

Procalcitonina e proteina C reattiva in traumatizzati gravi: nuovi e vecchi indicatori di risposta sistemica alle infezioni

A. Acquarolo*, A. Faletti*, D. Colombrita**, A. Tosca**, L. Bassani**

Servizio di Anestesia e Rianimazione* Servizio di Microbiologia**
Azienda Spedali Civili di Brescia

Riassunto. Nonostante numerose ricerche sui *marker* biochimici dello stato settico e dell'*outcome* del paziente, finora nessun parametro di laboratorio appare sufficientemente sensibile e specifico per differenziare reazioni sistemiche "settiche" da "apparentemente settiche". Tuttavia, la procalcitonina (PCT) e la proteina C reattiva (PCR) sono tra gli indicatori oggi più utilizzati, anche se discussi. Analisi su gravi pazienti traumatizzati, monitorati giornalmente sul livello serico dei due *marker*, hanno dimostrato i vantaggi diagnostici della PCT, non priva di alcune limitazioni. Questo lavoro conferma che solo l'approccio multifattoriale al paziente grave è determinante per l'interpretazione della reazione sistemica legata all'infezione.

Abstract. Despite extensive research on biochemical markers of the septic status and patient's outcome, no laboratory parameter seems sensible and specific enough to differentiate between "septic" and "apparently septic" systemic reactions. Nevertheless, procalcitonin (PCT) and Reactive C Protein (PCR) are amongst the most used indicators today, even if they are disputed. Our research on heavily traumatized patients, daily monitored for both markers, showed a good performance of PCT, with some limitations. This paper confirm that only the patient's multifactorial analysis determines the diagnosis of the systemic reaction linked to the infection.

Introduzione

Le infezioni severe e le sepsi, alle quali seguono insufficienze o disfunzioni multiorgano (MODS), sono attualmente fra le più importanti cause di morbidità e mortalità nei reparti di terapia intensiva. Tuttavia, recenti indagini sui meccanismi fisio-patogenetici delle sepsi hanno dimostrato che le sindromi da reazione infiammatoria sistemica (SIRS) e MODS possono essere scatenate anche da eventi non settici, come pancreatiti, traumi gravi ed ustioni estese.

Da qui sorge la difficoltà di distinguere pazienti infetti da non infetti, al fine di ridurre gli inconvenienti conseguenti all'abuso di antibiotici (costi, tossicità, resistenza), senza incorrere in mancate o tardive prescrizioni antibiotiche.

Purtroppo difettano *marker* clinici o di laboratorio sensibili e specifici per il riconoscimento precoce

delle forme infettive di SIRS, in quanto:

- segni più comuni (variazioni della temperatura corporea, leucocitosi, leucopenia, tachicardia) sono aspecifici;
- pazienti con infezioni in atto possono essere asintomatici;
- l'evidenza batteriologica, da sempre "*gold standard*" per la diagnosi di infezione in corso, non fornisce sempre la chiave di lettura di quadri clinici complessi;
- la risposta settica coinvolge il rilascio di numerosi mediatori chimici, liberati tuttavia anche in reazioni infiammatorie non infettive.

L'esigenza di trovare *marker* validi ha portato al dosaggio di una nuova molecola, la procalcitonina (PCT), praticamente introvabile nei soggetti sani, accanto a quello della proteina C reattiva (PCR), vecchio indicatore d'infezione generica.

La PROCALCITONINA (PCT) è una glicoproteina, probabilmente prodotta nel fegato, con sequenza degli aminoacidi parzialmente sovrapponibile a quella del precursore della calcitonina (10), (12). Le infezioni localizzate, confinate ad un singolo organo, non sembrano comportare elevati valori di PCT, in quanto raramente eccedenti 2 ng/ml. La PCT risulterebbe poco elevata nelle infezioni virali, nelle malattie autoimmuni o neoplastiche e dopo traumi chirurgici. Pertanto sembra un buon *marker* di complicanze infettive *post*-chirurgiche (14). Nella sepsi grave e nello *shock* settico la PCT raggiunge precocemente valori elevati, mentre nello *shock* cardiogeno si eleva tardivamente, probabilmente per liberazione di endotossine batteriche dall'intestino ischemico (1). La cinetica della PCT è caratterizzata da rapida elevazione, stabilità della molecola e lunga emivita (25-30 ore). Diversi Autori hanno notato come il suo andamento rifletta parallelamente l'andamento della reazione infiammatoria e sia correlato alla gravità dell'infezione ed all'*outcome* del paziente. Al contrario, l'eliminazione di altri mediatori di SIRS e sepsi (come TNF e IL6) può essere così veloce che i titoli plasmatici non risultano significativamente rappresentativi della condizione infiammatoria del paziente al momento del dosaggio.

La PROTEINA C REATTIVA (PCR) è una proteina di fase acuta prodotta dagli epatociti (2), (6), (16), presente negli individui sani entro valori di 10 mg/l (14), progressivamente crescenti con l'età (4) (17). Aumenta rapidamente in seguito ad insulto infiammatorio, ma è anche velocemente degradata, con tempo di dimezzamento di circa 6 ore (3), (7), (9). Può funzionare come opsonina (8), attivare la via classica del complemento (15), legare selettivamente i linfociti T modificandone alcune funzioni (11), ridurre l'aggregazione piastrinica (5), aumentare attività e motilità delle cellule fagocitarie.

Diversi studi hanno dimostrato che la sensibilità della PCR nella diagnosi di infiammazione può raggiungere il 100 % se integrata con altri parametri di sepsi: numero di globuli bianchi, rapporto tra neutrofili immaturi e numero totale (*I/T ratio*), VES. La PCR, inoltre, permetterebbe la diagnosi differenziale tra infezione batterica e virale.

Scopo di questa ricerca è la valutazione critica di questi due parametri su un gruppo relativamente omogeneo di politraumatizzati in rianimazione in quanto pazienti a patologia impegnativa con alta incidenza di SIRS e sepsi.

Materiali e metodi

Caratteristiche della popolazione studiata

Sono stati inclusi nel nostro studio 31 pazienti traumatizzati, non selezionati, ricoverati dall'ottobre 1998 al maggio 1999 presso il 2° Centro di Rianimazione degli Spedali Civili di Brescia e degenti per un minimo di 5 giorni. Per i pazienti in studio sono stati raccolti oltre ai dati anagrafici, i dati relativi alla diagnosi clinica, alla gravità anatomica e funzionale iniziale utilizzando scale valutative di gravità neurologica e sistemica quali la Glasgow Coma Scale, l'Injury Severity Score e l'APACHE II. Per ogni paziente sono stati valutati giornalmente: i segni probativi per la comparsa di SIRS, Sepsis, Sepsis grave come definiti dall'ACCP/SCCM Consensus Conference del 1992 (19); i segni di insufficienza d'organo/i misurati con il SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score (18) e la comparsa di specifiche infezioni definite secondo i criteri pubblicati dai CDC.

Sono stati raccolti i dati relativi al tempo di degenza in T.I. e lo stato vitale a 30 giorni dalla dimissione.

I pazienti inseriti nello studio sono stati sottoposti: a prelievo ematico ogni 24 ore per la valutazione dell'emocromo con conta leucocitaria e piastrinica, per la valutazione della creatinemia e della bilirubinemica totale ed a prelievo ematico ogni 48 ore per il dosaggio della PCR e PCT plasmatiche.

Vengono riportate le definizioni della "Consensus Conference" del 1992 della Società di Terapia Intensiva e del Collegio Americano di Pneumologia relativamente a SIRS e sepsi grave. (19)

SIRS: (Sindrome da Risposta Infiammatoria Sistemica): risposta infiammatoria sistemica a una varietà di gravi insulti clinici; tale risposta si manifesta con due o più delle seguenti condizioni: temperatura > 38 °C oppure < 36°C, frequenza cardiaca > 90 battiti/minuto, frequenza respiratoria > 20 atti/minuto o PaCO₂ <32 torr, Globuli Bianchi > 12000/mm³ < 4000/mm³ oppure > 10% di forme immature.

SEPSI: risposta sistemica all'infezione certa localizzata in qualsiasi sede; questa risposta si manifesta con due o più delle condizioni già elencate per la definizione di SIRS.

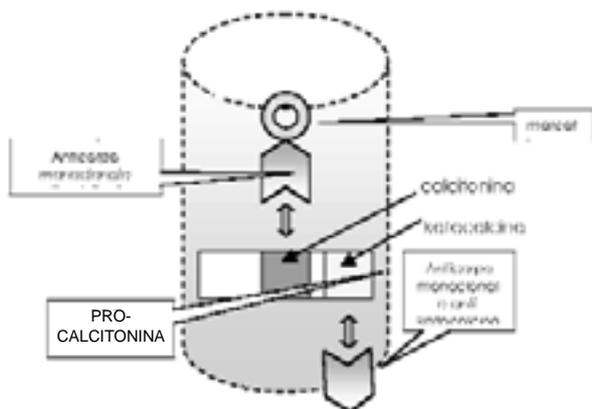
SEPSI GRAVE: sepsi associata a disfunzione d'organo, ipoperfusione o ipotensione.

MODS (Sindrome da Disfunzione d'Organo Multipla): presenza di alterata funzione d'organo, tale che l'omeostasi non può essere mantenuta senza intervento terapeutico.

Metodi di dosaggio

Per la PCR è stato usato un metodo nefelometrico, che misura il grado di agglutinazione di particelle di polistirene sensibilizzate con anticorpi monoclonali anti-PCR.

Per la determinazione della PCT è stato usato un metodo immunoluminometrico, il LUMItest® (BRAHMS, Berlin) che sfrutta due anticorpi monoclonali antigene-specifici. Questi anticorpi, presenti in eccesso, legano la PCT, cioè l'antigene, in due siti leganti differenti, rappresentati dai segmenti della calcitonina e della katalcalcina. Uno degli anticorpi è marcato con una sostanza luminescente in funzione di tracciante, mentre l'altro è fissato con il metodo del *coated tube* alla parete della provetta. Entrambi, durante l'incubazione, reagiscono con le molecole di PCT, formando un complesso a *sandwich*. L'anticorpo luminescente si lega quindi sulla superficie interna del tubo e l'eccesso di tracciante viene eliminato. A reazione terminata, la quantità di tracciante viene quantificata, misurando con un luminometro il segnale, previa aggiunta dei reagenti contenuti nel LUMItest®. L'intensità del segnale è direttamente proporzionale alla concentrazione di PCT nel campione. Si costruisce una curva adoperando degli *standard* calibrati verso la PCT umana intatta di origine sintetica, aventi una concentrazione nota di antigene. Le concentrazioni di PCT del siero o del plasma in esame possono pertanto essere determinate mediante estrapolazione dalla curva.



Analisi statistica

Le variabili continue sono state espresse come medie e deviazioni standard. Le variabili non continue, sono state espresse come mediana, 25° e 75° percentile. La comparazione di tali variabili su scala ordinale è stata eseguita applicando il test di Mann-

Whitney per somma dei ranghi. La correlazioni fra variabili su scala ordinale è stata eseguita calcolando il coefficiente di correlazione dei ranghi di Sperman. Un valore di $p < 0.05$ è stato considerato come statisticamente significativo.

Risultati

Le caratteristiche dell'intera popolazione sono riassunte nella Tab.1.

Tabella 1: Caratteristiche dell'intera popolazione di pazienti politraumatizzati studiati. I valori sono presentati come media con deviazione standard in parentesi.

N. pazienti	31	
Sesso maschile	25	81%
Età	41 (18.9)	
Traumi cranici puri	5	16%
Politraumi	26	84%
GCS (all'ingresso)	7,71 ($\pm 3,55$)	
APACHE II	16,16 (5,35)	
ISS	31,9 (+9,5)	
Giorni di degenza	25.32 (10)	
Giorni di ventilazione	18.45 (9.32)	
Pazienti Tracheotomizzati	24	77%
Interventi chirurgici	28	
Interventi chirurgici in urgenza	15	
Interventi neurochirurgici	17	
Interventi ch. addominale	4	
Altre chirurgie	7	
Profilassi antibiotica	23	
Outcome a 30 gg	31 vivi	100%

Tutti i pazienti ad eccezione di 1 svilupparono almeno una infezione (vedi tabella 2).

Tabella 2: classificazione delle infezioni diagnosticate e relativa incidenza nell'intera popolazione dei pazienti.

	Numero casi	Incidenza nella popolazione
Trachobronchiti	6	19 %
Polmoniti precoci	17	55 %
Polmoniti tardive	13	42 %
Infezioni vie urinarie	5	16 %
Batteriemie	6	19 %
Infezioni CVC correlate	3	10 %
Sinusiti	6	19 %
Infezioni cutanee	2	6 %
Infezioni vaginali	1	3 %
Flebiti	1	3 %

Durante la degenza in Rianimazione, 25 pazienti presentarono almeno un episodio di sepsi e 8 di sepsi grave. Sono stati valutati 303 campioni per la determinazione serica di PCT e 295 per la determinazione serica di PCR. Per il dosaggio della PCT sono stati raccolti ed analizzati 37 campioni ematici durante il periodo nel quale i soggetti presentavano segni di sepsi grave, 113 nel periodo di sepsi accertata, 55 in caso di SIRS e 98 in assenza di SIRS e/o sepsi. Per il dosaggio della PCR sono stati raccolti 34 campioni durante lo stato di sepsi severa, 110 in caso di sepsi accertata, 53 in caso di SIRS e 98 in assenza di SIRS e sepsi.

L'assenza di mortalità non ha permesso, di poter osservare l'andamento assunto dalle proteine della fase acuta in studio quale indice prognostico di outcome. Non abbiamo ritrovato una significativa relazione fra la gravità iniziale presentata al momento del ricovero del paziente come indicato dagli indici di gravità ed i valori assunti dalla PCT e dalla PCR al momento del 1° campionamento.

La distribuzione dei valori assunti dalla PCT e dalla PCR è stata espressa come: valore mediano ed interquartili.

PCT. Come mostrato nella tabella n°3 nella fase in cui i pazienti presentavano la SIRS isolata i valori di PCT risultavano praticamente indosabili. Valori lievemente più elevati, ma comunque inferiori allo 0,5 ng/ml, sono stati segnalati nei campioni prelevati durante l'assenza dei segni identificativi di SIRS. Durante la sepsi grave la mediana ed ambedue gli interquartili sono risultati maggiori di 2 ng/ml.

Tabella 3: range, mediana ed interquartili dei valori di PCT espressi in ng/ml in caso di assenza di SIRS, presenza di SIRS, sepsi e sepsi grave.

	NO SIRS	SIRS	SEPSI	SEPSI GRAVE
RANGE				
25	0.000	0.000	0.070	2.100
50	0.000	0.000	2.030	3.700
75	0.528	0.002	4.000	7.080

PCR. Quanto ai valori serici della PCR è da segnalare che sono risultati sempre immancabilmente molto elevati, fatta eccezione per qualche valore sporadico (vedi tab. n°4); inoltre sono apparsi simili le mediane e gli interquartili nei prelievi eseguiti in caso di assenza di segni di SIRS ed in caso di presenza di sepsi.

Tabella 4: range, mediana ed interquartili dei valori di PCR espressi in mg/l in caso di assenza di SIRS, presenza di SIRS, sepsi e sepsi grave.

	NO SIRS	SIRS	SEPSI	SEPSI GRAVE
RANGE				
25	23.800	18.900	28.800	49.550
50	40.300	33.000	53.800	90.100
75	84.700	54.400	94.325	160.250

L'analisi dei campioni per gruppi ha dimostrato la presenza di differenza statisticamente significativa per i valori di PCT e PCR serica fra i gruppi SIRS vs. sepsi ($p < 0.05$) e sepsi vs. sepsi grave ($p < 0.05$). **PCT e PCR.** Il tentativo di mettere in relazione i valori assunti parallelamente dai livelli di PCT e di PCR prelevati contemporaneamente, non ha dimostrato relazioni significative fra le due variabili, che pertanto paiono modificarsi in senso crescente e/o decrescente senza apparente concordanza.

Un valore di PCT 2ng/ml individuerrebbe nel nostro studio la presenza di sepsi grave con sensibilità del 78,37% e specificità del 74,66% (Valore Predittivo Positivo -VPP= 27,36%; Valore Predittivo Negativo -VPN=96,55%), e la presenza di sepsi - di qualunque gravità - con sensibilità del 62,33% e specificità del 92,14% (VPP=85,85%; VPN=76,19%).

D'altro canto, un valore di PCR 40 ng/ml individuerrebbe la presenza di sepsi grave con sensibilità dell' 85,71% e specificità del 45,43% (VPP= 14,49%; VPN=96,66%), e la presenza di sepsi - di qualunque gravità - con sensibilità del 75,88% e specificità del 53,70% (VPP=51,17%; VPN=77,33%).

L'associazione delle due variabili (PCT 2 ng/ml e PCR 40 ng/ml), individuerrebbe i pazienti clinicamente portatori di sepsi grave con una sensibilità del 65,70% e specificità dell'82,20% (VPP=30,66; VPN=95,25), ed i pazienti settici in senso lato con sensibilità del 45,77% e specificità del 94,11% (VPP=85,52%; VPN=69,56%).

RELAZIONE FRA PCT, PCR E DISFUNZIONE

D'ORGANO. Il test "Spearman Rank Correlation" applicato all'associazione "punteggio della disfunzione d'organo (MOF)" e valori di PCT e PCR dimostra l'esistenza di una correlazione significativa ($p=0,023$) fra il punteggio MOF ed i valori di PCT, e fra il punteggio MOF ed i valori di PCR ($p < 0,001$). Se si mettono in relazione il numero di organi di volta in volta interessati dalla disfunzione ed i valori assunti dalla PCT e dalla PCR, la correlazione appare sempre significativa ($p=0,002$ per la PCT e $p < 0,001$ nel caso della PCR)

Marker	Patologia	Valori diagnosticati (ng/ml)	Sensibilità (%)	Specificità (%)	VPP (%)	VPN (%)
PCT	Sepsi grave	≥2	78,37	74,66	27,36	96,55
	Sepsi		62,33	92,14	85,85	76,19
PCR	Sepsi grave	≥40	85,71	45,33	14,49	96,66
	Sepsi		75,88	53,70	51,17	77,33
PCT /PCR	Sepsi grave	≥2 ≥40	65,70	82,20	30,66	95,25
	Sepsi		45,77	94,11	85,52	69,56

VPP = valore predittivo positivo VPN = valore predittivo negativo

Discussione

Dalla lettura dei risultati si possono ricavare alcune considerazioni:

1. I soggetti con SIRS, in assenza di infezione diagnosticata, presentano livelli serici di PCT significativamente più bassi rispetto ai pazienti con sepsi o sepsi grave.
2. Esiste una correlazione fra gravità della disfunzione d'organo (punteggio MOF o numero di organi interessati alla disfunzione) e livelli di PCT.
3. La bassa sensibilità della PCT nella diagnosi degli stati settici è concorde con quanto riportato dalla letteratura, essendo già noto che non tutte le infezioni, specie se localizzate in singoli organi, si accompagnano a valori sovranormali della PCT.
4. I livelli di PCR sono costantemente elevati nei pazienti gravemente traumatizzati.
5. La bassa specificità della PCR per la diagnosi di infezione è nelle aspettative, in quanto, per definizione, la PCR si eleva in seguito a qualunque insulto che evochi una reazione infiammatoria. E in effetti, la popolazione studiata, per le sue caratteristiche, ha molteplici motivi per mantenere valori di PCR costantemente elevati. Tuttavia, è apparso riconoscibile un *trend* significativo, per cui pazienti con sepsi o sepsi grave presentano valori significativamente più elevati se confrontati con pazienti con sola SIRS. Inoltre, si è constatata la presenza di un *trend* fra gravità della disfunzione multiorgano e valore assunto dalla PCR.

Anche se le due molecole sembrano adatte per individuare pazienti con problemi settici, da una valutazione più critica dei dati emergono alcune limitazioni del metodo; questo potrebbe comportare una condotta terapeutica non adeguata in assenza di un approccio multifattoriale al paziente critico.

Infatti valori di PCT ≥ 2 ng/ml (considerati indicativi di sepsi in un recentissimo editoriale) non sembrano individuare i pazienti settici con sufficiente sensibilità. Un paziente su quattro rischierebbe di non essere correttamente individuato. La sola PCT potrebbe far sottostimare la gravità del paziente e ritardare o mancare il trattamento. D'altro canto, ricorrere ad un "indicatore di sepsi" più sensibile, ma meno specifico, come la PCR potrebbe comportare un'inutile e discutibile estensione dei trattamenti. Neppure l'associazione dei dati PCT ≥ 2 ng/ml e PCR ≥ 40 mg/ml migliora la predittività di infezione in questi pazienti critici.

Conclusioni

Il dosaggio della PCT e della PCR nei traumatizzati critici con SIRS o sepsi non può sostituire il giudizio clinico del medico, pur rimanendo un sussidio diagnostico per suggerire la via terapeutica da seguire.

La PCT, ancora più della PCR, è apparsa un indice utile per prevedere l'andamento clinico di un'infezione già diagnosticata, in quanto all'instaurarsi di una terapia adeguata seguiva una rapida tendenza alla normalizzazione dei valori di PCT.

Bibliografia

1. Brunkhorst FM, Forycki ZF, Wagner J. Procalcitonin immunoreactivity in severe human shock. *Intens Care Med* S21,1995.
2. Castell JV, Gomez-Lechon MJ, David M, et al. Acute phase response of human hepatocytes: regulation of acute-phase protein synthesis by interleukin-6. *Hepatology* 12,1179-86, 1990.
3. Chelladurai M, MacIntyre SS, Kushner I. In vivo studies of serum C-reactive protein turnover in rabbits. *J Clin Invest* 71, 604, 1983.
4. Claus DR, Osmand AP, Gewurz H. Radioimmunoassay of human C-reactive protein and levels in normal sera. *J Lab Clin Med* 87, 120, 1976.
5. Fiedel BA, Gewurz H. Effects of C-reactive protein on platelet function. I. Inhibition of platelet aggregation and release reactions. *J Immunol* 116, 1289-94, 1976.
6. Gewurz H. Biology of C-reactive protein and the acute phase response. *Hosp Prac* 17(6), 67-81, 1982.
7. Hokama Y. Methods of assay and role of acute-phase C-reactive protein in human disease. In: Nakamura RM, Ditto WR, Tucker ES. *Immunologic Analysis. Recent Progress in diagnostic laboratory immunology*, New York, Masson Ed. , 239-57, 1982.
8. Hokama Y, Honda SAA, Hanakahi LA, Terada K. C-reactive protein and platelet activating factor complexes induced production and release of interleukin-1 by human monocytes. *J Clin Lab Anal* 2, 155-60, 1988.
9. Kushner I, Broder ML, Karp D. Control of the acute-phase response: serum protein kinetics after acute myocardial infarction. *J Clin Invest* 73, 191, 1978.
10. Le Moullec JM, Jullienne A, Chenais J, et al. The complete sequence of human preprocalcitonin. *FEBS* 167, 93-97, 1984.
11. Mortensen RF, Osmand AP, Gewurz H. Effects of C-reactive protein on the lymphoid system. I. Binding to thymus-dependent lymphocytes and alteration of their functions. *J Exp Med* 141, 821-39,1975.
12. Petitjean S, Assicot M. Etude de l'immunoreactivite calcitonine-like au cours des processus infectieux. Diplome d'études approfondies de biotechnologie, Université Paris V (1992-1993).
13. Pova, E. Almeida, P. Moreira, A. Fernandes et al. C-reactive protein as an indicator of sepsis. *Intensive Care Medicine* 24, 1052-56, 1998.
14. Reith HB, Mittelkötter U, Debus ES et al. Procalcitonin in early detection of postoperative complications. *Dig. Surg* 15 (3): 260-5 1998.
15. Robey FA, Jones KD, Steinberg AD: C-reactive protein mediates the solubilization of nuclear DNA by complement in vitro. *J Exp Med* 161, 1344, 1985.
16. Sim JE, March CD, Cosman D, et al. cDNA expression cloning of the IL-1 receptor, a member of the immunoglobulin super-family. *Science* 241, 585-89, 1988.
17. Unten S, Hokama Y. An enzyme immunoassay for C-reactive protein analysis. *J Clin Lab Anal* 1, 136-39, 1987.
18. Vincent JL, Moreno R, Takala J, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction /failure. *Intensive Care Med* 1996; 22:707-710.
19. Members of the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus conference Committee. "American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions for the sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis". *Crit Care Med* 1992; vol.20 N. 6.