بیومارکرهای سپسیس؛ رویکردی تازه در تشخیص و پیگیری درمان بیماری های عفونی

• نازیلا بهمئی

دانشجوی کارشناسی ارشد ناپیوسته میکروب شناسی پزشکی دپارتمان میکروب شناسی و ویروس شناسی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زنجان

nazila69bahmaie@zums.ac.ir

• دکتر عبدالرضا اسماعیل زاده

استادیار ایمونولوژی، دپارتمان ایمونولوژی و مرکز تحقیقات ژن درمانی سرطان، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

a46reza@zums.ac.ir

چکیده

سابقه و هدف: سپسیس، پاسخ التهابی سیستمیک میزبان به عفونت، پس از تهاجم پاتوژن های میکروبی به جریان خون است که به دنبال خود، سرکوب ایمنی منجر شونده به عدم عملکرد چندین ارگان و حساسیت به عفونت های بیمارستانی را در پی دارد. پاتوژنز سپسیس پیچیده است و مکانیسم آن هنوز به طور کامل شفاف سازی نشده است. علاوه بر آن، پیچیدگی تظاهرات بالینی، بروز مقاومت آنتی بیوتیکی و نهایتا ازمان بیماری، محققان را به سمت یافتن جهت های جدید در این زمینه سوق داده است. بنابراین جستجو برای استفاده از بیومارکرهای سپسیس می تواند در جهت شناسایی بیماران، ارزیابی پاسخ به درمان، متمایز کردن سپسیس سیستمیک از موضعی و حتی کمک به متخصصان بالینی در افتراق بیماران سپسیس از بیماران دارای SIRS غیرعفونی، مفید باشد.

روش جستجو: این مطالعه یک مطالعه مروری نظام‌مند است که اطلاعات آن از پایگاه های اطلاعاتی PubMed, Scopus, Science Direct, EMBASE databases به دست آمده اند. داده ها با استفاده از ۵ کلیدواژه شامل (بیومارکر، تشخیص، بیماری های عفونی، سپسیس، درمان) و نهایتا ماحصل ۵۰ مقاله از سال ۱۹۹۹ تا ۲۰۱۵ می باشند.

نتایج و یافته ها: اگرچه امروزه CRP متداول ترین بیومارکر استفاده شده در شناسایی سپسیس است، اما سایر مارکرها مثل سایتوکاین های پیش التهابی و کموکاین ها، پروتئین هایی مثل پروکلسی تونین، مارکرهای سطحی مونوسیت ها و لنفوسیت ها، مارکرهای فاز فلج ایمنی مثل سایتوکاین های ضدالتهابی، HBP , PSP هم می توانند به شناسایی سپسیس حاد قبل از عدم عملکرد ارگان و کاهش میزان مرگ و میر مرتبط با آن کمک کنند.

بحث و نتیجه گیری: سپسیس به عنوان مهم ترین عامل مرگ و میر در میان بیماران با وضعیت بحرانی در کشورهای توسعه یافته و از عمده ترین علل مرگ و میر بیماران بستری در بیمارستان، علیرغم در دسترس بودن آنتی بیوتیک های بالقوه و درمان های پیشرفته پزشکی به شمار می رود. این موضوع، محققان را بر آن می دارد تا مارکرهای بیولوژیکی را به صورت بالینی به عنوان ابزار تشخیصی و پیشگیرانه در مراقبت‌های ویژه در جهت بهبود پیامد های حاصل از عفونت استفاده کنند.

واژگان کلیدی: بیماری های عفونی، بیومارکر، پیگیری، تشخیص، درمان، سپسیس

مقدمه

سپسیس[1]، تهاجم پاتوژن های میکروبی یا محصولات آن‌ها همانند توکسین ها به جریان خون است که مشخصه آن به صورت پاسخ التهابی سیستمیک به عفونت بروز می کند. سپسیس، علیرغم وجود آنتی بیوتیک تراپی و درمان‌های حمایتی به عنوان متداول ترین علت برای اکثر بیماری های عفونی و مرگ و میر در میان بیماران با وضعیت بحرانی در کشورهای توسعه یافته به ویژه بیماران بستری در بیمارستان (۳۰ تا ۵۰ درصد) به شمار می رود (۱-٤).

پاتوژنز سپسیس پیچیده است و مکانیسم آن هنوز به طور کامل شفاف سازی نشده است (۳، ۵).

سپسیس، نتیجه زنجیره پیچیده ای از وقایعی است که در برگیرنده پاسخ های ایمنی ذاتی و اکتسابی، فعال شدن سیستم کمپلمان، آبشار انعقادی و سیستم اندوتلیال رگی هستند. چنین پیچیدگی هایی، یافتن روش هایی برای مورد هدف قرار دادن یک اتفاق ایمونولوژیکی در جهت بهبود پیامدهای سپسیس را دشوارتر می نماید. علاوه بر آن پاسخ‌های ایمنی، مرتبط با فاکتورهای میزبانی مثل: سن، جنس، بیماری‌های زمینه ای (سندروم نقص ایمنی اکتسابی)، ابتلا به سرطان و بیماری های مزمن ریوی، مصرف داروهای سرکوب گر ایمنی، وضعیت تغذیه، فاکتورهای ژنتیکی و حتی فاکتورهای پاتوژنیک مثل: غلظت و ویرولانس عامل مهاجم، می باشند. به همین دلیل بعضی از روش های درمانی الحاقی با نتایج ناامیدکننده‌ای مواجه می شوند (٤).

تاکنون، تلاش های بسیاری با هدف بهبود تصمیم‌گیری‌های پزشکی و افزایش حساسیت و اختصاصیت تست‌های آزمایشگاهی صورت گرفته است. بسیاری از مطالعات روی تب[2]، تاکی کاردی[3]، لکوسیتوز[4]، سرعت رسوب اریتروسیت[5]، پروتئین های فاز حاد[6] و سایر اختلالات در علایم حیاتی برای کمک به الگوریتم تشخیصی صورت گرفته است که متاسفانه به دلیل همپوشانی با تظاهرات بالینی مرتبط با التهاب سیستمیک غیرعفونی، فاقد اختصاصیت هستند (۱).

علاوه بر آن، در اثر به کاربردن درمان های ایمونولوژیک متنوع تست شده در بررسی های کلینیکی، تاکنون توافقی روی مکانیسم ایمونولوژیک سپسیس وجود ندارد (۳، ۵)

از سویی دیگر، سیر تکامل میکروبی و ماهیت در حال تغییر بروز بیماری های عفونی، بیانگر تهدید مهمی در قرن حاضر است. گسترش داروهای ضد میکروبی، صرفا در کاهش شیوع مرگ و میر حاصل از عفونت های مرتبط موفق بوده است. هر چند، افزایش روز افزون و مداوم و مصرف بی رویه این داروهای ضد میکروبی، منجر به ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی شده و این موضوع، تبدیل به یکی از معضلات مهم علم پزشکی شده است. عدم معرفی کلاس جدیدی از آنتی بیوتیک‌ها به عرصه بالینی، در طی بیست سال گذشته نگران کننده بوده است. بنابراین، در عصر حاضر روش هایی مازاد بر درمان های امروزی مورد نیاز است (۵).

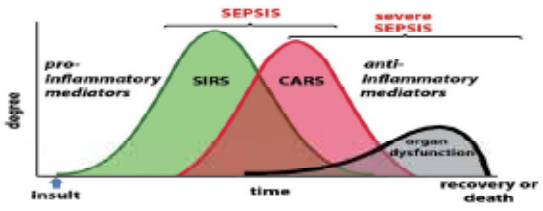
مواردی که تاکنون بحث شد، همه موید ضرورت شناسایی به موقع و صحیح سپسیس اند؛ بنابراین درک بهتر از ایمونوپاتوفیزیولوژی سپسیس و یافتن بیومارکرهای مناسب می تواند ما را به سمت روش های تشخیصی دقیق تر و متعاقبا روش های درمانی پیشرفته و مدیریت سپسیس هدایت کند (۱، ٤).

ایمونوپاتوفیزیولوژی سپسیس

در واقع سپسیس زمانی بروز می کند که پاسخ ابتدایی و اولیه میزبان به یک عفونت تقویت شده و در نهایت از تنظیم خارج می شود. این امر منجر به عدم تعادل بین پاسخ های پیش برنده التهابی و پاسخ های ضد التهابی می‌شود (٦، ۷).

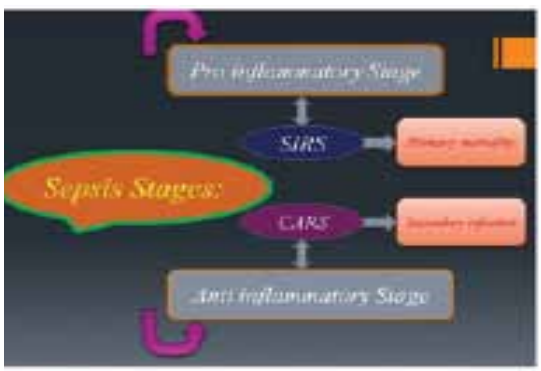
1- Sepsis
2- Fever
3- Tachycardia
4- Leukocytosis
5- Erythrocyte Sedimentation Rate
6- Acute Phase Protein

شـــایان ذکر اســـت که با بیان تئوری مبتنی بـــر نقش میزبان، ابتدا فرض بر این بود که علایم بالینی سپســـیس، به دلیل وقوع مکرر التهاب است. اما بعدها این ایده که سندروم پاسخ التهابی سیســـتمیک[1] اولیـــه، متعاقبا راه را برای ســـندروم پاســـخ های ضدالتهابی جبرانی[2] باز می کند، قدرت گرفت (شکل ۱)(۸، ۹).

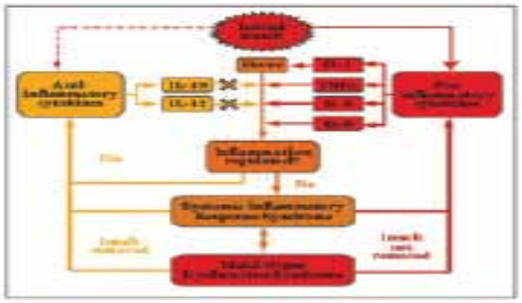


شکل ۱- یک الگوی جایگزین برای پیشرفت سپسیس به سمت سپسیس حاد

به صورت کلی تفکر بر این است که عکس العمل های التهابی در جهت حذف پاتوژن ها، مســـئول آســـیب بافتی موازی و همگام با این واکنش ها در سپسیس حاد است و پاســـخ های ضد التهابی، دلالت بر حساسیت افزایش یافته نســـبت به عفونت های ثانویه و بیمارستانی[3] دارند (شکل ۲) (۹). پس بالانس بین اثر این دو نوع ســـایتوکاین، تعیین کننده حساسیت و پیامد[4] یک بیماری است (شکل ۳) (۹).

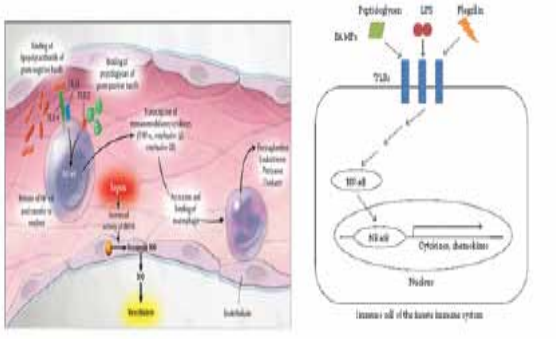


شکل ۲- مراحل سپسیس



شکل ۳- تعادل بین سایتوکاین های پیش التهابی و ضد التهابی

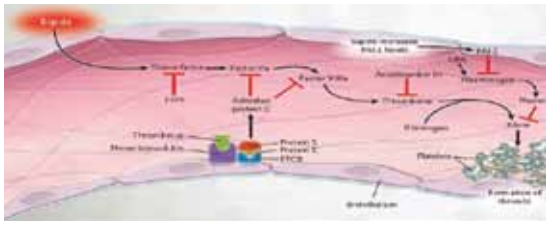
سیستم ایمنی ذاتی، میکرو ارگانیسم های مهاجم را از طریق برهم کنش "رسپتورهای شناســـایی کننده پاتوژن (PRR)[5] " و " الگوهـــای مولکولی مرتبط با پاتوژن (PAMP)[6]" شناســـایی می‌کند. تا کنون، ٤ دســـته از این رسپتورها شناخته شده اند (۳، ۹-۱۱). تحریک خانواده مشخصی از این رسپتورها به نام TLR و شناسایی مولکول های اندوژن آزاد شده از سلول آسیب دیده (DAMP)[7] توسط دیگر رسپتورها، منجر به راه اندازی آبشار ســـیگنالینگ پایین دستی از جمله افزایش بیان نسخه برداری از ژن های التهابی و شروع پاسخ های ایمنی ذاتی می شود (۹). در ادامه، فعال شدن پاسخ نسخه برداری از NF_κβ منجر به تولید و ترشـــح ســـایتوکاین‌ها، کموکاین‌ها و نیتریک اکسید می شود (شکل ٤) (٦، ۹، ۱۲).



شکل ٤- نمایی بسیار ساده از شروع پاسخ ایمنی پس از عفونت و پاسخ التهابی به سپسیس

1- Systemic Inflammatory Response Syndrome
2- Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome
3- Secondary nosocomial infections
4- Outcome
5- Pathogen Recognition Receptor
6- Pathogen Associated Molecular Pattern
7- Damage Associated Molecular Patterns

در این شرایط لیپوپلی ساکارید و TNFα، موجب کاهش فعالیت پروتئین C و نهایتا موجب مهار فیبرینولیز و افزایش بروز مارکرهای DIC [1] و بروز اختلالات در عملکرد ارگان می شوند (شکل ۵)(۷).



شکل ۵- بروز اختلالات انعقادی در سپسیس

اگرچه که دو فاز SIRS و CARS با درجات چشمگیری از همزمانی [2] (و نه الزاما با بازه های زمانی مشابه) پیشرفت می کنند (شکل ۱)، اما متداولا فلج ایمنی [3] سیستمیک، غالب می شود. پاسخ ایمنی در بیماران سپسیس، متشکل از پاسخ سیستمیک فوق التهابی و حالت فلج ایمنی است که در مرحله التهابی با افزایش TNFα، MIF [4] و HMGB1 [5] همراه است و در مرحله ضد التهابی، شاهد اتفاقات زیر هستیم:

- افزایش تولید سایتوکاین های , IL-4,10,11,13 TGFβ ,GM-CSF, G-CSF , IL-1ra , sTNFαr
- آپوپتوز سلول های سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی
- آنرژی لنفوسیت های T و غیر فعال شدن مونوسیت ها
- افزایش سلول های تنظیمی و مولکول های کمک تحریکی منفی [6]
- کاهش مولکول های کمک تحریکی مثبت و بیان HLA-DR روی مونوسیت
- شیفت پاسخ ایمنی از TH1 به TH2(۱۳).

روش جستجو

این یک مطالعه مروری نظام مند است که اطلاعات آن از پایگاه های اطلاعاتی PubMed, Scopus, Science Direct, EMBASE databases به دست آمده اند. داده‌ها با استفاده از ۵ کلیدواژه شامل (بیومارکر، تشخیص، بیماری‌های عفونی، سپسیس، درمان) و نهایتا ماحصل ۵۰ مقاله از سال ۱۹۹۹ تا ۲۰۱۵ می باشند.

بیومارکرهای سپسیس

شناسایی و تشخیص صحیح و به موقع سپسیس، امروزه به عنوان یک چالش باقی مانده است. در حالی که در سایر زمینه‌های پزشکی، بیومارکرهای تشخیصی همچون دی دایمرهای آمبولی ریوی، پپتیدهای ناتریورتیک برای نارسایی قلبی حاد و تروپونین برای آنفارکتوس میوکارد، با موفقیت استفاده شده‌اند، متدهای امروزی تشخیصی برای سپسیس، در کلینیک و آزمایشگاه به صورت غیر اختصاصی اند. مشکل اصلی، احتمال مشابهت فنوتیپ کلینیکی بیمار دارای سپسیس با بیمار دارای التهاب غیرعفونی (شرایط پانکراتیت، تروما، سوختگی و...) است. بیش از ۱۷۰ بیومارکر تاکنون برای ارزیابی سپسیس مورد مطالعه قرار گرفته اند. بیومارکرهای مورد استفاده در کلینیک، بایستی ویژگی های خاصی داشته باشندکه از جمله آن ها به موارد زیر در جدول شماره ۱ اشاره شده است (٤، ١٤-١٧):

1- Disseminated Intravascular Coagulation
2- Synchrony
3- Immunosuppression
4- Macrophage migration Inhibitory Factor
5- High Mobility Group B1
6- Negative Co-stimulatory molecules

جدول ۱- ویژگی های مهم بیومارکرها برای مصارف بالینی در عفونت های حاد

معیار استفاده	ویژگی
تست های تشخیصی	✔ حساسیت ۱۰۰٪ و اختصاصیت ۸۵٪ ✔ ارزش گزارش مثبت ۸۵٪ و ارزش گزارش منفی ۱۰۰٪ ✔ توانایی افتراق سپسیس از SIRS غیر عفونی (اختصاصیت) ✔ توانایی افتراق عفونت های ویروسی حاد از سپسیس باکتریال ✔ قابلیت تعریف Optimal Cutoff ✔ به لحاظ آزمایشگاهی Turnover time سریع ✔ ارزش اعتباری بالا
تست های پیشگیری	✔ قابلیت پیشگویی میزان مرگ و میر ✔ قابلیت شناسایی اولیه بیمار ✔ قابلیت بررسی سطوح مرتبط با پاسخ التهابی مثلا شدت بروز یا عدم عملکرد ارگان
تست های درمانی	✔ پایش پروسه درمان ✔ ارزیابی کارایی و پاسخ به درمان (کینتیک سریع و غیرمستقل از عدم عملکرد ارگان) ✔ قابلیت تشخیص و ردیابی عفونت در مراحل اولیه
دسترسی	✔ قابلیت دسترسی ✔ حفظ ثبات در ساختار ترکیب ✔ نیاز به حجم کم نمونه ✔ قابلیت مقایسه نتایج حاصل از آن در تمام آزمایشگاه ها ✔ قابلیت اندازه گیری به صورت کمی ✔ سهولت اندازه گیری و تفسیر ✔ هزینه ارزان ✔ سطح پذیرش کافی از جانب بیمار (مثلا غیر تهاجمی برای بیمار)

CRP اولین بار در سال ۱۹۳۰ توسط TILLET and FRANCIS در سرم بیماران دارای پنومونی شغلی به عنوان پروتئین مرتبط با رسوب قطعات پلی ساکارید C، در فاز حاد عفونت استرپتوکوکوس پنومونیه شناخته شد. IL – 11، IFL[1]، OSM[2]، پروستاگلاندین ها، آنزیم های لیزوزومی، IFN-γ، عوامل هورمونی نظیر غدد جنسی و غده آدرنال نیز در سنتز این پروتئین ها در سلول های کبدی نقش مهمی را به عهده دارند. این پروتئین پنتامر مترشحه از هپاتوسیت ها، با اتصال به دیواره باکتری های گرم مثبت و منفی، موجب القای مکانیسم دفاعی میزبان و فعال شدن مسیر کلاسیک کمپلمان و تحریک اپسونیزاسیون و فاگوسیتوز می شود (در عفونت های ویروسی، این فاکتور افزایش چشمگیری ندارد) (شکل٦). غلظت این پروتئین در افراد نرمال کمتر از 5-10mg/L است و معمولا ۱۰-٤ ساعت پس از شروع حمله التهاب افزایش یافته و در حالت پیک (۵۰-۳٦ ساعت پس از التهاب) و تحت تاثیر حضور IL-1,6 ، به 500 mg/L می رسد. غلظت آن با مصرف کورتیکواستروئیدها کاهش می یابد. این فاکتور که در بیماری های اتوایمن سیستمیک مشخصی مثل آرتریت روماتوئید، سرطان، تروما، جراحی، سوختگی، آسیب بافتی، حاملگی و آنفارکتوس میوکارد افزایش می یابد، در بیماران اندوکاردیت و تب روماتیسمی نیز یافت می شود که با بهبودی بیمار، کاهش سطح نشان می دهد. پس پارامتری غیر اختصاصی برای حضور التهاب عفونی و حتی پیگیری و تایید درمان می باشد. به عنوان عضوی از کلاس پروتئینی Acute Phase Protein و یک بیومارکر قدیمی مقاوم به پروتئولیز، دارای حساسیت ٦٨ تا ۹۳ درصد و اختصاصیت ٤۰ تا ٦۷ درصد در عفونت باکتریال است. بنابراین در تمایز عفونت باکتری از موارد غیر عفونی التهاب ارزش تشخیصی محدودی دارد و در عفونت بزرگسالان مبتلا به سپسیس و پنومونی نمی تواند کمکی به تصمیم برای شروع یا ادامه آنتی بیوتیک تراپی بکند. البته امید می رود که این فاکتور، در ارزیابی شدت و پیش آگهی[3] سپسیس و در پایش پاسخ به درمان مفید واقع شود. تفسیر عجولانه و یا آنتی بیوتیک تراپی در یک یا دو روز پس از شروع درمان عامل ناتوانی در تفسیر تغییرات در سطوح این فاکتور بدون در نظر گرفتن کینتیک این مارکر از سوی پزشکان است. CRP آزمون مناسبی جهت تشخیص عفونت های باکتریال از

1- Inhibitory Factor Leukemia
2- Onco Statin M
3- Prognosis

ویرال محسوب می‌شود. میزان این فاکتور در مبتلایان به عفونت حـاد باکتریایی بین 150-350 mg/L و در مبتلایان به عفونت حاد ویروسـی کمتر از 20-40 mg/L تعییـن گردید. بنابراین سـنجش CRP قابـل اعتمادترین وسـیله تشـخیص در کنترل التهابات حاد باکتریایی و عفونت های پنهان[1] به شـمار می آید. از سـنجش CRP امروزه در افتراق سـریع منشا باکتریال از ویرال استفاده می شود (۱، ٤، ۸، ۱۳، ۱٦-۲۱) (اسماعیل زاده و سروری زنجانی ۱۳۹٤)

• پروکلسی تونین (PCT)، پروتئین ۱۱٦ آمینو اسیدی و پیش سـاز کلسـی تونین (پروهورمون)، مترشـحه از سلول های C تیروئید در شرایط فیزیولوژیک افراد سالم (0/5ng/mL) است و حتی در شـرایط عفونت (۲۳ سـاعت پـس از حمله) نیز از مونوسـیت ها و ماکروفاژهای تقریبا تمامـی بافت ها مثل ریه، کلیه، پانکراس، طحال، کولون، بافت چربی و مخصوصا کبد آزاد می شـود (شکل٦) و در ٤۸-۱۲ سـاعت به حداکثر مقدار خود می رسد. این پروتئین با عملکردی شبه کموکاینی، موجب القای سایتوکاین های ضد التهابی و تولید iNOS می شود (شکل٦). در مبتلایـان بـه سپسـیس، مقادیـری بیـن 10-100ng/mL نشـان می دهد. به عنوان مارکر تشخیصی در عفونت باکتریال و سپسیس و در افتراق عفونت باکتریال حاد از سـایر شـرایط التهابی، حائز اهمیت اسـت (در عفونت های ویروسـی به دلیل مهار TNFα مورد نیـاز جهت القای PCT توسـط اینترفرون آلفا، افزایش کمـی دارد). مطالعات متا آنالیز نشان داده اند که اختصاصیت این مارکر بیشتر از CRP است و تحـت تاثیـر فاکتورهـای متعـددی از جمله موضـع عفونت فاکتورهای میزبانی و پاتوژنیک اسـت. البته PCT هم به دلیل افزایش چشـمگیر سـطوح آن در افراد پیوندی (فاقد اختلالات عفونـی و تحت درمـان با آنتی بـادی مونوکلونـال OKT3) حساسیت کافی ندارد. در شرایط جراحی و اتوایمنی، سطوح آن افزایش می یابد که البته این میزان افزایش در مقایسه با سپسیس بسـیار کمتر اسـت. پس در مجموع، هیچ‌کدام یـک از این دو، بیومارکر ایده آلی برای تشـخیص سپسیس نیسـتند، اما ارزش اخباری منفی PCT، از اهمیت برخوردار است. ضمنا این مارکر را در تشـخیص سپسیس زودرس در ۱۲ ساعت ابتدایی زندگی نـوزادان مـی توان به عنوان مارکری با حساسـیت متناسـب و همچنیـن مارکری برای تعیین آنتی بیوتیک تراپی به کار برد (٤، ۸، ۱۳، ۱٦-۱۸، ۲۰، ۲۲، ۲۳).

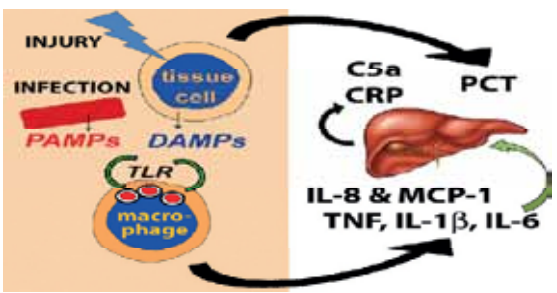
• همانطور که در مدل سپسـیس دیده ایم، برهم کنش PRR و PAMP منجر به تحریک سـایتوکاین های پیش التهابی مثل TNFα و IL-6، IL-1β و نهایتا بروز تب و جذب PMNها به جریان خون می شـوند (شکل٦). مطالعات اثبات کرده اند که افزایش سـطوح سـایتوکاین های خونی در بیماران سپسـیس وجود دارد. هرچند مقادیر آن ها در پی تروما، جراحی، ضربه و بیماری هـای اتوایمنی هم زیاد می‌شـود. پس اسـتفاده از این سـایتوکاین های التهابی به خاطر عدم اختصاصیت، فاقد ارزش گزارش اسـت. البته سطوح TNF و IL-6 در ارتباط با آسیب ارگان و مرگ و میر شـناخته شـده اند؛ پس می توانند بیومارکر بالقوه ای برای پیشـگویی پیش آگهی سپسیس باشند. برخی از آزمایش های کلینیکی، حاکی از آن هستند که پیش تیمار با قطعه متصل شـونده به آنتی ژن در مولکـول آنتی TNF پلی کلونال گوسـفندی (Cytofab) تفاوتی در میزان مرگ ۲۸ روزه نشان نداده است. این نتایج ضد و نقیض را می توان با نیمه عمر کوتاه TNF (۱۷ دقیقه) و پیک غلظت زودهنگام سایتوکاین های پیش التهابی نسبت به سایر بیومارکرها، توجیه کرد. بنابراین نه TNF و نه IL-1 را نمی توان به عنوان بیومارکرهای تشخیصی اصلی و سودمند در پاسخ اولیه سپسیس معرفی نمود (۲، ٤، ۲٤، ۲۵).

• IL-6 مترشـحه از لنفوسـیت T، مونوسیت، فیبروبلاست، اندوتلیال، کراتینوسیت و حتی سلول های توموری، ٦-٤ ساعت پس از اندوتوکسمی آزاد و به جریان خون وارد می شود (متعاقبا در ٤۸-۲٤ سـاعت بعدی کاهش سطح پیدا می کند)(شکل ٦). ایـن سـایتوکاین، مشـابه TNF و IL-1، بیومارکر اختصاصی برای سپسـیس نمی باشد و بیشـتر مارکر پروگنوستیک است تا تشخیصی؛ ولی برخلاف این دو، به خاطر کینتیک آرام و با ثبات در پلاسما و شناسایی آسان، در تشخیص و بررسی شدت پاسخ التهابی، قابل اعتمادتر است. افزایش مداوم این فاکتور، نشانگر عدم عملکرد چندین ارگان و مرگ است. IL-6 در شناسایی بیمارانی که افزایش ریسـک گسترش سپسیس حاد دارند و نیـاز به درمان حمایتـی دارند، مفید اسـت. افزایش IL-8 مترشـحه از ماکروفاژ و اندوتلیوم، در تشـخیص سپسـیس ارزش بیشتری از IL-6 دارد، اما به صورت روتین هر دو (تا

1- Occult infections

حـدودی IL-1) در ارتباط با ارزیابی کمی شـدت و پیامد سپسـیس (مخصوصا نوزادی) به کار مـی روند (۱، ۸، ۱۳، ۱۸).

• LPS Binding Protein، بـه عنوان یک پروتئین ۵۸ کیلـو دالتونـی از کلاس APP و مترشـحه از کبـد، پس از تشـکیل کمپلکس با LPS و اتصال بـه CD14 موجود بر سطح مونوسیت ها و ماکروفاژها (شکل ٦)، با توجه به میزان خود، شـروع به سیگنالینگ می کند؛ در واقع عملکرد دوگانه دارد و در غلظـت های کم، باعث تشـدید اثـر LPS و در غلظت های بالا، باعث کاهش یا مهار اثر اندوتوکسمی و عدم القای طوفان سـایتوکاینی می شـود. در شرایط فیزیولوژیک غلظت آن µg/mL ۱۵-۵ اسـت و افزایش شـدید سـطوح سـرمی این پروتئین در تشخیص سپسیس مفید است و حتی می تواند به عنوان مارکر پیشگویی در شدت بیماری و پیامد باشـد. البته به لحاظ اتیولوژی، در افتراق سپسیس عفونی از غیر عفونی، ارزش ناچیزی دارد. سطوح اجزای این کمپلکس متاثـر از مصرف آنتـی بیوتیک و غیر مرتبط بـا دوره بالینی سپسـیس و به عنوان عامل محدود کننـده این پروتئین برای استفاده از آن به عنوان بیومارکر در تشخیص سپسیس است. سـطوح ایـن فاکتـور مـی تواند پـس از جراحی، شـوک کاردیوژنیـک، شـوک حرارتی، GVHD[1] حـاد و اقدامات ایمونوتراپـی مورد ردیابی قرار بگیرد و همچنین می تواند به عنـوان Antibiotic Stewardship در جهـت کاهـش استفاده نابجای آنتی بیوتیک ها واقع شود (٤، ۱۳، ۲٦).



شکل٦ – شمایی ساده از عوامل دخیل در شروع سپسیس

• IL-27 از بیشـترین قـدرت پیشـگویی در میـان سایتوکاین‌ها برخوردار است که در سپسیس، مقادیر آن به طور چشمگیری افزایش می یابد و در عفونت باکتریال در کودکان دارای وضعیت حـاد با اختصاصیت ۹۲٪، مارکر مناسبی است (۱، ۲۷).

• مقادیر سرمی لاکتات، منعکس کننده هایپوپرفیوژن بافتی و متابولیسـم بی هوازی در سپسـیس حاد و شـوک سپتیک اسـت. در شرایط هایپوکسـی، افزایش مقادیر لاکتات در اثر افزایش گلیکولیز و اکسیژن رسانی محدود بافتی دیده می‌شود کـه این خود، نشـانگر نقص در پاکسـازی لاکتات کبدی و میزان مرگ و میر بیمارستانی در اثر سپسیس است. مانیتورینگ و غربالگری سـریالی سطح لاکتات می تواند به عنوان مارکر پیـش بینی میـزان مرگ و میر و پیامد و طبقه بندی ریسـک استفاده شود (۱، ٤، ۲۸)

• آنژیوپویتین ۲ به عنوان فاکتور رشـد واسکولار مشتق از اندوتلیال[2] که در تسهیل از بین بردن تمامیت اندوتلیال، نشت واسکولار و القای التهاب نقش دارد و در سپسیس، مرتبط با عدم عملکرد چندین ارگان[3] است (٤)

• دی-دایمر، محصول تجزیه فیبرین در اثر فیبرینولیز و در ارتباط با ترومبوز و DIC اسـت. مطالعات اخیر نشـان داده اسـت که این فاکتور، ارزش پیشـگویی چشـمگیری برای حضور باکتریمی در بیماران سپتیک و بررسی وضعیت بالینی بیمار دارد (۱۳).

• دو مدیاتور التهابی HMGB1 و MIF از پروتئین های فاز دیررس در عفونت حاد هستند. اولی پروتئین هسته ای و سیتوپلاسـمی است که در افراد سالم قابل شناسایی نیست و از مونوسـیت فعـال و بافت نکروزه در حیـن عفونت، آزاد می‌شـود و پس از ۸ تا ۱۲ سـاعت قابل ردیابی است. دومی سایتوکاین پیش التهابی است که از ماکروفاژ و لنفوسیت های T آزاد شده و در مقادیر کم درحال گردش است. اندوتوکسین باکتریایی، القاگر این فاکتور اسـت که پس از ترشح، موجب افزایش سطوح کورتیکواستروئیدها می شود. این امر موجب شـده که این فاکتور، بتواند اثرات ضدالتهابی استروئیدها بر

1- Graft Versus Host Diseases
2- Vascular Endothelial Growth Factor
3- Multi organ dysfunction

تولید سایتوکاین را تنظیم متقابل نماید. مقادیر بسیار بالای آن، مرتبط با میزان organ failure و مرتبط با فاز دیررس است که از اختصاصیت و حساسیت قابل قبولی برخوردار است. مقادیر پلاسمایی این فاکتور در سپسیس و شوک سپتیک و همچنین در فضاهای آلوئولار افراد مبتلا به ARDS[1]، افزایش می یابد که در افراد سالم دیده نمی شود. این فاکتور در سپسیس حاد و شوک سپتیک به همراه HMGB1، به عنوان مارکر پیشگویی پروگنوز سپسیس هستند (۱، ٤، ۸، ١٦، ١٨، ٢٩).

• CD73 یک مارکر آنزیمی روی سطح اندوتلیوم رگی است که عملکرد آن در دفسفریلاسیون آدنوزین مونوفسفات و تولید آدنوزین است که آدنوزین نیز با اتصال به رسپتور A_2B، واسطه گری اثرات ضد التهابی مثل ممانعت از نشت رگی[2] را بر عهده دارد. این فاکتور همانند CD14 به جریان خون آزاد شده و البته تاکنون، به صورت قطعی به عنوان مارکر پروگنوستیک در سپسیس به کار نرفته است (١٣).

• از مارکرهای سطحی و رسپتورهای محلول می توان به CD64 (آنتی ژن سطح لکوسیتی و رسپتور IgG) اشاره کرد که روی ماکروفاژها و مونوسیت ها و در غلظت های کم بر روی نوتروفیل های غیرفعال (پس از تحریک سایتوکاینی) هم وجود دارد. این فاکتور، در عفونت باکتریال تب دار نوزادان زودرس[3] و حتی بزرگسالان، ساعت ها پس از فعال شدن سیستم ایمنی ذاتی هم افزایش می یابد و منعکس کننده مراحل اولیه عفونت و مفید در پروگنوز و تشخیص زود هنگام بالینی و آزمایشگاهی سپسیس می باشد (اختصاصیت ٧٩٪ و حساسیت ٨٠٪ در سپسیس نوزادان // اختصاصیت ٨٨,٧٪ و حساسیت ٩٤,٦٪ در سپسیس بزرگسالان) (٤، ١٣، ١٦).

• CD11b مارکر نوتروفیلی که در حالت معمول با غلظت کم وجود دارد. به صورت قابل توجهی مقادیر آن در عرض چند دقیقه پس از مواجهه با محصولات میکروبی، افزایش می یابد و به عنوان یک مارکر اولیه برای نوزادان نارس محسوب می شود. این مارکر نوتروفیلی دارای حساسیت ١٠٠٪ و اختصاصیت ٥٦٪ و بر سطح مونوسیت‌ها دارای حساسیت ٨٦٪ و اختصاصیت ٩٤٪ است. CD69 بر روی سلول های کشنده طبیعی، از مارکرهای نسبتا حساس در تشخیص عفونت های نوزادی و سپتی سمی است (٤، ١٣، ١٦).

***: CD64 به نسبت سایر مارکرهای سطحی مثل CD25، CD11b، CD25 و CD45RO بیشترین میزان حساسیت (٪ ٩٧- ٩٥) و اختصاصیت (٩٠٪-٨٨) را در حمله و حتی ٢٤ ساعت پس از شروع تظاهرات بالینی، در تشخیص عفونت ثانویه باکتریال و انتروکولیت نکروزان دارد که استفاده ترکیبی CD64 نوتروفیلی با IL-6 یا CRP منجر به افزایش حساسیت تا ١٠٠٪ می شود (٤، ١٣ف ١٦).

• CD14، گلیکوپروتئین موجود بر سطح غشای مونوسیت‌ها و ماکروفاژها و رسپتوری برای اتصال به کمپلکس LPS-LBP است (شکل٧). در شرایط عفونت، با فعال شدن آبشار التهابی TLR ها، متعاقبا آزاد شدن این کمپلکس سه جزیی به خون و اثر پروتئاز بر این فاکتور را خوهیم داشت که تبدیل به s CD14 شده که به نام sCD14-Presepsin (ST)شناخته می شود. این فاکتور به همراه فرم غشایی خود، به عنوان بیومارکر اولیه پیشگویی و مرگ و همچنین مارکر تشخیص زودهنگام در سپسیس نوزادان محسوب می شود. علاوه بر این، این فاکتور محلول به عنوان مارکری مستقل جهت پیشگویی میزان مرگ و میر عفونت HIV نیز شناخته شده است (١٣، ٢٠، ٣٠، ٣١). (٣٢)

• sTREM-1[4] از رسپتورهای محلول بیان شونده روی سلول های میلوئیدی (اعضای سوپر خانواده ایمونوگلوبولین) مثل PMN، مونوسیت های بالغ و ماکروفاژ است که در سرم و مایع حاصل از شستشوی آلوئول های برونش دیده می شود (شکل٧). در عفونت های باکتریال و قارچی دارای التهاب به عنوان واسطه گر پاسخ التهابی، بسیار افزایش می‌یابد و از طرفی با تحریک سایتوکاین های پیش التهابی

1- Acute Respiratory Distress Syndrome
2- Vascular leakage
3- Premature neonates
4-soluble Triggered Receptor Expressed on Myeloid cells -1

کمک به بروز التهاب و مهار IL-10 می کند. اختصاصیت و حساسیت آن در مقایسه با PCT و CRP در تشخیص، پروگنوز و پیامد سپسیس حائز اهمیت است. این فاکتور به همراه mTREM-1 (غشایی) به عنوان متد تشخیصی امید بخش در افتراق اتیولوژی سپسیس به شمار می آیند (۱، ۳، ٤، ۱۳، ۱۷، ۳۳).

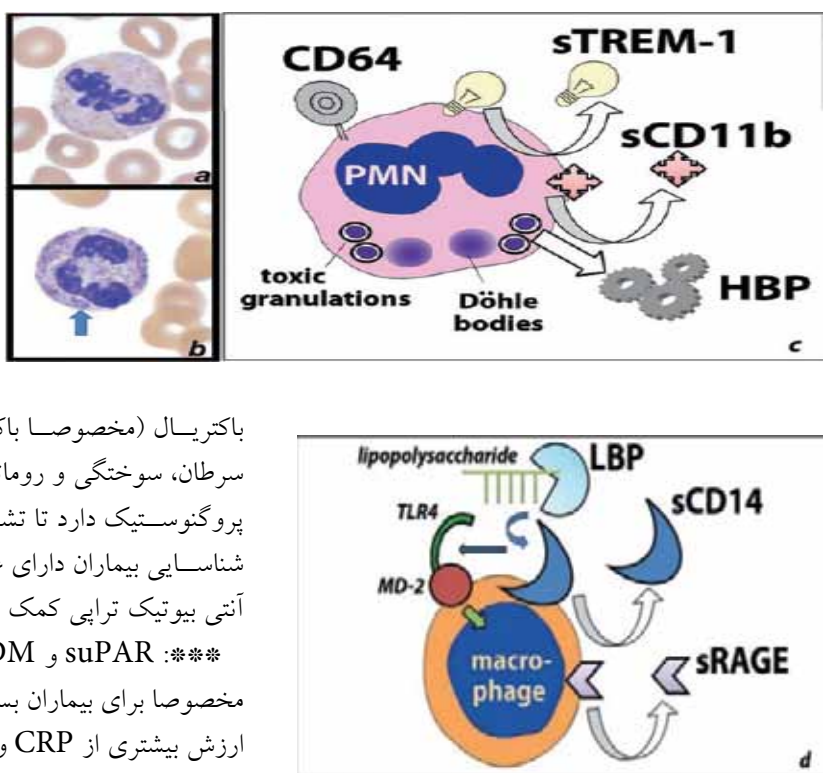
***: یک مطالعه همگروهی نشان داده است که در نظرگیری ترکیبی چهار فاکتور PCT و CRP ، sTREM-1 و شدت بیان FCγR1 (CD64) روی سلول های PMN، موجب افزایش صحت تشخیص و همچنین، تشخیص افتراقی سپسیس از موارد غیر عفونی در بیماران با وضعیت حاد کلینیکی بستری در بخش مراقبت های ویژه و شناسایی باکتریمی در آنان در اثر بروز تب جدید می شود (۳٤، ۳۵).

• proADM [1] نوعی هورموکاین مترشحه از مدولای آدرنال است که در فشار فیزیولوژیکی منجر به اتساع عروق [2] و کاهش فشار خون و عملکرد التهابی و ضد میکروبی می‌شود که البته، افزایش مقادیر پلاسمایی آن در سپسیس به سرعت از جریان خون پاک می شود و این تصمیم گیری را غیر قابل اعتماد می سازد. اما در عوض قطعه mid reagional آن می تواند در ارزیابی پیش آگهی و تشخیص اولیه عفونت باکتریال موضعی و افتراق سپسیس از SIRS مفید باشد (٤، ۱۷، ۳٦).

• uPAR [3] رسپتور محلول فعال کننده پلاسمینوژن اوروکیناز (CD87) روی اغلب لکوسیت ها و اندوتلیوم و عامل دخیل در عملکرد چسبندگی سلول ها، تمایز، تکثیر، آنژیوژنز و مهاجرت می باشد که بیان آن تحت تاثیر فاکتورهای التهابی و EGF و FGF2 است. این فاکتور از سطح سلول توسط پروتئازها شکافته و به فرم آزاد و محلول در می آید که در بزاق، مایع برونش، خون، ادرار و مایع مغزی نخاعی [4] دیده می شود. افزایش سطوح پلاسمایی این فاکتور در فعال شدن پاسخ ایمنی به عفونت باکتریال (مخصوصا باکتریمی پنوموکوکال) و ویروسی، سرطان، سوختگی و روماتیسم دیده می شود و بیشتر ارزش پروگنوستیک دارد تا تشخیصی و این که به پزشکان در شناسایی بیماران دارای عفونت باکتریال پرخطر و مدیریت آنتی بیوتیک تراپی کمک می کند (٤، ١٦، ١٧).

***: suPAR و proADM در پروگنوز سپسیس، مخصوصا برای بیماران بستری در بخش مراقبت های ویژه ارزش بیشتری از CRP و PCT دارند (۳۷).

• گروهی از سرین پروتئاز های مهاری در پلاسمای سرم وجود دارند که با غلظت بالا از کبد ترشح می شوند.



شکل ۷ – برخی از بیومارکر های سپسیس

1- pro Adrenomedullin
2- Vasodilatation
3- uroukinase – type Plasminogen Activator Receptor
4- Cerebrospinal Fluid

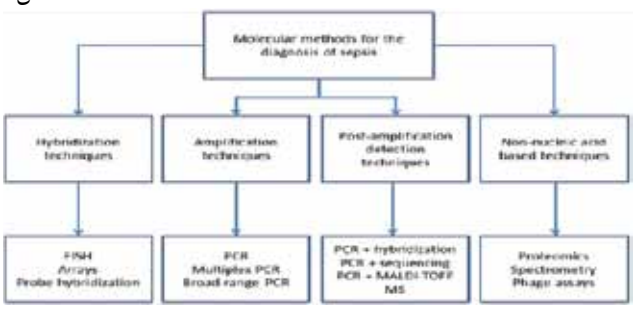
یکـی از این ها به نام IαIP [1]، پروتئین ۲۵۵ کیلو دالتونی اسـت که موجـب ثبات ماتریکس خارج سـلولی، محافظـت از افزایش فعالیت پروتئازی مرتبط با فعال شـدن پاسـخ سیسـتمیک ایمنی، التهـاب، التیام زخم، ایفای نقش ضـد التهابی و تنظیمی در عفونت است. کاهش شدید این فاکتور، با حساسیت ٪ ۸۹/۵ و اختصاصیت ٪ ۹۹ در سپسیس نوزادی، کمک به شروع تصمیم برای آنتی بیوتیک درمانی می نماید. ضمنا به عنوان مارکر پیشگویی مرگ و میر و پایش روند درمان در سپسیس بزرگسالان، به کار می رود (۱۶، ۳۸).

• کاهش بیان C5L2 روی نوتروفیل، نقش کلیدی در پاسـخ میزبـان به عفونـت در مبتلایان به سپسـیس دارد که این کاهش مقادیر مرتبط با poor prognosis است (۱۴، ۱۶)

• از جملـه بیومارکر های بالقوه، مـی توان به miR-146a و miR-223 موجود در سرم اشاره کرد که به عنوان miRNAهای در حال گردش در سرم، اختصاصیت و حساسیت بالایی دارند و در موارد سپسـیس، کاهش چشمگیری نسـبت به SIRS و افراد سالم نشان می دهند (۳۹).

• برخی مطالعات نشـان داده اند که در شـرایطی که DIC در اثر سپسیس به وقوع می پیوندد، مکانیسم‌هایی به پاسخ های رگی، کمک می کنند. میکروپارتیکل های پلاسمایی در حال گردش، در شرایط اسـترس آزاد شده و موجب کاتالیز مکانیسـم های پروکواگولانتی می‌شوند و در واقع جانشینی برای فعال شدن و صدمات رگ هستند. این میکروپارتیکل های اشتقاق یافته از اندوتلیوم، به عنوان مارکری برای بررسی زود هنگام صدمات وارده به رگ در شرایط وقوع DIC در سپسیس، در نظر گرفته می شوند (۴۰).

• روش های مولکولی برای تشخیص سپسیس در نمودار شکل ۸ آمده است (۴۳-۴۱).



شکل ۸ – روش های مولکولی در تشخیص سپسیس

برخی از تغییرات در پاسخ ایمنی افراد به عفونت که ناشی از بروز پلی مورفیسم در ژن های کدکننده مدیاتورهای دخیل در آن هستند، امروزه به عنوان یکی از زمینه های مورد توجه در بحث مدیریت بیماران سپسـیس قـرار گرفته اند. یکی از بهترین مثال هایی که روی آن مطالعات بسـیاری انجام شده اسـت، رخداد SNP در ژن TLR4 موشـی است که تغییر در یک آمینو اسـید در دومین خارج سلولی رسپتور، موجب کم پاسخی به اندوتوکسین می شود. جهش در ژن Tlr4 در انسـان، اثرات متغیری در ریسک عفونت را نمایان می سازد؛ مثلا موجب محافظت دربرابر Legionnaire's Diseases و از طرفی موجب افزایش ریسک سپسیس پس از سوختگی می شود. یکی از مشهود ترین مثال ها، جایگزینی باز آدنین به جای گوآنین در جایگاه ۳۰۸ در ناحیه پروموتور ژن TNFα اسـت که موجب افزایش ریسـک مرگ می شـود. SNP و سـایر تغییرات ژنتیکی، بیومارکر مناسـبی بـرای طبقه‌بندی بیماران سپسیس هستند (۴۴).

sCD25و PSP [2] از بیومارکرهایی هستند که برای افتراق سپسـیس از موارد غیر عفونی و شـدت بیماری در بیماران مشکوک به سپسیس در ابتدای پذیرش در بخش مراقبت‌های ویژه مفید هستند (۴۵).

بحث و نتیجه گیری

عفونت های خون یکی از تهدیدهای مخاطره آمیز با میزان مرگ و میر بالا هسـتند که در بعضی موارد، تشخیص آن ها چالش برانگیز اسـت. در موارد سپسـیس که از عمده ترین علل مرگ و میر بیماران بسـتری در بیمارسـتان به شمار می رود، تشـخیص به موقع کمک به درمان سریع، بهبود نتایج حاصـل از آن و کاهش مصـرف نابجای آنتی بیوتیک می شـود. این موضوع، محققان را بر آن می دارد تـا مارکرهای بیولوژیکی را به صورت بالینی به عنوان ابزار تشخیصی و پیشـگیرانه در مراقبت های ویژه در جهـت بهبود پیامدهای حاصـل از عفونت استفاده کنند.

1- Inter alpha Inhibitor Protein
2- Pancreatic Stone Protein

References

1- Nelson GE, Mave V, Gupta A. Biomarkers for sepsis: a review with special attention to India. BioMed research international. 2014;2014.

2- Pierrakos C, Vincent J-L. Sepsis biomarkers: a review. Crit Care. 2010;14(1):R15.

3- Sikora JP. Immunotherapy in the management of sepsis. ARCHIVUM IMMUNOLOGIAE ET THERAPIAE EXPERIMENTALIS-ENGLISH EDITION-. 2002;50(5):317-24.

4- SungYeon C, JungHyun C. Biomarkers of sepsis. Infection and Chemotherapy. 2014;46(1):1-12.

5- Masihi KN. Immunomodulators in infectious diseases: panoply of possibilites. International journal of immunopharmacology. 2000;22(12):1083-91.

6- Schulte W, Bernhagen J, Bucala R. Cytokines in sepsis: potent immunoregulators and potential therapeutic targets—an updated view. Mediators of inflammation. 2013;2013.

7- Wiersinga WJ, Leopold SJ, Cranendonk DR, van der Poll T. Host innate immune responses to sepsis. Virulence. 2013;5(1): 0--1.

8- Faix JD. Biomarkers of sepsis*. Critical reviews in clinical laboratory sciences. 2013;50(1):23-36.

9- Angus DC, Van Der Poll T. Severe sepsis and septic shock. New England Journal of Medicine. 2013;369(9):840-51.

10- Leentjens J, Kox M, van der Hoeven JG, Netea MG, Pickkers P. Immunotherapy for the adjunctive treatment of sepsis: from immunosuppression to immunostimulation. Time for a paradigm change? American journal of respiratory and critical care medicine. 2013;187(12):1287-93.

11- Russell JA. Management of sepsis. New England Journal of Medicine. 2006;355(16):1699-713.

12- Sutherland A, Thomas M, Brandon RA, Brandon RB, Lipman J, Tang B, et al. Development and validation of a novel molecular biomarker diagnostic test for the early detection of sepsis. Crit Care. 2011;15(3):R149.

13- Prucha M, Bellingan G, Zazula R. Sepsis biomarkers. Clinica Chimica Acta. 201.103-440:97;5.

14- Kibe S, Adams K, Barlow G. Diagnostic and prognostic biomarkers of sepsis in critical care. Journal of antimicrobial chemotherapy. 2011;66(suppl 2):ii33-ii40.

15- Reinhart K, Bauer M, Riedemann NC, Hartog CS. New approaches to sepsis: molecular diagnostics and biomarkers. Clinical microbiology reviews. 2012;25(4):609-34.

16- Ng PC, Lam HS. Diagnostic markers for neonatal sepsis. Current opinion in pediatrics. 2006;18(2):125-31.

17- Quenot J-P, Luyt C-E, Roche N, Chalumeau M, Charles P-E, Claessens Y-E, et al. Role of biomarkers in the management of antibiotic therapy: an expert panel review II: clinical use of biomarkers for initiation or discontinuation of antibiotic therapy. Annals of intensive care. 2013;3(1):21.

18- Bozza FA, Bozza PT, Castro Faria Neto HC. Beyond sepsis pathophysiology with cytokines: what is their value as biomarkers for disease severity? Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2005;100:217-21.

19- Henriquez-Camacho C, Losa J. Biomarkers for sepsis. BioMed research international. 2014;2014.

20- Mussap M, Noto A, Fravega M, Fanos V. Soluble CD14 subtype presepsin (sCD14-ST) and lipopolysaccharide binding protein (LBP) in neonatal sepsis: new clinical and analytical perspectives for two old biomarkers. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine. 2011;24(sup2):12-4.

21- عبدالرضا . ا، سروری زنجانی . ر. مروری بر تازه های ایمونولوژی بیماری های عفونی. Zanjan University of Medical Sciences Publication. 1394;1:126-31.

22- Riedel S. Procalcitonin and the role of biomarkers in the diagnosis and management of sepsis. Diagnostic microbiology and infectious disease. 2012;73(3):221-7.

23- Colón-Franco J, Woodworth A. Current and novel biomarkers for diagnosis and monitoring of sepsis 2014 [cited 46 4]. 8-9.

24- Singer M. Biomarkers in sepsis. Current opinion in pulmonary medicine. 2013;19(3):305.

25- Sankar V, Webster NR. Clinical application of sepsis biomarkers. Journal of anesthesia. 2013;27(2):269-83.

26- Marshall JC. Biomarkers of sepsis. Current infectious disease reports. 2006;8(5):351-7.

27- Wong HR, Lindsell CJ, Lahni P, Hart KW, Gibot S. Interleukin-27 as a sepsis diagnostic biomarker in critically ill adults. Shock (Augusta, Ga). 2013;40(5):382.

28- Tupchong K, Koyfman A, Foran M. Sepsis, severe sepsis, and septic shock: A review of the literature. African Journal of Emergency Medicine. 2014.

29- Osuchowski MF, Connett J, Welch K, Granger J, Remick DG. Stratification is the key: Inflammatory biomarkers accurately direct immunomodulatory therapy in experimental sepsis. Critical care medicine. 2009;37(5):1567.*

30- Masson S, Caironi P, Fanizza C, Thomae R, Bernasconi R, Noto A, et al. Circulating presepsin (soluble CD14 subtype) as a marker of host response in patients with severe sepsis or septic shock: data from the multicenter, randomized ALBIOS trial. Intensive care medicine. 2015;41(1):12-20.

31- Zhang X, Liu D, Liu Y-N, Wang R, Xie L-X. The accuracy of presepsin (sCD14-ST) for the diagnosis of sepsis in adults: a meta-analysis. Critical Care. 2015;19(1):1-11.

32- Sandler NG, Wand H, Roque A, Law M, Nason MC, Nixon DE, et al. Plasma levels of soluble CD14 independently predict mortality in HIV infection. Journal of Infectious Diseases. 2011;203(6):780-90.

33- Cho S-Y, Choi J-H. Biomarkers of sepsis. Infection & chemotherapy. 2014;46(1):1-12..

34- Gibot S, Béné MC, Noel R, Massin F, Guy J, Cravoisy A, et al. Combination biomarkers to diagnose sepsis in the critically ill patient. American journal of respiratory and critical care medicine. 2012;186(1):65-71.

35- Su L, Han B, Liu C, Liang L, Jiang Z, Deng J, et al. Value of soluble TREM-1, procalcitonin, and C-reactive protein serum levels as biomarkers for detecting bacteremia among sepsis patients with new fever in intensive care units: a prospective cohort study. BMC infectious diseases. 2012;12(1):157.

36- Moyer MW. New biomarkers sought for improving sepsis management and care. Nature medicine. 2012;18(7):999.

37- Suberviola B, Castellanos-Ortega A, Ruiz AR, Lopez-Hoyos M, Santibañez M. Hospital mortality prognostication in sepsis using the new biomarkers suPAR and proADM in a single determination on ICU admission. Intensive care medicine. 2013;39(11):1945-52.

38- Shah BA, Padbury JF. Neonatal sepsis: an old problem with new insights. Virulence. 2014;5(1):170-8.

39- Wang J-f, Yu M-l, Yu G, Bian J-j, Deng X-m, Wan X-j, et al. Serum miR-146a and miR-223 as potential new biomarkers for sepsis. Biochemical and biophysical research communications. 2010;394(1):184-8.

40- Delabranche X, Boisramé-Helms J, Asfar P, Berger A, Mootien Y, Lavigne T, et al. Microparticles are new biomarkers of septic shock-induced disseminated intravascular coagulopathy. Intensive care medicine. 2013;39(10):1695-703.

41- Liesenfeld O, Lehman L, Hunfeld K-P, Kost G. Molecular diagnosis of sepsis: new aspects and recent developments. European Journal of Microbiology and Immunology. 2014;4(1):1-25.

42- Meisner M. Biomarkers of sepsis: clinically useful? Current opinion in critical care. 2005;11(5):473-80.

43- XIE L-x. New biomarkers for sepsis. Medical Journal of Chinese People›s Liberation Army. 2013;38(1):6-9.

44- Marshall JC, Reinhart K. Biomarkers of sepsis. Critical care medicine. 2009;37(7):2290-8.

45- Llewelyn MJ, Berger M, Gregory M, Ramaiah R, Taylor AL, Curdt I, et al. Sepsis biomarkers in unselected patients on admission to intensive or high-dependency care. Crit Care. 2013;17(2):R60.