

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE “IULIU HAȚIEGANU”

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Probleme actuale privind etiologia, diagnosticul și tratamentul endocarditelor infecțioase

Doctorand **Adriana Violeta Topan**

Conducător științific **Prof. Dr. Dumitru Cârstina**



Cluj-Napoca 2015

CUPRINS

INTRODUCERE	13
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
1. Epidemiologia și etiologia endocarditelor infecțioase	17
1.1. Epidemiologia endocarditelor infecțioase	17
1.2. Etiologia endocarditelor infecțioase	18
1.2.1. Cocii Gram pozitivi	18
1.2.2. Bacilii Gram negativi	22
1.2.3. Anaerobii	24
1.2.4. Fungii	24
1.2.5. Etiologiile asociate constant cu EI cu hemoculturi negative	24
2. Patogenia endocarditelor infecțioase	27
2.1. Patogenia EI apărute la nivelul valvelor native	27
2.2. Patogenia EI apărute pe proteze valvulare	30
2.3. Rolul factorului tisular în endocardita infecțioasă	31
3. Diagnosticul endocarditelor infecțioase	33
3.1. Criterii de diagnostic	33
3.2. Rolul imagisticii în diagnosticul endocarditelor infecțioase	34
3.2.1. Ecocardiografia	34
3.2.2. Metode imagistice complementare ecografiei cardiace	36
3.3. Diagnosticul endocarditelor infecțioase cu hemoculturi negative	37
3.3.1. Metode suplimentare de diagnostic în EI cu hemoculturi negative	38
3.4. Diagnosticul de laborator în EI	39
3.4.1. Parametrii hematologici și examenul sumar de urină	39
3.4.2. Markerii nespecifici de inflamație	40
3.4.3. Procalcitonina în diagnosticul EI	41
3.4.4. Presepsina (sCD14-ST) în diagnosticul EI	42
4. Tratamentul endocarditelor infecțioase	45
4.1. Tratamentul medical	45
4.1.1. Principii generale de tratament	45
4.1.2. Terapia anticoagulantă și antiagregantă	46
4.2. Tratamentul chirurgical în endocarditele infecțioase	47
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	
1. Ipoteza de lucru/obiective	51
2. Metodologie generală	53
3. Studiul 1. Endocarditele infecțioase: aspecte clinice și evolutive	57
3.1. Introducere	57
3.2. Ipoteza de lucru	57
3.3. Material și metodă	58
3.4. Rezultate	59
3.5. Discuții	71

3.6. Concluzii	75
4. Studiul 2. Evaluarea criteriilor Duke în diagnosticul endocarditei infecțioase	77
4.1. Introducere	77
4.2. Ipoteza de lucru	78
4.3. Material și metodă	78
4.4. Rezultate	78
4.5. Discuții	81
4.6. Concluzii	83
5. Studiul 3. Rolul markerilor clasici ai inflamației (leucocite, CRP, VSH) în monitorizarea evoluției endocarditelor infecțioase și factorii de predicție ai tratamentului chirurgical	85
5.1. Introducere	85
5.2. Material și metodă	86
5.3. Rezultate	86
5.4. Discuții	93
5.5. Concluzii	96
6. Studiul 4. Utilitatea Presepsinei (sCD14-ST) în diagnosticul endocarditei infecțioase	97
6.1. Introducere	97
6.2. Ipoteza de lucru	98
6.3. Material și metodă	98
6.4. Rezultate	99
6.5. Discuții	103
6.6. Concluzii	105
7. Concluzii generale	107
8. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	111
REFERINȚE	113
ANEXA 1	131

Cuvinte cheie: endocardita infecțioasă, diagnostic, hemoculturi, criteriile Duke, tratament chirurgical, PATHFAST, Presepsina

Introducere

Endocarditele infecțioase (EI) sunt infecții ale endocardului, cu precădere ale valvelor cardiace, cu potențial evolutiv grav și risc crescut de mortalitate. În mod paradoxal, progresele realizate în diagnosticul și tratamentul acestor afecțiuni, nu se reflectă în scăderea ratei de mortalitate care s-a menținut constantă în timp, fiind în medie 20%-30%. Explicația acestui fenomen este continua schimbare a profilului epidemiologic și etiologic al acestor afecțiuni. În mod clasic, EI afectau cu preponderență pacienți tineri cu valvulopatii reumatismale, etiologia predominantă fiind reprezentată de *Streptococii viridans*. În prezent, majoritatea cazurilor de endocardită infecțioasă apar la persoane vârstnice cu valvulopatii degenerative, la pacienți cu comorbidități și contacte frecvente cu serviciile de sănătate, la consumatorii de droguri intravenoase sau la pacienți cu proteze valvulare sau cu dispozitive cardio-vasculare implantabile. Această schimbare a profilului epidemiologic a făcut ca etiologia predominantă a cazurilor să fie acum reprezentată de germeni extrem de virulenți, în mod deosebit de *Stafilococcus aureus*.

În fața unui pacient cu febră, predispoziție cardiacă cunoscută, hemoculturi pozitive cu germeni specifici endocarditelor infecțioase și aspect ecocardiografic sugestiv, diagnosticul endocarditelor infecțioase este evident. În practica medicală aceste situații sunt însă rare, mai frecvente fiind cazurile cu semne și simptome nespecifice și cu hemoculturi negative, diagnosticul endocarditelor infecțioase reprezentând astfel o provocare. Criteriile Duke modificate sunt cele mai recente definiții de caz utilizate pentru diagnosticul endocarditelor infecțioase. Aceste criterii combină două criterii majore (rezultatul

hemoculturilor și dovada ecocardiografică a afectării endocardice) cu cinci criterii minore. În prezența unor hemoculturi negative sau/și a unei imagini ecocardiografice dificil de interpretat, performanța criteriilor Duke este diminuată. Identificarea unui biomarker care să ajute la orientarea diagnosticului endocarditelor infecțioase, în special în prezența unor hemoculturi negative, a constituit obiectul mai multor cercetări. Markerii clasici de inflamație respectiv VSH, CRP, leucocitele au fost evaluați în acest sens dar și biomarkeri mai recentți precum procalcitonina, interleukinele (IL2r și IL6) sau proteina de fixare a lipopolizaharidului (LBP). Rezultatele studiilor sunt însă contradictorii, pînă în prezent nici un astfel de biomarker nu a fost validat pentru diagnosticul endocarditelor infecțioase.

Tratamentul endocarditelor infecțioase presupune în primul rînd, utilizarea unor combinații de antibiotice, scopul final fiind eradicarea infecției. De cele mai multe ori însă, ca urmare a complicațiilor date de extinderea infecției sau de leziunile valvulare restante, este necesară asocierea tratamentului chirurgical la cel medical. Alegerea momentului operator este una dificilă și controversată fiind puse în balanță mai multe aspecte precum stadiul infecției, tipul etiologic, statusul pacientului și nu în ultimul rînd, riscul operator. Majoritatea rezultatelor provenind din studii observaționale, susțin efectul benefic al tratamentului chirurgical precoce privind reducerea mortalității, în endocarditele infecțioase complicate.

Provocările actuale în domeniul EI sunt reprezentate de diagnosticarea precoce și corectă a cazurilor, identificarea pacienților cu risc crescut de evoluție nefavorabilă și transferul lor în centre specializate medico-chirurgicale.

Contribuția personală

Cercetarea de față cuprinde patru studii , desfășurate pe o perioadă de 4 ani, în cadrul Spitalului Clinic de Boli Infecțioase și a Institutului Inimii, Cluj Napoca.

În primele două studii din partea de contribuție personală, ne-am propus o evaluare a profilului etiologic al endocarditelor infecțioase, precum și identificarea principalelor variabile care influențează diagnosticul și evoluția acestor afecțiuni. De asemenea, am efectuat o analiză a importanței individuale pe care au avut-o fiecare din criteriile Duke, în diagnosticul endocarditei infecțioase la cazurile cu care ne confruntăm în activitatea medicală de zi cu zi.

În studiul 3, a fost evaluată utilitatea markerilor clasici de inflamație în monitorizarea evoluției sub tratament a endocarditelor infecțioase. Al doilea obiectiv al studiului a fost identificarea factorilor de predicție ai tratamentului chirurgical, prin analiza multivariată.

În studiul 4, ne-am propus să evaluăm utilitatea Presepsinei, în diagnosticul endocarditei infecțioase. Presepsina este un nou biomarker propus pentru diagnosticul și stratificarea riscului în sepsis. În literatura de specialitate, pînă în prezent, nu există date cu privire la utilitatea Presepsinei în diagnosticul endocarditei infecțioase.

Metodologie generală

Protocolul de studiu a fost aprobat de către Comitetul de Etică al Universității de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu". Toți pacienții incluși în studiu au primit informații în legătură cu scopul și protocolul studiului și au semnat formularul de consimțământ privind includerea în studiu. Examinările de laborator s-au efectuat în laboratoarele Spitalului Clinic de Boli Infecțioase și al Institutului Inimii "Niculae Stăncioiu", Cluj - Napoca.

Fiecărui pacient i-au fost recoltate la internare cel puțin trei perechi de hemoculturi, concomitent cu analizele de sînge efectuate de rutină la pacienții spitalizați. Hemoculturile au fost recoltate pe mediu simplu sau mediu FAN, după caz, și prelucrate utilizând sistemul automat Bact/Alert și Bact/Alert 3D. Identificarea germenilor s-a efectuat folosind metode microbiologice standard sau sistemul automat Vitek® 2 Compact. Pentru determinarea sensibilității la antibiotice a germenilor izolați, s-au folosit metoda difuzimetrică sau sistemul automat Vitek®2 Compact.

La fiecare pacient s-a efectuat ecocardiografie transtoracică și/sau transesofagiană, după caz, imediat ce a fost posibil, după internare.

Pentru dozarea Presepsinei, în momentul internării s-au recoltat 5 ml de sînge în flacoane conținând EDTA. Flacoanele au fost apoi centrifugate la 3000 g timp de 10 minute, plasma a fost separată

și stocată la -70 grade C, pînă la prelucrare. Pentru determinarea concentrației Presepsinei, s-a utilizat analizorul automat PATHFAST® (conceput de Mitsubishi Chemical Medience Corporation).

Studiul 1. Endocarditele infecțioase: aspecte clinice și evolutive

Introducere

În practica medicală, diagnosticul EI reprezintă o provocare continuă datorată simptomatologiei polimorfe pe de o parte și pe de altă parte rarității prezenței manifestărilor clasice ale EI, în contextul schimbării profilului epidemiologic. Dificultățile de diagnostic cresc în prezența hemoculturilor negative, care ating un procent variabil între 2.5-31% din totalul EI.

Obiective

În acest studiu ne-am propus o analiză a caracteristicilor demografice, a modului de prezentare și evoluției EI. Al doilea obiectiv a fost identificarea legăturii dintre principalele tipuri etiologice ale EI certe și caracteristicile EI. Al treilea obiectiv a fost compararea endocarditelor certe cu cele posibile, în ceea ce privește principalele caracteristici ale acestora.

Material și metodă

Prezentul studiu este unul prospectiv, observațional, efectuat în perioada 2008 -2014 , în două etape, după cum urmează: ianuarie 2008 - ianuarie 2011; ianuarie 2013 –iunie 2014.

Studiul a inclus 241 de pacienți care s-au prezentat la Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și/sau la Institutul Inimii "Niculae Stăncioiu" din Cluj Napoca, cu suspiciunea clinică la internare de endocardită infecțioasă. În studiu au fost incluși atât pacienți care s-au prezentat pentru internare de la domiciliu cât și pacienții care au fost transferați cu suspiciunea de EI, în cele două servicii medicale.

Criteriile de excludere: nu au fost incluși în studiu pacienții care s-au prezentat cu diagnosticul de EI confirmat în alte servicii medicale din localitate sau din județele arundate.

Rezultate

Conform criteriilor Duke modificate 137 de pacienți au fost diagnosticați cu EI certă, 79 de pacienți cu EI posibilă și 25 de pacienți cu EI exclusă.

Media de vârstă a pacienților cu EI certă a fost 57.35 ani (18 – 84 ani) cu mediana vârstei 61 de ani. Am constatat o predominanță netă a cazurilor de EI la sexul masculin raportul M/F fiind 2.4. Din cele 137 de cazuri, 70% au fost pacienți internați de la domiciliu, 30% din cazuri fiind pacienți transferați cu suspiciunea de EI din alte servicii medicale. Din cele 137 de cazuri, 90 de cazuri (65.6%) au fost EI comunitare, restul de 47 de cazuri (34.3%) fiind EI asociate serviciilor medicale de sănătate. Din acestea 8 cazuri (5.83%) au fost EI mai probabil nozocomiale (fiind vorba de EI precoce pe valve prostetice, apărute în mai puțin de 2 luni de la protezare (4 cazuri) și respectiv cazuri de EI apărute la pacienți cu spitalizare recentă anterior debutului EI și manoperă invazivă în timpul spitalizării). Restul de 39 de cazuri, au fost EI asociate serviciilor medicale, apărute la pacienții cu hemodializă (9 cazuri) sau pacienți cu spitalizare în intervalul de 3 luni anterior debutului EI. Majoritatea cazurilor, (respectiv 56.9%) s-au prezentat pentru internare după maxim 30 de zile de la debutul simptomatologiei. Inima stângă a fost afectată în 94% din cazuri, valva aortică fiind cel mai frecvent implicată (54%). EI pe proteze valvulare a fost prezentă în 22 % din cazuri, în 53% din cazuri fiind vorba despre EI precoce. În ceea ce privește simptomatologia în EI certe am constatat prezența febrei la 80% din cazuri, a transpirațiilor nocturne în 44 % din cazuri și a sindromului asteno-adinamic în 33% din cazuri. Manifestările de tip musculo-scheletal (artralgii, mialgii) au fost prezente în 11% din cazuri. La examenul obiectiv 21% din cazuri au prezentat focare dentare confirmate de către consultul stomatologic, 11% din cazuri au prezentat manifestări cutanate sugestive pentru EI și 5% din cazuri au prezentat splenomegalie. Este de remarcat faptul că, aproximativ 50% din cazuri n-au prezentat o condiție cardiacă predispozantă cunoscută. Din totalul de 137 de cazuri de EI certă, 38 (27.73%), au reprezentat EI cu hemoculturi negative. Numărul de hemoculturi negative a fost semnificativ mai mare la pacienții pretratați cu antibiotice, la cei internați prin transfer ($p < 0.01$) și la pacienții cu proteze valvulare ($p = 0.014$). În EI cu afectare pe valvele native etiologia predominantă a fost reprezentată în mod egal de Stafilococul aureu și Streptococii viridans, în proporție de 12% din cazuri. Enterococii (10% din cazuri) și Stafilococii coagulazo-negativi (9%) au fost următoarele etiologii ca și

frecvență. În cazul EI pe proteze valvulare și dispozitive cardiace implantabile, etiologia predominantă a fost reprezentată de Stafilococii coagulazo-negativi 37%, Stafilococul aureu 10% din cazuri și Enterococi 20% din cazuri. 65% din tulpinile de Stafilococ aureu izolate au și 75 % din tulpinile de Stafilococi coagulazo-negativi au fost meticilin rezistente. Nu am constatat o asociere semnificativă statistic între etiologia streptococică și vârsta pacienților, tipul de afectare valvulară, principalele comorbidități și complicații. Etiologia stafilococică a fost mai frecventă la pacienții care au avut o internare în cele 3 luni anterioare debutului EI ($p=0.009$) și în rândul pacienților dializați, fără să atingă însă pragul de semnificație statistică ($p=0.07$). Stafilococii coagulazo-negativi s-au asociat semnificativ statistic cu vârsta > 64 de ani, prezența protezelor valvulare ($p<0.01$) și cu existența unei internări în cele 3 luni anterior debutului EI ($p<0.001$). Cu toate că numărul de pacienți cu vârsta peste 64 de ani, dependenți de hemodializă a fost mai mare în rândul pacienților cu EI enterococică, asocierea nu a fost semnificativă statistic ($p=0.08$). Afectarea hepatică cronică s-a asociat semnificativ statistic cu etiologia cu *Streptococcus gallolyticus* ($p=0.01$). Nici una din etiologii nu s-a asociat semnificativ statistic cu decesul pacienților.

Complicațiile cardiace au fost reprezentate de: abces valvular/perivalvular - o treime din cazuri, insuficiența cardiacă congestivă 14% din cazuri, tulburări de ritm cardiac 10% din cazuri. Complicațiile extracardiace observate: complicații embolice prezente la debut 9.48% din cazuri (din care 56.52% au fost embolii cerebrale); complicații embolice apărute sub tratament 14% din cazuri (o treime fiind embolii cerebrale); insuficiența renală acută 6% din cazuri. Tratamentul chirurgical a fost necesar la 50% din cazuri, în 16,8% din cazuri s-a efectuat precoce, în timpul episodului activ de EI.

Comparând cazurile de EI certă și EI posibilă am constatat: prezența comorbidităților și media indexului Charlson de comorbiditate au fost similare în ambele loturi; un procent semnificativ mai mare (70% vs.30%) din pacienții cu EI posibilă au fost pretratați cu antibiotice și implicit, procentul de hemoculturi pozitive a fost semnificativ mai mic la acest grup (7.5% vs.72.2%). Numărul de complicații cardiace și extracardiace a fost semnificativ mai mare în grupul pacienților cu EI certă comparativ cu cei cu EI posibilă ($p<0.001$). O ușoară diferență în ceea ce privește numărul de cazuri cu afectare pe inima stângă s-a observat la pacienții cu EI certă ($p=0.04$). În grupul de EI posibile, doar 9 cazuri au avut etiologie precizată, aceasta fiind reprezentată de Stafilococi coagulazo-negativi, Streptococi și Gram negativi. *Stafilococul aureu* și etiologia fungică, au fost prezente doar în grupul de EI certe.

Concluzii

1. Endocarditele infecțioase au afectat cu preponderența sexul masculin, raportul masculin/feminin fiind de 2.4, în studiul nostru. Pentru decada 7 de vârstă am constatat o tendință de egalizare a raportului dintre sexe. Media de vârstă a pacienților cu EI a fost 57.35 ani, mediana vârstei fiind 61 de ani.
2. 65.6% (90 de cazuri) din cazurile de EI certă au fost EI comunitare, restul de 34.4%(47de cazuri) fiind EI asociate serviciilor medicale de sănătate (din acestea 8 cazuri (5.83%) au fost EI nozocomiale, restul de 39 de cazuri fiind EI non-nozocomiale).
3. Aproape două treimi din cazurile de EI au prezentat simptome de debut cu mai puțin de 30 de zile anterior internării.
4. La cazurile de EI pe valve native Stafilococul aureu și Streptococii viridans au reprezentat etiologia predominantă. În EI cu localizare pe proteze valvulare, etiologia predominantă a fost reprezentată de Stafilococii coagulazo-negativi. *Streptococcus gallolyticus* a fost a treia etiologie în EI pe valve native și s-a asociat semnificativ statistic cu afectarea hepatică cronică. Afectarea hepatică cronică ar putea fi un factor de risc pentru EI cu această etiologie.
5. O treime din cazurile de EI certă și aproape 80% din cazurile de EI posibilă au prezentat hemoculturi negative. Tratamentul cu antibiotice, anterior recoltării de hemoculturi, a fost prezent la 80% din cazurile de EI cu hemoculturi negative. Indicele scăzut de suspiciune al EI poate avea un impact negativ asupra diagnosticului și evoluției EI.
6. O treime din pacienții cu EI au prezentat focare dentare, ceea ce arată importanța igienei dentare în apariția EI.
7. Anemia a fost mai frecventă la cazurile care au dezvoltat complicații cardiace.

8. Complicațiile embolice la debut au fost prezente la 20% din cazuri, ceea ce arată importanța ridicării suspiciunii de EI în prezența unui accident embolic fără o cauză evidentă.

9. Cele mai frecvente complicații cardiace au fost abcesul valvular și insuficiența valvulară semnificativă.

10. EI posibile nu s-au diferențiat semnificativ statistic de EI certe în privința vârstei, a tipului de internare, a tipului de afectare valvulară și a comorbidităților.

11. În EI certe, suma complicațiilor cardiace și extracardiace a fost semnificativ mai mare, comparativ cu EI posibile, fapt explicat mai probabil prin tipul etiologic implicat. Stafilococul aureu și etiologia fungică au fost prezente exclusiv în EI certe.

12. Aproape 50% din pacienții cu EI au necesitat tratament chirurgical, 20% din pacienți au fost supuși unui tratament chirurgical precoce.

13. Majoritatea deceselor s-au înregistrat la pacienții cu EI la care intervalul dintre debutul simptomelor și internare a fost mai mic de 30 de zile.

Studiul 2. Evaluarea criteriilor Duke în diagnosticul endocarditei infecțioase

Introducere

Criteriile Duke modificate sunt cele mai recente și mai utilizate definiții de caz pentru endocarditele infecțioase, utilizate atât în studiile epidemiologice cât și în activitatea clinică. În prezența EI cu hemoculturi negative acuratețea criteriilor Duke este diminuată, raționamentul clinic fiind esențial pentru stabilirea diagnosticului de EI.

Obiective

În studiul de față ne-am propus să evaluăm valoarea individuală a fiecăruia dintre criteriile Duke, în diagnosticul EI.

Material și metodă

Studiul a inclus cei 241 de pacienți descriși anterior. Pentru a aprecia importanța pe care fiecare criteriu Duke a avut-o în diagnosticul EI, am urmat modelul prezentat de Rognon și colaboratorii. Conform acestui model am testat două variante. În prima etapă am extras pe rând câte unul din criterii, de la fiecare caz și am calculat câte cazuri ar fi fost reclasificate într-o categorie inferioară (respectiv câte EI certe au devenit posibile sau excluse). În a doua etapă, după adăugarea câte unui singur criteriu Duke, am calculat câte cazuri de EI posibile și excluse ar fi fost clasificate ca EI Certe. Astfel am putut stabili numărul de situații în care fiecare criteriu a fost decisiv pentru clasificarea diagnostică finală.

Rezultate

Utilizând criteriile Duke modificate pacienții au fost clasificați în 3 grupe: EI certe, EI posibile și EI excluse.

Criteriul patologic, de confirmare a EI certe a fost prezent în 68 de cazuri. Considerând criteriul patologic ca și gold standard de diagnostic, din cele 68 de cazuri de EI certă, 43 (63.23%) au rămas certe pe baza criteriilor Duke clinice în timp ce 23 de cazuri (33.83%) au devenit EI posibile și 2 cazuri au rămas nedeterminate (cu mai puțin de un criteriu major și un criteriu minor sau mai puțin de 3 criterii minore). Cu alte cuvinte, o treime din EI confirmate patologic, au fost incorect clasificate ca și EI posibile, pe baza criteriilor Duke clinice.

Criteriul major microbiologic

Hemoculturile pozitive au fost prezente în 97 de cazuri (40.24%), din care 91 au fost EI certe, 5 cazuri au fost EI posibile și 1 caz a fost EI exclusă. EI cu hemoculturi negative au reprezentat 59.75% din cazuri (n=144), iar din acestea 113 cazuri (78.47%) au fost pretratate cu antibiotice anterior recoltării hemoculturilor. În absența criteriului major microbiologic, din 137 de EI certe, 43 de cazuri (32.85%) ar fi devenit EI posibile și 2 cazuri EI excluse. Când am testat ce s-ar fi întâmplat prin adăugarea criteriului microbiologic major, am constatat că numărul cazurilor de EI certă a crescut de la 137 la 211, însemnând o schimbare de 93.67%.

Criteriul major ecocardiografic

Evidența ecocardiografică a afectării endocardice a fost prezentă la 219 pacienți (90.87%). Acest criteriu a fost prezent în 135 din cazurile de EI certă, 74 din cazurile EI posibile și 10 cazuri din EI excluse.

89 de pacienți (64.96) cu EI certă au avut prezente ambele criterii majore (respectiv hemocultura pozitivă și dovada ecocardiografică a afectării endocardice). Când am exclus acest criteriu, numărul de EI certe a scăzut de la 137 la 87 de cazuri, însemnând o schimbare de 43.07% și numărul de EI posibile a scăzut de la 79 la 5 cazuri, 74 de cazuri (93.67%) devenind EI excluse.

Criteriile minore

În studiul nostru, *predispoziția cardiacă* a fost prezentă în 116 cazuri (48.13%). Dintre aceștia 63 de pacienți au avut EI certă, 45 de pacienți au avut EI posibilă și 8 cazuri au fost excluse. În absența predispoziției cardiace, 11 (9.49%) din cazurile de EI certă ar fi devenit EI posibilă. Prin adăugarea acestui criteriu la toate cazurile, 8 din cele posibile ar fi devenit certe însemnând o schimbare de 10.13%. *Febra* peste 38 °C, a fost prezentă la 181 de pacienți (75.10%) din care 109 cu EI certă, 62 cu EI posibilă și 10 cu EI exclusă. Când am exclus acest criteriu, 13 cazuri de EI certă au devenit EI posibile, însemnând 9.49 %, iar prin adăugarea acestui criteriu 8 cazuri de EI posibile (10.12%) au devenit EI certe. *Manifestările vasculare*, au fost prezente la 44 de pacienți, din care 37 cu EI certă și 7 cu EI posibilă. Embolia arterială a fost prezentă în 41 de cazuri, un caz având hemoragie cerebrală, un caz leziuni Janeway și un caz anevrism micotic. Excluderea acestui criteriu a însemnat transformarea a 7 cazuri din EI certă în EI posibilă, însemnând o schimbare de 5.11 %. Prin adăugarea acestui criteriu, 37 din cazurile de EI posibile au devenit certe, însemnând o schimbare de 46.84%. *Manifestările imunologice* au fost prezente în 27 de cazuri (12.5%). Factorul reumatoid a fost prezent în 25 de cazuri din 43 testate (19 cu EI certă, 5 cu EI posibile și 1 caz de EI exclusă), glomerulonefrita a fost prezentă într-un caz și nodulii Osler într-un alt caz. Când am adăugat factorul reumatoid, 39 din cazurile de EI posibile au devenit certe, însemnând o schimbare de 49.37%. *Criteriul minor microbiologic* a fost prezent la 15 pacienți, 11 cu EI certă și 4 cu EI posibilă. Când am exclus acest criteriu, 7 cazuri de EI certă au devenit EI posibilă și când am adăugat acest criteriu, 40 cazuri de EI posibilă au devenit EI certă, însemnând o schimbare de 50.63%. Criteriul serologic minor a fost căutat în prezența unui context epidemiologic sugestiv și a fost găsit pozitiv doar într-un caz.

Concluzii

1. În prezența unui număr mare de EI cu hemoculturi negative, sensibilitatea criteriilor Duke a fost diminuată. Considerând criteriul patologic ca și "standardul de aur" pentru diagnostic, doar 63 % din EI au fost clasificate ca și EI certe pe baza criteriilor clinice, în timp ce o treime din cazuri au fost incorect clasificate ca și EI posibile.

2. Criteriul major ecocardiografic are cea mai mare importanță în diagnosticul EI, în prezența hemoculturilor negative. Criteriul major microbiologic, care este dovada bacteriemiei caracteristice EI, a fost prezent doar la 40% din cazuri. În prezența acestui criteriu, 90% din EI posibile ar fi devenit EI certe.

3. Febra a fost prezentă doar la 80% din cazurile de EI, ceea ce a făcut ca aportul acestui criteriu în diagnosticul EI să fie mic.

4. Doar 50% din pacienții cu EI au prezentat o predispoziție cardiacă cunoscută.

5. Factorul reumatoid a fost căutat doar în 10% din cazuri. În prezența acestui criteriu, 50 % din EI posibile ar fi devenit EI certe. În condițiile unui număr mare de EI cu hemoculturi negative, căutarea amănunțită a criteriilor minore a EI este importantă. Absența manifestărilor clasice ale EI respectiv febra, predispoziția cardiacă, stigmatul periferic, fac din diagnosticul EI o provocare. În contextul actual al creșterii numărului de EI cu manifestări atipice și hemoculturi negative, reevaluarea criteriilor Duke minore și eventual căutarea de noi criterii minore, pentru a îmbunătăți sensibilitatea definiției de caz fără a-i scădea specificitatea, ar putea fi necesară.

Studiul 3. Rolul markerilor clasici ai inflamației (leucocite, CRP, VSH) în monitorizarea evoluției endocarditelor infecțioase și factorii de predicție ai tratamentului chirurgical

Introducere

Endocarditele infecțioase pot avea evoluție variabilă, de la forme care evoluează fără complicații semnificative pînă la forme complicate cu extinderea infecției perivalvular, deteriorare hemodinamică,

complicații embolice cu potențial letal crescut. În multe cazuri tratamentul chirurgical este necesar pentru salvarea vieții pacientului și eradicarea infecției. Pentru monitorizarea răspunsului la tratament în EI se urmărește evoluția clinică a pacientului, (absența febrei și a semnelor de instabilitate hemodinamică) corelată cu rezultatul hemoculturilor, aspectul ecocardiografic și evoluția markerilor clasici de inflamație (CRP, VSH, leucocite). Datele din literatură arată că evoluția valorilor CRP și a numărului de leucocite este utilă pentru aprecierea răspunsului la tratament în EI. În mod contrar, un studiu a arătat că evoluția valorilor CRP nu s-a asociat cu predicția tratamentului chirurgical.

Obiective

În acest studiu, ne-am propus să evaluăm rolul markerilor clasici de inflamație în monitorizarea evoluției sub tratament a EI. Al doilea obiectiv al studiului a fost identificarea factorilor de risc pentru predicția tratamentului chirurgical.

Material și metodă

Prezentul studiu este unul prospectiv, observațional, desfășurat pe o perioadă de 4 ani. Din lotul total de 241 de pacienți, pentru acest studiu au fost selectați 216 pacienți diagnosticați cu EI certă sau posibilă, pe baza criteriilor Duke clinice. Pentru aprecierea rolului markerilor clasici în monitorizarea tratamentului EI și evaluarea evoluției, s-a luat în studiu prima valoare, determinată la momentul internării și a doua valoare, determinată după 7 zile. O analiză univariată și apoi multivariată s-a efectuat pentru determinarea variabilelor independente asociate tratamentului chirurgical.

Rezultate

Caracteristicile demografice și clinice ale pacienților au fost prezentate în studiile anterioare. Tendința evolutivă dintre prima și a doua valoare VSH nu s-a asociat semnificativ statistic cu predicția evoluției EI. În cazul CRP, scăderea de la o medie a primei valori de 6.93 mg/dl la o medie a celei de-a doua valori de 4.23 mg/dl s-a asociat semnificativ statistic cu absența tratamentului chirurgical. În cazul leucocitelor o scădere a valorilor de la o medie de 10.400/mm³ la 9.400/mm³, s-a asociat semnificativ statistic cu evoluția favorabilă (p<0.01).

Tratamentul chirurgical a fost necesar la 81 de pacienți (37.5%), în 10% din cazuri acesta s-a efectuat precoce, în timpul puseului de EI activă, în restul cazurilor intervenția chirurgicală s-a efectuat elective, după cura de tratament antibiotic. Am efectuat o analiză univariată între pacienții cu tratament mixt medico-chirurgical și cei cu tratament medical, pentru a identifica variabilele care s-au asociat semnificativ statistic cu tratamentul chirurgical. Aceste variabile au fost: vârsta sub 64 de ani, prima valoare a VSH peste 50 mm/h, prima valoare a leucocitelor peste 9.100/mm³, abcesul valvular, dimensiunea vegetației peste 8 mm, insuficiența valvulară semnificativă și apariția complicațiilor embolice sub tratament. Prezența complicațiilor embolice la debutul EI, nu a atins pragul de semnificație statistică (p=0.08), cu toate acestea am forțat includerea acestei variabile în modelul regresiei logistice pentru identificarea factorilor de predicție ai tratamentului chirurgical. Variabilele identificate prin analiza multivariată ca fiind factori de predicție ai tratamentului chirurgical, care au intrat în alcătuirea scorului logistic au fost: insuficiența valvulară semnificativă, abcesul valvular și dimensiunea vegetației. Scorul obținut prin modelul logistic a fost: *Scor model logistic = Insuficiența valvulară x 2,18 + Abces valvular x 2,29 + Dimensiunea vegetației x 0,14 - 3,01*. Construind curba ROC pentru scorul obținut prin modelul logistic, am obținut o AUC de 0.87, valoare de cut-off a scorului fiind -0.52. La această valoare de cut-off, Sensibilitatea (Se) scorului a fost 83% cu o Specificitate (Sp) de 88%.

Concluzii

1. Variabilele identificate de analiza multivariată pentru predicția tratamentului chirurgical au fost abcesul valvular, insuficiența valvulară semnificativă și dimensiunea vegetației. Aceste variabile se regăsesc printre indicațiile de tratament chirurgical propuse de ghidurile europene pentru diagnosticul și tratamentul EI, ceea ce arată că aceste indicații sunt adecvate.

2. Markerii inflamatori nespecifici CRP, VSH și numărul de leucocite nu au fost utili în orientarea diagnosticului de EI. Prima valoare a markerilor clasici de inflamație, respectiv VSH, CRP, leucocite nu a fost utilă în predicția tratamentului chirurgical în EI. Tendința descrescătoare a celei de a doua valori a CRP și leucocitelor, a reprezentat un indiciu al evoluției favorabile a EI sub tratamentul antibiotic.

Studiul 4. Utilitatea Presepsinei (sCD14-ST) în diagnosticul endocarditei infecțioase

Introducere

Mai multe studii au încercat să identifice un marker inflamator care să ajute la stabilirea diagnosticului EI, în special în cazul hemoculturilor negative. Viteza de sedimentare a hematiilor (VSH), proteina C- reactivă (CRP), factorul reumatoid (FR) și procalcitonina (PCT) au fost evaluate, dar rezultatele sunt controversate și până acum doar FR a fost acceptat ca și criteriu minor al endocarditei infecțioase.

Recent, un nou biomarker a fost propus pentru diagnosticul infecției bacteriene și a sepsisului. Acest biomarker, numit sCD14-ST sau Presepsina, este fracțiunea solubilă a coreceptorului CD14. În EI bacteriemia este atât cauza cât și consecința afecțiunii. Începând ca o infecție localizată la inimă, endocardita infecțioasă se răspândește de regulă local și/sau la distanță prin embolie septică. Mai mult, evoluția spre sepsis sever sau chiar șoc septic sever este posibilă.

Obiective

Pornind de la datele prezentate mai sus, principala ipoteză a fost că Presepsina ar putea fi un marker adițional pentru diagnosticul endocarditei infecțioase. După cunoștințele noastre, până în prezent, nici un studiu existent în literatura de specialitate nu a evaluat utilitatea presepsinei în EI.

Material și metodă

Am efectuat un studiu prospectiv, observațional, în perioada Noiembrie 2013 - Iulie 2014, în care au fost incluși pacienții adulți care s-au prezentat cu suspiciunea de EI la Spitalul Clinic de Boli Infecțioase. Criteriile de includere au fost: 1) suflu cardiac nou depistat; 2) embolii de cauză necunoscută; 3) febră și una din următoarele situații: proteză valvulară; antecedente de EI; afecțiuni valvulare congenitale sau dobândite; intervenție recentă asociată cu bacteriemie; insuficiența cardiacă congestivă, manifestări vasculare și imunologice (embolii, hemoragii unghiale, leziuni Janeway, noduli Osler); 4) febra și niciun semn clinic de infecție localizată. Criterii de excludere: febra/ hipotermia și prezența unui focar infecțios evident. Diagnosticul final de EI s-a stabilit prin aplicarea criteriilor Duke modificate. Pacienții au fost clasificați în două grupuri: pacienți cu EI certă și exclusă. În grupul cu EI exclusă, 7 pacienți au fost diagnosticați cu sepsis.

Rezultate

Studiul a inclus 29 de pacienți (19 bărbați și 10 femei) cu suspiciunea clinică de endocardită infecțioasă. Potrivit criteriilor Duke 14 pacienți au fost diagnosticați cu EI certă și 15 pacienți cu EI exclusă. Confirmarea histopatologică a EI a fost obținută în 9 cazuri (în 7 cazuri consecutiv intervenției chirurgicale și în 2 cazuri postmortem). Trei cazuri diagnosticate inițial ca și EI posibilă pe baza criteriilor clinice, au fost confirmate ca și EI certă pe baza examenului histopatologic. Cei 7 pacienți diagnosticați cu sepsis fără afectare endocardică, nu au fost incluși în analiza finală deoarece, intenția noastră a fost să evaluăm utilitatea presepsinei în diagnosticul EI, nu în sepsis. Diagnosticul final în grupul celor 8 pacienți cu EI exclusă a fost (reumatism articular acut 1 caz, afecțiune valvulară degenerativă 4 cazuri, infarct miocardic acut un caz și pneumonie acută 2 cazuri). Nu au fost diferențe semnificative statistice între cele două grupuri în ceea ce privește de vârstă, sexul și comorbiditățile. Parametrii inflamatori nespecifici, respectiv VSH, CRP și numărul de leucocite, nu au prezentat valori semnificative statistice la pacienții cu EI. De asemenea, valorile creatininei nu au fost semnificativ diferite statistice în cele două grupuri. Valorile FR au fost semnificativ mai mari în grupul pacienților cu EI (valoarea $p=0.03$). Pacienții cu EI certă au prezentat valori ale Presepsinei semnificativ mai mari decât pacienții cu EI exclusă AUC a prezentat o valoare semnificativ mai mare în cazul Presepsinei (AUC=0.78) comparativ cu CRP (AUC=0.62) La o valoare prag a Presepsinei de 345 pg/ml am obținut o Se de 64 % cu o Sp de 80 % și VPP de 90 %. În grupul pacienților cu EI certă, 5 cazuri au avut hemoculturi negative însemând un procent de 35.71% din care 4 cazuri (80%) s-au datorat pretratării cu antibiotice, anterior internării. Utilizând valoarea prag de 345 pg/ml pentru Presepsină, am efectuat o analiză comparativă în ceea ce privește rezultatul pozitiv respective negative al hemoculturilor și nu am găsit diferențe semnificative statistice ($p=0.74$).

Concluzii

1. Nivelele Presepsinei s-au asociat semnificativ statistic cu diagnosticul EI. O valoare de 345 pg/ml, a arătat o Sp de 88 % și VPP de 90 %, aceasta însemnând că, valoarea pozitivă a Presepsinei poate susține diagnosticul de EI, în situațiile în care suspiciunea de EI este mare.
2. Diferența nesemnificativă a Presepsinei între pacienții cu EI și hemoculturi pozitive față de pacienții cu EI și hemoculturi negative, sugerează că acest marker ar putea fi util în ambele categorii de EI (cu etiologie precizată și neprecizată)
3. Specificitatea crescută a Presepsinei pentru infecția bacteriană, timpul scurt în care atinge nivele mari în circulația sanguină și posibilitatea obținerii rezultatului în 20 de minute de la internare, o recomandă ca și un marker foarte util pentru evitarea abuzului de antibiotice în aceste vremuri în care ne confruntăm cu emergența de germeni rezistenți la antibiotice.
4. Rezultatele noastre privind utilitatea Presepsinei în diagnosticul EI au o putere statistică mică, datorită numărului redus de cazuri. Studii viitoare de o mai mare amploare sunt necesare pentru confirmarea utilității presepsinei în diagnosticul EI și posibil și în stratificarea riscului de deces.

Originalitatea/Contribuțiile inovative

În partea de contribuție personală a tezei, s-a efectuat o prezentare detaliată a aspectelor clinice și evolutive la pacienții cu EI certă și de asemenea o comparație între endocarditele infecțioase certe și cele posibile. S-a observat prezența unui procent semnificativ de EI cu hemoculturi negative, cauza cea mai probabilă fiind administrarea de antibiotice anterior recoltării de hemoculturi, ceea ce arată nivelul mic de suspiciune a EI. Analiza detaliată a prezenței fiecăruia dintre criteriile Duke la cazurile de EI, constituie unul din punctele originale ale tezei. Această analiză a relevat o scădere a sensibilității acestor criterii în prezența unui procent mare de hemoculturi negative. Mai mult decât atât, o mare parte din criteriile minore de diagnostic (febra, predispoziția cardiacă, manifestările imunologice) au avut o frecvență mică la cazurile examinate, aceasta subliniind o dată în plus dificultatea diagnosticului în EI.

Efectuarea unei analize multivariate pentru identificarea factorilor de predicție ai tratamentului chirurgical al EI, reprezintă un alt punct original al tezei. Chiar dacă factorii de predicție identificați au fost factori care se regăsesc în recomandările ghidurilor pentru intervenția chirurgicală, utilizarea scorului logistic obținut prin analiză poate fi utilă în susținerea deciziei de tratament.

Identificarea unui biomarker care să ajute în orientarea diagnosticului EI, ar fi mai mult decât necesară, în special în cazul EI cu hemoculturi negative. În 2011 a fost propus un nou marker, Presepsina, pentru diagnosticul și stratificarea riscului în sepsis. Având în vedere că EI este o infecție locală cu potențial evolutiv la distanță de situsul primar la infecției până la dezvoltarea unui tablou clinic de sepsis, în cercetarea de față am încercat o evaluare a utilității Presepsinei în diagnosticul EI. Din cunoștințele noastre, nici un studiu pe această temă nu a fost publicat până în prezent. Rezultatele noastre sunt promițătoare dar, necesită confirmare prin studii viitoare de mai mare amploare, cu un design adecvat care să permită și evaluarea utilității Presepsinei în detectarea bacteriemiei din EI.

“IULIU HAȚIEGANU” UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY

ABSTRACT OF THE DOCTORAL THESIS

Current aspects of the etiology, diagnosis and treatment in infective endocarditis

PhD candidate **Adriana Violeta Topan**

Scientific Coordinator **Prof. Dr. Dumitru Cârstina**



Cluj-Napoca 2015

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION	13
CURRENT STAGE OF KNOWLEDGE	
1. Epidemiology and etiology of infective endocarditis	17
1.1. Epidemiology of infective endocarditis	17
1.2. Etiology of infective endocarditis	18
1.2.1. Gram positive cocci	18
1.2.2. Gram negative bacteria	22
1.2.3. Anaerobes	24
1.2.4. Fungal etiology	24
1.2.5. Etiology of blood culture negative endocarditis	24
2. Pathogenesis of infective endocarditis	27
2.1. Pathogenesis of native valves endocarditis	27
2.2. Pathogenesis of prosthetic valves endocarditis	30
2.3. The role of tissue factor in infective endocarditis	31
3. Diagnosis of infective endocarditis	33
3.1. Diagnosis criteria	33
3.2. The role of imaging investigations in diagnosis of infective endocarditis	34
3.2.1. Ecocardiography	34
3.2.2. Complementary imaging studies for diagnosis of infective endocarditis	36
3.3. Diagnosis of blood culture negative endocarditis	37
3.3.1. Complementary tools in the diagnosis of infective endocarditis	38
3.4. Laboratory test in infective endocarditis	39
3.4.1. Hematologic tests and urine exam in endocarditis	39
3.4.2. Non-specific inflammatory markers	40
3.4.3. Procalcitonin in infective endocarditis	41
3.4.4. The role of Presepsin (sCD14-ST) in diagnosis of endocarditis	42
4. Treatment of infective endocarditis	45
4.1. Medical treatment	45
4.1.1. General principles of medical treatment	45
4.1.2. Antithrombotic treatment in endocarditis	46
4.2. Surgical treatment in infective endocarditis	47
PERSONAL CONTRIBUTION	
1. Hypothesis/objectives	51
2. Methods	53
3. Study 1. Infective endocarditis: clinical and evolutive aspects	57
3.1. Introduction	57
3.2. Hypothesis/objectives	57
3.3. Material and methods	58
3.4. Results	59
3.5. Discussion	71
3.6. Conclusions	75
4. Study 2. Assessment of the Duke criteria in diagnosis of infective endocarditis	77
4.1. Introduction	77
4.2. Hypothesis/objectives	78
4.3. Material and methods	78

4.4. Results	78
4.5. Discussion	81
4.6. Conclusions	83
5. Study 3. The role of non-specific inflammatory markers (leucocytes, CRP, ESR) in monitoring the evolution of the infective endocarditis and the prediction factors of surgical treatment	85
5.1. Introduction	85
5.2. Material and method	86
5.3. Results	86
5.4. Discussion	93
5.5. Conclusions	96
6. Study 4. The usefulness of Presepsin (sCD14-ST) in diagnosis of infective endocarditis	97
6.1. Introduction	97
6.2. Hypothesis/objectives	98
6.3. Material and method	98
6.4. Results	99
6.5. Discussion	103
6.6. Conclusions	105
7. General conclusions	107
8. Innovative contributions and originality of the thesis	111
REFERENCES	113
ANNEX 1	131

Key words: infective endocarditis, diagnosis, blood cultures, Duke criteria, surgical treatment, PATHFAST, Presepsin

Introduction

Infective endocarditis (IE) is an infection of the endocardium, especially of the cardiac valves, with a serious potential of evolution and a high risk of mortality. Despite of the achieved progress in the diagnosis and treatment of these infections, the mortality rate remains high, being on average around 20%-30%. This apparent paradox can be explained by the continuous changes of the epidemiological and etiological profile of these diseases. Traditionally, IE were reported in young patients with rheumatic valvulopathies, the predominant etiology being represented by *Streptococci viridans*. Nowadays, the majority of infective endocarditis cases appear in elderly population with degenerative valvulopathies, in patients with multiple comorbidities and frequent contacts with healthcare services, in intravenous drug abusers or in patients with prosthetic valves or implanted cardiovascular devices. This change of the epidemiological profile has led to a new predominant etiology which is now represented by germs with high virulence as *Staphylococcus aureus*.

In the case of a patient with high fever, known underlying cardiac predisposition, positive blood cultures with germs specific to IE and characteristic echocardiographic aspects, the diagnosis of IE is obvious. In daily medical practice, these situations are rare, much frequently being cases with non-specific signs and symptoms and negative blood cultures, thus the diagnosis being a challenge. Modified Duke criteria are the most recently case definitions used for the diagnosis of IE. These criteria combine two major criteria (blood culture results and echocardiographic evidence of endocardial involvement) with five minor criteria. In the presence of negative blood culture or/and of an echocardiographic image difficult to interpret, the performance of Duke criteria is diminished. Finding an additional biomarker for the diagnosis of infective endocarditis has been the objective of many research works. Non-specific inflammatory markers such as ESR, CRP, leukocytes were evaluated with this respect and also more recent biomarkers like procalcitonin, interleukines (IL2r and IL6) or lipopolisaharid binding protein

(LBP). Results of the studies are still controversial, and until now no biomarker has been validated for the diagnosis of IE. Medical treatment of IE uses several antibiotics combinations, the final purpose being the eradication of the infection. Most of the times, the surgical treatment is needed in association with the medical treatment, due to the complications that appear as a result of the extension of the infection or due to the remained valvular lesions. The timing of the surgery is being difficult to establish since several aspects such as the stage of the infection, etiology, comorbidities host conditions and the operatory risk need to be taken into account. The majority of the results coming from observational studies claim the beneficial role of early surgical treatment in reducing the mortality rate, in complicated infective endocarditis.

The actual challenges in the management of IE are early and proper diagnosis and identification of the patients with a high risk of serious complications in order to be closely monitorized and transferred in settings with medical - surgical departments.

Personal contribution

The present work is structured in four studies, carried during 4 years, at the Infectious Diseases Hospital and the Heart Institute, from Cluj-Napoca.

In the first two studies from personal contribution section, we proposed to evaluate the ethiological profile of IE and also to identify the main variables that influence the diagnosis and the evolution of this disease. We performed an analysis of the individual importance of each of the Duke criteria in the diagnosis of IE in the cases most often seen in the daily practice.

In the third study, our main objective was to evaluate the usefulness of the non-specific inflammatory markers in monitoring the evolution of IE under medical treatment. The second objective was the identifications of the predictor factors of surgical treatment by a multivariate analysis.

In the fourth study, we proposed to evaluate the usefulness of Presepsin in the diagnosis of IE. Presepsin is a new biomarker which has been proposed for the diagnosis and risk stratification in sepsis. To the best of our knowledge, this is the first study in which the usefulness of Presepsin was evaluated for the diagnosis of IE.

General methods

The study protocol has been approved by the Ethical Committee of the University of Medicine and Pharmacy "Iuliu Hatieganu". All the patients included in the study were informed about the purpose and the protocol of the study and signed the informed consent regarding their inclusion in the study. The blood tests were performed in the laboratory of the two medical settings mentioned above. At least three blood cultures have been taken from each patient in the same time with routine blood tests. Blood cultures were performed using the automated system Bact/Alert and Bact/Alert 3D. The identification of the germs was performed using standard microbiological method and the automated system Vitek®2 Compact. For determining the antibiotic susceptibility of the isolated germs, the difusimetric method was used and the automated system Vitek®2Compact.

For each patient was performed a TTE and/or TEE, as soon as it was possible after the admittance.

For determination of Presepsin, 5 ml of blood were collected in endotoxin tubes, containing EDTA, centrifuged at 3000 g for 10 min. and obtained plasma was stored at -70°C. PATHFAST automated immunoassay analyzer (Mitsubishi Chemical Europe GmbH) was used to determine presepsin concentration. The test principle of PATHFAST is based on a non-competitive chemiluminiscent enzyme immunoassay (CLEIA) combined with Magtration Technology.

Study 1. Infective endocarditis: clinical and evolution aspects

Introduction

In daily medical practice, the diagnosis of IE represents a continuous challenge due to the non-specific symptomatology and the scarcity of the classical presentation of IE in the actual context of the changes in epidemiological profile. The difficulties in the diagnosis of IE are even higher in the presence of negative blood cultures which vary between 2.5 and 31% of the total of IE.

Objectives

In this study, the main objective was the evaluation of the demographic, clinical and evolution aspects of the IE. The second objective was to identify the association between the principle etiologies of the definite IE and the main characteristic of IE. The third objective was to compare definite IE with possible IE regarding the main characteristics of these two groups.

Material and method

We performed a prospective observational study, during the period 2008-2014, in two sub-periods as it follows: January 2008- January 2011; January 2013- June 2014.

The study included 241 patients which came at the Infectious Diseases Hospital and/or the Heart Institute from Cluj-Napoca with clinical suspicion of infective endocarditis. The study included patients which were coming from home as well as referred patients with the clinical suspicion of IE, in the both medical settings.

The exclusion criterion: there have not been included in the study patients who were diagnosed with definite IE in other medical services or from surrounding counties.

Results

According to the modified Duke criteria, 137 patients have been diagnosed with definite IE, 79 patients with possible and 25 with rejected IE.

The average age of the patients with definite IE was 57.35 (18-84 years) with the median age of 61 years. We noticed a net prevalence of the cases with IE in male patients, male-female ratio being 2.4. From those 137 cases, 70% were patients coming from home and 30% were patients referred from other medical services, with clinical suspicion of IE. From those 137 cases, 90 cases (65.6) were community IE, the rest of 47 cases (34.3%) were cases of health-care associated IE. From this latter category, 8 cases (5.85%) were nosocomial IE – (early prosthetic valves IE 4 cases, developed after less than two months after surgery and 4 cases were patients with recent hospitalization and invasive manopera) and 39 cases (28.4%) were non-nosocomial, health care-associated IE (in patients with haemodialysis or hospitalized in an acute care facility in the previous 3 months before the onset of the IE). In the majority of the cases (56.9%), the onset of the symptoms was under 30 days. Left-sided of the heart was affected in 94% out of the cases, the aortic valve being the most frequent involved (54%). Prosthetic valves infective endocarditis was recorded in 22% of the cases. Fever was present in 80% of the cases, night sweats in 44% of the cases and fatigues in 33% of the cases. Musculoskeletal symptoms (myalgias, arthralgias) were present in 11% of the cases. On physical examinations, 21% of the cases presented dental decays, 11% presenting cutaneous manifestations of IE and 5% splenomegaly. 41% of the cases were patients without known underlying cardiac predisposition. Out of all 137 cases of definite IE, 38 (27.73%) were blood culture negative infective endocarditis. A number of negative blood cultures was statistically significant higher in patients with antibiotic treatment prior to blood culture samples, in referral patients ($p<0.01$) and in patients with valvular prosthesis ($p=0.014$).

In native valves endocarditis the predominant etiology was *Staphylococcus aureus* and *Streptococci viridans*, 12% each of them. Next etiologies as frequency were enterococci 10% and coagulase -negative Staphylococci (9%). In prosthetic valves endocarditis and cardiovascular devices related IE, the predominant etiology was coagulase- negative Staphylococci 37%, *Staphylococcus aureus* 10% and enterococci 20%. 65% from the *Staphylococcus aureus* isolates and 75% from coagulase-negative Staphylococci, were methicillin resistant. We did not depict a significant statistical association between streptococcal etiology and age, type of valvular involvement, main comorbidities and complications. The staphylococcal etiology was more frequent at the patients with a previous hospitalization in the 3 months before the onset of the disease ($p=0.09$) and also in patients with chronic hemodialysis, without reaching the statistical significant level ($p=0.07$). Coagulase - negative staphylococci were statistically significant associated with age over 64 years, prosthetic valves ($p<0.01$) and presence of hospitalization in the previous three months before onset ($p<0.01$). Although the number of patients older than 64 years, and with hemodialysis was higher among the patients with enterococcus IE, the association did not reach the statistical significant level ($p=0.08$). Chronic liver disease was significant associated with *Streptococcus*

gallolyticus etiology (p=0.01). None of the etiologies was significantly associated with the hospital mortality.

The cardiac complications were valvular abscesses in one third of the cases, congestive heart failure in 14% of the cases, cardiac rhythm disorders 10%. Non-cardiac complications were: embolic complications at the onset of the disease in 9.48% of cases (from which 56.52% were cerebral embolic events); embolic complications under medical treatment in 14% of the cases (one third being embolic stroke); and acute renal failure in 6% of the cases. Surgical treatment was needed in 50% of the cases, out of which in 16.8% of the cases it was an early surgical treatment.

Comparing definite IE with possible IE, the presence of comorbidities and average of the Charlson index were similar in both groups; a higher percent of patients with empirical antibiotic treatment before blood culture samples was observed in the possible IE group (70% versus 30%) and thus, positive blood culture percentage was significantly lower in this group (7.5% versus 72.2%). The number of cardiac and non-cardiac complications was significantly higher in the group of the patients with definite IE compared with those with possible IE (p<0.01). A small difference in what concerns the number of the cases with left sided IE was observed in the group of definite IE (p=0.04). Only 9 patients with possible IE had positive blood cultures with coagulase negative Staphylococci, Streptococci and Gram negative rods. *Stafilococcus aureus* and fungal etiology was isolated only in definite IE patients.

Conclusions

1. Infective endocarditis affected mainly male patients, the ratio male/female being of 2.4, in our study. For the 7 decade of age, we noticed a tendency of equality of the ratio between genders. The average age of the patients was 57.35 years, with the median age of 61 years.
2. 65.6% of the definite IE cases were communitary IE, while 47 cases (34.3) were health-care associated IE.
3. Almost two thirds from the IE cases presented the onset symptoms in less than 30 days before admittance in the hospital.
4. In the cases of native valves IE, *Staphylococcus aureus* and Streptococci viridans were the predominant etiology. In prosthetic valves IE, the main etiology was represented by coagulase negative Staphylococci. *Streptococcus gallolyticus* was the first etiology in native valves endocarditis and was significantly correlated with chronic liver diseases. Chronic liver diseases could be a risk factor for IE with this etiology.
5. One third of the definite IE and almost 80% of possible IE were blood cultures negative IE. The antibiotic treatment prior to blood culture was recorded in 80% of blood culture negative IE. Low index of suspicion of IE could have a negative impact on the diagnosis and the evolution of IE
6. One third of the IE patients presented dental decays thus reflecting the importance of oral hygiene in the incidence of IE.
7. Anemia was much frequent in cases with cardiac complications.
8. Embolic complications at the onset of the disease were present in 20% of the cases, which shows the importance of a high suspicion of IE in the presence of an embolic event without an obvious cause.
9. The most frequent cardiac complications were valvular abscess and significant valvular insufficiency.
10. Possible IE did not show significant differences from definite IE regarding the age, type of admittance, type of valvular involvement and comorbidities.
11. In definite IE, the sum of the cardiac and non-cardiac complications was significantly higher, in comparison with possible IE, fact explained most probably by the implied etiological type. *Staphyococcus aureus* and fungal etiology were exclusively present in definite IE.
12. Almost 50% percent of the IE patients needed surgical treatment, 20% of these having early surgical treatment.
13. The majority of deaths have been recorded in patients with the onset of the symptoms lower than 30 days before admittance.

Study 2. Assessment of the Duke criteria in diagnosis of infective endocarditis

Introduction

The modified Duke criteria are the most recent and most used case definitions for IE, used both in epidemiological studies and clinical activity. In the presence of blood culture negative IE, the performance of Duke criteria is diminished, clinical judgment being essential for the diagnosis of IE.

Objective

In the present study, we evaluated the individual value of each of the Duke criteria in the diagnosis of IE.

Material and method

The study included those 241 patients described in study 1. In order to assess the individual importance of each Duke criteria we applied the model presented by Rognon et al. According to this model, we tested two hypotheses. First, each major and minor criterion was excluded from the final classification and we counted how many cases fell into a lower category (e.g. how many definite cases have become possible or rejected and how many possible cases have become rejected). Second, after adding just one criterion we counted how many possible and rejected cases would have been classifiable as definite. In this way we determined the number of situations in which a given criterion is decisive for the final diagnostic classification.

Results

Using modified Duke criteria, patients were classified in 3 groups: definite IE, possible IE and rejected IE.

Pathological criteria for definite IE were available in 68 cases. When we considered the pathologic criteria as a gold standard method for the diagnosis, from those 68 cases of definite IE, 43 (63.23%) remained definite according to the clinical Duke criteria while 23 cases (33.83%) became possible IE and two cases were undetermined (with less than one major and one minor criteria) or less than three minor criteria. In other words, one third of the IE confirmed by pathological exam were misclassified as possible IE, based on clinical Duke criteria only.

The major microbiological criterion

Major microbiological criteria was present in 97 (40.24%) cases, from which 91 were definite cases, five cases were possible IE and 1 case was rejected IE. In 144 patients the blood culture results were negative, 113 patients (78, 47%) being previously treated with antibiotic.

In the absence of the major microbiological criteria, from the 137 definite criteria, 43 cases (32.85%) cases would become possible and 2 undetermined. When we tested what would happen if all cases had the major microbiological criteria, we found that the number of definite IE cases increased from 137 cases to 211, 74 cases would become definite from possible IE, meaning a change of 93.67%.

Ecocardiographic evidence of endocardial involvement

Two hundred and nineteen patients (90.87%) had the major criterion of endocardial involvement present. This criterion was present in 135 of definite IE cases, 74 of possible IE and 10 of the rejected cases.

When we excluded this criterion, the number of definite IE has decreased from 137 cases to 78 cases, meaning a change of 43.07% and the number of possible IE has decreased from 79 cases to 5 cases, 74 cases becoming undetermined. Eighty-nine patients (64.96%) with definite IE had both major criteria present (blood culture positive and echocardiographic evidence of endocardial involvement).

Minor criteria

In our study population, *cardiac predisposition* criterion was present in 116 patients (48.13%). Of these, 63 patients had definite IE, 45 patients had possible IE and 8 cases had rejected IE. None of our patients had intravenous drug abuse as a predisposition of IE. In the absence of this minor criterion 11 definite cases (9.49%), would have become possible IE. When we added cardiac predisposition criterion to all cases, 8 from the possible IE became definite IE, meaning a change of 10.13%. *Fever* was present in 181 patients (75.10%) from which 109 patients with definite IE, 62 patients with possible IE and 10 patients with rejected IE. The rest of our patients either had low fever, meaning a body temperature

between 37,5 - 38°C or they had been afebrile. When we excluded this criterion, 13 cases of definite IE became possible IE, meaning 9.49% cases and when we added this minor criterion, 8 possible cases became definite IE, meaning 10.13%. The minor criterion *vascular phenomena* was present in 44 patients, from which 34 patients with definite IE and 7 patients with possible IE. None of the rejected patients had this minor criterion. Arterial embolism was present in 41 cases, one case had cerebral hemorrhage, one case had Janeway's lesion and one case had mycotic aneurysm. Exclusion of this criterion relegates 7 of the definite IE in to possible IE, meaning a change of 5.11%. After adding vascular phenomena criterion to all cases, 37 of the possible cases became definite IE, meaning a change of 46.84%. *Immunologic phenomena* criterion was present in 27 cases. Rheumatoid factor was present in 25 cases from 43 tested cases, (19 definite IE cases, 5 possible IE and 1 rejected IE cases), glomerulonephritis was present in one case and Osler's nodes in one case. When we added rheumatoid factor criterion, 39 of the possible IE cases became definite IE, meaning a change of 49.37%.

Minor microbiological criterion was present in 15 patients, 11 with definite IE and 4 with possible IE. When we excluded this criterion, 7 definite IE cases relegates in possible IE and when we added this criterion, 40 possible IE cases became definite, meaning a change of 50.63%. Minor serological criterion was searched in suggestive epidemiological context and in was found positive in only one case.

Conclusions

1. In the presence of a high number of negative IE, the sensitivity of Duke criteria was diminished. Considering the pathologic criteria as the gold standard for the diagnosis, only 33% of IE were classified as definite IE while almost one third were misclassified as possible IE.

2. The major ecocardiographic criterion has the main importance in the diagnosis IE in cases of blood culture negative results. The microbiological major criterion, which is the proof of characteristic bacteremia in IE was present only in 40% of the cases. In the presence of these criteria, 90% of the possible IE could become definite IE.

3. Fever was present only in 80% of the IE cases, thus the importance of this criterion in the diagnosis of IE was low.

4. Only 50% of IE cases presented a known underlying cardiac predisposition.

5. The rheumatoid factor was searched only in 10% of the cases. In the presence of this criterion 50% of the possible IE could become definite IE. In the presence of a high percent of blood culture negative IE, searching for all minor criteria of IE is important. The lack of classical manifestation meaning fever, cardiac predisposition, and peripheral stigmata makes the diagnosis of IE a challenging issue.

Study 3. The role of non-specific inflammatory markers (leucocytes, CRP, ESR) in monitoring the evolution of the infective endocarditis and the prediction factors of surgical treatment

Introduction

Infective endocarditis are serious infection with variable evolution from mild evolution to complicated evolution consisting in the perivalvular extension of the bacterial infection, hemodynamic instability and embolic events with lethal potential. In many cases, surgical treatment is needed in association with medical treatment, in order to eradicate the infection and to save lives of the patients. In daily medical practice, we use clinical evolution (absence of fever, absence of hemodynamic instability) combined with blood culture results, echocardiography and inflammatory markers in order to appreciate the evolution of IE under medical treatment. Current data have shown data CRP and leukocytes are usefull in monitoring the evolution of IE. Other study has shown that CRP values were not usefull in predicting the need for surgical treatment.

Objective

In this study, we evaluated the role of the non-specific inflammatory markers in monitoring the evolution of IE under medical treatment. The second objective of the study was to identify the predictors of surgical treatment.

Material and method

The present study is a prospective and observational study, carried during 4 years. From the total sample of 241 patients, we selected 216 patients diagnosed with IE confirmed or possible, based on clinical Duke criteria. To appreciate the role of the classical biomarkers in monitoring the treatment of IE and to evaluate the evolution, we used the first value of these markers at the admittance and the second value evaluated after 7 days of treatments. A univariate analysis and then a multivariate one were performed to identify the independent variables associated with surgical treatment.

Results

The demographic and clinical characteristics of the patients were presented in the previous studies. The dynamic evolution between the first and the second value of the ESR did not significantly correlate with the evolution of IE. For CRP, the decrease from an average of the first value of 6.93 mg/dl to an average of 4.23 mg/dl has been significantly associated with the lack of surgical treatment. In the case of leukocytes, a decrease of the values from an average of 10400/ mm³ to 9400/ mm³, has been significantly associated with the favorable evolution ($p < 0.01$).

The surgical treatment was necessary in 81 patients (37.5%), in 10% of the cases it was a need for early surgical treatment, while for the rest of the cases the surgical treatment was an elective one. We performed a univariate analysis in order to compare the patients with medical surgical treatment and those with medical treatment alone, and we identified the variables that were statistically significant associated with surgical treatment. Those variables were: age below 64 years, first value of ESR greater than 50mm/hour, first value of leukocytes greater than 9100/mm³, valvular abscesses, size of the vegetations greater than 8 mm, severe valvular insufficiency and embolic complications under medical treatment. The presence of embolic complications at the onset of IE did not reach the statistical significant level ($p = 0.08$) still we have first the inclusion of this variable in the model of logistic regression for the identification of the prediction factors of surgical treatment. The variables identified through the multivariate analysis as being predictors of surgical treatment were: severe valvular insufficiency, valvular abscess and size of the vegetation. The obtained score by the logistic model was:

Score logistic model = Valvular insufficiency \times 2.18 + valvular abscess \times 2.29 + size of the vegetation \times 0.14 - 3.01

ROC curve for the score obtained by the logistic model revealed an AUC of 0.87, the cut-off value being -0.52. For this cut-off, the sensitivity of the score was 83% and the specificity (Sp) 88%.

Conclusions

1. The variables identified by the multivariate analysis for the prediction of surgical treatment were valvular abscesses, severe valvular insufficiency and size of the vegetation. These variables are already surgical treatment recommendations proposed by the European guidelines for the diagnosis and treatment of IE, thus showing once more that these recommendations are appropriate.

2. Non-specific inflammatory markers ESR, CRP and leukocytes were not useful for the diagnosis of IE. First value of these inflammatory markers was not useful in prediction of surgical treatment in IE. The decreasing trend of the second value of CRP and leukocytes was significantly associated with favourable evolution under medical treatment.

Study 4. The usefulness of Presepsin (sCD-ST) in the diagnosis of the infective endocarditis

Introduction

Several studies have tried to identify an inflammatory marker in order to improve the diagnosis of IE, especially in blood culture negative cases. Erythrocyte sedimentation rate (ESR), C reactive protein (CRP), rheumatoid factor (RF), procalcitonin (PCT) have been evaluated but the results are controversial and until now only FR has been included as a minor Duke criterion. Recently a new biomarker has been proposed for the diagnosis of the bacterial infection and sepsis. This biomarker named sCD14-ST or Presepsin is the soluble fraction of the co-receptor CD14. In IE, bacteremia is not only the cause but also the consequence of the disease. Starting as a localized infection in the heart, infective endocarditis spreads

locally and/or at distance through septic embolism. Furthermore, the evolution through severe sepsis and even septic shock is possible.

Objectives

Starting from these data, our main hypothesis was that presepsin could be an useful additional marker for the diagnosis of IE. To the best of our knowledge, until now there is no other similar study in the related literature regarding this issue.

Material and method

We performed a prospective observational study at the University Hospital of Infectious Diseases, a tertiary care center in Cluj-Napoca.

Between November 2013 - July 2014, a total of 29 consecutive adult patients hospitalised with clinical suspicion of infective endocarditis were enrolled. Clinical suspicion of infective endocarditis was raised based on the recommendation criteria of ESC (European Society of Cardiology). Inclusion criteria were 1) new regurgitant murmur, 2) embolic events of unknown origin, 3) fever and intracardiac prosthetic material; previous history of IE; previous valvular or congenital heart disease; recent intervention associated with bacteremia; congestive heart failure; vascular and immunologic phenomena (embolic event, splinter haemorrhages, Janeway lesions, Osler's nodes, or; 4) fever and no clinical signs of localised infection. The exclusion criterion was fever or hypothermia, with an obvious origin other than endocarditis.

Results

This study included 29 patients (19 men and 10 women) with clinical suspicion of infective endocarditis. According to modified Duke criteria final diagnosis was definite IE in 14 cases and rejected IE in 15 cases. In tabel I, combinations of Duke criteria in IE cases, are presented. In the IE group of patients, pathologic confirmation was available for 9 cases (7 cases from surgery and 2 cases from autopsy). Three cases were initially diagnosed with possible IE and upgraded to definite IE after pathological confirmation obtained from surgery. 7 patients (only 2 with positive blood culture), diagnosed with sepsis and no endocardial involvement were excluded from the final analysis. Usefulness of presepsin in diagnosis of sepsis was already presented and we intended to evaluate the utility for the diagnosis of IE. Final diagnosis in the rejected group was non-infectious disease in 6 cases (rheumatic acute fever n=1 case; degenerative valvular disease in n=4 cases, acute coronary ischemia n=1 case) and acute pneumonia (n=2 cases). We have found a similar median age in both groups and no significant differences regarding the presence of comorbidities.

Blood culture negative endocarditis were found in 5 cases (35,71%) from which 4 cases (80%) had antibiotic treatment prior to admittance. Non-specific inflammator markers ESR, CRP and leukocytes, were not statistically significant associated with IE. Creatinine levels were not statistically different between IE and non-IE groups. Rheumatoid factor levels were significantly statistical higher among IE patients group. Presepsin levels in the definite IE group were significantly higher than the rejected IE group (p value<0.03). The rheumatoid factor levels were significantly different between those two groups (p<0.03). The AUC were 0.615 (95%confidence interval (CI) 0.35-0.88) for CRP and 0.781 (95% CI 0.59-0.97) for presepsin, respectively. A value of 345 pg/ml has sensitivity (Se) of 68% and specificity (Sp) of 88%. At this value, when we compared positive blood culture with negative blood culture patients, in the definite IE group, no significant difference was found (p=0.74).

Conclusions

1. The levels of Presepsin were significantly associated with the diagnosis of IE. A value of 345 pg/ml had a specificity of 88% and a positive predictive value of 90%, meaning that positive value of Presepsin could sustain the diagnosis of IE in clinical situations where the suspicion is high.
2. The insignificant difference of the levels of Presepsin between positive blood culture IE and negative blood culture IE suggests that this marker could be useful in both types of IE.
3. High specificity of Presepsin for bacterial infection, the short time in which it reaches high levels in the blood circulation and the short turnaround of the results (20 min), recommends this marker

as a useful one in avoiding the overuse of antibiotics in these times of emergent multidrug resistance germs.

4. Our results regarding the usefulness of Presepsin in the diagnosis of IE had a low statistical power due to the small sample of cases. Further studies are necessary in order to confirm the usefulness of IE and possible in the stratification of the death risk.

The originality and inovative contribution of the thesis

In the personal contribution part, we carried a detailed presentation of the clinical and evolution aspects in patients with definite IE and also a comparison between definite IE and possible IE. We noticed a high percentage of blood culture negative IE, the most probable cause being antibiotic treatment prior to blood culture, thus showing a low index of suspicion of IE. The detailed analysis of the presence of each of the Duke criterion in the IE cases is one of the original aspects of the thesis. This analysis revealed a decrease of the sensitivity of these criteria in the presence of the high percent of blood culture negative IE. Furthermore, the majority of the minor criteria of the diagnosis (fever, cardiac predisposition, imunological phenomena) had a low frequency in the examined cases, this showing once more the difficulty of the diagnosis of IE.

The performance of the multivariate analysis for the identification of predicting factors of surgical treatment in IE represents another original apsect of the thesis. Although the identified predicting factors are already being present in the current guidelines for the surgical treatment, the using of the logistic score obtained through analysis could be useful in sustaining the treatment decision.

The identification of a biomarker which would help in orientation of the IE diagnosis is more than needed, especially in the blood culture negative IE. In 2011, a new marker named Presepsin has been proposed for the diagnosis and risk stratification in sepsis. Having in mind that IE is a local infection with evolutive potential at distance from the primar situs of the infection throughout the development of sepsis, in the present research we tried to evaluate the usefulness of Presepsin in the diagnosis of IE. Our results are promising but they need to be confirmed by further studies with larger samples, with an appropriate design in order to evaluate also the utility of Presepsin in detecting the presence of bacteremia in IE.