



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia

**Protocollo di “patient-tailored therapy”
nel paziente con sepsi: studio
osservazionale retrospettivo**

Relatore:
Dott. Andrea Carsetti

Tesi di Laurea di:
Maria Chiara Ugili

A.A. 2019/2020

INDICE

1. INTRODUZIONE.....	3
2. DEFINIZIONE DI SEPSI, SEPSI GRAVE E SHOCK SETTICO.....	6
3. EPIDEMIOLOGIA.....	11
4. FISIOPATOLOGIA DELLA SEPSI.....	14
5. BIOMARKERS.....	21
6. SCORE DI SEVERITA'.....	35
7. CLINICA E PRINCIPI DI TERAPIA.....	40
8. OBIETTIVI DELLO STUDIO.....	53
9. MATERIALI E METODI.....	55
9.1.CRITERI DI INCLUSIONE.....	58
9.2.CRITERI DI ESCLUSIONE.....	58
9.3.ANALISI STATISTICA.....	58
10. RISULTATI.....	60
11. DISCUSSIONE.....	70
12. CONCLUSIONE.....	75
13. BIBLIOGRAFIA.....	76

ABSTRACT

Background

I pazienti settici rappresentano una popolazione eterogenea. Per questo motivo è importante che i trattamenti siano personalizzati in base alle caratteristiche del paziente, alla fonte di infezione, ai patogeni coinvolti, alla gravità della disfunzione degli organi. L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare come la mortalità per lo shock settico sia cambiata dopo l'istituzione di un protocollo *terapeutico su misura per il paziente* nella SOD "Clinica di Anestesia e Rianimazione Generale, Respiratoria e del Trauma maggiore" dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Ospedali Riuniti di Ancona.

Metodo

Studio osservazionale retrospettivo comprendente 100 pazienti consecutivi (≥ 16 anni) con diagnosi di shock settico, secondo i criteri dell'International Sepsis Definition Conference del 2001, ammessi nella SOD "Clinica di Anestesia e Rianimazione Generale, Respiratoria e del Trauma maggiore" dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Ospedali Riuniti di Ancona dopo l'istituzione di un protocollo terapeutico su misura per il paziente, rispetto a un gruppo di controllo storico di 100 pazienti. Il protocollo terapeutico su misura del paziente include l'uso d'immunoglobuline arricchite con IgM per pazienti con bassi livelli di IgM plasmatiche, strategie di purificazione del sangue per pazienti con alti livelli plasmatici di citochine o endotossine, correzione dell'albumina e modulazione degli agenti vasoattivi. I parametri clinici e terapeutici sono stati annotati al momento della diagnosi di shock settico e per le prime 24 ore. L'outcome primario valuta la mortalità in terapia intensiva.

Risultati

La mortalità in terapia intensiva si è mostrata inferiore nella coorte con terapia su misura del paziente rispetto alla coorte con terapia standard (32% contro 57%, $p < 0,001$). La terapia su misura per il paziente è stata associata ad un minor rischio di mortalità in terapia intensiva, anche in seguito all'adeguamento dei principali indici di gravità clinica (odds ratio aggiustato 0,273 [intervallo di confidenza al 95% 0,132-0,566], $p < 0,001$). Dopo la valutazione del *Propensity score*, sono stati selezionati 54 pazienti nella coorte standard e 54 pazienti nella coorte con terapia su misura del paziente, con caratteristiche generali simili. La mortalità in terapia intensiva era così inferiore nel sottogruppo associato alla *tailored-therapy* rispetto al sottogruppo di terapia standard (31,5% contro 55,6%, $p = 0,019$).

Conclusioni

Un approccio terapeutico individualizzato nei pazienti settici può essere associato ad un beneficio in termini di sopravvivenza. Sono necessari ulteriori studi per dimostrare l'impatto della *terapia su misura del paziente* sui risultati.

1- INTRODUZIONE

La sepsi è definita come una disfunzione d'organo, con pericolo per la vita, causata da una inappropriata risposta dell'ospite all'infezione (1). La disfunzione d'organo può essere identificata come cambiamento acuto nel punteggio totale del SOFA Score di 2 punti, conseguente all'infezione. L'incidenza della sepsi è in costante aumento come conseguenza di più fattori come l'invecchiamento della popolazione, l'aumentata sopravvivenza a malattie croniche e neoplastiche, l'estendersi di terapie immunosoppressive e antibiotiche; essa rappresenta probabilmente la prima causa di morte nel paziente critico (2).

I pazienti settici costituiscono una popolazione estremamente eterogenea (3), sia per la complessità fisiopatologica alla base di questa sindrome, che per le differenti caratteristiche di base dei singoli pazienti. A tale proposito bisogna tenere in considerazione la riserva fisiologica del paziente, le preesistenti comorbidità e l'entità delle disfunzioni d'organo; per questa ragione, non è possibile avere una sola terapia che sia efficace per tutti (4,5). Pertanto il paziente settico può essere trattato con un protocollo di *patient tailored therapy*. La gestione del paziente settico si fonda su controllo dell'infezione, supporto alla funzionalità d'organo, basato sul ripristino e sul mantenimento di un adeguato stato emodinamico, modulazione della risposta immunitaria (6). Il controllo dell'infezione consiste nell'impiego di un'antibioticoterapia adeguata, che deve essere somministrata nei tempi e nei dosaggi giusti a seconda delle caratteristiche del paziente e del tipo di infezione (7). Il mantenimento di un buono stato emodinamico consiste nell'impiego di fluidi e vasopressori al fine di garantire un'adeguata perfusione d'organo, volta ad evitare l'ipoperfusione tissutale e la conseguente ipossia, che peggiorerebbero le disfunzioni d'organo (6). Uno dei più importanti eventi responsabili di morbidità e mortalità nei pazienti con sepsi è lo sviluppo di un'insufficienza

cardiovascolare con conseguente ipossia tissutale globale. Quest'ultima deriva da meccanismi multipli che includono ridotto precarico, disfunzioni della vasoregolazione, depressione miocardica, aumento della domanda metabolica e ridotto utilizzo dell'ossigeno tissutale legato a disfunzioni microcircolatorie e ipossia citopatica. L'ipotensione arteriosa è l'espressione più severa della disfunzione circolatoria. Si ritiene che l'ossido nitrico (NO) giochi un ruolo centrale nella vasodilatazione che accompagna lo shock settico. Un potenziale fattore che contribuisce a sostenere la vasodilatazione è un'inadeguata secrezione compensatoria dell'ormone antidiuretico (vasopressina). Nella circolazione regionale, l'iporesponsività vascolare indotta dalla sepsi porta ad una considerevole eterogeneità nella normale distribuzione del flusso sanguigno tra i vari organi. Per esempio la sepsi interferisce con il normale meccanismo di centralizzazione del circolo (dal circolo splancnico agli organi vitali come cuore e cervello) quando la disponibilità di ossigeno è ridotta. L'endotelio è l'organo bersaglio più rilevante nello sviluppo della sindrome settica. Il "leakage capillare" conseguente al suo danno riduce con vari meccanismi l'utilizzazione di substrati e di ossigeno da parte dei tessuti colpiti ed è il responsabile ultimo dell'ipossia tissutale globale che accompagna la sepsi severa e lo shock settico. Recenti evidenze suggeriscono che la terapia fluidica e vasopressoria vada ottimizzata e quindi personalizzata in ogni singolo paziente sulla base di parametri clinici e laboratoristici indicativi dello stato di perfusione d'organo (6).

Il raggiungimento di una MAP target di 80-85 mmHg o di 65-70 mmHg in pazienti in shock settico non ha evidenziato una sostanziale differenza da un trial multicentrico *Asfar et al.*, ma i pazienti con ipertensione cronica andavano incontro a minor rischio di insufficienza renale se trattati con target pressorio più alto. Al di sotto di una certa pressione arteriosa media si perde l'autoregolazione a livello di alcuni distretti vascolari e la perfusione diventa dipendente, in modo lineare, dalla pressione. Nel caso in cui un appropriato reintegro volemico non sia sufficiente per migliorare la pressione arteriosa e la

perfusionazione degli organi, è dunque necessario iniziare la terapia con vasopressori. Questa terapia può occasionalmente essere iniziata precocemente, durante la fase di reintegro volumico, per sostenere transitoriamente le funzioni vitali e per mantenere la perfusione nei casi in cui l'ipotensione diventi rischiosa per la vita stessa del malato.

Per quanto riguarda la modulazione della risposta immunitaria non si è ancora riusciti a trovare una singola terapia in grado di migliorare la risposta dell'ospite all'infezione (6). Allo stato attuale, sono disponibili numerose opzioni di trattamento, tra cui le immunoglobuline endovenose per pazienti settici con bassi livelli di IgG ed IgM circolanti o le strategie di rimozione extracorporea per pazienti con elevati livelli di citochine o endotossine circolanti (6). Tuttavia, molti di questi trattamenti, presi singolarmente, non hanno mostrato una chiara correlazione positiva con l'outcome.

I pazienti che sopravvivono possono avere pesanti ricadute sul loro stato generale e sulla qualità di vita una volta dimessi dall'ospedale. Così come un precoce riconoscimento di un infarto miocardico acuto implica una maggiore quota di miocardio risparmiato, un precoce riconoscimento della sepsi significa maggiori probabilità di sopravvivenza e maggior numero di vite salvate. Per questo, è fondamentale iniziare precocemente la terapia, sia di supporto che antibiotica, la quale andrà successivamente variata in modo da risultare mirata al germe infettante e ridurre le probabilità di sviluppo di resistenza (7). In questo scenario è possibile inserire l'uso di biomarcatori di infezione e di disfunzione d'organo al fine di rendere la diagnosi specifica sempre più precoce e valutare la risposta alla terapia, possibilmente con sensibilità e specificità idonei a prendere delle decisioni cliniche.

2- DEFINIZIONE DI SEPSI, SEPSI GRAVE E SHOCK SETTICO

In Europa, fin dalla definizione data da Schottmuller (1914), i termini “sepsi” e “setticemia” furono identificati come sinonimi e vennero usati per indicare un’infezione batterica generalizzata con batteriemia persistente (8). Nel 1989-1991, Bone et al. attribuirono alla sindrome settica una definizione semplice basata sull’associazione tra sintomatologia clinica e presenza di una sorgente d’infezione documentata.

Nel 1991-1992 i membri dell’American College of Chest Physicians (ACCP) e la Society of Critical Care Medicine (SCCM) svilupparono una definizione più precisa (9). Essi introdussero il concetto di SIRS, ovvero l’attivazione di una risposta infiammatoria sistemica grave, infettiva e non, che si manifesta quando sono presenti due o più tra le seguenti condizioni:

- Temperatura corporea $> 38^{\circ}\text{C}$ o $< 36^{\circ}\text{C}$
- Frequenza cardiaca > 90 battiti al minuto
- Frequenza respiratoria > 20 atti al minuto oppure $\text{PaCO}_2 < 32$ mmHg
- Conta leucocitaria $> 12000/\text{mm}^3$ o $< 4000/\text{mm}^3$ oppure $> 10\%$ di forme immature.

I criteri SIRS non indicano necessariamente una risposta disregolata pericolosa per la vita (1).

Per SEPSI si intende quindi una condizione in cui sono presenti contemporaneamente una risposta infiammatoria sistemica associata ad un’infezione presunta e/o accertata.

Si definisce invece con il termine SEPSI GRAVE una condizione caratterizzata da disfunzione d’organo, ipoperfusione o ipotensione. Possono essere coinvolti apparati, organi o sistemi:

- Apparato Cardiovascolare: in particolare è bene valutare l'eventuale presenza di ipotensione che può determinare acidosi metabolica da ipoperfusione tissutale
- Rene
- Apparato Respiratorio
- Coagulazione
- Funzionalità epatica
- Sistema Nervoso Centrale.

Per SHOCK SETTICO si intende una sepsi talmente grave da provocare ipotensione nonostante adeguata infusione di liquidi (fluid resuscitation) e la necessità di ricorrere ad una terapia con farmaci vasopressori e/o inotropi.

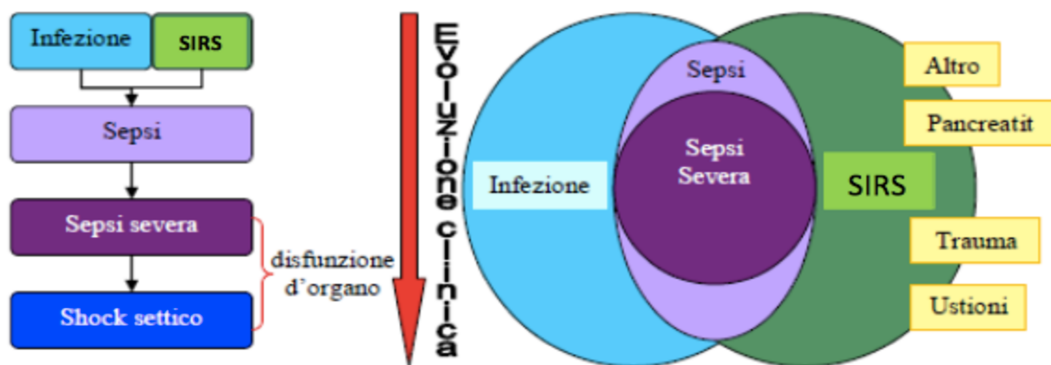


Figura 1-Relazione tra infezione, SIRS e Sepsì (Nystrom P.O.,1998)

Nel 2001 (Levy et al, 2003) si arrivò dunque ad una definizione più accurata formulata dalla Society of Critical Care Medicine (SCCM), European Society of Intensive Care Medicine (ESICM), American college of Chest Physicians (ACCP), American Thoracic Society (ATS) e la Surgical Infection Society (SIS) che hanno promosso l'International Sepsis Definitions Conference. Vennero così definiti dei criteri diagnostici

ben precisi (10). La sepsi viene quindi ora identificata in una condizione data da un'infezione documentata o sospetta, con uno o più dei seguenti elementi:

Variabili generali

- *Febbre* $> 38,3^{\circ}\text{C}$
- *Ipotermia* $< 36^{\circ}\text{C}$
- *Frequenza cardiaca* $> 90 \text{ bpm}$ o $> 2 \text{ DS}$ sopra i valori normali per età
- *Tachipnea* $> 30 \text{ atti/min}$
- *Alterazioni dello stato mentale*
- *Edema significativo o bilancio di liquidi positivo*
- *Glicemia plasmatica* $> 120 \text{ mg/dL}$ in assenza di diabete mellito.

Variabili infiammatorie

- *Leucocitosi* $> 12000/\text{mm}^3$
- *Leucopenia* $< 4000/\text{mm}^3$
- *Globuli bianchi normali ma con* $> 10\%$ *di forme immature*
- *Proteina C reattiva plasmatica* $> 2 \text{ DS}$ *sopra il valore normale*
- *Procalcitonina plasmatica* $> 2 \text{ DS}$ *sopra il valore normale.*

Variabili emodinamiche

- *Ipotensione arteriosa*
- *Saturazione di ossigeno venosa mista* $< 70\%$
- *Indice cardiaco* $> 3,5 \text{ l/min/mq}$

Parametri di disfunzione d'organo

- *Ipossiemia arteriosa* ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$)

- *Oliguria acuta (diuresi < 0,5 ml/kg/h per almeno 2 h)*
- *Aumento creatinina > 0,5 mg/dL rispetto ai valori basali*
- *Alterazione della coagulazione (INR > 1,5 o aPTT > 60 s)*
- *Ileo paralitico*
- *Trombocitopenia*
- *Iperbilirubinemia (bilirubina totale > 4 mg/dL)*

Parametri di perfusione tissutale

- *Aumento dei lattati > 3 mmol/L*
- *Aumento del tempo di riempimento capillare ungueale > 2 secondi o
marezzatura cutanea.*

Nel 2016 è stata pubblicata la nuova definizione di *sepsi*, mentre all'inizio del 2017 sono state pubblicate le nuove Linee Guida della Surviving Sepsis Campaign. La sepsi viene così definita come una disfunzione d'organo potenzialmente mortale causata da una risposta infiammatoria sistemica disregolata dell'ospite ad una infezione (1). La disfunzione d'organo può essere identificata come cambiamento acuto nel punteggio totale del SOFA score di 2 punti conseguente all'infezione. Lo score basale del SOFA può essere ipotizzato pari a 0 nei pazienti per i quali non è nota una preesistente disfunzione d'organo. Un SOFA score di 2 si associa invece ad un rischio di mortalità di circa il 10% nella popolazione generale ospedalizzata con sospetta infezione.

Lo shock settico è un sottogruppo della sepsi nel quale le alterazioni circolatorie e cellulari/metaboliche sono sufficientemente importanti da determinare un sostanziale aumento della mortalità. I pazienti con shock settico possono essere identificati mediante l'associazione del quadro clinico di sepsi in relazione ad ipotensione persistente che necessita di vasopressori per mantenere la PAM di 65 mmHg e che presentano livelli di

lattato sierico >18 mg/dl nonostante adeguata rianimazione volemica. La mortalità in ospedale di questi pazienti supera il 40%. La reazione dell'ospite all'invasione di un microrganismo coinvolge una miriade di segnali e di risposte che rapidamente si amplificano e che possono estendersi al di là del tessuto invaso. È quindi una sindrome clinica, con una patobiologia ancora incerta (1).

Con la nuova definizione si distingue nettamente il quadro d'infezione con appropriata risposta flogistica dell'ospite, che non viene più chiamata sepsi, da quello di infezione accompagnata da una risposta flogistica abnorme e lesiva per l'organismo che la produce. In questo modo ciò che precedentemente era definito sepsi severa diviene sepsi, mentre il concetto di shock settico rimane invariato. Non viene più incluso il concetto di SIRS.

Dal punto di vista eziologico la sepsi è causata nella maggior parte dei casi da batteri ed in percentuale man mano minore da micobatteri, miceti, protozoi e virus. Nel 20% dei casi non conosciamo la sorgente dell'infezione pur essendo certi che il paziente abbia un'infezione. Negli altri casi, le sorgenti di infezione sono rappresentate da:

- Polmoniti
- Infezioni in più sedi (sangue+polmone, polmone+tratto genito-urinario)
- Infezioni addominali
- Infezioni a livello genito-urinario
- Infezioni a livello dei tessuti molli.

I principali Gram negativi coinvolti sono la Klebsiella, lo Pseudomonas, l'Acinetobacter e l'Escherichia coli. Per quel che riguarda i Gram positivi si trova lo Stafilococco Aureus e a volte possono comparire gli Enterococchi. Nelle ultime casistiche anche la Candida sta aumentando l'incidenza come causa di sepsi.

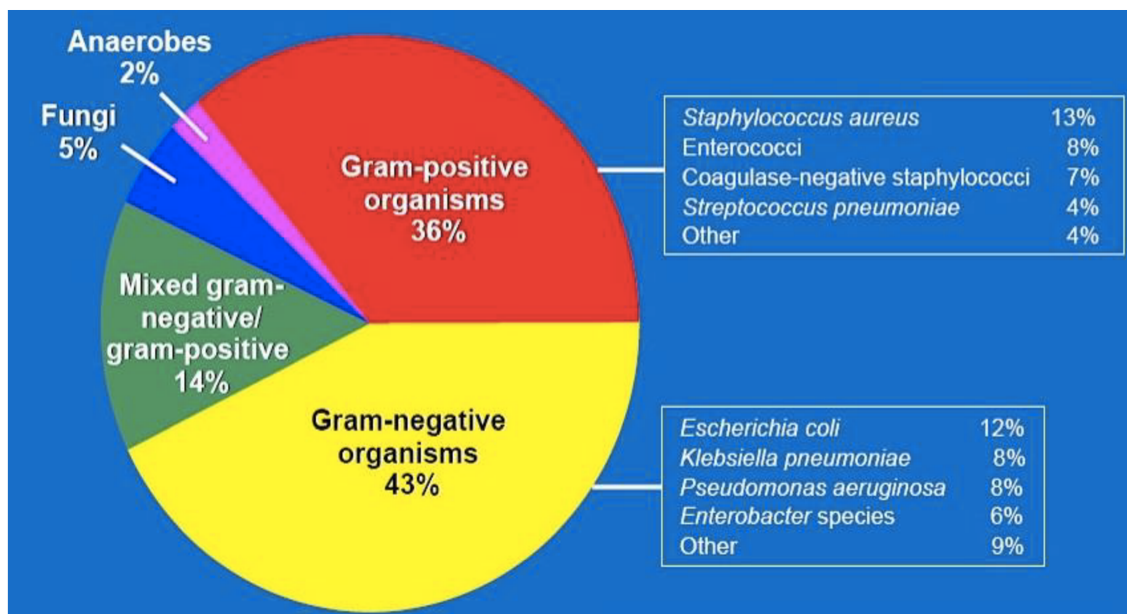


Figura 2-Principali agenti patogeni nella sepsi (Fish D.N.,2002)

3- EPIDEMIOLOGIA

L'incidenza di sepsi e shock settico è aumentata nel corso degli anni raggiungendo attualmente i 300.000-500.000 casi per anno; circa i 2/3 dei casi si verificano in pazienti ospedalizzati per altre patologie (11). È la seconda causa di morte nelle Unità di Terapia Intensiva. In Italia la mortalità è circa del 50%.

L'incidenza della sepsi supera di gran lunga quella delle patologie più note, come scompenso cardiaco, AIDS, carcinoma del colon e della mammella. La mortalità nella sepsi è solo leggermente inferiore a quella dell'infarto coronarico acuto. Per quanto riguarda l'incidenza in base all'età, la sepsi ha un comportamento peculiare: è un fenomeno molto diffuso nei neonati e nei bambini fino ad un anno di vita; la sua frequenza poi cala nelle fasce d'età successive, tornando poi a rialzarsi a partire dalla quinta decade.

Le possibili cause dell'aumento d'incidenza della sepsi negli ultimi anni sono molteplici e imputabili ad una maggiore consapevolezza diagnostica da parte della classe

medica. Oltretutto è anche aumentata la popolazione di pazienti a rischio e ciò potrebbe essere dovuto ad un maggior ricorso a procedure invasive, all'invecchiamento della popolazione, all'aumentata sopravvivenza dei pazienti con malattie croniche, al maggior ricorso a terapie immunosoppressive e al miglioramento della tecnologia medica. Per quanto riguarda il rapporto incidenza/eziologia, le sepsi "mediche" rappresentano la categoria più frequente (57%), seguite dalle sepsi post-chirurgiche d'urgenza (30%), seguite dalle sepsi post-chirurgiche elettive (8%), seguite dalle sepsi post-traumatologiche (6%). Rientrano nella categoria delle sepsi mediche: la sepsi meningococcica, pneumococcica, la sepsi da polmonite associata al ventilatore, la sepsi correlata al CVC (catetere venoso centrale) e quella correlata alle infezioni delle vie urinarie. Le sepsi chirurgiche comprendono tutte le infezioni intra-addominali post-operatorie.

In base ad un recente studio condotto in Spagna (12), la cui situazione epidemiologica può essere paragonata a quella italiana, si è registrato un graduale aumento nel numero dei pazienti settici ammessi in terapia intensiva. Alcune caratteristiche cliniche di questi pazienti, come l'età media (fra 62 e 65 anni), il genere (predominanza negli uomini), l'APACHE (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) II score (fra 20 e 22), livelli di procalcitonina (fra 33 e 37 ng/ml), e di lattato nelle prime 6 ore (fra 2.78 e 3.44 mmol/L) sono rimaste stabili, senza differenze significative fra i vari anni del range preso in considerazione (2008-2013). Per quanto riguarda la disfunzione d'organo, quelle più frequentemente riscontrate nelle prime 6 ore sono la disfunzione cardiovascolare e quella renale, quelle meno frequentemente riscontrate sono la disfunzione respiratoria e la piastrinopenia, con un riscontro sempre maggiore negli ultimi anni di coagulopatia. Nel primo periodo di osservazione i pazienti ammessi in terapia intensiva per sepsi provenivano più frequentemente dalle corsie; mentre nel secondo periodo c'è stato un significativo aumento delle ammissioni di pazienti provenienti dal pronto soccorso. Per quanto riguarda l'origine dell'infezione, quella respiratoria e addominale sono risultate

molto frequenti per tutto il periodo di osservazione, seguite dalle infezioni delle vie urinarie, che sono diventate prevalenti dal 2012.

La mortalità è risultata significativamente ridotta, passando dal 20% e 26% del 2008 al 14% e 17% del 2013 rispettivamente in terapia intensiva e globalmente nell'ospedale. I sottogruppi di pazienti con mortalità più elevata presentavano età più avanzata, livelli più elevati di procalcitonina, lattato e disfunzione d'organo. Si è avuto un riscontro più elevato di mortalità nei pazienti ammessi dalle corsie con trauma e sottoposti a chirurgia d'urgenza. I casi di sepsi di origine sconosciuta hanno mostrato la mortalità più elevata, seguiti da infezioni addominali. Le variabili correlate ad una mortalità maggiore (a 6 ore) sono: livello di lattato, presenza di disfunzione respiratoria, ipoglicemia, piastrinopenia, coagulopatia, insufficienza renale, origine della sepsi. Un recente studio pubblicato su JAMA ha evidenziato che pazienti settici in terapia intensiva sviluppano nuove infezioni acquisite proprio in terapia intensiva nel 13,5% dei casi. Questi pazienti hanno disfunzione d'organo più grave e una mortalità maggiore rispetto a chi non le sviluppa, indicando l'esistenza di una immunosoppressione correlata alla sepsi all'esordio dell'infezione secondaria (13).

4- FISIOPATOLOGIA DELLA SEPSI

Nell'ultimo ventennio si è assistito ad una progressiva implementazione delle nostre conoscenze in merito alla fisiopatologia della sepsi. La risposta infiammatoria viene innescata da uno stimolo infettivo, riconosciuto come estraneo dal sistema immunitario (14,15).

È di fondamentale importanza comprendere che è la risposta dell'ospite, piuttosto che la natura del microrganismo patogeno, a determinare l'esito del paziente e che tale risposta può provocare danni collaterali ai tessuti sani (16). Questo si può manifestare clinicamente come shock emodinamico, insufficienza respiratoria, alterazioni coagulative (piastrinopenia, coagulazione intravascolare disseminata), alterata tolleranza glucidica, insufficienza renale e surrenale, polimiopia, insufficienza epatica. A livello cellulare e subcellulare, disfunzioni immunitarie, alterazioni endoteliali, dell'epitelio intestinale e della flora microbica, alterazioni dei fattori della coagulazione, sono tutti fattori che giocano un ruolo nella fisiopatologia della sepsi. Il primo elemento da considerare nella patogenesi di sepsi e shock settico è la risposta dell'ospite.

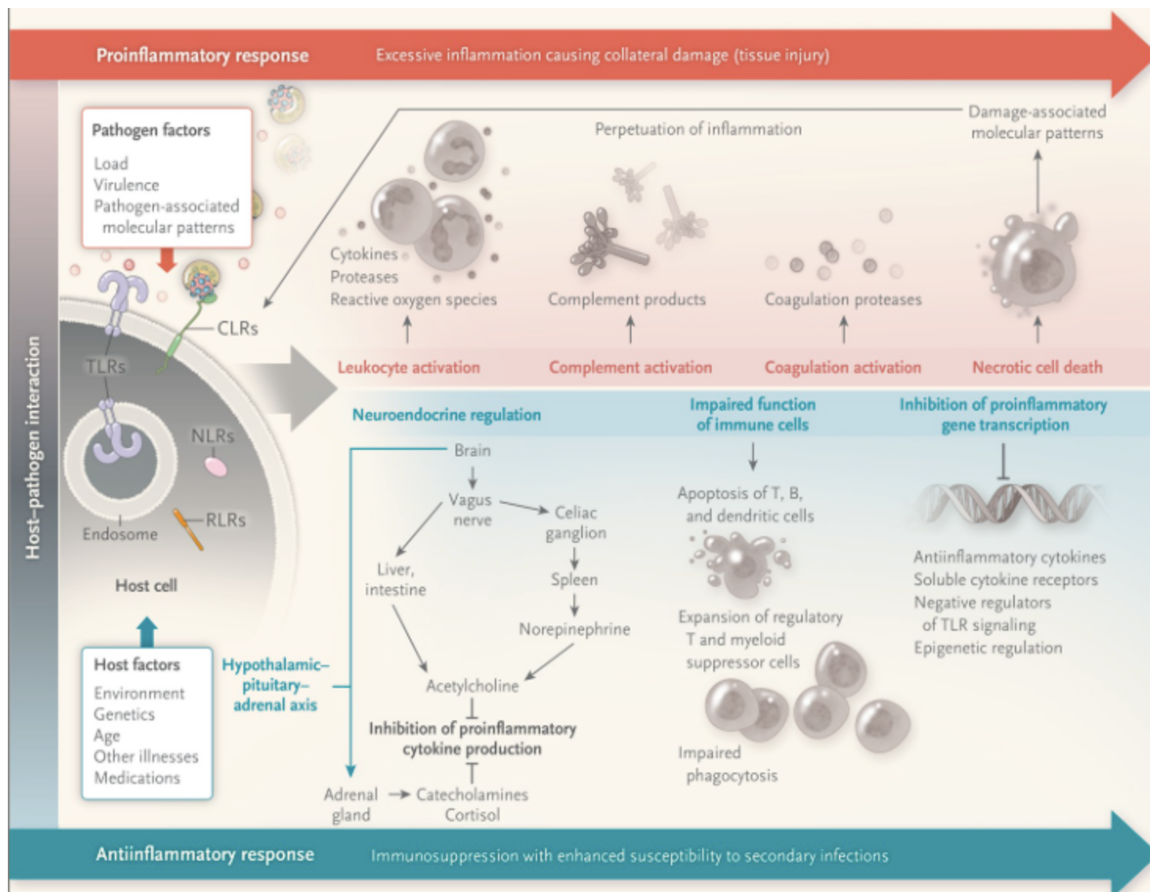


Figura 3-Risposta dell'ospite in caso di sepsi grave (Angus DC, Van Der Poll T. Severe Sepsis and Septic Shock. N Engl J Med 2013)

Essa innesca meccanismi pro- e antinfiammatori che da una parte contribuiscono ad eliminare l'infezione e al recupero tissutale, ma dall'altra inducono danno d'organo ed infezioni secondarie. La risposta specifica in ciascun paziente dipende dal patogeno causale (carica infettante e virulenza) e dall'ospite, come assetto genetico e comorbidità, con risposte differenziate a livello locale, regionale e sistemico. Il tipo e la direzione di risposta dell'ospite probabilmente variano nel tempo, parallelamente al decorso clinico. In generale, si pensa che la risposta infiammatoria (diretta all'eliminazione dei patogeni causali) sia responsabile del danno tissutale collaterale, mentre la risposta antinfiammatoria (importante per limitare il danno tissutale locale e sistemico) sia implicata nell'aumentata suscettibilità alle infezioni secondarie (17).

Per quanto riguarda il ruolo dell'immunità innata, questa per prima avverte la presenza del patogeno e reagisce ai segni iniziali di infezione. La risposta avviene tramite l'attivazione dei TLR (Toll Like Receptors) su neutrofili, macrofagi, cellule natural killer, che comportano il rilascio di citochine, chemochine e specie reattive dell'ossigeno (ROS) (IL-1, TNF- α , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , PAF) con un feedback positivo. Questi mediatori attivano sia la risposta pro-infiammatoria che quella anti-infiammatoria.

I macrofagi rivestono dunque un ruolo fondamentale nella regolazione della risposta infiammatoria successiva ad un insulto mediante i recettori toll-like situati in superficie che permettono di identificare gli agenti infettivi grazie al riconoscimento del lipopolisaccaride (LPS). Tale riconoscimento stimola i macrofagi a produrre citochine, che, a loro volta, attivano le cellule T e B e implementano le risposte immunitarie adattative.

Il TLR4 è il recettore per il lipopolisaccaride. La sua stimolazione induce l'attivazione a livello intracellulare del fattore nucleare κB (NF κB) che a sua volta determina la fosforilazione e la degradazione dell'I κB , un inibitore del NF- κB , che permette la traslocazione degli eterodimeri di NF- κB al nucleo. Il sistema NF- κB /I κB esercita una regolazione sulla trascrizione sui geni pro-infiammatori, che codificano varie citochine come TNF α , IL-1, chemochine e molecole di adesione (18). Le citochine sono un elemento chiave nella risposta infiammatoria alla base di tale patologia. Sono peptidi immunoregolatori con una potente azione infiammatoria e le loro interazioni possono provocare o attenuare il danno tissutale.

TNF α e IL-1 sono responsabili dell'inibizione della contrattilità miocardica e dell'aumento della permeabilità vascolare. L'IL-10 ha invece una potente azione antinfiammatoria ed inibisce la produzione di citochine pro-infiammatorie e chemochine. Il bilancio pro-infiammatorie e anti-infiammatorie è cruciale nella risposta dell'ospite alle infezioni. I neutrofili, una volta attivati dai prodotti batterici, migrano rapidamente nel sito dell'infiammazione e li provocano la distruzione dei microrganismi stessi mediante un

processo di degranulazione (liberazione di sostanze litiche dai loro granuli primari e secondari). Tale processo può danneggiare l'organismo stesso e determinare una distruzione microvascolare. Il danno endoteliale risulta imputabile al contatto con numerose sostanze nocive, come le citochine prodotte durante la risposta infiammatoria. Questo danno è causa della trasformazione delle cellule endoteliali da superfici anti-coagulanti a pro-coagulanti, della produzione di sostanze vasoattive con conseguente aumentata permeabilità vascolare e perdita delle funzioni di barriera ed infine dell'induzione dell'apoptosi. A livello clinico questo si traduce in formazione di edema, conseguente ipotensione dovuta alla massiva perdita di liquidi nell'interstizio e CID. A complicare il quadro insorgono fenomeni di microtrombosi che sono responsabili dell'insufficienza multiorgano spesso fatale nella sepsi.

Alterazioni dei neutrofili, monociti e macrofagi sono importanti nella patogenesi. Una prolungata risposta dei neutrofili e una loro ritardata apoptosi è associata ad aumentata disfunzione d'organo, compreso lo sviluppo di ARDS e ridotta sopravvivenza. È stato dimostrato che i ROS rilasciati dai neutrofili in feedback positivo causano disfunzione endoteliale e mitocondriale che contribuiscono allo sviluppo di insufficienza multiorgano. Una ridotta funzione e sopravvivenza dei monociti e dei macrofagi è anch'essa associata ad un'aumentata letalità da sepsi.

La sepsi tipicamente aumenta la conta leucocitaria per aumento dei neutrofili circolanti dall'immunità innata. Invece, la popolazione linfocitaria si riduce marcatamente, sia B che T. Il processo inizia precocemente, con riduzione del peso e della conta cellulare del timo entro 3 ore. Questa deplezione linfocitaria rappresenta un possibile motivo dell'immunosoppressione e predisposizione alle infezioni nosocomiali nei pazienti settici, così come il fatto che le cellule restanti sono disfunzionali. Infatti, i linfociti nella sepsi esprimono recettori di inibizione e producono citochine immunosoppressive. Inoltre, vi è un'aumentata attività delle cellule T regolatorie, la cui attività è naturalmente

immunosoppressiva (19). In modelli animali, la modulazione dell'attività dei linfociti si associa a modificazioni della mortalità, compresa quella imputabile a infezioni fungine.

È importante il ruolo dei linfociti T helper di cui ne esistono vari sottogruppi: i linfociti TH17 legano l'immunità innata a quella adattativa aumentando la risposta dei neutrofili. Sono aumentati in pazienti che sopravvivono alla sepsi. Lo stesso meccanismo è stato dimostrato per le cellule T regolatorie. Alterazioni di altri 3 sottogruppi di cellule T (NK, MAIT e $T\gamma\delta$) che normalmente intervengono nell'immunità innata sono associate ad una risposta infiammatoria disregolata, con un'aumentata mortalità e predisposizione alle infezioni nosocomiali, così come avviene in presenza di un'alterata risposta di linfociti T CD8+.

È stato evidenziato che pazienti settici hanno una riduzione dei linfociti B periferici, che risulta essere un fattore critico in modelli animali in quanto si associa ad una riduzione della capacità di eliminare i batteri e un'aumentata mortalità.

Nella patogenesi della sepsi rientra anche il cosiddetto riflesso infiammatorio: mediatori dell'infiammazione o di danno tissutale stimolano fibre afferenti. Dunque si attivano fibre afferenti del nervo vago che stimolano il rilascio di acetilcolina dalla milza. L'acetilcolina attiva recettori colinergici sui macrofagi che sopprimono il rilascio di citochine pro-infiammatorie. La distruzione di questo riflesso tramite vagotomia aumenta l'infiammazione sistemica, mentre la stimolazione sopprime la risposta infiammatoria.

Per quanto riguarda il ruolo dell'endotelio: questo gioca una parte attiva nel regolare il tono e la permeabilità vascolare e nel modulare la risposta immunitaria. Le cellule endoteliali esprimono recettori immunitari, compresi i TLR che attivano le vie dell'infiammazione mediate da NF-KB e MAP chinasi. Il segnale correlato a TLR altera la permeabilità delle cellule endoteliali e l'espressione delle proteine della coagulazione, contribuendo alla coagulopatia, aumentata permeabilità vascolare e disfunzione d'organo riscontrata nei pazienti settici. Per quanto riguarda il ruolo dell'intestino: è stato dimostrato

che la sepsi altera l'integrità intestinale in modo tale da avere un impatto importante sulla progressione della malattia e sulla mortalità. Attualmente, non c'è una forte evidenza che supporti la traslocazione batterica, per cui un'ipotesi alternativa è il "gut-lymph". In base a questa teoria l'intestino rilascia mediatori tossici che raggiungono i polmoni dove causano danno, passando attraverso i vasi linfatici mesenterici. C'è una significativa evidenza preclinica che supporta l'importanza della teoria gut-lymph nella sepsi. Anche l'integrità dell'epitelio intestinale è compromessa nella sepsi. È stato dimostrato da studi preclinici che la sepsi aumenta l'apoptosi e riduce la proliferazione dell'epitelio intestinale, riduce la lunghezza dei villi e aumenta la permeabilità intestinale. La prevenzione dell'apoptosi dell'epitelio intestinale aumenta la sopravvivenza in modelli murini. Negli ultimi anni è stata prestata maggiore attenzione al ruolo del microbioma intestinale nella patogenesi della sepsi. I batteri sono presenti nell'intestino umano in numero estremamente elevato. C'è evidenza crescente che i batteri residenti nell'intestino siano in rapporto neutrale con l'ospite, cioè "né buoni né cattivi", piuttosto, variano la relazione con l'ospite in base al suo stato di salute. Specificamente, i batteri intestinali sono in grado di avvertire uno stress dell'ospite e variare la loro virulenza come risposta all'alterato ambiente dell'ospite. Quindi il trattamento antibiotico senza attenzione alla virulenza microbica può non essere sufficiente per i pazienti settici e l'alterazione della microflora da parte degli antibiotici può essere paradossalmente dannosa. Fra i meccanismi che generano disfunzione d'organo nella sepsi, l'alterata ossigenazione tissutale gioca un ruolo chiave.

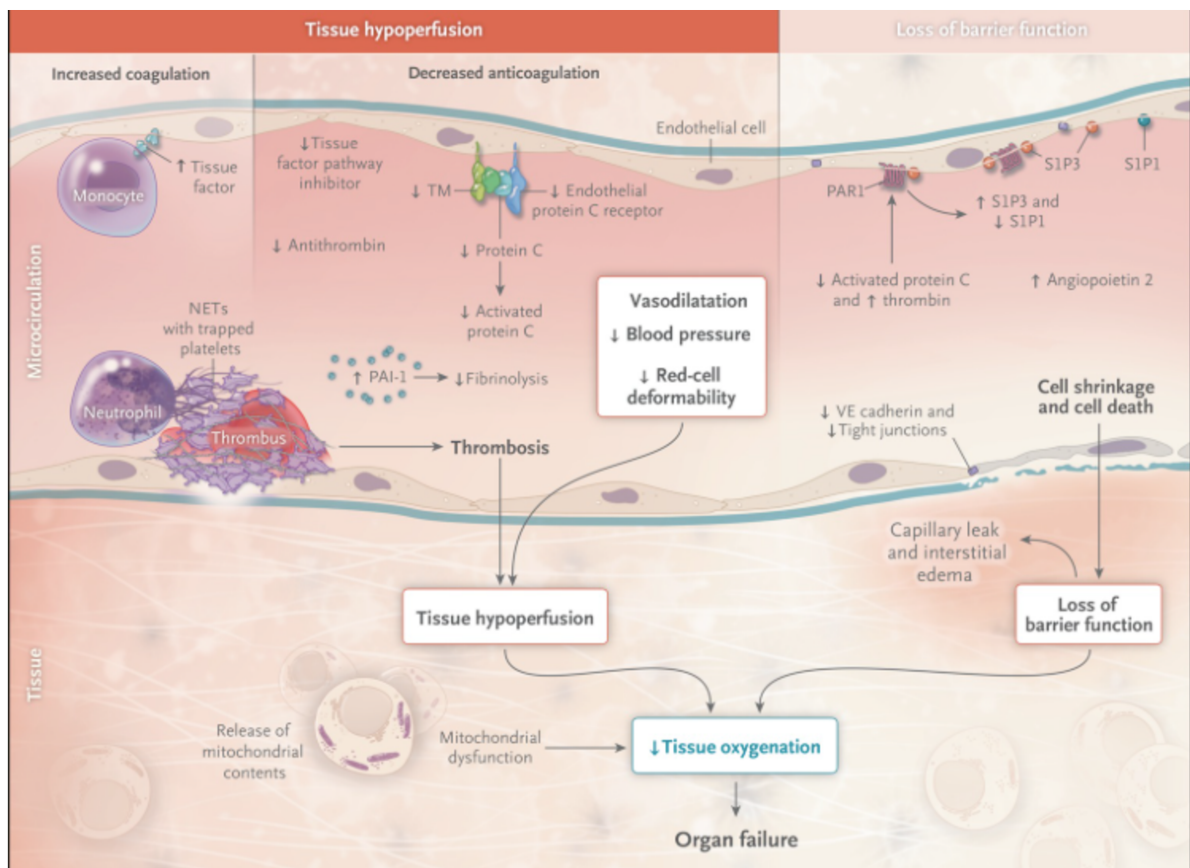


Figura 4-Insufficienza d'organo nella sepsi grave e disfunzione dell'endotelio vascolare e dei mitocondri (Angus DC, Van Der Poll T. Severe Sepsis and Septic Shock. N Engl J Med 2013)

Vari fattori, fra cui ipotensione, ridotta deformabilità dei globuli rossi e trombosi microvascolare, contribuiscono al ridotto trasporto dell'ossigeno nello shock settico. L'infiammazione può causare disfunzione dell'endotelio vascolare, accompagnata da morte cellulare e perdita dell'integrità di barriera, dando luogo ad edema sottocutaneo e delle cavità corporee. Il danno mitocondriale causato dallo stress ossidativo e da altri meccanismi altera l'utilizzo cellulare dell'ossigeno. Inoltre i mitocondri danneggiati rilasciano dei mediatori nell'ambiente extracellulare, compresi DNA mitocondriale e formilpeptidi, che attivano i neutrofili e causano ulteriore danno tissutale (17).

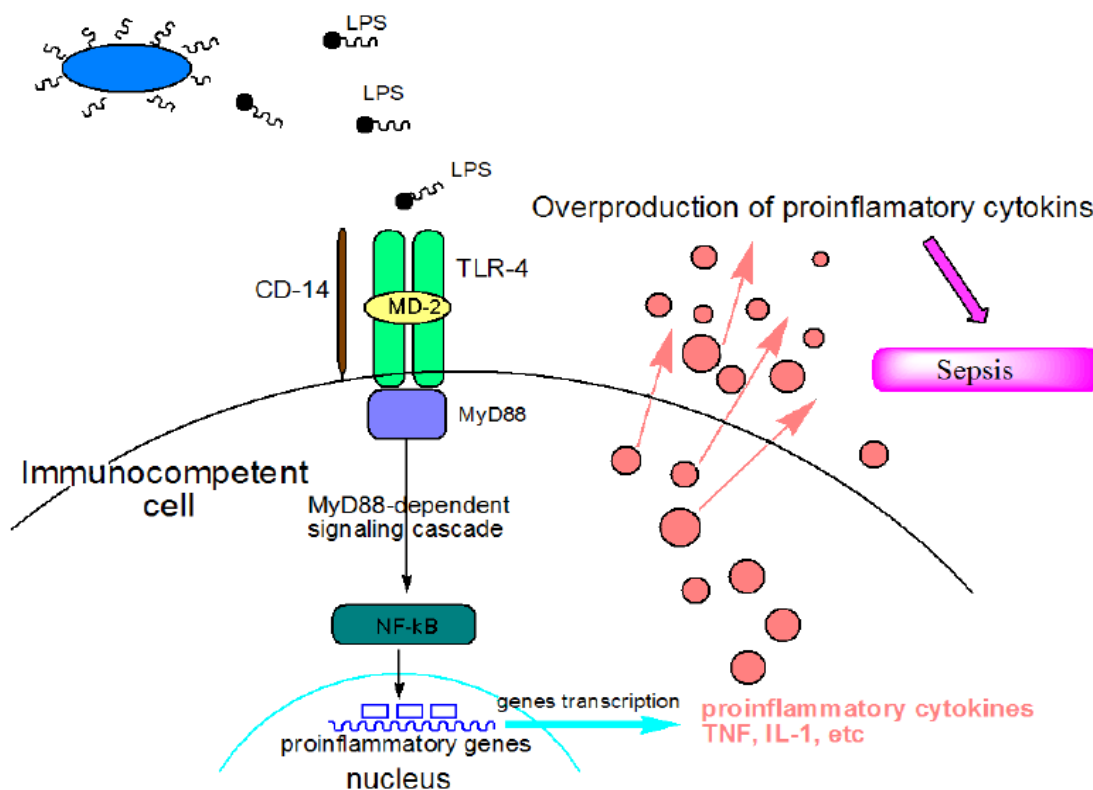


Figura 5-Meccanismo d'azione del lipopolisaccaride (LPS) come induttore della sepsi (Ernst Th. Rietschel, Jens Schletter, Birgit Weidemann, Volker El-Samalouti, Taila Mattern, Microbial Drug Resistance, Vol.4)

5- BIOMARKERS

In generale, un biomarcatore può essere definito come la misura quantificabile dell'omeostasi biologica che definisce che cosa è normale, fornendo un quadro di riferimento per predire o individuare ciò che è anomalo, oppure, un indicatore di normali processi biologici e patologici o di risposta farmacologica a un intervento terapeutico. Inoltre, un biomarcatore dovrebbe fornire tempestivamente informazioni aggiuntive rispetto a quello che è prontamente disponibile dai parametri di routine.

Per definizione, i biomarcatori della sepsi dovrebbero rifletterne la biologia, come evidenziato dalle modificazioni biochimiche caratterizzate dalla risposta dell'ospite

all'infezione a livello cellulare e subcellulare. La ricerca di biomarcatori della sepsi è focalizzata principalmente sulle modificazioni biochimiche a livello plasmatico (sistema del complemento, coagulazione e chinina-callicreina) e gli indicatori di attivazione degli elementi cellulari (neutrofili, monociti/macrofagi e cellule endoteliali), che può condurre al rilascio di un certo numero di mediatori e molecole (citochine, chemochine e proteine di fase acuta). La risposta dell'ospite alla sepsi coinvolge centinaia di mediatori e singole molecole, molte delle quali sono state proposte come biomarcatori di sepsi. È improbabile che sarà possibile identificare un singolo biomarcatore capace di soddisfare tutte le necessità e le aspettative esistenti nell'identificazione e gestione della sepsi. In assenza di un obiettivo gold standard per la sepsi, i biomarcatori attualmente devono essere definiti e valutati in riferimento alla decisione clinica per la quale un dato marcatore potrebbe fornire informazioni non disponibili utilizzando parametri clinici e di laboratorio convenzionali. Un importante requisito per i biomarcatori della sepsi è il beneficio temporale che dovrebbero offrire per individuare una risposta infiammatoria sistemica a un'infezione prima che i segni clinici e il danno d'organo diventino manifesti. Da ultimo, tali biomarcatori potrebbero facilitare la precoce istituzione di terapie di supporto e ridurre quindi il tasso di mortalità (20). La maggior parte degli indicatori di infiammazione utilizzati di routine nella diagnosi di sepsi sono però poco specifici e non consentono una sicura stratificazione prognostica. Accanto agli indici più convenzionali (conta dei globuli bianchi, valori della coagulazione, del lattato e della PCR), negli ultimi anni si è sempre più rafforzata appunto l'ipotesi che la Procalcitonina possa essere un buon indice prognostico, in particolare nella sepsi-grave e shock settico.

I markers da utilizzare sono:

- Proteina C reattiva (PCR): prodotta dal fegato sullo stimolo dell'IL-6 in risposta ad una infezione batterica. Durante le infezioni la PCR ha effetti sia pro-infiammatori che anti-infiammatori. La PCR può riconoscere e aderire ai patogeni e

alle cellule danneggiate e mediare la loro eliminazione attraverso interazioni con cellule infiammatorie. Tuttavia, la PCR previene l'adesione dei neutrofili alle cellule endoteliali, inibisce la produzione di superossido e aumenta la produzione di antagonisti del recettore IL-1. La sua produzione è stimolata da varie citochine, ma soprattutto dall'IL-6. La PCR è un marcatore clinico frequentemente utilizzato per valutare la presenza di infezione e di sepsi. Alcuni studi in pazienti oncologici supportano il ruolo della Proteina C reattiva come marcatore di infezione o di sepsi. È stato dimostrato che il suo decorso non è influenzato dalla presenza o dall'assenza di neutropenia in pazienti neoplastici. Studi su pazienti critici hanno dimostrato che elevate concentrazioni plasmatiche di PCR sono correlate con un aumentato rischio di insufficienza d'organo e/o morte. Tuttavia, il suo ruolo nel predire la mortalità nelle sepsi post-chirurgiche è meno chiaro. Difatti in alcuni studi non sono state rilevate significative differenze fra i pazienti sopravvissuti e quelli deceduti. In pazienti sottoposti ad esofagectomia ammessi in terapia intensiva, i livelli di PCR sono stati significativamente più elevati in seconda e terza giornata postoperatoria in quelli che hanno sviluppato complicanze. In pazienti con sepsi acquisita in comunità, il decorso dei livelli di PCR è associato alla risoluzione della polmonite. Esistono dati contrastanti sul fatto che le concentrazioni assolute di PCR alla dimissione dalla terapia intensiva rappresentino un predittore indipendente di mortalità intraospedaliera dopo la dimissione dalla terapia intensiva. Nel contesto della terapia intensiva, potrebbe discriminare solo fra pazienti con sepsi severa da quelli con sepsi e senza sepsi nei primi due giorni dopo l'ammissione. Questa tendenza potrebbe essere dovuta all'aumento dei livelli plasmatici di PCR con un ritardo fino 24 ore in confronto alle citochine o alla procalcitonina. Le concentrazioni plasmatiche possono aumentare in caso di infezioni minori e non riflettono adeguatamente la gravità dell'infezione. I livelli

plasmatici restano elevati per vari giorni, anche quando l'infezione viene eliminata. Inoltre, il livello di PCR è elevato anche durante stati infiammatori di eziologia non infettiva, per esempio in caso di malattie autoimmuni, disturbi reumatici, infarto miocardico, tumori maligni o dopo chirurgia.

- Procalcitonina (PCT): in condizioni fisiologiche viene prodotta dalle cellule C della tiroide; in presenza di uno stimolo settico la procalcitonina viene prodotta anche da altri tessuti in maniera eccessiva, tipo dal fegato e dall'endotelio. La valutazione della procalcitonina è fondamentale nella diagnosi e nella prognosi conseguente l'inizio della terapia antibiotica. L'outcome del paziente settico migliora se, entro quattro giorni dall'inizio della terapia antibiotica, la procalcitonina si riduce dell'80%. L'uso della procalcitonina (PCT) come potenziale biomarcatore di sepsi e di infezione è stato descritto per la prima volta nel 1993. Il ruolo biologico della PCT coinvolge la modulazione dell'enzima ossido nitrico sintasi e l'induzione di citochine; inoltre, la proteina interferisce con il sito recettoriale di altri ormoni peptidici che hanno un ruolo nella modulazione dei fluidi intravascolari e del tono vascolare. La PCT è prodotta in maniera ubiquitaria, soprattutto nei tessuti neuroendocrini, in risposta all'endotossina o al rilascio di mediatori in caso di infezioni batteriche (IL-1 β , IL-6, TNF- α). È fortemente correlata alla gravità delle infezioni batteriche. Ad oggi, la PCT è uno dei marcatori più ampiamente utilizzati nella gestione di infezioni e sepsi in Europa e sta diventando sempre più disponibile anche nel resto del mondo. La PCT mostra un profilo cinetico molto più favorevole rispetto alla PCR e alle citochine. Diventa individuabile da 2 a 4 ore dopo l'evento infettivo scatenante ed ha un picco dopo 12-24 ore. I livelli di PCT circolanti si dimezzano giornalmente quando l'infezione è controllata dal sistema immunitario dell'ospite e dalla terapia antibiotica. Se i livelli non scendono, devono essere rivalutati il focolaio infettivo e la terapia

antibiotica. In confronto ad altri marcatori di sepsi attualmente disponibili, la PCT sembra avere un potenziale nel discriminare l'eziologia infettiva o non infettiva dell'infiammazione sistemica, anche in pazienti non acuti. I livelli di PCT correlano con la gravità dell'infezione batterica e con la carica batterica. In pazienti con polmonite acquisita in comunità o con infezioni delle vie urinarie, un cut-off di PCT di 0,1 µg/L ha una sensibilità molto elevata nell'escludere una batteriemia. Di conseguenza, il decorso della procalcitonina può avere implicazioni prognostiche. La PCT sembra avere un potenziale anche nel differenziare infezioni batteriche e virali. Potrebbe indicare inoltre la presenza di sovrainfezione batterica in pazienti con malattie virali. In base ad una metanalisi di 24 studi, la PCT ha una sensibilità e specificità di 0,8 e 0,9% rispettivamente nella previsione di necrosi infetta in pazienti con pancreatite. Alcune metanalisi hanno trovato la PCT utile per la diagnosi di infezione documentata clinicamente o microbiologicamente, mentre una sola metanalisi ha identificato solo un beneficio moderato nel rilevamento della batteriemia. La PCT è utile anche nel rilevamento di infezioni nosocomiali in pazienti critici, in particolare, della VAP (polmonite associata al ventilatore) (21). Le linee guida rilasciate dalla società americana di malattie infettive e dal collegio americano di medicina critica raccomandano di usare la PCT come un biomarcatore aggiuntivo per differenziare la sepsi dalla risposta infiammatoria sistemica di origine non infettiva. La tabella sottostante evidenzia le condizioni cliniche in cui la PCT ha utilità come marcatore diagnostico.

Evidence-based criterion	Observational studies	Randomized-controlled interventional studies
Strong evidence in favor of PCT		Upper respiratory tract infection COPD exacerbation Pneumonia Severe sepsis/septic shock
Good evidence in favor of PCT	Bloodstream infections/bacteremia Pyelonephritis/urinary tract infections	Ventilator-associated pneumonia Postoperative infections
Moderate evidence in favor of PCT	Postoperative fever Arthritis Neutropenia Endocarditis	Meningitis
Use of PCT still undefined; weak/questionable evidence for/or against PCT	Abdominal infections Pancreatitis	

Tabella 1-Procalcitonina e il ruolo dei biomarkers nella diagnosi e gestione della sepsi (Riedel S. Procalcitonin and the role of biomarkers in the diagnosis and management of sepsis. Diagnostic Microbiol Infectious Dis 2012)

Un recente studio dimostra che la PCT sierica in sé e per sé non è un significativo fattore prognostico di sopravvivenza. Invece un suo parametro derivato, la PCTc (clearance della procalcitonina), che riflette le variazioni temporali dinamiche della PCT dopo l'ammissione in terapia intensiva, può rappresentare un predittore di sopravvivenza in pazienti settici critici (22). Quindi è importante ed ha valore prognostico la cinetica di questo marcatore piuttosto che il singolo valore. Esistono delle condizioni di natura infettiva che esordiscono con PCT negativa e si positivizzano solo in fase di shock settico. Come regola generale, tutte le infezioni compartimentali possono esordire con PCT negativa. Esiste inoltre un gruppo di Streptococchi, detti Streptococchi del gruppo Milleri, che provocano infezioni purulente profonde (ascessi polmonari profondi, ascessi cranici e rachidei) difficilmente individuabili, che danno negatività della PCT alla diagnosi. Condizioni analoghe sono le polmoniti atipiche (per esempio: da legionella o micoplasma) e le endocarditi. È importante evidenziare il ruolo della PCT nella

gestione della terapia antibiotica. La resistenza antimicrobica è emersa come un fattore importante nell'influenzare l'outcome del paziente e l'impiego delle risorse. Questo impone un controllo più rigido della terapia, al fine di ridurre un uso eccessivo di antibiotici. Il potenziale della PCT per assistere nella decisione dell'inizio e/o durata della terapia antibiotica è stato valutato in 13 studi per un totale di circa 4.400 pazienti. In base al contesto, l'uso della PCT ha comportato una riduzione della prescrizione di antibiotici fra il 74% e l'11% ed una riduzione dei giorni di terapia antibiotica fra il 13% e il 55%. Per pazienti a rischio moderato con infezioni respiratorie al pronto soccorso, gli algoritmi raccomandano l'inizio e l'interruzione della terapia antibiotica in base a 4 diversi cut-off. Per pazienti ad alto rischio nel contesto della terapia intensiva gli algoritmi consigliano di interrompere la terapia antibiotica se il paziente dimostra recupero clinico e se i livelli di PCT si riducono a livelli normali o comunque si riducono dell'80-90%.

Guidelines for starting antibiotics ^a			
If the blood sample taken for procalcitonin level was taken at the early stage of the episode, obtain a second procalcitonin level at 6–12 h			
^a Excludes situations requiring immediate antibiotic treatment (e.g. septic shock, purulent meningitis)			
Concentration <0.25 µg/L	Concentration ≥0.25 to <0.5 µg/L	Concentration ≥0.5 to <1 µg/L	Concentration ≥1 µg/L
⇓	⇓	⇓	⇓
Antibiotics strongly discouraged	Antibiotics discouraged	Antibiotics encouraged	Antibiotics strongly encouraged
Guidelines for continuing or stopping of antibiotics			
Concentration <0.25 µg/L	Concentration decrease by ≥80% from peak OR ≥0.25 to <0.5 µg/L	Concentration decrease by <80% from peak AND ≥0.5 µg/L	Concentration increase compared with peak AND ≥0.5 µg/L
⇓	⇓	⇓	⇓
Stopping of antibiotics strongly encouraged	Stopping of antibiotics encouraged	Continuing antibiotics encouraged	Changing antibiotics strongly encouraged

Tabella 2-Livelli di PTC correlati alla somministrazione e all'interruzione della terapia antibiotica (Kibe S, Adams K, Barlow G. Diagnostic and prognostic biomarkers of sepsis in critical care. *J Antimicrob Chemother* 2011)

Bisogna tuttavia notare l'aumento della PCT in situazioni di stress massivo, dopo trauma grave, dopo chirurgia o in pazienti con shock cardiogeno. Questa è la ragione per cui il potere della PCT nel discriminare sepsi e infiammazione sterile è maggiore nei pazienti clinici piuttosto che nei chirurgici. Esistono varie condizioni in cui si può avere aumento della PCT con infiammazione sistemica non batterica: distress alla nascita, colpo di calore, graft-versus-host disease, immunoterapia, trasfusione di granulociti, somministrazione di globulina antilinfocitaria, terapie con citochine o con anticorpi anticitochine, malattie autoimmuni (malattia di Kawasaki o vasculiti) e sindromi paraneoplastiche. Il valore diagnostico della PCT isolata per le sepsi fungine è scarso (20). Recentemente ne è stato proposto l'utilizzo insieme al Candida Score al fine di aumentare l'accuratezza diagnostica e avere dei criteri maggiormente indicativi in base ai quali impostare la terapia antifungina.

- Presepsina: è un marker diagnostico di recente introduzione. Si correla alla mortalità. La presepsina è un frammento solubile del CD14, recettore presente sulla membrana dei fagociti. Attiva la cascata infiammatoria dell'immunità innata nei pazienti con sepsi. La concentrazione fisiologica di presepsina è $<6 \mu\text{g/L}$. In caso di sepsi aumenta precocemente in modo significativo, ma ha bassa specificità.

- MR-proAdrenomedullina: è un ormone peptidico codificato dal gene ADM. L'Adrenomedullina è un potente vasodilatatore e controlla la circolazione sanguigna da e per gli organi. La quantificazione diretta della ADM non è utile a causa dell'emivita di 22 minuti, dovuta alla rapida degradazione da parte di proteasi. La MR-proADM ha fornito la soluzione in quanto è una molecola stabile. È in rapporto 1:1 con la ADM e le misurazioni sono standardizzabili. Aumenta nel momento in cui si ha un elevato rischio di insufficienza d'organo. Inoltre aumenta in risposta al danno e alla disfunzione d'organo, ristabilendone la funzione

endoteliale. La MR-proADM stabilizza la microcircolazione in risposta ad un'infezione e protegge dal danno d'organo indotto dal LPS. MFI migliora quando la medullina si riduce almeno del 20%. Il suo valore aumenta sia in caso di infezioni batteriche che non batteriche e si correla con la severità della sepsi. La MR-proADM ha un elevato potere prognostico per la stratificazione del rischio.

- CD64: è un recettore presente nei neutrofili. Studi recenti suggeriscono che l'espressione di CD64 nei neutrofili può essere un'alternativa sensibile e specifica per la diagnosi di infezione sistemica. L'anticorpo monoclonale CD64 ha un'alta affinità per il recettore delle immunoglobuline nei monociti e in alcuni neutrofili a riposo. L'espressione di CD64 nei neutrofili è regolata in modo graduale all'entità della risposta infiammatoria ad una infezione o ad un danno tissutale. L'espressione di CD64 nei neutrofili rappresenta un marcatore altamente sensibile (> 95%) e specifico in caso di infezione sistemica e sepsi in adulti, bambini e neonati.

- Micro-RNA: sono piccole molecole endogene di RNA non codificante a singolo filamento che regolano l'espressione genica in maniera sequenza-specifica. Sono lunghi da 21 a 25 nucleotidi e sono a singolo filamento. La regolazione dell'espressione da parte dei microRNA (miRNA) avviene generalmente dopo la trascrizione genica, ma sembra che alcuni di essi siano anche in grado di influire sulla trascrizione. Tra le funzioni riconosciute dei geni per i miRNA vi è il controllo della proliferazione cellulare, dell'apoptosi, del metabolismo dei lipidi, del pattern neuronale e della differenziazione delle linee emopoietiche. Come marcatori della sepsi sono utili in quanto l'espressione genica è differente in base al tipo di patogeno correlato all'infezione. Normalmente controllano numerosi eventi intracellulari, come ad esempio la segnalazione a cascata a valle dei recettori Toll-like (TLR) per evitare un'eccessiva infiammazione dopo l'infezione. Al contrario, un'irregolare espressione di miRNA contribuisce allo sviluppo della sepsi correlata

alle sue caratteristiche cliniche e ai suoi risultati. In base a studi clinici recenti i microRNA possono agire come potenziali biomarcatori diagnostici e prognostici nella sepsi.

- HLA-DR: è un marker di immunosoppressione, presente sui leucociti. Si correla alla sopravvivenza. Il sistema dell'antigene leucocitario umano (HLA) rappresenta il locus dei geni che codificano le proteine sulla superficie delle cellule che sono responsabili della regolazione del sistema immunitario nell'uomo. Questo gruppo di geni codifica le proteine che presentano l'antigene sulla superficie cellulare. I geni HLA sono le versioni umane dei geni del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) che si trovano nella maggior parte dei vertebrati. I principali HLA sono elementi essenziali per la funzione immunitaria. Classi diverse hanno funzioni differenti. Gli HLA corrispondenti a MHC di classe I (A, B, e C) presentano peptidi localizzati all'interno della cellula. Gli HLA corrispondenti a MHC di classe II (DP, DM, DOA, DOB, DQ e DR) presentano antigeni dall'esterno della cellula ai linfociti T. Questi antigeni particolari stimolano la moltiplicazione di cellule T-helper, che a loro volta inducono i linfociti B a produrre anticorpi contro questo antigene specifico. Gli HLA corrispondenti a MHC di classe III codificano i componenti del sistema del complemento. Oltre i geni che codificano le proteine principali che presentano l'antigene, ci sono un gran numero di altri geni coinvolti nella funzione immunitaria situati nel complesso HLA. La diversità di HLA nella popolazione umana è un aspetto della difesa contro le malattie.

- Pd1: è un'espressione di immunoparalisi, correlata con mortalità e infezioni secondarie. Numerosi studi suggeriscono che, dopo le prime ore pro-infiammatorie, la sepsi è caratterizzata da grave immunosoppressione. È stato segnalato che diversi meccanismi partecipano alle alterazioni immunitarie indotte dalla sepsi, colpendo

sia l'immunità innata che l'adattativa. Di queste, il concetto di "esaurimento cellulare" ha suscitato molto interesse perché è possibile tracciare alcuni parallelismi con il meccanismo del cancro in cui l'immunostimolazione ha come obiettivo quello di andare a bloccare i checkpoint immunitari ottenendo un notevole successo. Nella sepsi viene quindi studiato il potenziale dell'espressione di PD-1, molecola correlata alla morte programmata ed alla mortalità nei pazienti con shock settico.

- CONTA PIASTRINICA: in corso di sepsi si può assistere ad una precoce attivazione di meccanismi che conducono ad un loro maggiore consumo fino a quadri conclamati di CID. La CID è caratterizzata dalla deplezione di tutti i componenti della coagulazione, piastrine e fattori della coagulazione. È caratterizzata dall'attivazione della fibrinolisi. A sua volta riconosce molte cause: infezioni batteriche (es. setticemia da batteri Gram negativi), virali (es. virus Ebola), parassitarie, tumori (pancreas e altri), traumi, ustioni, complicanze della gravidanza e aborto, alcune delle quali possono essere riconosciute come cause della sepsi.

- PT: indica la quantità totale di protrombina nel sangue.

- LATTATI: il valore dei lattati è un indice prognostico in grado di predire la mortalità del paziente critico in terapia intensiva ed ugualmente lo è la diminuzione (clearance) dopo l'applicazione di misure terapeutiche. Il lattato è formato nell'organismo dalla glicolisi anaerobica. Inizialmente, si credeva che i livelli elevati del lattato durante la sepsi fossero dovuti ad una produzione aumentata a causa dell'insufficiente rilascio di ossigeno. Tuttavia, parecchi studi hanno indicato un aumento di lattato senza carenza nel rilascio di ossigeno. È stata invece trovata una connessione fra stimolo dell'epinefrina ed il lattato elevato. Inoltre è stato evidenziato che la pompa dell'ATPasi ha un ruolo centrale nei livelli elevati del

lattato in pazienti settici. Nel 1964 è stato notato per la prima volta che i livelli elevati del lattato potevano essere associati allo shock settico. La sepsi e lo shock settico sono caratterizzati spesso da circolazione disfunzionale nell'organismo e nei tessuti come pure da assorbimento in diminuzione di ossigeno e delle sostanze nutrienti dal tessuto. Tutti meccanismi che possono così pregiudicare i livelli del lattato.

- ATTIVITA' ENDOTOSSINICA: l'endotossina è la componente della parete cellulare dei batteri Gram negativi in grado di indurre lo shock settico. Per questo è possibile ipotizzare l'utilizzo di terapie dirette selettivamente all'endotossina. Al fine di applicarle con beneficio, cioè laddove sia presente endotossinemia sistemica, è necessario identificare i pazienti con questo requisito. Lo studio EUPHAS ha dimostrato una ridotta mortalità in pazienti con shock settico postchirurgico d'urgenza addominale trattati con adsorbimento antiendotossina, rispetto a pazienti trattati con terapia convenzionale. Quindi identificare questi pazienti diventa mandatorio per poter beneficiare di tali terapie. Anche l'esposizione cronica all'endotossina ha degli effetti deleteri. Pazienti con insufficienza renale cronica in trattamento dialitico hanno livelli di endotossina cronicamente elevati e un aumento cronico di citochine pro-infiammatorie, come TNF- α . I pazienti dializzati hanno una mortalità annua del 30% e il rilascio cronico di endotossina può essere dovuto ad uno spostamento di fluidi che influenza la permeabilità intestinale. I livelli di endotossinemia sono correlati in maniera significativa con lo stunning miocardico, i livelli di troponina I e una caduta della pressione arteriosa sistolica e diastolica, indicando che modificazioni della permeabilità intestinale o ipoperfusione potrebbero essere responsabili della traslocazione dell'endotossina. Il rilevamento dell'endotossina nei liquidi biologici si basa oggi su un test chiamato Endotoxin Activity Assay. L'endotossina

eventualmente presente nel sangue del paziente forma degli immunocomplessi con anticorpi monoclonali anti-endotossina IgM che vengono opsonizzati da proteine del complemento, formando dei complessi che attivano il burst respiratorio nei neutrofili. Tale attivazione è proporzionale al logaritmo della concentrazione di endotossina nel campione ed è rilevata con tecnica chemiluminescente.

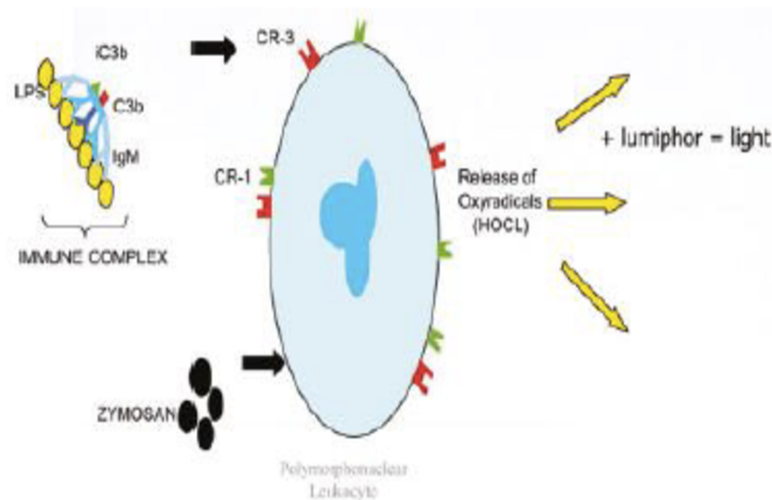


Figura 6-Concentrazione di endotossina nel campione con tecnica chemiluminescente (Romaschin AD, Klein DJ, Marshall JC. Bench-to-bedside review: Clinical experience with the endotoxin activity assay. Critical Care 2012)

Il risultato del test è semiquantitativo ed è pronto in circa 30 minuti. Questo consente una migliore selezione dei pazienti candidati a trattamenti anti-endotossina. Il livello di endotossina viene quantificato in una scala da 0 a 1, che va interpretata come da 0 a < 0,4 negativa, da $\geq 0,4$ a < 0,6 intermedia, $\geq 0,6$ positiva. Bisogna specificare che i livelli di endotossina bassi e intermedi possono associarsi in qualche caso ad infezione da Gram positivi. Il MEDIC trial, che ha coinvolto più di 800 pazienti in terapia intensiva con infiammazione sistemica da sospetta infezione, ha dimostrato correlazioni significative fra un livello elevato di

endotossina all'ammissione e il rischio di sviluppo di sepsi nelle 24 ore successive, la gravità della malattia, il rischio di un'infezione da Gram negativi, l'aumentata mortalità (23). Secondo un recente studio condotto su una coorte di 48 pazienti gravemente politraumatizzati, l'endotossinemia è assente all'ammissione in terapia intensiva e si sviluppa nel 75% dei pazienti in tempi successivi, anche in assenza di infezioni da germi Gram negativi. I pazienti sopravvissuti hanno avuto endotossinemia più bassa rispetto ai non sopravvissuti. Shock e intervento chirurgico predicono lo sviluppo di endotossinemia, che risultano associate a disfunzione cardiovascolare. Le infezioni da Gram negativi sono poco frequenti in questa popolazione, indicando l'intestino come fonte principale dell'endotossina (24). Il valore prognostico dell'EAA è stato testato anche in una popolazione di pazienti post-cardiochirurgici con sepsi sospetta o accertata. Può essere utile nel riconoscere i pazienti a maggiore rischio di mortalità (25).

6- SCORE DI SEVERITA'

La diagnosi di sepsi fondamentale è clinica. Dunque vengono utilizzati degli score che valutano la gravità e le condizioni cliniche del paziente settico.

Il SOFA SCORE è uno strumento per descrivere l'estensione della disfunzione d'organo nei pazienti critici al momento dell'ammissione in Terapia Intensiva e la sua variazione durante la degenza. Bisogna infatti tener presente che l'insufficienza d'organo può non essere osservata inizialmente, in quanto è data da un continuum di alterazioni. Tale score è stato pubblicato nel 1996 da *Vincent*, grande intensivista belga, ed è stato inizialmente ideato per i pazienti settici, ma oggi è utilizzato per tutti i pazienti in terapia intensiva. Esso consente una valutazione dinamica, poiché viene calcolato giornalmente: prende in considerazione 6 organi o apparati e in base a parametri fisiologici vengono dati dei punteggi. Viene poi fatta la somma e si ottiene un punteggio.

Per ogni distretto:

- Un punteggio di 0 significa che l'organo o apparato ha parametri normali
- Un punteggio di 1-2 significa che iniziano ad apparire delle disfunzioni d'organo
- Un punteggio di 3-4 significa che abbiamo delle vere e proprie insufficienze d'organo.

SOFA score	0	1	2	3	4
Respiration					
PaO ₂ /FIO ₂ (mmHg) (kPa)	> 400 > 5.3)	301-400 (4.1-5.3)	201-300 (2.8-4.0)	101-200 (1.4-2.7)	≤ 100 ≤ 1.3)
Coagulation					
Platelets (x10 ³ /mm ³)	> 150	101-150	51-100	21-50	≤ 20
Liver					
Bilirubin (mg/dl) (μmol/l)	< 1.2 < 20)	1.2-1.9 (20-32)	2.0-5.9 (33-101)	6.0-11.9 (102-204)	≥ 12.0 ≥ 204)
Cardiovascular					
Hypotension	No hypotension	MAP < 70 mmHg	Dopamine ≤ 5 or dobutamine (any dose)*	Dopamine > 5	Dopamine > 15
Central nervous system					
Glasgow coma score	15	13-14	10-12	6-9	< 6
Renal					
Creatinine (mg/dl) (μmol/l) or urine output	< 1.2 < 110)	1.2-1.9 (110-170)	2.0-3.4 (171-299)	3.5-4.9 (300-440) < 500 ml/day	> 5.0 > 440) < 200 ml/day

* adrenergic agents administered for at least 1 h (doses given are in μg/kg/min)

Tabella 3-SOFA Score (The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock. JAMA, 2016)

- Per l'apparato respiratorio si usa il rapporto PaO₂/FiO₂ (mmHg)
- Per la coagulazione si valutano le piastrine
- Per il fegato si considera la bilirubina totale (mg/dL)
- Per l'apparato cardiovascolare si prende in considerazione l'ipotensione, valutando la Pressione Arteriosa Media (MAP)
- Per il rene si valuta la Creatinina (mg/dL) o la diuresi
- Per il SNC viene preso in considerazione il GCS, poiché il paziente settico spesso ha problematiche neurologiche, diviene soporoso o presenta un delirio. Il GCS considerato è quello pre-sedazione; quindi in terapia intensiva non contribuisce ad aumentare il SOFA.

La sepsi da un punto di vista fisiopatologico è una disfunzione d'organo potenzialmente mortale, causata da una risposta disregolata dell'organismo ad un'infezione. Dal punto di vista clinico può essere definita come un aumento di almeno due punti del SOFA SCORE in un paziente con infezione (senza necessità di colture). Un aumento di due punti del SOFA SCORE rispetto a quello basale (calcolato all'ingresso in

terapia intensiva) si tramuta in un aumento della mortalità del 10% (1). Alcune componenti del SOFA richiedono test di laboratorio o strumentali e monitoraggi avanzati che possono essere disponibili in ambienti protetti come la terapia intensiva. In altri contesti dove questi mezzi non sono disponibili, per esempio corsie, pronto soccorso o sul territorio, gli esperti raccomandano l'utilizzo di uno score semplificato basato su tre parametri chiamato Quick SOFA o qSOFA. Questo nuovo score non sostituisce il SOFA, né da una nuova definizione di sepsi. Il suo scopo è quello di identificare pazienti potenzialmente a rischio di essere settici. Il Quick SOFA mira ad essere uno score semplice, riproducibile e facilmente valutabile anche da personale non medico in tutti i reparti ospedalieri, fatta eccezione della Terapia Intensiva, nel quale si usa invece il SOFA Score. Prevede per il suo calcolo la contemplazione di soli criteri clinici:

- Frequenza respiratoria > 20 atti/min
- Alterazione dello stato mentale
- Pressione Arteriosa Sistolica < 100 mmHg

La positività a due di questi criteri identifica un paziente a rischio di sepsi.

L'APACHE SCORE (acute physiologic assessment and chronic health evaluation) rappresenta un sistema di classificazione delle malattie. APACHE II utilizza un punteggio basato su valori iniziali di 12 misurazioni fisiologiche di routine, età e stato di salute precedente per fornire una misura generale della gravità della malattia. Un punteggio crescente (intervallo da 0 a 71) è strettamente correlato al successivo rischio di morte in ospedale. Questa relazione è stata trovata anche per molte malattie comuni. Quando i punteggi APACHE II sono combinati ad una descrizione accurata della malattia, è possibile stratificare prognosticamente i pazienti con malattia acuta e confrontare il successo di nuove o diverse forme di terapia. Questo indice di punteggio può essere utilizzato per valutare l'uso delle risorse ospedaliere e confrontare l'efficacia della terapia intensiva in diversi ospedali o nel tempo (26). Tuttavia, APACHE II ha diverse limitazioni

che possono dare un punteggio fuorviante. Ad esempio, nel caso di giovani pazienti con sepsi grave ma senza insufficienza cronica degli organi, il punteggio APACHE II può essere relativamente basso nonostante il rischio di un risultato sfavorevole. Al contrario, i pazienti settici più anziani con insufficienza cronica degli organi possono fornire alti punteggi APACHE II anche quando il rischio di morire di sepsi è basso.

The APACHE II Score									
Physiologic Variable	High Abnormal Range					Low Abnormal Range			
	+4	+3	+2	+1	0	+1	+2	+3	+4
Rectal Temp (°C)	≥41	39-40.9		38.5-38.9	36-38.4	34-35.9	32-33.9	30-31.9	≤29.9
Mean Arterial Pressure (mmHg)	≥160	130-159	110-129		70-109		50-69		≤49
Heart Rate	≥100	140-179	110-139		70-109		50-69	40-54	≤39
Respiratory Rate	≥50	35-49		25-34	12-24	10-11	6-9		≤5
Oxygenation a) FIO ₂ ≥0.5 record A-aDO ₂ b) FIO ₂ <0.5 record PaO ₂	≥500	350-499	200-349		<200 PO ₂ >70	PO ₂ 61-70		PO ₂ 55-60	PO ₂ <55
Arterial pH	≥7.7	7.6-7.69		7.5-7.59	7.33-7.49		7.25-7.32	7.15-7.24	<7.15
HCO ₃ (mEq/l)	≥52	41-51.9		32-40.9	22-31.9		18-21.9	15-17.9	<15
K (mEq/l)	≥7	6-6.9		5.5-5.9	3.5-5.4	3-3.4	2.5-2.9		<2.5
Na (mEq/l)	≥100	160-179	155-159	150-154	130-149		120-129	111-119	≤110
S. Creat (mg/dl)	≥3.5	2-3.4	1.5-1.9		0.6-1.4		<0.6		
Hematocrit (%)	≥60		50-59.9	46-49.9	30-45.9		20-29.9		<20
TLC (10 ³ /cc)	≥40		20-39.9	15-19.9	3-14.9		1-2.9		<1
GCS									

Age -score	GCS:
<44 → 0	15 → 0 14 → 1 13 → 2
45-54 → 2	12 → 3 11 → 4 10 → 5
55-64 → 3	9 → 6 8 → 7 7 → 8
65-74 → 5	6 → 9 5 → 10 4 → 11
≥75 → 6	3 → 12

JAMA 1993;270(24):2957-2963

Tabella 4-APACHE II SCORE (JAMA 1993)

IL SAPS SCORE, SIMPLIFIED ACUTE PHYSIOLOGIC SCORE (SAPS II), rappresenta un ulteriore modello di punteggio impiegato in terapia intensiva, proposto da Le Gall et al. Questo modello è composto da 17 variabili tra cui 12 fattori fisiologici, età, tipo di ammissione e 3 variabili riguardanti le malattie sottostanti (27). Il valore predittivo di questo modello è stato confermato in diverse condizioni cliniche (28,29,30). SAPS II è stato progettato per misurare la gravità della malattia nei pazienti ricoverati nell'unità di

terapia intensiva di età pari o superiore a 15 anni. Il punteggio viene calcolato da 12 misurazioni fisiologiche durante le prime 24 ore, dallo stato di salute precedente e dalle informazioni ottenute al momento del ricovero. I parametri valutati sono:

- Età
- Frequenza cardiaca
- Pressione arteriosa sistolica
- Temperatura
- Glasgow coma scale
- Ventilazione meccanica o CPAP
- PaO₂
- FiO₂
- Escrezione renale
- Azoto ureico nel sangue
- Sodio
- Potassio
- Bicarbonato
- Globuli bianchi
- Bilirubina
- Malattie croniche pregresse
- Tipo di ammissione.

Il SAPS II Score si traduce in una previsione della mortalità. Non indica la possibilità di sopravvivenza del singolo paziente, ma ha lo scopo di fornire un valore che può essere confrontato all'interno di un gruppo di pazienti.

7- CLINICA E PRINCIPI DI TERAPIA

Identificare un paziente con sepsi in emergenza-urgenza risulta per il clinico una problematica di non semplice soluzione in quanto l'obiettività clinica ed i dati laboratoristici possono essere a volte molto aspecifici. Nella sepsi abbiamo:

- Febbre con $T > 38^{\circ}\text{C}$; alcuni pazienti (neonati, anziani, alcolisti, uremici) presentano una temperatura corporea normale o ridotta (ipotermia), che si correla ad una prognosi peggiore
- Iperventilazione ($\text{FR} > 20$ atti/minuto)
- Tachicardia
- Alterazione dello stato mentale, più frequentemente sopore e confusione mentale
- Lesioni cutanee, come petecchie, ectima gangrenoso, lesioni emorragiche e eritroderma generalizzato
- Leucociti $> 12000/\text{mm}^3$ o $< 4000 \text{ mm}^3$ o neutrofili immaturi $> 10\%$
- Iperglicemia nei pazienti diabetici
- Iposideremia
- Ipotensione arteriosa
- Segni di disfunzione d'organo e/o di ipoperfusione, quali acidosi lattica, alterazione acuta dello stato mentale, oliguria, ipossiemia.

Le principali complicanze sono:

- Polmonari: nelle fasi iniziali le alterazioni del rapporto ventilazione/perfusione determinano ipossiemia. Un'ARDS si sviluppa nel 20-50% dei casi di shock settico.
- Renali: l'insufficienza renale acuta si sviluppa in circa il 50% dei casi di shock settico. I fattori coinvolti sono: ipotensione arteriosa, danno endoteliale, prodotti

tossici dell'interazione neutrofili-endotelio, danno da riperfusione, trombosi micro-vascolare.

- Ematologiche: si manifesta CID per abnorme attivazione della cascata coagulativa da parte di citochine pro-infiammatorie. Si caratterizza per l'associazione tra diffusa formazione di trombi nel microcircolo e manifestazioni emorragiche da consumo dei fattori della coagulazione.
- Gastrointestinali: emorragie digestive minori, già nelle prime 24 ore, da erosioni gastroduodenali secondarie al danno ipossico delle cellule della mucosa. Si può presentare ileo paralitico, che può persistere per 1-2 giorni. Come conseguenza dell'ipotensione prolungata o grave si può manifestare ischemia intestinale.
- Epatiche: ittero colestatico, complicanza frequente della sepsi grave.
- Endocrine: l'iperglicemia nel paziente diabetico può suggerire un quadro di sepsi.
- Acido-base: inizialmente è presente alcalosi respiratoria da iperventilazione. Successivamente, l'ipoperfusione tissutale per attivazione del metabolismo anaerobico induce un'acidosi metabolica lattica.

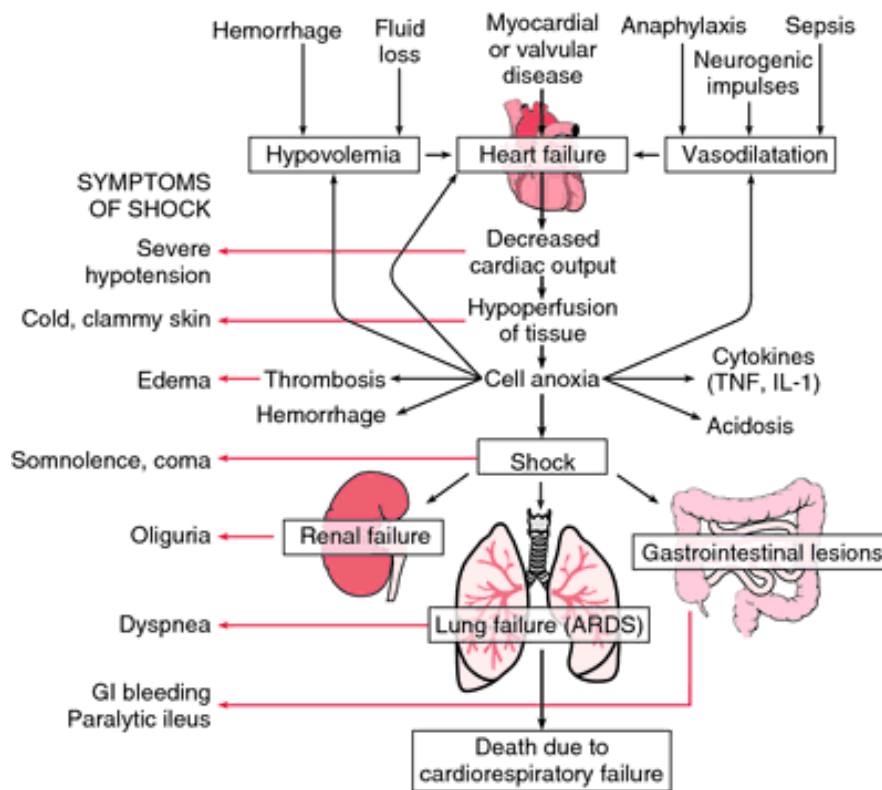


Figura 7-Disfunzione multi-organo (Health Life Media Team, Agosto 2018)

Purtroppo non esiste una terapia specifica per la sepsi, in quanto è una sindrome eterogenea. In sintesi, la terapia che abbiamo a disposizione è fondamentalmente di supporto. La sepsi è un'emergenza medica e quindi il trattamento va iniziato immediatamente. Entro 3 ore è necessario misurare i livelli di lattati ed eventualmente, in caso di eccesso, somministrare cristalloidi e trattare l'ipotensione, che può essere fatale. La terapia eziologica mira ad eradicare l'agente microbico ed attenuare così lo stimolo della risposta infiammatoria mediante:

- Antibiotico-terapia, empirica a largo spettro entro 1 ora dalla diagnosi per poi proseguire con una terapia mirata non appena ottenuto l'antibiogramma (31)
- Sostituzione di protesi e cateteri infetti
- Eventuale drenaggio e toilette chirurgica per eliminare fisicamente il focolaio d'infezione.

La terapia sintomatica mira invece a correggere gli effetti della risposta infiammatoria su ossigenazione, perfusione e funzionalità d'organo mediante:

- Supporto ventilatorio.
- Fluidoterapia: i cristalloidi rappresentano la prima scelta. Può essere somministrata l'albumina nei pazienti che necessitano di grandi quantità di cristalloidi. La rianimazione con fluidoterapia precoce è cruciale per la stabilizzazione dell'ipoperfusione tissutale indotta da sepsi o shock settico nel paziente con ipotensione e lattato elevato (31). Alcuni studi indicano che la fluidoterapia prolungata può essere dannosa (31); per cui, oltre alla somministrazione nella rianimazione, è necessaria un'attenta valutazione nel paziente fluido-reattivo.
- Farmaci vasoattivi, sotto monitoraggio della PA. Il ripristino immediato di un'adeguata pressione di perfusione agli organi vitali è una parte fondamentale della rianimazione. Questo passaggio non dovrebbe essere ritardato. Se la pressione sanguigna non viene ripristinata dopo la somministrazione di fluidoterapia, deve essere valutata la necessità di somministrare vasopressori entro la prima ora per raggiungere valori di MAP (pressione arteriosa media) di almeno 65 mmHg (31).

La noradrenalina (attraverso un catetere centrale) è il farmaco vasopressore di prima scelta per correggere l'ipotensione nel caso di uno shock settico. La dopamina aumenta la pressione arteriosa media e la portata cardiaca, principalmente grazie a un incremento della gittata cardiaca e della frequenza cardiaca. La noradrenalina aumenta la pressione arteriosa media, grazie ai suoi effetti vasocostrittori associati a minime variazioni della frequenza e a un minor aumento della gittata cardiaca rispetto alla dopamina. La noradrenalina è più potente e più efficace rispetto alla dopamina nel migliorare l'ipotensione del paziente in shock settico. La dopamina provoca più facilmente tachicardia e aritmie ipercinetiche e per questo il suo utilizzo non è raccomandato. Sulla base dei

risultati degli studi in corso, non è consigliato l'uso della vasopressina, che è un vasocostrittore diretto, come farmaco di prima scelta, in sostituzione della noradrenalina, anche se basse dosi di vasopressina possono essere efficaci nell'aumentare la pressione arteriosa nei soggetti refrattari ad altri vasopressori.

I principali agenti vasoattivi/inotropi somministrati sono:

- ◆ Norepinefrina (Noradrenalina), ormone sintetizzato nella midollare del surrene. Funge da neurotrasmettitore del Sistema Nervoso Centrale e del Sistema Nervoso Periferico, prodotto in risposta ad uno stress severo. Una volta secreta e rilasciata in circolo, la noradrenalina accelera la frequenza cardiaca, aumenta il rilascio di glucosio dalle riserve energetiche ed aumenta il flusso sanguigno ai muscoli scheletrici. In sinergia con l'epinefrina, la noradrenalina prepara l'organismo alla cosiddetta reazione di "attacco o fuga", incrementando in tempi brevissimi il metabolismo e le capacità di sostenere uno sforzo fisico violento. Oltre ad agire come ormone, la noradrenalina è un neurotrasmettitore caratteristico del sistema nervoso centrale e di quello simpatico; come tale viene rilasciata dai neuroni noradrenergici durante la trasmissione sinaptica. Gli effetti della noradrenalina si concentrano prevalentemente a livello cardiovascolare. Ben nota è la sua capacità di aumentare frequenza e contrattilità cardiaca, innalzando la pressione arteriosa per vasocostrizione arteriolare cutanea, genitale, splacnica e renale.
- ◆ Dobutamina, è un farmaco che fa parte delle catecolammine, ma è esclusivamente di origine sintetica. È indicata nelle situazioni in cui è necessario un supporto inotropo positivo, ovvero quando è necessario migliorare la contrattilità cardiaca.

- ◆ Dopamina, è un neurotrasmettitore appartenente alla famiglia delle catecolammine ed è un precursore della noradrenalina e dell'adrenalina. Viene prodotta in diverse aree del cervello, fra cui l'amigdala, la corteccia frontale e il telencefalo, sintetizzata dal tessuto nervoso e midollare del surrene e rilasciata nello spazio sinaptico dove viene poi catturata e degradata. La dopamina viene rilasciata dall'ipotalamo e ha alcune funzioni principali a livello di sistema nervoso centrale, fra cui il controllo del movimento, il controllo della capacità mnemonica, l'inibizione del rilascio di prolattina, la regolazione della sensazione di piacere e di alcune funzioni cognitive fra cui la capacità di attenzione, la motivazione e l'umore. A livello di sistema nervoso periferico agisce come vasodilatatore, aumentando la PA, come fattore che favorisce la motilità intestinale e come stimolante dell'escrezione del sodio con le urine.
- ◆ Levosimendan, farmaco calcio sensibilizzante, esercita la sua azione come inotropo positivo, incrementando la contrattilità cardiaca, aumentando la sensibilità al calcio dei miociti senza un aumento del calcio intracellulare, legandosi alla troponina C cardiaca in misura calcio-dipendente. Il farmaco ha anche un effetto vasodilatatore, aprendo i canali del potassio sensibili all'ATP della muscolatura liscia dei vasi per provocarne il rilassamento. L'azione inotropica e vasodilatatoria combinata crea un aumento della forza di contrazione, una riduzione del precarico e del postcarico. Inoltre, aprendo anche i canali del potassio mitocondriali ATP-sensibili nelle miocellule cardiache, il farmaco esercita un effetto cardioprotettivo.

- ◆ Terlipressina, analogo della vasopressina. Viene somministrata off label nello shock settico nel paziente che non risponde alla norepinefrina. Risulta efficace per invertire l'ipotensione arteriosa indotta dalla sepsi.

I nuovi presidi terapeutici sono:

- Immunoglobuline IgG e IgM arricchite, quando la conta dei globuli bianchi scende al di sotto di 1000/mm³ associata a riduzione delle IgM
- Emodadsorbimento con Polimixina B: lega le endotossine plasmatiche
- Emopurificazione: vengono rimosse le citochine in eccesso.

Terapie extracorporee per la depurazione del sangue sono state proposte in pazienti con sepsi con l'obiettivo di migliorare i risultati, poiché queste terapie possono variare la risposta infiammatoria dell'ospite di seguito alla rimozione di mediatori infiammatori e/o batterici. Lo stato infiammatorio sistemico caratteristico della sepsi grave e dello shock settico provoca difatti disturbi immunologici con il successivo rilascio di mediatori infiammatori. La risposta infiammatoria può divenire deleteria se eccessiva o incontrollata, portando allo sviluppo della sindrome da disfunzione multiorgano e alla morte, con tasso di mortalità ospedaliera del 27%, raggiungendo il 54% nel caso di shock settico. Almeno due meccanismi sono stati identificati per spiegare i potenziali effetti dannosi della risposta infiammatoria dell'ospite: le citochine hanno la capacità di danneggiare le cellule (3-revisione) e il rilascio prolungato di mediatori infiammatori determina una grave compromissione dell'immunità (4), definita immunoparalisi. L'immunoparalisi gioca un ruolo importante nella mortalità in quanto favorisce l'instaurarsi di gravi infezioni nosocomiali secondarie batteriche o virali (36,37). Il ripristino dell'omeostasi del sistema immunitario è in grado di migliorare i risultati e la sopravvivenza. Molti mediatori sono coinvolti nella risposta infiammatoria (38), ma i tentativi passati di modulare mirando a singoli elementi hanno fallito, almeno nella fase clinica (39).

I recenti progressi tecnologici hanno aumentato il numero di tecniche disponibili e la loro efficacia. In questa panoramica è possibile riportare alcuni studi con relativi dati riguardo le metodiche di depurazione del sangue come l'emofiltrazione ad alto volume, emoadsorbimento, plasmaferesi e filtrazione del plasma accoppiata all'adsorbimento, filtrazione a cascata, emofiltrazione ad alto assorbimento, emodialisi. Sono così emerse una serie di teorie per spiegare l'efficacia della depurazione del sangue.

Innanzitutto, Ronco e colleghi (40) hanno ipotizzato che eliminando i picchi di concentrazioni ematiche di citochine durante la fase iniziale della sepsi potrebbe fermare la cascata infiammatoria, limitare il danno d'organo e conseguentemente ridurre l'incidenza della sindrome da insufficienza multiorgano.

Secondo, Honoré e Matson (41) hanno proposto l'immunomodulazione di soglia, postulando che la rimozione delle citochine dal compartimento sanguigno porti alla rimozione delle citochine tissutali a causa di un equilibrio tra le concentrazioni di questi due compartimenti.

Terzo, Di Carlo e Alexander (42) hanno proposto l'ipotesi in cui HVHF è responsabile di un aumento del flusso linfatico a causa delle elevate quantità di fluidi cristalloidi utilizzate per la sostituzione plasmatica. Questo porta ad una resistenza significativa ed allo spostamento dei mediatori dell'infiammazione nel compartimento sanguigno, rendendoli disponibili per la rimozione.

Infine, Peng e colleghi (43) hanno recentemente suggerito che le terapie di depurazione del sangue agiscono a livello cellulare per ripristinare la funzione immunitaria attraverso la regolazione della concentrazione di monociti, neutrofili e persino linfociti. Questa teoria è supportata da studi recenti (44,45). In effetti, è stato riportato che la polimixina B potrebbe aumentare l'espressione dei marcatori di superficie leucocitaria

come HLA-DR. Quindi, l'emoadsorbimento potrebbe agire come sistema di “riprogrammazione” dei leucociti con un meccanismo ancora sconosciuto.

Pertanto il “modello citocinetico” potrebbe essere più rilevante di modelli citotossici per spiegare l'associazione tra citochine e mortalità.

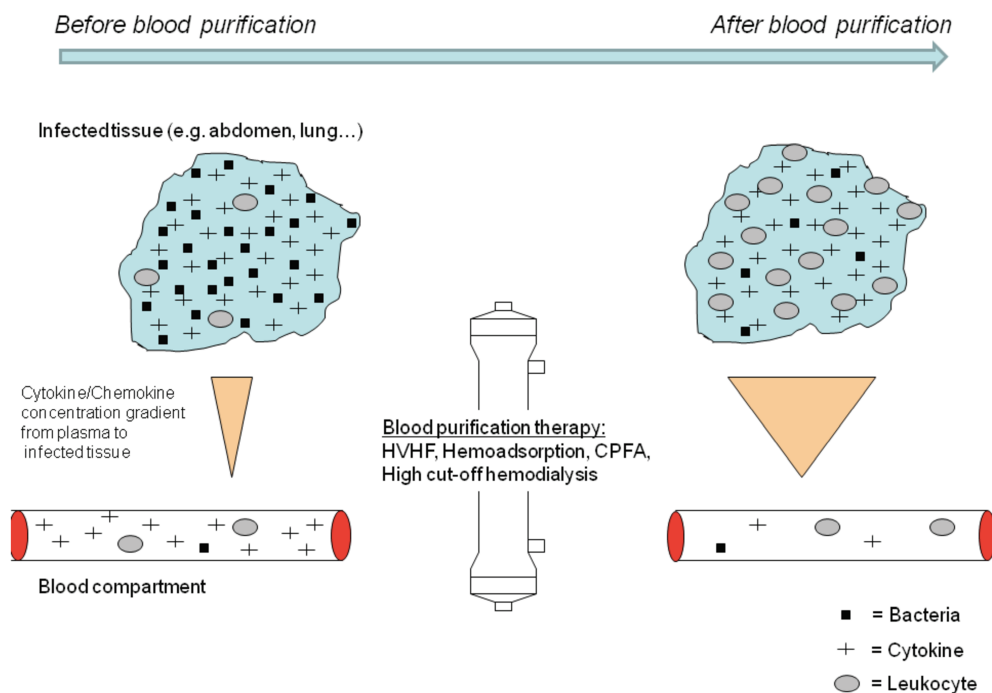


Figura 8- “Modello citocinetico” (Rimmelé and Kellum Critical Care 2011)

Emoadsorbimento

L'emoadsorbimento utilizza delle membrane assorbenti a contatto diretto con il sangue attraverso un circuito extracorporeo. La membrana attrae i soluti attraverso le interazioni idrofobiche, l'attrazione ionica, il legame idrogeno e le interazioni di van der Waals. Fino a poco tempo fa, la scarsa biocompatibilità era la principale limitazione clinica dell'emoadsorbimento, come evidenziato dalla grave trombocitopenia e leucopenia.

L'aspetto interessante è il suo potenziale di assorbimento di elementi ad alto peso molecolare, consentendogli di individuare le grandi molecole.

Differenti “device” utilizzati nell'adsorbimento sono:

- Toraymyxin presenta una cartuccia di polimixina B. La polimixina B è un polipeptide di base ciclico che interrompe la permeabilità della membrana cellulare di batteri Gram-negativi. È covalentemente legata a fibre di polistirene. È stato sviluppato come antibiotico ma è grave la tossicità renale che preclude l'uso sistemico. Tuttavia, le fibre di polimixina-B polistirene-derivate sono state sviluppate per l'uso nella terapia extracorporea per rimuovere le endotossine dal sangue.

Nonostante sia ancora in corso di valutazione in Europa e negli Stati Uniti, l'emoadsorbimento con polimixina B è ampiamente usato in Giappone come purificante del sangue (55).

EUPHAS (Early Use of Polymyxin B Hemoperfusion in Abdominal Sepsis) è uno studio multicentrico randomizzato controllato attuato in 10 unità di terapia intensiva italiane (56). Sessantaquattro pazienti con sepsi grave o shock settico sono stati assegnati in modo casuale a uno dei due gruppi (terapia convenzionale o terapia non convenzionale con l'utilizzo della polimixina B) entro le 6 ore successive all'intervento di emergenza per infezione addominale. Emodinamica, PaO_2 / FiO_2 (pressione parziale arteriosa di ossigeno / frazione di inspirato ossigeno) e il SOFA (Sequential Organ Failure Valutazione) nel gruppo di pazienti con emoadsorbimento sono migliorati entro 72 ore, mentre nel gruppo con terapia convenzionale non sono migliorate. Il risultato principale di questo studio è stato il tasso di mortalità a 28 giorni, che si è drasticamente ridotto al 32% nel gruppo di emoadsorbimento rispetto al 53% nel gruppo di controllo ($P = 0,03$).

Tuttavia, le conclusioni di questo studio dovrebbero essere prese con cautela, anche se la mortalità era solo un endpoint secondario, lo studio si fermò perché fu giudicato non etico privare i pazienti di emoadsorbimento.

Altri studi hanno mostrato risultati interessanti con la polimixina B.

Vincent e colleghi (57) hanno condotto uno studio multicentrico randomizzato controllato in cui sono stati arruolati 36 pazienti post-chirurgici con shock settico. 9 pazienti adolescenti sono stati assegnati al trattamento standard e a 17 dei 36 è stato eseguito un ulteriore emoadsorbimento con polimixina B.

Le concentrazioni di endotossina e interleuchina-6 non erano differenti tra i due gruppi entro le 24 ore dopo l'inizio del trattamento. Tuttavia, i pazienti trattati con emoadsorbimento hanno mostrato un netto miglioramento dell'emodinamica e della funzione di trasporto dell'ossigeno. La necessità di CRRT dopo lo studio era meno importante nel gruppo di emoadsorbimento. Questi effetti benefici sono stati anche riportati in una revisione sistematica di 28 pubblicazioni (1.425 pazienti). Anzi, sebbene Cruz e colleghi abbiano evidenziato la qualità non ottimale degli studi, sono stati segnalati effetti favorevoli sulla pressione sanguigna, vasopressore requisito, scambi di gas e persino mortalità.

- LPS adsorber presenta una cartuccia composta da polipeptide sintetico legato a dischi di polietilene poroso.
- CPFA dato da un plasmafiltro di polietere-solfone, con una cartuccia di resina idrofobica adsorbente. È deputato all'eliminazione delle citochine.
- CytoSorb TM (CytoSorbents Corporation, Monmouth Junction, NJ, USA) è una membrana composta da cartucce di microsfele di poliestere-divinil benzene rivestite da polivinilpirrolidone. Questa tecnologia non ha come obiettivo l'endotossina, ma ha dimostrato di provocare l'eliminazione di diverse citochine chiave *in vitro* e *in vivo*. È possibile prendere in considerazione uno studio svolto su ratti settici. 33

ratti settici sono stati assegnati in modo casuale a ricevere emoadsorbimento o trattamento standard per 3 ore (58). Le concentrazioni di citochine erano più basse nel gruppo di adsorbimento alla fine del trattamento e tale differenza è durata fino a 6 ore dopo il trattamento. La pressione sanguigna dei ratti nel gruppo di emoadsorbimento era più alta di quello del gruppo standard. Infine, il tasso di sopravvivenza globale (definito 12 ore dopo la randomizzazione) si dimostrò significativamente maggiore nel gruppo di emoadsorbimento (11/17 contro 2/16; $P < 0,01$).

Le caratteristiche del Cytosorb sono:

- Superficie $> 40.000 \text{ m}^2$
- Massima pressione tollerata 500 mmHg
- Flusso massimo 400 ml/min
- Sostanze che sono più grandi dei pori e molecole molto piccole (elettroliti) non sono adsorbite
- Adsorbimento di molecole tra 5 e 55 kDa
- La maggior parte delle citochine e dei mediatori dell'infiammazione è compreso in questi intervalli di pesi molecolari
- È una tecnologia che non usa anticorpi, ligandi, cellule o farmaci
- Ha la capacità di rimuovere citochine ed altre molecole come mioglobina, bilirubina, emoglobina libera
- L'adsorbimento è dipendente dalla concentrazione: più elevati sono i livelli di citochine nel sangue, più rapidamente i livelli sono ridotti. La durata massima del trattamento per dispositivo è di 24 ore, ma il trattamento con CytoSorb può essere effettuato fino a 7 giorni consecutivi. La durata media del trattamento è di 48-72 ore
- Determina inoltre la riduzione della produzione di citochine.

La tecnologia è stata richiesta per il trattamento della rabdomiolisi (abbassamento della mioglobina) e per il trattamento dell'iperbilirubinemia (abbassamento della bilirubina) nei pazienti con insufficienza epatica acuta e acuta su cronica, epatiti di varia origine, disfunzione da trapianto epatico.

Cytosorb può essere utilizzato anche in altre situazioni in cui il livello di citochine circolanti è pericolosamente elevato ("cascata di citochine") ovvero:

- durante o dopo la chirurgia cardiaca
- durante procedure di ossigenazione extracorporea
- per la conservazione di organi da trapiantare
- in pazienti con gravi ustioni.

Queste sono tutte condizioni che possono predisporre allo sviluppo di sepsi.

8- OBIETTIVI DELLO STUDIO

A partire dall'inizio del 2018 è entrato a far parte della pratica clinica della SOD "Clinica di Anestesia e Rianimazione Generale, Respiratorie e del Trauma maggiore" dell'azienda Ospedaliero-universitaria Ospedali Riuniti di Ancona un protocollo interno di patient tailored therapy che prevede, nella gestione della sepsi e dello shock settico, l'impiego di terapie aggiuntive, che vengono modulate sulla base delle caratteristiche del paziente.

Nello specifico:

- terapie immunomodulatorie: alla diagnosi di sepsi viene effettuato il dosaggio delle immunoglobuline plasmatiche, citochine pro- e anti-infiammatorie (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF α) ed endotossine circolanti. Per pazienti che abbiano livelli di IgM < 60 mg/dl, viene avviata l'infusione di immunoglobuline IgM arricchite (Pentaglobin) al dosaggio di 250 mg/kg (5 ml/kg/die per 72 ore). Qualora il dosaggio delle citochine evidenzia un pattern di eccessiva risposta pro-infiammatoria e il paziente necessita di terapia renale sostitutiva, viene utilizzato un filtro emoadsorbente ad alto cut-off (Cytosorb). Qualora si evidenzino livelli di endotossina $\geq 0,6$ viene, invece, utilizzato un filtro Toraymyxin. Secondo un recente studio le immunoglobuline policlonali o arricchite con IgM possono essere utili durante la sepsi come terapia adiuvante immunomodulatoria. L'obiettivo è quello di verificare se l'infusione di immunoglobuline arricchite con IgM migliori la perfusione del microcircolo durante la sepsi (32). Le preparazioni arricchite con IgM sono correlate non solo alla loro attività antinfiammatoria, ma anche al riconoscimento dei patogeni, alla clearance, all'eliminazione delle tossine, all'inibizione dell'infiammazione, alla produzione di mediatori, alla neutralizzazione di citochine, alla riduzione dell'apoptosi delle cellule immunitarie

(33). Studi preclinici hanno mostrato un ruolo potenziale nella regolazione della funzione endoteliale, nell'adesione dei leucociti e nella perfusione capillare (34,35). Tuttavia, non esistono studi clinici che valutano l'azione delle immunoglobuline a livello del microcircolo nei pazienti settici. L'obiettivo era quindi quello di valutare un eventuale miglioramento della perfusione a seguito della somministrazione endovena delle immunoglobuline arricchite con IgM, con miglioramento dell'ossigenazione dei tessuti e della funzione d'organo.

- albumina: nei pazienti in cui si riscontra ipoalbuminemia, viene somministrata albumina al 20% utilizzando un target plasmatico di albumina $> 2,5$ gr/dl.
- agenti vasopressori aggiuntivi: la terlipressina viene utilizzata nei pazienti in cui alti dosaggi di noradrenalina non sono sufficienti per raggiungere una MAP > 65 mmHg.

Lo scopo di questo studio è valutare se l'introduzione di un approccio personalizzato abbia, effettivamente, un impatto positivo nei pazienti settici.

Obiettivo primario dello studio consiste nel valutare come è variata la mortalità per sepsi/shock settico, definiti secondo le definizioni del 2001, nell'unità di terapia intensiva a seguito dell'istituzione di un protocollo di patient tailored therapy. A tal fine è stato messo a confronto un gruppo di pazienti con sepsi con necessità di supporto vasopressorio con un gruppo di controlli storici, ricoverati in un periodo precedente l'istituzione del suddetto protocollo.

Gli obiettivi secondari dello studio consistono nella valutazione della variazione nell'utilizzo delle varie terapie nella sepsi (vasopressori, fluidi, inotropi, terapia renale sostitutiva e altre terapie aggiuntive) e nella valutazione delle differenze di mortalità nei sottogruppi di pazienti che rispondono alle nuove definizioni di shock settico (Sepsis-3).

9- MATERIALI E METODI

La seguente tesi si basa su una raccolta retrospettiva di dati, che sono stati acquisiti dalla cartella clinica elettronica dei pazienti reclutati. Sono stati reclutati 100 pazienti consecutivi con una diagnosi di shock settico ricoverati nel periodo precedente a settembre 2019. Come gruppo di controllo è stato utilizzato un gruppo di 100 pazienti in shock settico, ricoverati nel periodo 2010-2013. Tale studio retrospettivo è stato approvato dal Comitato Etico Regionale Marche.

Per ciascun paziente sono stati inseriti:

- Dati anagrafici (sesso, età, peso, altezza)
- SAPS II e APACHE delle prime 24 h in terapia intensiva
- Sorgente dell'infezione, microrganismo implicato ed eventuale multifarmacoresistenza
- Stato di immunosoppressione (definita come conta neutrofila < 500 cellule/mmc o somministrazione di chemioterapia nelle precedenti due settimane o trattamento con prednisolone ≥ 20 mg/die o equivalenti)
- SOFA score delle prime 24 h in terapia intensiva.

Sono stati inoltre descritti durante la prima ora di infusione di noradrenalina e nelle prime 24 ore di infusione i seguenti parametri:

- Temperatura
- Frequenza cardiaca e ritmo cardiaco
- Pressione arteriosa
- Dosaggio di noradrenalina e altri farmaci inotropi e/o vasopressori, tra cui dobutamina, dopamina, terlipressina, levosimendan

- Gittata Cardiaca (CO)
- Dosaggio dei farmaci sedativi
- Principali parametri di ventilazione meccanica
- Eventuale terapia sostitutiva renale.

È stato calcolato il SOFA score durante la prima ora di infusione di noradrenalina e a 24 ore di distanza dall'inizio dell'infusione e il bilancio idrico delle prime 96 ore dall'inizio dell'infusione di noradrenalina. È stato necessario annotare eventuale terapia a base di immunoglobuline IgM arricchite (Pentaglobin), albumina, idrocortisone e la terapia sostitutiva renale con filtri Cytosorb e/o Toraymyxin. Il protocollo di “patient tailored-therapy” nel paziente in shock settico prevede il controllo dell'infezione, della funzionalità d'organo, dello stato immunitario, dello stato emodinamico ed è valutato nel dettaglio in Tabella 5.

Infine, sono stati valutati i seguenti dati:

- Mortalità in terapia intensiva
- Mortalità intraospedaliera
- Durata del ricovero in terapia intensiva
- Durata della degenza ospedaliera
- Causa di decesso in terapia intensiva.

Tabella 5-Protocollo di Patient-tailored therapy

- In caso di livelli plasmatici di IgM < 60 mg/dl → soluzioni di immunoglobuline arricchite di IgM (Pentaglobin) con un dosaggio di 250 mg/kg per 72 ore
- In caso di un aumento dei livelli plasmatici di citochine di almeno quattro volte i valori normali → utilizzo dell'adsorbimento di citochine extracorporee con filtro Cytosorb se il paziente necessita di una terapia di sostituzione renale
- In caso di livelli plasmatici di endotossina > 0.6 e < 0.9 → impiego di emoperfusione di Polymyxin B con il filtro Toraymyxin se il paziente necessita di terapia di sostituzione renale
- In caso di livelli plasmatici di albumina < 2.5 gr/l → infusione endovenosa continua a 20 ml/h di soluzioni di albumina al 20% fino a raggiungere un livello plasmatico di almeno 2.5 gr/l
- In caso di pazienti che necessitano di un dosaggio di noradrenalina > 1 mcg/kg/min per mantenere la pressione arteriosa media $\geq$ 65 mmHg → infusione endovenosa continua di terlipressina alla dose massima di 0.2 mg/h

9.1- CRITERI DI INCLUSIONE

Sono stati inclusi nello studio pazienti di età superiore ai 16 anni, con diagnosi di shock secondo la definizione di sepsi del 2001 da *International Sepsis Definition Conference Criteria* (cioè come uno stato di insufficienza circolatoria acuta caratterizzata da un'ipotensione arteriosa persistente, ovvero una PAS < 90 mmHg o una riduzione della stessa di più di 40 mmHg rispetto al valore basale o una PAM < 70 mmHg, nonostante adeguato riempimento volemico, senza altre cause di ipotensione), ricoverati presso la SOD "Clinica di Anestesia e Rianimazione Generale, Respiratoria e del Trauma maggiore" dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Ospedali Riuniti di Ancona.

9.2- CRITERI DI ESCLUSIONE

Sono stati esclusi dallo studio i pazienti con età inferiore ai 16 anni e con una durata di infusione di noradrenalina < 6 ore.

9.3- ANALISI STATISTICA

Per l'analisi statistica sono stati utilizzati i software *GraphPad Prism Version 6* (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA) e *IBM Statistical Package for Social Science version 21* (Armonk, NY: IBM Corp). La normalità di distribuzione delle variabili è stata testata con test di Shapiro-Wilk. Per il confronto di variabili nominali tra i gruppi è stato utilizzato il test del Chi quadro, mentre per il confronto di variabili quantitative tra i due gruppi il test t di Student o Mann-Whitney U test, in base alla distribuzione delle variabili. È stata usata un'analisi di regressione logistica binaria multivariata per valutare l'associazione tra *patient tailored therapy* ed outcome corretta per indici di gravità clinica,

tra cui fonte di infezione, infezione da patogeni multiresistenti, immunosoppressione, SOFA score, FC, lattati, MAP e SAPS. Al fine di confrontare due sottogruppi di pazienti accoppiati sulla base di caratteristiche cliniche indicative dello stato di gravità è stata effettuata un'analisi del Propensity Score. Le variabili incluse nello score saranno: fonte di infezione, infezione da patogeni multiresistenti, immunosoppressione, SOFA score, FC, MAP, lattati alla diagnosi di shock settico e SAPS all'ammissione. Una $p < 0.05$ verrà utilizzata per indicare la significatività statistica.

Un calcolo *post hoc* della potenza dello studio ha mostrato che l'inclusione di 100 pazienti per gruppo sarebbe stato sufficiente a dimostrare la differenza di mortalità osservata con una potenza di 0.94 e un α *error* di 0.05.

10- RISULTATI

Le caratteristiche generali delle coorti di terapia standard e di tailored-therapy sono riportate nella Tabella 6. I pazienti nel gruppo di tailored-therapy avevano SAPS II elevato al momento del ricovero in UCI, ma un SOFA Score più basso al momento della diagnosi di sepsi. Il numero di pazienti con immunosoppressione preesistente tendeva ad essere inferiore in questo gruppo rispetto a quello con terapia standard. Sebbene la principale sorgente di infezione fosse respiratoria in entrambi i gruppi, il gruppo con terapia standard aveva una prevalenza più elevata di sepsi addominale, mentre il gruppo con tailored-therapy mostrava più casi di sepsi genito-urinaria e batteriemia. I pazienti di quest'ultimo gruppo hanno ricevuto meno liquidi nelle prime 24 ore di sepsi e una dose più bassa di noradrenalina (Tabella 7). Un numero più elevato di pazienti è stato sottoposto a terapia di sostituzione renale nelle prime 24 ore rispetto alla coorte di terapia standard. Un gruppo considerevole di pazienti nel gruppo di tailored-therapy ha ricevuto terapie con albumina, pentaglobin e purificazione del sangue, mentre questi trattamenti non sono stati utilizzati nella coorte 2010-2013 (Tabella 7).

La mortalità in terapia intensiva è risultata inferiore nella coorte con tailored-therapy rispetto alla coorte con terapia standard (32% contro 57%, $p < 0,001$). La tailored-therapy è stata associata ad un minor rischio di mortalità in terapia intensiva, anche tenendo in considerazione la fonte di infezione, l'eventuale presenza di agenti patogeni multiresistenti, immunosoppressione preesistente, SOFA alla prima ora di sepsi, frequenza cardiaca, pressione arteriosa media, livelli di lattato e SAPS al momento dell'ammissione in terapia intensiva (odds ratio aggiustato 0,273 [intervallo di confidenza al 95% 0,132-0,566], $p < 0,001$). Un confronto di trattamenti tra sopravvissuti e non sopravvissuti è riportato nella Tabella 8.

Dopo il confronto del punteggio di propensione, abbiamo selezionato 54 pazienti nella coorte standard e 54 pazienti nella coorte terapeutica con caratteristiche generali simili (Tabella 9). La mortalità in terapia intensiva era inferiore nel gruppo con tailored-therapy rispetto a quella del gruppo con terapia standard (31,5% contro 55,6%, $p = 0,019$). Un confronto tra i trattamenti dei due gruppi è mostrato nella Tabella 9.

Pazienti con shock settico (Sepsis-3)

Un totale di 56 pazienti nella coorte di terapia standard e 58 pazienti nella coorte di tailored-therapy erano in shock settico secondo le definizioni di Sepsis-3 (Tabella 10). Tra questi pazienti, la mortalità in terapia intensiva era del 43,1% nella coorte di tailored-therapy e del 73,2% nella coorte di terapia standard ($p = 0,001$). La terapia su misura è stata associata ad una bassa mortalità in terapia intensiva indipendentemente dalla sorgente di infezione, patogeni multiresistenti, immunosoppressione preesistente, SOFA alla prima ora dalla diagnosi di sepsi, frequenza cardiaca, pressione arteriosa media, livelli di lattato e SAPS all'ammissione in terapia intensiva (OR aggiustato 0,269 [IC 95% 0,112-0,644], $p = 0,003$). In seguito al confronto del punteggio di propensione, la mortalità in ICU era del 53,1% nel gruppo con tailored-therapy ($n = 32$) ($p = 0,196$, Tabella 9).

Tabella 6- Caratteristiche generali delle due coorti

	Standard (n=100)	Patient- tailored (n=100)	p
Età (anni)	69 [55-75]	67 [49-76]	0.5168
Maschi	59	56	0.6678
SAPS II (all'accesso in ICU)	57±17	61±16	0.0469
APACHE II (all'accesso in ICU)	23 [19-30]	23 [19-28]	0.6414
SOFA score (nella 1° ora di sepsi)	11±3	10±2	0.007
MAP (mmHg) (nella 1° ora di sepsi)	76±13	75±15	0.7186
Norepinefrina (mcg/kg/min) (1° ora)	0.40 [0.16- 0.77]	0.30 [0.16- 0.50]	0.1009
Lattato (mmol/L) (1° ora)	2.4 [1.1-4.2]	2.3 [1.5-3.4]	0.9193
FC (bpm) (1° ora)	100±22	98±19	0.4298
Immunosoppressione	18	9	0.0626
Sorgente di infezione			<0.001
polmonare	51	49	
addominale	35	11	
genito-urinaria	2	12	
batteriemia	2	9	
Cute e tessuti molli	7	7	
altre	1	2	
sconosciuta	2	10	
Infezioni da germi multi-resistenti (MDR)	33	24	0.1099

ICU LOS (permanenza in ICU-giorni)	11 [3-22]	12 [7-22]	0.3238
ICU Non-sopravvissuti	57	32	0.0004

Tabella 7-Confronto dei trattamenti tra le due coorti in studio

	Standard (n=100)	Patient- tailored (n=100)	p
RRT Terapia sostitutiva renale (nelle prime 24h)	10	25	0.0052
Ventilazione meccanica (nelle prime 24h)	99	98	0.5607
Bilancio idrico (nelle prime 24h)	513 [-96, 2351]	357 [-854, 1720]	0.1502
Totale dei Fluidi (ml/kg) (nelle prime 24h)	59 [47-79]	50 [38-71]	0.0272
Norepinefrina MAX (mcg/kg/min) (nelle prime 24h)	0.61 [0.27-1.02]	0.40 [0.21-0.71]	0.0028
Altri agenti Vasoattivi (nelle prime 24h)			
dobutamina	20	24	0.495
dopamina	9	3	0.074
levosimendan	4	10	0.096
terlipressina	0	9	0.002
Pentaglobin, n	0	18	<0.001
Cytosorb, n	0	15	<0.001
Toraymyxin, n	0	5	0.059
Albumina, n	0	71	<0.001
Beta-bloccanti, n	6	4	0.747

Tabella 8-Confronto dei trattamenti tra sopravvissuti e non sopravvissuti

	Survivors (n=111)	Non-survivors (N=89)	
Pentaglobin	8 (7.2%)	10 (11.2%)	0.334
Cytosorb	6 (5.4%)	9 (10.1%)	0.281
Toraymyxin	1 (0.9%)	4 (4.5%)	0.174
Albumina	46 (41.4%)	25 (28.1%)	0.055
Levosimendan	6 (5.4%)	8 (9%)	0.406
Terlipressina	3 (2.7%)	6 (6.7%)	0.190
Beta-bloccanti	4 (3.6%)	6 (6.7%)	0.345
RRT terapia sostitutiva renale	14 (12.6%)	24 (27%)	0.012
Fluidi totali (ml/kg) (nelle prime 24h)	55 [41-73]	60 [44-79]	0.261

Tabella 9-Analisi del Propensity score

	Standard (n=54)	Patient-tailored (n=54)	p
Età (anni)	71 [58-75]	64 [51-76]	0.314
SAPS II (all'accesso in ICU)	59±18	60±17	0.777
SOFA score (nella 1°ora di sepsi)	11±3	11±3	0.888
MAP (mmHg) (nella 1°ora di sepsi)	76 [69-84]	76 [64-86]	0.877
Norepinefrina (mcg/kg/min) (nella 1°ora di sepsi)	0.40 [0.16-0.60]	0.36 [0.15-0.54]	0.606
Lattato (mmol/L) (nella 1°ora di sepsi)	2 [1.1-3.7]	2.3 [1.5-2.9]	0.317
FC (bpm) (nella 1° ora di sepsi)	98±23	98±22	0.861
Immunosoppressione	8 (14.8%)	7 (13%)	0.999
Sorgente di infezione			0.955
polmonare	31 (57.4%)	34 (63%)	
addominale	11 (20.4%)	11 (20.4%)	
genito-urinaria	2 (3.7%)	2 (3.7%)	
batteriemia	1 (1.9%)	1 (1.9%)	
Cute e tessuti molli	6 (11.1%)	5 (9.3%)	
altre	1 (1.9%)	0 (0%)	
sconosciute	2 (3.7%)	1 (1.9%)	
Infezioni da germi multi-	16 (29.6%)	17 (31.5%)	0.999

resistenti (MDR)			
ICU LOS (permanenza in ICU-giorni)	12 [3-26]	10 [7-23]	0.740
ICU Non sopravvissuti	30 (55.6%)	17 (31.5%)	0.019
RRT Terapia sostitutiva renale (nelle prime 24h)	5 (9.3%)	11 (20.4%)	0.174
Fluidi totali (ml/kg) (nelle prime 24h)	58 [45-79]	47 [36-67]	0.037
Norepinefrina MAX (mcg/kg/min) (nelle prime 24h)	0.58 [0.20-1.00]	0.47 [0.20-0.72]	0.205
Altri agenti Vasoattivi (nelle prime 24h)			
dobutamina	8 (14.8%)	12 (22.2%)	0.458
dopamina	5 (9.3%)	0 (0%)	0.057
levosimendan	3 (5.6%)	5 (9.3%)	0.716
terlipressina	0 (0%)	4 (7.4%)	0.118
Pentaglobin, n	0 (0%)	11 (20.4%)	0.001
Cytosorb, n	0 (0%)	10 (18.5%)	0.001
Toraymyxin, n	0 (0%)	3 (5.6%)	0.243
Albumina, n	0 (0%)	38 (70.4%)	<0.001

Tabella 10-Confronto tra terapia standard e terapia personalizzata nei pazienti con shock settico secondo la definizione Sepsis-3

	Standard therapy (n=56)	Patient-tailored therapy (n=58)	p
Età (anni)	71 [59-77]	63 [49-75]	0.151
Maschi	29 (51.8%)	32 (55.2%)	0.851
SAPS II (all'accesso in ICU)	61 [47-77]	64 [53-76]	0.644
APACHE II (all'accesso in ICU)	26 [20-32]	23 [20-29]	0.230
SOFA score (nella 1° ora di sepsi)	12±3	11±2	0.006
MAP (mmHg) (nella 1° ora)	73 [64-85]	73 [61-87]	0.790
Norepinefrina (mcg/kg/min) (1° ora)	0.500 [0.202-0.832]	0.400 [0.195-0.722]	0.264
Lattati (mmol/L) (1° ora)	3.8 [2.7-7.1]	3 [2.5-6.8]	0.211
FC (bpm) (1° ora)	100 [88-125]	99 [86-120]	0.481
Immunosoppressione	14 (25%)	7 (12.1%)	0.093
Sorgente di infezione			0.004
polmonare	27 (48.2%)	28 (48.3%)	
addominale	22 (39.3%)	8 (13.8%)	
genito-urinaria	0 (0%)	10 (17.2%)	
batteriemia	2 (3.6%)	7 (12.1%)	
Cute e tessuti molli	2 (3.6%)	2 (3.4%)	
altre	1 (1.8%)	1 (1.7%)	
sconosciute	2 (3.6%)	2 (3.4%)	
Infezioni da germi multi-resistenti (MDR)	16 (28.6%)	13 (22.4%)	0.521

ICU LOS (permanenza in ICU-giorni)	7 [2-20]	10 [5-21]	0.112
ICU Non sopravvissuti	41 (73.2%)	25 (43.1%)	0.001
RRT Terapia sostitutiva renale (nelle prime 24h)	11 (19.6%)	18 (31%)	0.199
Ventilazione meccanica (nelle prime 24h)	56 (100%)	58 (100%)	-
Bilancio idrico (nelle prime 24h)	1509 [-2.75, 2846]	686 [-855, 2126]	0.296
Fluidi totali (ml/kg) (nelle prime 24h)	68±27	66±34	0.820
Norepinefrina MAX (mcg/kg/min) (nelle prime 24h)	0.868 [0.514-1.200]	0.550 [0.365-0.800]	0.003
Altri agenti Vasoattivi (nelle prime 24h)			
dobutamina	10 (17.9%)	18 (31%)	0.129
dopamina	4 (7.1%)	2 (3.4%)	0.434
levosimendan	2 (3.6%)	9 (15.5%)	0.053
terlipressina	0 (0%)	8 (13.8%)	0.006
Pentaglobin, n	0 (0%)	17 (29.3%)	<0.001
Cytosorb, n	0 (0%)	11 (19%)	0.001
Toraymyxin, n	0 (0%)	4 (6.9%)	0.119
Albumina, n	0 (0%)	42 (72.4%)	<0.001
Beta-bloccanti, n	3 (5.4%)	3 (5.2%)	0.999

11- DISCUSSIONE

In questo studio osservazionale retrospettivo, l'istituzione di un protocollo di patient tailored-therapy ha mostrato una mortalità significativamente inferiore rispetto alla mortalità dei pazienti del gruppo di controllo ammessi tra il 2010-2013 trattati con terapia standard. Questa sostanziale differenza è rimasta tale anche dopo aver adeguato i principali parametri di gravità clinica o limitato l'analisi ai pazienti con diagnosi di shock settico in base alle attuali definizioni (1).

L'approccio terapeutico al paziente settico è in continua evoluzione negli ultimi anni. Per esempio, l'approccio alla stabilizzazione emodinamica, sia per quanto riguarda la fluidoterapia sia per gli agenti vasoattivi, è cambiato. La riduzione del dosaggio di noradrenalina nelle prime 24 ore e l'aumento dell'uso di terlipressina, insieme alla minor assunzione di liquidi nelle prime 24 ore, suggeriscono che è consigliato evitare un'eccessiva somministrazione di liquidi e limitare l'uso di dosi eccessive di noradrenalina, a favore di una precedente associazione con altri agenti vasoattivi. Inoltre, un numero più elevato di pazienti riceve attualmente terapia sostitutiva renale nelle prime 24 ore. Allo stato attuale, tutti i pazienti settici con bassi livelli di albumina ricevono albumina sierica umana, che non veniva invece somministrata nella coorte 2010-2013.

Sono state introdotte diverse terapie, come l'immunomodulazione e le strategie di rimozione extracorporea, nonostante l'assenza di chiare raccomandazioni per l'uso di preparati immunoglobulinici e tecniche di purificazione del sangue (68). Difatti numerosi studi clinici hanno dimostrato un effetto benefico delle soluzioni immunoglobuliniche arricchite con IgM e del sistema di purificazione del sangue con Cytosorb Adsorber durante la sepsi.

In una metanalisi di RCT, è stato dimostrato che l'infusione di immunoglobuline può ridurre la mortalità nei pazienti settici (69).

In un recente studio controllato randomizzato condotto dalla SOD “Clinica di Anestesia e Rianimazione Generale, Respiratoria e del Trauma maggiore” dell’Azienda Ospedaliero-Universitaria Ospedali Riuniti di Ancona, le immunoglobuline arricchite con IgM sono state in grado di migliorare la perfusione microvascolare sublinguale durante la sepsi (70). Nei pazienti con shock settico che necessitano di terapia sostitutiva renale, è stato dimostrato che la purificazione del sangue extracorporeo con Cytosorb è associata ad un miglioramento della microcircolazione sublinguale (71). È ragionevole pensare che questi trattamenti potrebbero mostrare un miglior impatto se somministrati a pazienti selezionati (ad esempio a quelli con livelli di IgM plasmatici inferiori ai valori fisiologici o con risposta infiammatoria grave) seguendo un approccio di tailored-therapy, ovvero di terapia personalizzata a seconda delle caratteristiche del paziente.

Nel seguente studio retrospettivo osservazionale, sono state osservate alcune differenze che possono influenzare la mortalità. Nella corte 2018-2019, è stata osservata una minore incidenza di immunosoppressione e una diversa distribuzione della sorgente di infezione. Nella coorte 2010-2013 abbiamo riscontrato una maggiore prevalenza di sepsi addominale e una minore prevalenza di infezioni genito-urinarie. Inoltre il SOFA Score è stato leggermente inferiore nella coorte 2018-2019. Tuttavia, applicando le analisi della regressione logistica multivariata e del punteggio di propensione, è stato fatto il confronto con questi potenziali fattori di confondimento. Tale studio suggerisce che un approccio individualizzato potrebbe avere un impatto positivo sull’esito dei pazienti settici.

I dati ottenuti sono in linea con le prove attuali. A causa dell’estrema eterogeneità dei pazienti settici (72), la maggior parte degli studi non ha dimostrato un beneficio in termini di mortalità derivante da trattamenti che comprendono immunoglobuline o tecniche di purificazione del sangue (73,74,75,76). Per questo motivo è spesso richiesto un approccio personalizzato, che terrà conto delle caratteristiche basali del paziente, dell’infezione

sottostante, della gravità della disfunzione d'organo e della risposta immunitaria individuale (6).

Eseguendo un'analisi della classe latente dello studio PROWESS Shock, Gardlung et al. ha evidenziato che lo shock settico è un'entità complessa caratterizzata da fenotipi diversi e ciascuno di questi fenotipi trarrebbe beneficio da terapie mirate basate sulle caratteristiche del paziente (77).

Coerentemente, Zhang et al. hanno identificato quattro sottoclassi di pazienti settici che mostravano risposte diverse alla rianimazione con fluidi (78).

Da notare, nel presente studio, i trattamenti aggiuntivi, se analizzati singolarmente, non mostrano una correlazione positiva con la sopravvivenza.

Ciò è in linea con il concetto di *"bundles of care"*, ovvero un ristretto numero di pratiche basate sull'evidenza, rivolto ad una determinata fascia di popolazione o gruppo di pazienti e da attuare in un determinato setting assistenziale, approvato dalla campagna sulla sepsi e associato ad un miglior impatto sui risultati (79). Come notato quando sono stati introdotti, i *bundles* sono stati progettati per essere aggiornati continuamente dalle Linee Guida Internazionali per la gestione della Sepsis (16), promuovendo la Surviving sepsis campaign. In risposta alla pubblicazione della "Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016", è stato quindi sviluppato il "bundle hour-1" per sottolineare il concetto che la sepsi sia un'emergenza medica. Come avviene anche per il politrauma, l'infarto miocardico acuto e l'ictus, l'identificazione precoce e un'appropriata gestione nelle prime ore migliorano i risultati per i pazienti che necessitano di una valutazione iniziale dettagliata, di un trattamento urgente e quindi di una rivalutazione continua della risposta al trattamento. Gli elementi del bundle 2018, destinati ad essere avviati entro la prima ora, sono elencati nella *Tabella 11* delle nuove raccomandazioni. Coerentemente con le indicazioni precedenti, "tempo zero" o "tempo di presentazione" è definito come il tempo di triage nel reparto di emergenza o, se

riferito ad un altro luogo di cura, dalla prima annotazione nella cartella clinica comprendente tutti gli elementi della sepsi o shock settico accertati.

Bundle element	Grade of recommendation and level of evidence
Measure lactate level. Re-measure if initial lactate is > 2 mmol/L	Weak recommendation, low quality of evidence
Obtain blood cultures prior to administration of antibiotics	Best practice statement
Administer broad-spectrum antibiotics	Strong recommendation, moderate quality of evidence
Rapidly administer 30 ml/kg crystalloid for hypotension or lactate $\geq$ 4 mmol/L	Strong recommendation, low quality of evidence
Apply vasopressors if patient is hypotensive during or after fluid resuscitation to maintain MAP $\geq$ 65 mm Hg	Strong recommendation, moderate quality of evidence

Tabella 1-Elementi Bundle 2018 (Intensive Care Med. 2018 Apr 19).

Lo studio osservazionale retrospettivo svolto nella SOD “Clinica di Anestesia e Rianimazione Generale, Respiratoria e del Trauma maggiore” dell’Azienda Ospedaliero-Universitaria Ospedali Riuniti di Ancona ha diversi limiti. Innanzitutto, essendo uno studio retrospettivo non consente di controllare tutti i possibili fattori variabili. Tuttavia, lo studio è stato adeguato ai principali indici di gravità clinica nelle analisi. In secondo luogo, è stato utilizzato un gruppo di controlli storici, composto da pazienti ricoverati in terapia intensiva nel periodo tra il 2010 e il 2013, per i quali alcune informazioni sugli elementi terapeutici non erano più disponibili. Inoltre, non è possibile escludere che la differenza osservata nella mortalità sia stata determinata da fattori non esclusivamente legati alla tailored-therapy, ma influenzata anche da elementi terapeutici non considerati. In effetti, un miglioramento generale nella cura dei pazienti settici e un tempestivo riconoscimento di

tale condizione, anche correlato alla diffusione del SOFA rapido (1) al di fuori dell'ICU, possono aver contribuito alla riduzione della mortalità. In terzo luogo, la dimensione del campione è stata scelta arbitrariamente in base alla dimensione del precedente campione disponibile. Tuttavia, un calo post-hoc della potenza dello studio ha mostrato che il numero di pazienti arruolati era sufficiente per dimostrare la differenza osservata nella mortalità.

Questo studio non può dimostrare un'efficacia sicura della tailored-therapy, ovvero una terapia personalizzata sul paziente, anche se i risultati incoraggiano la programmazione di ulteriori studi.

12- CONCLUSIONE

In un gruppo di 100 pazienti con sepsi/shock settico ammessi nella SOD “Clinica di Anestesia e Rianimazione Generale, Respiratoria e del Trauma maggiore” dell’Azienda Ospedaliero-Universitaria Ospedali Riuniti di Ancona, dopo aver istituito il protocollo di tailored-therapy, è stata dimostrata una significativa riduzione della mortalità, facendo il confronto con la mortalità in un gruppo di controllo storico di pazienti ammessi nel periodo 2010-2013. La terapia su misura è stata associata ad una bassa mortalità in terapia intensiva indipendentemente dalla sorgente di infezione, patogeni multiresistenti, immunosoppressione preesistente, SOFA alla prima ora dalla diagnosi di sepsi, frequenza cardiaca, pressione arteriosa media, livelli di lattato e SAPS all’ammissione in terapia intensiva. Nel presente studio è stato evidenziato che i trattamenti aggiuntivi, se analizzati singolarmente, non mostrano una correlazione positiva con la sopravvivenza. Questo concetto è correlato appunto con i “*bundles of care*”, raggruppamenti di strategie terapeutiche con lo scopo di ottimizzare i tempi di applicazione e le sequenze terapeutiche.

I risultati ottenuti incoraggiano la programmazione di studi aggiuntivi per dimostrare l’effettivo beneficio di un approccio terapeutico individuale in corso di sepsi.

13- BIBLIOGRAFIA

- (1) M. Singer *et al.*, “The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)”, *JAMA*, vol. 315, n° 8, p. 801, Feb. 2016
- (2) Vincent JL, Marshall JC, Namendys-Silva SA, et al. “Assessment of the worldwide burden of critical illness: the intensive care over nations (ICON) audit”, *Lancet Respir Med*; 2(5):380-6; 2014
- (3) Singer M., “Sepsis: personalization v protocolization?”, *Critical Care*, 23(Suppl 1):127, June 2019
- (4) Cohen J, Vincent JL, Adhikari NK, Machado FR, Angus DC, Calandra T, Jaton K, Giulieri S, Delaloye J, Opal S, *et al.* “Sepsis: a roadmap for future research.”, *Lancet Infect*, vol. 15, issue 5, p. 581-614, May 2015
- (5) Vincent JL, Mongkolpun W, “The coming era of precision medicine for intensive care.”, *Critical Care*, 21 (Suppl 3): 314, Dec. 2017
- (6) Vincent JL, Mongkolpun W, “Non-antibiotic therapies for sepsis: an update”, *Expert Rev Anti Infect Ther.*, 17(3):169-175, Mar 2019
- (7) Annoni F, Grimaldi D, Taccone FS, “Individualized antibiotic therapy in the treatment of severe infections.”, *Expert Rev Anti Infect Ther.*, 29:1-9, Nov 2019

- (8) Angus D.C, Linde-Zwirble W.T, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky M.P. "Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care.", *Crit Care Med.* 2001; Vol. 29, No. 7: 1303-10.
- (9) American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference, "Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis." *Critical Care Med.*,1992; 20: 864-74.
- (10) Levy M.M, Fink M.P, Marshall J.C, Abraham E, Angus D.C, Cook D, Cohen J, Opal S.M, Vincent J.L, Ramsay G. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS, "International Sepsis Definitions Conference.", *Intensive Care Med.* 2003; 29:530–38.
- (11) E.Braunwald, A., Fauci A.S., Kasper D.L., Hauser S.L., Longo D.L., Jameson J.L. Sepsis e shock settico, "*Harrison's Principles of Internal Medicine 15/e.*", Donatella Nebulone eds Edizione Paperback Publ., Milano, 2002, pg. 940-946.
- (12) Azkárate I, Choperena G, Salas E, Sebastián R, Lara G, Elósegui I, Barrutia L, Eguibar I, Salaberria R. "Epidemiology and prognostic factors in severe sepsis/septic shock. Evolution over six years." *Med Intensiva.* 2016;40(1):18-25)
- (13) Van Vught LA, Klein Klouwenberg PM, Pharm D, PhD; Spitoni C, Scicluna BP, Wiewel MA, Horn J, Schultz MJ, Nürnberg P, Bonten MJ, Cremer OJ, Der Poll T, for the MARS Consortium. "Incidence, risk factors, and attributable mortality of secondary infections in the intensive care unit after admission for sepsis." *JAMA*, 2016;315(14):1469-1479).

- (14) Nguyen A, Yaffe M.B. "Proteomics and systems biology approaches to signal transduction in sepsis." *Crit Care Med.* 2003 Vol. 31, No. 1 (Suppl.).
- (15) Tsiotou A.G, Sakorafas G.H, Anagnostopoulos G, Bramis J. "Septic shock; current pathogenetic concepts from a clinical perspective.", *Med Sci Monit.* 2005; 11(3): RA76-85.
- (16) Aird W.C. "The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome.", *Blood.* 2003; 101: 3765-77.
- (17) Angus DC, Van Der Poll T., "Severe Sepsis and Septic Shock.", *N Engl J Med* 2013;369:840-51.
- (18) Qiang S, Chang-chun S, Xiang-hong Z, Zhuo S, Shan-shan S, Xiang-ming F, Qi-xing D, and Stuber F. "Interleukin 10.G microsatellite in the promoter region of the interleukin-10 gene in severe sepsis.", *Chinese Medical Journal.* 2006; 119 (3):197-201.
- (19) McConnel KW, Coopersmith CM. "Pathophysiology of septic shock: From bench to bedside.", *Presse Med.* 2016; 45: e93–e98
- (20) Reinhart K, Bauer M, Riedemann NC, Hartog CS. "New approaches to sepsis: molecular diagnostics and biomarkers.", *Clin Microbiol Rev* 2012, 25: 609-634
- (21) Kibe S, Adams K, Barlow G. "Diagnostic and prognostic biomarkers of sepsis in critical care.", *J Antimicrob Chemother* 2011, 66 Suppl 2: ii33–ii40

- (22) Huang MY, Chen CY, Chien JH, Wu KH, Chang JY, Wu KH, Wu HP. “Serum Procalcitonin and Procalcitonin Clearance as a prognostic biomarker in patients with severe sepsis and septic shock.”, BioMed Research International, 2016, Article ID 1758501
- (23) Romaschin AD, Klein DJ, Marshall JC. “Bench-to-bedside review: Clinical experience with the endotoxin activity assay.”, Critical Care 2012, 16:248
- (24) Charbonney E , Tsang JY, Li Y, Klein D, Duque P, Romaschin A, Marshall JC. “Endotoxemia following multiple trauma: risk factors and prognostic implications.”, Crit Care Med. 2016, 44(2):33541
- (25) Yaroustovsky M, Plyushch M, Popov D, Samsonova N, Abramyan M, Popok Z, Krotenko N. “Prognostic value of endotoxin activity assay in patients with severe sepsis after cardiac surgery.”, J Inflammation 2013, 10:8
- (26) Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. “APACHE II: a severity of disease classification system.” Critical Care Medicine (1985). 13 (10): 818–29
- (27) Le Gall JR, Lemeshow S, Saulnier F. “A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study.”, Jama. 1993;270(24):2957–63
- (28) Czorlich P, Sauvigny T, Ricklefs F, Kluge S, Vettorazzi E, Regelsberger J, et al. “The simplified acute physiology score II to predict hospital mortality in aneurysmal subarachnoid hemorrhage.” Acta neurochirurgica. 2015;157(12):2051–9

- (29) Haddadi A, Ledmani M, Gainier M, Hubert H, De Micheaux PL. “Comparing the APACHE II, SOFA, LOD, and SAPS II scores in patients who have developed a nosocomial infection.” *Bangladesh Critical Care Journal*. 2014;2(1):4–9.
- (30) Adamzik M, Langemeier T, Frey UH, Görlinger K, Saner F, Eggebrecht H, et al. “Comparison of thrombelastometry with simplified acute physiology score II and sequential organ failure assessment scores for the prediction of 30-day survival: a cohort study.” *Shock*. 2011;35(4):339–42.).
- (31) Mitchell M. Levy, Laura E. Evans, and Andrew Rhodes, “The Surviving Sepsis Campaign Bundle: 2018 Update.”, *Critical Care Medicine*, 46.6 (2018), 997–1000
- (32) R Domizi, E Adrario, E Damiani et al., “IgM-enriched immunoglobulins (Pentaglobin) may improve the microcirculation in sepsis: a pilot randomized trial”, *Annals of Intensive Care*, 2019, 9-1.
- (33) Shankar-Hari M, Spencer J, Sewell WA, Rowan KM, Cantante M. Bench. “Bench-to-bedside review: Immunoglobulin therapy for sepsis - biological plausibility from a critical care perspective.”, *Crit Care*. 2012; 16: 206.
- (34) Macmillan HF, Rowter D, Lee T, Issekutz AC. “Intravenous immunoglobulin G selectively inhibits IL-1 α -induced neutrophil-endothelial cell adhesion.”, *Autoimmunity*, 2010; 43: 619-27.
- (35) Hoffman JN, Fertmann JM, Vollmar B, Laschke MW, Jauch KW, Menger MD.,

“Immunoglobulin M-enriched human immunoglobulins reduce leucocyte-endothelial interactions and attenuate microvascular perfusion failure in normotensive endotoxemia.” Shock.2008; 29: 133-9.

(36) Limaye AP, Kirby KA, Rubenfeld GD, Leisenring WM, Bulger EM, Neff MJ, Gibran NS, Huang ML, Santo Hayes TK, Corey L, Boeckh M, “Cytomegalovirus reactivation in critically ill immunocompetent patients.”, JAMA 2008, 300: 413-422.

(37) Luyt CE, Combes A, Deback C, Aubriot-Lorton MH, Nieszkowska A, Trouillet JL, Capron F, Agut H, Gibert C, Chastre J, “Herpes simplex virus lung infection in patients undergoing prolonged mechanical ventilation.” Am J Respir Crit, Care Med 2007, 175: 935-942.

(38) Tetta C, Bellomo R, Inguaggiato P, Wratten ML, Ronco C: “Endotoxin and cytokine removal in sepsis.”, Ther Apher 2002, 6:109-115.

(39) Deans KJ, Haley M, Natanson C, Eichacker PQ, Minneci PC: “Novel therapies for sepsis: a review.” J Trauma 2005, 58:867-874.

(40) Ronco C, Tetta C, Mariano F, Wratten ML, Bonello M, Bordoni V, Cardona X, Inguaggiato P, Pilotto L, d’Intini V, Bellomo R: “Interpreting the mechanisms of continuous renal replacement therapy in sepsis: the peak concentration hypothesis”. Artif Organs 2003, 27:792-801.

(41) Honoré PM, Matson JR: “Extracorporeal removal for sepsis: acting at the tissue level-the beginning of a new era for this treatment modality in septic shock.” Crit Care Med

2004, 32:896-897.

(42) Di Carlo JV, Alexander SR: "Hemofiltration for cytokine-driven illnesses: the mediator delivery hypothesis." *Int J Artif Organs* 2005, 28:777-786.

(43) Peng Z, Singbartl K, Simon P, Rimmel T, Bishop J, Clermont G, Kellum JA: "Blood purification in sepsis: a new paradigm." *Contrib Nephrol* 2010, 165:322-328.

(44) Ono S, Tsujimoto H, Matsumoto A, Ikuta S, Kinoshita M, Mochizuki H: "Modulation of human leukocyte antigen-DR on monocytes and CD16 on granulocytes in patients with septic shock using hemoperfusion with polymyxin B-immobilized fiber." *Am J Surg* 2004, 188:150-156.

(45) Call DR, Nemzek JA, Ebong SJ, Bolgos GL, Newcomb DE, Remick DG: "Ratio of local to systemic chemokine concentrations regulates neutrophil recruitment." *Am J Pathol* 2001, 158:715-721.

(46) De Vriese AS, Vanholder RC, Pascual M, Lameire NH, Colardyn FA: "Can inflammatory cytokines be removed efficiently by continuous renal replacement therapies?" *Intensive Care Med* 1999, 25:903-910.

(47) Kellum JA, Johnson JP, Kramer D, Palevsky P, Brady JJ, Pinsky MR: "Diffusive vs convective therapy: effects on mediators of inflammation in patient with severe systemic inflammatory response syndrome." *Crit Care Med* 1998, 26:1995-2000.

(48) Honoré PM, Joannes-Boyau O, Kotulak T: "Report of the working party on high

volume hemofiltration including definitions and classification.” Proc 2nd Czech Conference on Critical Care Nephrology (Pardubice, Czech Republic) 2007.

(49) Grootendorst AF, van Bommel EF, van der Hoven B, van Leengoed LA, van Osta AL: “High volume hemofiltration improves right ventricular function in endotoxin-induced shock in the pig.” *Intensive Care Med* 1992, 18:235-240.

(50) Li CM, Chen JH, Zhang P, He Q, Yuan J, Chen RJ, Cheng XJ, Tan HZ, Yang Y: “Continuous veno-venous haemofiltration attenuates myocardial mitochondrial respiratory chain complexes activity in porcine septic shock.” *Anaesth Intensive Care* 2007, 35:911-919.

(51) Sykora R, Chvojka J, Krouzecky A, Radej J, Karvunidis T, Varnerova V, Novak I, Matejovic M: “High versus standard-volume haemofiltration in hyperdynamic porcine peritonitis: effects beyond haemodynamics?” *Intensive Care Med* 2009, 35:371-380.

(52) Cole L, Bellomo R, Journois D, Davenport P, Baldwin I, Tipping P: “High-volume haemofiltration in human septic shock.” *Intensive Care Med* 2001, 27:978-986.

(53) Honoré PM, Jamez J, Wauthier M, Lee PA, Dugernier T, Pirenne B, Hanique G, Matson JR: “Prospective evaluation of short-term, high-volume isovolemic hemofiltration on the hemodynamic course and outcome in patients with intractable circulatory failure resulting from septic shock.” *Crit Care Med* 2000, 28:3581-3587.

(54) Joannes-Boyau O, Rapaport S, Bazin R, Fleureau C, Janvier G: “Impact of high volume hemofiltration on hemodynamic disturbance and outcome during septic shock.”

Asaio J 2004, 50:102-109.

(55) Shoji H: "Extracorporeal endotoxin removal for the treatment of sepsis: endotoxin adsorption cartridge (Toraymyxin)." *Ther Apher Dial* 2003, 7:108-114.

(56) Cruz DN, Antonelli M, Fumagalli R, Foltran F, Brienza N, Donati A, Malcangi V, Petrini F, Volta G, Bobbio Pallavicini FM, Rottoli F, Giunta F, Ronco C: "Early use of polymyxin B hemoperfusion in abdominal septic shock: the EUPHAS randomized controlled trial." *JAMA* 2009, 301:2445-2452.

(57) Vincent JL, Laterre PF, Cohen J, Burchardi H, Bruining H, Lerma FA, Wittebole X, De Backer D, Brett S, Marzo D, Nakamura H, John S: "A pilot-controlled study of a polymyxin B-immobilized hemoperfusion cartridge in patients with severe sepsis secondary to intra-abdominal infection." *Shock* 2005, 23:400-405.

(58) Peng ZY, Carter MJ, Kellum JA: "Effects of hemoadsorption on cytokine removal and short-term survival in septic rats." *Crit Care Med* 2008, 36:1573-1577.

(59) Cole L, Bellomo R, Davenport P, Tipping P, Uchino S, Tetta C, Ronco C: "The effect of coupled haemofiltration and adsorption on inflammatory cytokines in an ex vivo model." *Nephrol Dial Transplant* 2002, 17:1950-1956.

(60) Ronco C, Brendolan A, Lonnemann G, Bellomo R, Piccinni P, Digito A, Dan M, Irone M, La Greca G, Inguaggiato P, Maggiore U, De Nitti C, Wratten ML, Ricci Z, Tetta C: "A pilot study of coupled plasma filtration with adsorption in septic shock." *Crit Care Med* 2002, 30:1250-1255.

(61) Rimmelé T, Assadi A, Cattenoz M, Desebbe O, Lambert C, Boselli E, Goudable J, Etienne J, Chassard D, Bricca G, Allaouchiche B: “High-volume haemofiltration with a new haemofiltration membrane having enhanced adsorption properties in septic pigs.” *Nephrol Dial Transplant* 2009, 24:421-427.

(62) Joannes-Boyau O, Honoré PM, Boer W, Collin V: “Are the synergistic effects of high-volume haemofiltration and enhanced adsorption the missing key in sepsis modulation?” *Nephrol Dial Transplant* 2009, 24:354-357.

(63) Morgera S, Haase M, Kuss T, Vargas-Hein O, Zuckermann-Becker H, Melzer C, Krieg H, Wegner B, Bellomo R, Neumayer HH: “Pilot study on the effects of high cutoff hemofiltration on the need for norepinephrine in septic patients with acute renal failure.” *Crit Care Med* 2006, 34:2099-2104.

(64) Morgera S, Haase M, Rocktaschel J, Bohler T, von Heymann C, Vargas-Hein O, Krausch D, Zuckermann-Becker H, Muller JM, Kox WJ, Neumayer HH: “High permeability haemofiltration improves peripheral blood mononuclear cell proliferation in septic patients with acute renal failure.” *Nephrol Dial Transplant* 2003, 18:2570-2576.

(65) Morgera S, Klonower D, Rocktaschel J, Haase M, Priem F, Ziemer S, Wegner B, Gohl H, Neumayer HH: “TNF-alpha elimination with high cut-off haemofilters: a feasible clinical modality for septic patients?” *Nephrol Dial Transplant* 2003, 18:1361-1369.

(66) Haase M, Bellomo R, Baldwin I, Haase-Fielitz A, Fealy N, Davenport P, Morgera S, Goehl H, Storr M, Boyce N, Neumayer HH: “Hemodialysis membrane with a high-

molecular-weight cutoff and cytokine levels in sepsis complicated by acute renal failure: a phase 1 randomized trial.” *Am J Kidney Dis* 2007, 50:296-304.

(67) Lee D, Haase M, Haase-Fielitz A, Paizis K, Goehl H, Bellomo R: “A pilot, randomized, double-blind, cross-over study of high cut-off versus highflux dialysis membranes.” *Blood Purif* 2009, 28:365-372.

(68) Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: “International guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016.” *Intensive Care Med*, 2017 Mar, 43(3):304–77

(69) Busani S, Damiani E, Cavazzuti I, Donati A, Girardis M. “Intravenous immunoglobulin in septic shock: review of the mechanisms of action and meta-analysis of the clinical effectiveness.” *Minerva Anesthesiol.*, 2016, 82:559–572

(70) Domizi R, Adrario E, Damiani E, Scorcella C, Carsetti A, Giaccaglia P et al. “IgM-enriched immunoglobulins (Pentaglobin) may improve the microcirculation in sepsis: a pilot randomized trial.” *Annals of Intensive Care*, 2019, vol 9, 135

(71) Zuccari S, Damiani E, Domizi R, Scorcella C, D’Arezzo M, Carsetti A et al. Changes in Cytokines, “Haemodynamics and Microcirculation in Patients with Sepsis/Septic Shock Undergoing Continuous Renal Replacement Therapy and Blood Purification with CytoSorb.” *Blood Purif*, 2019, 1-7

(72) Singer M., “Sepsis: personalization v protocolization?”, *Critical Care*, 2019 June, 23 (Suppl 1):127

- (73) Kakoullis L, Pantzaris ND, Platanaki C, Lagadinou M, Papachristodoulou C, Velissaris D, “The use of IgM-enriched immunoglobulin in adult patients with sepsis.” *J Crit Care*. 2018; 47:30-35.
- (74) Alejandria MM, Lansang MA, Dans LF, Mantaring JBV. “Intravenous immunoglobulin for treating sepsis and septic shock (Cochrane Review).” In *The Cochrane Library*. Issue 2. Oxford: Update Software Ltd; 2002, 4.
- (75) Tugrul S, Ozcan PE, Akinci O, Seyhun Y, Cagatay A, Cakar N et al. “The effects of IgM-enriched immunoglobulin preparations in patients with severe sepsis.” *Crit Care* 2002; 6: 357–62
- (76) Putzu A, Schorer R, Lopez-Delgado JC, Cassina T, Landoni G, “Blood Purification and Mortality in Sepsis and Septic Shock: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Trials.” *Anesthesiology*, 2019 Sep, 131 (3), 580-593
- (77) Gardlund B, Dmitrieva NO, Pieper CF et al. “Six subphenotypes in septic shock: Latent class analysis of the PROWESS Shock study.” *J Crit Care.*, 2018, 47:70-79
- (78) Zhang Z, Zhang G, Goyal H et al. “Identification of subclasses of sepsis that showed different clinical outcomes and responses to amount of fluid resuscitation: a latent profile analysis.” *Crit Care.*, 2018, 22:347

(79) Damiani E, Donati A, Serafini G, Rinaldi L, Adrario E, Pelaia P et al. "Effect of performance improvement programs on compliance with sepsis bundles and mortality: a systematic review and meta-analysis of observational studies." Plos One, 2015, 10 (5).

RINGRAZIAMENTI

Eccomi giunta alla fine di questa tesi e di questi sei anni di Università, nei quali credo di essere maturata soprattutto come persona. Vorrei dedicare queste ultime pagine per ringraziare tutte le persone che hanno sempre creduto in me e che mi hanno sempre sostenuto sia nei momenti di difficoltà che di spensieratezza. Questi ringraziamenti sono un punto di arrivo, ma allo stesso tempo un punto di partenza per un percorso ancor più lungo.

Vorrei ringraziare il Coordinatore del Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia Cristina Marmorale, tutti i docenti e tutors di tirocinio clinico, che si sono messi a disposizione di tutti noi studenti al fine di arricchire, ottimizzare e garantire la nostra migliore realizzazione professionale.

Ringrazio chi ha collaborato e mi ha aiutato nella stesura di questo mio elaborato finale, in particolare il Dott. Andrea Carsetti, il Prof. Abele Donati e l'equipe della SOD "Clinica di Anestesia e Rianimazione Generale, Respiratoria e del Trauma maggiore" dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Ospedali Riuniti di Ancona.

Un doveroso ringraziamento va ovviamente alla mia famiglia, in modo particolare ai miei genitori e a mia sorella. Non mi avete mai fatto mancare il vostro sostegno. Siete il mio esempio di vita. Senza di voi non sarei mai diventata quella che sono e non avrei potuto realizzare i miei sogni.

Un ringraziamento speciale va a Tommaso. Mi hai donato la forza e la volontà per concludere questo percorso. In questi sei anni ti sei dedicato completamente a me e al mio

obiettivo. Ti meriti il meglio dalla vita, per l'amore che mi hai dato e che sei sempre pronto a dare alle persone che hai al tuo fianco.

Ringrazio le mie amiche del cuore per non avermi mai abbandonata in questo percorso lunghissimo. Avete sempre creduto in me. Siete le migliori compagne di viaggio che avessi mai potuto avere.

Infine, vorrei dedicare questa mia vittoria a Renato e Giordana. A voi devo i miei occhi, non solo come colore, ma come visione di vita, di amore e di gratitudine. È per te Nonno, per tutte le lacrime di felicità che hai versato ad ogni esame. È per te Nonna, per ogni attimo di tranquillità e di aiuto che mi hai donato. Sarei sempre parte di me.