

Av spesialbioingeniør KRISTIN HUSBY¹, ass. lege SHERAZ YAQUB², forskningskoordinator MERETE HELGELAND², overlege OLA REIERTSEN², overlege GUNNHILD KRAVDAL¹ og overlege TOR-ARNE HAGVE¹. Epost: kristin.husby@ahus.no

Nytte av prokalsitonin og nøytrofil CD64 som markører for postoperativ infeksjon

Introduksjon

Infeksjon etter kirurgiske inngrep er assosiert med høy morbiditet og mortalitet og krever rask diagnostikk og behandling. I tidlig fase er det som regel vanskelig å skille en infeksjon fra annen inflammatorisk prosess, kun basert på symptomer og laboratoriefunn. Pasienter med pankreatitt, brannskader uten infeksjose komplikasjoner og pasienter som har gjennomgått store traumer, kan ha samme symptomer og funn som pasienter med infeksjon (1). Dette gjør at infeksjoner i mange tilfeller er vanskelige å påvise på et tidlig tidspunkt.

Diagnose av infeksjoner baserer seg på kliniske funn og diagnostiske tester som har vært tilgjengelige i en årrekke, som CRP, leukocytter, senkningsreaksjon og mikrobiologiske analyser (2). De siste årene er prokalsitonin (PCT) og nøytrofil CD64 også foreslått som spesifikke infeksjonsmarkører.

PCT er en forløper for kalsitonin som normalt produseres i C-cellene i thyreoidea (3). Proteinets består av 116 aminosyrer som spaltes til mindre peptider, hvor sluttproduktet er kalsitonin som består av 32 aminosyrer (4). PCT frigjøres normalt ikke til sirkulasjonen, og hos friske personer finnes derfor PCT bare i lave nivåer (5). Ved alvorlige bakterielle infeksjoner syntetiseres PCT utenom thyreoidea, blant annet i mononukleære celler (6), lever og lungevev (7), og frigjøres direkte til sirkulasjonen uten videre prosessering.

CD64 er en reseptor som i hovedsak sitter på monocytter og makrofager, og i liten grad på inaktive nøy-

trofile granulocytter. Reseptoren, også kjent som Fc γ RI, binder monomeren av IgG-antistoffet med høy affinitet, og er en del av det medfødte immunforsvaret (8). CD64 uttrykt på nøytrofile granulocytter er foreslått å ha mange fordeler som gjør den nyttig i klinikken som en markør for infeksjoner. Nivået av uttrykt CD64 i inaktive nøytrofile celler er lavt, men øker kraftig etter aktivering (9,10). Oppreguleringen skjer raskt, det vil si i løpet av fire - seks timer etter kontakt med de proinflammatoriske cytokinene IFN- γ og G-CSF (granulocyte colony stimulating factor) (11), og ved eksponering av bakteriecelleveggkomponenten endotoksin, også kalt LPS (lipopolysakkarid) (12).

Sammendrag

Introduksjon: Målet med studien var å undersøke om det er mulig å skille forventet postoperativ inflammasjon fra infeksjon ved bruk av markørene prokalsitonin (PCT) og nøytrofil CD64. Markørene ble sammenlignet med tradisjonelle infeksjonsparametere.

Materiale og metode: Tretti pasienter innlagt til planlagt tarmkirurgi ved Avdeling for gastroenterologisk kirurgi, Akershus universitetssykehus, ble inkludert i studien. Venøse blodprøver, analysert for CRP, SR, leukocytter, nøytrofil CD64 og PCT, ble tatt preoperativt og fem påfølgende dager postoperativt. Pasientene ble inn delt i tre grupper: Normalt postoperativt forløp, kliniske tegn til infeksjon og uspesifikke komplikasjoner. Resultatene fra den siste gruppen blir ikke beskrevet her.

Resultater: Alle markørene hadde konsentrasjonsendringer som følge av det kirurgiske inngrepet, og det ble funnet høyere verdier for alle parametere hos pasienter med infeksjon. For PCT var verdiene ikke signifikant forskjellig fra pasienter med et normalt postoperativt forløp. Nøytrofil CD64 var signifikant høyere fra dag 3 i gruppen med postoperativ infeksjon, og CRP var signifikant høyere fra dag 1. Stigningen av PCT postoperativt viser en tendens til å korrelere med omfanget av det kirurgiske inngrepet.

Konklusjon: Studien indikerer at CRP er en mer følsom markør for tidlig påvisning av postoperative infeksjoner enn PCT og nøytrofil CD64. Svært få pasienter fikk alvorlige infeksjoner, og en større studie må til for å kunne verifisere disse resultatene.

Nøkkelord: inflammasjon, postoperativ komplikasjon, infeksjonsmarkør, Fc γ RI

1. Tverrfaglig laboratoriemedisin og medisinsk biokjemi og 2. Avdeling for gastroenterologisk kirurgi, Akershus universitetssykehus

Bioingeniøren er godkjent som vitenskapelig tidskrift. Denne artikkelen er fagfelleverurdert og godkjent etter Bioingeniørens retningslinjer.

Få tidligere studier har fokusert på nytten av PCT og CD64 ved diagnostisering av postoperative infeksjoner. Hensikten med denne studien var å undersøke den kliniske nytteverdien av PCT og nøytrofil CD64 som markører for tidlig påvisning av infeksjon etter tarmkirurgi, samt å vurdere om det var mulig å skille mellom inflammasjon som følge av et kirurgisk traume og en postoperativ bakteriell infeksjon.

Materiale og metode

Tretti pasienter (13 menn og 17 kvinner) med median alder 65 år, som var planlagt operert med ulike former for tarmreseksjon ved Avdeling for gastroenterologisk kirurgi, Akershus universitetssykehus, ble inkludert i studien i løpet av en periode på fire måneder (november 2010 – februar 2011). En pasient ble ekskludert underveis i studien. Alle pasientene ble på forhånd informert om studien og ga skriftlig samtykke. Prosjektet er godkjent av Regional Etisk Komité (REK).

Venøse blodprøver ble tatt preoperativt (dag 0) og de fem påfølgende dagene etter operasjon (dag 1-5). Blodprøvene ble analysert for CRP (Vitros 5.1, Ortho Clinical Diagnostics), SR (InteRRliner, Bergman Diagnostica) og leukocytter med differensialtelling (XE5000, Sysmex). Som en del av prosjektet ble det etablert metode for analyse av PCT på analyseinstrument Cobas 8000 (Roche Diagnostica) med bruk av reagenskit Elecsys BRAHMS PCT (13). På flowcytometeret FC500 (Beckman Coulter) ble det etablert en metode for analyse av nøytrofil CD64 med bruk av reagenskit Leuko64 (Tril-

lium Diagnostics) (14). I tillegg til laboratorietestene ble kliniske parametere som kroppstemperatur, puls, blodtrykk og tegn til lokal infeksjon registrert daglig. Alle pasientene hadde fått antibiotika profylaktisk før operasjon.

Pasientene ble inndelt i tre grupper i henhold til kliniske symptomer og funn: Pasienter med et normalt postoperativt forløp (N=11), pasienter med kliniske tegn til infeksjon (N=11) og pasienter med uspesifikke komplikasjoner i det postoperative forløpet (N=7). I tillegg ble pasientene med et normalt postoperativt forløp delt inn etter størrelsen på det kirurgiske inngrepet: Pasienter med et lite inngrep (N=2), pasienter med et middels stort inngrep (N=3) og pasienter med et stort inngrep (N=6). Grupperingen ble utført av leger ved Avdeling for gastroenterologisk kirurgi.

Statistiske beregninger

Det presenteres gjennomsnittsverdier og SD for hver av markørene for dagene 0 - 5 i begge pasientgruppene. Tosidig, paret t-test ble benyttet for sammenligning innen gruppene, mens tosidig, uavhengig t-test ble benyttet for sammenligning mellom gruppene. P-verdi < 0,05 ble vurdert som statistisk signifikant. Den statistiske signifikansen tilhørende den observerte endringen fra en dag til en annen, er alltid testet på bakgrunn av dataene fra den foregående dagen. Alle statistiske tester ble utført ved hjelp av Microsoft Excel, versjon 2007.

Resultater

Resultatene for PCT, nøytrofil CD64 og CRP hos pasienter med et normalt postoperativt forløp sammenlignet med pasienter med kliniske tegn til infeksjon, er vist i Figur 1. For alle analyserte markører fant vi konsentrasjonsendringer som følge av det kirurgiske inngrepet, selv ved et ukomplisert postoperativt forløp. En signifikant økning i PCT ($p < 0,05$) ble i begge pasientgruppene observert dagen etter operasjon. Nøytrofil CD64 viste også en stigning på dag 1 postoperativt ($p < 0,05$) og høyeste verdi ble nådd på dag 2 og dag 3 for henholdsvis gruppen med normalt postoperativt forløp og gruppen med kliniske tegn til infeksjon. En signifikant stigning i CRP ble observert for alle pasientene på dag 1 ($p < 0,0001$) og høyeste verdi ble nådd på dag 2 for pasienter med et normalt postoperativt forløp og dag 3 for pasienter med kliniske tegn til infeksjon.

Det ble observert høyere postoperative PCT-verdier hos pasienter med kliniske tegn til infeksjon enn hos pasienter med et normalt postoperativt forløp, men differansen mellom de to gruppene var ikke statistisk signifikant. Pasienter med kliniske tegn til infeksjon hadde også et gjennomsnittlig høyere nivå av nøytrofil CD64 enn pasienter med et normalt postoperativt forløp, men det var ingen signifikant forskjell før dag 3 postoperativt. CRP var signifikant høyere fra dag 1 hos pasienter med kliniske tegn til infeksjon, sammenlig-

Abstract

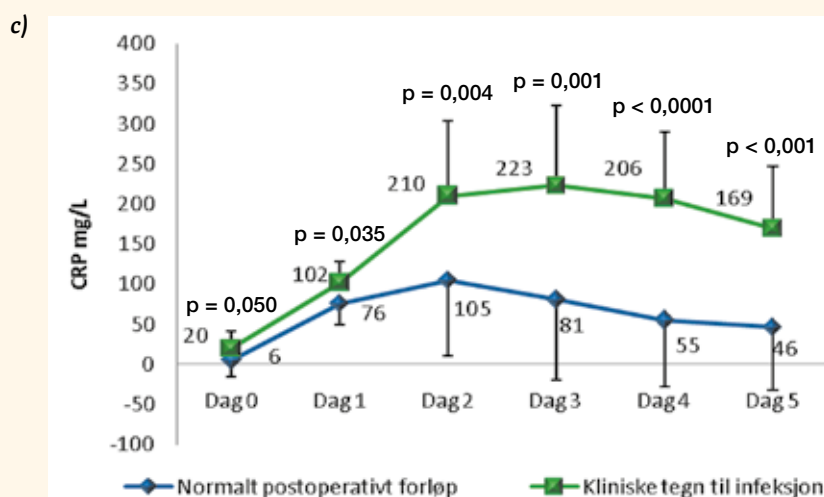
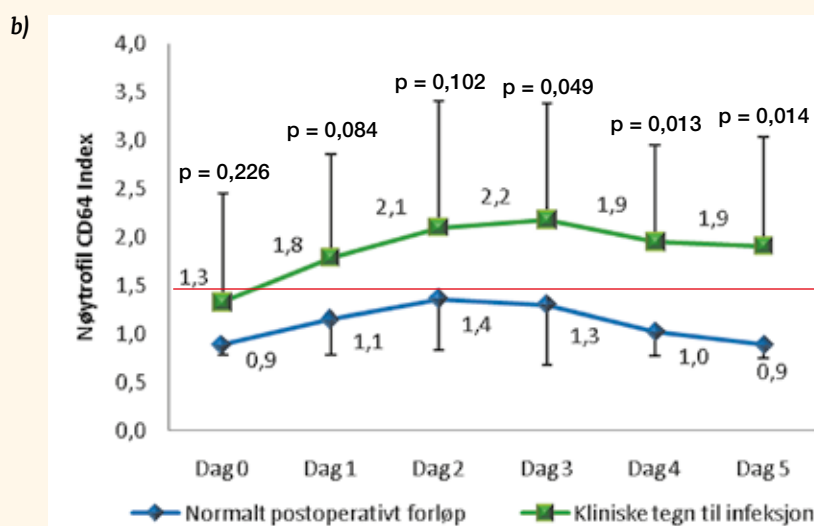
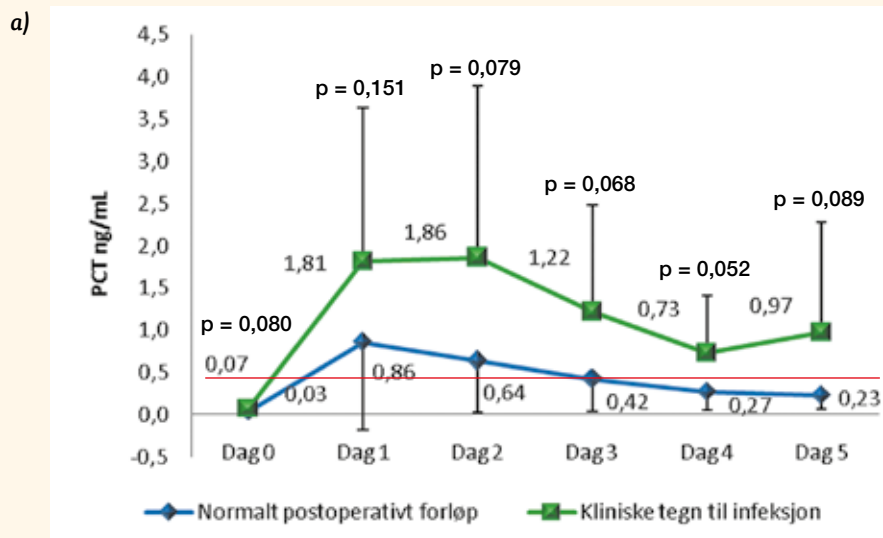
Introduction: The aim of this study was to evaluate if it was possible to differentiate between inflammation due to surgical trauma and a postoperative infection using procalsitonin (PCT) and neutrophil CD64 compared to traditional biomarkers of infection.

Materials and Methods: Thirty patients, admitted to the Department of gastroenterological surgery, Akershus University Hospital for elective bowel surgery, were included in the study. Venous blood samples analysed for CRP, ESR, leukocytes, neutrophil CD64 and PCT were taken preoperatively and on five consecutive days postoperatively. The patients were divided into three groups: normal postoperative course, clinical signs of infection and non-specific complications. The results from the last group are not presented here.

Results: All biomarkers were affected by the surgical intervention. Higher values were found in patients with infection, but for PCT the values were not significantly different from patients with a normal postoperative course. For neutrophil CD64 the difference between the two groups was significant from day 3 and for CRP from day 1. The PCT concentration after surgery shows a tendency to correlate with the extent of the surgical trauma.

Conclusion: This study indicates that CRP is a better marker for early detection of local postoperative infections than PCT and neutrophil CD64. A larger study is needed to verify these results.

Key-words: inflammation, postoperative complication, biomarker of infection, Fc γ RI



FIGUR 1. Gjennomsnittsverdier og SD for hver av markørene for dagene 0-5 for pasienter med kliniske tegn til infeksjon (N=11), sammenlignet med pasienter med et normalt postoperativt forløp (N=11). P-verdier for sammenligning av gruppene er vist for dag 0-5.

a) er for PCT, b) for Nøytrofil CD64 og c) for CRP. Beslutningsgrense for PCT og nøytrofil CD64 er markert i figuren med en tynn rød strek.

TABELL 1. Pasienter med et normalt postoperativt forløp gruppert etter type og omfang av det kirurgiske inngrepet. Gjennomsnittsverdier og SD for hver av markørene vises for den dagen med maksimal økning. P-verdier for sammenligning av pasienter med et lite inngrep og pasienter med et stort inngrep er presentert.

	Lite inngrep (N = 2)	Middels stort inngrep (N = 3)	Stort inngrep (N = 6)	P-verdi
PCT (ng/mL)	0,12 ± 0,132	0,32 ± 0,387	1,37 ± 1,180	0,047
CD64 Index	1,1 ± 0,35	1,7 ± 0,71	1,3 ± 0,45	0,510
CRP (mg/L)	115 ± 49,5	107 ± 56,9	100 ± 25,3	0,743

net med pasienter med et normalt postoperativt forløp (se Figur 1).

Pasientene med et normalt postoperativt forløp ble videre delt inn i tre grupper basert på type og omfanget av det kirurgiske inngrepet. Resultatene viser at pasienter som har gjennomgått et lite kirurgisk inngrep har et signifikant lavere nivå av PCT etter operasjon enn pasienter som har gjennomgått et stort kirurgisk inngrep ($p < 0,05$). De samme tendensene finnes ikke for de to andre markørene. Resultatene er vist i Tabell 1.

Resultatene for de andre analyserte markørene er oppsummert i Tabell 2 og kommenteres ikke videre her. Resultatene fra gruppen av pasienter med uspesifikke komplikasjoner er ikke tatt med i denne artikkelen.

Diskusjon

Pasienter med kliniske tegn til infeksjon har gjennomsnittlig høyere PCT-konsentrasjoner postoperativt sammenlignet med pasienter uten komplikasjoner. Denne observerte differansen er imidlertid ikke statistisk signifikant. De høyeste PCT-verdiene finnes i pasientgruppen med kliniske tegn til infeksjon, men det finnes også pasienter i denne gruppen med PCT-konsentrasjoner rundt og under beslutningsgrensen på 0,5 ng/mL. En tidligere studie utført på 79 barn hvor man hadde mistanke om infeksjon, viste at lokale infeksjoner, uten systemiske manifestasjoner, bare medførte små til middels økninger (0,3-1,5 ng/mL) i PCT-konsentrasjon (5). Det er også hevdet at PCT bare i liten grad øker når

infeksjonen begrenser seg til et vev eller organ uten systemiske manifestasjoner (15).

Det er ikke bare systemiske infeksjoner som får PCT til å stige. Andre faktorer kan også føre til en økning i frigjort PCT, slik som kraftig systemisk inflammasjon, organsvikt og vevsskade, deriblant kirurgisk traume (16-19). Resultatene fra denne studien viser at PCT stiger postoperativt også hos pasienter uten komplikasjoner, og syv av disse hadde en PCT-konsentrasjon over beslutningsgrensen ($\geq 0,5$ ng/mL) dagen etter operasjon. Høyeste nivå ble observert på dag 1 etter inngrepet, som samsvarer med resultater fra andre studier (18,20).

I begge pasientgruppene er det en betydelig variasjon i PCT-konsentrasjonene postoperativt, og pasienter som har gjennomgått et stort abdominalt inngrep har en tendens til å ha en større økning i PCT postoperativt enn pasienter som har gjennomgått et mindre inngrep. Disse resultatene stemmer overens med en tidligere studie av PCT etter ulike typer kirurgiske inngrep (18) hvor man så at konsentrasjonen av PCT var over beslutningsgrensen i alle grupper etter operasjon, og at type kirurgisk inngrep påvirket konsentrasjonen postoperativt. Det ble konkludert med at endotoksiner ved bakteriell kontaminasjon i løpet av operasjonen, for eksempel ved anleggelse av en anastomose, kan indusere frigjøring av PCT. Andre mekanismer, for eksempel produksjon av cytokiner under sårtilhelingen, kan føre til frigjøring av PCT postoperativt og en økning i PCT-konsentrasjonen ved større operativt traume (18). I vår studie hadde alle pasientene abdominal

TABELL 2. Resultater for leukocytter, nøytrofile granulocytter og SR hos pasienter med et normalt postoperativt forløp (N=11) og pasienter med kliniske tegn til infeksjon (N=11). Gjennomsnittsverdier og SD for de to pasientgruppene for dag 0-5 er presentert. I tillegg presenteres P-verdier for sammenligningen av de to gruppene.

	Leukocytter			Nøytrofile granulocytter			SR		
	Normal	Infeksjon	P-verdi	Normal	Infeksjon	P-verdi	Normal	Infeksjon	P-verdi
Dag 0	6,0 ± 1,55	7,0 ± 1,92	0,191	3,7 ± 1,19	4,3 ± 1,54	0,334	16 ± 11,4	26 ± 18,9	0,156
Dag 1	10,5 ± 2,57	12,1 ± 3,14	0,206	8,4 ± 2,24	9,6 ± 3,37	0,328	13 ± 7,4	20 ± 16,1	0,223
Dag 2	9,1 ± 1,01	12,9 ± 4,02	0,011	7,0 ± 0,84	11,1 ± 4,38	0,018	26 ± 12,5	35 ± 15,6	0,233
Dag 3	7,2 ± 1,49	10,6 ± 2,77	0,002	5,1 ± 1,20	8,6 ± 3,00	0,005	32 ± 15,6	52 ± 19,3	0,018
Dag 4	6,3 ± 1,81	8,9 ± 2,62	0,015	4,4 ± 1,51	7,0 ± 2,92	0,018	33 ± 12,8	63 ± 22,1	0,001
Dag 5	7,0 ± 2,09	8,2 ± 2,82	0,276	4,9 ± 1,80	6,3 ± 2,76	0,191	34 ± 15,5	57 ± 20,5	0,022

kirurgi med anleggelse av anastomose. Dette kan være med på å forklare de høye verdiene observert på dag 1, selv om det postoperative forløpet var ukomplisert.

Denne studien viser at det også er store variasjoner innad i gruppene for nøytrofil CD64, men dette kan ikke forklares med type og omfang av det kirurgiske inngrepet, slik som for PCT. Uttrykket av nøytrofil CD64 er gjennomsnittlig høyere hos pasienter med kliniske tegn til infeksjon, men differansen er ikke signifikant før dag 3 postoperativt. Som for PCT, er det høyeste uttrykket av CD64 observert i pasientgruppen med kliniske tegn til infeksjon, men høyt uttrykk av CD64 er også observert hos pasienter med et normalt postoperativt forløp (CD64-indeks > 1,5). Det antyder at også denne markøren blir påvirket av inflammasjon. Som for PCT, viser denne studien at lokale bakterielle infeksjoner bare vil føre til en moderat oppregulering av nøytrofil CD64.

Dagens rutine for påvisning av postoperative infeksjoner er i hovedsak basert på kliniske symptomer og funn i tillegg til daglige målinger av CRP. Svakheter ved denne markøren er beskrevet, slik som en forholdsvis langsom kinetikk, både i forbindelse med stigning og fall (2). Våre resultater viser at CRP øker hos alle pasienter etter operasjon, selv ved et ukomplisert postoperativt forløp. Jensen og medarbeidere beskriver dette som en stor ulempe ved CRP som markør for postoperative infeksjoner, fordi bakterielle infeksjoner påvises sent i det postoperative forløpet (3). Våre resultater viser imidlertid at forskjellen i CRP-konsentrasjon hos pasienter med et normalt postoperativt forløp og pasienter med kliniske tegn til infeksjon er signifikant allerede på dag 1. Det må imidlertid en større studie til for å verifisere våre resultater.

Konklusjon

Denne studien viser at nytten av PCT og nøytrofil CD64 som markører for postoperative infeksjoner er begrenset. Inflammasjon som følge av et kirurgisk traume påvirker produksjonen av begge markørene, og lokale infeksjoner induserer bare moderate økninger. Det er derfor vanskelig å skille mellom forhøyede konsentrasjoner som følge av kirurgi og økninger som følge av lokale infeksjoner. CRP blir også påvirket av inflammasjon som følge av et kirurgisk traume, men for denne markøren er det en signifikant forskjell mellom pasienter med et normalt postoperativt forløp og pasienter med infeksjon postoperativt allerede på dag 1. Dette arbeidet indikerer at CRP er en bedre markør for tidlig påvisning av lokale postoperative infeksjoner enn PCT og nøytrofil CD64. ■

Studien er finansiert av Akershus universitetssykehus med støtte fra Bioingeniørfaglig institutts studiefond. Artikkelen baserer seg på spesialbioingeniør Kristin Husbys masteroppgave i bioteknologi.

Referanser

- Reinhart K, Meisner M, Brunkhorst FM. Markers for sepsis diagnosis: what is useful? *Crit Care Clin*, 2006, 22: 503-19.
- Hoffmann JJML. Neutrophil CD64: a diagnostic marker for infection and sepsis. *Clin Chem Lab Med*, 2009, 47: 903-16.
- Jensen J-U, Løken J, Mohr T. Procalcitonin: Nice to know, need to know, or needs further research? *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007.
- Reith HB, Mittelkötter, Debus ES, Küssner C, Thiede A. Procalcitonin in early detection of postoperative complications. *Dig Surg*, 1998, 15: 260-5.
- Assicot M, Gendrel D, Carsin et al. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet*, 1993, 341: 515-8.
- Linscheid P, Seboek D, Dominik J et al. Expression and secretion of procalcitonin and calcitonin gene-related peptide by adherent monocytes and by macrophage-activated adipocytes. *Crit Care Med*, 2004, 32: 1715-21.
- Muller B, White JC, Nylen ES et al. Ubiquitous expression of the calcitonin-i gene in multiple tissues in response to sepsis. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86: 396-404.
- De Haas M, Vosseveld PJ, dem Borne AE, Roos D. Fc gamma receptors of phagocytes. *J Lab Clin Med*, 1995, 126: 330-41.
- Guyre PM, Campbell AS, Kniffin WD, Fanger MW. Monocytes and polymorphonuclear neutrophils of patients with streptococcal pharyngitis express increased number of type I IgG Fc receptors. *J Clin Invest*, 1990, 86: 1892-6.
- Herra CM, Keane CT, Whelan A. Increased expression of Fc gamma receptors on neutrophils and monocytes may reflect ongoing bacterial infection. *J Med Microbiol*, 1996, 44: 135-40.
- Schiff DE, Rae J, Martin TR, Davis BH, Curnutte JT. Increased phagocyte Fc gammaRI expression and improved Fc gamma-receptor-mediated phagocytosis after in vivo recombinant human interferon-gamma treatment of normal human subjects. *Blood*, 1997, 90: 3187-94.
- van der Meer W, Pickkers P, Scott CS, van der Hoeven JG, Klein Gunnewiek J. Hematological indices, inflammatory markers and neutrophil CD64 expression: comparative trends during experimental human endotoxemia. *J Endotox Res*, 2007, 13: 94-100.
- Elecsys BRAHMS PCT. Product Information, 2010-02, V 4 English.
- Leuko64 kit. Product Information, LK64-v07.2009_EN. Trillium Diagnostics.
- Reinhart K, Carlet J. Procalcitonin – a new marker of severe infection and sepsis. *Intens Care Med*, 2000, 26: 145.
- Meisner M, Reinhart K. Is procalcitonin really a marker of sepsis? *Int J Intensive Care*, 2001, 8: 15-25.
- Meisner M. Pathobiochemistry and clinical use of procalcitonin. *Clin Chim Acta*, 2002, 323: 17-29.
- Meisner M, Tschaikowsky K, Hutzler A, Schick C, Schüttler J. Postoperative plasma concentrations of procalcitonin after different types of surgery. *Intensive Care Med*, 1998, 24: 680-4.
- Castelli GP, Claudio P, Meisner M et al. Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. *Crit Care*, 2004, 8: 234-42
- Lindberg M, Hole A, Johnsen H et al. Reference intervals for procalcitonin and C-reactive protein after major abdominal surgery. *Scand J Clin Lab Invest*, 2002, 62: 189-94.