

Aus der Klinik für
Intensivmedizin
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Direktor: Priv.-Doz. Dr. med. S. Kluge

Das Auftreten von unreifzelligen Granulozyten bei Intensivpatienten und seine prognostische Wertigkeit

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Nina Marie Eismann
geboren in Münster

Hamburg, September 2010

**Angenommen vom Fachbereich Medizin
der Universität Hamburg am: 25.03.2011**

**Veröffentlicht mit der Genehmigung des Fachbereiches Medizin
der Universität Hamburg**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. G. Kreymann
Prüfungsausschuss, 2. Gutachter/in: PD Dr. S. Kluge
Prüfungsausschuss, 3. Gutachter/in: Prof. Dr. W. Fiedler

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

1	Arbeitshypothese und Fragestellung	6
2	Einleitung	8
2.1	Sepsis und SIRS	
	Folgen der Sepsis	
	Das Immunsystem des Menschen	
	Unreife Granulozyten (Immature Granulocytes, IG)	
	Immature Myeloid Information (IMI)	
2.2	Immunmonitoring und Immuntherapie	
3	Material und Methoden	21
3.1	Patienten	
3.2	Messung der IG Parameter	
	Differentialblutbild und Durchflusszytometrie	
	Funktion eines Durchflusszytometers	
	Durch Fluorochrome zur durchflusszytometrischen Messung	
	Material	
3.3	Messung der weiteren Parameter	
	Interleukin 6	
	Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α)	
	Lipopolysaccharid-bindendes Protein (LBP)	
	C-reaktives Protein (CRP)	
3.4	Erhebung der Scorewerte	
3.5	Statistische Methoden	
4	Ergebnisse	35
4.1	Demographie	
4.2	Analyse der Marker an Messtag 1	
4.3	Analyse der Marker im Verlauf	
5	Diskussion	55
5.1	Kernaussage	
5.2	Methodenkritik	
5.3	Diskussion der Ergebnisse im Einzelnen	
6	Zusammenfassung und Ausblick	63
7	Anhang	64
7.1	Erhebungsbogen des SAPS II	
7.2	Erhebung des SOFA-Score	
7.3	Die Glasgow Coma Scale	

8	Literaturverzeichnis	67
9	Abbildungsverzeichnis	76
10	Tabellenverzeichnis	77
11	Abkürzungsverzeichnis	78
12	Danksagung	80
13	Eidesstattliche Versicherung	81

1 Arbeitshypothese und Fragestellung

Die Pathophysiologie des Immunsystems bei septischen Erkrankungen rückt zunehmend in den Vordergrund der modernen intensivmedizinischen Forschung. Die Sepsis ist die klinische Ausprägung verschiedener Organdysfunktionen, die durch eine generalisierte Stimulation des Immunsystems hervorgerufen wird.

Septische Komplikationen und systemische Inflammation sind bedeutende Faktoren für Morbidität und Mortalität bei kritisch kranken Patienten auf der Intensivstation. Komplexe immunologische Vorgänge, die im Laufe der vergangenen Jahre zunehmend detaillierter dargestellt werden konnten, führen bei vielen Patienten zu Immundysfunktion oder -paralyse mit konsekutiven Infektionen und gesteigerter Mortalität [1].

Eine mikrobiologische Ursachenbestimmung der Sepsis ist zeitintensiv und häufig nicht möglich. In den meisten klinischen Studien fallen die Unklarheit und Inkonstanz der verwendeten klinischen und mikrobiologischen Definitionen auf. Das Fehlen valider epidemiologischer Daten zu Inzidenz, Prävalenz, Letalität und Verlauf steht im Gegensatz zu der großen gesundheitsökonomischen Bedeutung der Sepsis. Die Diagnose erfolgt in der Regel zu spät, weil es gegenwärtig kaum diagnostische Verfahren gibt, die den Übergang einer lokal begrenzten Infektion zu einer Sepsis vorhersagen. Inflammatorische Marker spielen für die Diagnostik der Sepsis und deren Verlaufskontrolle eine große Rolle, da die Spezifität klinischer Symptome und klassischer Infektionszeichen (Temperaturerhöhung oder -erniedrigung, Leukozytose, Thrombozytopenie) gering ist. Von neuen Markern erhofft man sich eine bessere Korrelation mit dem Schweregrad der Sepsis. Sie könnten daher, neben den klinischen Zeichen des Syndroms, die Diagnose und Verlaufsbeurteilung der Sepsis erleichtern.

Eine Vielzahl von zellulären und humoralen Parametern wurde im Laufe der letzten beiden Jahrzehnte zur Charakterisierung des Immunstatus propagiert. Die in der klinischen Praxis und im Rahmen von Forschungen zurzeit am häufigsten bestimmten Parameter bei Patienten mit systemischer Inflammation und Sepsis sind: C-reaktives Protein (CRP), Leukozytenzahl, Interleukin-6 (IL-6), Procalcitonin (PCT) sowie mit Einschränkungen Tumor-Nekrose-

Faktor-alpha (TNF- α), ex vivo Stimulationstest und monozytäres Human Leukocyte Antigen DR1 (HLA-DR).

Die Erkrankungsschwere und das Auftreten von Organversagen können bei Intensivpatienten anhand von Scores wie dem Simplified Acute Physiology Score II (SAPS II) und dem Sequential Organ Failure Assessment Score (SOFA) erfasst werden.

Das Auftreten von unreifzelligen Granulozyten (Immature Granulocytes, IG), die mittels eines neuartigen, automatisierten Hämatologieanalysators (Sysmex XE-2100, Kobe, Japan) nachgewiesen werden können, konnte bei einem neonatologischen Patientenkollektiv bereits mit der Mortalität bei Neugeborenenensepsis in Verbindung gebracht werden [2]. In ähnlichen Untersuchungen bei erwachsenen Intensivpatienten mit schwerer Sepsis waren ebenfalls eine erhöhte Mortalität und Erkrankungsschwere nachzuweisen [3]. In dieser Studie soll die prognostische Wertigkeit des Nachweises von unreifen Granulozyten bei 70 konsekutiven Patienten auf einer Intensivstation mit allgemeinchirurgischen und traumatologischen Patienten untersucht werden.

2 Einleitung

2.1 Sepsis und SIRS

Schon Hippokrates benutzte den Begriff Sepsis, um eine Krankheit zu beschreiben, die 7-14 Tage nach der Verwundung als Fieber beginnt, „das verursacht wird durch eine Materie, die fault“ und die häufig mit dem Tod endet. Ursprünglich stammt der Begriff Sepsis aus dem Griechischen „σηπω“ und bedeutet Gärung oder Fäulnis. Anfang dieses Jahrhunderts haben Schottmüller und andere Wissenschaftler dieser Zeit versucht, eine Definition für Sepsis festzusetzen. Hugo Schottmüller, Professor des Allgemeinen Krankenhauses Eppendorf, legte 1914 [4-6] eine erste moderne Definition der Sepsis vor, die nicht mehr von einer Fäulnis, sondern von einer bakteriellen Erkrankung ausging: „Eine Sepsis liegt dann vor, wenn sich innerhalb des Körpers ein Herd gebildet hat, von dem konstant oder periodisch pathogene Bakterien in den Blutkreislauf gelangen und zwar derart, dass durch diese Invasion subjektive und objektive Krankheitserscheinungen ausgelöst werden.“ Damals war er mit dieser Definition seiner Zeit weit voraus.

Eine erweiterte Definition der Sepsis wurde erst 1989 von Bone [7] veröffentlicht: „Sepsis ist definiert als eine Invasion von Mikroorganismen und/oder ihrer Toxine in den Blutstrom zusammen mit der Reaktion des Organismus auf diese Invasion.“ Diese Definition wurde im August 1991 von einer Konsensus-Konferenz des American College of Chest Physicians und der Society of Critical Care Medicine weitergeführt [8, 9]. Seit 2001 werden SIRS, Sepsis, schwere Sepsis und septischer Schock getrennt definiert und unterliegen auch spezifischen Diagnosekriterien [10].

Das Systemische Inflammatorische Response-Syndrom (SIRS) ist eine klinische Reaktion auf eine unspezifische Schädigung, die zwei oder mehr der folgenden Symptome aufweist:

- Hyper- ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) oder Hypothermie ($\leq 36^{\circ}\text{C}$) bestätigt durch rektale oder intravasale Messung

- Tachykardie (Herzfrequenz ≥ 90 /Minute oder ≥ 2 SD des Altersnormwerts)
- Tachypnoe (Atemfrequenz ≥ 20 /Minute) und / oder Hyperventilation ($\text{PaCO}_2 < 32 \text{ mmHg}$) und / oder maschinelle Beatmung
- Leukozytose ($\geq 12.000/\text{mm}^3$) oder Leukopenie ($\leq 4.000/\text{mm}^3$) oder $\geq 10\%$ unreife Neutrophile im Differentialblutbild

Die Sepsis ist definiert als SIRS mit sehr wahrscheinlicher oder nachgewiesener Infektion. Jeder Mikroorganismus kann eine Sepsis verursachen. Das Erregerspektrum der Sepsis reicht von gram-positiven und gram-negativen Bakterien über Viren, Pilze und Protozoen.

In der Studie von Martin et al. 2003 [11] wurden die Erreger der Sepsis in den Jahren 1979 bis 2000 ermittelt. Dabei stellte sich heraus, dass die gram-positiven Erreger die meisten Erkrankungsfälle ausmachen, dicht gefolgt von den gram-negativen. Bei einem geringen Anteil von Patienten mit dem klinischen Bild einer Sepsis kann man keine Infektion nachweisen [12].

Brun-Buisson et al. [13] haben 1996 die einzelnen Erreger identifiziert und in ihrer Häufigkeit differenziert (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Keimspektrum der Sepsis

Gram-positive Bakterien 45%	Gram-negative Bakterien 44%
Staphylococcus aureus 19%	Escherichia coli 22%
Streptococcus pneumoniae 9%	Pseudomonas aeruginosa 6%
Koagulase-negative Staphylokokken 6%	Klebsiellen 5%
β -hämolisierende Streptokokken 4%	Enterobacter 4%
Enterokokken 3%	
Andere Keime 11%	

Eine schwere Sepsis ist eine Sepsis mit einfachem oder mehrfachem Organversagen:

- Kardiovaskulär: Arterielle Hypotension
- Renal: Diurese $\leq 0,5 \text{ ml/kg/h}$ über min. 2 Stunden (trotz ausreichender Volumengabe) oder Anstieg des Serumkreatinins auf mehr als das Doppelte des Referenzbereiches
- Respiratorisch: $P_aO_2 / F_iO_2 < 250 \text{ mmHg}$
- Koagulopathie: Abfall der Thrombozyten um $> 30\%$ innerhalb 24h oder Thrombozyten $\leq 100.000/\text{mm}^3$ (eine akute Blutung muss ausgeschlossen sein)
- ZNS: akute Störung der Bewusstseinslage (Unruhe, Delirium, eingeschränkte Vigilanz, Desorientiertheit)
- Metabolische Azidose ohne erkennbare Ursache: Base Excess (BE) $\leq -5 \text{ mmol/L}$ oder Laktat mehr als das 1,5 fache des Referenzbereiches

Der Septische Schock ist gekennzeichnet durch eine schwere Sepsis mit akuter Hypoperfusion und volumenrefraktärer arterieller Hypotension ohne andere erkennbare Ursachen. Die Hypotension ist definiert als systolischer Blutdruck unter 90 mmHg , mittlerer arterieller Druck unter 60 mmHg oder eine Verminderung des Ausgangsdruckes (systolisch) um mehr als 40 mmHg bei adäquater Flüssigkeitssubstitution. Ein Schock entwickelt sich bei circa 40% der septischen Patienten und verschlechtert die Prognose deutlich.

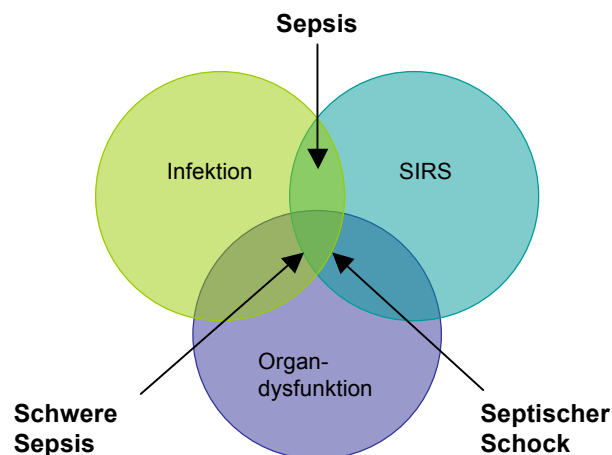


Abbildung 1: Die verschiedenen Stufen der Sepsis

Am Ende der zu definierenden Begriffe steht das Multiorganversagen/Multi Organ Dysfunction Syndrome (MOV/MODS), das gleichzeitige oder aufeinander folgende Versagen lebenswichtiger Organfunktionen. Die Prognose des MOV ist abhängig von der Zahl der betroffenen Organe, der Dauer des Organversagens, dem Alter des Patienten, der Art des Organversagens und der Beherrschung der Grundkrankheit.

Die Mortalität ist dabei nach Alberti et al. 2003 [1] abhängig vom Schweregrad der Sepsis (siehe Abb. 2).

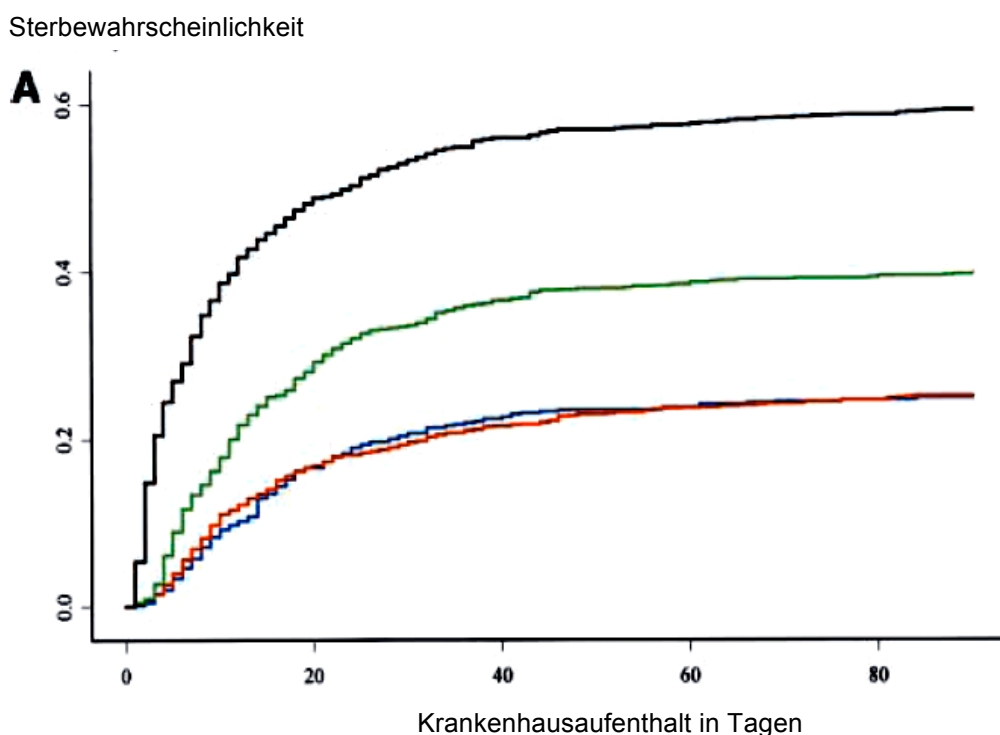


Abbildung 2: Die Sterbewahrscheinlichkeit in Abhängigkeit zum Schweregrad von SIRS und Sepsis: SIRS (rot), Sepsis (blau), Schwere Sepsis (grün) und Septischer Schock (schwarz), Alberti et al. [1]

Pathogenetisch liegt der Sepsis das Eindringen von Erregern oder ihrer Toxine in den Kreislauf zugrunde. Der weitere Verlauf hängt einerseits von der Zahl der Erreger, deren Pathogenität und Virulenz und andererseits vom Zustand der körpereigenen Abwehrmechanismen ab. Unter normalen Umständen ist das Immunsystem des Körpers in der Lage, eingedrungene Erreger abzuwehren.

Jedoch kann sich selbst aus einer zunächst harmlos erscheinenden, lokalen Infektion eine Sepsis entwickeln, wenn Faktoren wie das Vorliegen einer eingeschränkten Immunabwehr, ein massives Eindringen vieler oder besonders aggressiver Erreger, ein Eindringen der Erreger in primär sterile Körperregionen wie Bauchhöhle, Gehirn und Lunge oder das schrittweise Überwinden der Immunabwehr bei fehlender Behandlung der Infektion zum Tragen kommen. In Studien konnten zudem Risikofaktoren für eine Sepsis identifiziert werden. Dabei stehen sowohl das Alter (>65 Jahre) [14] als auch Komorbiditäten wie HIV [15], Krebserkrankungen [16], Leberzirrhose [17] und Alkoholabhängigkeit [18] in einem positiv korrelierten Zusammenhang. Auch medizinische Maßnahmen (venöse Katheter [19], Bluttransfusionen [20]) gelten als Risikofaktoren für die Entwicklung einer Sepsis.

In der Folge kommt es hämatogen zu einer Ausbreitung der Infektion auf den gesamten Körper. Die im Falle einer Lokalinfection sinnvolle Entzündungsreaktion entwickelt sich nun zum eigentlichen Motor der Sepsis. In einer überschießenden Reaktion freigesetzte große Mengen an Zytokinen und Chemokinen, wie Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF- α), Interleukin-1 (IL-1), IL-6 und IL-8 führen zu einer Entzündung des gesamten Körpers, unter anderem mit Ödembildung, Mikrozirkulationsstörungen und Sauerstoffmangel, ohne dass diese der Erregerbekämpfung nützt. Sind einmal lebenswichtige Organe davon betroffen, kann der daraus folgende Verlust ihrer Funktionsfähigkeit schnell zum primär begrenzenden Faktor für das Überleben des Patienten werden.

Parallel resultiert aus der Stimulation immunkompetenter Zellen eine Aktivierung der Leukozyten mit einer konsekutiven Freisetzung zytotoxischer Substanzen. Dadurch kommt es zu einer Schädigung der Endothelzellen der Gefäße und einem Kapillarleck. Massive Flüssigkeitsverschiebungen können zu einem ausgeprägten intravasalen Volumenmangel führen.

Inflammationsmediatoren stimulieren zeitgleich auch die endotheliale NO-Synthetase. Daraus resultiert eine Vasodilatation mit der Folge einer ausgeprägten arteriellen Hypotension [21-23].

Tabelle 2 fasst die sepsisinduzierten Veränderungen an den Organsystemen zusammen.

Tabelle 2: Sepsis-induzierte Organdysfunktionen

Organsystem	Dysfunktion
kardiovaskulär	niedriger systolischer Blutdruck, niedriger mittlerer arterieller Druck, niedriges Schlagvolumen, hohe zentralvenöse Sättigung, Tachykardie
respiratorisch	$\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$, niedrige Compliance der Lunge
Gerinnung	erhöhter INR, erhöhte PTT, niedrige Thrombozyten, DIC
renal	geringes Ausscheidungsvolumen, erhöhtes Kreatinin,
hepatisch	Anstieg der Transaminasen und des Bilirubins
neurologisch	Delir, Vigilanzminderung
gastrointestinal	Ileus

PaO_2 = arterieller Sauerstoffpartialdruck, FiO_2 = Sauerstoffanteil in der Inspirationsluft, INR = International Normalized Ratio, PTT = Partielle Thromboplastinzeit, DIC = Disseminated Intravascular Coagulation (Disseminierte Intravasale Gerinnung)

Folgen der Sepsis

In einer Multicenter Studie haben Angus et al. [24, 25] deutlich gemacht, dass in den USA die jährlichen Kosten für die Therapie der Sepsis (16,7 Milliarden Dollar) in einem ungünstigen Verhältnis zu der Überlebenschance (Mortalität von 28,6%) stehen. In den USA stieg die Zahl der durch Sepsis verursachten Todesfälle in dem Zeitraum von 1979 bis 2000 deutlich an, wie Martin et al. in ihrer Studie feststellen konnten [11].

Die folgende Tabelle soll die Relevanz der Sepsis in der Todesstatistik der Bundesrepublik Deutschland im Jahr 2000 im Vergleich zu anderen Todesursachen verdeutlichen:

Tabelle 3: Todesursachen in Deutschland 2000 (stat. Bundesamt)

Todesursache	Anzahl	Prozent
Sepsis	78 008	9,3
Krankheiten des Kreislaufsystems	395 043	47
• darin Hirngefäßerkrankungen	80 786	9,6
Herzinfarkt	73 265	8,7
bösartige Neubildungen	210 738	25,1
• darin Bronchien und Lunge	38 990	4,6
Krankheiten des Atmungssystems	51 806	6,1
Unfälle (Traumata)	20 328	2,4
Verstorbene insgesamt	838 797	100

Laut dieser Statistik ist die Sepsis, nach den Krankheiten des Kreislaufsystems und den bösartigen Neubildungen, die dritthäufigste Todesursache in Deutschland [26]. Bakterielle Infektionen sind ein Hauptgrund für Morbidität und Mortalität. Jedoch ist die Diagnose der bakteriellen Infektion eine Herausforderung, da sie sich klinisch unterschiedlich darstellen kann. Aus diesem Grund kann es unter bestimmten Umständen schwierig sein, bakterielle von viralen Infektionen zu unterscheiden. Eine nicht behandelte bakterielle Entzündung kann verheerende Komplikationen mit sich bringen. Auf der anderen Seite ist die Behandlung einer viralen oder nicht-infektiösen Ursache mit Antibiotika nicht nur ineffektiv, sondern fördert die Entwicklung von Resistenzen, erhöht das Risiko allergischer und toxischer Reaktionen [27] und vermehrt die Kosten. Studien der Weltgesundheitsorganisation (WHO) haben festgestellt, dass von 100 Entzündungen im Bereich der Atemwege nur 20 einer antibiotischen Behandlung bedürfen [28].

Diese Daten verdeutlichen die Relevanz einer frühen Diagnostik und Therapie von SIRS und Sepsis.

Das Immunsystem des Menschen

Das Immunsystem (immunis (lat.) = frei, unberührt) dient dem Organismus vornehmlich zur Abwehr von Krankheitserregern und Fremdstoffen, die von außen in ihn eingedrungen sind. Darüber hinaus kann das Immunsystem krankhaft veränderte, körpereigene Zellen erkennen und beseitigen. Das Immunsystem besteht aus einer spezifischen (erworbenen) und einer unspezifischen (angeborenen) Immunabwehr, die sich bei einer Immunantwort gegenseitig ergänzen. In der Folge von Immunreaktionen entstehen Entzündungen, die zur Beseitigung der schädigenden Zellen oder Fremdkörper führen. Das folgende Diagramm gibt einen Überblick über die verschiedenen Komponenten des Immunsystems:

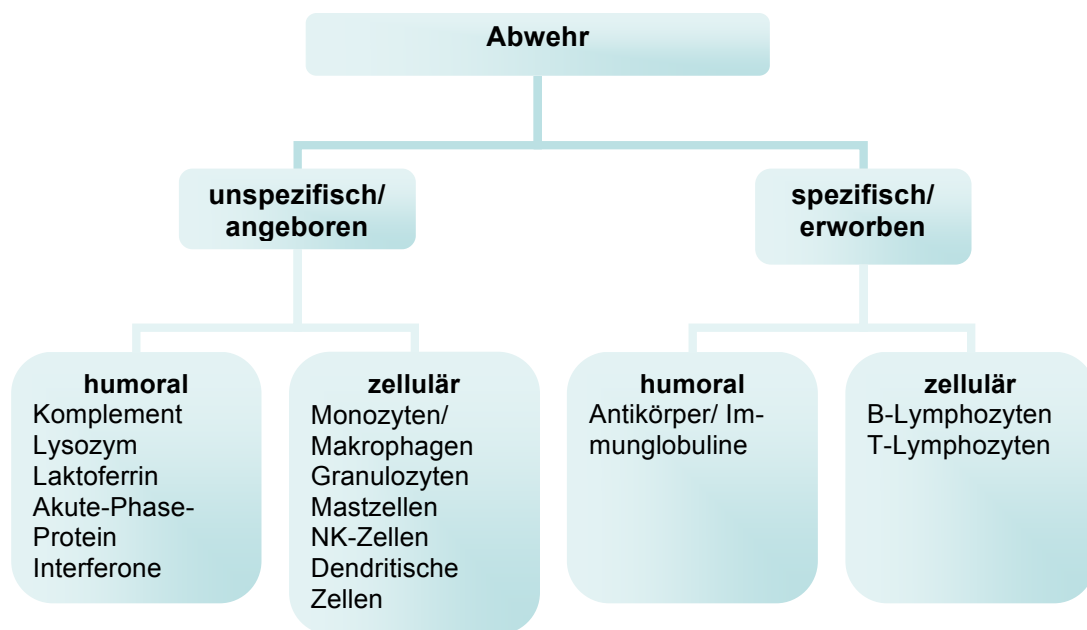


Abbildung 3: Komponenten des Immunsystems

Grundvoraussetzung ist, dass das Immunsystem zwischen körpereigenen und körperfremden Strukturen unterscheiden kann, so dass im Normalfall keine Immunreaktion gegen den eigenen, gesunden Körper erfolgt ("immunologische Toleranz").

Das unspezifische, angeborene Immunsystem ist in der Lage, Fremdkörper und viele allgemein vorkommende Krankheitserreger bereits beim ersten Kontakt unschädlich zu machen. Es ist für die Bekämpfung bakterieller Infektionen von großer Bedeutung. Zum unspezifischen Immunsystem gehören — neben den physiko-chemischen Barrieren (Haut, Schleimhäute, Magensaft) — zelluläre und nichtzelluläre (humorale) Mechanismen.

- **Zelluläre Faktoren:** Die Abwehrzellen des unspezifischen Immunsystems sind die Phagozyten, die den Erreger oder Fremdkörper aufnehmen und ihn "verdauen" bzw. abtöten. Zu den Phagozyten gehören neutrophile und eosinophile Granulozyten, Makrophagen und Monozyten.
- **Humorale Faktoren:** Die so genannten humoralen (humor (lat.) = Flüssigkeit) Faktoren, d.h. die in den Körperflüssigkeiten gelösten Faktoren des unspezifischen Immunsystems, sind bakterizid wirkende Substanzen. Dazu gehört das Enzym Lysozym, das in verschiedenen Körpersekreten wie Tränenflüssigkeit und Speichel enthalten ist und die Zellwand zahlreicher Bakterien angreift. Daneben gibt es das Komplementsystem, wobei es sich um ein von der Leber gebildetes Enzymsystem handelt, das aus einer Gruppe von etwa 20 Bluteiweißkörpern besteht und das zur Auflösung körperfremder Zellen führt.

Das spezifische Immunsystem entwickelt sich im Gegensatz zum unspezifischen erst durch die direkte Auseinandersetzung mit einem bestimmten Krankheitserreger. Es wird daher auch als erworbenes, adaptives Immunsystem bezeichnet. Die spezifische Immunabwehr wird durch Immunzellen vermittelt. Dabei handelt es sich um so genannte Lymphozyten (lympho (griech.) = klares Wasser, kytos (griech.) = Zelle). Lymphozyten sind die kleinsten weißen Blutkörperchen. Ihr Anteil an der Gesamtmenge der weißen Blutkörperchen im Blut beträgt etwa 25%. Allerdings befinden sich 98% der Lymphozyten nicht im Blut sondern in den lymphatischen Organen (Lymphknoten, Lymphbahnen, Milz) und im Knochenmark. Von dort aus wird ständig ein kleiner Teil der Zellen ins Blut abgegeben. Die Lebensdauer der Lymphozyten beträgt zwischen zehn Tagen und mehreren Jahren. Sie entwickeln

sich zunächst im Knochenmark und im Thymus, d.h. in den primären Organen des Immunsystems, und besiedeln von dort aus die sekundären Immunorgane wie Lymphgewebe und Milz. Man teilt sie ein in B- und T-Lymphozyten, wobei die T-Lymphozyten den zellulären und die B-Lymphozyten den humoralen Anteil des spezifischen Immunsystems ausmachen.

Tabelle 4: Entwicklung und Einteilung der zellulären Blutbestandteile, aus: Löffler [29]

pluripotente Stammzelle					
myeloide Stammzelle			lymphoide Stammzelle		
Vorläuferzelle der Thrombozytopoese	Vorläuferzelle der Erythropoese	Vorläuferzelle der Myelomonocytopoese		Vorläuferzelle der T – Lymphocyten	Vorläuferzelle der B – Lymphocyten
Megakaryoblast unreifer Megakaryozyt reifer Megakaryozyt	Proerythroblast Makroblast basophiler Normoblast polychromat. Normoblast oxyphiler Normoblast	Myeloblast Promyelozyt Myelozyt neutrophil eosinophil basophil Jugendlicher neutrophil eosinophil basophil	Monoblast Promonozyt	T – Lymphoblast T – Lymphozyt	B – Lymphoblast B – Lymphozyt Transformation Plasmazelle
Thrombozyt	Retikulozyt Erythrozyt (Normozyt)	Stabkerniger neutrophil eosinophil basophil Segmentkerniger neutrophil eosinophil basophil	Monozyt		

Für die Diagnostik werden verschiedene Anteile des Immunsystems untersucht. Dazu zählen das Blutbild und das Differentialblutbild, das den zellulären antigen-unspezifischen Teil widerspiegelt. Akute-Phase-Proteine und Zytokine lassen sich ebenfalls nachweisen und sind ein Teil des humoralen antigen-unspezifischen Systems.

Die bisher klinisch verwendeten diagnostischen Parameter und Messverfahren sind:

- Temperatur
- Blutbild und Differentialblutbild

- Durchflusszytometrie
- Akute-Phase-Proteine (CRP, SAA)
- Zytokine (IL-6, TNF- α)
- Procalcitonin
- Komplementfaktoren
- Immunglobuline, spez. Antikörper

Unreife Granulozyten (Immature Granulocytes, IG)

Granulozyten werden in polymorphkernige neutrophile, stabkernige basophile und eosinophile Granulozyten unterschieden.

Die Gesamtheit der unreifzelligen Granulozyten (IG) stellt sich zusammen aus Metamyelozyten, Myelozyten, Promyelozyten (siehe Abbildung 4). Unreife Granulozyten haben im Vergleich zu reifen Granulozyten einen aktiveren Zellstoffwechsel und deshalb einen erhöhten Nukleinsäuregehalt (DNA, RNA). Dies spielt vor allem bei der Bestimmung der IG im Blut eine Rolle.

Der Nachweis von unreifen Granulozyten im Blut ist immer ein Anzeichen für eine vermehrte Aktivität im Knochenmark [30]. Ein Anstieg von IG findet sich bei den unterschiedlichsten Erkrankungen wie bakteriellen Infektionen [31], Traumata und akuten Reaktionen auf Organtransplantationen [32]. Daher lassen sich unreifzellige Granulozyten vor allem bei malignen hämatologischen Erkrankungen nachweisen, aber auch bei systemischen Infektionen. Die Feststellung einer Linksverschiebung der Granulopoese wird oft als diagnostisches Mittel einer Sepsis genutzt. Eine Linksverschiebung ist definiert als erhöhte Anzahl von neutrophilen Granulozyten oder als Anstieg im Verhältnis der unreifen zu den reifen neutrophilen Granulozyten (immature / total granulocyte ratio (I/T ratio)) [33]. In der Studie von Bender et al. erwies sich die I/T ratio als ebenso effizient wie IL-6, ist allerdings deutlich einfacher zu bestimmen [34]. Daher haben auch Di Mario et al. in ihrer Studie die Bestimmung der unreifen Granulozyten als kostengünstigen Screeningtest für bakterielle Infektionen empfohlen [35].

In der Studie von Bruegel et al. hat man Referenzintervalle für unreifzellige Granulozyten bestimmt [36]:

- Zellzahl (IG-Count): 5. Perzentile bei 0 und die 95. Perzentile bei $0,03 \times 10^9/L$ für Männer und Frauen.
- IG-%: 5. Perzentile bei 0 und die 95. Perzentile bei 0,5% für Männer und 0,4% für Frauen

Demnach sollte der Anteil der unreifzelligen Granulozyten bei Gesunden unter 1% liegen.

Bei der Untersuchung der Referenzintervalle zeigte sich keine Altersabhängigkeit.

Erhöhte Werte finden sich bei bakteriellen Entzündungen, chronischer myeloischer Leukämie und nach Gabe von G-CSF/GM-CSF.

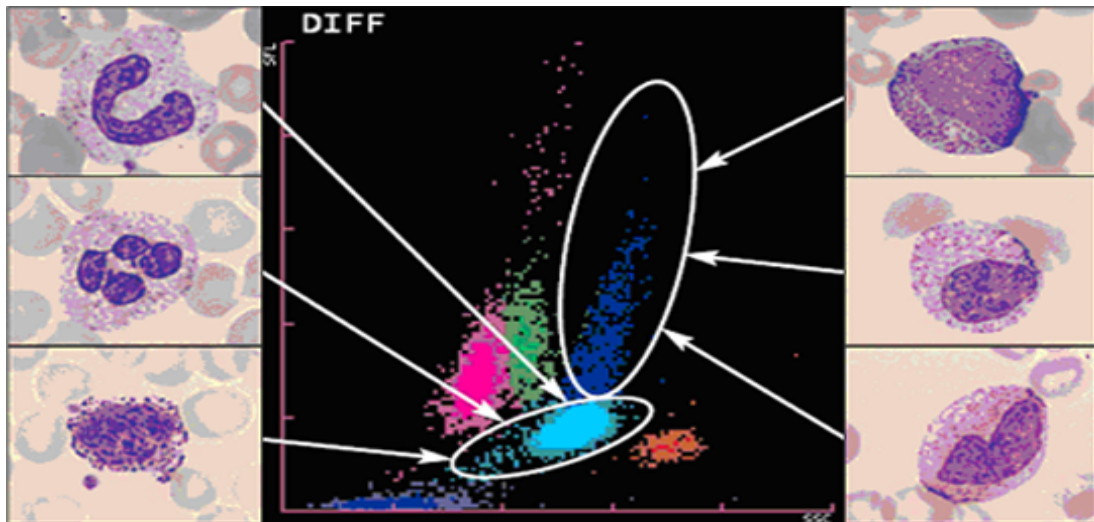


Abbildung 4: Zentrum: Durchflusszytometrische Darstellung des Differentialblutbildes, Lichtmikroskopien: links (von oben nach unten): neutrophile und basophile Granulozyten, rechts: Promyelozyt, Myelozyt und Metamyelozyt (von oben nach unten), Quelle: Sysmex Europe GmbH, Norderstedt

Immature Myeloid Information (IMI)

Unter den Begriff Immature Myeloid Information fällt die Gesamtheit aller unreifen myeloischen Zellen. Bei der Messung mit dem Sysmex XE-2100 werden in einem Kanal unreife myeloische Zellen inklusive Bands, IG und Blasten gemessen. Der unreife Granulozyt hat einen niedrigeren Cholesterinanteil als der reife Granulozyt, zudem ist auch die Zusammensetzung der Membranphospholipide unterschiedlich. Der Anteil an Phosphatidylcholin ist größer und der Anteil von Sphingomyelin kleiner als bei reifen Granulozyten. Aufgrund dieses Zellwandaufbaus ist es möglich, die Zellen voneinander zu

unterscheiden. Auch die Referenzintervalle der Immature Myeloid Information (IMI-Kanal) wurden in der Studie von Bruegel et al. untersucht. Sowohl für Männer als auch für Frauen liegt die 5. Perzentile bei $<0,01 \times 10^9/L$ und die 95. Perzentile bei $0,03 \times 10^9/L$ [36].

2.2 Immunmonitoring und Immuntherapie

Trotz großer Fortschritte der intensivmedizinischen, diagnostischen und chirurgischen Möglichkeiten, neuer Antibiotikatherapien und einem gewachsenen Verständnis der Pathophysiologie sind die Morbidität und die Mortalität der Sepsis noch immer hoch [11, 24, 25]. Die häufigsten im Falle von SIRS und Sepsis angeforderten Labortests sind Blutkulturen, Differentialblutbild, CRP oder die Erythrozytensedimentationsrate. Blutkulturen sind bei Patienten mit Sepsis in weniger als 30% - 40% positiv und daher nicht ausreichend spezifisch [37]. Der mikrobiologische Nachweis einer Infektion ist teuer und — bei zugleich bestehender antimikrobieller Therapie — schwierig. In 35% der Fälle kann eine Sepsis nicht mit mikrobiologischen Methoden nachgewiesen werden [38].

Neuere Parameter wie Procalcitonin [27, 39] und die CD64-Expression auf peripheren Leukozyten [40, 41] stellten sich als spezifischer und sensativer heraus. Jedoch sind diese Tests aufwändig und kostenintensiv. Die Notwendigkeit eines Parameters für die Diagnostik und das Immunmonitoring von SIRS und Sepsis liegt deshalb auf der Hand.

An einen Sepsis-Parameter werden hohe Anforderungen gestellt [42, 43].

Idealerweise hat der perfekte Sepsis-Marker für Reinhart et al. [44] folgende Eigenschaften:

- Er sollte die Zeit bis zur Diagnose verkürzen.
- Er sollte eine Differenzierung zwischen infektiösen und nicht-infektiösen Ursachen für die Sepsis ermöglichen.
- Er sollte eine Unterscheidung zwischen viraler und bakterieller Ursache bieten.
- Er sollte die Effektivität der antimikrobiellen Therapie oder anderer Therapie widerspiegeln.

3 Material und Methoden

Ziel der Studie war es, die prognostische Wertigkeit des Nachweises von unreifzelligen Granulozyten bei 70 konsekutiven Patienten auf einer Intensivstation mit allgemeinchirurgischen und traumatologischen Patienten zu untersuchen.

Nach der Genehmigung der Studie durch die Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg wurden in der Zeit von Januar 2005 bis Dezember 2006 70 Patienten einer operativen Intensivstation in die Studie eingeschlossen, die sich länger als 72 Stunden in intensivmedizinischer Behandlung befanden und zwischen 18 und 90 Jahre alt waren. Nicht in die Studie eingeschlossen wurden Patienten nach Organtransplantation, Patienten unter immunsuppressiver Therapie und Patienten mit immunstimulierender Therapie. Der Beobachtungszeitraum betrug maximal 21 Tage oder endete mit dem Verlassen der Intensivstation bzw. dem Versterben der Patienten.

Bei der Patientengruppe wurde während der ersten 24 Stunden des Intensiv Aufenthaltes der Simplified Acute Physiology Score II (SAPS II) [45] erhoben. Die Punktwerte des Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) [46, 47] wurden sowohl am Aufnahmetag als auch an allen weiteren Tagen im Rahmen des Beobachtungszeitraumes bestimmt.

Zudem wurden die 28-Tage-Mortalität, die Krankenhausmortalität und die Mortalität auf der Intensivstation (ICU-Mortalität) sowie die Aufenthaltsdauer auf der Intensivstation erfasst (Length of stay, LOS).

3.1 Patienten

Alle Patienten erfüllten bei Einschluss in die Studie die oben genannten Kriterien. Wie in vorher durchgeführten Studien [40, 48-50] wurden die Patienten nach den Sepsis-Kriterien der ACCP/SCCM Konsensus Konferenz [8-10] in insgesamt drei Patientengruppen eingeteilt.

Tabelle 5: Gruppeneinteilung

Gruppe 1	Non-Sepsis	Patienten erfüllen bei Aufnahme und im Aufenthalt nicht die Sepsis-Kriterien (n=19)
Gruppe 2	Entwicklung	Patienten entwickeln während des Aufenthalts eine Sepsis (n=12)
Gruppe 3	Sepsis	Patienten erfüllen bei Aufnahme die Sepsis-Kriterien (n=39)

Diese Einteilung wurde mit erfahrenen Intensivmedizинern durchgeführt. Ein mikrobiologischer Nachweis ist bei diesen Patienten dokumentiert. Die hierbei nachgewiesenen Erreger sind einteilbar in aerobe gram-negative Erreger, aerobe gram-positive Erreger und andere (Anaerobier, Mykobakterien, Hefen, Pilze, Viren).

Patienten, die zu Messbeginn nicht septisch waren, aber im Verlauf des Aufenthaltes eine Sepsis mit mikrobiologischem Nachweis entwickelten, wurden zur differenzierteren Auswertung in Gruppe 2 („Entwicklung“) eingeteilt.

3.2 Messung der IG Parameter

Differentialblutbild und Durchflusszytometrie

Der Sysmex XE-2100 ist ein vollautomatischer, hämatologischer Analysator mit einer maximalen Untersuchungskapazität von 150 Proben pro Stunde. Er bestimmt bis zu 30 Parameter, darunter eine komplette 5-Kanal-Leukozytendifferenzierung, Retikulozytenzahl, NRBC- und IMI-Zahl.

Bei der automatischen Differenzierung am Sysmex XE-2100 werden folgende Zellen differenziert: neutrophile, eosinophile sowie basophile Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten. Zusätzlich kann die Bestimmung von Retikulozyten, Normoblasten und unreifen Granulozyten durchgeführt werden. In der Vergangenheit wurde mehrfach die manuelle mit der automatischen Erfassung verglichen, wobei eine gute Übereinstimmung festgestellt werden konnte [51-54].

Funktion eines Durchflusszytometers

Der Begriff „Zytometrie“ ist definiert als die Messung der physiko-chemischen Eigenschaften der Zellen. „Durchflusszytometrie“ ist die Messung von Zellen, die in einer Strömung an einem Laserstrahl vorbei geführt werden.

Ein Durchflusszytometer ist ein optisches Messsystem, das Streulicht- und Fluoreszenzsignale einzelner, in einem Flüssigkeitsstrom fokussierter Zellen analysiert. Dabei werden optische Signale unterschiedlicher Qualität (Fluoreszenz und Lichtstreuung) gemessen. Grundsätzlich kann die durchflusszytometrische Analyse mit Zellen jeder Herkunft durchgeführt werden, solange die Zellen als Suspension (Blut, Sputum, aber auch Gelenkpunktat und Liquor) vorliegen. Dabei reicht das Spektrum der Anwendungsmöglichkeiten von der Bestimmung der Zelloberflächeneigenschaften über die Analyse intrazellulärer Eigenschaften bis hin zur Bestimmung von Zellfunktionen (z.B. Phagozytose). Für die Messung wird Untersuchungsmaterial mit fluoreszierenden Farbstoffen, so genannten Fluorochromen, vermischt.

Suspensierte Einzelzellen werden nun an einem Lichtstrahl (Laser) vorbeigeführt. Hierbei handelt es sich um einen Halbleiterlaser, der rotes Licht mit einer Wellenlänge von 633 nm emittiert und zur Anregung der fluoreszierenden Farbstoffe verwendet. Tritt ein Objekt in einen Lichtstrahl, so ändert das Licht seine Orientierung. Diese Lichtstreuung tritt in allen Winkeln zwischen 0 und 360° auf. Dabei senden die Zellen abhängig von ihrer Größe, Gestalt und spezifischen Anfärbung charakteristische Lichtsignale aus, die mittels geeigneter Detektoren gemessen werden.

Das optische Detektionssystem und die Elektronik quantifizieren dabei die Streulicht- und Fluoreszenzemission jeder einzelnen Zelle. Die Analyse besteht aus der Summe vieler Einzelmessungen. Dabei werden von jeder Zelle die Intensität des Vorwärtstreulichtes, des Seitwärtstreulichtes und die Intensität der Fluoreszenzen (Signale), letztere an drei hintereinander folgenden Punkten (F1, F2 und F3), gemessen.

Die Lichtstreuung wird durch die Querschnittsfläche der Zelle, die Struktur der Oberfläche und auch den intrazellulären Aufbau beeinflusst. Dabei wird das Licht nicht in alle Richtungen gleichmäßig gestreut. Es entsteht Vorwärtstreulicht, (Forward Scattered Light (SFL) = Fluoreszenz) und zu einem

geringeren Teil auch Seitwärtsstreulicht, Sideward Scattered Characteristics (SSC). Diesen Effekt nutzt man nun für die Messung, denn das Vorwärtsstreulicht (z.B. $0,5-2^\circ$ oder $1-6^\circ$) spiegelt die Größe wider und wird von der Form und dem Refraktionsindex des Objekts beeinflusst, während das Seitwärtsstreulicht ($>8^\circ$) die Granularität, Membranfaltung und die innere Beschaffenheit des Objekts darstellt [55]. Mit Hilfe dieser Parameter kann man die wichtigsten Leukozytenpopulationen, wie Lymphozyten, Monozyten und neutrophile Granulozyten, voneinander unterscheiden. Dargestellt wird die Streulichtmessung mit Hilfe von Dot-Plots (siehe Abbildung 5). Dabei wird auf der X-Achse das Seitwärtsstreulicht und auf der Y-Achse das Vorwärtsstreulicht aufgetragen.

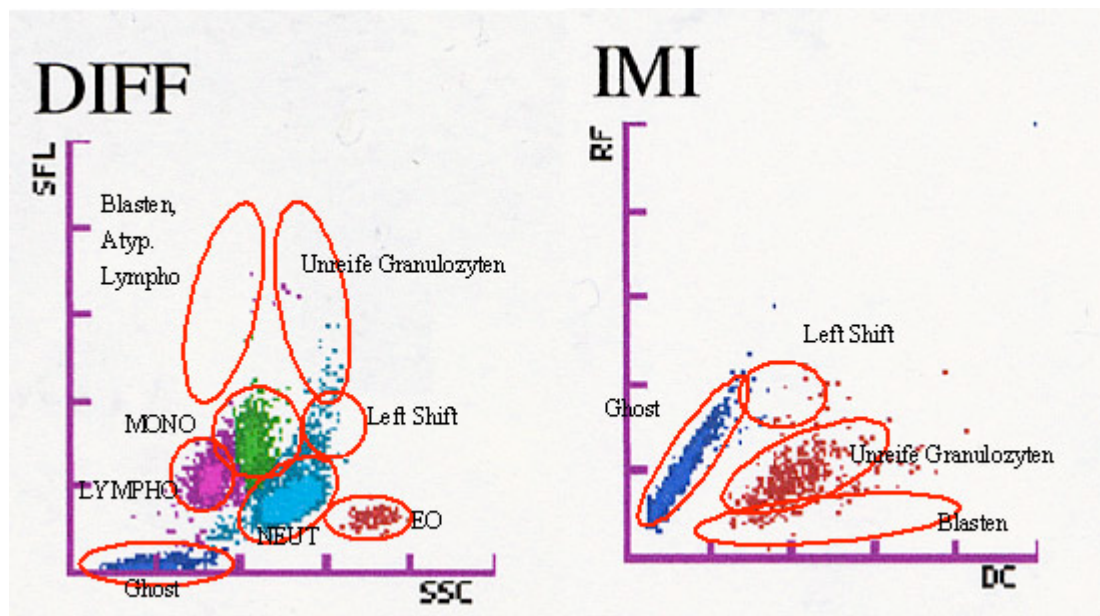


Abbildung 5: Dot-Plots Differentialblutbild und IMI (=Immature myeloid Information), (DC = Gleichstrom (direct current), RF = Hochfrequenz (radio frequency), SFL = Fluoreszenz, SSC = Seitwärtsstreulicht (side scatter characteristics)), Quelle: Sysmex Europe GmbH Norderstedt)

Maßgebliche Vorteile von Durchflusszytometern gegenüber mikroskopischen Methoden sind neben der höheren Genauigkeit, Sensitivität und Spezifität, ihre hohe Mess-Geschwindigkeit [56] und die einfache Probenvorbereitung.

Durch Fluorochrome zur durchflusszytometrischen Messung

Um die Zellen „sichtbar“ zu machen und nach Eigenschaften zu differenzieren, benutzt man fluoreszierende Verbindungen (Fluorochrome). Antikörper

sind mit Fluorochromen markiert, anhand derer man die gebundenen Antigene im Durchflusszytometer detektieren kann. Fluorescein (FITC)-markierte Zellen leuchten in gelb-grünem Licht bei ca. 515nm, während R-Phycoerythrin (PE)-markierte Zellen rot-oranges Licht bei ca. 580nm ausstrahlen. Beide Farbstoffe können von dem Laser angeregt werden. Die verschiedenen Oberflächeneigenschaften sind charakteristisch für verschiedene Stammzellen, für den Reifegrad und den Aktivierungszustand der Zelle.

Bei dem SYSMEX XE-2100 kommen Polymethin-Farbstoffe zur Anwendung. Sie eignen sich hervorragend für die Supravitalfärbung der Zellen [57]. Der Vorteil von Polymethin-Farbstoffen besteht in der Tatsache, dass sie sich für die jeweilige Anwendung leicht verändern lassen: Sowohl die zu absorbierende Wellenlänge, die Zell- und Kernpermeabilität als auch die Affinität zu bestimmten Zellkomponenten kann durch Veränderung der molekularen Struktur nach Wunsch herbeigeführt werden. Sie binden auf Grund ihrer positiven Ladung leicht an Nukleinsäuren und besitzen die notwendige Eigenschaft, ungebunden in wässriger Lösung nicht zu fluoreszieren. Somit entstehen keine Störsignale oder sonstige Interferenzen. Es werden drei verschiedene Polymethin-Farbstoffe für die Leukozyten-Differenzierung, die Retikulozytenmessung und die Erythroblastenmessung eingesetzt.

Unreifzellige Granulozyten reagieren deutlicher mit dem Reagenz STOMATOLYSER-4DS und haben dadurch ein stärkeres Fluoreszenzsignal [30]. Dies ermöglicht eine klare Trennung der unterschiedlichen Zellpopulationen.

Material

Durchflusszytometer:

Automated Hematology Analyzer XE-2100, SYSMEX, Norderstedt, Germany
Datenverarbeitungssystem XE-IG Master Software

Blutproben in 2.8 mL K₃EDTA Monovetten (Sarstedt, Germany)

Reagent System:

1. WBC/BASO-Kanal:
STROMATOLYSER-FB (II)
2. DIFF-Kanal:
In diesem Kanal wird ein 4-Part-Differential (Neutrophile, Lymphozyten, Monozyten, Eosinophile) erstellt.
STROMATOLYSER-4DL
STROMATOLYSER-4DS mit Polymethin-Farbstoff
3. RET-Kanal:
PLT-fl Zählwert für Thrombozyten
RET-SEARCH II (Diluent) und (Staining Solution) mit Polymethin-Farbstoff: Trennung der Retikulozyten von Erythrozyten über den Unterschied im RNS-Gehalt
4. IMI-Kanal:
STROMATOLYSER-IM (polyoxyethylene-series non-ionic surfactant, sulfur-containing amino acid, cationic surfactant)

3.3 Messung der weiteren Parameter

Interleukin 6

Interleukin-6 (IL-6) gehört zu den proinflammatorischen Interleukinen und besteht aus 184 Aminosäuren. Es kann von vielen Zelltypen produziert werden, z.B. von Makrophagen, Fibroblasten, Endothelzellen, Keratinozyten, Mastzellen und T-Lymphozyten. Es wirkt als Differenzierungsfaktor für B-Zellen und als Aktivierungsfaktor für T-Zellen. So stimuliert es mit IL-4 die Umwandlung von B-Zellen in immunglobulinproduzierende Plasmazellen und ermöglicht in Gegenwart von IL-2 die Differenzierung von T-Zellen zu zytotoxischen T-Zellen.

Kontakt mit Bakterien veranlasst Makrophagen dazu IL-6 zu produzieren. Zusammen mit IL-1 und TNF- α induziert IL-6 die Synthese von Akute Phase Proteinen wie CRP, Fibrinogen und Serum-Amyloid-Protein in der Leber. Der IL-6-Anstieg geht somit im Fall einer Entzündung dem des CRP voraus [58].

Die in-vivo-Halbwertszeit von IL-6 beträgt ca. 20 Minuten. Die Konzentration von IL-6 im Plasma liegt bei gesunden Menschen bei ca. 1pg/ml und kann bei schweren systemischen Infektionen bis auf 8×10^5 pg/ml ansteigen [59]. Weniger dramatische Anstiege finden sich bei einer Reihe entzündlicher und infektiöser Erkrankungen sowie (proportional) bei Muskelanstrengungen (15-150pg/ml lokales Entzündungsgeschehen, >150pg/ml SIRS/Sepsis). Die kurze Halbwertszeit macht man sich in der Intensivmedizin zur raschen Beurteilung der Dynamik akuter entzündlicher Krankheitsbilder zunutze. Die Arbeitsgruppe von Patel stellte 1994 einen Zusammenhang zwischen IL-6 und der Mortalität bei intraabdominaler Sepsis fest und forderte daher eine schnelle Reaktion auf einen massiven Anstieg von IL-6 [60]. Auch Wakefield et al. konnten die Korrelation der IL-6-Plasmakonzentration mit dem Schweregrad und der Prognose von Patienten in Zusammenhang bringen [61]. In der MONARCS-Studie, einer Therapiestudie mit monoklonalem TNF-alpha-Antikörper bei Patienten mit schwerer Sepsis, zeigte sich ein deutlicher Zusammenhang zwischen den Ausgangswerten von IL-6, der Schwere der Organdysfunktion und der Prognose (Mortalität 47,7% bei IL-6 >1000pg/ml vs. 28,6% bei IL-6 <1000pg/ml) [62]. In der PROWESS-Studie, die zur Zulassung von rekombinantem human aktivierten Protein C führte, korrelierten die IL-6-Werte jedoch nicht mit der Prognose [63].

Gemessen wird IL-6 mittels eines Chemolumineszenzimmunoassay (CLIA). Die Bestimmung von IL-6 erfolgt aus dem Serum in vollautomatischen Systemen und dauert ungefähr 70 Minuten.

Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α)

TNF- α ist ein dreisträngiges Protein aus 185 Aminosäuren, das an der Oberfläche von Makrophagen aus einem längeren Propeptid gebildet wird. Aber auch andere Zellarten des menschlichen Körpers wie Mastzellen, Lymphozyten, Endothelzellen, Herzmuskelzellen, Lipozyten, Fibroblasten und Nervenzellen sind in der Lage, dieses pleiotrope Zytokin zu bilden [64, 65]. Endotoxin, Viren, Pilze, parasitäre Antigene, Enterotoxine, Immunkomplexe und IL-1 regen die Synthese an. In Zellen von Leber, Lunge, Haut, Milz und Fettgewebe sind TNF- α Rezeptoren zu finden.

TNF- α gehört zu den Substanzen, die als Reaktion auf Bestandteile der Bakterienwand eine Entzündung im Körper auslösen oder verstärken, indem sie die B- und T-Zellen aktivieren, Granulozyten und Makrophagen herbeirufen, Tumorzellen zerstören und Fieber erzeugen. Bei chronischen Entzündungen, z.B. bei rheumatischen Erkrankungen oder Psoriasis, kommt TNF- α in großen Mengen vor.

Zum einen wirkt TNF- α auf den Hypothalamus, wo es eine vermehrte Ausschüttung von Corticotropin-releasing-Hormon (CRH), eine Appetitminderung und das Auslösen von Fieber hervorruft. Zum anderen verursacht TNF- α in der Leber die Produktion von Akute-Phase-Proteinen (z.B. CRP) und eine Insulinresistenz. Bei Makrophagen stimuliert TNF- α die Phagozytose und bei neutrophilen Granulozyten die Chemotaxis.

Lipopolysaccharid-bindendes Protein (LBP)

Das Lipopolysaccharid-bindende Protein (LBP) wurde 1990 erstmalig beschrieben [66] und gehört zu den Akute-Phase-Proteinen. Bei einer systemischen Infektion bindet das LBP an den bakteriellen Zellwandbestandteil Lipopolysaccharid (LPS, Endotoxin). Der dadurch entstehende Komplex wird dem CD14-Rezeptor auf immunkompetenten Zellen präsentiert. Somit fungiert es als Mediator bei der Aktivierung von Monozyten durch den CD14-Rezeptor und stimuliert zudem die Produktion von IL-6. Die hauptsächliche Synthese findet in den Hepatozyten und den Epithelzellen des Darms und der Lunge statt. Messbare Konzentrationen von LBP sind auch bei gesunden Patienten zu finden, der normale Plasma-Serum-Spiegel liegt bei 5 bis 15 $\mu\text{g/mL}$. Nach Stimulation werden die Spitzenkonzentrationen im Gegensatz zu Procalcitonin und CRP erst nach circa 36 Stunden erreicht [67].

LBP steigt im Serum in der Folge von Trauma, SIRS und Sepsis an [68]. Vor allem bei bakteriell verursachten Infektionen kommt es zu einem Anstieg von LBP. In einer Studie von Sakr et al. mit 327 Intensivpatienten waren jedoch die LBP-Plasmakonzentrationen bei Patienten mit SIRS, Sepsis und schwerer Sepsis in gleicher Weise erhöht nachweisbar, zudem ergab sich aus den Werten keine prognostische Signifikanz [69].

C-reaktives Protein (CRP)

CRP hat eine homopentamere Ringstruktur. Es gehört zur Pentraxin-Familie und besteht aus fünf monomeren Polypeptidketten, die je 206 Aminosäuren (etwa 21 kD) lang sind. Den Namen hat das CRP durch seine Fähigkeit erhalten, in vitro mit dem C-Kohlenhydrat der Polysaccharidkapsel von Pneumokokken zu reagieren [29].

Gemeinsam mit Coeruloplasmin, Fibrinogen, Haptoglobin, Ferritin und Präalbumin gehört das CRP zu den Akute-Phase-Proteinen, die durch IL-6 oder IL-8 [70] vermittelt in der Leber synthetisiert und von Hepatozyten freigesetzt werden. Es fungiert sowohl als Mediator als auch als Inhibitor der Inflammation.

Bestimmt wird das CRP im Serum oder Plasma und hat bei Patienten über 18 Jahren einen Referenzbereich von $<0,5$ mg/dl. Im akuten Entzündungsgeschehen kann der Wert auf das 1000-fache und höher ansteigen [58, 70-73]. Anders als Zytokine und Procalcitonin erreicht das CRP bei akuten Infektionen und Sepsis seinen höchsten Plasmaspiegel erst nach 48 Stunden [58, 74], zudem hat es eine Halbwertszeit von 19 Stunden [75]. Ein erhöhter Wert des CRP ist auch bei nichtinfektiösen Erkrankungen zu finden, wie zum Beispiel bei autoimmunen und rheumatischen Erkrankungen [76], dem akuten Koronarsyndrom [77], bei malignen Tumoren und nach Operationen [78]. Andere Faktoren die das CRP beeinflussen sind zum Beispiel Fasten, körperliche Arbeit und moderater Alkoholkonsum, die seinen Wert senken, und zum anderen orale Kontrazeptiva und Rauchen, die den Wert erhöhen können.

Eine Studie berichtet über den positiven prädiktiven Wert von CRP bei Patienten mit Sepsis, das heißt bei SIRS-Patienten mit Infektion ohne Organdysfunktion [79]. Bei Patienten mit schwerer Sepsis, also mit Organdysfunktionen, war das C-reaktive Protein jedoch weder in der Frühdiagnose noch in der Verlaufs- und Schweregradbeurteilung von Bedeutung [79-81].

C-reaktives Protein wurde in unserer Studie mittels Standard-Lasernephelometrie routinemäßig gemessen.

3.4 Erhebung der Scorewerte

Um die Letalität, den Schweregrad der Erkrankung und den Verlauf des Intensivaufenthaltes abschätzen zu können, sind für wissenschaftliche Untersuchungen verschiedene Score-Systeme entwickelt worden. Die Haupteinschränkung einer Prognoseabschätzung ist allerdings, dass eine Aussage zum Letalitätsrisiko nur für Patientengruppen und nicht für individuelle Patienten zutreffend ist [82]. Die von einem Scoring-System erbrachte Risikoabschätzung zeigt somit eine statistische Wahrscheinlichkeit, aber keine individuelle Prognose an [83].

Im Jahr 1981 wurde von Knaus erstmals der Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Score (APACHE I) veröffentlicht [84], 1985 ist eine zweite Version dieses Scores erschienen (APACHE II), nachdem sich in einer Studie von ihm selbst herausgestellt hatte, dass die Komplexität des APACHE I die Verwendung im Alltag verhinderte [85]. Auch heute wird der APACHE II Score auf Intensivstationen verwendet um die Erkrankungsschwere von Patienten quantitativ zu erfassen und damit vergleichbar zu machen. Dieser Score setzt sich aus drei Datengruppen zusammen, dem Acute Physiology Score, den Age Points (Alter) und den Chronic Health Points (Punkte für chronische Erkrankung). Die erforderlichen Daten werden über 24 Stunden gesammelt, wobei die jeweils schlechtesten Werte für die Berechnung des Scores herangezogen werden.

Eine Weiterentwicklung ist die von Le Gall erstmals 1984 [86] veröffentlichte Version des Simplified Acute Physiology Scores (SAPS) für Intensivpatienten. Es ist eine Vereinfachung des APACHE-Scores und unterscheidet sich, neben einer modifizierten Bewertung von Alter und neurologischem Status des Patienten, durch Veränderung von Anzahl und Gewichtung der eingebrachten physiologischen Werte. Auch dieser Score wurde durch eine zweite Version verbessert [45].

Der SAPS II wird aus 14 Parametern gebildet, welche die Umstände der stationären Aufnahme, das Alter und Vorerkrankungen des Patienten sowie einige physiologische Variablen umfasst. Jedem Parameterwert, gemessen innerhalb der ersten 24 Stunden, wird ein Punktwert zugeordnet, wobei die schlechtesten Werte für den Score herangezogen werden. Aus der Gesamt-

punktzahl lässt sich die Erkrankungsschwere und Sterbewahrscheinlichkeit abschätzen (siehe Anhang).

Zusätzlich betrachtet der SAPS II vorherige Erkrankungen, den Aufnahmegrund und die Glasgow Coma Scale (GCS). Letztere ist eine einfache Skala zur Abschätzung einer Bewusstseinsstörung. Sie wurde von Teasdale und Jennett 1974 [87] entwickelt und vergibt jeweils Punkte für Augenöffnung, verbale Reaktion und motorische Reaktion, wobei die Punktwerte immer durch Interaktion mit dem Patienten erhoben werden. Diese noch heute gültige Version beinhaltet eine maximale Punktzahl von 15 (volles Bewusstsein) und eine minimale Punktzahl von 3 (Tod oder tiefes Koma), wobei immer die beste Antwort des Patienten zählt [88] (siehe Anhang 7.3).

Der Wertebereich des SAPS II reicht von 0 bis maximal 163, was einer erwarteten Mortalität von 0% bis 100% entspricht. Die Validierungsstudie zum SAPS II [45] fand von September 1991 bis Februar 1992 statt und zeichnete sich durch eine große Kohorte von mehr als 13.000 Patienten aus. Sie wurde auf Intensivstationen in 12 Ländern Europas und Nordamerikas durchgeführt. Ausgeschlossen wurden Patienten unter 18 Jahren, Verbrennungspatienten und Patienten nach herzchirurgischen Eingriffen. Die folgende Abbildung zeigt das statistische Mortalitätsrisiko zu den innerhalb der ersten 24 Stunden erhobenen SAPS II Scores.

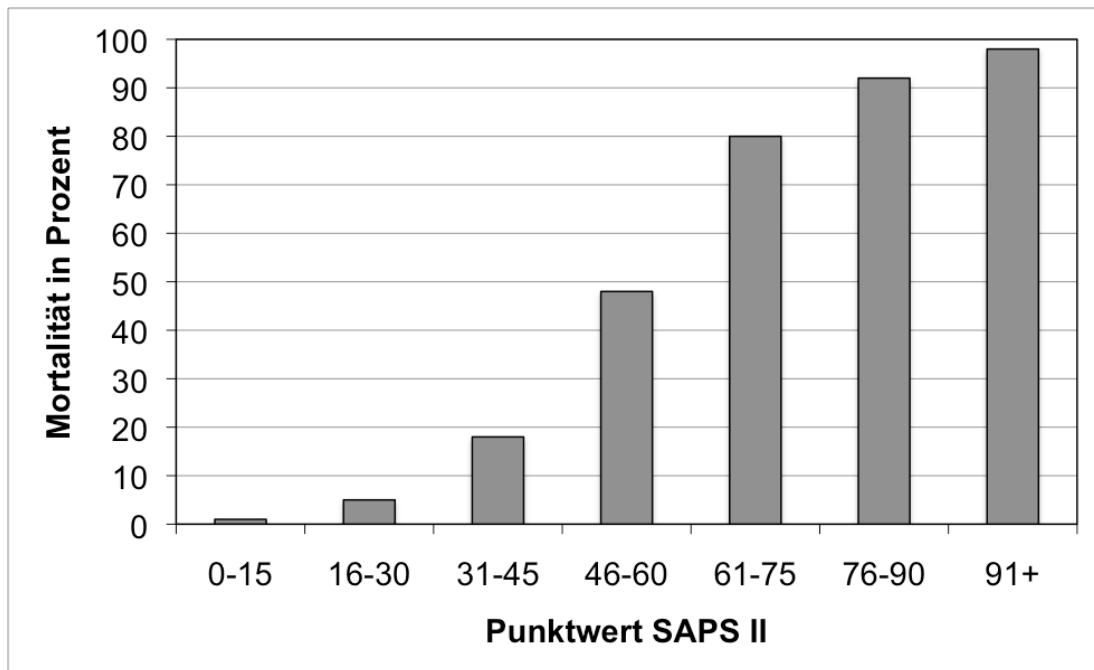


Abbildung 6: Mortalität (in %) in Abhängigkeit vom SAPS II, (SAPS = Simplified Acute Physiology Score), Quelle: Le Gall et al. [45]

Im Gegensatz zu den beiden prädiktiven Scoresystemen APACHE II und SAPS II, die nur für den ersten Tag des Intensivaufenthaltes validiert sind, gehört der SOFA-Score (Sequential organ failure assessment) zu den Verlaufscores. Dieser Score evaluiert den Status der folgenden Funktionskomplexe separat:

1. Respiration
2. Koagulation
3. Leber
4. Herz-Kreislauf-System
5. Zentrales Nervensystem
6. Nieren

Im Oktober 1994 wurde der Score von Experten der European Society for Intensive Care Medicine (ESICM) [47] auf einer Consensus-Konferenz in Paris entwickelt. Er ist einfach und leicht zu berechnen. Grundlage der täglichen Erhebung sind die jeweils schlechtesten Werte für jedes Organsystem. Bei diesem Score kommt für die Bewertung des zentralen Nervensystems auch die Glasgow Coma Scale zum tragen.

Wie im Anhang dargestellt werden sechs Organsysteme mit Punkten von 0 bis 4 bewertet wobei 0 einer annähernd physiologischen Funktion entspricht.

Aus der Summe der Punkte ergibt sich der Gesamtscore. In einer Studie von Ferreira et al. 2002 [89] wurde bei 352 Patienten der initiale, der höchste und der mittlere SOFA-Score bestimmt und es konnte eine Korrelation der mittleren SOFA-Scores mit der Überlebenswahrscheinlichkeit bewiesen werden. Zudem fiel auf, dass ein Anstieg des SOFA-Scores innerhalb der ersten 48 Stunden auf Intensivstation die Mortalitätsrate auf fast 50% erhöht. Der Score kann in Form einer Grafik dargestellt werden, die einen Überblick zum zeitlichen Verlauf der Beeinträchtigung der verschiedenen Organsysteme bietet.

In unserer Studie wurde am Aufnahmetag innerhalb der ersten 24 Stunden der SAPS II-Wert des Patienten ermittelt. An jedem Folgetag (bis maximal Tag 21) wurde bei den Patienten der SOFA-Score erhoben.

3.5 Statistische Methoden

Die computergestützte Erfassung der Daten erfolgte parallel zum Aufenthalt der Patienten. Die statistische Auswertung der Daten wurde mit Hilfe von SPSS® (Statistical Package for Social Science; Version 10®) durchgeführt.

Zur Überprüfung der Normalverteilung der Werte wurde vor jedem Test der Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest durchgeführt. Dabei gilt ein $p > 0,05$ als Hinweis für eine Normalverteilung der Daten. Normalverteilte Werte (wie z.B. in dieser Studie Alter, LOS und SAPS II) wurden dann mit dem Student-T-Test weiter auf die statistische Signifikanz im Bezug auf die unabhängige Variable untersucht. Werte, die nicht einer Normalverteilung unterlagen, wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test weiter analysiert.

Bei der Berechnung dichotomer Zielgrößen wurde ein Vierfelder-Test zu Grunde gelegt und mittels eines Chi-Quadrat-Tests auf Unabhängigkeit untersucht. Bei dem Chi-Quadrat-Test handelt es sich um einen verteilungsfreien Signifikanztest zur Prüfung von Hypothesen und Verteilungen. Gegenstand des Tests ist der Vergleich zwischen einer empirisch gefundenen und einer theoretisch angenommenen Häufigkeitsverteilung der Ausprägung eines Merkmals.

Als weiterer statistischer Parameter stellt der Mittelwert das arithmetische Mittel aller Daten einer Stichprobe dar. Die Standardabweichung ist definiert als die Wurzel der mittleren Abweichungsquadrate vom Mittelwert der Stichprobe. Der Standardfehler des Mittelwerts (engl. SEM = Standard error of means) ergibt sich aus der Standardabweichung durch Division der Wurzel aus n , dem Stichprobenumfang.

Die Erhebung und Berechnung der Scorewerte erfolgte mit dem Hamburg Intensive Care Scoring Tool (HICAST[®]).

4 Ergebnisse

4.1 Demographie

Es wurden 70 Patienten in die Studie eingeschlossen. Der Altersmedian lag bei 52,9 Jahren (Spanne: 19-88 Jahre).

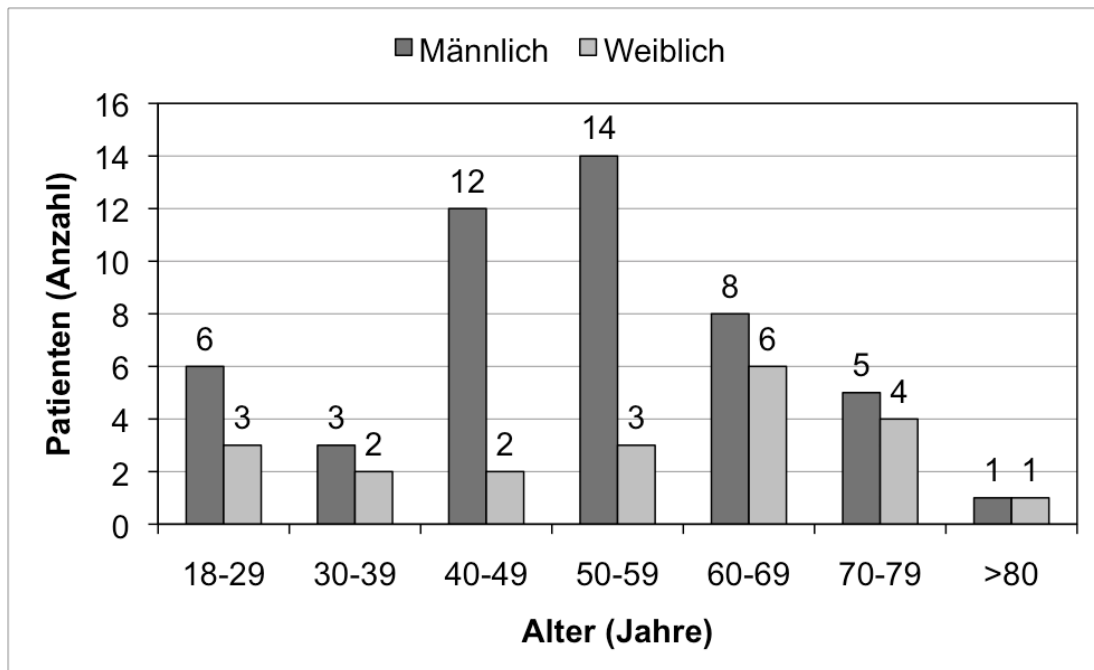


Abbildung 7: Altersverteilung Studienpatienten

Die 28-Tage-Mortalität lag bei 20% (14/70 Patienten), die Intensivmortalität bei 27,1% (19/70 Patienten) und die Krankenhausmortalität bei 28,6% (20/70 Patienten). Alle nun folgenden Ergebnisse der Studie beziehen sich auf die Sterblichkeit während des Intensivaufenthalts (Intensivmortalität = ICU-Mortality).

Die Erkrankungsschwere der Patientenpopulation wurde durch einen medianen SAPS II Wert am Aufnahmetag von 37 (Spanne: 13-71) beschrieben, der einer erwarteten Intensivmortalitätsrate von 19,7% entsprach.

Die nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick über die demographischen Daten und ihre Verteilung zwischen überlebenden und verstorbenen Patienten.

Tabelle 6: Demographie (ICU-Mortalität)

	Überlebende (n = 51)	Verstorbene (n = 19)	Gesamt (n = 70)	p-Wert
Alter (Jahre) MW ± SD	51,9 ± 16,1	53,8 ± 16	52,4 ± 16	0,657
Geschlecht (♀/♂)	16/35	5/14	21/49	0,776
SAPS II Median CI Max Min	35 33,4 – 40,6 65 13	47 40,4 – 50,6 71 32	37 36,3 – 42,4 71 13	0,007
LOS (Tage) Median CI Max Min	24 21,8 – 32,3 97 3	21 15,9 – 34,5 72 4	22,5 22,1 – 31,0 97 3	0,728

CI = 95% Konfidenzintervall des Mittelwerts, LOS = Length of stay, MW = Mittelwert,
SAPS II = Simplified Acute Physiology Score II, SD = Standardabweichung

In Tabelle 6 fällt auf, dass die Verstorbenen im Mittel signifikant höhere SAPS-Werte aufwiesen als die Überlebenden.

Nach den Sepsis-Kriterien wurden die Patienten in insgesamt drei Gruppen eingeteilt: Patienten mit Sepsis, Patienten ohne Sepsis sowie Patienten, die im Lauf des Aufenthalts ein septisches Krankheitsbild entwickelten.

Die Aufteilung der Patienten in den Gruppen und ihre demographischen Kennzahlen sind in Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 7: Demographie der einzelnen Gruppen

	Non-Sepsis Gruppe 1 (n = 19)	Entwicklung Sepsis Gruppe 2 (n = 12)	Sepsis Gruppe 3 (n = 39)
Alter (Jahre) MW ± SD	p = 0,468 47,4 ± 16,1	p = 0,364 43,8 ± 18,5	p = 0,634 57,3 ± 13,5
Geschlecht (♀/♂)	4 / 15	3 / 9	14 / 25
Mortalität ICU Überlebende Verstorbene	13 6	9 3	28 11
SAPS II Median CI Max Min	p = 0,79 38 35,8 – 50,0 71 16	p = 0,736 37,5 31,6 – 47,9 65 20	p = 0,013 37 33,7 – 41,2 63 13
LOS (Tage) Median CI Max Min	p = 0,38 12 9,6 – 22,3 54 3	p = 0,018 37,5 25,4 – 57,5 97 11	p = 0,133 25 22,0 – 32,2 72 5

CI = 95% Konfidenzintervall des Mittelwerts, ICU = Intensivstation, LOS = Length of stay, MW = Mittelwert, SAPS II = Simplified Acute Physiology Score II, SD = Standardabweichung. Die angegebenen p-Werte beziehen sich auf die Intensivmortalität.

Das Alter, die Aufenthaltsdauer (LOS) und der SAPS II des Aufnahmetages sind nach der Analyse mit dem Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest normalverteilt und wurden für die Gruppe 1 mit dem T-Test weiter untersucht. Alter und Aufenthaltsdauer sind im Bezug auf die Intensivsterblichkeit dieser Gruppe ebenso nicht signifikant unterschiedlich (Alter p=0,468 und LOS p=0,38), wie auch der SAPS II-Score am Aufnahmetag (p=0,79). Somit erge-

ben sich für die Verstorbenen der nicht-septischen Gruppe keine signifikant höheren SAPS II Werte bei Aufnahme als bei den Überlebenden.

Im folgenden Diagramm ist die prozentuale Verteilung der Diagnosen der nicht-septischen Patienten dargestellt:

Diagnosen der nicht-septischen Patienten

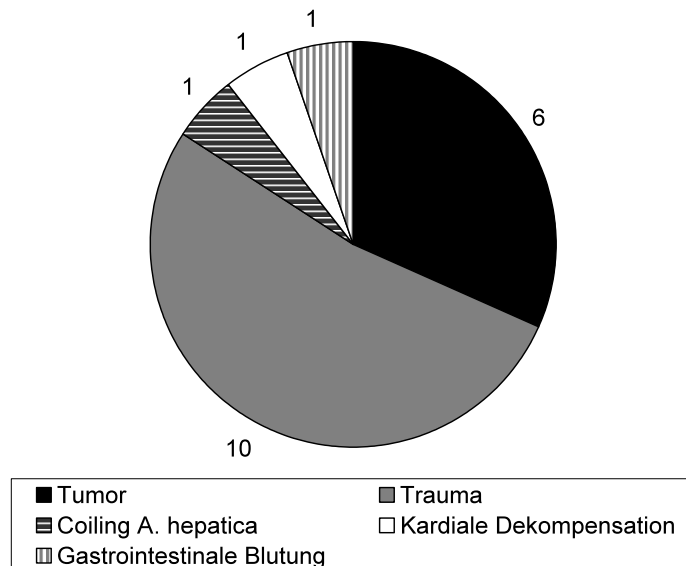


Abbildung 8: Diagnosenverteilung der nicht-septischen Patienten (n=19)

Die Gruppe 2 besteht aus den Patienten, die während des Aufenthalts im Krankenhaus eine Sepsis erworben haben. Das Alter, die Aufenthaltsdauer und der SAPS II am Aufnahmetag waren normalverteilt und wurden somit in Bezug auf die Intensiv-Mortalität mit einem T-Test analysiert. Dabei ergibt sich auch in dieser Gruppe für das Alter ($p=0,364$) und den SAPS II bei Aufnahme ($p=0,736$) kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Überlebenden und den Verstorbenen. Allerdings ist die Aufenthaltsdauer im Bezug auf die Sterblichkeit während des Intensivaufenthalts mit $p=0,018$ signifikant unterschiedlich und zeigt damit, dass die Überlebenden dieser Gruppe mit 48,4 Tagen (Standardabweichung $\pm 25,2$ Tage) einen deutlich längeren Aufenthalt auf der Intensivstation haben als die Verstorbenen ($20,3 \pm 9,0$ Tage).

Die folgende Graphik zeigt die Aufnahme Diagnosen dieser Gruppe:

Diagnosen der Gruppe Entwicklung

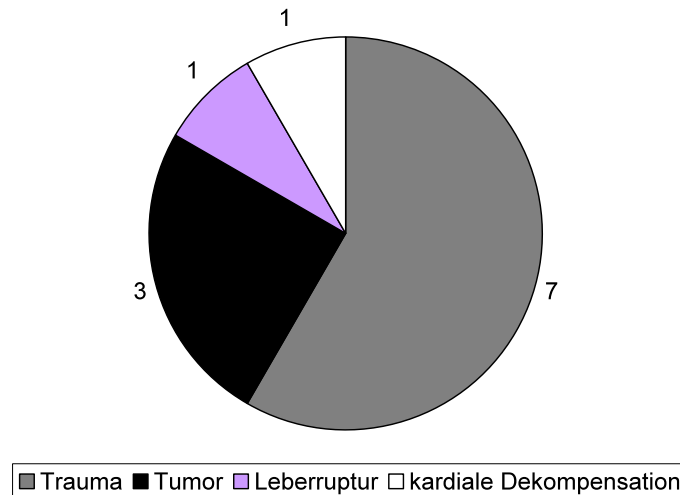


Abbildung 9: Diagnosenverteilung der Gruppe 2 (n=12)

Gruppe 3 besteht aus den Patienten, die bei Aufnahme in die Studie ein septisches Krankheitsbild aufwiesen.

Das Alter, die Aufenthaltsdauer und der SAPS II bei Aufnahme sind auch in dieser Gruppe normalverteilt. Die verstorbenen Patienten der Sepsis-Gruppe wiesen deutlich höhere SAPS II-Werte auf und hatten dadurch eine höhere Wahrscheinlichkeit zu versterben. Der mediane SAPS II-Wert bei Aufnahme lag bei den Überlebenden bei $34,75 \pm 11,4$, bei den Verstorbenen bei $44,36 \pm 9,33$. Dies entspricht einem $p=0,013$. Aufgrund der größeren Patientenzahl dieser Gruppe, ergibt sich für das gesamte Patientenkollektiv ein signifikanter Zusammenhang vom SAPS II-Wert am Aufnahmetag und der Mortalität, der in den Einzelanalysen der Gruppen 1 und 2 nicht gegeben ist.

Abbildung 10 zeigt die Diagnosenverteilung der Gruppe 3:

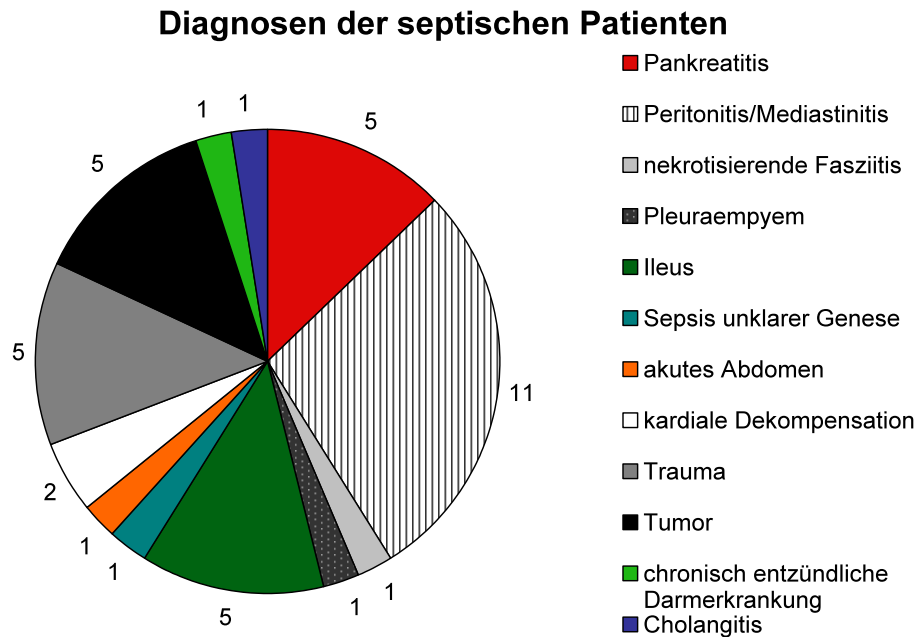


Abbildung 10: Diagnosenverteilung der septischen Patienten (n=39)

4.2 Analyse der Marker an Messtag 1

Bei der ersten Analyse der Messparameter zeigte sich für CRP, LBP und SOFA eine Normalverteilung, IL-6 und die unreifzelligen Granulozyten waren an Tag 1 nicht normalverteilt. Die weitere statistische Analyse erfolgte entweder mittels T-Test oder Mann-Whitney-U-Test.

Die unreifzelligen Granulozyten (IG) zeigten an Tag 1 bei den Überlebenden deutlich niedrigere Mittelwerte mit 319,2/μl verglichen mit 479,5/μl bei den Verstorbenen, jedoch war die Standardabweichung hier mit ± 696,8/μl zu ± 936,1/μl sehr groß. Ein signifikanter Unterschied besteht nicht (p=0,89).

Auf gleiche Weise wurden nun auch schon bekannte Marker der Sepsis analysiert. Bei CRP (p=0,227) und LBP (p=0,315) ergibt die Analyse mittels T-Test keinen Unterschied bezüglich der Mortalität. Dagegen trennt der SOFA-Score an Tag 1 signifikant mit einem p-Wert von 0,025 zwischen Überlebenden und Verstorbenen. Für IL-6 ergibt sich nach der Analyse nach Mann-Whitney ebenfalls ein signifikanter Unterschied (p=0,045) zwischen Überlebenden und Verstorbenen.

Die Tabelle 8 gibt einen Überblick über die Parameter an Tag 1.

Tabelle 8: Analyse der Sepsis-Parameter an Tag 1 in Bezug auf ICU-Mortalität

	Mortalität Überlebende (n = 51)	Mortalität Verstorbene (n = 19)	p-Wert
IG# Tag 1 ($\times 10^3$ / μl) MW $\pm$ SD	n = 51 319,2 $\pm$ 696,8	n = 19 479,5 $\pm$ 930,1	p = 0,884
CRP Tag 1 (mg / l) MW $\pm$ SD	n = 31 161,3 $\pm$ 105,5	n = 11 124,45 $\pm$ 75,8	p = 0,227
LBP Tag 1 (μg / ml) MW $\pm$ SD	n = 35 73,4 $\pm$ 47,1	n = 14 59,7 $\pm$ 40,2	p = 0,315
IL-6 Tag 1 (ng / l) MW $\pm$ SD	n = 48 2204,8 $\pm$ 11661,6	n = 19 2004,6 $\pm$ 4871,3	p = 0,045
SOFA Tag 1 Median CI Max Min	n = 51 8 7,4 – 9,1 15 1	n = 19 9 8,7 – 11,0 15 7	p = 0,025

CI = 95% Konfidenzintervall des Mittelwerts, CRP = C-reaktives Protein, IG = Immature Granulocytes, IL-6 = Interleukin-6, LBP = Lipopolysaccharid-bindendes Protein, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, SOFA = Sequential Organ Failure Assessment Score

Nun wurden Gruppe 1 und 3 in Bezug auf die Sepsisparameter an Tag 1 verglichen.

Tabelle 9: Analyse der Sepsis-Parameter an Tag 1 im Gruppenvergleich

	1 Gruppe Non-Sepsis n = 19	3 Gruppe Sepsis n = 39	p-Wert
IG# Tag 1 ($\times 10^3 / \mu\text{l}$) MW $\pm$ SD	n = 19 199,5 $\pm$ 358,6	n = 39 519,3 $\pm$ 964,3	p = 0,002
CRP Tag 1 (mg / l) MW $\pm$ SD	n = 13 123 $\pm$ 75,6	n = 20 177,5 $\pm$ 118,1	p = 0,117
LBP Tag 1 ($\mu\text{g} / \text{ml}$) MW $\pm$ SD	n = 14 50,6 $\pm$ 37,8	n = 28 82,5 $\pm$ 47,4	p = 0,024
IL-6 Tag 1 (ng / l) MW $\pm$ SD	n = 17 594,7 $\pm$ 922,1	n = 38 3312,2 $\pm$ 13434,4	p = 0,771
SOFA Tag 1 Median CI Max Min	n = 19 8 7,1 – 10,7 15 1	n = 39 8 7,3 – 9,0 15 2	p = 0,441

CI = 95% Konfidenzintervall des Mittelwerts, CRP = C-reaktives Protein, IG = Immature Granulocytes, IL-6 = Interleukin-6, LBP = Lipopolysaccharid-bindendes Protein, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, SOFA = Sequential Organ Failure Assessment Score

Dabei betrug der Mittelwert der unreifen Granulozyten an Tag 1 für die Non-Sepsis Gruppe 199,5/ μl $\pm$ 358,5/ μl . Es zeigt sich im Vergleich zur Sepsis Gruppe mit einem Mittelwert von 519,3/ μl $\pm$ 964,3/ μl ein signifikanter Unterschied (p=0,002). Ebenfalls ergibt sich ein Unterschied beider Gruppen (p=0,024) bei den LBP-Werten. Keine signifikante Unterscheidung erlauben die CRP-, IL-6- und SOFA-Werte.

4.3 Analyse der Marker im Verlauf

Da die Sepsis ein zeitlich dynamisches Krankheitsbild ist, wurden die Marker im weiteren Verlauf untersucht. Dafür wurden Gruppentage gebildet.

Jeder Patient wurde maximal 21 Tage auf der Intensivstation beobachtet. Dies bildete die Grundlage für die Einteilung der Gruppentage.

Tab. 10 zeigt die Zusammensetzung der Gruppentage:

Tabelle 10: Errechnung der Gruppentage

Gruppentag	Errechnung des Mittelwertes
Gruppentag 1	(Tag 1+2) / 2
Gruppentag 5	(Tag 3+4+5) / 3
Gruppentag 10	(Tag 6+7+8+9) / 4
Gruppentag 15	(Tag 10+11+12+13+14) / 5
Gruppentag 20	(Tag 15+16+17+18+19+20+21) / 7

Diese Berechnung wurde im Anschluss für jeden Wert einzeln angewendet.

Bei der Testung der Normalverteilung mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstests blieben CRP, LBP und SOFA normalverteilt, während IG und IL-6 nicht normalverteilt waren.

Zunächst erfolgte die Analyse bezüglich der ICU-Mortalität. Dabei zeigt die folgende Tabelle die p-Werte der einzelnen Sepsisparameter, die sich aus der Analyse aller Patienten bzgl. der ICU-Mortalität ergaben.

Tabelle 11: Signifikanzniveaus der gemessenen Parameter im Verlauf (Überlebende vs. Verstorbene)

	Gruppentag 1 p =	Gruppentag 5 p =	Gruppentag 10 p =	Gruppentag 15 p =	Gruppentag 20 p =
IG	0,827	0,071	0,340	0,284	0,196
CRP	0,221	0,950	0,925	0,506	0,817
LBP	0,306	0,533	0,195	0,166	0,797
IL6	0,030	0,003	0,132	0,306	0,003
SOFA	0,015	< 0,001	< 0,001	0,017	0,022

CRP = C-reaktives Protein, IG = Immature Granulocytes, IL-6 = Interleukin-6, LBP = Lipopolysaccharid-bindendes Protein, SOFA = Sequential Organ Failure Assessment Score

Hier ist ersichtlich, dass es keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Zahl der unreifzelligen Granulozyten und der ICU-Mortalität gibt. Ebenso wenig trifft dies auf das C-reaktive Protein und das LBP zu.

Dagegen lassen sich anhand der IL-6 Werte an den Gruppentagen 1, 5 und 20 mit einem $p < 0,05$ sowie des SOFA-Scores Aussagen im Hinblick auf die ICU-Mortalität treffen. Die folgenden Graphiken veranschaulichen die Mittelwertverteilung und die Standardabweichung der einzelnen Sepsisparameter in Bezug auf die Sterblichkeit auf der Intensivstation.

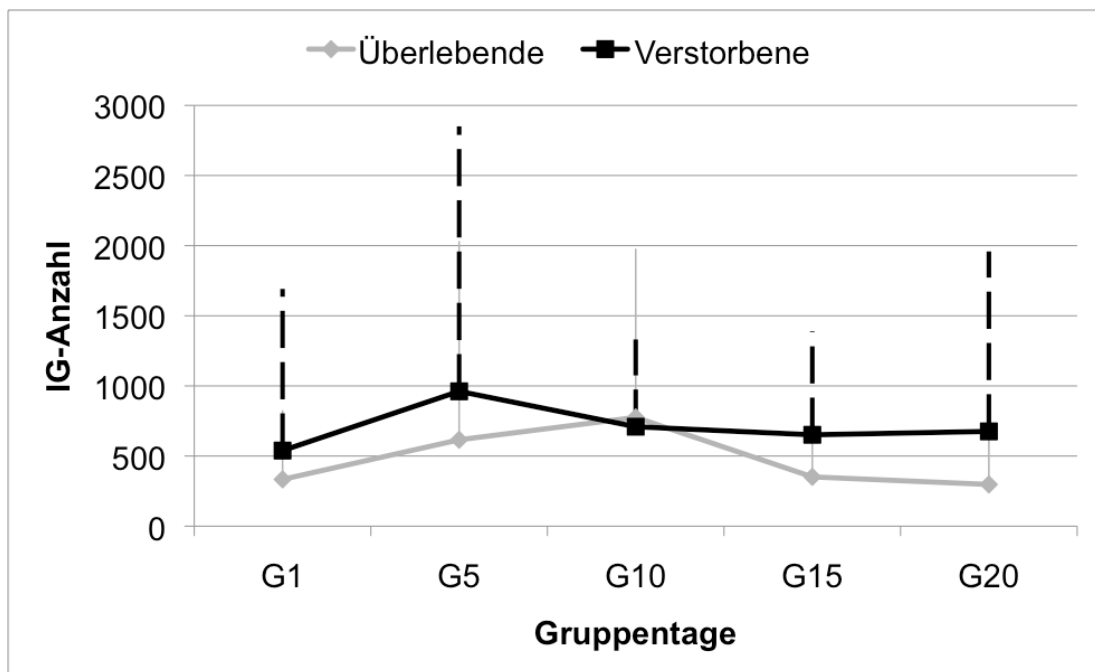


Abbildung 11: IG-Anzahl (IG# $10^3 / \mu\text{l}$) bei überlebenden vs. verstorbenen Patienten (Mittelwerte + SD) (IG = unreifzellige Granulozyten)

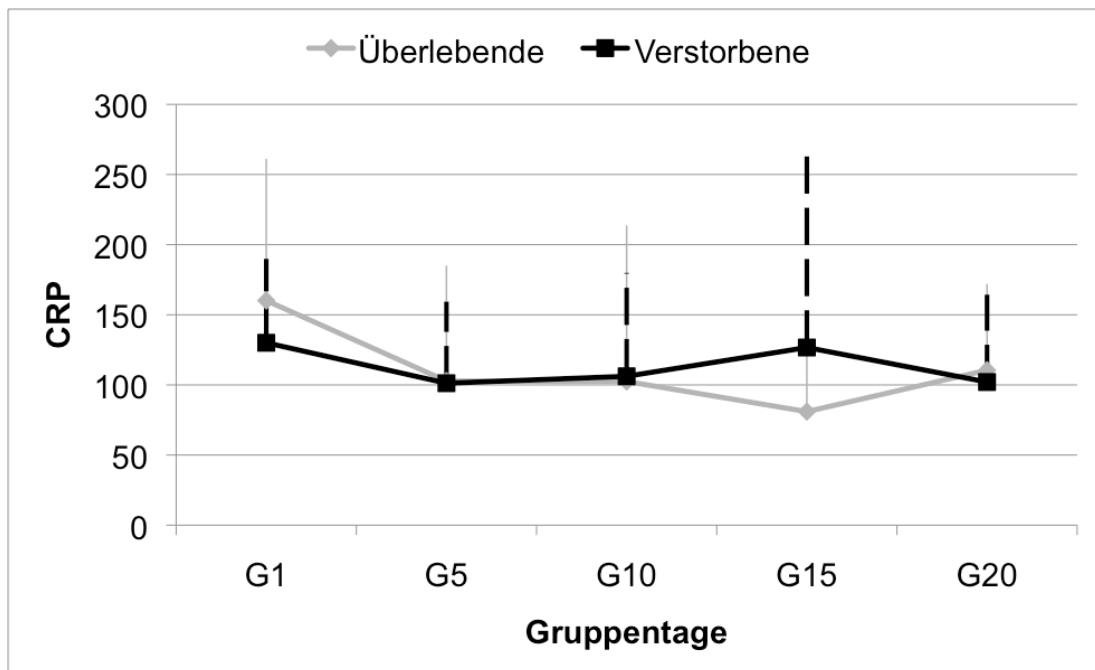


Abbildung 12: CRP (mg / l) bei überlebenden vs. verstorbenen Patienten (Mittelwerte + SD) (CRP = C-reaktives Protein)

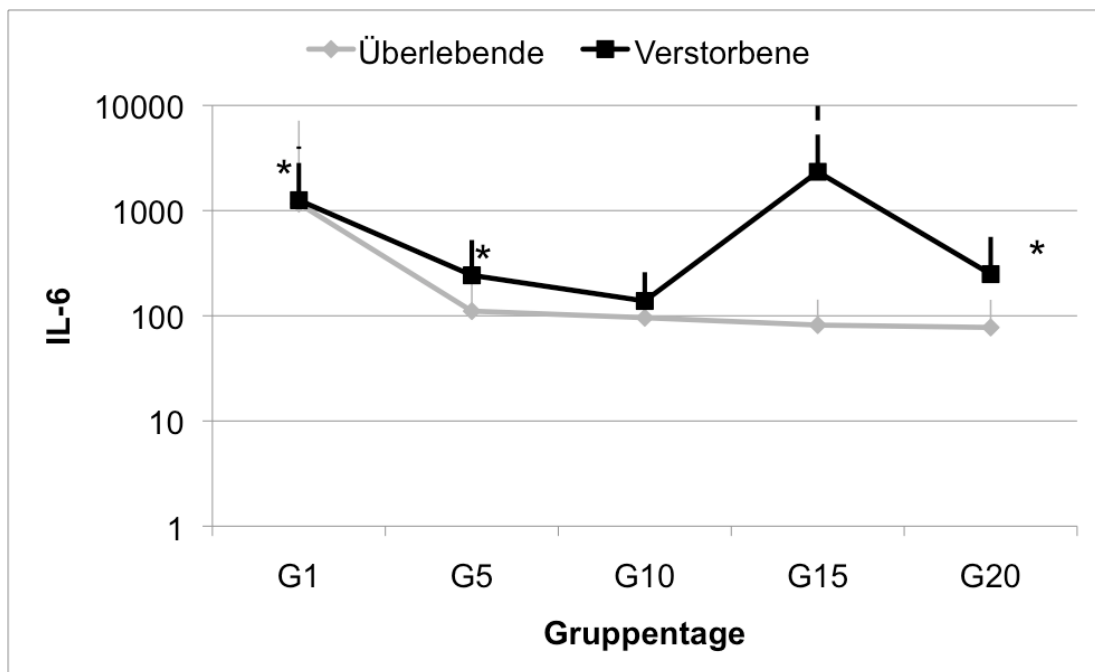


Abbildung 13: IL-6 (ng / l) bei überlebenden vs. verstorbenen Patienten (Mittelwerte + SD)
(IL-6 = Interleukin-6, * = $p < 0,05$)

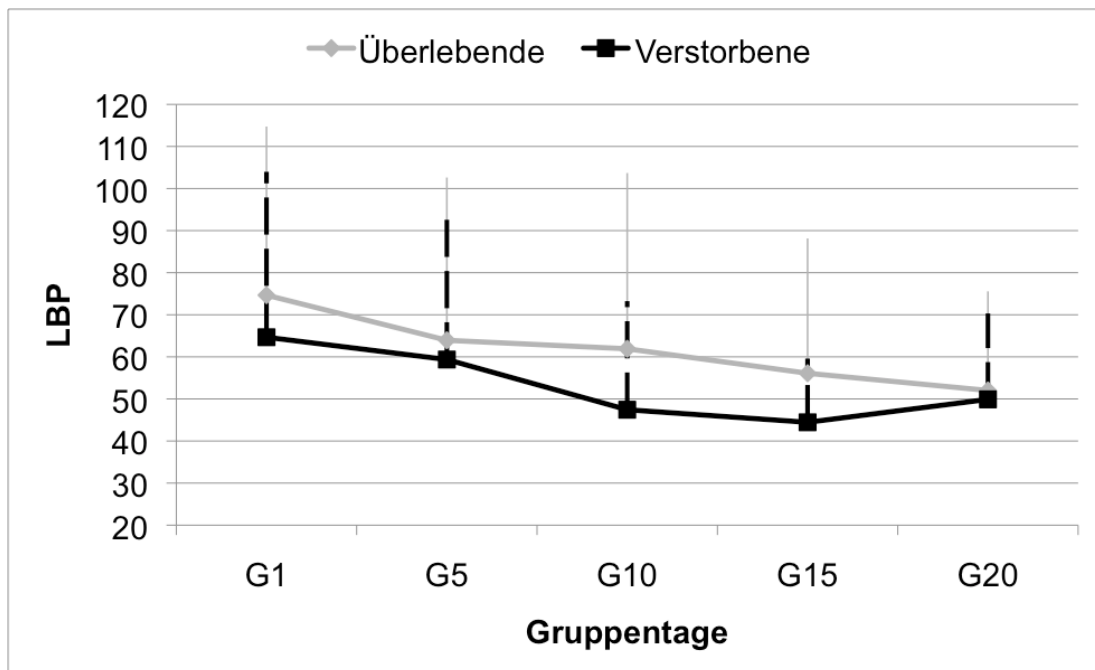


Abbildung 14: LBP (µg / ml) bei überlebenden vs. verstorbenen Patienten (Mittelwerte + SD)
(LBP = Lipopolysaccharid-bindendes Protein)

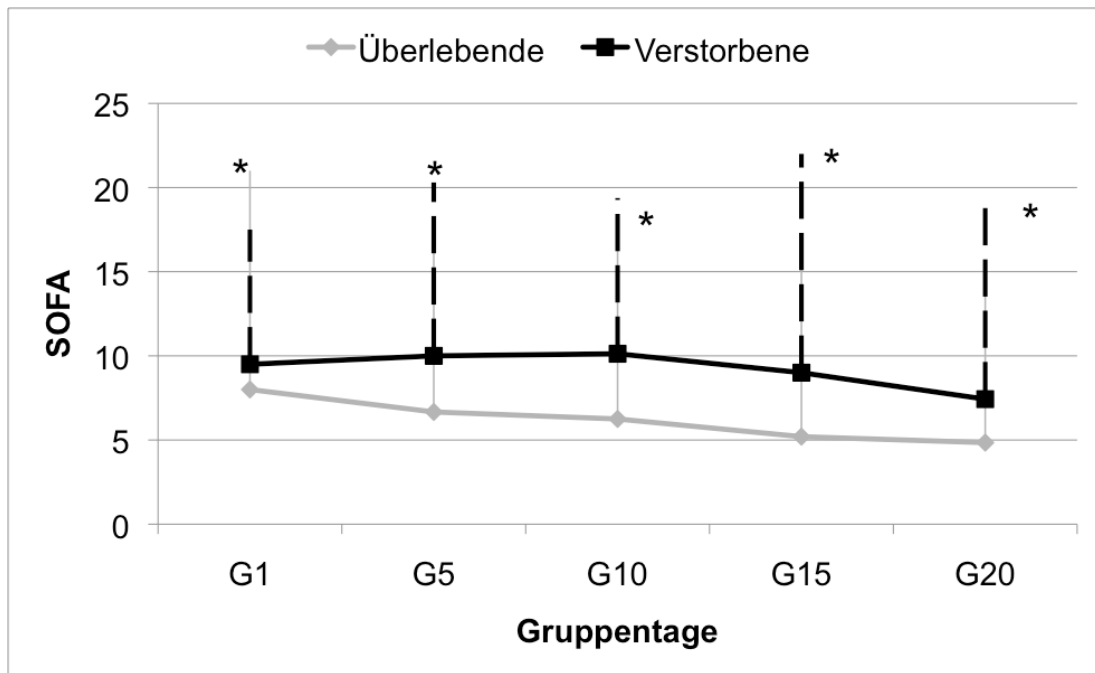


Abbildung 15: SOFA-Scorewerte bei überlebenden vs. verstorbenen Patienten (Mediane + Range) (SOFA = Sequential organ failure assessment, * = $p < 0,05$)

In dieser Studie sollte besonders untersucht werden, ob sich die Parameter der Patienten mit einer Sepsis anders entwickeln als die von Patienten ohne Sepsis. Daher erfolgte eine Signifikanz-Analyse zwischen den Parametern der Gruppen 1 und 3.

Tabelle 12: Signifikanzniveau der Parameter im Verlauf (Gruppe 1 vs. 3)

	Gruppentag 1 p =	Gruppentag 5 p =	Gruppentag 10 p =	Gruppentag 15 p =	Gruppentag 20 p =
IG	<0,001	0,020	0,367	0,594	0,300
CRP	0,195	0,015	0,677	0,903	0,267
LBP	0,037	0,868	0,233	0,139	0,062
IL6	0,450	0,250	0,859	0,268	0,121
SOFA	0,398	0,442	0,825	0,740	0,787

CRP = C-reaktives Protein, IG = Immature Granulocytes, IL-6 = Interleukin-6, LBP = Lipopolysaccharid-bindendes Protein, SOFA = Sequential Organ Failure Assessment Score

Mit einem p-Wert $<0,001$ an Gruppentag 1 und $p=0,02$ an Gruppentag 2 ergibt sich für die IGs eine signifikante Trennung der septischen Patienten von den nicht-septischen Patienten an den ersten fünf Tagen des Krankenhausaufenthalts. Ebenfalls ist ein signifikanter Unterschied für das CRP an Gruppentag 5 und für das LBP an Gruppentag 1 ersichtlich.

Die folgenden Graphiken geben einen Überblick über die Mittelwertverteilung der einzelnen Sepsisparameter in Bezug auf die Gruppen Sepsis vs. Non-Sepsis.

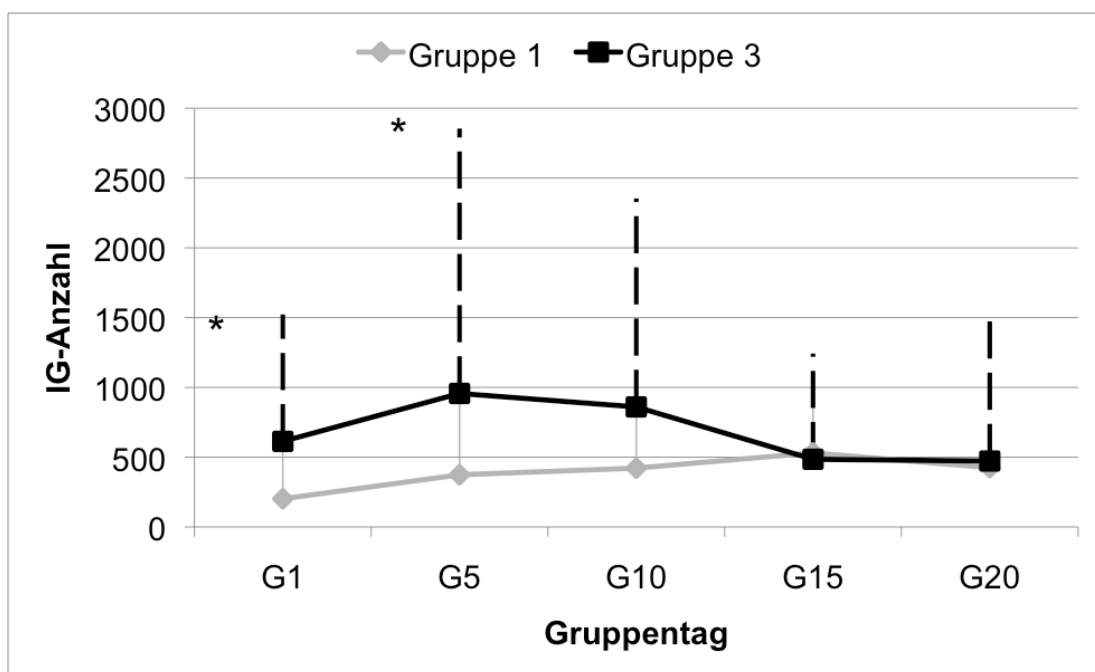


Abbildung 16: IG-Anzahl ($\text{IG} \# 10^3 / \mu\text{l}$) bei septischen vs. Nicht-septischen Patienten (Mittelwert + SD) (IG = unreifzellige Granulozyten, * = $p < 0,05$)

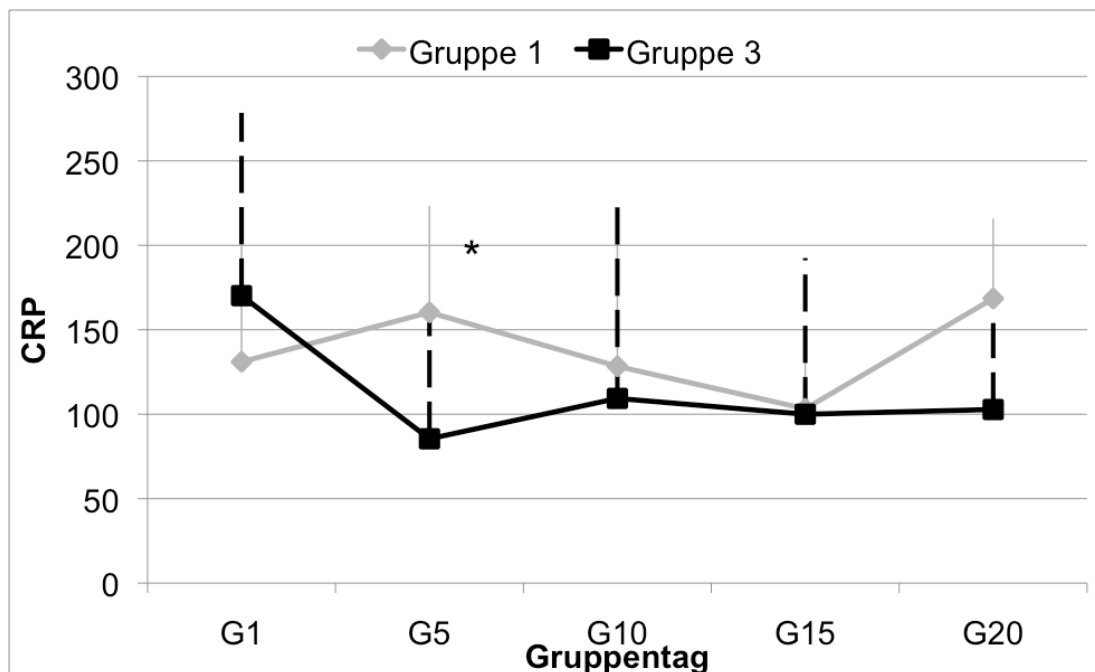


Abbildung 17: CRP (mg / l) bei septischen vs. Nicht-septischen Patienten (Mittelwert + SD)
(CRP = C-reaktives Protein, * = $p < 0,05$)

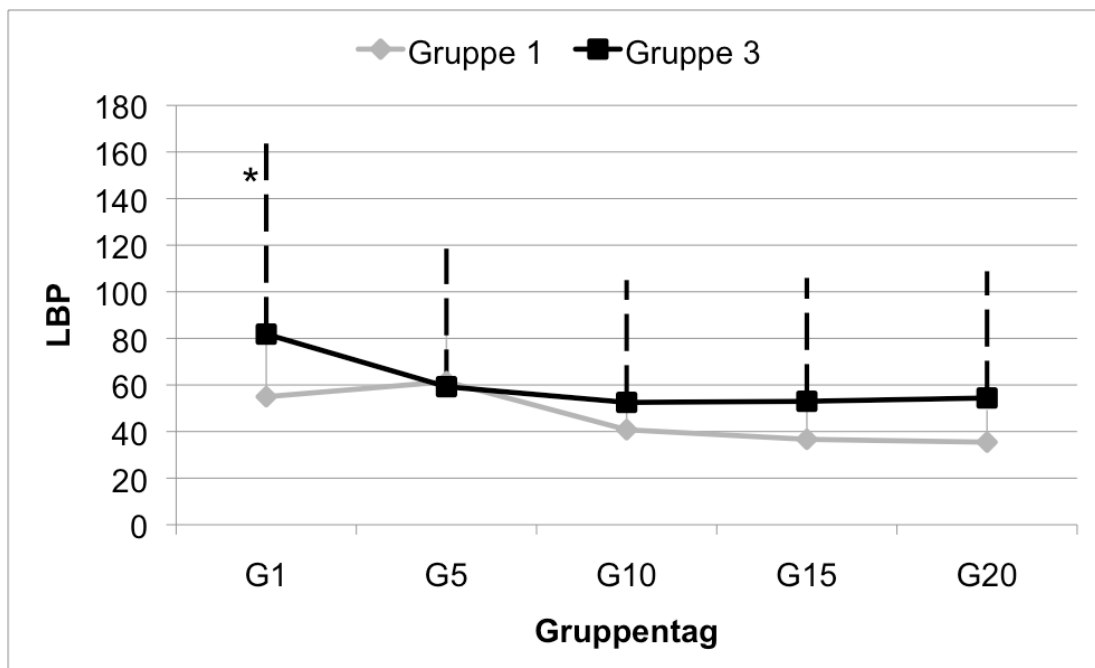


Abbildung 18: LBP (µg / ml) bei septischen vs. Nicht-septischen Patienten (Mittelwert + SD)
(LBP = Lipopolysaccharid-bindendes Protein, * = $p < 0,05$)

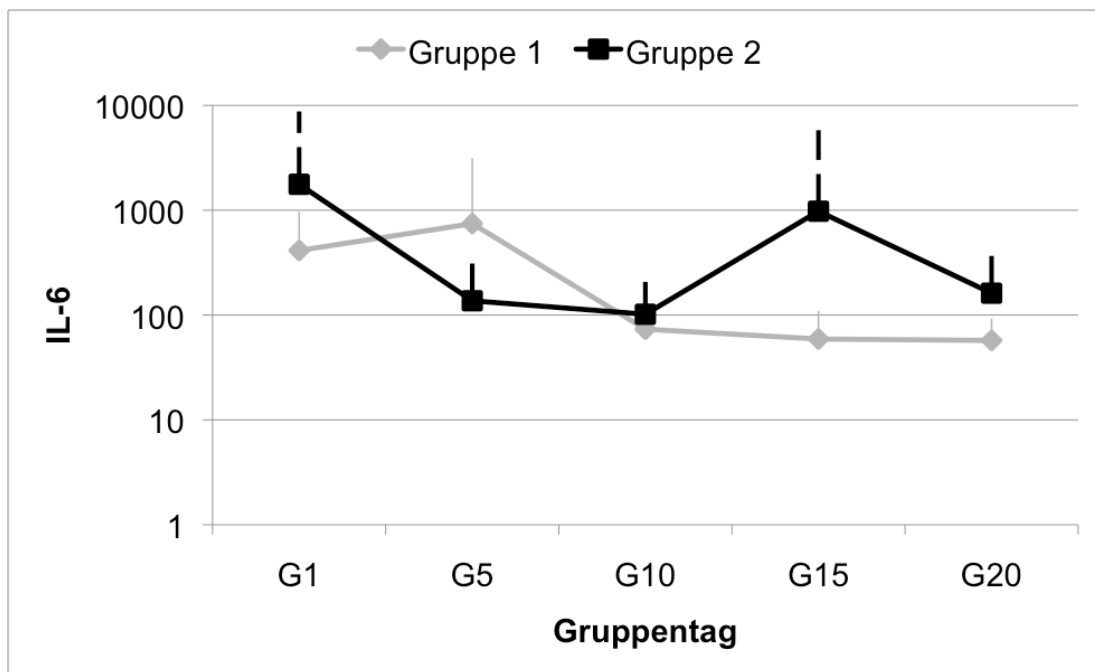


Abbildung 19: IL-6 (ng / l) bei septischen vs. Nicht-septischen Patienten (Mittelwert + SD) (IL-6 = Interleukin-6)

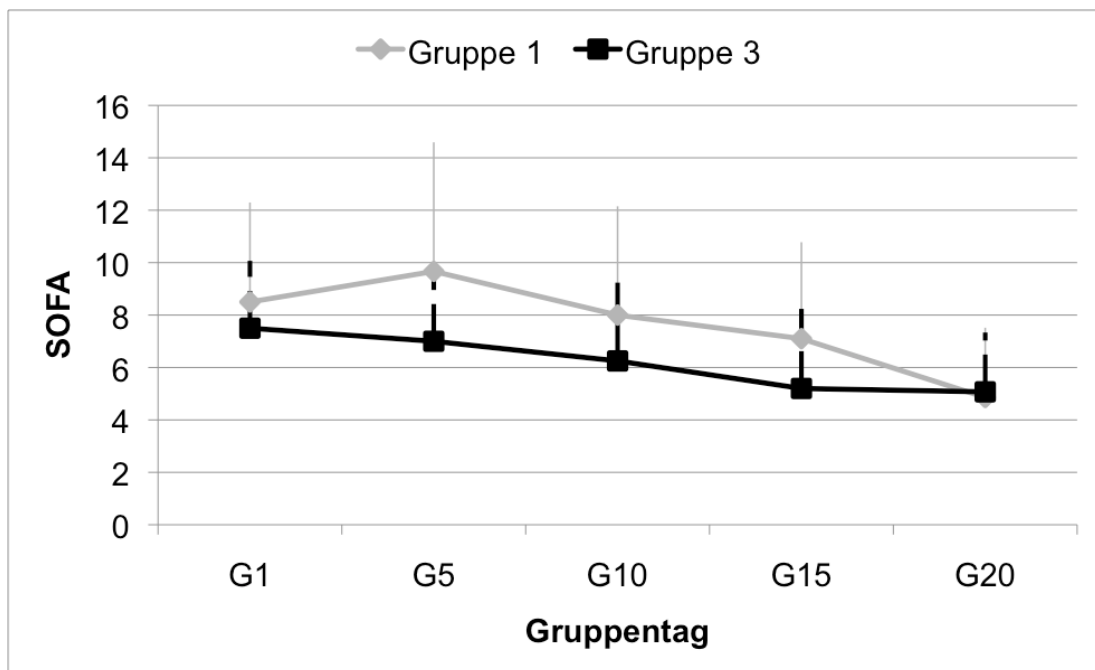


Abbildung 20: SOFA-Scorewerte bei septischen vs. Nicht-septischen Patienten (Mediane + Range) (SOFA = Sequential organ failure assessment)

Für die weitere Auswertung wurden AUC-Werte (AUC = Area under the curve) für die einzelnen Gruppentage bestimmt, die sich aus der Konstruktion von ROC-Kurven (ROC = Receiver-Operating-Characteristics) für die einzelnen Tage ergeben. Sie bilden die Spezifität und Sensitivität eines diagnostischen Tests ab und stellen somit visuell die Abhängigkeit der Effizienz mit der Fehlerrate für verschiedene Parameter dar. AUC-Werte ergeben sich aus der Fläche unterhalb der ROC-Kurve. Dabei ergeben sich Werte zwischen 0,5 bis 1. Werte nahe der Diagonalen einer ROC-Kurve bedeuten eine gleiche Trefferquote und falsch-positive Quote. In der vorliegenden Studie gelten Werte $>0,7$ als statistisch signifikant.

Zunächst erfolgte erneut die Bestimmung der ROC-Kurven für den ersten Messtag und später für die Gruppentage.

Die folgende Abbildung zeigt die ROC-Kurven an Messtag 1:

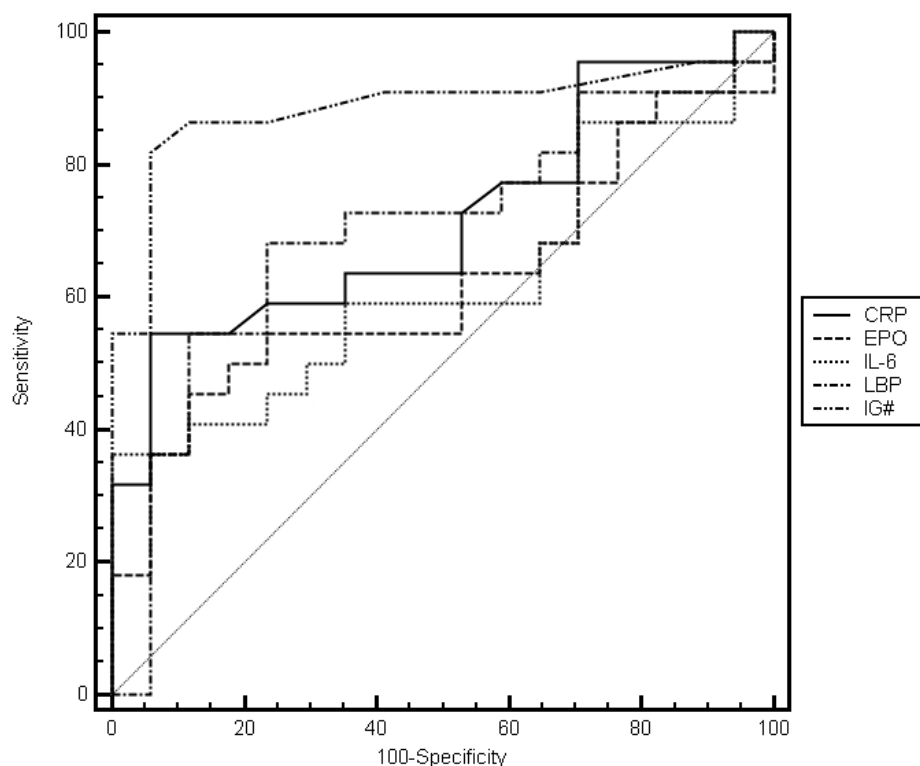


Abbildung 21: ROC-Kurven von Tag 1 (CRP = C-reaktives Protein, IG = Immature Granulocytes, IL-6 = Interleukin-6, LBP = Lipopolysaccharid-bindendes Protein)

Dabei wird schon an Messtag 1 deutlich, dass die unreifzelligen Granulozyten das beste Verhältnis von Sensitivität und Spezifität der erhobenen Parameter haben.

Interessant ist auch hier wieder der Vergleich im zeitlichen Verlauf. Es wurden die AUC-Werte aller Patienten zunächst im Bezug auf die Intensivmortalität berechnet. So sollte untersucht werden, ob die Parameter eine Aussage über die Überlebenswahrscheinlichkeit der Patienten erlauben können.

Tabelle 13: AUC-Werte aller Patienten in Bezug auf die Intensivmortalität

Gruppentag	IG-Anzahl	CRP	LBP	IL-6	SOFA
1	0,522	0,597	0,568	0,688	0,67
5	0,596	0,56	0,512	0,687	0,786
10	0,569	0,638	0,598	0,575	0,786
15	0,617	0,708	0,527	0,592	0,73
20	0,682	0,502	0,528	0,675	0,713

CRP = C-reaktives Protein, IG = Immature Granulocytes, IL-6 = Interleukin-6, LBP = Lipopolysaccharid-bindendes Protein, SOFA = Sequential Organ Failure Assessment Score

Hier ist ersichtlich, dass der SOFA-Score (AUC >0,7) lediglich an den Gruppentagen 5 bis 20 signifikant zwischen überlebenden und verstorbenen Patienten trennt. Alle weiteren Infektionsparameter sind in dieser Studie prognostisch nicht relevant.

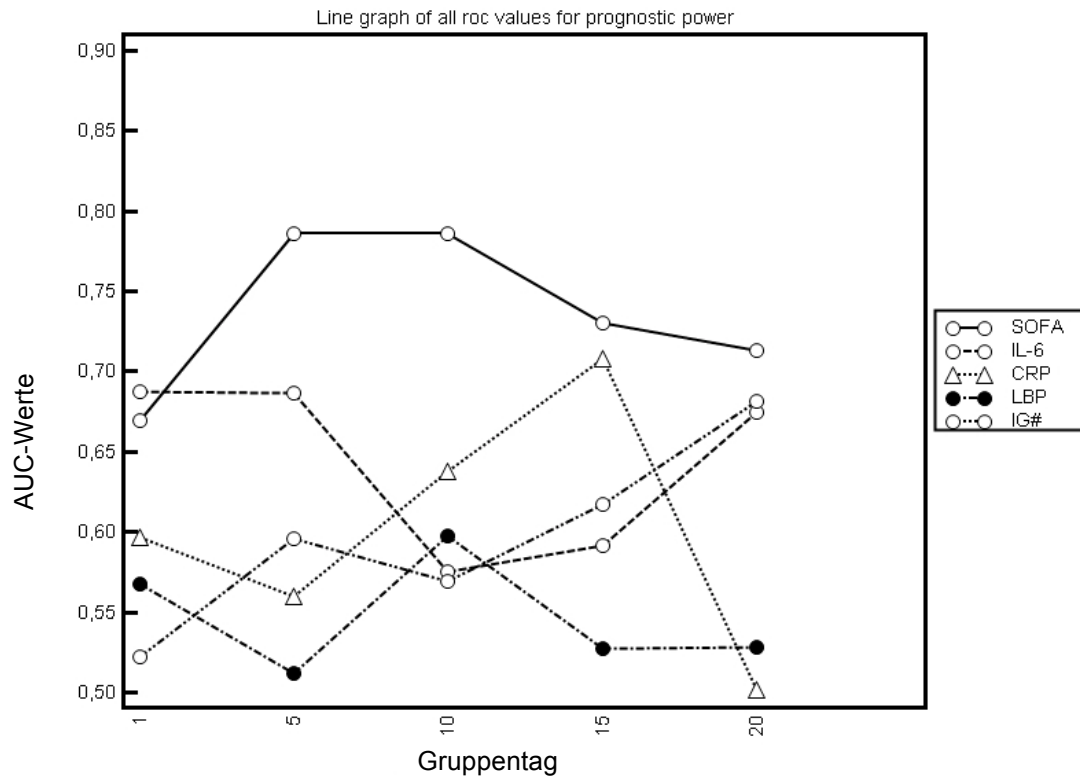


Abbildung 22: AUC-Werte der Sepsisparameter in Bezug auf die Mortalität im Vergleich (CRP = C-reaktives Protein, IL-6 = Interleukin 6, IG = Immature Granulocytes, LBP = Lipopolysaccharid-bindendes Protein, SOFA = Sequential Organ Failure Assessment Score)

Auch in Bezug auf Infektion/Sepsis wurden die AUC-Werte bestimmt.

Tabelle 14: AUC-Werte aller Patienten in Bezug auf die Infektion

Gruppentag	IG-Anzahl	CRP	LBP	IL-6	SOFA
1	0,801	0,601	0,636	0,629	0,623
5	0,758	0,684	0,509	0,577	0,495
10	0,578	0,651	0,595	0,551	0,529
15	0,557	0,726	0,584	0,57	0,539
20	0,538	0,775	0,824	0,688	0,535

CRP = C-reaktives Protein, IG = Immature Granulocytes, IL-6 = Interleukin-6, LBP = Lipopolysaccharid-bindendes Protein, SOFA = Sequential Organ Failure Assessment Score

Dabei bestätigt sich erneut eine hohe Sensitivität und Spezifität der Anzahl der unreifzelligen Granulozyten an den Gruppentagen 1 und 5. Diese Berechnung macht deutlich, dass die unreifzelligen Granulozyten an den ersten

beiden Gruppentagen signifikant zwischen septischen und nicht septischen Patienten trennen.

Die weiteren untersuchten Parameter ergeben beim C-reaktiven Protein an den letzten beiden Gruppentagen einen signifikanten Unterschied, bei LBP lediglich am Gruppentag 20. Graphisch stellt sich dies wie folgt dar:

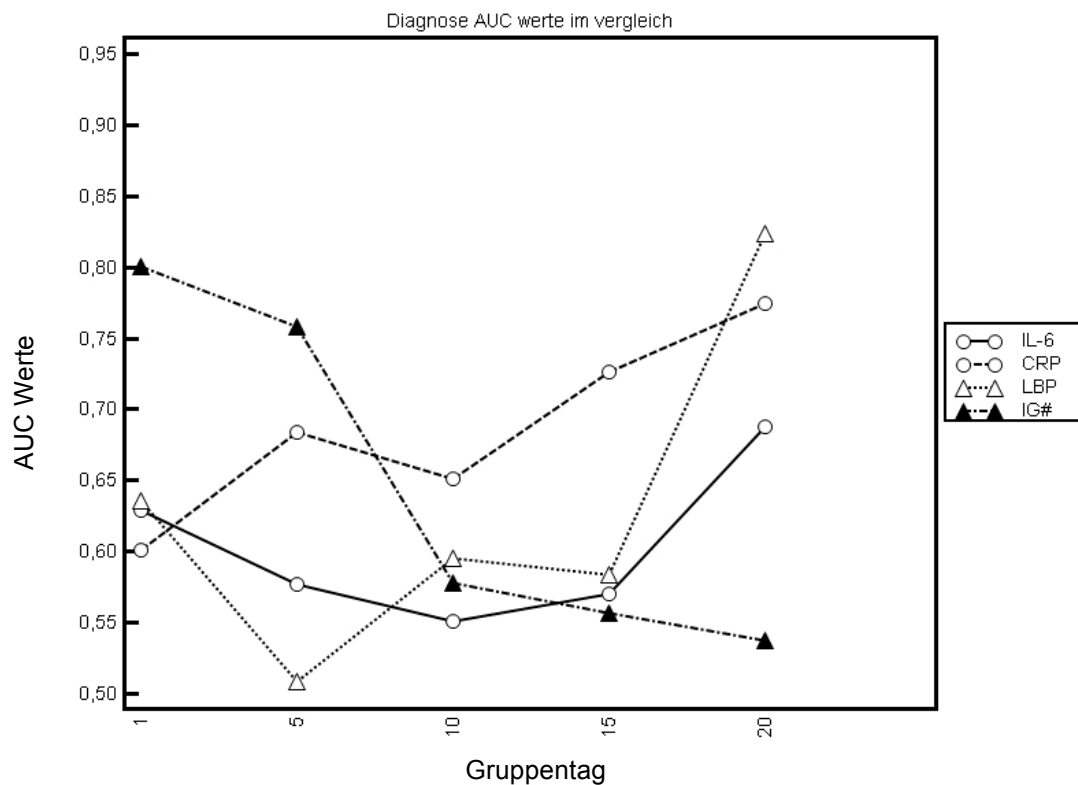


Abbildung 23: AUC-Werte der Sepsisparameter in Bezug auf die Infektion im Vergleich (CRP = C-reaktives Protein, IL-6 = Interleukin 6, IG = Immature Granulocytes, LBP = Lipopolysaccharid-bindendes Protein, SOFA = Sequential organ failure assessment)

5 Diskussion

5.1 Kernaussage

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen einen deutlichen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von unreifzelligen Granulozyten und einem septischen Krankheitsbild in den ersten Tagen der Erkrankung. Die septischen und die nicht septischen Patienten lassen sich anhand der IG-Werte in den ersten fünf Tagen des Intensivaufenthalts signifikant unterscheiden. Bezüglich der Sterbewahrscheinlichkeit lassen sich jedoch keine eindeutigen Aussagen machen.

5.2 Methodenkritik

Klinische Studien im Rahmen der Intensivmedizin basieren meist auf einem sehr heterogenen Patientenkollektiv. Zudem müssen sich die meisten Untersuchungen auf eine zahlenmäßig kleine Patientengruppe stützen, da bei einem größeren Patientenkollektiv die Studiendauer oft zu lang ist [90]. Aus diesem Grund werden multizentrische Studien angestrebt, bei denen in kürzerer Zeit ein großes Patientenkollektiv untersucht werden kann. Die Patienten können dann in verschiedene Gruppen eingeteilt werden. Dabei ist es jedoch möglich, dass die einzelnen Zentren auf Grund ihrer Ausstattung, diagnostischen Möglichkeiten und Behandlungskonzepte unterschiedliche Ergebnisse für gleiche Erkrankungen erzielen [91]. Monozentrische Studien haben dagegen für sinnvolle Subgruppenanalysen oft zu kleine Fallzahlen, wenngleich die therapeutischen und diagnostischen Konzepte übereinstimmen.

Bei der vorliegenden Studie wurde eine relativ kleine Gruppe von Patienten in einer akzeptablen Zeitspanne untersucht. Die Patienten wurden in drei Gruppen eingeteilt. Dabei wurden die Patienten nach den Kriterien der Sepsis [8-10] eindeutig den Gruppen Sepsis und Non-Sepsis zugeteilt. 12 Patienten waren diesen Gruppen jedoch nicht zuteilbar. Bei Aufnahme in die

Studie erfüllten sie nicht die Kriterien der Sepsis und galten somit zunächst als nicht septisch. Im Verlauf des Aufenthalts kam es dann an unterschiedlichen Tagen zu einem septischen Krankheitsbild mit nachgewiesener Infektion. Die Patienten erfüllten somit nicht mehr die Kriterien für die Gruppe Non-Sepsis.

Der Gruppe Sepsis zugeteilt wurden Patienten mit nachgewiesener Infektion und/oder positiven Blutkulturen. Das bedeutet im Umkehrschluss auch, dass potentiell infektiöse Patienten mit falsch negativen Blutkulturen der nicht-septischen Gruppe zugeordnet wurden.

Eine ähnliche Einteilung der Patienten ist zuvor schon in anderen Studien erfolgt [34, 40, 48-50]. Die Gruppe von Castelli et al. [50] teilte die Patienten nach den ACCP/SCCM Kriterien in vier Gruppen ein: Sepsis, SIRS, No-SIRS und Trauma. Eine nahezu identische Einteilung erfolgte von der Arbeitsgruppe um Brunkhorst et al. [49], ebenso von Lavrentieva et al. [92].

Der Einfluss von Infektion, Entzündung und Organdysfunktion auf Sepsis-Marker wurde schon in anderen Studien, zum Beispiel in Bezug auf Procalcitonin, untersucht [93]. Aus diesem Grund wurde auch in dieser Studie eine Gruppeneinteilung der Patienten gewählt. Allerdings ist lediglich ein Infektionsnachweis für die Zuteilung entscheidend gewesen. Eine weitere Differenzierung in unterschiedliche Erregergruppen ist für zukünftige Studien sinnvoll. Dafür sind jedoch größere Fallzahlen vonnöten.

Als Einschlusskriterium für diese Studie galten neben einem bestimmten Altersrahmen auch eine Mindestaufenthaltsdauer von 72 Stunden sowie die Abwesenheit von malignen Erkrankungen oder Erkrankungen des Immunsystems. Im Gegensatz zu einigen Untersuchungen an speziellen Kollektiven, z.B. bei Nigro et al. an Frühgeborenen [33], wird in der vorliegenden Untersuchung die Aussagekraft von unreifen Granulozyten an einem breiten Spektrum von operativen Intensivpatienten untersucht. Die deutlichen Ergebnisse bei Trennung von septischen und nicht-septischen Patienten zeigen, dass der Parameter seine Aussagekraft nicht nur bei speziellen Untergruppen von Intensivpatienten besitzt, sondern auch bei Patienten mit verschiedenen Aufnahme Diagnosen und unterschiedlicher Erkrankungsschwere.

Die von uns verwendete Messmethodik orientiert sich an den Vorgaben von Nigro et al. [33] und vor allem an Ansari-Lari et al. [2]. Neben dieser sind ver-

schiedene andere Messmethoden zur Bestimmung von unreifzelligen Granulozyten gebräuchlich, jedoch hat sich bisher keine Methode durchgesetzt.

Man unterscheidet zunächst zwischen manueller und maschineller Analyse. Eine manuelle Bestimmung ist arbeitsintensiv, zeitraubend und teuer, insbesondere braucht es gut geschultes Personal. Die manuelle Bestimmung hat außerdem folgende Nachteile:

- Die statistische Genauigkeit der Zählung ist gering (in der Regel werden 100 Zellen ausgezählt).
- Die Zahl der stabkernigen Granulozyten variiert durch subjektive Bewertung.
- Die ungleichmäßige Zellverteilung bei manuellen Blutaussstrichen besonders bei hohem und niedrigem Hämatokrit.

Vorteil einer maschinellen Bestimmung ist ein schnelles, vollautomatisiertes und routinetaugliches Messverfahren. Die Parameter können bei unserer Messmethode aus 150 Proben pro Stunde ohne aufwendige Präanalytik mit geringer Variabilität bestimmt werden, da Trennung und Einteilung der Zellen nach immer gleichen Algorithmen erfolgen. In einer Studie von Weiland et al. [30] erwies sich die maschinelle Auszählung gleichwertig, es zeigte sich keine Differenz zu der manuellen Auszählung. Auch weitere Studien haben diese Ergebnisse bestätigt [51-54, 94]. Kritisch anzumerken ist bei unserer Studie, dass eine Blutbilduntersuchung nur an Werktagen erfolgte.

Um dennoch eine zeitliche Datenkohärenz zu erreichen, wurden für die statistische Analyse Mittelwerte gebildet, so dass „Gruppentage“ entstanden sind.

- Gruppentag 1: $(\text{Messtag 1 und 2}) / 2$
- Gruppentag 5: $(\text{Messtag 3+4+5}) / 3$
- Gruppentag 10: $(\text{Messtag 6+7+8+9}) / 4$
- Gruppentag 15: $(\text{Messtag 10+11+12+13+14}) / 5$
- Gruppentag 20: $(\text{Messtag 15+16+17+18+19+20+21}) / 7$

Die Genauigkeit (Präzision) reduziert sich entsprechend dem Standardfehler des für die Gruppentage gebildeten Mittelwertes.

5.3 Diskussion der Ergebnisse im Einzelnen

Betrachtet man die Ergebnisse der vorliegenden Studie im Einzelnen lässt sich folgendes feststellen:

Das Patientenkollektiv ist in seiner Zusammensetzung bezüglich Alter, Grunderkrankung und Erkrankungsschwere repräsentativ für das Patientenkollektiv einer operativen Intensivstation eines Zentrums der Maximalversorgung [95]. In der statistischen Analyse des Gesamtkollektivs lagen die 28-Tage-Mortalität, die Intensivmortalität und die Krankenhausmortalität sehr nah beieinander. Da dies eine intensivmedizinische Studie ist, wurde die Intensivstationsmortalität als primärer Outcome-Parameter gewählt. Dies hat sich auch in der Sepsisforschung durchgesetzt [46, 49, 69, 96]. Zudem liegt die Intensivstationsmortalität der Studie mit 27,1% in demselben Bereich der schon zuvor durchgeführten Studien und entspricht somit der eines repräsentativen Patientenkollektivs. Der einzige signifikante Unterschied bei der Betrachtung aller Patienten ergibt sich bei dem Outcome Score SAPS II in Bezug auf die Mortalität. Hier haben die verstorbenen Patienten mit einem Median von 47 verglichen mit der Gruppe der Überlebenden (Median 35) erwartungsgemäß deutlich höhere Werte ($p=0,007$). Die Mediane des Gesamtkollektivs zeigen zudem eine Übereinstimmung zwischen der erwarteten und tatsächlichen Mortalität.

Bei der Untersuchung der SAPS II Werte der einzelnen Gruppen zeigt sich der SAPS II im Bezug auf die Sepsis-Gruppe bei der Mortalitätsverteilung signifikant unterschiedlich nicht jedoch bei der Non-Sepsis-Gruppe.

Auch die Gruppen wurden bezüglich Alter, SAPS II und Length of stay in Hinsicht auf die Mortalität untersucht. Dabei ist die Sterblichkeit in den Gruppen sehr ähnlich (Gruppe 1: 32%, Gruppe 2: 25%, Gruppe 3: 36%). Auch hier entspricht der prozentuale Anteil den Ergebnissen anderer Studien [49, 96].

Die Diagnosenverteilung der einzelnen Gruppen entspricht dem Erwarteten. Die Gruppe 1 besteht aus nicht-septischen Patienten und hat somit einen hohen Anteil an Traumapatienten (53%). Ebenso hat die Gruppe 2 einen hohen Anteil an Traumapatienten (58%), wobei die Patienten dieser Gruppe im

Verlauf eine Sepsis entwickeln und zunächst wie die Gruppe 1 gesehen werden müssen. Lediglich die Gruppe 3 hat nur einen Anteil von 13% traumatischer Diagnosen, dafür aber 54% Diagnosen entzündlicher Genese. In den Studien, in denen ebenso mit einer Gruppeneinteilung gearbeitet wurde, ist die Verteilung der Diagnosen ähnlich [50, 81].

Nach der Untersuchung des Gesamtkollektivs und der einzelnen Gruppen folgte die statistische Analyse der Marker. Der Anstieg der Leukozytenzahl und die Linksverschiebung im Differentialblutbild sind klassische Zeichen einer systemischen Entzündung. Dennoch besitzen diese Parameter keine Spezifität bezüglich einer Infektion oder der Prognose der Patienten. Daher wurde in dieser Studie, basierend auf einer Studie von Ansari-Lari et al. [2], das Auftreten unreifzelliger Granulozyten untersucht und mit bekannten Sepsismarkern verglichen.

Mit Hilfe des „Sysmex XE-2100 Automated Hematology Analyzers“, einem automatisierten Durchflusszytometer, wurden die unreifzelligen Granulozyten standardisiert bei den 70 Patienten bestimmt. Der Nachweis von unreifzelligen Granulozyten im peripheren Blut weist auf eine Aktivierung des Knochenmarks hin. Bisher war der Nachweis von Blasten vor allem in der Diagnostik der Leukämie von entscheidender Bedeutung, aber auch bei einer systemischen inflammatorischen Aktivierung kommt es zu einem Anstieg von Blasten im peripheren Blut. Der Nachweis unreifzelliger Granulozyten erfolgte normalerweise mikroskopisch. Die Arbeitsgruppe von Weiland et al. stellte 2002 fest, dass der Nachweis von unreifzelligen Granulozyten mittels Durchflusszytometer exzellent funktioniert [30]. Die Vorteile dieser Methode liegen in ihrer Objektivität, der Zeit- und Kostenersparnis, sowie der hohen Spezifität und Sensitivität [97-99]. Die Zellen, die unter dem Gesamtbegriff „unreifzellige Granulozyten“ zusammengefasst sind, sind Promyelozyten, Myelozyten und Metamyelozyten. Die Arbeitsgruppe von Bruegel et al. [36] konnte 2004 Referenzwerte erarbeiten. Dabei haben sich für Frauen und Männer ähnliche Referenzwerte ergeben: die 5. Perzentile ist null, die 95. Perzentile ist $0,03 \times 10^9/L$. Für den IG-Anteil in Prozent ergibt somit die 5. Perzentile 0% und die 95. Perzentile 0,5% für Männer und 0,4% für Frauen.

Für die vorliegende Studie gelten nach diesen Daten die oben genannten Referenzwerte.

Zunächst erfolgte in dieser Studie eine Analyse der im klinischen Alltag verwendeten Sepsisparameter (IL-6, CRP, Leukozyten) im Vergleich zu unreifen Granulozyten am ersten Messtag, wobei sich keine gesicherte Aussage hinsichtlich des Überlebens machen ließ. Allerdings konnte anhand der Anzahl an unreifzelligen Granulozyten die Infektion des jeweiligen Patienten erkannt werden ($p=0,002$). Somit war in diesem Patientenkollektiv eine klare Trennung zwischen septischen und nicht septischen Patienten anhand des IG-Wertes möglich. Eine Signifikanz bezüglich einer Infektion mit dem Auftreten von unreifzelligen Granulozyten hatten schon Di Mario et al. in ihrer Studie festgestellt [35] und auch Nahm et al. konnten in ihrer Studie einen Zusammenhang zwischen IG und dem Schweregrad der Sepsis nachweisen [3]. Im Vergleich dazu zeigen lediglich die LBP-Werte signifikante ($p=0,024$) Unterschiede in Bezug auf die Differenzierung septischer von nicht-septischen Patienten. Dies konnte jedoch von anderen Gruppen nicht bestätigt werden [69].

In der klinischen Diagnostik möchte man allerdings zusätzlich den Verlauf des dynamischen septischen Krankheitsbildes beurteilen können. Daher erfolgte in der weiteren Untersuchung die Messung und Analyse der Werte im zeitlichen Verlauf.

Auch hier wurde zunächst der Zusammenhang der einzelnen Werte mit dem Überleben untersucht. Wie erwartet ergibt sich aus dem SOFA-Score während des gesamten Aufenthalts eine eindeutige Trennung zwischen überlebenden und verstorbenen Patienten. Bei den anderen Sepsis-Parametern ist bei Interleukin-6 an den Messtagen 1, 2 und 5 eine eindeutige Trennung gegeben. In der Literatur ist Interleukin-6 vor allem als Marker bekannt, der deutlich früher und sensitiver als das C-reaktive Protein [58, 59] eine Inflammation anzeigt. Ein klarer Zusammenhang mit der Mortalität ist in der Studie von Patel et al. [60] gezeigt worden. Auch Wakefield et al. konnten in einer Studie eine Korrelation der IL-6-Plasmakonzentration mit dem Schweregrad und der Prognose von Patienten nachweisen [61].

Bei der Analyse der weiteren Parameter zeigten sich keine Zusammenhänge zwischen der Plasmakonzentrationen von CRP, IL-6, LBP und der Mortalität sowie der Infektionsrate.

Das Akute-Phase-Protein CRP wird häufig im klinischen Alltag zur Verlaufsbeurteilung einer Infektion genutzt. Die Sekretion von CRP startet vier bis sechs Stunden nach der Stimulation und erreicht das Maximum nach 36 Stunden [92]. CRP ist dabei noch älteren Markern wie Körpertemperatur und Leukozytenzahl mit einer Sensitivität von 98,5% und einer Spezifität von 75% überlegen, jedoch ist eine Diskriminierung zwischen SIRS und Sepsis nicht möglich [71, 72, 100]. Der Nachweis von CRP ist günstig und leicht auszuführen (meist automatisch). Allerdings zeigt sich in mehreren Studien [27, 39], dass CRP keine Aussage über die Prognose erlaubt, zudem ist keine Trennung zwischen bakterieller und viraler Genese der Sepsis möglich. Zuletzt wurde dies 2009 von der Arbeitsgruppe um Silvestre erneut bestätigt [96]. Dies bestätigt sich auch in der vorliegenden Studie: Bei unserem Patientenkollektiv lässt sich mit Hilfe des CRP keine Aussage über die Mortalität treffen. Zwischen septischen und nicht-septischen Patienten zeigt sich erst am zweiten Gruppentag mit einem $p=0,015$ eine signifikante Trennung, die aber nicht über den gesamten Aufenthalt konstant bleibt. Ähnlich verhält es sich mit dem Lipopolysaccharid-bindenden Protein. Sakr et al. [69] konnten bereits 2008 zeigen, dass das Lipopolysaccharid-bindende Protein nicht zwischen schwerer Sepsis und Sepsis ohne Organdysfunktion differenzieren kann. Eine Trennung zwischen gram-positiver und gram-negativer Sepsis war nicht möglich. Diese Ergebnisse konnten auch in unserer Studie bestätigt werden.

Die Auswertung der Scoresysteme ergab für den Outcome Score SAPS II die erwartete deutliche Trennung zwischen Überlebenden und Verstorbenen. Die Höhe der Mittelwerte des Gesamtkollektivs ergibt zudem eine Übereinstimmung zwischen der erwarteten und der tatsächlichen Mortalität. Bei der Untersuchung der SAPS II Werte der einzelnen Gruppen ist der SAPS II der Sepsis-Gruppe bei der Mortalitätsverteilung signifikant, nicht jedoch bei der Non-Sepsis-Gruppe.

Der Verlaufsscore SOFA verdeutlicht über den gesamten Zeitraum die signifikante Trennung in Bezug auf die Mortalität, jedoch nicht die Trennung zwi-

schen septischen und nicht-septischen Patienten. Die Scoresysteme wurden dazu entwickelt, den Schweregrade der Erkrankung sowie den Verlauf und Therapieerfolg zu objektivieren. Dabei ist jedoch anzumerken, dass aktuell therapeutische Interventionen, wie z.B. die therapeutische Dialyse, nicht mit entsprechenden Punktwerten in die Scores eingreifen. Die Aussagekraft von Scores bezüglich der Mortalität könnte in Zukunft durch die Einbeziehung der Aufnahmediagnose oder therapeutischer Interventionen verbessert werden [101, 102]. Zudem ist entscheidend, dass die von einem Score erbrachte Risikoabschätzung eine statistische Wahrscheinlichkeit und keine individuelle Prognose anzeigt [83].

Um die unterschiedlichen Sepsis-Parameter auch untereinander in Relation setzen zu können, wurden ROC-Kurven errechnet. Receiver-Operating-Characteristics (ROC) geben einen Überblick über Sensitivität und Spezifität eines diagnostischen Tests / Laborwerts. Der diagnostische Test weist eine Trennschärfe auf, wenn sich die Kurve signifikant von der Diagonalen (links unten - rechts oben) unterscheidet. Im Idealfall (100%ige Trennschärfe) liegt die Kurve auf der linken bzw. oberen Begrenzungs-Seite des umschließenden Quadrates.

Ein Maß für die Güte des Tests ist die Fläche unter der ROC-Kurve (AUC: Area Under Curve). Die Fläche kann Werte zwischen 0,5 und 1 annehmen, wobei ein höherer Wert für höhere Sensitivität und Spezifität steht. In unserer Studie galt ein Wert $>0,7$ als aussagekräftig.

Auch hier wurde vor allem die Analyse über die Zeit durchgeführt. Zunächst wurden IG, CRP, LBP, IL-6 und SOFA aller Patienten an den Gruppentage bezüglich der Intensivmortalität berechnet. Dabei ergaben sich vor allem bei dem SOFA-Score an fast allen Gruppentagen AUC-Werte $>0,7$. Somit bestätigt sich erneut, dass der SOFA-Score ein valider Wert zur Prognosebeurteilung ist. Nach demselben Verfahren erfolgte dann die Berechnung der AUC-Werte in Bezug auf die Infektion. Die unreifzelligen Granulozyten an Gruppentag 1 und 2 sowie das CRP an den Gruppentagen 15 und 20 waren hier mit $>0,7$ aussagekräftig.

6 Zusammenfassung und Ausblick

Septische Komplikationen und systemische Inflammation sind bedeutende Faktoren für Morbidität und Mortalität bei kritisch kranken Patienten auf der Intensivstation.

Trotz großer Fortschritte bei der Therapie gestörter Vital- und Organfunktionen sind bisher alle Ansätze zur frühzeitigen Diagnosesicherung der Sepsis durch die aktuell etablierten Parameter gescheitert.

Das Auftreten von unreifzelligen Granulozyten (Immature Granulocytes, IG), die mittels eines neuartigen, automatisierten Hämatologieanalysators (Sysmex XE-2100, Kobe, Japan®) nachgewiesen werden können, konnte bei einem neonatologischen Patientenkollektiv bereits mit der Mortalität bei Neugeborenensepsis in Verbindung gebracht werden. In einigen Untersuchungen bei erwachsenen Intensivpatienten mit schwerer Sepsis waren ebenfalls eine erhöhte Mortalität und Erkrankungsschwere nachzuweisen. Ziel dieser Studie war es, die prognostische Wertigkeit des Nachweises von unreifen Granulozyten bei Patienten auf einer Intensivstation mit allgemeinchirurgischen und traumatologischen Patienten zu untersuchen. Es konnte dabei belegt werden, dass ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von unreifen Granulozyten und der Sepsis besteht. Eine prognostische Aussage bzgl. der Sterbewahrscheinlichkeit kann jedoch mit diesem Parameter nicht getroffen werden.

Die vorliegenden Daten lassen demnach den Schluss zu, dass ein vermehrtes Anfallen von unreifzelligen Granulozyten auf ein septisches Krankheitsbild hinweist. In Kombination mit anderen Parametern könnte eine Aufnahme der unreifen Granulozyten in die klinische Laborroutine zur effizienteren Diagnosesicherung hilfreich sein.

Es bedarf jedoch weiterer Untersuchungen an größeren Patientenkollektiven, um abschließend zu klären, ob die IG-Bestimmung die herkömmliche Sepsisdiagnostik entscheidend ergänzen kann.

7 Anhang

7.1 Erhebungsbogen des SAPS II

Variable	Punkte												
	0	1	2	3	4	5	6	7	9	10	11	12	13
Herz-Frequenz (1/min)	70 - 119		40 - 69		120 - 159			≥160			<40		
Syst. Blutdruck (mmHg)	100 - 199		≥200			70 - 99							<70
Temperatur (°C)	<39			≥39									
PaO ₂ /FiO ₂ (mmHg) *							≥200		100 - <200		<100		
Urin (l/d)	≥1				0,5 - <1						<0,5		
Harnstoff (g/l)	<0,6						0,6 - <1,8			≥1,8			
Leukozyten (10 ³ /mm ³)	1 - <20			≥20								<1	
Kalium (mmol/l)	3 - <5			≥5 <3									
Natrium (mmol/l)	125 - <145	≥145				<125							
Bicarbonat (mmol/l)	≥20			15 - <20			<15						
Bilirubin (μmol/l)	<68,4				68,4 - <102,6				≥102,6				

* Erhebung nur im Falle der maschinellen Beatmung

Variablen	Punkte					
	0	6	8	9	10	17
chronische Leiden				Metastasierende Neoplasie	hämatologische Neoplasie	AIDS
Aufnahmestatus	geplant chirurgisch	medizinisch	nicht-geplant chirurgisch			

Variablen	Punkte								
	0	5	7	12	13	15	16	18	26
Alter des Patienten	<40		40 - 59	60 - 69		70 - 74	75 - 79	≥ 80	

Leistung	Punkte pro Tag
Apparative Beatmung	5
Infusion multipler Katecholamine (>1)	4
Flüssigkeitsersatz in hohen Mengen (>5l/24h)	4
Peripherer arterieller Katheter	5
Linksvorhof-Katheter	8
Hämofiltration / Dialyse	3
Intrakranielle Druckmessung	4
Behandlung einer metabol. Azidose / Alkalose	4
Spezielle Intervention auf ITS	5
Aktionen außerhalb der Station	5

7.2 Erhebung des SOFA-Score

Organ	Parameter	1 Punkt	2 Punkte	3 Punkte	4 Punkte
Lunge	PaO ₂ /FiO ₂ (mmHg)	<400	<300	<200 mit Beatmung	<100 mit Beatmung
Niere	Kreatinin (mg/dl) oder Ausfuhrmenge (ml/Tag)	1,2 - 1,9	2,0 - 3,4	3,5 - 4,9 <500	>5,0 <200
Leber	Bilirubin (mg/dl)	1,2 - 1,9	2,0 - 5,9	6,0 - 11,9	>12
Herz/ Kreislauf	Blutdruck (mmHg) oder Katecholamine	MAP <70	Katechol. Niedrig	Katechol. Mittel	Katechol. Hoch
Blut	Thrombozyten 1000/mm ³	<150	<100	<50	<20
ZNS	Glasgow Coma Scale	14 - 13	12 - 10	9 - 6	<6

7.3 Die Glasgow Coma Scale

Punkte	Augen öffnen	Verbale Reaktion	Motorische Reaktion
6	-	-	befolgt Aufforderungen
5	-	kommunikationsfähig, orientiert	gezielte Schmerzabwehr
4	spontan	kommunikationsfähig, desorientiert	ungezielte Schmerzabwehr
3	auf Aufforderung	unzusammenhängende Worte	auf Schmerzreiz Beugeabwehr
2	auf Schmerzreiz	unverständliche Laute	auf Schmerzreiz Streck-synergismen
1	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion

8 Literaturverzeichnis

1. Alberti, C., et al., *Influence of systemic inflammatory response syndrome and sepsis on outcome of critically ill infected patients*. Am J Respir Crit Care Med, 2003. **168**(1): p. 77-84.
2. Ansari-Lari, M.A., T.S. Kickler, and M.J. Borowitz, *Immature granulocyte measurement using the Sysmex XE-2100. Relationship to infection and sepsis*. Am J Clin Pathol, 2003. **120**(5): p. 795-9.
3. Nahm, C.H., J.W. Choi, and J. Lee, *Delta neutrophil index in automated immature granulocyte counts for assessing disease severity of patients with sepsis*. Ann Clin Lab Sci, 2008. **38**(3): p. 241-6.
4. Schottmüller, H. and Bingold, *Die septische Erkrankung*. Handbuch der Inneren Medizin. **22. Auflage**(Bd.1, 2. Teil): p. 776ff.
5. Schottmüller, H., *Über Wesen und Therapie der Sepsis*. Verhandlung D. Kongress f. Inner. Medizin, Wiesbaden, 1914.
6. Schottmüller, H., *Das Problem der Sepsis*. Festschrift des Eppendorfer Krankenhauses zur Feier seines 25jährigen Bestehens, Leipzig-Hamburg, 1914: p. 149ff.
7. Bone, R.C., et al., *Sepsis syndrome: a valid clinical entity. Methylprednisolone Severe Sepsis Study Group*. Crit Care Med, 1989. **17**(5): p. 389-93.
8. *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*. Crit Care Med, 1992. **20**(6): p. 864-74.
9. Bone, R.C., W.J. Sibbald, and C.L. Sprung, *The ACCP-SCCM consensus conference on sepsis and organ failure*. Chest, 1992. **101**(6): p. 1481-3.
10. Levy, M.M., et al., *2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference*. Crit Care Med, 2003. **31**(4): p. 1250-6.
11. Martin, G.S., et al., *The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000*. N Engl J Med, 2003. **348**(16): p. 1546-54.

12. Alberti, C., et al., *Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study*. Intensive Care Med, 2002. **28**(2): p. 108-21.
13. Brun-Buisson, C., F. Doyon, and J. Carlet, *Bacteremia and severe sepsis in adults: a multicenter prospective survey in ICUs and wards of 24 hospitals. French Bacteremia-Sepsis Study Group*. Am J Respir Crit Care Med, 1996. **154**(3 Pt 1): p. 617-24.
14. Martin, G.S., D.M. Mannino, and M. Moss, *The effect of age on the development and outcome of adult sepsis*. Crit Care Med, 2006. **34**(1): p. 15-21.
15. Hirschtick, R.E., et al., *Bacterial pneumonia in persons infected with the human immunodeficiency virus. Pulmonary Complications of HIV Infection Study Group*. N Engl J Med, 1995. **333**(13): p. 845-51.
16. Williams, M.D., et al., *Hospitalized cancer patients with severe sepsis: analysis of incidence, mortality, and associated costs of care*. Crit Care, 2004. **8**(5): p. R291-8.
17. Foreman, M.G., D.M. Mannino, and M. Moss, *Cirrhosis as a risk factor for sepsis and death: analysis of the National Hospital Discharge Survey*. Chest, 2003. **124**(3): p. 1016-20.
18. O'Brien, J.M., Jr., et al., *Alcohol dependence is independently associated with sepsis, septic shock, and hospital mortality among adult intensive care unit patients*. Crit Care Med, 2007. **35**(2): p. 345-50.
19. Collignon, P.J., *Intravascular catheter associated sepsis: a common problem. The Australian Study on Intravascular Catheter Associated Sepsis*. Med J Aust, 1994. **161**(6): p. 374-8.
20. Taylor, R.W., et al., *Impact of allogenic packed red blood cell transfusion on nosocomial infection rates in the critically ill patient*. Crit Care Med, 2002. **30**(10): p. 2249-54.
21. Cohen, J., *The immunopathogenesis of sepsis*. Nature, 2002. **420**(6917): p. 885-91.
22. Hotchkiss, R.S. and I.E. Karl, *The pathophysiology and treatment of sepsis*. N Engl J Med, 2003. **348**(2): p. 138-50.
23. Landry, D.W. and J.A. Oliver, *The pathogenesis of vasodilatory shock*. N Engl J Med, 2001. **345**(8): p. 588-95.

24. Angus, D.C., et al., *Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care*. Crit Care Med, 2001. **29**(7): p. 1303-10.
25. Angus, D.C., C.A. Pereira, and E. Silva, *Epidemiology of severe sepsis around the world*. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2006. **6**(2): p. 207-12.
26. Engel, C., et al., *Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study*. Intensive Care Med, 2007. **33**(4): p. 606-18.
27. Simon, L., et al., *Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis*. Clin Infect Dis, 2004. **39**(2): p. 206-17.
28. Organisation, W.H., *WHO report on infectious disease: overcoming antimicrobial resistance*. 2000. **Geneva, WHO:2000**.
29. Löffler, P., *Biochemie und Pathobiochemie*. 1998: Springer Verlag.
30. Weiland, T., H. Kalkman, and H. Heihn, *Evaluation of the Automated Immature Granulocyte Count (IG) on Sysmex XE-2100 Automated Haematology Analyser vs. Visual Microscopy (NCCLS H20-A)*. Sysmex Journal International, 2002. **Vol.12 No.2**: p. 62-70.
31. Nemoto, E., et al., *Circulating promyelocytes and low levels of CD16 expression on polymorphonuclear leukocytes accompany early-onset periodontitis*. Infect Immun, 1997. **65**(9): p. 3906-12.
32. Shiga, S., et al., *Immature granulocyte count after liver transplantation*. Clin Chem Lab Med, 2002. **40**(8): p. 775-80.
33. Nigro, K.G., et al., *Performance of an automated immature granulocyte count as a predictor of neonatal sepsis*. Am J Clin Pathol, 2005. **123**(4): p. 618-24.
34. Bender, L., et al., *Early and late markers for the detection of early-onset neonatal sepsis*. Dan Med Bull, 2008. **55**(4): p. 219-23.
35. Di Mario, A., et al., *Immature platelet fraction (IPF) in hospitalized patients with neutrophilia and suspected bacterial infection*. J Infect, 2009. **59**(3): p. 201-6.
36. Bruegel, M., et al., *Reference Values for Immature Granulocytes in Healthy Blood Donors Generated on the Sysmex XE-2100 Automated*

- Hematology Analyser*. Sysmex Journal International 2004. **Vol.14 No.1**: p. 14: 5-7.
37. Reimer, L.G., M.L. Wilson, and M.P. Weinstein, *Update on detection of bacteremia and fungemia*. Clin Microbiol Rev, 1997. **10**(3): p. 444-65.
 38. Rangel-Frausto, M.S., et al., *The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study*. Jama, 1995. **273**(2): p. 117-23.
 39. Simon, L., et al., *Procalcitonin and C-reactive protein as markers of bacterial infection in critically ill children at onset of systemic inflammatory response syndrome**. Pediatr Crit Care Med, 2008.
 40. Davis, B.H. and N.C. Bigelow, *Comparison of neutrophil CD64 expression, manual myeloid immaturity counts, and automated hematology analyzer flags as indicators of infection or sepsis*. Lab Hematol, 2005. **11**(2): p. 137-47.
 41. Davis, B.H., et al., *Neutrophil CD64 is an improved indicator of infection or sepsis in emergency department patients*. Arch Pathol Lab Med, 2006. **130**(5): p. 654-61.
 42. *Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework*. Clin Pharmacol Ther, 2001. **69**(3): p. 89-95.
 43. Ventetuolo, C.E. and M.M. Levy, *Biomarkers: diagnosis and risk assessment in sepsis*. Clin Chest Med, 2008. **29**(4): p. 591-603, vii.
 44. Reinhart, K., M. Meisner, and F.M. Brunkhorst, *Markers for sepsis diagnosis: what is useful?* Crit Care Clin, 2006. **22**(3): p. 503-19, ix-x.
 45. Le Gall, J.R., S. Lemeshow, and F. Saulnier, *A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study*. Jama, 1993. **270**(24): p. 2957-63.
 46. Vincent, J.L., et al., *Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on "sepsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine*. Crit Care Med, 1998. **26**(11): p. 1793-800.
 47. Vincent, J.L., et al., *The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the*

- Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine*. Intensive Care Med, 1996. **22**(7): p. 707-10.
48. Bagdasaryan, R., et al., *Neutrophil VCS Parameters Are Superior Indicators for Acute Infection*. Lab Hematol, 2007. **13**(1): p. 12-6.
49. Sakr, Y., et al., *Time course and relationship between plasma selenium concentrations, systemic inflammatory response, sepsis, and multiorgan failure*. Br J Anaesth, 2007. **98**(6): p. 775-84.
50. Castelli, G.P., et al., *Procalcitonin, C-reactive protein, white blood cells and SOFA score in ICU: diagnosis and monitoring of sepsis*. Minerva Anesthesiol, 2006. **72**(1-2): p. 69-80.
51. Field, D., E. Taube, and S. Heumann, *Performance evaluation of the immature granulocyte parameter on the Sysmex XE-2100 automated hematology analyzer*. Lab Hematol, 2006. **12**(1): p. 11-4.
52. Fernandes, B. and Y. Hamaguchi, *Automated enumeration of immature granulocytes*. Am J Clin Pathol, 2007. **128**(3): p. 454-63.
53. Briggs, C., et al., *New quantitative parameters on a recently introduced automated blood cell counter--the XE 2100*. Clin Lab Haematol, 2000. **22**(6): p. 345-50.
54. Shibata, H., et al., *Automatic analysis of normal bone marrow blood cells using the XE-2100 automated hematology analyzer*. J Clin Lab Anal, 2003. **17**(1): p. 12-7.
55. Takarada, K., *Flow Cytometers-History and Measurement Principle*. Sysmex Journal International, 1996. **6 No.1**: p. 83-90.
56. Groner, W. and R. Kanter, *Optical Technology in Blood Cell Counting*. Sysmex Journal International, 1999. **9**: p. 21-30.
57. Sakata, T., *Regent Characteristics in the XE-2100 NRBC Channel*. Sysmex Journal International, 2000. **10 No.1**.
58. Thijs, L.G. and C.E. Hack, *Time course of cytokine levels in sepsis*. Intensive Care Med, 1995. **21 Suppl 2**: p. S258-63.
59. Hack, C.E., et al., *Increased plasma levels of interleukin-6 in sepsis*. Blood, 1989. **74**(5): p. 1704-10.
60. Patel, R.T., et al., *Interleukin 6 is a prognostic indicator of outcome in severe intra-abdominal sepsis*. Br J Surg, 1994. **81**(9): p. 1306-8.

61. Wakefield, C.H., et al., *Proinflammatory mediator activity, endogenous antagonists and the systemic inflammatory response in intra-abdominal sepsis*. Scottish Sepsis Intervention Group. Br J Surg, 1998. **85**(6): p. 818-25.
62. Brunkhorst, F.M., *[Sepsismarker--what is useful?]*. Dtsch Med Wochenschr, 2008. **133**(48): p. 2512-5.
63. Bernard, G.R., et al., *Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis*. N Engl J Med, 2001. **344**(10): p. 699-709.
64. Aggarwal, B.B. and W.J. Kohr, *Human tumor necrosis factor*. Methods Enzymol, 1985. **116**: p. 448-56.
65. Aggarwal, B.B., et al., *Human tumor necrosis factor. Production, purification, and characterization*. J Biol Chem, 1985. **260**(4): p. 2345-54.
66. Schumann, R.R., et al., *Structure and function of lipopolysaccharide binding protein*. Science, 1990. **249**(4975): p. 1429-31.
67. Erwin, P.J., et al., *Lipopolysaccharide binding protein in acute pancreatitis*. Crit Care Med, 2000. **28**(1): p. 104-9.
68. Schumann, R.R. and J. Zweigner, *A novel acute-phase marker: lipopolysaccharide binding protein (LBP)*. Clin Chem Lab Med, 1999. **37**(3): p. 271-4.
69. Sakr, Y., et al., *Lipopolysaccharide binding protein in a surgical intensive care unit: a marker of sepsis?* Crit Care Med, 2008. **36**(7): p. 2014-22.
70. Gabay, C. and I. Kushner, *Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation*. N Engl J Med, 1999. **340**(6): p. 448-54.
71. Povoas, P., *C-reactive protein: a valuable marker of sepsis*. Intensive Care Med, 2002. **28**(3): p. 235-43.
72. Povoas, P., et al., *C-reactive protein as an indicator of sepsis*. Intensive Care Med, 1998. **24**(10): p. 1052-6.
73. Yentis, S.M., N. Soni, and J. Sheldon, *C-reactive protein as an indicator of resolution of sepsis in the intensive care unit*. Intensive Care Med, 1995. **21**(7): p. 602-5.
74. Monneret, G., et al., *Procalcitonin and C-reactive protein levels in neonatal infections*. Acta Paediatr, 1997. **86**(2): p. 209-12.

75. Sierra, R., et al., *C-reactive protein used as an early indicator of infection in patients with systemic inflammatory response syndrome*. Intensive Care Med, 2004. **30**(11): p. 2038-45.
76. Eberhard, O.K., et al., *Usefulness of procalcitonin for differentiation between activity of systemic autoimmune disease (systemic lupus erythematosus/systemic antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis) and invasive bacterial infection*. Arthritis Rheum, 1997. **40**(7): p. 1250-6.
77. Lindahl, B., et al., *Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. FRISC Study Group. Fragmin during Instability in Coronary Artery Disease*. N Engl J Med, 2000. **343**(16): p. 1139-47.
78. Meisner, M., et al., *Postoperative plasma concentrations of procalcitonin after different types of surgery*. Intensive Care Med, 1998. **24**(7): p. 680-4.
79. Harbarth, S., et al., *Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis*. Am J Respir Crit Care Med, 2001. **164**(3): p. 396-402.
80. Oberhoffer, M., et al., *Sensitivity and specificity of various markers of inflammation for the prediction of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in patients with sepsis*. Crit Care Med, 1999. **27**(9): p. 1814-8.
81. Brunkhorst, F.M., et al., *Procalcitonin for early diagnosis and differentiation of SIRS, sepsis, severe sepsis, and septic shock*. Intensive Care Med, 2000. **26 Suppl 2**: p. S148-52.
82. Pilz, G. and K. Werdan, *[Scores for multiple organ dysfunction and multiple organ failure]*. Internist (Berl), 1998. **39**(5): p. 502-8.
83. Graf J, J.U., *Scoring-Systeme in der Diagnostik und Verlaufsbeurteilung der Sepsis-diagnostische und therapeutische Implikationen*. Intensivmed, 2004. **41**: p. 476-487.
84. Knaus, W.A., et al., *APACHE-acute physiology and chronic health evaluation: a physiologically based classification system*. Crit Care Med, 1981. **9**(8): p. 591-7.

85. Knaus, W.A., et al., *APACHE II: a severity of disease classification system*. Crit Care Med, 1985. **13**(10): p. 818-29.
86. Le Gall, J.R., et al., *A simplified acute physiology score for ICU patients*. Crit Care Med, 1984. **12**(11): p. 975-7.
87. Teasdale, G. and B. Jennett, *Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale*. Lancet, 1974. **2**(7872): p. 81-4.
88. Heim, C., P. Schoettker, and D.R. Spahn, *[Glasgow Coma Scale in traumatic brain injury]*. Anaesthesist, 2004. **53**(12): p. 1245-55; quiz 1256.
89. Ferreira, F.L., et al., *Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients*. Jama, 2001. **286**(14): p. 1754-8.
90. Dellinger, R.P., *From bench to bedside: The future of sepsis research*. Chest, 1997. **111**: p. 744-53.
91. Linden, P.K., et al., *The influence of clinical study design on cost-effectiveness projections for the treatment of gram-negative sepsis with human anti-endotoxin antibody*. J Crit Care, 1995. **10**(4): p. 154-64.
92. Lavrentieva, A., et al., *Inflammatory markers in patients with severe burn injury. What is the best indicator of sepsis?* Burns, 2007. **33**(2): p. 189-94.
93. Luzzani, A., et al., *Comparison of procalcitonin and C-reactive protein as markers of sepsis*. Crit Care Med, 2003. **31**(6): p. 1737-41.
94. Weimann, A., K. Weimann, and A. Lun, *[Laboratory haematological changes in the field of intensive care medicine--the extended differential blood count]*. Anasthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther, 2009. **44**(3): p. 164-70; quiz 173.
95. Beck, D.H., et al., *Prediction of outcome from intensive care: a prospective cohort study comparing Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II and III prognostic systems in a United Kingdom intensive care unit*. Crit Care Med, 1997. **25**(1): p. 9-15.
96. Silvestre, J., et al., *Is C-reactive protein a good prognostic marker in septic patients?* Intensive Care Med, 2009.
97. Stamminger, G., et al., *Performance of the XE-2100 leucocyte differential*. Clin Lab Haematol, 2002. **24**(5): p. 271-80.

98. Cenci, A.M., M. Maconi, and B. Casolari, *Evaluation of the Diagnostic Performance of the Sysmex 2100i Automated Hematology Analyser in the Detection of Immature Granulozytes*. Sysmex Journal International, 2005. **Vol.15 No.1**: p. 1-6.
99. Briggs, C., et al., *Evaluation of immature granulocyte counts by the XE-IG master: upgraded software for the XE-2100 automated hematology analyzer*. Lab Hematol, 2003. **9**(3): p. 117-24.
100. McMaster, P., et al., *Procalcitonin versus C-reactive protein and immature-to-total neutrophil ratio as markers of infection after cardiopulmonary bypass in children*. Pediatr Crit Care Med, 2009. **10**(2): p. 217-21.
101. Marshall, J.C., *Organ dysfunction as an outcome measure in clinical trials*. Eur J Surg Suppl, 1999(584): p. 62-7.
102. Marshall, J.C., et al., *Measures, markers, and mediators: toward a staging system for clinical sepsis. A report of the Fifth Toronto Sepsis Roundtable, Toronto, Ontario, Canada, October 25-26, 2000*. Crit Care Med, 2003. **31**(5): p. 1560-7.

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Die verschiedenen Stufen der Sepsis	10
Abbildung 2: Die Sterbewahrscheinlichkeit in Abhängigkeit zum Schweregrad von SIRS und Sepsis	11
Abbildung 3: Komponenten des Immunsystems	15
Abbildung 4: Zentrum: Durchflusszytometrische Darstellung des Differentialblutbildes	19
Abbildung 5: Dot-Plots Differentialblutbild und IMI	24
Abbildung 6: Mortalität (in %) in Abhängigkeit vom SAPS II	32
Abbildung 7: Altersverteilung Studienpatienten	35
Abbildung 8: Diagnosenverteilung der nicht-septischen Patienten (n=19)....	38
Abbildung 9: Diagnosenverteilung der Gruppe 2 (n=12)	39
Abbildung 10: Diagnosenverteilung der septischen Patienten (n=39).....	40
Abbildung 11: IG-Anzahl (IG# 10^3 / μ l) bei überlebenden vs. verstorbenen Patienten	45
Abbildung 12: CRP (mg / l) bei überlebenden vs. verstorbenen Patienten ...	45
Abbildung 13: IL-6 (ng / l) bei überlebenden vs. verstorbenen Patienten.....	46
Abbildung 14: LBP (μ g / ml) bei überlebenden vs. verstorbenen Patienten ..	46
Abbildung 15: SOFA-Scorewerte bei überlebenden vs. verstorbenen Patienten	47
Abbildung 16: IG-Anzahl (IG# 10^3 / μ l) bei septischen vs. nicht-septischen Patienten	48
Abbildung 17: CRP (mg / l) bei septischen vs. nicht-septischen Patienten ...	49
Abbildung 18: LBP (μ g / ml) bei septischen vs. nicht-septischen Patienten..	49
Abbildung 19: IL-6 (ng / l) bei septischen vs. nicht-septischen Patienten	50
Abbildung 20: SOFA-Scorewerte bei septischen vs. nicht-septischen Patienten	50
Abbildung 21: ROC-Kurven von Tag 1	51
Abbildung 22: AUC-Werte der Sepsisparameter in Bezug auf die Mortalität im Vergleich	53
Abbildung 23: AUC-Werte der Sepsisparameter in Bezug auf die Infektion im Vergleich	54

10 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Keimspektrum der Sepsis	9
Tabelle 2: Sepsis-induzierte Organdysfunktionen	13
Tabelle 3: Todesursachen in Deutschland 2000 (stat. Bundesamt).....	14
Tabelle 4: Entwicklung und Einteilung der zellulären Blutbestandteile.....	17
Tabelle 5: Gruppeneinteilung	22
Tabelle 6: Demographie (ICU-Mortalität).....	36
Tabelle 7: Demographie der einzelnen Gruppen.....	37
Tabelle 8: Analyse der Sepsis-Parameter an Tag 1 im Bezug auf ICU- Mortalität.....	41
Tabelle 9: Analyse der Sepsis-Parameter an Tag 1 im Gruppenvergleich....	42
Tabelle 10: Errechnung der Gruppentage	43
Tabelle 11: Signifikanzniveaus der gemessenen Parameter im Verlauf (Überlebende vs. Verstorbene)	44
Tabelle 12: Signifikanzniveau der Parameter im Verlauf (Gruppe 1 vs. 3)....	47
Tabelle 13: AUC-Werte aller Patienten in Bezug auf die Intensivmortalität ..	52
Tabelle 14: AUC-Werte aller Patienten in Bezug auf die Infektion	53

11 Abkürzungsverzeichnis

ACCP	American College of Chest Physicians
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
APACHE	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation
AT III	Antithrombin III
AUC	Area Under the Curve
BE	Base Excess
CD 64	Cluster of Differentiation 64
CI	95% Confidenz Intervall
CRH	Corticotropin-releasing Hormon
CRP	C-reaktives Protein
DC	Direct Current
DIC	Disseminierte Intravasale Gerinnung
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ESICM	European Society for Intensive Care Medicine
FiO ₂	Inspiratorischer Sauerstoffanteil
FSC	Forward Scattered Characteristics
G1/5/10	Gruppentag 1/5/10
GCS	Glasgow Coma Scale
GM-CSF	Granulocyte Macrophage Colony-stimulating Factor
HICAST [®]	Hamburg Intensiv Care Scoring Tool [®]
HIV	Human immunodeficiency virus
HLA-DR	Human Leukocyte Antigene DR 1
I/T ratio	Immature / Total granulocyte Ratio
ICU	Intensive Care Unit
IG	Immature Granulocytes
Ig	Immunglobuline
IL-6/1/8	Interleukin-6/1/8
IMI	Immature Myeloid Information
INR	International Normalized Ratio
ITS	Intensivstation
Katechol.	Katecholamine

LBP	Lipopolysaccharid-bindendes Protein
LOS	Length Of Stay
LPS	Lipopolysaccharid
Max	Maximum
Min	Minimum
MODS	Multiorgandysfunktionssyndrom
MOV	Multiorganversagen
MW	Mittelwert
NO	Stickoxid
NRBC	Nucleated Red Blood Cells
PaCO ₂	Kohlendioxid-Partialdruck
PaO ₂	arterieller Sauerstoff-Partialdruck
PCT	Procalcitonin
PE	Phycoerythrin
PTT	Partielle Thromboplastinzeit
RF	Radio Frequency
RNA	Ribonukleinsäure
ROC	Receiver-operating Characteristics
SAA	Serum Amyloid A (Akute-Phase-Protein)
SAPS II	Simplified Acute Physiology Score II
SCCM	Society of Critical Care Medicine
SD	Standardabweichung
SEM	Standard Error of Means
SFL	Seitwärtsfluoreszenz
SIRS	Systemisches Inflammatorisches Response-Syndrom
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment Score
SPSS®	Statistical Package for Social Science®
SSC	Sideward Scattered Characteristics
stat.	Statistisch
syst.	systolisch
TNF-α	Tumor-Nekrose-Faktor
WHO	Weltgesundheitsorganisation
WBC	White Blood Cell Count
ZNS	Zentrales Nervensystem

12 Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Georg Kreymann für die freundliche Überlassung des Themas und die Unterstützung bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Dr. med. Axel Nierhaus für die unermüdliche Betreuung und Hilfe bei der Erstellung der Arbeit.

Ebenso herzlich möchte ich mich bei Dr. med. Barbara Montag für die Einführung in die Geheimnisse der Statistik bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Jörg Hedke für die vielen gemeinsamen Stunden in der Klinik und vor dem Computer.

13 Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Nina Marie Eismann

September 2010

