

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Utilizarea biomarkerilor în vederea diagnosticării și monitorizării sepsei la pacienții politraumatizați

Doctorand **Sebastian Daniel Trancă**

Conducător de doctorat Prof.dr. **Constantin Ciuce**

CLUJ-NAPOCA 2016



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

ABREVIERI UTILIZATE IN TEXT	12
INTRODUCERE	13
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	15
1. Traumă și sepsis	17
1.1. Nomenclatură/terminologie	18
1.2. Epidemiologia traumei și a sepsisului ca și complicație în evoluția pacienților politraumatizați	20
2. Markerii imunologici ai răspunsului inflamator și sepsisului	21
2.1. Procalcitonina (PCT)	25
2.2. Proteina C reactivă (PCR)	25
2.3. Forma solubilă a Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1)	26
2.4. Forma solubilă a receptorului pentru IL-2 (sIL-2R α)	26
2.5. IL-6 (Interleukina 6)	27
2.6. sCD163	27
3. Evoluția concentrației plasmatice a biomarkerilor inflamatori în timp	28
4. Diagnostic diferențial SIRS versus sepsis	30
5. Evaluarea prognosticului pacienților pe baza valorilor biomarkerilor	32
6. Scorurile fiziologice la pacientul politraumatizat	34
6.1. GCS (Glasgow Coma Scale)	34
6.2. APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II)	35
6.3. SOFA (Sequential Organ Failure Assessment)	36
6.4. ISS (Injury Severity Score)	37
6.5. RTS (Revised Trauma Score)	37
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	39
1. Ipoteza de lucru/obiective	41
2. Studiu 1. Utilizarea scalelor de severitate în vederea diagnosticării precoce a complicațiilor septică la pacientul politraumatizat	43
2.1. Introducere	43
2.2. Ipoteza de lucru/obiective	43
2.3. Material și metodă	43
2.4. Rezultate	45
2.4.1 Analiza valorilor medii la internare a scorurilor de severitate precum și a evoluției în timp a scorului SOFA și a lactatului seric	46
2.4.2 Analiza Kaplan-Meier pentru investigarea rolului predictiv al scorului SOFA	48

2.4.3 Analiza Kaplan-Meier pentru investigarea rolului predictiv al scorului APACHE II	49
2.4.5 Analiza Kaplan-Meier pentru investigarea rolului predictiv al scorului RTS	50
2.4.6 Analiza Kaplan-Meier pentru investigarea rolului predictiv al scorului ISS	51
2.4.7 Analiza Kaplan-Meier pentru investigarea rolului predictiv al scorului GCS	52
2.4.8 Analiza Kaplan-Meier pentru investigarea rolului predictiv a hipotensiunii arteriale în prespital	53
2.4.9 Analiza Kaplan-Meier pentru investigarea rolului predictiv a duratei ventilației mecanice	54
2.5. Discuții	55
2.6. Concluzii	57
3. Studiu 2. Utilizarea Proteinei C reactive (PCR) și a Procalcitoninei (PCT) în vederea diagnosticării precoce a complicațiilor septice la pacientul politraumatizat	59
3.1. Introducere	59
3.2. Ipoteza de lucru	60
3.3. Material și metodă	60
3.4. Rezultate	61
3.4.1. PCT seric la pacienții cu politraumă	61
3.4.2. PCR seric la pacienții cu politraumă	63
3.5. Discuții	66
3.5.1. Valori predictive/prognostice ale PCT și PCR	66
3.5.2. Cinetica PCR	67
3.5.3. Cinetica PCT	67
3.5.4. Aplicațiile clinice ale cineticii PCR și PCT	68
3.5.5. Evoluții pe viitor	68
3.6. Concluzii	69
4. Studiu 3. Utilizarea sTREM-1, sCD163, sIL-2Rα și IL-6 în vederea diagnosticării precoce a complicațiilor septice la pacientul politraumatizat	71
4.1. Introducere	71
4.2. Ipoteza de lucru	72
4.3. Material și metodă	72
4.4. Rezultate	74
4.4.1. Cinetica sTREM-1	74
4.4.2. Cinetica sIL-2R α	76
4.4.3. Cinetica sCD163	76
4.4.4. Cinetica IL-6	77
4.4.5. Analiza Kaplan-Meier pentru investigarea rolului predictiv pentru apariția infecției al sTREM-1, sIL-2R α , sCD163s și IL-6	77
4.6. Discuții	81
4.7. Concluzii	83
5. Concluzii generale	85
6. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	87
REFERINȚE	89
ANEXE	99

CUVINTE CHEIE: traumă, sepsis, kinetică, cytokine, procalcitonină, protein C reactivă, sTREM-1, sIL-2R α , sCD163, IL-6

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Traumatismele, și mai ales politraumatismele, sunt cauze frecvente de morbiditate și mortalitate, la pacienții tineri reprezentând cauza cea mai frecventă de deces. Cauzele imediate, directe de mortalitate în traumă sunt reprezentate de hipoxie, hipovolemie sau leziuni severe ale organelor în primele ore de la traumatism. Răspunsul fiziologic de apărare și limitare a injuriei la nivel local implică activarea celulelor imune, eliberarea unor mediatori pro și antiinflamatori, activarea sistemului coagulării și a complementului pentru menținerea homeostaziei. Precoce, activarea excesivă a acestor mecanisme imunologice fiziologice de apărare în injuriile masive duce la dezvoltarea sindromului de răspuns inflamator sistemic (SIRS). Răspunsul inițial proinflamator este urmat de un răspuns imun antiinflamator care poate să fie urmat de supresie imunologică și de dezvoltarea ulterioară a infecțiilor și sepsisului. Sepsisul reprezintă una dintre cele mai frecvente cauze de mortalitate tardivă după traumatisme.

Markeri imunologici ai răspunsului inflamator și sepsisului

Atât sindromul de răspuns inflamator sistemic, cât și sepsisul, se caracterizează prin activarea celulelor imune (neutrofile, monocite, macrofage, limfocite, celule endoteliale, celule natural killers NK), activarea sistemului de coagulare-fibrinoliză și complement, eliberarea de mediatori cum sunt hormonii de stress (ACTH, cortisol, catecolamine), histamină, kinine, derivați ai acidului arahidonic (leucotrine, prostaglandine și tromboxan), citokine și chemokine, cu eliberarea lor în circulația sistemică și progresia ulterioară înspre disfuncții multiple ale organelor neimplicate inițial în traumă (MODS), cu risc mare de progresie înspre deces.

Dezvoltarea MODS în primele zile de la traumatism se asociază cu sindromul de inflamație sistemică generat de traumă, asociat cu un status proinflamator mediat de limfocitele T helper 1. Apariția MODS după primele zile de la traumatism este asociată cu sepsisul datorat supresiei imunologice prin statusul antiinflamator.

Diferențierea SIRS generat de traumă de sepsis este dificilă, clinic ambele se manifestă prin semne nespecifice cum sunt febra, leucocitoză, tahicardie și tahipnee, rezultatul probelor bacteriologice este definitivat tardiv și diferențierea colonizării de infecție este uneori dificilă.

Evoluția concentrației plasmatice a biomarkerilor inflamatori în timp

Inflamația sistemică inițială din traumă se asociază cu identificarea biomarkerilor în circulația sistemică, fiecare cu un profil diferit de activare, apariție a nivelului maxim plasmatic și a eliminării

lor. Mai multe studii au încercat să cuantifice statusul inflamator după traumatisme și să identifice profilul biomarkerilor.

Diagnostic diferențial SIRS-sepsă

Biomarkerii sunt substanțe care pot să fie detectați și dozați în circulație și care reflectă procesele fiziologice sau patologice ale răspunsului de răspuns inflamator sistemic sau infecției.

Majoritatea markerilor imunologici eliberați în statusul pro și anti-inflamator sunt comuni pentru SIRS și sepsis, dar momentul modificării concentrației lor plasmatică, cu creșterea valorilor prin eliberea lor în circulație sau scăderea concentrației prin consum, împreună cu cinetica diferită ar putea să diferențieze cele două condiții, permițând tratamentul specific fiecăreia.

Depistarea rapidă a sepsisului prin dozarea biomarkerilor ar permite efectuarea rapidă a recoltărilor și a examenelor bacteriologice și începerea tratamentului chirurgical și antibiotic empiric. Evoluția în timp a biomarkerilor ar putea să permită identificare precoce a pacienților cu răspuns favorabil la tratament și pe cei care necesită schimbarea acestuia.

Biomarkerul absolut pentru diagnosticul infecției nu a fost identificat până în prezent, deși peste 3300 studii referitoare la 180 biomarkeri au fost efectuate. Niciunul dintre markeri nu are valoare diagnostică absolută pentru diferențierea sepsisului de SIRS indus de traumă.

Importanța prognostică a unora dintre mediatori a fost studiată. Biomarkerii sunt asociați cu dezvoltarea MODS, sepsisului, mortalitatea și severitatea leziunilor, însă valoarea prognostică este dezbătută.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

Ipoteza de lucru/obiective

- Identificarea precoce a apariției sepsisului la pacienții cu politraumatisme, cu scopul de a optimiza managementul acestei complicații și de a preveni apariția disfuncțiilor și insuficiențelor pluriorganice.
- Predicția apariției sepsisului la pacientul critic politraumatizat internat în secțiile de terapie intensivă.
- Identificarea rolului potențial al fiecărui biomarker pentru utilizarea sa în practica clinică.
- Evaluarea scorurilor APACHE II, SOFA, ISS și RTS , a duratei ventilației mecanice și a hipotensiunii în prespital pentru predicția apariției sepsisului la pacienții politraumatizați.
- Compararea cineticii citokinelor în cazul unui număr mare de pacienți care au suferit multiple traume și care ulterior au dezvoltat sau nu infecții secundare.

Studiul 1. Utilizarea scorurilor de severitate în vederea diagnosticării precoce a complicațiilor septice la pacientul politraumatizat

Premise: Scorurile funcționale sunt utilizate pentru prezicerea mortalității la pacienții politraumatizați. Sepsisul este cauza principală pentru mortalitatea tardivă din traumă și apariția sa este favorizată de supresia imunologică cauzată de dezechilibrele homeostatice.

Obiectiv: Evaluarea scorurilor APACHE II, SOFA, ISS și RTS pentru predicția apariției sepsisului la pacienții politraumatizați.

Metode: Scorurile APACHE II, SOFA, ISS și RTS au fost calculate în primele 24 ore de la injuria traumatică pentru 64 pacienți politraumatizați. Apariția complicațiilor infecțioase a fost urmărită timp de 14 zile. În analiza Kaplan Meier, procentul pacienților care nu a dezvoltat sepsis a fost luat în considerare.

Rezultate: Pentru SOFA, o valoare-prag de 4 puncte a fost identificată: 89% dintre pacienții cu SOFA<4 nu au dezvoltat infecții, în timp ce 37% dintre pacienții cu SOFA>4 nu au dezvoltat infecții

($p < 0.01$). Nici un pacient cu APACHE II ≤ 5 nu a prezentat sepsis. Dintre pacienții cu APACHE II între 5 și 10 puncte, 84% nu au dezvoltat sepsis, dar dintre pacienții cu APACHE II ≥ 11 , numai 49% nu au dezvoltat sepsis ($p < 0.01$). Pentru RTS am identificat o valoare-prag de 7 puncte: 88% dintre pacienții cu RTS ≥ 7 și 43% dintre cei cu RTS < 7 nu au prezentat infecții ($p < 0.01$). Dintre pacienții cu ISS < 22 , 88% nu au dezvoltat sepsis, iar dintre cei cu ISS ≥ 22 , 56% nu au dezvoltat sepsis ($p < 0.01$).

Concluzie: Scorurile funcționale de severitate APACHE II, SOFA, ISS și RTS prezic nu numai mortalitatea, dar și riscul de apariție al sepsisului la pacienții politraumatizați.

Studiul 2. Utilizarea Proteinei C reactive (PCR) și a Procalcitoninei (PCT) în vederea diagnosticării precoce a complicațiilor septice la pacientul politraumatizat

Premise: Diferențierea sindromului inflamator sistemic (SIRS) de complicațiile septice la pacienții cu politraumatism este dificilă. Utilizarea unui marker inflamator ideal ar fi utilă pentru stabilirea diagnosticului precoce.

Obiective: compararea profilului kinetic al procalcitoninei (PCT) și proteinei C reactive (CRP), dar și a valorii lor predictive și discriminative, pentru un număr mare de pacienți cu politraumatizați care au dezvoltat sau nu complicații infecțioase, și evidențierea aplicațiilor clinice ale profilului kinetic al acestor citokine.

Metodă: 65 pacienți politraumatizați internați în secția de terapie intensivă au fost incluși prospectiv. Au fost monitorizate apariția SIRS și a complicațiilor septice. Concentrațiile serice ale PCT și CRP au fost dozate la internare și în zilele 1,2,3,4,5,7,10 și 14 după injuria traumatică. În grupul T am inclus pacienți cu traumă multiplă care nu au dezvoltat complicații infecțioase, iar în grupul T&S am inclus pacienți politraumatizați care au dezvoltat complicații septice.

Rezultate și concluzii: Concentrațiile serice ale PCT și CRP au prezentat o creștere inițială în primele 48 ore de la internare, fiind asociate cu SIRS la ambele loturi de pacienți, dar valorile lor nu diferențiază pacienții care dezvoltă complicații infecțioase de cei care nu prezintă sepsis. Concentrațiile CRP diferențiază pacienții din cele două grupuri cu 48 ore înaintea PCT (în zilele 5 și 7, test U Mann-Whitney, $p < 0.05$), cu aplicabilitate în detectarea precoce a fenomenelor septice. După creșterea inițială, valorile CRP s-au menținut în platou, astfel încât CRP nu se poate utiliza pentru

diagnosticul complicațiilor infecțioase recurente. Concentrația serică , de la internare, a PCT de 1,5 ng/dL a discriminat cele două loturi de pacienți politraumatizați, cei cu valori mai mari având o rată mai mare a infecțiilor față de cei cu valori de sub 1,5 ng/dL ($p=0,02$). Pentru PCR nu am identificat o valoare prag semnificativ statistic care să discrimineze cele două loturi de pacienți. PCT a prezentat o kinetică mai rapidă și concentrațiile serice au prezentat o scădere rapidă după atingerea valorilor maxime la pacienții cu sepsis, ceea ce permite monitorizarea eficienței terapiei antibiotice și identificarea complicațiilor infecțioase recurente la pacienții politraumatizați.

Studiul 3. Utilizarea sTREM-1, sCD163, sIL-2R α și IL-6 în vederea diagnosticării precoce a complicațiilor septice la pacientul politraumatizat

Premise: Investigarea valorii predictive a biomarkerilor sTREM-1, sIL-2R α , sCD163, și IL-6 pentru apariția complicațiilor infecțioase la pacienții politraumatizați prin efectuarea unui studiu prospectiv observațional într-o secție de terapie intensivă chirurgicală.

Metodă: Am inclus în studiu 64 pacienți politraumatizați. Probele de sânge au fost recoltate la internare, la 24 și 48 de ore de la traumatism. Am investigat prospectiv apariția complicațiilor infecțioase. Am luat în considerare procentul de pacienți care nu au dezvoltat complicații infecțioase în primele 14 zile de la internare în analiza Kaplan Meier.

Rezultate: Valoarea-prag identificată pentru sTREM-1 a fost de 62 pg/mL: procentul pacienților care nu au dezvoltat sepsis a fost semnificativ diferit la pacienții cu valori mai mici sau mai mari comparative cu această valoare-prag (80% versus 48%, $p<0,01$). Dintre pacienții cu sIL-2R $\alpha \geq 1593$ pg/mL, 86% nu au dezvoltat infecții, pentru valori ale sIL-2R α între 946-1593 pg/mL procentul de pacienți care nu au avut complicații infecțioase a fost de 68%, în timp ce dintre pacienții cu sIL-2R $\alpha < 945$ pg/mL numai 40% nu au avut complicații infecțioase ($p=0,05$). Valoarea-prag pentru sCD163 a fost de 1000 ng/mL, dar această valoare nu a diferențiat pacienții (76% versus 64%, $p=0,28$). Pentru IL-6, procentul pacienților care au avut complicații septic a fost semnificativ diferit pentru pacienții cu valori mai mici sau mai mari decât valoarea-prag identificată, de 400 pg/mL (78% versus 38%, $p<0,01$).

Concluzii: sTREM-1, sIL-2R α , și IL-6, dar nu și CD163, pot să fie utilizați ca și markeri de prognostic pentru apariția sepsisului la pacienții politraumatizați.

Concluzii generale

- Scorurile funcționale de severitate APACHE II, SOFA, ISS și RTS prezic nu numai mortalitatea, dar și riscul de apariție al sepsisului la pacienții politraumatizați.
- Totodata pacienții cu hipotensiune în prespital (TAS sub 90 mmHg) precum și pacienții intubați și ventilați mecanic cu o durată de peste 3 zile fac mai frecvent complicații septice.
- Nu s-au înregistrat diferențe semnificative statistic între concentrațiile lactatului seric, din ziua internării, la cele două loturi de pacienți.
- Nivelurile concentrațiilor medii ale PCT și PCR au crescut în primele 48 ore după un eveniment traumatic sever, creșterea fiind caracteristică pentru ambele grupe de pacienți, cei cu traumă care au dezvoltat sepsă și cei care nu au suferit asemenea complicații.
- Concentrația serică, de la internare, a PCT de 1,5 ng/dL a discriminat cele două loturi de pacienți politraumatizați, cei cu valori mai mari având o rată mai mare a infecțiilor față de cei cu valori de sub 1,5 ng/dL ($p=0,02$). Pentru PCR nu am identificat o valoare prag semnificativ statistic care să discrimineze cele două loturi de pacienți.
- După creșterea inițială, valorile PCR s-au menținut în platou în primele 14 zile după internare. Datorită clearance-ului lent, PCR nu poate fi folosit pentru identificarea sepsii apărute mai târziu sau al infecțiilor severe recurente la pacienții cu traumă.
- PCT a arătat o cinetică plasmatică mai rapidă și valorile au avut tendința de a scădea rapid după ce atingeau vârful în cazul pacienților septici. Cinetica rapidă a PCT permite atât monitorizarea tratamentului antibiotic cât și identificarea infecțiilor ulterior recurente în cazul pacienților cu politraumă.
- Suprapunerea mare a valorilor sTREM, sCD163, sIL-2R α și IL-6 în cazul pacienților cu sau fără progresie spre sepsă poate fi rezultatul heterogenității răspunsului inflamator.
- În cazul pacienților noștri, nu au fost diferențe semnificative între valorile medii ale sTREM, sCD163 și IL-6 la pacienții care au dezvoltat sepsă pe durata studiului și cei care nu, sugerând că reglarea creșterii a fost indusă de SIRS în ambele grupe în mod similar. În schimb, valorile medii inițiale ale sIL-2R α au diferențiat între pacienții care au dezvoltat sepsă și cei care nu au avut asemenea complicații.
- Valorile inițiale ale sTREM, sIL-2R α , și IL-6, dar nu și sCD163, pot fi folosite ca markeri prognostici pentru apariția sepsii la pacienții cu politraumă.
- Am observat că, cu cât valorile concentrațiilor serice ale sTREM și IL-6 au fost mai crescute, cu atât mai crescută era și rata infecțiilor apărute.

-
- Valorile sIL-2R α pot fi corelate invers cu rata de infecții și subliniază starea de disfuncție a celulelor T și paralizia imună în cazul pacienților cu leziuni severe care dezvoltă sepsă, ceea ce poate duce la urmări de morbiditate secundare sepsei și mortalitate.

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ SI FARMACIE "IULIU HATIEGANU" CLUJ-NAPOCA

SUMMARY OF THE PhD THESIS

Biomarkers-based diagnosis and monitoring of sepsis in multiple trauma patients

PhD Student **Sebastian Daniel Trancă**

Scientific coordinator Prof.dr. **Constantin Ciuce**

CLUJ-NAPOCA 2016



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

Contents

ABBREVIATIONS	12
INTRODUCTION.....	13
CURRENT STATE OF KNOWLEDGE.....	15
1. Trauma and sepsis.....	17
1.1. Terminology.....	18
1.2. The epidemiology of trauma and septic complications in multiple trauma patients ..	20
2. Immune markers of inflammatory responses and sepsis.....	21
2.1. Procalcitonin (PCT)	25
2.2. C reactive protein (CRP).....	25
2.3. The soluble form of the Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1)	26
2.4. The soluble form of the receptor for IL-2 (sIL-2R α)	26
2.5. IL-6 (Interleukine 6)	27
2.6. sCD163	27
3. Biomarkers' kinetics	28
4. Differential diagnosis sepsis versus SIRS	30
5. The evolution of biomarkers in time	32
6. Severity scores for multiple trauma patients	34
6.1. GCS (Glasgow Coma Scale).....	34
6.2. APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II).....	35
6.3. SOFA (Sequential Organ Failure Assessment)	36
6.4. ISS (Injury Severity Score)	37
6.5. RTS Revised Trauma Score	37
PERSONAL CONTRIBUTION	39
1. Objectives.....	41
2. Study 1. The use of severity scores for the early detection of infectious complications in multiple trauma patients	43
2.1. Introduction.....	43
2.2. Objectives	43
2.3. Methods	43
2.4. Results.....	45
2.4.1 The analysis of mean severity scores at admission and the evolution of SOFA and lactate concentrations in time	46
2.4.2 Kaplan-Meier analysis for SOFA	48
2.4.3 Kaplan-Meier analysis for APACHE II.....	49
2.4.5 Kaplan-Meier analysis for RTS	50
2.4.6 Kaplan-Meier analysis for ISS.....	51

2.4.7 Kaplan-Meier analysis for GCS	52
2.4.8 Kaplan-Meier analysis for prehospital hypotension	53
2.4.9 Kaplan-Meier analysis for the duration of mechanical ventilation	54
2.5. Discussion	55
2.6. Conclusion.....	57
3. Study 2. The use of C reactive protein (CRP) and procalcitonin (PCT) for the early identification of infections in multiple trauma patients.....	59
3.1. Introduction	59
3.2. Objectives.....	60
3.3. Methods.....	60
3.4. Resultate.....	61
3.4.1. PCT concentrations in time in multiple trauma patients	61
3.4.2. PCR concentrations in time in multiple trauma patients	63
3.5. Discussion	66
3.5.1. Predictive roles of PCT and CRP	66
3.5.2. CRP kinetics.....	67
3.5.3. PCT kinetics	67
3.5.4. Clinical relevance of CRP and PCT use.....	68
3.5.5. Future directions.....	68
3.6. Conclusions	69
4. Study 3. The use of sTREM-1, sCD163, sIL-2Rα, and IL-6 for the early detection of sepsis in multiple trauma patients.....	71
4.1. Introduction	71
4.2. Objectives.....	72
4.3. Methods.....	72
4.4. Results	74
4.4.1. sTREM-1 kinetics	74
4.4.2. sIL-2R α kinetics	76
4.4.3. sCD163 kinetics	76
4.4.4. IL-6 kinetics	77
4.4.5. Kaplan-Meier analysis for sTREM-1, sIL-2R α , sCD163s, and IL-6	77
4.6. Discussion	81
4.7. Conclusions	83
5. General conclusions	85
6. Originality of the thesis	87
REFERENCES	89
SUPPLEMENTARY MATERIAL.....	99

CURRENT STATE OF KNOWLEDGE

Multiple trauma is a significant cause for morbidity and mortality, being the most frequent cause for death in young patients. Hypoxia, hypovolemia and severe organ injuries represent immediate, direct causes for trauma mortality in the first few hours after injury. Homeostatic physiologic responses that try to limit the injury imply the activation of immune cells' function, the local and systemic release of pro and anti-inflammatory mediators, the activation of the coagulation cascade and the complement systems.

Early after extensive trauma, the excessive activation of these immunologic responses leads to the development of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). The initial proinflammatory response is followed by the anti-inflammatory response syndrome, which implies immune suppression and a high risk towards the development of severe infection and sepsis. Late after trauma, **sepsis** represents the most frequent cause of death.

Sepsis and systemic inflammation immune biomarkers

The systemic inflammatory syndrome, as well as sepsis, imply the activation of immune cells' function (neutrophils, monocytes, macrophages, lymphocytes, endothelial cells, natural killer cells), the activation of the coagulation cascade and the fibrinolytic systems, the synthesis of mediators like stress hormones (ACTH, cortisol, catecholamine), histamine, kinins, arachidonic acid derivatives (leucotrienes, prostaglandins and thromboxane), cytokines and chemokines, followed by the systemic release and the subsequent progression towards multiple organ dysfunction syndrome (MODS), with a high lethal risk. In the first days after trauma, MODS development is associated with systemic inflammatory response syndrome which is associated with a proinflammatory state mediated by T helper 1 lymphocytes.

Several days after trauma, MODS development is associated to sepsis due to immune suppression induced by the anti-inflammatory immune response mediated by T helper 2 lymphocytes. SIRS and sepsis differential diagnosis is difficult, both being clinically expressed through nonspecific signs like fever, leukocytosis, tachycardia, tachypnea, bacteriologic results are often late and it is frequently difficult to differentiate colonization from infection.

Inflammatory biomarkers kinetics

The initial systemic inflammatory response in trauma is associated with the identification of systemic circulating biomarkers, each having a different activation profile, different times for the peak

effects and different clearance rates. The quantification of the inflammatory status through the identification of inflammation mediators has been tried in several studies.

SIRS-sepsis differential diagnosis

Biomarkers are substances that can be determined in the systemic circulation and their plasma concentrations dosing reflects physiological or pathological states like systemic inflammatory response syndrome and sepsis.

The great majority of immune biomarkers released in pro and anti-inflammatory states belong to both SIRS and sepsis, but their different plasma profiles with changes in concentrations after systemic release or plasma clearance and their different kinetics could potentially differentiate between the two conditions and make room for their specific treatments.

Early detection of sepsis by biomarkers dosage would draw attention towards bacteriological sampling and the commencement of empiric antibiotic treatment. Biomarkers' concentration dosing could identify the patients with a favorable response to treatment and those who need treatment changes.

None of the available biomarkers has absolute diagnostic value for multiple trauma-induced SIRS or the associated sepsis, although over 180 biomarkers have been investigated in over 3300 studies.

The prognostic value of some of the biomarkers has been addressed.. The concentrations of the biomarkers are associated with injury severity, the progression towards MODS and sepsis, though their prognostic value is still debatable.

PERSONAL CONTRIBUTION

Objectives

- Improving the early identification of sepsis in multiple trauma patients
- improving the management of septic complications and preventing the occurrence of multiple organ dysfunction syndrome in multiple trauma patients
- Early identification of the multiple trauma patients who present high risks for sepsis while being in the ICU.
- Describing the role of each biomarker in clinical practice..
- Evaluation of APACHE II, SOFA, ISS, and RTS scores, the duration of mechanical ventilation, and hypotension, as well as other clinical parameters in predicting the sepsis occurrence in multiple trauma patients.
- Comparing biomarkers' kinetics for a large number of multiple trauma patients who developed infections.

Study 1. The utility of functional composite severity scores for the early diagnosis of sepsis in multiple trauma patients

Background: Physiological composite scores are used to predict mortality in multiple trauma patients. Sepsis is the leading cause for late mortality in trauma victims and is favored by the immune suppression due to homeostasis dysregulation.

Objective: To determine whether APACHE II, SOFA, ISS and RTS predict the occurrence of sepsis in multiple trauma patients.

Methods: APACHE II, SOFA, ISS and RTS were calculated for the first 24 hours after the injury for 64 adult polytrauma patients. The occurrence of infectious complications was investigated for 14 days. The infection-free rates for the multiple trauma patients were considered as end-points in the Kaplan Meier plot analysis.

Results: For SOFA, a cutoff score of 4 points was identified to predict the occurrence of sepsis, with 89% of the patients with $SOFA < 4$ being infection-free, while 37% of those with $SOFA > 4$ were infection-free ($p < 0.01$). None of the patients with $APACHE II \leq 5$ points developed infections. From the patients with APACHE II scores 5-10, 84% did not develop sepsis, while from those having APACHE $II \geq 11$, only 49% were infection-free ($p < 0.01$). For the RTS, we identified a cutoff of 7 points to be

most discriminative: 88% of the patients with $RTS \geq 7$ and 43% of those with $RTS < 7$ were free from infections ($p < 0.01$). From the patients with $ISS < 22$ 88% did not develop sepsis, while from those with $ISS \geq 22$ 56% did not develop sepsis ($p < 0.01$).

Conclusion: The functional severity scores APACHE II, SOFA, ISS and RTS predict not only mortality, but also the occurrence of sepsis in multiple trauma patients.

Study 2. The utility of C-reactive protein (CRP) and procalcitonin (PCT) for the early identification of septic complications in the multiple trauma patients

Background: To discriminate between the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the septic complications in multiple trauma patients is not always straightforward. The use of an ideal inflammatory biomarker would be invaluable for the early diagnostic of septic complications.

Aims: to compare procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) kinetics, as well as their predictive and discriminative values, in a large number of patients suffering multiple trauma who develop or not subsequent secondary infections, and to highlight the best clinical applications of the described cytokines' kinetics.

Methods: 65 multiple trauma patients admitted to the Intensive Care Unit were prospectively included. The complications investigated were the occurrence of SIRS or septic complications. PCT and CRP values were determined upon admission, and in days 1,2,3,4,5,7,10 and 14 after the traumatic injury. Group T included patients with multiple trauma who did not develop sepsis, while group T&S included patients with multiple trauma who developed septic complications.

Results and conclusions: PCT and CRP serum concentrations increased in the first 48 hours, being associated with the initial SIRS in both groups, but their values did not discriminate between those who developed septic complications and those who did not. CRP discriminated 48 hours earlier (days 5 and 7, U Mann-Whitney test, $p < 0.05$) the patients in T and T&S groups, compared to PCT and might be more valuable in the early diagnosis of sepsis. After the initial increase, CRP values maintained a plateau. Therefore, CRP cannot be used for the identification of recurrent infections. PCT displayed a more rapid plasma kinetics and the values showed a decreasing tendency soon after reaching peak values in septic patients, which allow for both antibiotic treatment monitoring and the identification of subsequent recurrent infections in multiple trauma patients.

Study 3. The utility of sTREM-1, sCD163, sIL-2R α and IL-6 for the early diagnosis of sepsis in multiple trauma patients

Background: To investigate whether sTREM-1, sIL-2R α , sCD163, and IL-6 predict infectious complications following polytrauma. Prospective observational study in a university hospital intensive care unit.

Methods: Blood samples were drawn on admission, 24 and 48 hours after the injury from 64 adult polytrauma patients. The occurrence of infectious complications was investigated. The infection-free rates for the multiple trauma patients were considered as end-points in the Kaplan Meier plot analysis.

Results: sTREM-1 cutoff was 62 pg/mL: the infection-free rates differed significantly between the patients with sTREM-1 concentrations lower and higher than the cutoff (80% versus 48%, $p < 0.01$). From the patients with serum sIL-2R $\alpha \geq 1593$ pg/mL, 86% did not present infections, for sIL-2R α values in the range 946-1593 pg/mL the infection-free rate was 68%, while from the patients with sIL-2R $\alpha < 945$ pg/mL only 40% remained infection-free ($p = 0.05$). sCD163 cutoff of 1000 ng/mL did not discriminate between the patients (76% versus 64%, $p = 0.28$). For IL-6, the infection free rates differed significantly between the patients with concentrations lower and higher than 400 pg/mL (78% versus 38%, $p < 0.01$).

Conclusions: sTREM-1, sIL-2R α , and IL-6, but not CD163, may be used as prognostic markers for the occurrence of sepsis in multiple trauma patients.

General conclusions

- The functional scores APACHE II, SOFA, ISS, and RTS may predict not only mortality rates in multiple trauma patients, but also the risk for sepsis occurrence.
- Multiple trauma patients presenting prehospital hypotension (systolic blood pressure below 90mmHg), and those intubated and mechanically ventilated for more than 3 days, had a higher risk to develop infections in the first 14 days after the traumatic event.
- We found no differences for lactate concentrations between the two studied groups.
- The serum concentrations of PCT and CRP presented an increase in the first 48 hours after the traumatic event, for both groups of the studied patients: those who did and those who did not develop infectious complications.
- The serum concentration of PCT at admission (mean value 1,5 ng/dL) discriminated best the two patients' categories. Those who had PCT above 1,5 ng/dL had higher risks to develop sepsis compared to those with values lower than this threshold ($p=0,02$). For CRP, we did not identify a specific threshold to allow good prediction.
- After the initial rise, CRP values maintained a plateau for the first 14 days after the severe traumatic event. Due to slow clearance, CRP cannot be used to diagnose other secondary infections (the recurrence of infectious complications).
- PCT demonstrated a faster plasma clearance and its values tended to become lower faster than those of CRP. The rapid kinetics of PCT allow its use as a marker for subsequent repeated infections in multiple trauma patients.
- The wide overlap of sTREM, sCD163, sIL-2R α , and IL-6 values for the patients who developed sepsis and those who did not, which might be an expression of the heterogeneity in the inflammatory response in individual patients.
- In our patients, we did not observe significant differences between the mean values of sTREM, sCD163, and IL-6 in the two groups of patients, suggesting that the initial rise was similarly induced by SIRS in both groups. On the other hand, the patients who presented sepsis during the study period were differentiated by the initial mean values of sIL-2R α from those who did not present sepsis.
- The initial serum concentrations of sTREM, sIL-2R α , and IL-6, but not sCD163, may be used as prognostic markers for the occurrence of sepsis in multiple trauma patients.
- We observed that the higher initial sTREM and IL-6 values, the higher the risk of infectious complications.

-
- The serum concentrations of sIL-2R α correlate inversely with infections' rates and highlight T cell dysfunction, as well as immune paralysis in multiple trauma patients who progress to sepsis, these being the causes for late secondary morbidity and mortality.