

Научно-практическая конференция

«СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛИЗАЦИИ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ»

31 марта 2017

Нижний Новгород

Иммунологические маркеры сепсиса и септических состояний.

Главный внештатный специалист
по клинической лабораторной диагностике
Управления делами Президента Российской Федерации
Вершинина М.Г.

ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой» Управления делами Президента РФ
ФГБУ ЦГМА УД Президента РФ



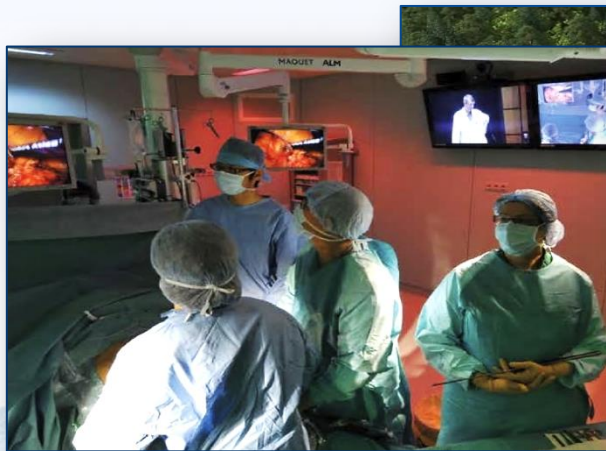
ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой» УД Президента РФ



ФГБУ «Центральная клиническая больница с поликлиникой» Управления делами Президента РФ



высокотехнологичных многопрофильных клиник России





Е.М Тареев

Правильность и быстрота постановки диагноза, контроль эффективности лечения зависит не только от опыта и суммы знаний клинициста, но и от степени эффективности работы лабораторной службы, без тесного контакта с которой трудно представить себе деятельность врача в любой отрасли медицины.



Лабораторная служба ЦКБ

Лаборатория клинической микробиологии

(132 возбудителя за 4 часа)

- Скрининг генетических предрасположенностей к различным заболеваниям (за 24 часа);
- ПЦР-диагностика, Денто-Скрин

Лаборатория клинической иммунологии

- Диагностика сепсиса по «золотому стандарту» от 30 мин;
- Уникальные методики диагностики инфекций за 2-3 часа;
- Диагностика аутоиммунных

Экспресс лаборатория

Лабораторная диагностика
24 часа в сутки

- Диагностика сепсиса ;
- Прокальцитонин - количественно за 15 мин;
- Тромбоэластограмма

Лаборатория клинической биохимии

- Онкомаркеры;
- Все факторы системы гемостаза;
- АФС – синдром;
- Неинвазивная диагностика заболеваний печени, предстательной железы,

Клинико- диагностическая лаборатория

- Цитохимические исследования;
- Цитологическая диагностика;
- Миелограмма;
- Диагностика бесплодия;
- Карты мужского и женского здоровья

ЦЕНТР ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ

ЦЕНТР БИМЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ

Криобанк

криоконсервирование и
длительное хранение
биоматериалов и

Лаборатория клеточных технологий

подготовка клеточных
продуктов

Лаборатория тканевой инженерии

фундаментальные и
прикладные научные
исследования



Что же это такое,
СЕПСИС?



**Гиппократ применял диагноз «сепсис» 2 500 лет назад,
говоря о болезни всего организма**

В начале 21-го столетия сепсис по-прежнему
остаётся одной из самых актуальных проблем
современной медицины в силу неуклонной тенденции
к росту заболеваемости и стабильно высокой
летальности



**Рост частоты возникновения сепсиса 18 – 20
миллионов случаев за год – В МИРЕ**

**Высокий уровень смертности по сравнению с
другими заболеваниями:**

- **4,5 – 6,0 миллионов умерших в год от сепсиса**
- **1,8 миллионов умерших в год от СПИД**



Актуальность проблемы



Экономические потери

Необходимость использование
современных
антибактериальных препаратов

Удлинение сроков лечения пациентов и
увеличение продолжительности их
пребывания в клинике

Возрастающее количество заболеваний и высокий уровень
летальности



Сепсис представляет собой серьезную проблему для всей медицинской науки

Теории:

- Бактериологическая теория (Давыдовский, 1928 г.)
- Токсическая теория (Савельев, 1976 г.)
- Аллергическая теория (Ройкс, 1983 г.)
- Цитокиновая теория (Эртел, 1991 г.)



Изменения в организме вследствие попадания микроорганизмов в кровь



• Сепсис-1

1991год

Согласительная конференция (American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference - АССР/SCCM СС) Американского общества торакальных хирургов и врачей медицины экстренных состояний (Чикаго, США)

**Сепсис: системный ответ организма на инфекцию
(инфекция + ССВО)**



• Сепсис-2

2001 год

SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions

Conference конференция по выработке нового подхода к определению сепсиса (Вашингтон, 2001), где признали отсутствие полной идентичности между СВО и сепсисом, а также рассмотрены и предложены для практического использования дополнительные (по отношению к симптомам ССВО) критерии диагностики сепсиса



Сепсис – патологический процесс, в основе которого лежит реакция организма в виде генерализованного (системного) воспаления на инфекцию различной природы (бактериальную, вирусную, грибковую)

Методические рекомендации обсуждены и приняты на Калужской согласительной конференции РАСХИ (июнь 2004г)



Знаем и не путаем

Сепсис 1
1991 ACCP/SCCM

Системная реакция организма на инфекцию

Сепсис 2
2001 ACCP/SCCM

Системная реакция организма на инфекцию
(добавлены критерии)



Теперь - Знаем и не путаем!

Сепсис 1
1991 ACCP/SCCM

Системная реакция организма на инфекцию

Сепсис 2
2001 ACCP/SCCM

Системная реакция организма на инфекцию (добавлены критерии MOD)

Сепсис 3
2016 SCCM/ESICM

Инфекционный процесс, сопровождающийся органной дисфункцией

Февраль 2016



Sepsis

Сепсис

Угроза жизни

Острая органная дисфункция

Дерегулирование ответа организма хозяина

D.A.



The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)

Актуальность:

Определение сепсиса было пересмотрено последний раз в 2001 г.

Цель:

Определить, если потребуется, внести изменения в определение сепсиса и септического шока

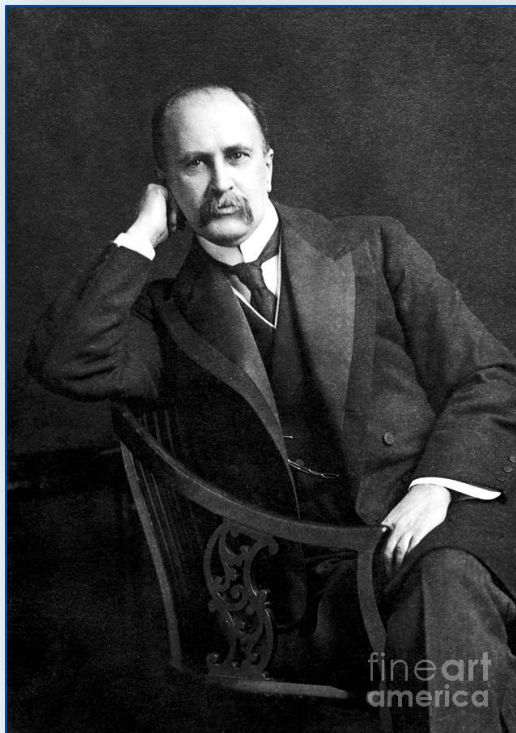
Основные выводы

Сепсис требует немедленной диагностики и лечения

Сепсис отличается от инфекции – необычным ответом организма на воспаление и развитием ССВО

ССВО может быть скрытым при сепсисе, и не выявленная бактериальная инфекция может стать причиной органной дисфункции

Сепсис следует рассматривать не только как прогрессирующее **системное воспаление** а в силу многогранности ответа — как жизнеугрожаемое нарушение регуляции реакции макроорганизма на **инфекцию** с остро **возникшей** **органный** **дисфункцией,** отражающей повреждение **собственных тканей**



Уильям Ослер

« За исключением некоторых
случаев, пациент скорее
умирает от ответа организма
на инфекцию, чем от самой
инфекции »



Инфекция

От латинского «Infectio» — заражение, загрязнение — состояние зараженности, возникает в процессе взаимодействия патогенного микроорганизма и организма животного.

Вне макроорганизма, как и без микроорганизма - инфекция невозможна



Синдром системной воспалительной реакции Системное воспаление организма (англ. «systemic inflammatory response syndrome» (SIRS)

Термин введённый в 1991 году на конференции Американской коллегии торакальных хирургов и Общества специалистов интенсивной терапии в Чикаго для обозначения общей воспалительной реакции организма в ответ на тяжелое поражение, вне зависимости от локализации очага.



Патогенез сепсиса



Сегодня :

В клинической практике имеется дефицит
объективных лабораторных показателей,
позволяющих точно определять этиологию
системного воспалительного ответа и проводить
мониторинг патологических процессов в организме



Необходимо и Важно:

Поиск дополнительных объективных лабораторных
показателей, обеспечивающих раннюю
диагностику развивающейся воспалительной
реакции, отражающих степень тяжести данного
процесса





(А. П. Колесов)

“Прямое подтверждение сепсиса
обычно запаздывает, а решает
исход быстрое лечение, раннее его
начало. Поэтому диагноз должен
ставиться на основании косвенных
признаков сепсиса - клинических и
лабораторных “



Лабораторная диагностика сепсиса в ЦКБ

Лаборатория клинической иммунологии

- Белки острой фазы
- Провоспалительные цитокины
- Иммунный статус (Фагоцитоз, CD64+)

Лаборатория экспресс диагностики

Лабораторная диагностика
24 часа в сутки 7 дней в неделю

- Прокальцитонин -количественно 20 мин.
- ПроАдреномедуллин- количественно
- Пресипсин-15 мин.
- Гемокультивирование

Лаборатория клинической микробиологии

- Гемокультивирование
- Молекулярно-биологические исследования
- Выявление генетических маркеров резистентности к антибактериальным препаратам



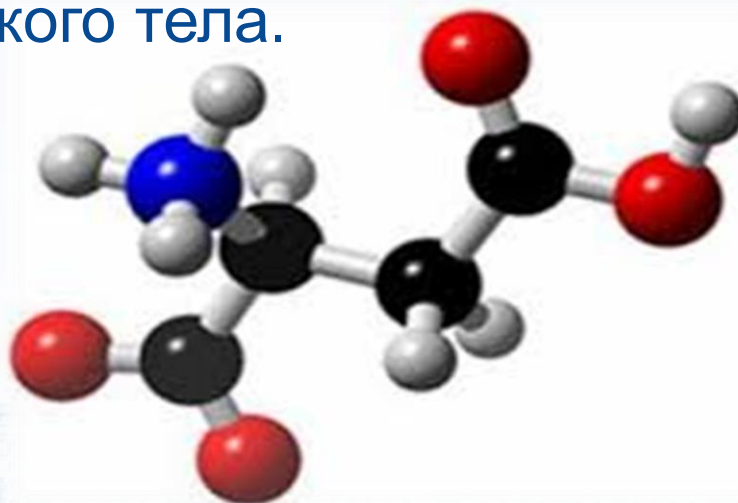


- Биомаркёры (ответ организма, органная дисфункция)
- Микробиологическое исследование - поиск инфекционного агента (гемокультура, ДНК инфекционного агента)
- Алгоритмы диагностики

• Биомаркеры

Термин - используют для обозначения белков, определяемых в крови.

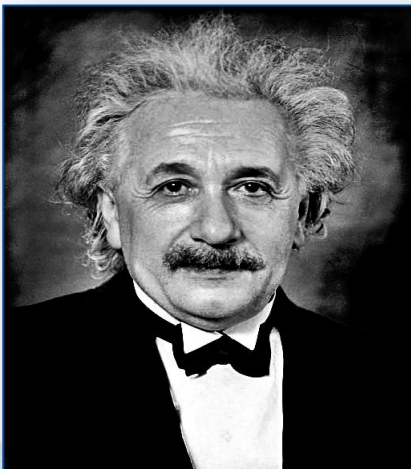
Биомаркеры - это молекулярные, биохимические или клеточные модификации, которые можно определить в биологических средах, таких как ткани, клетки или жидкости человеческого тела.



• Биомаркёры

(ответ организма, органная дисфункция)

Молекулярные субстанции или физиологические параметры , уровень которых отличается от нормального состояния, указывающие на развитие патологического процесса и его тяжесть



Альберт Эйнштейн

***«Когда Вы можете что-то измерить,
Вы начинаете об этом что-то знать»***



Требования к биомаркёрам

- Высокая чувствительность и специфичность
- Доступность
- Быстрый результат
- Воспроизводимость
- Корреляция с тяжестью и исходом
- Совпадение с клиническим течением болезни



Маркеры воспаления

Лейкоцитоз

С – реактивный белок

Прокальцитонин

Проадренomedуллин

Интерлейкин-6

Эндотоксин

Неоптерин

Глюканы

Маннан

Бактериальная ДНК

Бактериальный липопротеин

Интерлейкин-1

Интерлейкин-1

Интерлейкин-8

Интерлейкин-12

Интерлейкин-10

Интерлейкин-18

Фактор некроза опухолей

Лептины

Макрофагальный интерстициальный фактор

НМГ-1

Альфа 1-антитрипсин

Преальбумин

Фибриноген

Оксид азота

Церамид

Эластаза

Миелопероксидаза

Лактоферрин

Тропонин I

Жирные кислоты

Пероксид водорода

Конъюгированные диены

Продукты деградации фибриногена

Фактор фон Виллебранда

Д-димеры

Тромбомодулин

Фибринопептид А

Ингибитор тканевого плазменогена-1

ТАТ Комплекс

Протеин С

Кортизол

sTREM-1

Эндокан

..... И Т.Д.

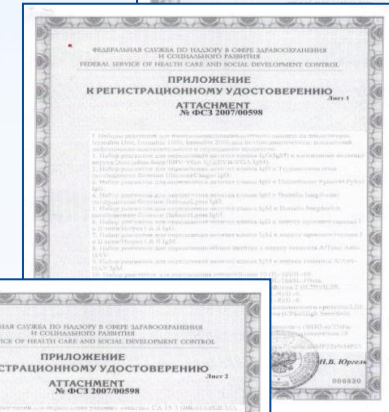


Биомаркёры сепсиса

Группа	Биомаркёр
Микробные продукты	Эндотоксин, бактериальные ДНК, антиген <i>Candida</i>
Физиологические параметры	Температура, ЧСС, Частота дыхания, артериальное давление, диурез
Растворимые рецепторы	SCD25(IL-2R), sE-selectin, sELAM, sTNF-RI, sCD14
Цитокины	IL-1, TNF, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, MIP-1, HMG-1, Leptin
Белки острой фазы	СРБ, ЛПСБ, фибриноген, 1-антитрипсин
CD-рецепторы моноцитов	CD64, HLA-DR, CD11b, CD40, CD63
Медиаторы коагуляции	Антитромбин-III, активированный протеин С, Д-димеры, тромбомодулин, комплекс тромбин\антитромбин
Смешанная	Прокальцитонин, Проадреномедуллин

Маркеры для ранней диагностики инфекционного процесса в ЦКБ

- Прокальцитонин (PCT)
- ПроАдреномедуллин (proADM)
- CD64+ гранулоциты
- С-реактивный белок (CRP)
- Интерлейкин-6 (ИЛ-6)
- ЛПС- связывающий белок (LBP)
- Пресепсин



С-реактивный белок в диагностике критических состояний

1. Главная роль - «опознать чужеродный агент» и привлечь средства для его уничтожения

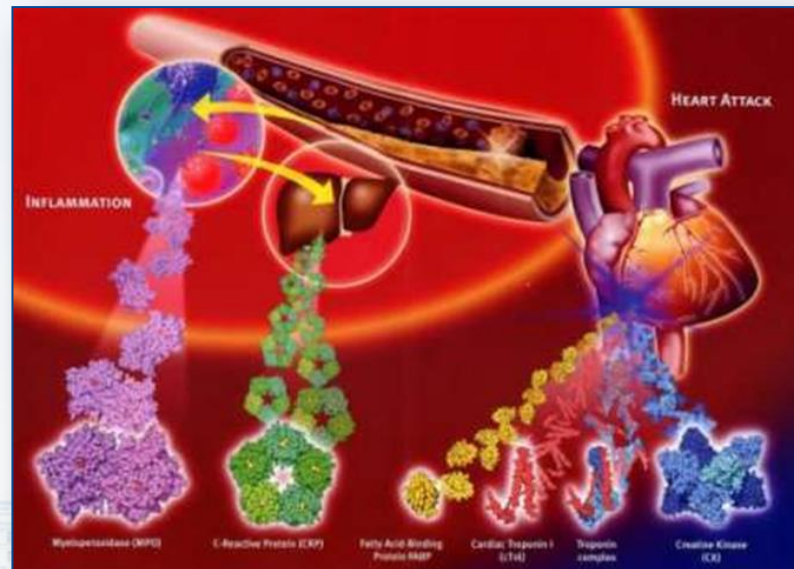
Взаимодействует с Т-лимфоцитами, фагоцитами и тромбоцитами, регулируя их функции в условиях воспаления



После связи CRP с чужеродным агентом - его синтез возрастает:

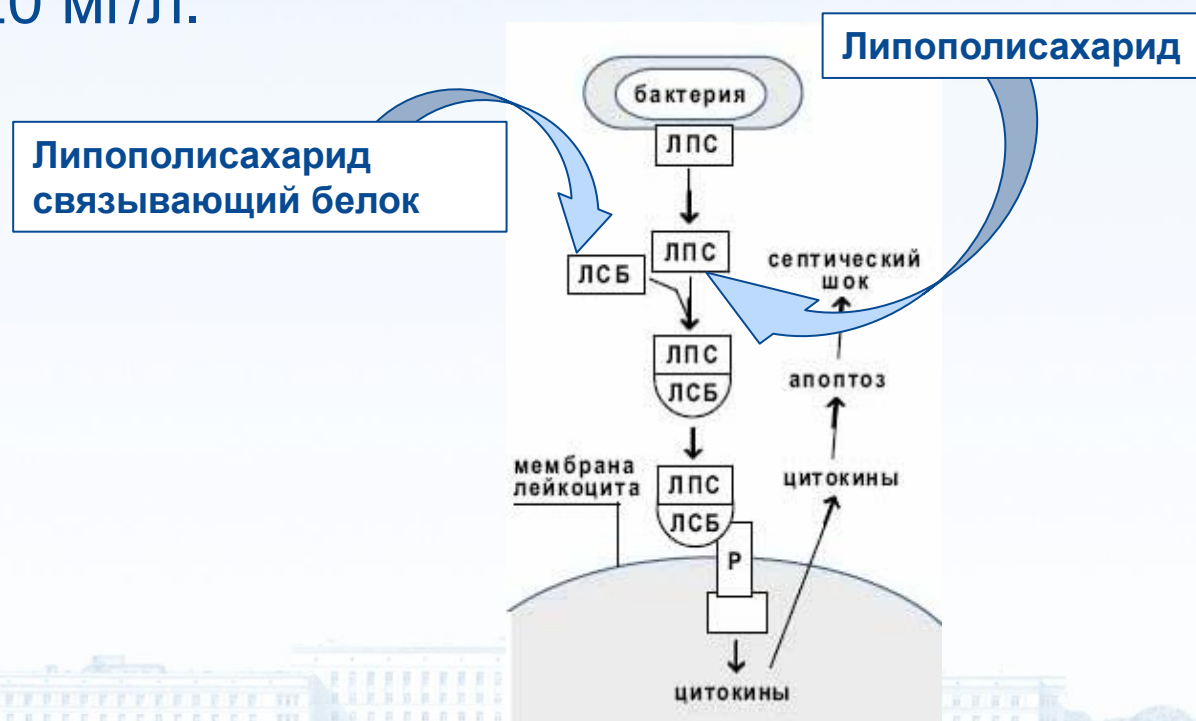
Где и как синтезируется ?

- В печени – при острой фазе воспаления
- В клетках миокарда при ИМ
- В атеросклеротических бляшках



Липополисахарид связывающий белок

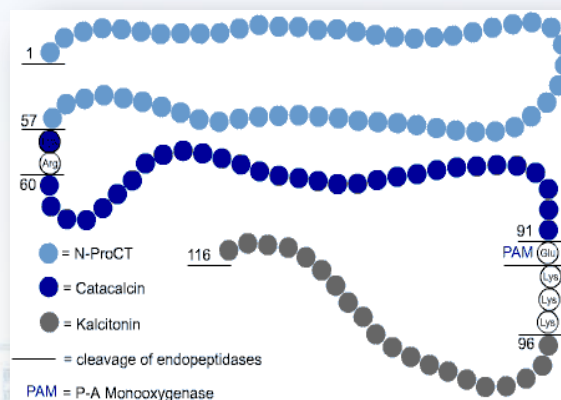
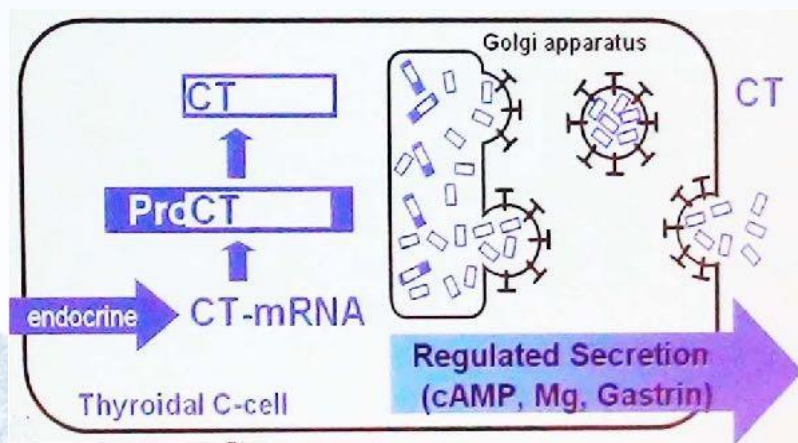
LBP – маркер инфекционного процесса, вырабатывается клетками печени в ответ на циркулирующие бактериальные эндотоксины или липополисахарид. Референтный диапазон в сыворотке 5-10 мг/л.



Прокальцитонин - предшественник гормона кальцитонина.

В норме :

Синтез в С-клетках щитовидной железы. При этом весь образующийся PCT переходит в кальцитонин и практически не поступает в кровоток, в связи с чем в плазме крови у здоровых людей определяются следовые концентрации PCT (менее 0,1 нг/мл).



Диагностическое значение РСТ у пациентов при подозрением на Сепсис

При диагностическом уровне прокальцитонина
в 1,1 нг/мл

В процессе дифференциальной диагностики сепсиса

- Чувствительность составляла - 97%,
- Специфичность - 78%



Повышение концентрации РСТ происходит при системном воспалении бактериальной этиологии, в частности, при тяжелых бактериальных инфекциях и сепсисе.

➤ Коррелирует с тяжестью заболевания



Концентрация РСТ в плазме крови повышается пропорционально тяжести инфекционного процесса

Прокальцитонин (PCT)

- Как маркер бактериальной инфекции
(*sensitive PCT* > 0,25 нг/мл)
- Как маркер сепсиса
(*PCT* > 2 нг/мл)
- Как предиктор инфекционных осложнений
уже в 1-е сутки после операции
- Как показатель адекватности антибиотикотерапии
(при снижении в динамике в 2 и более раз)



РСТ дополняет, а не заменяет работу врача !

Ложноположительные и ложноотрицательные
результаты ($\approx 10\%$)

Ложно (+):

«цитокиновый выброс», малярия, новорожденные...

Ложно (-):

иммунокомпрометированные, грибковые

«Разовое» измерение РСТ имеет ограниченное значение

Течение и прогноз заболевания?

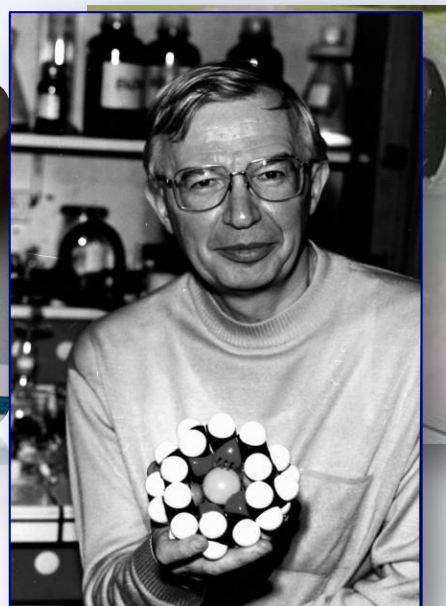
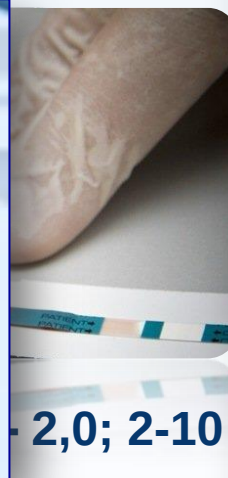
РСТ не может идентифицировать возбудителя



Лабораторные методы определения биомаркеров сепсиса

Иммунохимия нового поколения:
TRACE технология
Исключительная точность

Быстрота
достатки экспресс-тестов
Эффективность и легкость исполнения



1. Диапазон

2. Локальная бактериальная инфекция – 0,25 – 1,0

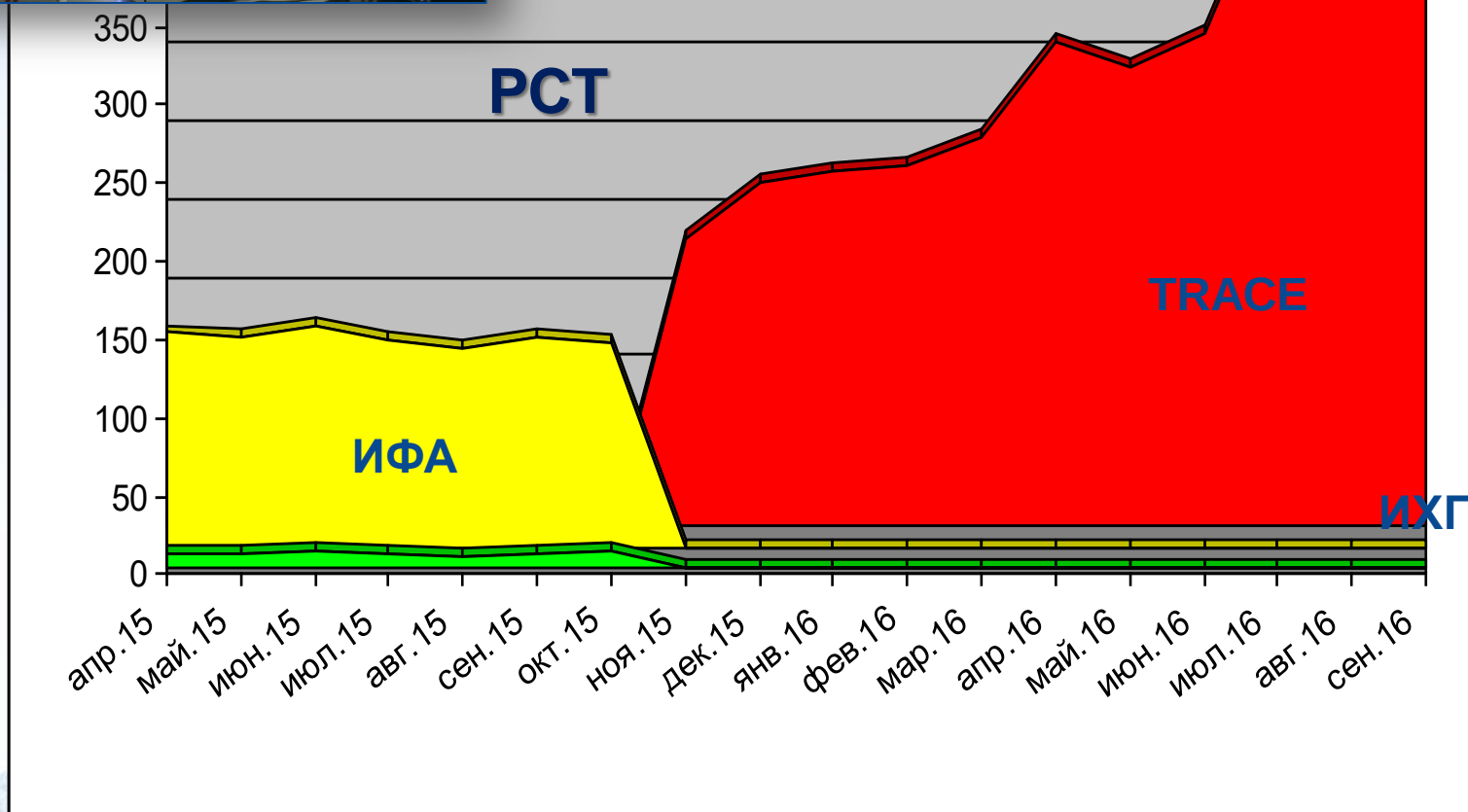
2,0; 2-10

Жан-Мари Лен

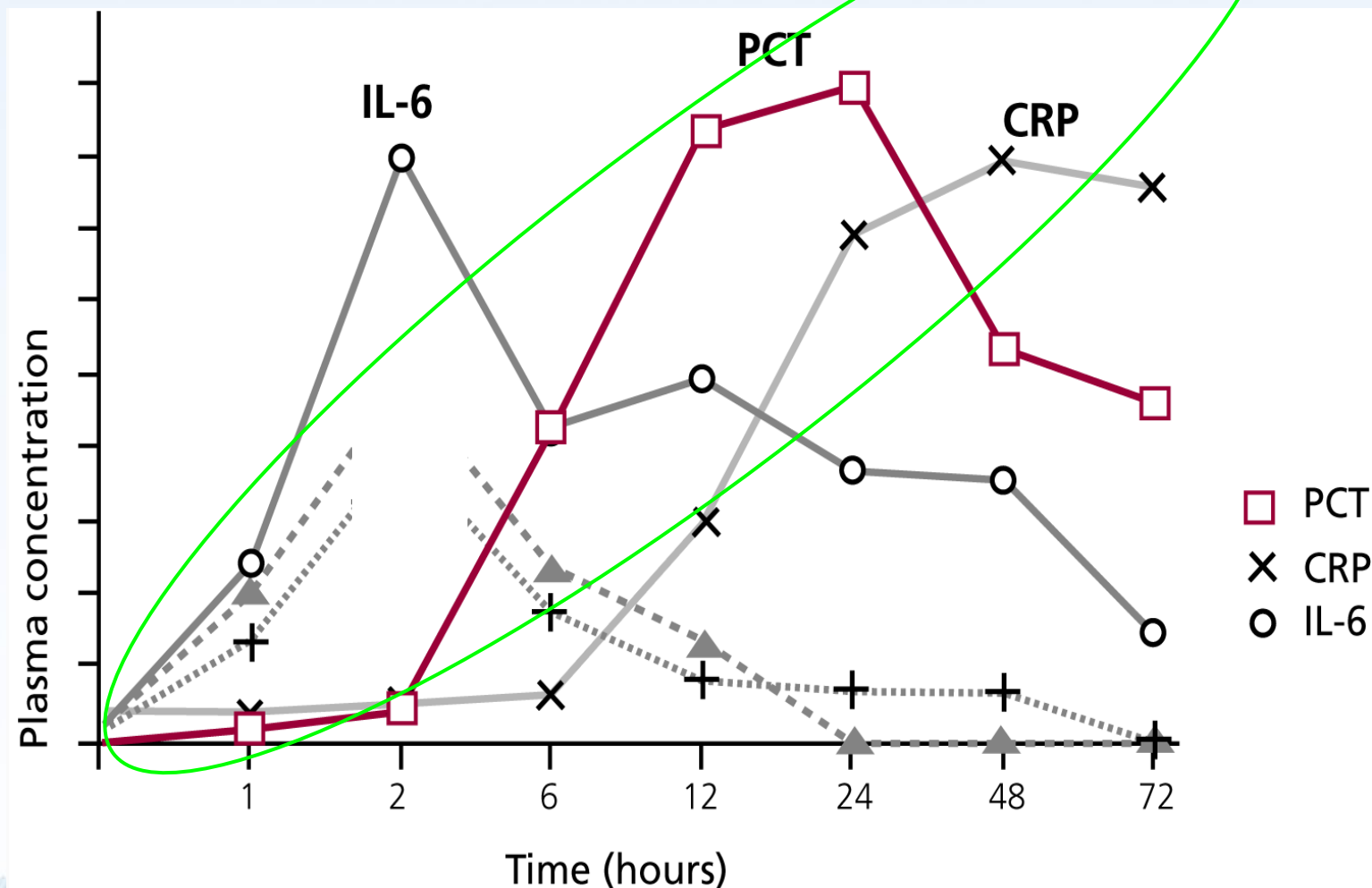
1987 Нобелевская премия



Лабораторные методы определения биомаркеров в ЦКБ



Динамика изменения концентрации маркеров при системном воспалении бактериальной этиологии



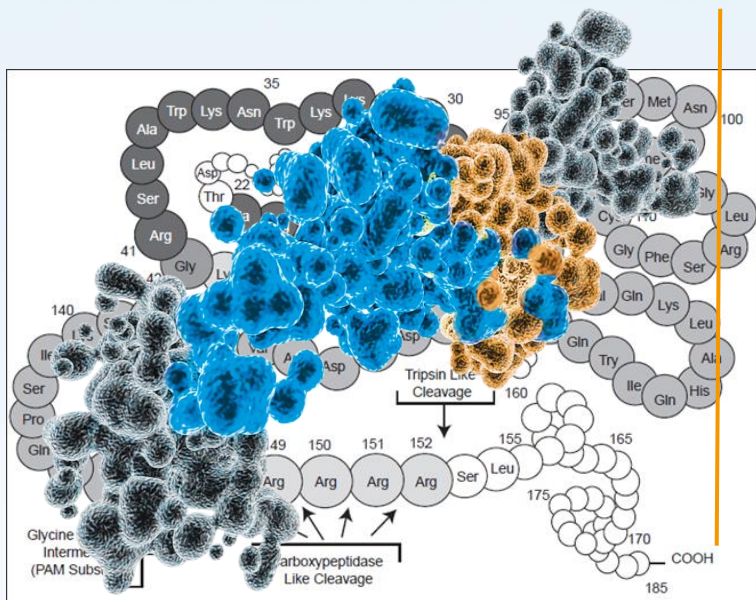


**Проадреномедуллин (MR-proADM) – при сепсисе
не заменяет, а дополняет работу врача !**



Что такое Проадреномедуллин?

Был выделен японскими учеными
К. Kitamura и сотрудниками в 1993 г.
из клеток феохромоцитомы человека

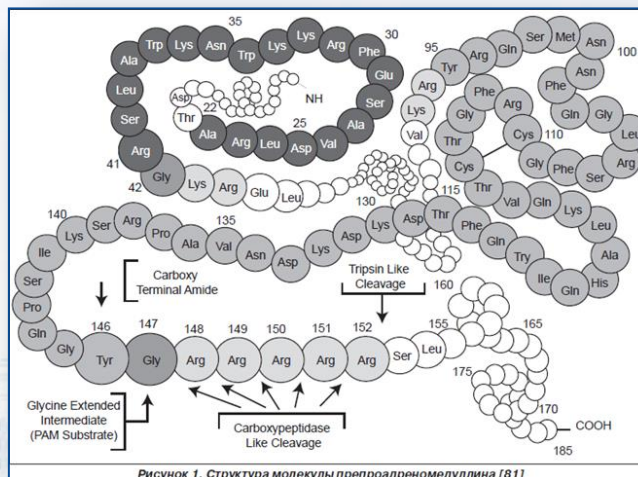


Его синтез, как и синтез прокальцитонина, опосредован через экспрессию генов семейства кальцитонина, которая происходит под действием провоспалительных цитокинов и липополисахаридов.

Почему proAMD ?

ADM обладает коротким периодом полураспада (22 минуты) в циркулирующей крови, быстро разрушается протеазами и формирует комплексы с циркулирующим фактором комплемента H

- ProADM отщепляется от предшественника молекулы ADM
- Соотношение ProADM и ADM составляет 1:1
- В отличие от адреномедуллина, проадреномедуллин не подвергается значительному разрушению протеазами и связыванию в тканях и циркулирующей крови.



Сравнение биомаркеров сепсиса:

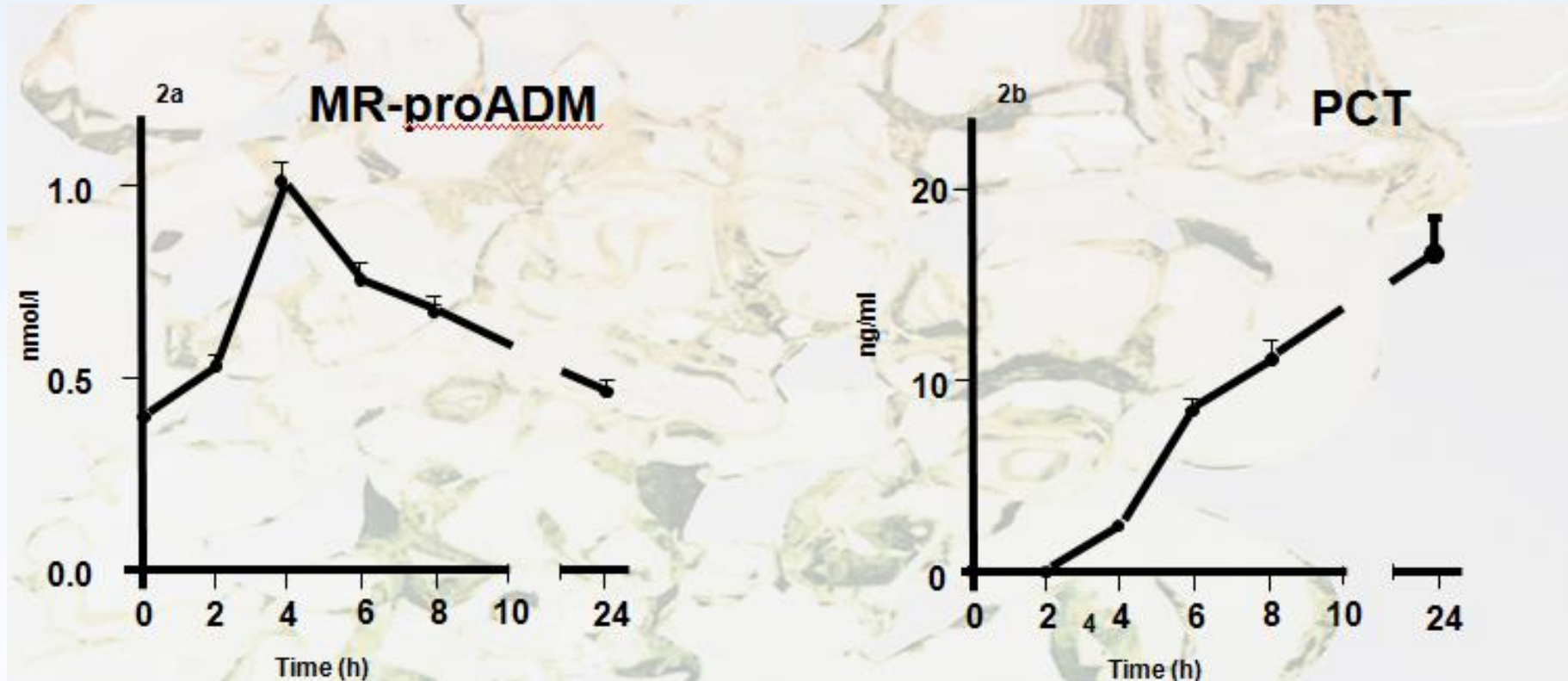
Маркер	-	+
PCT		- Корреляция с тяжестью процесса - Прогноз исхода событий - Получение результата через 29 мин
Pro ADM	Необходимо наличие специального оборудования	- Корреляция с тяжестью процесса - Прогноз исхода событий - Не подвергается разрушению протеазами и связыванию в циркулирующей крови - Получение результата через 29 мин
CD 64	- Необходимо использовать в сочетании с другими показателями - Необходимо наличие дорогостоящего оборудования	- На экспрессию CD64 не влияет терапия препаратами - Получение результата через 3 ч
CRP	- Неспецифичен - Нельзя прогнозировать исход	Доступность

Сравнение биомаркеров сепсиса:

Маркер	-	+
ИЛ-6	▪ Быстрое изменение концентрации	▪ Корреляция с тяжестью процесса ▪ Прогноз исхода событий на высоких концентрациях ▪ Получение результата через 1 ч
LBP	▪ Должен использоваться в сочетании с другими показателями ▪ Зависимость от возбудителя	▪ Получение результата через 1 ч
Пресепсин	▪ Должен использоваться в сочетании с другими показателями ▪ Требуется наличия специального оборудования	▪ Получение результата через 15 мин



MR-proADM: Быстрый ответ на бактериальную инфекцию



MR-proADM:
Значительное повышение
через 2 часа

PCT: Значительное
повышение через 4 часа

**При использовании любого биомаркёра,
важнейший критерий
- Клинические проявления болезни**



Клинический пример:

Пациент П.А.А., 1937 г.р.

Поступил в ЦКБ 09.09.2016 г с диагнозом:

ХОБЛ, обострение. ХПН.

В общем анализе крови следующие изменения:

Параметр	Референс. знач-е	Результат 10.09.2016 г	Результат 13.09.2016 г	Результат 17.09.2016 г	Изменение
Лейкоциты	4-8,8×10 ⁹ /л	*15,5	*17	*18	↑
Нейтрофилы	48-78 %	*94	*95	*94	↑
Гемоглобин	120-150 г/л	*84	*86	*84	↓
Эритроциты	3,7-4,7×10 ¹² /л	*3,6	*3,6	*3,6	↓



Клинический пример:

Пациент П.А.А., 1937 г.р.

Поступил в ЦКБ 09.09.2016

Параметр	Референс. знач-е	Результат 10.09.2016 г	Результат 13.09.2016 г	Результат 17.09.2016 г	Изменение
Лейкоциты	4-8,8×10 ⁹ /л	*15,5	*17	*18	↑
Нейтрофилы	48-78 %	*94	*95	*94	↑
Креатинин	40-130 мкмоль/л	*452	*321	*335	↑
СРБ	0-1 мг/л	*178	*136	*68,8	↑
Прокальцитонин	0-0,5 нг/мл	*1,8	*2,2	*3,5	↑
Про-адреномедуллин	0-0,05 нмоль/л	*1,60	*4,59	*10,36	↑

Летальный исход 01.10.2016 г.



Клинический пример:

Пациентка З.М.С., 1984 г.р.

Поступила в ЦКБ 29.07.2016 г с диагнозом:

Лихорадка неясного генеза. Склеродермия. Синдром Рейно.

В общем анализе крови следующие изменения:

Параметр	Референс. знач-е	Результат 30.07.2016 г	Результат 03.08.2016 г	Изменение
Лейкоциты	$4-8,8 \times 10^9/\text{л}$	7,5	6,3	N
Нейтрофилы	48-78 %	*85	60	↑ N
Гемоглобин	120-150 г/л	*92	*93	↓
Эритроциты	$3,7-4,7 \times 10^{12}/\text{л}$	*3,1	*3,5	↓



Клинический пример:

Пациентка З.М.С., 1984 г.р.

Поступила в ЦКБ 29.07.2016 г

Параметр	Референс. знач-е	Результат 30.07.2016 г	Результат 03.08.2016 г	Изменение
Лейкоциты	4-8,8×10 ⁹ /л	7,5	6,3	N
Нейтрофилы	48-78 %	*85	60	N
Креатинин	40-130 мкмоль/л	108	46	N
СРБ	0-1 мг/л	*46	*5	↑
Прокальцитонин	0-0,5 нг/мл	*10,8	0,4	↑ ↓
Про-адреномедуллин	0-0,05 нмоль/л	*2,37	*1,10	↑

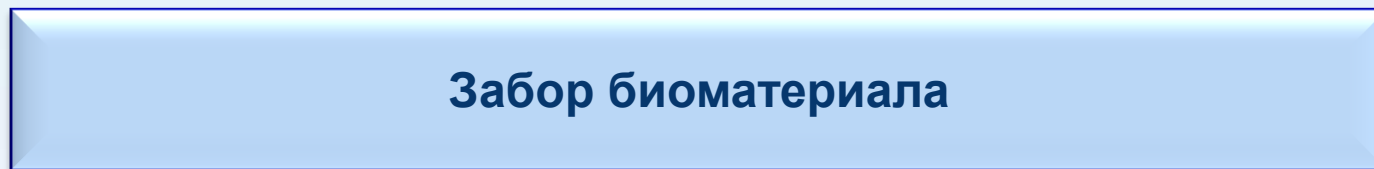
Выписана домой 31.08.2016 г.



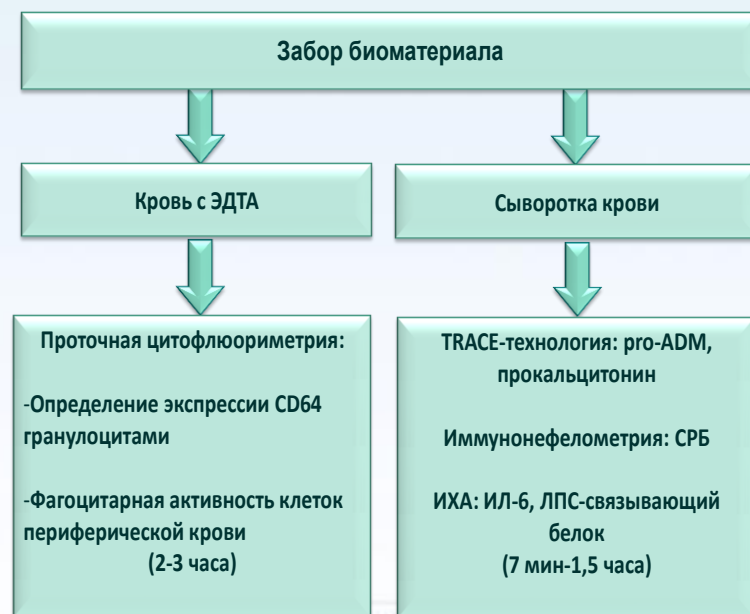
АЛГОРИТМ



Наш лабораторный алгоритм



Алгоритм иммунологического исследования



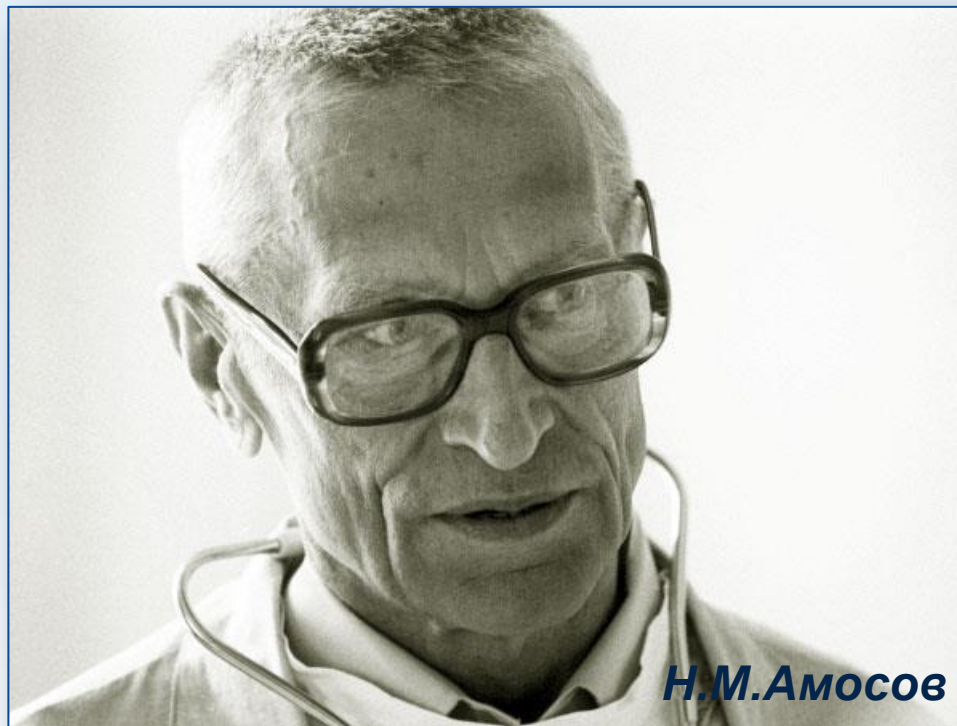
ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой» УД Президента РФ

Алгоритм микробиологического исследования



ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой» УД Президента РФ

Оповещение клинического отделения



Н.М.Амосов

Что требуется от медицины?

**Совсем «немного» — правильной диагностики
и хорошего лечения.**





РОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС
ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ

11-13 ОКТЯБРЯ
2017

| МОСКВА | ВДНХ | ПАВИЛЬОН 75 |

III РОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ

МЕЖДИСЦИПЛИНАРНАЯ ПЛОЩАДКА
ДЛЯ ОБЩЕНИЯ МЕДИЦИНСКОГО
СООБЩЕСТВА



ОРГАНИЗАТОРЫ:



День СЕПСИСА



ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой» УД Президента РФ

Спасибо за внимание!

Лабораторная служба ЦКБ

+ 7(495)530-09-45

Labckb@Gmail.com

www.cchp.ru



ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой» УД Президента РФ