

Il contributo dell'esame emocromocitometrico nella diagnosi di infezione e sepsi

Maria Lorubbio¹, Agostino Ognibene¹

¹Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, Dipartimento Medicina di Laboratorio e Trasfusionale, Ospedale San Donato, Arezzo

Questo lavoro è stato in parte presentato al IFCC Young Scientist Forum durante il WorldLab EuromedLab, Roma 20-23 maggio 2023

Caro Editore,

Molti studi e contributi scientifici riportano come le modificazioni di alcune popolazioni cellulari ematiche rilevabili all'esame emocromo completo (Complete Blood Count, CBC) siano di particolare importanza nelle infezioni, soprattutto in caso di sospetta sepsi (1). Nella pratica quotidiana, infatti, l'utilizzo del numero delle piastrine (PLT) per calcolare il Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score e dei globuli bianchi (WBC), in particolare dei neutrofili e delle cellule immature (IG%), per la valutazione della gravità dell'infezione batterica è piuttosto comune e frequente (2). Molteplici altri parametri del CBC e biomarcatori sono stati utilizzati in diverse formulazioni di algoritmi e score allo scopo di diagnosticare quanto più precocemente la sepsi, soprattutto dopo lo sviluppo di strumenti di intelligenza artificiale (machine learning e deep learning) (3,4). Le modificazioni del numero e della morfologia delle cellule ematiche sono state correlate alla reazione dell'organismo contro l'agente di infezione, sebbene questo rapporto non sempre sia stato tanto chiaro. Tale difficoltà si riscontra nell'aspetto fisiopatologico della sepsi stessa, caratterizzata da una risposta disregolata dell'ospite alle infezioni con insufficienza multiorgano e attivazione abnorme della risposta infiammatoria-immunitaria portando in breve tempo l'individuo ad una prognosi infausta (5). Sappiamo che l'attivazione dei monociti è un evento precoce dell'infezione a prescindere dall'agente patogeno e dall'eziologia batterica, virale o fungina in quanto cellule della prima linea di difesa dell'organismo. I monociti svolgono un'ampia gamma di attività immunomodulatorie in seguito al cambiamento di caratteristiche strutturali, morfologiche, funzionali e fenotipiche (6,7). Essi esprimono maggiormente il marcatore funzionale CD16 (8) e dopo fagocitosi di patogeni, acquisiscono caratteristiche di grandi cellule ameboidi durante la trasformazione a macrofagi a livello tissutale. Anche nella popolazione piastrinica, durante un processo infiammatorio infettivo, si verifica un'alterazione del numero, delle dimensioni e della morfologia dalla forma discoidale ad una forma irregolarmente sferica con pseudopodi (9). Grazie ai più recenti sviluppi tecnologici, gli analizzatori ematologici sono in grado di fornire i cosiddetti Cell Population Data (CPD) di morfologia strumentale, ossia informazioni quantitative sulle caratteristiche morfologiche (volume, granularità e complessità) e funzionali delle cellule del sangue. I CPD possono essere generati attraverso due diverse tecnologie, presenti in analizzatori ematologici: la tecnologia VCS (Volume, Conduttività, Scatter della luce) e la citometria a flusso in fluorescenza (10). Alcuni CPD possono essere utilizzati come nuovi marcatori (MDW, Monocyte Distribution Width) (7), altri in algoritmi diagnostici e prognostici di sepsi (6,8).

Nello studio qui riportato, sono state analizzate le modificazioni delle cellule ematiche in tre gruppi di soggetti (con sepsi, infezione localizzata e di controllo). I soggetti arruolati nello studio sono pazienti con presentazione clinica di sospetta sepsi al Pronto Soccorso dell'Ospedale San Donato di Arezzo tra settembre 2019 e maggio 2020. Per tutti i soggetti sono stati raccolti dati anagrafici, anamnestici, clinici e di laboratorio. Quali parametri di laboratorio sono stati utilizzati la creatinina plasmatica, il MDW e il CBC.

CBC e MDW sono stati determinati in campioni di sangue intero raccolti in provette con anticoagulante K2-EDTA utilizzando lo strumento UniCel DxH 900 (Beckman Coulter) entro 2 ore dal prelievo. Il modello di regressione lineare multipla è stato utilizzato per individuare quali tra i parametri correlavano significativamente con la sepsi e l'infezione.

Per lo studio di correlazione dei parametri MDW e del CBC, con la diagnosi di sepsi o infezione è stato utilizzato il test di Pearson o Spearman per dati, rispettivamente, parametrici e non parametrici. I risultati correlati (direttamente o inversamente) sono stati poi corretti per età, genere e creatinina plasmatica. I test statistici T parametrico e U non parametrico di Mann-Whitney sono stati eseguiti per valutare le differenze tra medie dei parametri MDW e del CBC nei gruppi di pazienti con sepsi, infezione e controllo. Per la raccolta dati e le elaborazioni statistiche sono stati utilizzati i software Microsoft Excel e SPSS 20.0 (IBM). Lo studio è stato approvato dal comitato etico locale ed è stato effettuato nel rispetto ed applicazione della Dichiarazione di Helsinki del 1975 come emendata nel 2013 (11).

Corrispondenza a: Maria Lorubbio, Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche, Dipartimento Medicina di Laboratorio e Trasfusionale, Ospedale San Donato, Via Pietro Nenni, 20/22, 52100 Arezzo, Italia. E-mail: maria.lorubbio@uslsudest.toscana.it.

Ricevuto: 16.06.2024

Rivisto: 18.06.2024

Accettato: 30.07.2024

Published on-line: 05.09.2024

DOI: 10.19186/BC_2024.043

Dei 308 pazienti arruolati e stratificati secondo i criteri Sepsis-3 (2), 76 erano affetti da sepsi e 232 non erano affetti da sepsi (di cui 109 controlli e 123 pazienti con infezioni localizzate).

Tra i parametri esaminati, sono risultati correlati in modo significativo con la presenza di sepsi: l'MDW, il volume piastrinico medio (MPV), i WBC, le PLT e le Nucleated Red Blood Cell (NRBC); la correlazione è stata confermata dopo correzione per creatinina, genere ed età, ad eccezione di PLT e NRBC. I parametri WBC e MPV erano statisticamente differenti tra i soggetti con sepsi rispetto a quelli non affetti da sepsi (gruppi di controllo $p < 0,005$ e con infezione $p < 0,05$) mentre la differenza non era significativa tra il gruppo di controllo e quello con infezione ($p > 0,05$). Il parametro MDW è risultato essere statisticamente differente nei tre gruppi ($p < 0,0001$); l'incremento progressivo del parametro è strettamente correlato alla gravità del quadro clinico.

In Figura 1 è mostrato il numero dei pazienti con il parametro superiore e inferiore al valore soglia per i marcatori WBC, MPV e MDW (pannelli a, b e c rispettivamente) nei tre gruppi considerati. La Figura 2 mostra l'eterogeneità della popolazione monocitaria e di quella piastrinica in un paziente con sepsi.

Le diverse popolazioni cellulari, coinvolte nei diversi aspetti del processo infettivo, intervengono con tempistiche diverse, alcune più precocemente delle altre.

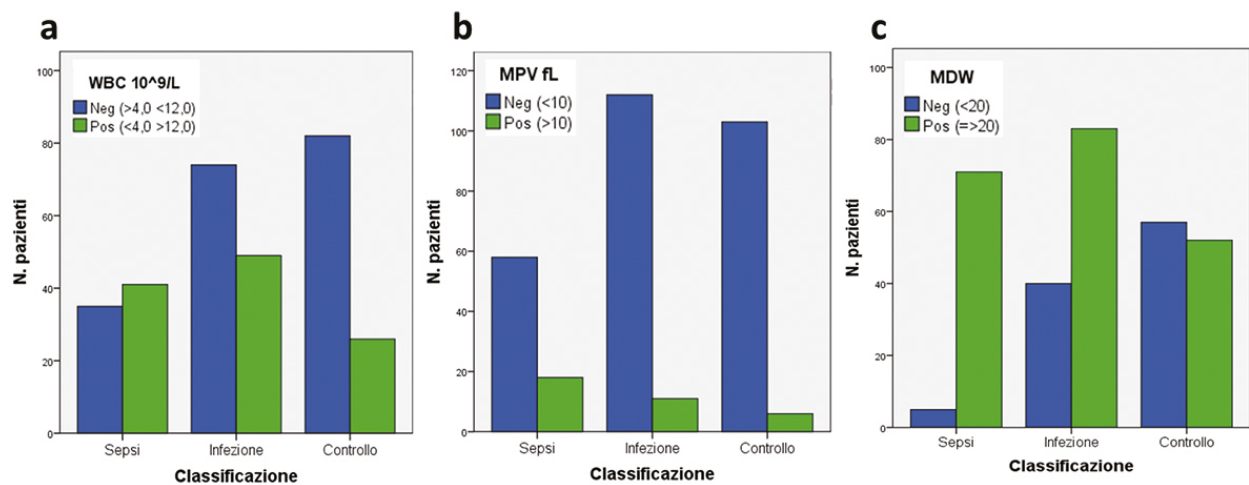


Figura 1

Numero di pazienti con valori inferiori o superiori al valore decisionale per i parametri indicati, nei tre gruppi esaminati.

Pannello a: conteggio leucocitario (WBC); pannello b: volume piastrinico medio; pannello (MPV); c: ampiezza della distribuzione dei monociti (MDW).

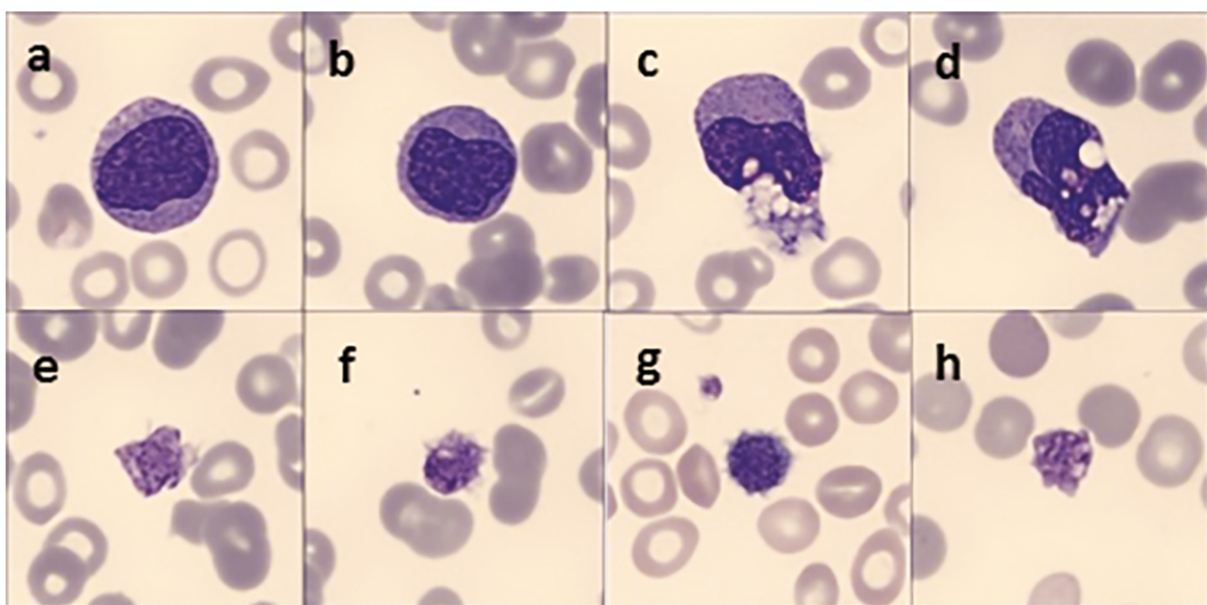


Figura 2

Eterogeneità morfologica della popolazione monocitaria (a - d) e di quella piastrinica (e - h), in un paziente con sepsi.

I risultati dello studio mostrano che l'aumento dell'ampiezza della distribuzione dei monociti avviene prematuramente e progressivamente in relazione alla gravità dell'infezione come mostrato dall'aumento del parametro MDW nei pazienti con sepsi. I valori delle medie (DS) sono infatti 28,6 μ (6,8) per i pazienti con sepsi e 23,9 μ (5,9) per i pazienti con infezione e 21,2 μ (4,6) nei controlli. I pazienti con sepsi presentano più frequentemente valori di WBC $<4,0$ e $>12,0 \times 10^9/L$ e di MPV $>10,0$ fL rispetto a quelli senza sepsi. Un meccanismo, che comporta una cospicua stimolazione midollare potrebbe giustificare, sia la modifica dei WBC che dell'MPV con perdita acuta di piastrine durante una condizione infiammatoria.

In presenza di trombopoietina (TPO), i cui livelli aumentano in pazienti con sepsi, il processo di rottura dei megacariociti porta alla rapida frammentazione dei prolungamenti citoplasmatici con rapida produzione e rilascio delle piastrine in circolo. Nishimura et al. hanno suggerito che questo processo potrebbe non essere sufficiente a supportare un rapido ricambio piastrinico, quando il fabbisogno piastrinico è alto. Queste piastrine più giovani, che hanno un MPV più elevato, potrebbero avere importanti differenze a livello funzionale per la minore organizzazione dei microtubuli con conseguente scarso impatto clinico nei pazienti settici. Le piastrine più grandi e immature, funzionalmente meno competenti e metabolicamente più attive, sono più protrombotiche e maggiormente predisposte all'adesione e all'aggregazione piastrinica, come dimostrato dall'associazione tra aumento dell'MPV e mortalità nei pazienti con sepsi (9). Studi recenti suggeriscono che l'aumento delle piastrine reticolate (Immature Platelet Fraction, IPF) possono contribuire a identificare molto precocemente pazienti settici con eziologia batterica (12).

Concludendo, la morfologia delle cellule ematiche si modifica in seguito all'intrusione dell'agente patogeno (batterico, virale, fungino) e i parametri del CBC si modificano durante i processi infettivi. I CPD possono fornire molte informazioni utili, ma tanto ancora deve essere approfondito sul significato e il contributo clinico che i CPD possono dare non solo nella sepsi, ma anche in altre condizioni patologiche.

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno

BIBLIOGRAFIA

1. Farkas J. The complete blood count to diagnose septic shock. *J Thorac Dis* 2020;12(S1):S16–S21.
2. Henning DJ, Puskarich MA, Self WH, Howell MD, Donnino WH, Yealy DM et al. An emergency department validation of the SEP-3 sepsis and septic shock definitions and comparison with 1992 consensus definitions. *Ann Emerg Med* 2017;70:544–52. e5.
3. Wong BPK, Lam RPK, Ip CYT, Chan HC, Zhao L, Lau MCK et al. Applying artificial neural network in predicting sepsis mortality in the emergency department based on clinical features and complete blood count parameters. *Sci Rep* 2023;13:21463.
4. Liang J, Cai Y, Shao Y. Comparison of presepsin and mid-regional pro-adrenomedullin in the diagnosis of sepsis or septic shock: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis* 2023;23:288.
5. Giamarellos-Bourboulis EJ, Aschenbrenner AC, Bauer M, Bock C, Calandra T, Gat-Viks I et al. The pathophysiology of sepsis and precision-medicine-based immunotherapy. *Nat Immunol* 2024;25:19–28.
6. Ognibene A, Lorubbio M, Montemerani S, Tacconi D, Saracini A, Fabbroni S et al. Monocyte distribution width and the fighting action to neutralize sepsis (FANS) score for sepsis prediction in emergency department. *Clin Chim Acta* 2022;534:65–70.
7. Wu J, Li L, Luo J. Diagnostic and prognostic value of Monocyte Distribution Width in sepsis. *J Inflamm Res* 2022;15:4107–17.
8. Sacchetti S, Vidali M, Esposito T, Zorzi S, Burgener A, Ciccarello L et al. The role of new morphological parameters provided by the BC 6800 Plus analyzer in the early diagnosis of sepsis. *Diagnostics (Basel)* 2024;14:340.
9. Vardon-Boune F, Gratacap MP, Groyer S, Ruiz S, Georges B, Seguin T et al. Kinetics of mean platelet volume predicts mortality in patients with septic shock. *PLoS One* 2019;14:e0223553.
10. Agnello L, Giglio RV, Bivona G, Scazzone C, Gambino CM, Iacona A et al. The value of a complete blood count (CBC) for sepsis diagnosis and prognosis. *Diagnostics (Basel)* 2021;11:1881.
11. Declaration of Helsinki – WMA – The World Medical Association. <https://www.wma.net/what-we-do/medicalethics/declaration-of-helsinki/> (ultimo accesso: ottobre 2023).
12. Park SH, Ha SO, Cho YU, Park CJ, Jang S, Hong SB. Immature platelet fraction in septic patients: Clinical relevance of immature platelet fraction is limited to the sensitive and accurate discrimination of septic patients from non-septic patients, not to the discrimination of sepsis severity. *Ann Lab Med* 2016;36:1–8.