pojedinačnom bolesniku, što znači da će se terapija (izbor i doza lijeka) prilagođavati i optimirati u skladu s njegovim genetskim odrednicama.

is a growing body of evidence showing that the basis of such susceptibility is at least partially genetically determined. The underlying immunologic mechanism is the variability of inflammatory reaction. The question that still remains unanswered is: do we know which genes carry the risk and how to test that fact? Many candidate genes are described in the literature: Toll-like receptors (TLR), tumor necrosis factor- α (TNF- α), CD14, mannose binding lectin (MBL), ApoE, IL-1, IL-6, PAI-1, ACE and some other. There are many different ways to study that putative genetic contribution. Every study design approaches different aspect of that mechanism. Furthermore, it is of vital importance to be aware of all limitations to the study, some of which are methodological and some are due to the multifactorial nature of immunological reaction. Understanding the way the genetic determinants define the susceptibility to develop sepsis is crucial for further advancement in sepsis prevention, diagnosis and therapy. Medicine in the very near future shall be personalised, meaning that we shall be able to tailor drug selection and dosage to fit the specific needs of an individual patient, according to his or her genetic code.

Dijagnostički i prognostički biljezi u sepsi

Maksimiljan Gorenjak

Oddelek za laboratorijsko diagnostiko, Splošna bolnišnica Maribor, Maribor, Slovenia

Sepsa je glavni uzrok smrti u kritičnih bolesnika. Nedostatan razvoj kako u dijagnozi tako i u terapiji sepse dovodi do stalnog porasta broja slučajeva sepse s malim napretkom u statistici mortaliteta. Smatra se da je sepsa heterogeni klinički sindrom. Uglavnom je povezana sa stanjem u podlozi, a uzrokuju je različiti mikroorganizmi. Javlja se kao sistemski upalni odgovor organizma na bakterijsku, virusnu ili gljivičnu infekciju. Upalna kaskada koja se tada pokreće, može izazvati komplikacije koje mogu dovesti do septičkog šoka i smrti. Brza dijagnoza i terapija sepse je imperativ. Kliničari ne mogu čekati rezultate bakterijske kulture, ali moraju pretpostaviti prisutnost infekcije (sepse) na temelju kliničkih znakova i laboratorijskih rezultata. Razmatraju se brojni biljezi sepse, jer postoji velika potreba za njihovom *in vitro* dijagnostikom. Uz sepsu su povezane mnogi citokini, kemokini, adhezijske molekule, topljivi receptori te proteini akutne faze. Neki od njih upotrebljavaju se kao dijagnostički, a drugi kao prognostički biljezi. Trenutno se ispituju pojedini upalni i protuupalni interleukini kao što su prokalcitonin (PCT) i lipopolisaharid vezu-

Diagnostic and prognostic markers in sepsis

Maksimiljan Gorenjak

Clinical Institute of Chemistry, Department of Laboratory Diagnostics, General Hospital Maribor, Maribor, Slovenia

Sepsis is the leading cause of death in critically ill patients. Insufficient development in both medical diagnosis and treatment of sepsis has led to continued growth in reported cases of sepsis with little improvement in mortality statistics. Currently, sepsis is recognized as a heterogeneous clinical syndrome, typically associated with underlying conditions and triggered by many kinds of microbes. It occurs when the body experiences a systemic inflammatory response to a bacterial, viral or fungal infection. The resulting inflammatory cascade can produce complications, which can lead to septic shock and death. Rapid diagnosis and treatment of sepsis is imperative. Clinicians cannot wait for a culture results, but must presume the presence of infection (sepsis) on the basis of clinical signs and laboratory findings. A great demand exists for *in vitro* diagnostic markers in sepsis, and numerous markers are under consideration. The catalog of proteic molecules associated with sepsis is extensive and includes cytokines, chemokines, adhesion molecules, soluble receptors and acute-phase proteins. Some of them can be used as diag-

jući protein (LBP). Različita su mišljenja o dijagnostičkoj točnosti CRP. Dijagnostičke metode trebale bi osigurati rezultat u realnom vremenu tijekom postupka terapije. Promjene kojima upala prelazi u sepsu događaju se vrlo brzo te je očita potreba za redovitim mjerenjem koncentracije biljega.

Metabolički i respiratorni poremećaji u sepsi

Vlatko Rumenjak

Zavod za medicinsko-laboratorijsku dijagnostiku i transfuziologiju,
Opća bolnica "Sveti Duh", Zagreb

Unatoč značajnom napretku u poznavanju mehanizama nastanka i razvoja, sepsa ostaje ozbiljan klinički problem sa visokim stupnjem mortaliteta. Kontinuirana opskrba energijom ključna je za preživljavanje stanica. Zbog toga održavanje stvaranja energije je ključno za preživljavanje. Razumljivo je zato da su laboratorijske analize usmjerene na procjenu biljega metaboličkog puta. Za vrijeme septičkog šoka upotreba glukoze kao izvora energije i aktivnost piruvat dehidrogenaze je smanjena. U sepsi, određivanje laktata koristi se kao dodatni dijagnostički i prognostički pokazatelj. pH i pCO_2 koriste se u diferencijalnoj dijagnozi acido – baznih poremećaja. pH utječe i na afinitet vezanja kisika na hemoglobin. Određivanje pO_2 koristi se kao najbolji pokazatelj da li dovoljno kisika ulazi u krv, odnosno difuzije kisika u alveolima. Kalij je najvažniji intracelularni kation sa nekoliko izuzetno važnih funkcija kao što su regulacija neuromuskularne podražljivosti i regulacija kontrakcije srca i srčanog ritma. Kada stanica postigne akcijski potencijal, i Ca ulazi u stanicu i započinje kontrakcija. Relaksacija nastane kada Mg-ATP pumpa ukloni kalcij iz citosola. Prisutnost hipomagnezije u kritičnih bolesnika praćena je povećanim mortalitetom. Akutno zatajenje bubrega događa se u oko 50% slučajeva bolesnika u septičkom šoku i značajno povećava mortalitet. Nekoliko mehanizama je razmatrano u patogenezi akutnog zatajenja bubrega u sepsi. Oštećenje jetre sa holestazom i žuticom često se susreće u bolesnika sa sepsom. Respiratorna oštećenja su česta komplikacija u septičkom šoku. Neurološki poremećaji su česti u sepsi. Encefalopatija je posljedica i metaboličkih poremećaja (poremećaja elektrolita, acidobaznih poremećaja i hipoglikemije). Sindrom višeorganškog zatajenja u sepsi je često završni čin sepse, a točan mehanizam razvoja ovog sindroma još uvijek nije poznat.

nostic, other as a prognostic marker. Current biomarker research focuses primarily on several interleukins (pro-and anti-inflammatory), procalcitonin(PCT) and lipopolysaccharide binding protein (LBP). Opinions on the diagnostic accuracy of CRP are not consistent. The current diagnostic methods should be performed on the real-time monitoring basis during the course of treatment. Because the changes during progression of inflammation to sepsis occur very fast, the necessity of measuring biomarker concentrations at regular intervals becomes evident.

Metabolic and respiratory disturbances in sepsis

Vlatko Rumenjak

Department for Laboratory Diagnostics and Transfusiology,
Sveti Duh General Hospital, Zagreb

Despite improvements in the understanding of pathophysiology, sepsis still represent a major clinical problem in intensive care units. The inability to generate adequate ATP strongly relates to the mortality sepsis suffered patients. Most of the clinical laboratory tests in the critical ill patient serves as a marker for the energy pathway. During septic shock the use of glucose as an energy source and piruvate dehydrogenase activity are decreased. Elevated blood lactate is a sensitive indicator of metabolic acidosis from poor oxygenation of tissues. pH and pCO_2 are used in the differential diagnosis of acid-base disorders. pH affects the strength of binding of oxygen to hemoglobin. To determine whether adequate oxygen is getting into the blood, pO_2 is the most sensitive indicator for diffusion of oxygen across the alveoli. Potassium is the major intracellular cation which has several extremely important function such as regulation of neuromuscular excitability and contraction of the heart and cardiac rhythm. When muscle cell goes to action potential, iCa entering into the cell, initiating a contraction. Relaxation occurs when a Mg-ATP pump remove iCa from the cytosol. Presence of hypomagnesemia in critically ill patients is associated with an increased mortality rate. Acute renal failure occurs in approximately 50% of patients with septic shock and significantly increases mortality. Several mechanisms have been proposed for the pathogenesis of acute renal failure in sepsis. Liver dysfunction with cholestatic jaundice may be seen in patients with sepsis. Respiratory failure is a frequent complication of septic shock. Neurologic dysfunction is common during sepsis. Encephalopathy can be due to metabolic disturbances (electrolyte imbalances, acid-base disorders, hypoglycemia). Multiple organ dysfunction syndrome is often the final result of sepsis.

Poremećaj hemostaze u sepsi

Renata Zadro

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i KBC Zagreb, Zagreb

Homeostatski mehanizam za održavanje krvi u tekućem stanju i sprječavanje krvarenja pretpostavlja ravnotežu između sustava zgrušavanja, prirodnih antikoagulanata i fibrinolitičkog sustava. Ovaj se mehanizam može narušiti zbog nasljednih ili stečenih uzroka koji dovode do neravnoteže u jednom ili više faktora zgrušavanja odnosno inhibitora. Upalni proces u sepsi jedno je takvo stečeno stanje koje dovodi do poremećaja u zgrušavanju. Endotelne stanice i monociti, izloženi endotoksinima i proupalnim citokinima (TNF-alfa i IL-1) u sepsi, izražavaju na svojoj površini tkivni faktor. Povećana razina tkivnog faktora u cirkulaciji bitna je za aktivaciju vanjskog puta zgrušavanja kroz interakciju s FVII. Slijedi masivna amplifikacija stvaranja trombina na koju ukazuju visoke koncentracije protrombinskih fragmenata 1+2 i kompleksa trombin-antitrombin. Aktivacijom trombina nastaje fibrin koji se razgrađuje do D-dimera. Fibrinoliza, iako aktivirana, nije dovoljna da spriječi prekomjerno stvaranje mikrougrušaka, što pridonosi zatajivanju organa i smrtnosti u sepsi. Poremećaj funkcije prirodnih antikoagulanata kao što su antitrombin, aktivirani protein C (APC) i TFPI kao posljedica poremećene funkcije jetre i potrošne koagulopatije ključni su u patogenezi sepse. Razumijevanje osnovnih mehanizama zgrušavanja i poremećaja u sepsi važno je za razvoj terapijskih postupaka: tri su velike međunarodne multicentrične kliničke studije ispitale rekombinantne ljudske pripravke prirodnih inhibitora: antitrombina, TFPI i APC-a (drotrecogin alfa-aktivirani) za terapiju sepse. Jedino se APC pokazao djelotvornim u smanjenju smrtnosti: studija PROWESS pokazala je da 96-satna kontinuirana infuzija drotrecogina alfa-aktiviranog smanjuje smrtnost za 19,4% u bolesnika s teškom sepsom.

Neonatalna sepsa

Biserka Getaldić

Odsjek za laboratorijsku hematologiju i koagulaciju, Klinički zavod za kemiju, Klinička bolnica "Sestre milosrdnice", Zagreb

Novorođenačka sepsa je sindrom obilježen općim znakovima infekcije uz bakteriemiju u prvim danima života, a prema podacima Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo u 2004. god. bila je uzrokom smrti u 3–4 /1000 živorođene

Coagulopathy of sepsis

Renata Zadro

Clinical Institute of Laboratory Diagnosis, Zagreb Clinical Hospital Center and University School of Medicine, Zagreb, Croatia

Effects of the coagulation cascade, endogenous anticoagulants, and the fibrinolytic system are critically balanced to maintain blood fluidity and prevent hemorrhage. This homeostatic mechanism can be compromised in case of imbalance in one or more of the clotting factors or inhibitors due to either congenital or acquired causes. Inflammation related to sepsis is one such acquired state of dysregulated coagulation. Endothelial cells and monocytes exposed to endotoxin and proinflammatory cytokines (eg, TNF-alfa and IL-1) in sepsis express tissue factor on the cell surface. Enhanced production of tissue factor triggers coagulation via interaction with FVII followed by massive amplification of thrombin generation, as reflected by high levels of prothrombin fragments 1 and 2 and thrombin-antithrombin complex. Thrombin activation is followed by fibrin formation which is then degraded, as demonstrated by increased levels of D-dimer. Fibrinolysis, although activated, is not sufficient to counteract increased fibrin formation which contributes to organ damage and mortality in sepsis. Dysfunction of endogenous inhibitors like antithrombin, activated protein C (APC) and TFPI as a consequence of impaired liver function and coagulation activation-dependent consumption is a key point in the pathogenesis of sepsis. Understanding of the basic mechanisms of coagulation and its derangements in sepsis is crucial for the development of therapeutic strategies: three large, international, multicentric, clinical trials evaluated recombinant human antithrombin, recombinant human TFPI and recombinant human APC (drotrecogin alfa-activated). Only one, i.e. APC, proved effective: PROWESS study demonstrated that 96h continuous infusion of drotrecogin alfa-activated reduced relative all-cause 28-day mortality by 19.4% in patients with severe sepsis compared with patients treated with placebo.

Neonatal sepsis

Biserka Getaldić

Division of Laboratory Hematology and Coagulation, Clinical Institute of Chemistry, Sestre milosrdnice University Hospital, Zagreb, Croatia

Neonatal sepsis is a syndrome characterized by common signs of infection and bacteremia during the first days of the newborn's life. Based on the data by the Croatian Institute of Public Health, it was the cause of death in

djece. Smanjenje incidencije novorođenačke sepse uslijedit će između ostalog i što ranijom identifikacijom inficirane novorođeađadi pa je težnja brojnih istraživanja pronalaznje dijagnostičke pretrage koja će najranije ukazati na infekciju. Sadašnji dijagnostički pristup uključuje "klasične biljege": broj leukocita, apsolutni broj neutrofinih granulocita, odnos nezrelih i zrelih neutrofila (I/T) i CRP-a u dva navrata, 12 i 24 sata od poroda i omogućava visoku negativnu prediktivnu vrijednost (97–99,5). Dijagnostički značaj pokazalo je određivanje protupalnih citokina prvog reda TNF- α , IL-1 β i IL-6 te prokalcitonina. Za posljednja dva biljega pokazala se neophodnost višestrukog određivanja u prvih 48 sati te usporedba s referentnim rasponom njihovih promjenjivih fizioloških vrijednosti u tom vremenskom rasponu. Određivanje citokina drugog reda IL-8 u kombinaciji s CRP-om pokazalo je bolju osjetljivost i specifičnost od određivanja prokalcitonina. Uvođenje određivanja citokina kao standardne dijagnostike u ranoj dijagnostici novorođenačke sepse otežano je relativno skromnim podacima o normalnim vrijednostima koncentracija u najznačajnijem dijagnostičkom periodu od 48 sati ali i spoznajama da se pri interpretaciji nalaza pojavljuju nepoznati fiziološki utjecaji na lučenje citokina (kinetika IL-6 ovisna je o gestacijskom periodu). Možda će uvođenjem metoda molekularne dijagnostike u budućnosti riješiti analitička ograničenje u dijagnostici novorođenačke sepse. U prilog tome su rezultati PCR amplifikacije bakterijske sekvence DNA koja kodira 16 s RNA.

3–4/1000 livebirths in 2004. The efforts to further reduce the incidence of neonatal sepsis could be, among others, earlier identification of infected newborns, which is why numerous studies attempt to find a diagnostic test and marker that would be the earliest indicator of infection prior to its confirmation by the blood culture. Current diagnostic approach includes determination of "classical" markers of sepsis screen: total leucocyte count, absolute neutrophil count, immature/total neutrophil count ratio (I/T) and C-reactive protein (CRP) on two occasions, i.e. 12 and 24 hours after birth, providing high negative predictive value (97–99.5%). Diagnostic significance has been confirmed for the determination of the cytokines TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 and procalcitonin (PCT) levels. The results showed that plasma IL-8 level in combination with CRP has demonstrated better sensitivity and specificity than sole PCT determination. The clinical applicability of the cytokine measurement as a standard diagnostic procedure in the early diagnosis of neonatal sepsis has been made difficult by relatively scarce data on normal ranges of concentrations during the immediate postnatal period. This may explain the conflicting cutoff points for abnormal values that have been reported for these markers. Some confounding factors, *per se*, should be taken into account to define "physiologic" concentrations of cytokines and PCT (kinetics is dependent on gestational and postnatal period). At the same time, investigations of the triggering receptor expressed on myeloid cells (TREM1) have demonstrated its characteristics of a good marker of unspecific immunity, which is important in newborns. In the future, introduction of molecular diagnostic methods might solve analytical and postanalytical limitations in the early diagnostics of sepsis in neonates. This expectation is supported by confirmational results of molecular analysis by polymerase chain reaction (PCR) for bacterial DNA component encoding 16s RNA.

Miopatija i neuropatija u sepsi

Vanja Bašić Kes

Klinika za neurologiju, Klinička bolnica "Sestre milosrdnice", Zagreb

Sepsa uzrokuje zatajenje vitalnih parenhimatoznih organa i oštećenje centralnog i perifernog živčanog sustava te skeletnih mišića.

Oštećenje perifernog živčanog sustava u sepsi naziva se polineuropatija kritičnih bolesnika (PKB), mišićna miopatija kritičnih bolesnika (MKB), a posljedica je mišićna slabost i nemogućnost odvajanja bolesnika s respiratora.

Critical illness polyneuropathy and myopathy in sepsis

Vanja Bašić Kes

Department of neurology, Sestre milosrdnice University hospital, Zagreb, Croatia

Sepsis may cause not only failure of parenchymal organs but can also damage to peripheral nerves and skeletal muscles. It is now recognized that sepsis-mediated disorders of the peripheral nerves and the muscle, called critical illness myopathy, are responsible for weakness and muscle atrophy occurring *de novo* in intensively treated

PKB je akutna aksonalna neuropatija koja može spontano regresirati ali u težim oblicima sepse oporavak je dugotrajan. PKB klinički karakterizira atrofija mišića i flakidna tetrapareza. Dijagnosticira se elektrofiziološkim metodama. Patogeneza bolesti je nepoznata. Čimbenici odgovorni za sistemski učinak sepse, poput TNF- α , histamina, metabolita arahnoidalne kiseline, aktivacije komplementa i staničnog adhezijskog sistema, te slobodnih kisikovih radikala, navode se kao potencijalni uzroci PKB-a.

Tri skupine oboljenja koje za posljedicu imaju akutnu kvadriplegičnu miopatiju nastalu u sepsi uključuje a) miopatiju kritičnih bolesnika (MKB), b) miopatiju sa selektivnim gubitkom tankih vlakana te c) akutnu nekrotizirajuću miopatiju.

Miopatske promjene u MKB se registriraju elektrofiziološkim pretragama i biopsijom mišića. Upalne promjene se ne nalaze, a razina CPK je uglavnom normalna. Važni medijatori u patogenezi MKB su IL-1 i TNF-alfa.

Miopatija tankih vlakana se sastoji u selektivnom gubitku miozinskih filamenata. Elektronskim mikroskopom registriraju se gubitak miozina. Patogeneza je uglavnom nepoznata. Mišićna slabost je najvjerojatnije posljedica gubitka kontraktilnih proteina iako se kao mogući uzrok navode i promjene ekscitabilnosti mišićne membrane.

Akutnu nekrotizirajuću miopatiju karakterizira nastanak nekroze mišićnih vlakana.

Specifične terapije nema, stoga je stabilizacija kritičnog stanja i liječenje sepse od najveće važnosti.

patients. CIP represents an acute axonal neuropathy that develops during treatment of severely ill patients and remits spontaneously, once the critical condition is under control.

Among the critical illness myopathies, three main types have been identified: a non necrotizing «cachectic» myopathy (critical illness myopathy in the strict sense), a myopathy with selective loss of myosin filaments (“thick filament myopathy”) and an acute necrotizing myopathy of intensive care.

Clinical manifestation of both critical illness myopathies and CIP include delayed weaning from the respirator, muscle weakness, and prolonging of the mobilization phase. The pathogenesis of these neuromuscular complications of sepsis is not understood in detail but most authors assume that the inflammatory factors that mediate systemic inflammatory response are closely involved.

Specific therapies have not been discovered. Stabilization of the underlying critical condition and elimination of sepsis appear to be of major importance.

Kongenitalne imunodeficijencije i sepsa

Branka Mazul-Sunko

Zavod za anesteziologiju i intenzivno liječenje, Klinička bolnica “Sestre milosrdnice”, Zagreb

Kongenitalne ili primarne imunodeficijencije ukazuju da su za obranu organizma potrebne specifične celularne, solubilne i genetske komponente imunološkog sustava. Najčešća klinička prezentacija kongenitalne imunodeficijencije jest opetovana uobičajena infekcija ili, u nekim slučajevima, predispozicija teškoj ili atipičnoj infekciji. Klinički tok infekcije može biti blaži zbog inkompletnog inflamatornog odgovora ili teži zbog gubitka regulacijskih mehanizama unutar imunološkog usutava.

Kongenitalni defekti u sustavu prirodne imunosti podijeljeni su u četiri kategorije. U prvju je solubilna komponenta imunološkog sustava i uključuje komplement i MBL (Mannose-Binding Lecitin). Druga uključuje abnormalnu funkciju NF-(kappa)B-aktivacije. Treća kvalitativne i kvanti-

Congenital immunodeficiencies and sepsis

Branka Mazul-Sunko

Department of Anaesthesiology and Intensive Care, Sestre milosrdnice University Hospital, Zagreb, Croatia

Congenital or primary immunodeficiencies demonstrate that specific cellular, soluble and genetic components within the immune system are required for the defence against environmental pathogens. The most common clinical presentation of congenital immunodeficiency is a recurrent common infection, or in some cases, a predisposition to severe or atypical infection. Clinical course of infection can have a milder form due to incomplete inflammatory response or a more severe one due to the loss of regulatory mechanisms within the immune system. Congenital defects in the innate immunity system are divided into four categories. The first category includes complement and MBL (Mannose-Binding Lecitin). The second comprises effects in the of NF-(kappa)B activ-

tativne defekte fagocita, a četvrta defekte u osovini odgovora citokina 1. Kongenitalne imunodeficijencije u sustavu stečene imunosti uključuju tešku kombiniranu imunodeficijenciju (SCID–Severe Combined Immunodeficiency), agamaglobulinemiju, hiper-IgM globulinemiju, običnu varijabilnu imunodeficijenciju, prolaznu hipogamaglobulinemija u djetinjstvu, deficit IgG potklase, ataksiju teleangiektaziju, IPEX (imunodisregulacija, poliendokrinopatija, enteropatija X povezana) i Wiskott-Aldrich sindrom (WAS).

Ne preporučuje se provoditi rutinski specifično genetsko testiranje za kongenitalnu imunodeficijenciju. Međutim, niski broj leukocita ili limfocita, kao i slab porast limfocita u fazi oporavka upućuju na moguću imunodeficijenciju. Također promjene u elektroforezi imunoglobulina mogu značiti da je posrijedi neki oblik primarne imunodeficijencije.

The third consists of specific defects of phagocyte quantity and quality. The fourth is made up of defects in the type 1 cytokine response axis. Congenital defects of the adaptive immune system include SCID (Severe Combined Immunodeficiency), agammaglobulinemia, hyper IgM globulinemia, common variable immunodeficiency (CVID), transient hypogammaglobulinemia, IgG subclass deficiency, ataxia teleangiectasia, IPEX (immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy-X-linked) and Wiskott-Aldrich syndrome (WAS). Specific genetic testing for congenital immunodeficiencies is not recommended as a routine procedure in septic patients. However, low leucocyte or lymphocyte count or a lack of recovery of lymphocyte populations over time might indicate that some form of primary immunodeficiency might be present. Alterations in the immunoelectrophoresis can indicate a possible congenital immunodeficiency, as well.

Procalcitonin (PCT) u dijagnostici teškog sustavnog bakterijskog infekta

Jasenska Lazić, Vlatko Rumenjak

Zavod za medicinsko-laboratorijsku dijagnostiku i transfuziologiju, Opća bolnica "Sveti Duh", Zagreb

Cilj rada: utvrditi vrijednost određivanja koncentracije PCT-a u dijagnostici teškog sistemnog bakterijskog infekta (TSBI) i njegova korelacija sa tradicionalnim laboratorijskim parametrima, brojem leukocita (L) i koncentracijom C-reaktivnog proteina (CRP).

Metode: za 85 pacijenata u studiji, sa kliničkom dijagnozom TSBI određivano je L, CRP i PCT. PCT je određivan imunokromatografskim testom za semi-kvantitativnu analizu PCT-a iz uzoraka seruma (BRAMS- PCT-Q). Dobi-vene vrijednosti PCT-a su uspoređivane sa L i CRP-om za istog pacijenta i njegovu dijagnozu (TSBI i druge bolesti isključujući TSBI)

Rezultati: U svih 45 pacijenata koji su imali TSBI, PCT je bio iznad referentnih granica: samostalno u 4,4% (n=2) pacijanata, zajedno sa CRP u 33,3% (n=15) pacijenata i u kombinaciji sa CRP-om i L u 62,2% (n=28) pacijenata.

Za ostalih 40 pacijenata koji su bolovali od drugih bolesti bez prisutnost TSBI, PCT je bio unutar referentnih granica: samostalno u 47,5% (n=19) (CRP i L iznad referentnih granica), zajedno sa L unutar referentnih granica u 37,5% (n=15) (samo CRP iznad referentnih granica) i u kombinaciji sa L i CRP-om unutar referentnih granica u 15% (n=6) (niti jedan parameter iznad referentnih granica).

Zaključak: PCT je vrlo koristan novi parameter u dijagnostici TSBI-a sa visokom dijagnostičkom specifičnošću, posebice kada su tradicionalni parametri L i CRP unutar referentnih granica (u samom početku infekta), teško interpretativni (CRP iznad, a L unutar referentnih granica) ili "lažno" povišeni (CRP i L iznad referentnih granica iako se ne radi o TSBI).

Procalcitonin (PCT) in Diagnosis of Severe Systemic Bacterial Infection

Jasenska Lazić, Vlatko Rumenjak

Department for Laboratory Diagnostics and Transfusiology, Sveti Duh General hospital, Zagreb, Croatia

Aim: The aim of this clinical study was to evaluate the role of PCT testing in diagnosing of severe systemic bacterial infection (SSBI) and it's correlation with the routine laboratory parameters (white blood cells count-WBC and C Reactive Protein-CRP concentration).

Methods: 85 patients have been included in the study under the clinical diagnosis of SSBI. Upon admittance all the patients were ordered (among other routine laboratory parameters), WBC, CRP and PCT testing. PCT concentration was determined by an immunochromatographic test for the semi-quantitative detection of PCT from serum samples (BRAMS- PCT-Q) and then compared with WBC and CRP for the patient and the diagnosis (SSBI and other).

Results: 45 patients have been confirmed with SSBI by other diagnostic testing procedures. In all of the 45 patients PCT has been above reference range: alone in 4.4% (n=2) of patients, together with CRP in 33.3% (n=15) of patients and in combination with CRP and WBC in 62.2% (n=28) of patients. The remaining 40 patients have been diagnosed with conditions other than bacterial infection and all had PCT within reference range: alone in 47.5% (n=19) (CRP+WBC above ref. range), together with WBC in 37.5% (n=15) (CRP above ref. range) and in combination with both CRP and WBC in 15% (n=6) (no parameter above ref. range).

Conclusion: PCT is a very useful innovative parameter in SSBI diagnostics providing the clinicians with high diagnostic specificity especially in cases with routine clinical parameters WBC and CRP within ref. range (early in the course of infection), hard to interpret (CRP above while WBC within ref. range) or false positive (CRP and WBC above ref. range) when no SSBI is present.

Sepsa uzrokovana infekcijom s bakterijom *Streptococcus pneumoniae*: Prikaz slučaja

Lenart K.¹, Jereb M.², Krnjak L.¹, Jerin A.¹, Skitek M.¹

¹Klinički institut za kliničku kemiju i biokemiju, Klinički bolnički centar Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

²Odsjek za infektivne bolesti, Klinični center, Ljubljana, Slovenia

Sepsa je čest uzrok smrti koje su povezane s infekcijama. Izvještavamo o slučaju sepse uzrokovanom bakterijom *Streptococcus pneumoniae*. Bolesnik star 43 godine razvio je simptome općeg umora, suhog kašlja, probadanja ispod desnog rebrenog luka te povišene tjelesne temperature. Bolesnik je primljen u jedinicu intenzivne skrbi s kliničkom slikom upale pluća i septičkog šoka sa zatajivanjem mnogih organa. Izmjerena koncentracija C-reaktivnog proteina (CRP) iznosila je 284 mg/L, a prokalcitonina 40,2 µg/L. Broj leukocita iznosio je $0,9 \times 10^9/L$. Zbog respiratornog distresa bolesniku su intubirane traheje i njegovo je disanje umjetno kontrolirano. Liječen je azitromicinom i cefotaksimom, uz drugu pripadajuću terapiju, koja se prepisuje svim bolesnicima u septičkom šoku. Nakon 5 dana broj leukocita je porastao na $34,9 \times 10^9/L$, a koncentracije CRP i prokalcitonina pale su na polovicu od početnih koncentracija. Na kulturi krvnog agara narasla je kolonija bakterije *Streptococcus pneumoniae* te je bolesnik liječen visokim dozama kristaliničnog penicilina. Nakon toga, koncentracija CRP ponovno je porasla na početnu vrijednost, dok je koncentracija prokalcitonina porasla na 89,4 µg/L. Sepsa je bila povezana i sa zatajivanjem srca te poremećajem koagulacije pa je tako koncentracija troponina I bila povišena, a koagulacijske pretrage bile su patološke. Unatoč terapiji bolesnik je preminuo nakon nekoliko dana. Unatoč činjenici da danas postoje moderne metode u intenzivnoj skrbi kao i niz biljega za dijagnozu i prognozu sepse, mortalitet je i dalje visok u slučajevima septičkog šoka.

Sepsis following *Streptococcus pneumoniae* infection: Case report

Lenart K.¹, Jereb M.², Krnjak L.¹, Jerin A.¹, Skitek M.¹

¹Institute of Clinical Chemistry and Biochemistry, University Medical Centre Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

²Department of Infectious Diseases, University Medical Centre, Ljubljana, Slovenia

Sepsis is a frequent cause of infection-related death. We report a case of sepsis caused by *Streptococcus pneumoniae*. A 43-year old patient developed symptoms of common tiredness, a dry cough, stitches under the right rib and a risen body temperature. The patient was admitted to the intensive care unit with the clinical picture of pneumonia and septic shock with multiorgan dysfunction. The concentration of C reactive protein (CRP) and procalcitonin in serum was 284 mg/L and 40.2 µg/L respectively; WBC count was $0.9 \times 10^9/L$. Because of the respiratory distress patient needed an intubation of trachea and later on uninterrupted mechanical respiration. Therapy with azithromycin and cefotaxym was introduced together with all supporting therapy, which is prescribed for the patients suffering from the septic shock. After five days WBC count increased to $34.5 \times 10^9/L$ while CRP and procalcitonin decreased to a half of their initial concentrations. The blood culture grew *Streptococcus pneumoniae* and patient got a therapy of high doses crystalline penicillin. After that CRP increased to its starting value, but procalcitonin raised up to 89.4 µg/L. The sepsis was also associated with myocardial dysfunction and hemostasis disorder; the concentration of troponin I was elevated and coagulation tests were pathologic. In spite of therapy the patient died after few days. The mortality for septic shock remains high despite the availability of modern critical care facilities and several markers for diagnosis and monitoring of sepsis.