



SECONDA UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI

La Sepsì

Maria Antonietta Tufano

La Sepsì è una Sindrome Clinica
caratterizzata da un insieme di alterazioni
immunologiche, metaboliche, emodinamiche,
respiratorie, secondarie a un processo
infettivo (*interazione tra ospite e agente infettante*)
e provocata da una abnorme risposta
infiammatoria dell'organismo (SIRS).

SIRS

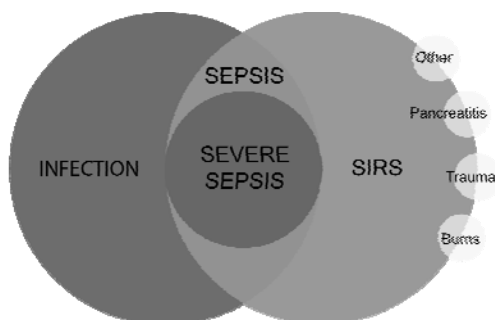
La SIRS (o Sindrome da Risposta Infiammatoria Sistemica) definisce la risposta infiammatoria aspecifica dell'organismo ad una liberazione di mediatori infiammatori e la sua diagnosi richiede la presenza di 2 o più tra i seguenti segni clinici:

Temperatura corporea $> 38^{\circ}\text{C}$ o $< 36^{\circ}\text{C}$;
Frequenza cardiaca > 90 battiti/min;
Frequenza respiratoria > 20 atti/min;
Iperventilazione ($\text{PaCO}_2 < 32$ mmHg);
WBC $> 12.000/\text{mm}^3$ o $< 4.000/\text{mm}^3$;
Neutrofili immaturi $> 10\%$;

Questi segni, per poter confermare la diagnosi di SIRS, devono essere di recente comparsa e ad evoluzione acuta

E' importante sottolineare che la SIRS è una risposta aspecifica a svariati eventi morbosi come l'ischemia, il trauma multiplo, la pancreatite, il danno termico, lo shock, l'infezione....

SIRS



- $T > 38^{\circ}\text{C}$ o $< 36^{\circ}\text{C}$

- $\text{FC} > 90$ bpm

- $\text{FR} > 20/\text{min}$

- $\text{GB} > 12,000$ o $< 4,000/\text{mL}$

o $> 10\%$ di bands

✓ Dati recenti indicano che intervengono anche cambiamenti emostatici

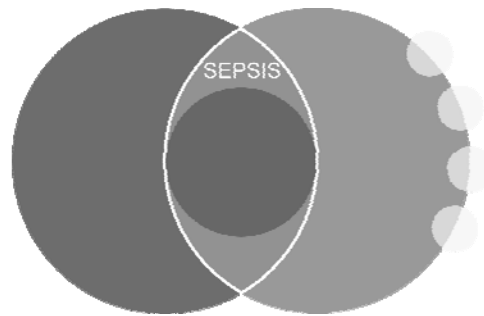
Modificato da: Bone RC et al. *Chest*. 1992;101:1644-55.
Opal SM et al. *Crit Care Med*. 2000;28:S81-2.

Sepsi : SIRS + Infezione

Sepsi:

- Infezione conclamata o probabile
- Due o più criteri di SIRS

Un collegamento significativo con le alterazioni dell'emostasi



Adapted from: Bone RC et al. *Chest*. 1992;101:1644-55.

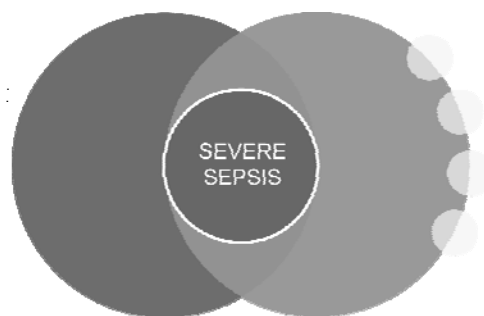
Sepsi Grave : Disfunzione acuta d'organo e alterazioni dell'emostasi

Sepsi Grave:

Sepsi con segni di disfunzione

d'organo in ≥ 1 dei seguenti sistemi :

- Cardiovascolare
- Renale
- Respiratorio
- Epatico
- Emostasi
- SNC
- Acidosi metabolica inspiegabile



Modalità con le quali i microrganismi raggiungono l'apparato cardiocircolatorio

- Ferite cutanee : accidentali, chirurgiche
- Lesioni mucose : accidentali, chirurgiche, per pratiche di igiene orale
- Morsicature : animali, uomo incluso
- Iniezioni : farmaci, droghe, tatuaggi
- Trasfusioni
- Cateterismi intravascolari
- Propagazione da processi infettivi

Porta d'ingresso dei microrganismi

- a partenza dal cavo orale
streptococchi β -emolitici, stafilococchi
- dall'apparato digerente
enterobatteri, batteri anaerobi
- dalle vie urinarie
enterobatteri (*E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter*, Enterococchi,
Gram- non fermentanti)
- dall'apparato genitale femminile
enterobatteri, batteri anaerobi
- di origine iatrogena
enterobatteri (contaminanti di infusioni)
Legionella spp., *Pseudomonas spp.* (ventilazione assistita)
Stafilococchi coagulasi positivi e negativi, *Pseudomonas spp.*, KES (cateteri venosi, protesi)

Annotazioni relative ai più comuni casi di sepsi causate da batteri

<i>Bacillus</i> spp.	Si può verificare soprattutto in tossicodipendenti o in soggetti con cateteri intravenosi; non infrequente, come complicanza, un'endocardite; si sottolinea un caso di sepsi ricorrente da <i>B. subtilis</i> in soggetto immunocompromesso ¹
<i>Campylobacter</i> (già <i>Vibrio fetus</i>)	Anche se raramente, provoca batteriemie con febbre intermittente; nei soggetti debilitati, in donne gravide e in neonati può essere causa di sepsi molto gravi; lo strato proteico S lo protegge, a mo' di capsula, dalla fagocitosi
<i>Enterobacteriaceae</i> spp. e batteri anaerobi intestinali	In caso di appendicite con perforazione intestinale
<i>Escherichia coli</i>	Si può verificare in corso di pielonefrite
<i>Haemophilus influenzae</i>	Gravi forme setticemiche si hanno nei neonati, per la presenza di ceppi non tipizzabili nell'apparato genitale materno, dove possono essere causa di processi infettivi a carico di endometrio e amnios
<i>Listeria monocytogenes</i>	Si verificano in neonati e in adulti, in genere immunocompromessi; possibile la localizzazione nel SNC, con conseguente meningoencefalite
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Anche se non frequentemente, forme gravi di sepsi, cui può conseguire meningite, si possono verificare nella malattia gonococcica disseminata, dovuta a particolari ceppi che hanno la capacità di diffondere nel circolo ematico
<i>Neisseria meningitidis</i>	Una sepsi meningococcica si può avere anche in soggetti sani; può essere la partenza di una localizzazione meningea, così come la sepsi può aversi in corso di meningite; si ricorda la sindrome di Waterhouse-Friderichsen, caratterizzata da insufficienza dei surreni per la mancata perfusione di questi organi, dovuta a fenomeni di coagulazione intravascolare
<i>Pasteurella multocida</i>	Gli eventi che portano a una grave forma di sepsi sono morsi o graffi di cani o gatti, in cui questo batterio è residente orale, come in molti altri animali, domestici e no

Annotazioni relative ai più comuni casi di sepsi causate da batteri

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Sono varie le condizioni predisponenti, di cui le più importanti sono l'immunocompromissione e le ustioni; sono prevalentemente nosocomiali e ad alta letalità
<i>Staphylococcus aureus</i>	Anche se, con il prevalere delle forme nosocomiali, ha lasciato maggior spazio ai Gram-negativi, è ancora tra le cause frequenti di sepsi, date le sue caratteristiche di germe chemioresistente; arriva al sangue da focolai infettivi (ferite, ustioni, osteomielite, polmonite, cateteri intravenosi infetti); può portare a endocardite, con aggravamento della prognosi; la tossina della sindrome da shock tossico (TSST-1) è una modulina di natura proteica, che entra in gioco nelle infezioni genitali delle giovani donne
<i>Staphylococcus epidermidis</i> e altre spp. coagulasi-negative	È fattore predisponente, la presenza di cateteri vascolari, "condizionati" dall'ospite con depositi di fibronectina alla quale i batteri aderiscono
<i>Streptococcus agalactiae</i>	È una delle cause più comuni di sepsi nei neonati (oltre che di meningite); il neonato può infettarsi dalla propria madre nel passaggio attraverso il canale del parto (forma precoce), o dopo la nascita, dall'ambiente (forma tardiva)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Un tempo, comune responsabile di sepsi puerperale a elevata letalità; è stato, con lo <i>S. aureus</i> , la più frequente causa di sepsi, ruolo attualmente ridimensionato per il prevalere delle forme nosocomiali; è, tuttavia, responsabile di casi di sindrome da shock tossico, in cui il ruolo di modulina spetta prevalentemente all'esotossina pirogena A, potente induttore di TNF
<i>Yersinia enterocolitica</i>	La sepsi – possibile anche in seguito a trasfusione – si ha soprattutto in soggetti in stato di debilitazione: diabete, cirrosi, tumori, età avanzata; si possono avere varie localizzazioni: fegato, milza, meningi, endocardio
<i>Yersinia pestis</i>	La sepsi è una manifestazione che si verifica comunemente nella peste, tanto che, in questo caso, si parla di "peste setticemica"

Linfociti e monociti	
CMV	Si replica e dà infezione latente
EBV	Si replica e dà infezione latente nei linfociti B che vengono "immortalizzati"
HSV	Sembrano possibili infezione e latenza
Virus del morbillo	Dopo la moltiplicazione nell'epitelio respiratorio, infetta i leucociti – linfociti B, linfociti T, monociti – (prima viremia) e da qui il SRE e poi, nuovamente i leucociti (seconda viremia)
Monociti	
<i>Listeria monocytogenes</i> e altri batteri intracellulari	Vi si moltiplicano o, da essi, si fanno trasportare in circolo nell'organismo
HIV-1	È dal monocita – indicato per questo motivo con l'epiteto di "cavallo di Troia" – che l'HIV può essere veicolato al SNC
Virus Dengue	Si replica nei monociti
<i>Leishmania donovani</i>	Infetta regolarmente i monociti circolanti
PMN	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	La streptolisina S può ledere la membrana del fagolisosoma, liberando i batteri nel citoplasma dove si moltiplicano per poi evadere all'esterno
<i>Staphylococcus aureus</i>	Una parte dei germi fagocitati sopravvive nei vacuoli fagocitici
<i>Brucella spp.</i>	Vi sopravvivono e si moltiplicano

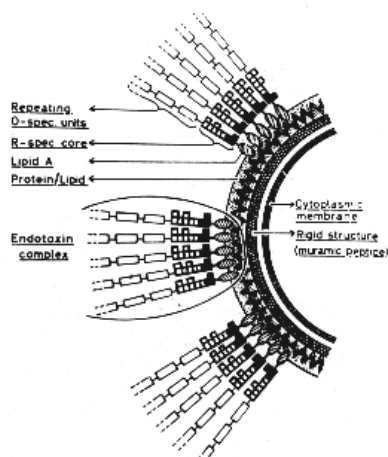
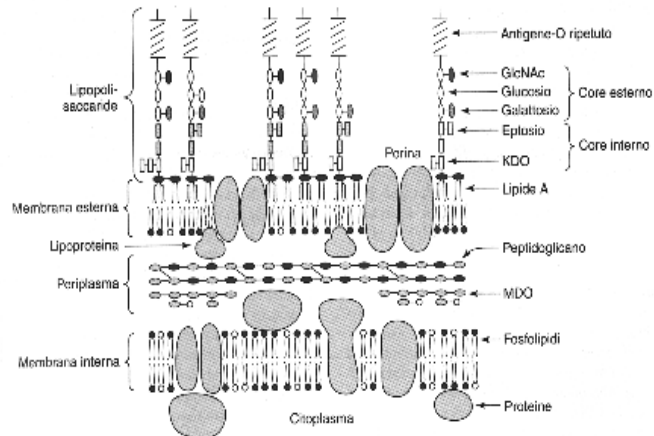
Batteriemie e sindromi settiche

842 episodi di batteriemia

	<i>sepsi</i>	<i>sepsi severa</i>
Gram positivi (n=473=55%)		
<i>S.aureus</i>	19,3%	19,8%
<i>S.coagulasi</i> ⊕	11,2%	6%
Enterococchi	5,5%	3,6%
Gram negativi (n=407=45%)		
<i>E.coli</i>	28,1%	22,6%
<i>Klebsiella spp</i>	3,4%	5,2%
<i>Enterobacter, Citrobacter spp</i>	2,5%	4,4%
<i>Ps.aeruginosa</i>	2,7%	5,6%
<i>Acinetobacter spp</i>	0,6%	2%
<i>Candida ed altri miceti</i>	1,2%	2,4%

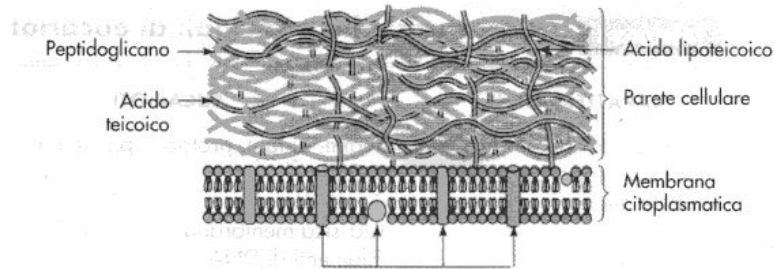
Brun-Buisson C

Gli involucri dei batteri Gram negativi



Particolare della parete dei batteri Gram negativi

Il peptidoglicano



Le Strutture microbiche che interagiscono con il sistema immunitario innato vengono denominate PAMPS (*pathogen - associated molecular patterns*).

FATTORI MICROBICI più importanti sono:

- LPS dei Gram - (*in particolare la componente lipidica A*), Porine
- Mucopolisaccaride di superficie dei Gram +
- Peptidoglicano, Acido lipoteicoico
- Ag virali e fungini (mannani),
- Lipoarabinomannano dei micobatteri
- La TSST-1 di *S. aureus*
- Tossine pirogene di *S. pyogenes*

Sepsi da bacilli Gram negativi

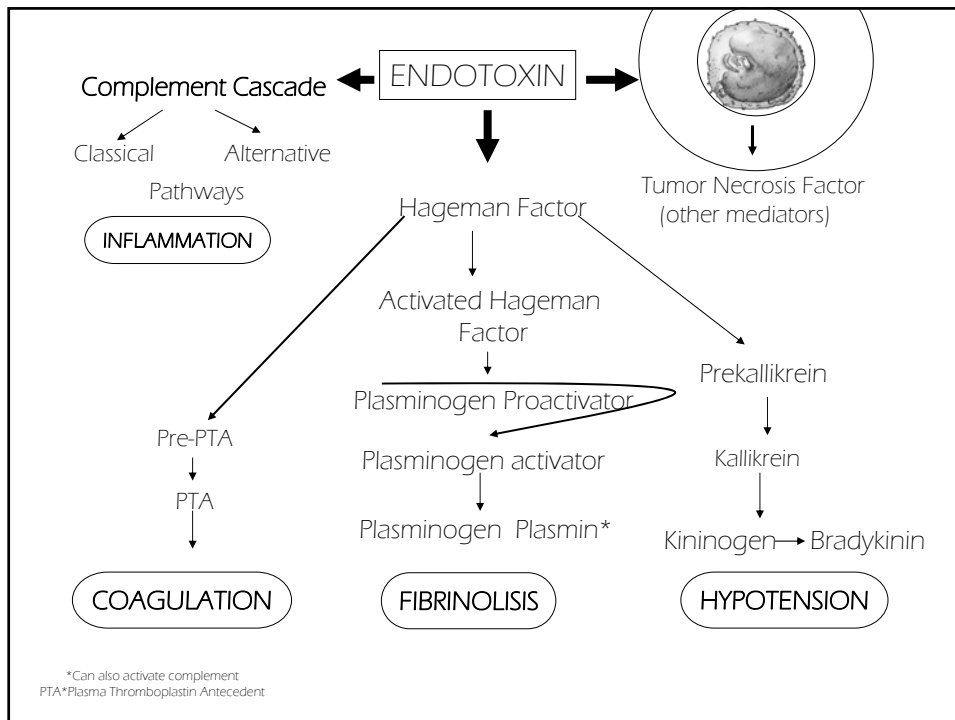
Fattori favorenti

- **farmaci immunosoppressivi e antimetabolici**
 - **abuso di chemioantibiotici a largo spettro**
 - **cateteri vescicali e venosi permanenti**
 - **tracheostomia, ventilatori meccanici**
 - **interventi chirurgici radicali**
 - **età avanzata**
 - **terapia endovenosa con soluzioni contaminate**
 - **migliorata sopravvivenza di pazienti a prognosi infausta**

Attività biologiche dell'endotossina

BOX 24-2 Endotoxin-Mediated Toxicity

- **Fever**
- **Lukopenia followed by leukocytosis**
- **Activation of complement**
- **Thrombocytopenia**
- **Disseminated intravascular coagulation**
- **Decreased peripheral circulation and perfusion to major organs**
- **Shock**
- **Death**



Effetti biologici delle porine

- rilascio di citochine infiammatorie da linfomonociti
- rilascio di PAF da PMN, cellule mesangiali e HUVEC
- attivazione del complemento
- effetto procoagulante su trombina, fibrinogeno o su entrambi

L'endotelio ha un ruolo molto importante nell'evoluzione sepsigena in quanto è contemporaneamente bersaglio e produttore di mediatori

- Alcuni contribuiscono all'amplificazione del danno e alla evoluzione verso la sepsis syndrome
- Altri hanno effetto di feed-back e possono essere in grado di ristabilire l'omeostasi

Fisiopatologia della SEPSI

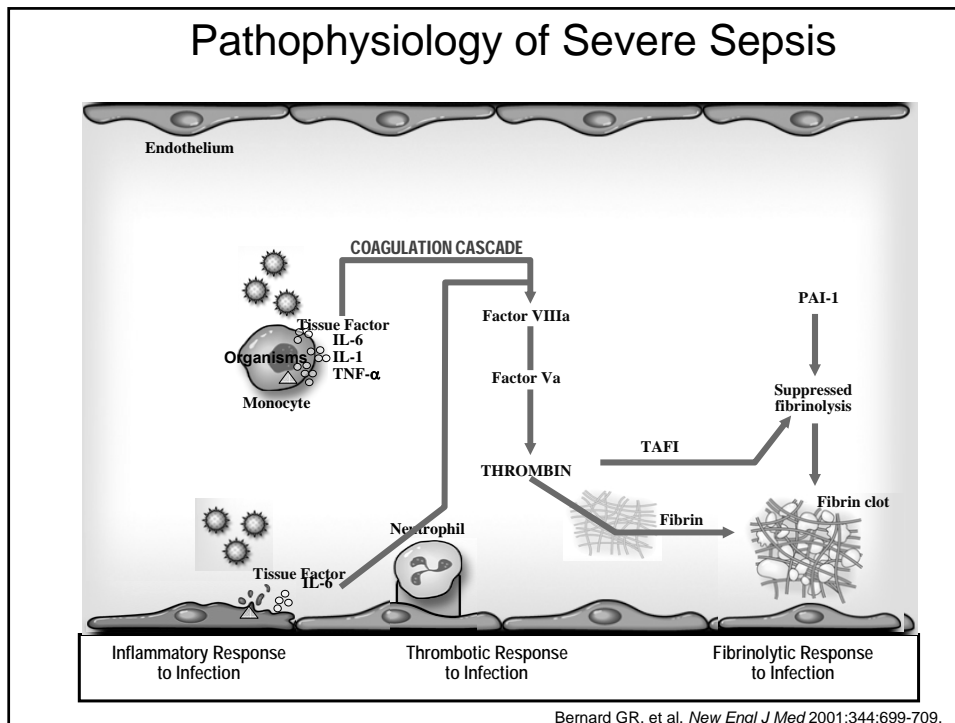
Gli eventi iniziali della sequenza della sepsi, scatenati dalla risposta immunitaria eccessiva del soggetto, sono caratterizzati dal danno diretto all'endotelio.

Il danno all'endotelio provoca :

- Attivazione dei neutrofili,
- Adesione degli stessi alle cellule dell'endotelio
- Produzione di citochine proinfiammatorie come IL-1a, IL-1b e TNF-a che inducono l'espressione del **Fattore Tissutale (TF)** attivatore della coagulazione.

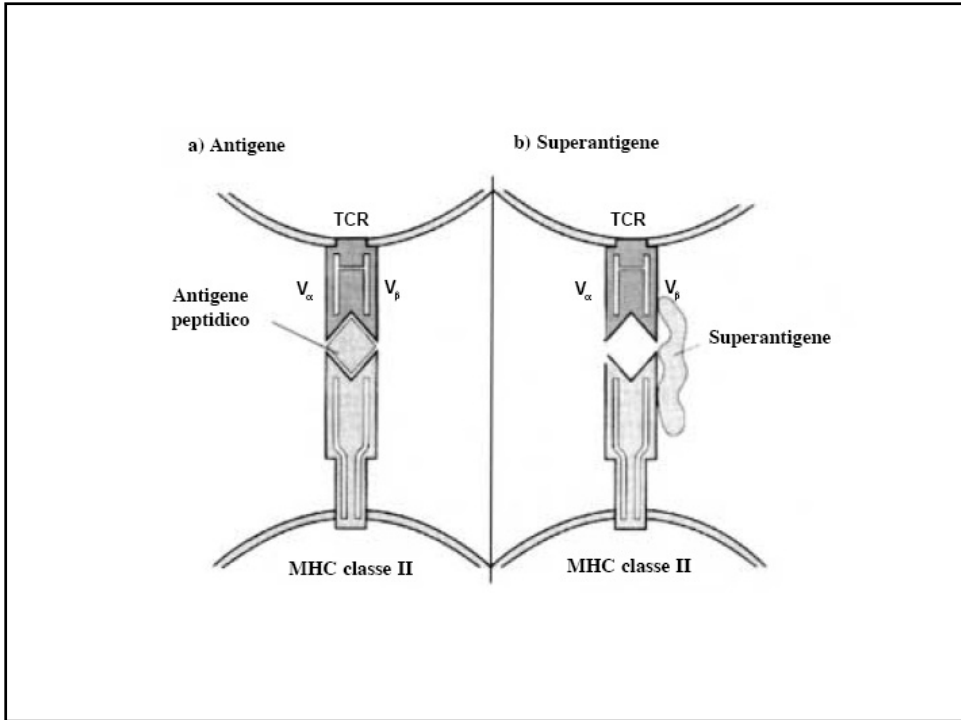
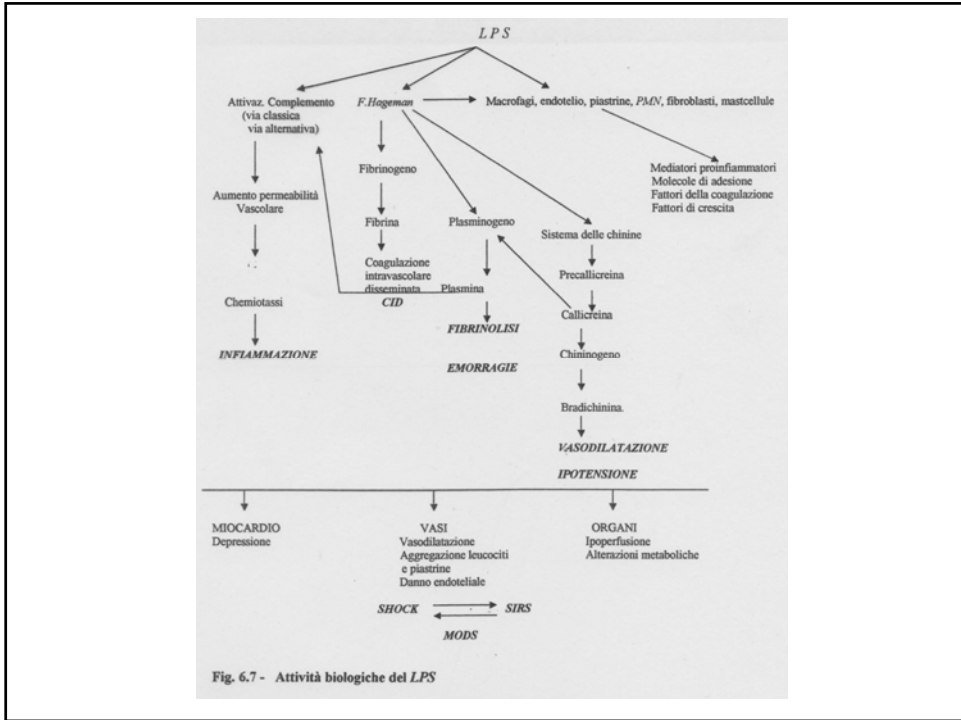
I **mediatori infiammatori, liberati in eccesso**, determinano lesione tissutale e un conseguente sviluppo di diffuso danno ai capillari.

Pathophysiology of Severe Sepsis



MEDIATORI DELL'OSPITE, liberati in risposta allo stimolo infettivo e implicati nella patogenesi della sepsi

- Metaboliti attivi del complemento (C5a)
- Le chinine
- I fattori del sistema della coagulazione
- Citochine, TNF alfa, PAF, IL-1,
- Enzimi e sostanze ossidanti prodotte dai PMN,
- Peptidi vasoattivi
- Prodotti del metabolismo dell'acido arachidonico (PG, Tx, leucotrieni).



INDAGINI MICROBIOLOGICHE

EMOCOLTURA

L'emocoltura ha assunto negli ultimi anni un'importanza crescente prevalentemente per l'aumentata incidenza di sepsi in pazienti immunodepressi.

L'efficacia ed il significato clinico dell'emocoltura dipendono da molteplici aspetti metodologici ed interpretativi.

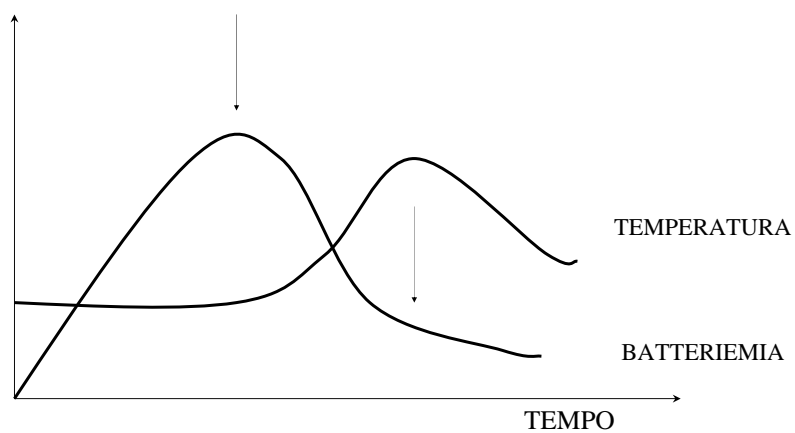
Nella fase preanalitica le modalità di prelievo ed il numero dei campioni rappresentano elementi di fondamentale importanza.

Emocoltura

Prelievo

- **pulizia meccanica della cute**
- **decontaminazione accurata con alcool iodato**
- **prelievo sterile, meglio, con Vacutainer**
- **scelta di un idoneo anticoagulante**
- **volume adeguato**
- **numero di campionamenti**
- **tempi di campionamento**
- **notazione di eventuale trattamento antibiotico)**

Emocoltura dovrebbe essere raccolta prima del rialzo termico.



Emocoltura

Semina e incubazione (tradizionale)

- **semina in terreni liquidi bifasici, in aerobiosi e in anaerobiosi**
- **scelta del terreno idoneo allo sviluppo di germi esigenti**
- **scelta di un terreno elettivo per ricerche mirate**
- **osservazione della coltura con sub-colture quotidiane per 7-10 gg**

Emocoltura

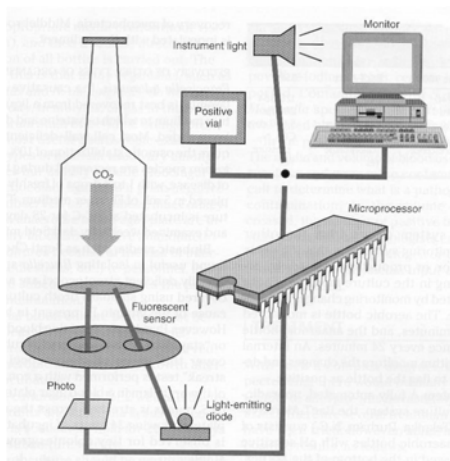
Metodi automatizzati

- **rivelazione colorimetrica della crescita (BactAlert)**
- **rivelazione della crescita per fluorescenza (Vital)**
- **metodo radiometrico (Bactec)**

BacT/ALERT

tecnologia di lettura

La tecnologia di lettura del Sistema Bact Alert è basata su un metodo colorimetrico sensibile alla produzione di CO₂ (variazione del pH) che determina il cambiamento di colore del sensore che viene rilevato ed analizzato dallo strumento



Osservazione delle bottiglie per almeno 7 giorni
Per 14 giorni in caso di endocardite o sospetta fungemia

Emocoltura

Vantaggi dei metodi automatizzati

- ridotto pericolo per l'operatore
- terreni ricchi in grado di far crescere germi esigenti
- elevata sensibilità e specificità

Emocoltura

Interpretazione

- contaminazione da batteri cutanei (*S. epidermidis*, corinebatteri, *Propionibacterium*)
- carica microbica
- ripetuta positività

EMOCOLTURA

interpretazione risultati : come identificare i falsi positivi
(aspetti microbiologici)

- Positività per flora cutanea
- Positività per flora polimicrobica
- Positività tardiva

EMOCOLTURA

interpretazione risultati : falsi negativi

- Terapia antimicrobica
- Germi "difficili"
- Germi con esigenze colturali diverse

*Micobatteri, Legionelle, Coxiella burnetii, Clamidio, (Miceti),
Forme L, Virus*

3 Principali criticità tecniche e cliniche dell'analisi emoculturale

tabella

Criticità tecniche

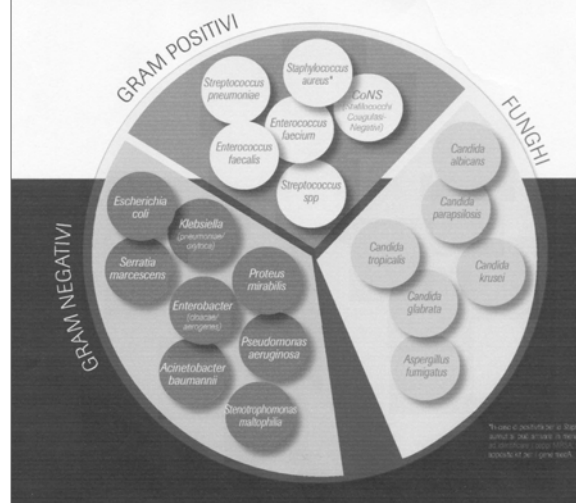
- Disinfezione
- Volume
- Mezzo di coltura
- Rapporto inoculo/brodo
- Tempo di incubazione
- Temperatura di incubazione
- Atmosfera di incubazione
- Agitazione
- Additivi

Criticità cliniche

- Metodo del prelievo
- Numero e timing dei campioni
- Precedente terapia antibiotica

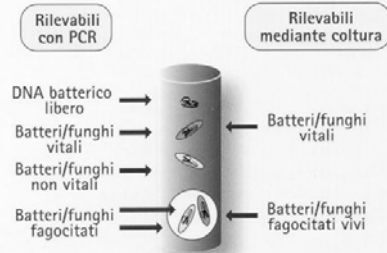
Sistema SeptiFast

in meno di 6 ore, identificazione simultanea dei 25 più importanti funghi e batteri causa di sepsi^{1,2}



3 Differenti rilevazioni di SeptiFast rispetto ad emocoltura

figura



6 Confronto dei metodi

tabella

	Emocoltura	SeptiFast
<ul style="list-style-type: none"> • TAT • Target 	<ul style="list-style-type: none"> • 3-4 giorni • solo patogeni vitali 	<ul style="list-style-type: none"> • in giornata • patogeni vitali e non vitali
<ul style="list-style-type: none"> • Antibiogramma • Sensibilità • Miceti • Pazienti • Costo • Personale 	<ul style="list-style-type: none"> • completo • buona identificabili • tutti • medio • presente 	<ul style="list-style-type: none"> • mecA • buona identificabili • da selezionare • molto elevato • ad hoc

9 I vantaggi di SeptiFast

tabella

- Un solo campione di sangue (1.5 ml)
- Riduzione dei tempi di rilevazione (6 ore)
- Maggiore sensibilità (più risultati positivi rispetto ai metodi colturali)
- Maggiore specificità (meno contaminanti rispetto ai metodi colturali)
- Risultati in grado di orientare la terapia
- Migliore identificazione di polinfezioni
- Percentuali di positività più alte per le infezioni fungine
- Nessuna influenza da parte degli antibiotici nei pazienti trattati

Markers bioumorali
della Sepsi

I Markers della Sepsi

- Procalcitonina (PCT)
- Proteina C reattiva (CPR)
- TREM-1
- TNF
- IL – 1,2,6 e 8
- C3a

Cinetica PCT

- Aumenta dopo 3 – 4 h
- Picco dopo 6 h
- Plateau dopo 24 h
- Emivita tra 25 e 30 h
- Degradata da proteasi specifiche
- Eliminata dal rene.

Livelli plasmatici di PCT nelle infezioni batteriche

Classificazione di Bone	PCT (ng/mL)	n. di pazienti (143)
No sepsi	0.12 ± 0.04	22
Sepsi	2.36 ± 0.59	96
Sepsi grave	37.10 ± 16.40	19
Shock settico	44.80 ± 22.00	6

Proteina C reattiva (CRP)

- Proteina della fase acuta (pentraxine) prodotta nel fegato
- Rilasciata su stimolo di IL-6 e 8
- Aumenta dopo 4-6 h
- Emivita circa 28 h
- Non aumenta in corso di infezioni acute virali
- Individui sani = valore tra 0.2 e 0.4 mg/dl
- Valori di CRP > 8 mg/dl sono predittivi di sepsi (Sens. 94.3%; Specif. 87.3%)

Variazione dei valori di CRP in corso di SIRS e Sepsis

Table 2 Distribution of C-reactive protein values of non-infected and infected patients with systemic inflammatory response syndrome according to its number of signs

Number of signs of SIRS	CrP concentration, mg/dl ^a	
	Non-infected SIRS patients <i>n</i> =55	Sepsis patients <i>n</i> =70
2	0.95 (0.4–4.7)	17.4 (11.9–22.5) ^b
3	3.45 (1.9–8.5)	18.3 (15.3–21.7) ^b
4	2 (0.8–7.1)	19.9 (16.5–25.9) ^b

n number, SIRS systemic inflammatory response syndrome, CrP serum C-reactive protein

^a Data expressed as median values (95% confidence interval)

^b $p < 0.001$ between non-infected and infected SIRS groups

No significant differences within subgroups of SIRS according to its number of signs

CRP used as an early indicator of infection in patients with SIRS. R. Sierra et al. *IntCareMed* 2004