

Základními pilíři diagnostiky novorozenecké sepse jsou klinické příznaky a laboratorní diagnostika (průkaz patogenu a laboratorní průkaz reakce organismu na infekci). Rozpoznat včas novorozence se sepsí je obtížné. Klinické příznaky jsou nespecifické a mohou být nenápadné. Nejčastější příznaky rozvíjejícího se septického stavu u novorozence jsou: náhle vzniklá potřeba kyslíku či ventilační podpory, apnoické pauzy, bradykardie, hypotenze, intolerance glukózy, kapilární návrat > 3 s, rozdíl teploty mezi periferií a tělesným jádrem > 2 °C, letargie/dráždivost, tepelná nestabilita, intolerance stravy, zvýšení sérového bilirubinu, oligurie a metabolická acidóza (3). Tyto příznaky se objevují i u řady neinfekčních stavů.

Zlatým standardem v diagnostice sepse je mikrobiologické kultivační vyšetření krve. V určitých případech provádíme také kultivační průkaz z jiných biologických zdrojů (mozkomíšni mok, kůže, moč, stolice a jiné). Hemokultura má v novorozeneckém věku řadu úskalí. Výtěžnost vyšetření klesá díky častému antenatálnímu podání ATB matce či malému množství odebraného vzorku. Pokud jsou mikroorganismy přítomny ve velmi malých koncentracích (< 4 CFU/ml) (colony forming unit), je pro detekci těchto patogenů potřeba minimálně 1 ml krve. Pro zjištění přítomné bakteriémie je ale ve většině případů dostačující 0,5 ml krve. Při použití moderního kontinuálního monitorovacího systému je medián TTP (time to positivity) u novorozenecké sepse 9–18 hodin. U *Streptococcus agalactiae* (GBS) a *Escherichia coli* je přibližně 96–100% pozitivních do 36 hodin, zatímco detekce koaguláza negativních stafylokoků může trvat až 48 hodin (4). U poměrně významné části septických novorozenců se z výše uvedených důvodů průkaz původce nezdaří. Klingenberg uvádí, že počet septických novorozenců s negativní hemokulturou až 16× převyšuje počet septických novorozenců s pozitivní hemokulturou. Negativní hemokulturu vidíme převážně u novorozenců vyšetřovaných při podezření na časnou novorozeneckou sepsi (4). Naším úkolem je hledání pomocného diagnostického znaku s nejvyšší specificitou a senzitivitou.

Hypotetický ideální marker sepse by měl mít dobře definovanou optimální „cut-off“ hodnotu a co největší senzitivitu a negativní prediktivní hodnotu. Měl by předpovědět závažnost infekce v počátku klinických příznaků

a umět rozlišit jednotlivé skupiny etiologických agens. Podle jeho dynamiky bychom měli poznat vývoj nemoci a reakce na ATB terapii, popřípadě vznik komplikací. Měl by umět předpovědět prognózu a mortalitu a pro jeho detekci by mělo stačit malé množství odebrané krve (5). V neposlední řadě by měl být cenově dostupný pro většinu novorozeneckých oddělení. Hojně využívanými laboratorními markery jsou proteiny akutní fáze a prozánětlivé cytokiny. Jedním z důležitých laboratorních markerů je interleukin-6 (IL-6).

Interleukin-6 je cytokin, který hraje jednu z hlavních rolí v obraně organismu, a to díky svému imunitnímu a hematopoetickému působení a schopnosti vyvolat odpověď akutní fáze (3). Interakce mikroorganismů s rodinou toll-like receptorů (TLRs) je dobře známá. TLRs jsou součástí vrozené imunity. Jejich vzájemné působení s mikroorganismy je zásadní pro produkci a uvolnění cytokinů (6). Například TLR4 jsou známé především proto, že rozeznávají lipopolysacharidy buněčné stěny gramnegativních bakterií. Aktivují polymorfonukleáry, monocyty a makrofágy a tyto pak spouští imunitní odpověď (7). Exprese TLRs je u novorozenců, dětí i dospělých podobná. Byla ale popsána nižší exprese TLR4 a TLR2 na povrchu makrofágů u předčasně narozených novorozenců. Následné reakce na vazbu PAMPs-TLR (pathogen-associated molecular patterns) se liší. V novorozeneckém období jsou funkce TLRs insuficientní, a to je jeden z predisponujících faktorů k rozvoji septického stavu (8). Po stimulaci jednotlivých TLRs in vitro produkují novorozenecké antigen prezentující buňky méně prozánětlivých (interleukin-1b, TNF- α) a Th1 podporujících cytokinů (IL-12p70, typ 1 interferon), ale stejné nebo větší množství cytokinů podporujících Th17 (IL-23, IL-6) ve srovnání s dospělými buňkami (9). Syntéza IL-6 makrofágy je zahájena bezprostředně jako odpověď makrofágů na PAMPs, resp. DAMPs (damage-associated molecular patterns) (10). Velkou roli v reakci novorozeneckého organismu na infekci hrají genetické faktory. Do budoucna bude potřeba se tyto genetické faktory naučit poznávat, studovat a pracovat s nimi převážně v terapeutické rovině. Polymorfismus TLR4, který je důležitý pro zahájení vrozené imunitní odpovědi aktivováním intracelulárních signálních cest

a rozpoznáním lipopolysacharidů gramnegativních bakterií, je spojován s možnou příčinou zvýšené náchylnosti k septickým stavům (11).

Interleukin-6 je velmi rychlý a dynamický marker. Poté co dojde k uvolnění částí bakteriální buněčné stěny, např. endotoxinů, hladina IL-6 rychle vzroste a maximálních hodnot dosáhne do několika hodin (12). Vzhledem k jeho krátkému poločasu je již 24 hodin po infekčním stimulu v plazmě téměř neměřitelný a není vhodný k monitorování léčby (13). Chiesa et al. (14) nám ve své studii podal přehledný popis referenčních hodnot a postnatální dynamiky IL-6. Průměrná hodnota IL-6 u zdravých donošených novorozenců ihned po narození byla 1,69 pg/ml, ve 24. hodině života 4,09 pg/ml a 3,45 pg/ml ve 48. hodině života. Dynamika interleukinu-6 u zdravých novorozenců narozených těsně před termínem s těmito výsledky korespondovala; 10,9 pg/ml (0 h), 9,3 pg/ml (24 h), a 8,4 pg/ml (48 h). Výhodou použití interleukinů, resp. interleukinu-6 je velmi rychlý nárůst po infekčním inzultu, který napomáhá k časné diagnóze. Kvůli jejich krátkému poločasu ale nemusíme zachytit peak. Při použití by měl být kombinován s „pozdějším markerem“, např. C-reaktivním proteinem (4). Jakmile se IL-6 dostane krevním řečištěm do jater, dochází k rychlé syntéze a uvolnění proteinů akutní fáze (C-reaktivní protein, sérový amyloid A, fibrinogen a haptoglobin) a snížení hladiny albuminu či transferinu (15). Překážkou pro dostupnost IL-6 na některých pracovištích zůstává jeho cena.

Novorozenci, především ti předčasně narození, patří mezi nejzranitelnější populaci dětských pacientů. Neinvazivní vyšetřovací metody by měly vždy, pokud to situace a stav dítěte dovolí, předcházet těm invazivním. Klinickým cílem naší studie bylo zjistit, zda lze vyšetřením krve z pupečnicku nahradit brzký postnatální odběr periferní krve. Jde o snahu omezit odběr periferní krve a nahradit ho nebolestivým odběrem z pupečnicku. Bylo nutné popsat hladiny IL-6 v pupečnickové krvi předčasně narozeného novorozence. Odběr IL-6 z periferní krve je již standardně zaveden v rámci diagnostiky novorozenecké sepse. Známe jeho cut-off hodnoty. Dále byla snaha porovnat pupečnickové a periferní hodnoty IL-6 a najít mezi nimi vztah v závislosti na ostatních perinatálních faktorech, jako je