

ВРЕДНОСТИ С-РЕАКТИВНОГ ПРОТЕИНА КОД НОВОРОЂЕНЧАДИ СА СЕПСОМ

Бранкица ВАСИЉЕВИЋ¹, Олга АНТОНОВИЋ¹,
Свјетлана МАГЛАЈЛИЋ-ЂУКИЋ², Мирослава ГОЈНИЋ¹

¹Институт за гинекологију и акушерство, Клинички центар Србије, Београд;

²Универзитетска дечја клиника, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод С-реактивни протеин (CRP) је најчешће коришћени дијагностички показатељ инфекције.

Циљ рада Циљ рада је био да се одреде повишене вредности CRP код новорођенчади са сепсом и утврди значај гестације на вредности овог параметра током првих недеља по рођењу.

Метод рада Дијагноза сепсе код испитаника постављана је на основу клиничких знакова неонаталне сепсе, позитивног хематолошког скорa и изолације патогеног узрочника у хемокултури. Сва новорођенчад су сврстана у две групе: прву су чинили испитаници с раном неонаталном сепсом (EOS), а другу новорођенчад с касном сепсом (LOS). Према периоду гестације, сва новорођенчад је сврстана у три групе: прву су чинили испитаници до 32. гестационе недеље, другу новорођенчад између 32. и 36. гестационе недеље, а трећу испитаници у 37. недељи гестације и дуже. Вредности CRP су одређиване до 72. часа од првих клиничких знакова инфекције.

Резултати Испитивањем су обухваћена новорођенчад са сепсом лечена у Институту за гинекологију и акушерство Клиничког центра Србије у Београду током 2003. године. EOS је дијагностикована код 130 новорођенчади, која су у просеку била у 33. недељи гестације (распон: 27-41), а LOS код 33 новорођенчета, која су у просеку била у 29. недељи гестације (распон: 27-38). Повишене вредности CRP су дефинисане као веће од 10 mg/l код новорођенчади у најмање 37. недељи гестације, а као веће од 5 mg/l код новорођенчади до 37. недеље гестације. Највеће вредности CRP су добијене после 48 часова од првих клиничких знакова сепсе.

Закључак Вредности CRP су пропорционалне са недељом гестације и телесном масом новорођенчади са EOS, док код испитаника са LOS оне нису биле условљене гестационом зрелашћу. Ово се може објаснити сазревањем имуног система са гестацијом и после рођења, као и делимично различитим етиолошким узрочницима EOS и LOS. Корелација између вредности CRP и тежине клиничке слике EOS није уочена.

Кључне речи: С-реактивни протеин (CRP); новорођенче; гестациона зрелост; сепса

УВОД

Сепса представља системски запаљењски одговор на инфекцију [1-3]. Инциденција сепсе код новорођенчади је 1-10 на 1.000 живорођене деце, а морталитет 15-50% [4, 5]. Рана неонатална сепса (енгл. *early onset sepsis* – EOS) се јавља у прва 72 часа по рођењу (мада се понегде у литератури наводе и подаци да се сепса код новорођенчади јавља између 24 часа и седам дана по рођењу) и најчешће је изазивају бактерије које колонизирају порођајни канал [4-6]. Касна неонатална сепса (енгл. *late onset sepsis* – LOS) се јавља после 72. часа од рођења, најчешће код превремено рођене деце, као последица дугог болничког лечења и многих инвазивних поступака, а изазивају је болнички узрочници [7]. Стопа смртности новорођенчади заражених сепсом је висока када се она дијагностикује касно. Рану дијагнозу је тешко поставити јер су први клинички знаци обично неупадљиви и неспецифични, а често се погрешно интерпретирају као респираторни дистрес, физиолошка жутица итд.

Изолација микроорганизама у хемокултури је тзв. златни стандард у дијагностиковању неонаталне сепсе [4]. Постављање дијагнозе сепсе код новорођенчади на основу „позитивне“ хемокултуре има многа ограничења. За изолацију узрочника из хемокултуре потребна су 24-72 часа. Препознавање узрочника

сепсе могу отежати неадекватно узимање узорка крви, недовољна количина крви за бактериолошку анализу (често мања од 1 ml) и интрапартална примена антибиотика (15-40%) [4, 5]. Због тога се примењују разни дијагностички тестови за брзо откривање сепсе код новорођенчади: С-реактивни протеин (CRP), прокалцитонин, проинфламаторни цитокини, површински леукоцитни и лимфоцитни показатељи, адхезионе молекуле итд. [8, 9].

Најчешће коришћени дијагностички показатељ инфекције је CRP. То је неспецифични протеин акутне фазе који синтетише јетра између шест и осам сати од почетка инфекције као инфламаторни одговор хепатоцита на инфекцију. Проинфламаторни цитокини, пре свега интерлеукин 6 (IL-6), индукују синтезу CRP у јетри. Вредности CRP се повећавају између шест и осамнаест часова од почетка инфекције (8-60 часова), а полуживот CRP у серуму је од два до пет дана. Фетус је способан да синтетише CRP врло рано, већ са 3-5 недеља гестације, и не пролази кроз плацентарну баријеру. CRP припада породици пентраксин-протеина и састављен је од пет идентичних 23 kD полипептидних субјединица. Свака ова субјединица садржи по једно место за везивање фосфохолинских молекула и два места за које се везује калцијум. Ова места омогућавају везивање CRP за фосфохолинске или фосфолипидне компоненте микроорганизама и

ћелијског дебриса и стварање комплекса *CRP* и лиганда, те даљу фагоцитозу потенцијално отровних супстанци. Комплекс *CRP*–лиганд се везује за прву компоненту комплемента, неутрофиле, макрофаге и друге фагоцитне ћелије, и стимулише инфламаторни одговор и стварање цитокина. Вредности *CRP* се могу повећати током инфламаторног одговора и до хиљаду пута. Досадашње студије су углавном обухватале мали број испитаника и врло је мало оних истраживања у којима су одређиване вредности *CRP* код превремено рођене деце.

ЦИЉ РАДА

Циљ рада је био да се одреде повишене вредности *CRP* код новорођенчади различите гестације са сепсом. Хипотеза ове студије била је да су вредности *CRP* у првим данима по рођењу пропорционалне гестационој старости и да се та корелација губи касније са зревањем имуног система.

МЕТОД РАДА

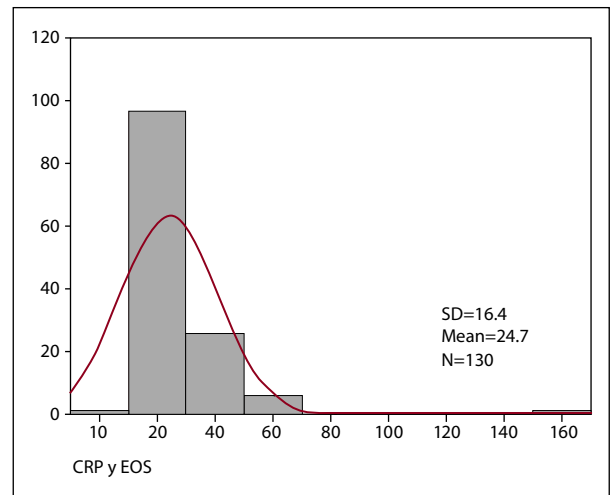
Истраживање је обухватило новорођенчад са сепсом која су лечена у Институту за гинекологију и акушерство Клиничког центра Србије у Београду 2003. године. Дијагноза неонаталне сепсе је постављена по изолацији бактерија и њихових ендотоксина у крви и на основу задовољења бар два критеријума за системски инфламаторни одговор (*SIRS*): нестабилност телесне температуре, респирације мање од две стандардне девијације за узраст, ритам рада срца такође мањи од две стандардне девијације за узраст и леукоцитоза, леукопенија или скретање улево у леукоцитарној формули. У наше истраживању *EOS* је означена као сепса која је настала у прва 72 часа од рођења, а *LOS* као сепса настала најмање 72 часа после рођења. Тешка сепса дијагностикована је код новорођенчади која су поред клиничких знакова сепсе имала и хипотензију, олигурију, метаболичку ацидозу и успорено капиларно пуњење и поред примене кристалоида, колоида и инотропа. Сви испитаници су сврстани у две групе: прву су чинила новорођенчад са *EOS*, а другу новорођенчад са *LOS*. Према гестационом периоду, новорођенчад су сврстана у три групе: прву су чинили испитаници који су били у 32. гестационој недељи (ГН), другу испитаници између 32. и 36. ГН, а трећу групу новорођенчад која је била у 37. ГН и дуже.

Осим стандардних лабораторијских, биохемијских и микробиолошких анализа, одређиване су и вредности *CRP* микрометодом помоћу одговарајућих апарата (*ABX-Micros*; *CRP-ThehmoLab*) у тзв. нултом часу, 24 часа, 48 часова и 72 часа од почетка знакова неонаталне сепсе. Резултати су обрађени стандардним статистичким методима, а за статистичку значајност је узета вредност p мања од 0,05 ($p < 0,05$).

РЕЗУЛТАТИ

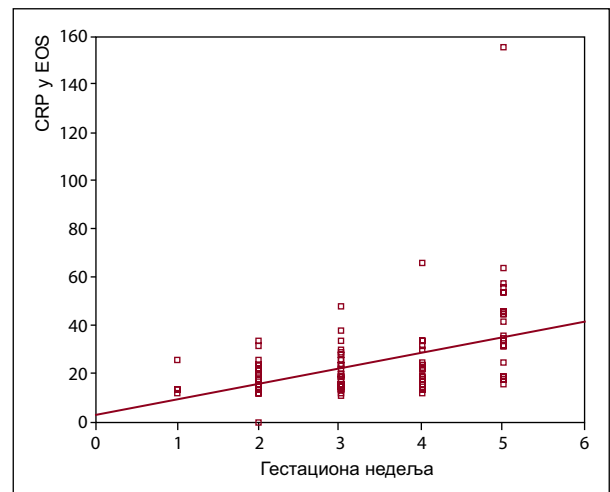
EOS је дијагностикована код 130 новорођенчади, просечне зрелости од 33 ГН (распон: 27–41), док је *LOS* утврђена код 33 новорођенчета са *LOS*, просечне зрелости од 29 ГН (распон: 27–38). Средња вредност телесне масе новорођенчади са *EOS* била је 1700 g (распон: 750–4200 g), а испитаника са *LOS* 1200 g (распон: 780–2400 g).

Код испитаника са *EOS* средња вредност *CRP* је била 25 mg/l (распон: 6–156 mg/l) (Графикон 1). Код новорођенчади до 32. ГН средња вредност *CRP* је била 9 mg/l, код новорођенчади 32–36. ГН 17 mg/l, а код новорођенчади у 37. ГН и дуже 34 mg/l. Највећа вредност *CRP* је била 156 mg/l. Вредност *CRP* већа од 20 mg/l забележена је код 10% новорођенчади са *EOS* до 32. ГН, 15% новорођенчади 32–36. ГН и 25% новорођенчади у 37. ГН и дуже. Вредности *CRP* код испитаника са *EOS*



ГРАФИКОН 1. Вредности С-реактивног протеина (*CRP*) у раној неонаталној сепси (*EOS*).

GRAPH 1. Level of serum C-reactive protein (*CRP*) in early-onset sepsis (*EOS*).

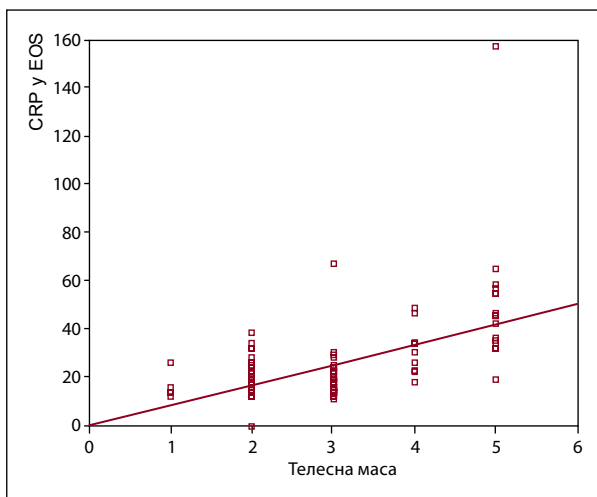


ГРАФИКОН 2. Линеарна корелација вредности С-реактивног протеина (*CRP*) и гестационе недеље (ГН) у раној неонаталној сепси (*EOS*).

GRAPH 2. Linear correlation serum *CRP* levels with gestation age (GA) in early-onset sepsis (*EOS*).

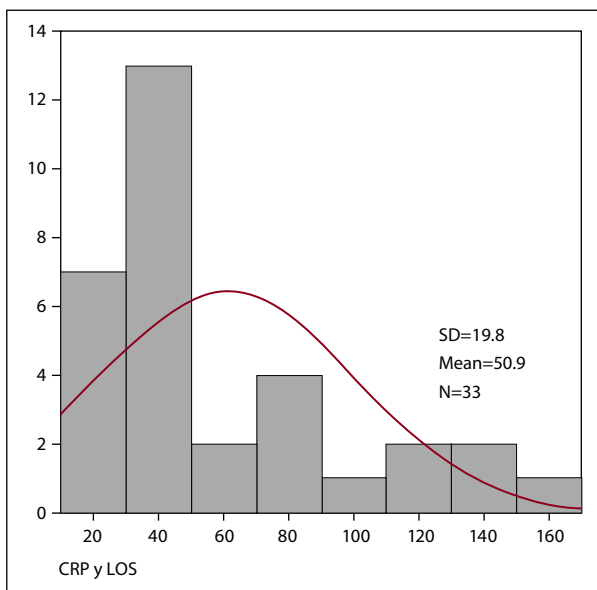
су биле пропорционално веће са гестационом зрелошћу и телесном масом ($p < 0,05$; линеарна корелација 4,34), а врхунац је био 48 часова после првих клиничких знакова сепсе (Графикони 2 и 3).

Код испитаника са *LOS* средња вредност *CRP* је била 51 mg/l ($18\text{-}161 \text{ mg/l}$) (Графикон 4). Код новорођенчади до 32. ГН средња вредност *CRP* је била 36 mg/l , код новорођенчади 32-36. ГН 52 mg/l , а код новорођенчади у 37. ГН и дуже 58 mg/l . Највећа вредност *CRP* је била 161 mg/l . Вредност *CRP* већа од 40 mg/l забележена је код 20% новорођенчади са *LOS* до 32. ГН, 25% новорођенчади 32-36. ГН и 25% новорођенчади у 37. ГН и дуже. Вредности *CRP* код испитаника са *LOS* нису биле пропорционално веће са гестационом зрелошћу и телесном масом, а врхунац је био 48 часова после првих клиничких знакова сепсе.



ГРАФИКОН 3. Линеарна корелација вредности C-реактивног протеина (*CRP*) и телесне масе у раној неонаталној сепси (*EOS*).

GRAPH 3. Linear correlation serum CRP levels with birth weight in early-onset sepsis (*EOS*).



ГРАФИКОН 4. Вредности C-реактивног протеина (*CRP*) у касној неонаталној сепси (*LOS*).

GRAPH 4. Level of serum C-reactive protein (*CRP*) in late-onset sepsis (*LOS*).

Клиничка слика тешке сепсе код испитаника са *EOS* била је чешћа код новорођенчади мање гестационе зрелости: код 45% у 32. ГН, односно 25% у 37. ГН и дуже. Вредности *CRP* нису биле у корелацији са тежином клиничке слике *EOS*, посебно код превремено рођене деце. Тешка сепса је дијагностикована код 45% новорођенчади до 32. ГН, а код само 10% забележена је вредност *CRP* већа од 20 mg/l .

ДИСКУСИЈА

Многи аутори указују на то да вредности *CRP* представљају добар дијагностички показатељ бактеријске инфекције код новорођенчади [9-12]. Не постоји, међутим, консензус о нормалној и повишеној вредности *CRP* код ове популације. Код здраве новорођенчади рођене у термину вредност *CRP* првих дана по рођењу је најчешће $2\text{-}5 \text{ mg/l}$. Постоје, пак, контроверзна мишљења у клиничкој пракси око критеријума за нормалне вредности *CRP* током неонаталног периода, које су, како сматрају многи аутори, у опсегу од 6 mg/l до 20 mg/l . Различите граничне вредности *CRP* доводе до забуне и несигурност када је у питању његова клиничка примена. Хетерогеност ових вредности је највероватније последица различитог гестационог и постнаталног узраста новорођенчади и различитих метода мерења. У већини студија опште је прихваћено да су у неонаталном периоду вредности *CRP* изнад 10 mg/l повишене [12-14], што је у складу с вредностима *CRP* код новорођенчади рођене у термину и у нашем истраживању. Пошто почиње да се синтетиче 6-8 часова од почетка инфекције, *CRP* се сматра касним дијагностичким показатељем сепсе. Највеће вредности *CRP* се бележе 24-72 часа од почетка запаљењског одговора; у нашем истраживању оне су забележене 48 часова после првих клиничких знакова сепсе, што је у оквирима ране дијагнозе сепсе.

Мишљења о вредности *CRP* код превремено рођене деце су такође контроверзна. Ниво *CRP* код ове деце, нарочито оне до 32. ГН, ретко је већи од 10 mg/l , што често има за последицу лажно негативне резултате [13-16]. На основу резултата нашег истраживања вредности *CRP* веће од 5 mg/l могу се сматрати повишеним код деце до 37. ГН, а посебно оне са *EOS* до 32. ГН, што је у складу с наводима у литератури [15-18]. Код новорођенчади екстремно мале телесне масе повећање вредности *CRP* је знатно мање.

Вредности *CRP* су пропорционалне гестационој зрелости код новорођенчади са *EOS*, али та корелација није забележена код испитаника са *LOS*. За то постоји неколико објашњења. Проинфламаторни одговор на инфекцију је различит током гестације и условљен је сазревањем имуног система, различитим узрочницима инфекције током гестације и честом применом антибиотских лекова интрапартално или одмах по рођењу код превремено рођене деце. Јетра код деце рођене пре термина има мању син-

тетску функцију. Код новорођенчади, а посебно код превремено рођене деце, *CRP* има смањену могућност везивања за фагоцитне ћелије (неутрофиле, моноците итд.), које имају смањену хемотактичку и бактерицидну активност, смањено стварање инфламаторних и хемостатских медијатора, што условљава и смањен запаљењски одговор [17, 18]. Природу промена приликом сазревања потребно је даље испитати. Ефекат линеарне повезаности вредности *CRP* и гестационе зрелости се губи постнатално и могуће је да је последица матурационих промена (енгл. *switch*) имуног система и хепатоцита.

ЗАКЉУЧАК

Вредности *CRP* су пропорционалне гестационој зрелости код новорођенчади са *EOS*, а та корелација се губи у *LOS* као последица матурационих промена имуног система и хепатоцита. Вредности *CRP* код превремено рођене деце ретко су веће од 10 *mg/l* у *EOS*, што често условљава лажно негативне резултате. Вредности *CRP* веће од 5 *mg/l* могу се сматрати повишеним код превремено рођене деце, посебно оне до 37. ГН. Не постоји корелација између вредности *CRP* и тежине клиничке слике код новорођенчади са *EOS*, што се делимично може објаснити утицајем других, неинфективних фактора, као што су перинатална асфиксија, болест хијалиних мембрана, аспирација меконијума и траума, првих дана по рођењу, посебно код деце рођене пре термина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Matot I, Spring C. Definition sepsis. *Intensive Care Med* 2001; 27:S3-S9.
2. Levy MM, Frank MP, Marchall JC, Abraham E, Angus D. 2001 SCCM/

- ESICM/ACCP/ATS/SIS International sepsis conference. *Crit Care Med* 2003; 31:1250-6.
3. Bone RB, Grodzin J, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest* 1998; 112:235-43.
4. Klein JO. Bacterial sepsis and meningitis. In: Remington JS, Klein JO, editors. *Infectious Disease of the Fetus and Newborn Infant*. Philadelphia: WB Saunders Publishers; 2001. p.943-98.
5. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Eng J Med* 2000; 342:1500-7.
6. Schuchat A, Zywicki SS, Dinsmoor MJ. Risk factors and opportunities for prevention of early-onset neonatal sepsis: a multicenter case-control study. *Pediatrics* 2000; 105:21-6.
7. Lorry GR, Pablo JS, Jane S. Evaluation and treatment of neonates with suspected late-onset sepsis: A survey of neonatologists' practices. *Pediatrics* 2002; 111:E42.
8. Weinberg GA, Powel KR. Laboratory aids for diagnosis of neonatal sepsis. In: Remington JS, Klein JO, editors. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*. Philadelphia: WB Saunders Publishers; 2001. p.327-44.
9. Vasiljević B, Antonović O, editors. *Neonatalna sepsa*. Beograd: Kibid; 2005.
10. Kaufman D, Fairchild KD. Clinical microbiology of bacterial and fungal sepsis in very-low-birth-weight infants. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17:638-80.
11. Takala A, Jousela I, Jansson S-E. Markers of systemic inflammation predicting organ failure in community-acquired septic shock. *Clin Sci (Colch)* 1999; 97:529-38.
12. Mehr S, Doyle LW. Cytokines as markers of bacterial sepsis in newborn infants: a review. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19:879-87.
13. Chiesa C, Signore F, Assumma M, et al. Serial measurements of C-reactive protein and interleukin-6 in the immediate postnatal period: reference intervals and analysis of maternal and perinatal confounders. *Clin Chem* 2001; 47:1016-22.
14. Benitz WE, Han MY, Madan A, Ramachandra P. Serial serum C-reactive protein levels in the diagnosis of neonatal infection. *Pediatrics* 1998; 102(4):298-309.
15. Franz AR, Steinbach G, Kron M, Pohlandt F. Reduction of unnecessary antibiotic therapy in newborn infants using interleukin-8 and C-reactive protein as markers of bacterial infections. *Pediatrics* 1999; 104:447-53.
16. Da Silva O, Ohlsson A, Kenyon C. Accuracy of leukocyte indices and C-reactive protein for diagnosis of neonatal sepsis: a critical review. *Pediatr Infect Dis J* 1995; 14:362-6.
17. Chiesa C, Pellegrini G, Panero A, et al. C-reactive protein, interleukin-6, and procalcitonin in the immediate postnatal period: influence of illness severity, risk status, antenatal and perinatal complications, and infection. *Clin Chem* 2003; 49:60-8.
18. Philip AG, Mills PC. Use of C-reactive protein in minimizing antibiotic exposure: experience with infants initially admitted to a well-baby nursery. *Pediatrics* 2000; 106:44-8.

THE SERUM LEVEL OF C-REACTIVE PROTEIN IN NEONATAL SEPSIS

Brankica VASILJEVIĆ¹, Olga ANTONOVIĆ¹, Svjetlana MAGLAJLIĆ-ĐUKIĆ², Miroslava GOJNIĆ¹

¹Institute of Gynaecology and Obstetrics, Clinical Centre of Serbia, Belgrade; ²University Children's Hospital, Belgrade

INTRODUCTION C-reactive protein (CRP) is the most common diagnostic marker of infection.

OBJECTIVE Objectives of this study were to determine the serum CRP level in neonates with sepsis and establish the influence of gestational age (GA) on the CRP level in the first few weeks after birth.

METHOD Diagnosis of neonatal sepsis was established by the presence of clinical signs of sepsis, isolation of the causative agent of sepsis and abnormal haematological parameters. All neonates were divided into two groups: early onset sepsis (EOS) and late onset sepsis (LOS). According to GA all neonates were divided into three groups: <32 GA, 32–36 GA and ≥37 GA. Serum CRP was measured 0–72 h after the onset of signs and symptoms of infection.

RESULTS This study included all neonates with sepsis at our Institute during 2003. EOS was diagnosed in 130 neonates (mean age was 33 weeks; range 27–41 weeks) and 33 infants (mean age 29 weeks; range 27–38 weeks). We defined a relevant CRP response as a concentration of >10 mg/l for term and near term neonates and >5 mg/l for preterm neonates.

The maximum concentrations of CRP were reached 48 hr after the first symptoms of neonatal sepsis.

CONCLUSION CRP levels are proportional with increasing GA and body weight in EOS. The effects of gestational age do not influence CRP levels in LOS. Maturation changes in the immune system are the most likely explanation for this and partly the organisms responsible for an infection may be different at different gestational ages and also in EOS and LOS. There is no correlation with serum CRP levels and with the severity of the disease and bad prognosis in EOS.

Key words: C-reactive protein; neonates; gestation age; sepsis

Brankica VASILJEVIĆ
Institut za ginekologiju i akušerstvo
Klinički centar Srbije
Višegradska 26, 11000 Beograd
Tel.: 011 363 5540
Faks: 011 361 5603
E-mail: bdvasilj@eunet.yu