

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "CAROL DAVILA" BUCUREȘTI

Catedra de Boli Infecțioase



INSTITUTUL NAȚIONAL DE BOLI INFECȚIOASE

"PROF. DR. MATEI BALȘ"

**ROLUL ȘI IMPORTANȚA TEHNICILOR
MODERNE ÎN DIAGNOSTICUL,
TRATAMENTUL ȘI PROGNOSTICUL
INFECȚIILOR SEVERE,
BACTERIENE LA COPIL**

REZUMAT

CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC

Prof. Dr. Adrian STREINU-CERCEL

DOCTORAND

As. Univ. Dr. Mădălina Maria MERIȘESCU

2016

BUCUREȘTI

Mulțumiri,

Aduc mulțumirile mele în primul rând conducătorului științific, **Domnului Acad. Prof. Dr. Adrian Streinu- Cercel**, care cu înaltă competență mi-a facilitat finalizarea cercetării pas cu pas, în acești 5 ani de studiu.

Conducătorului științific al tezei mele de doctorat, în calitate de Manager, i se datorează prestigiul științific și realizările deosebite ale Institutului Național de Boli Infecțioase, "Prof. Dr. Matei Balș", devenit astăzi Institut Național de referință în bolile infecțioase.

Toată gratitudinea mea, mentorului meu și celei care mi-a deschis porțile cunoașterii și posibilitățile avansării pe plan profesional, **Doamnei Conf. Monica Luminos**, șefa clinicii de Pediatrie din cadrul Institutului de Boli Infecțioase, "Prof. Dr. Matei Balș".

Doamna Conferențiar mi-a fost alături din prima zi a rezidențiatului până astăzi la încheierea acestei lucrări și m-a susținut în toate proiectele atât profesionale cât și personale, devenind mai mult decât un "șef", fiind un adevărat model de cunoaștere, prestanță, atenție și echilibru, acordându-mi încredere și bunăvoință și încurajându-mă să nu renunț niciodată.

De asemenea, țin să mulțumesc tuturor colegilor din secțiile de Pediatrie, amintind medicii, unii cu mult mai multă experiență profesională decât anii mei de viață, asistentelor și infirmierelor ce au îngrijit acești copii, înrolați în studiile prezentate în această lucrare și nu în ultimul rând, personalului din laboratoarele de microbiologie și genetică moleculară, în special **D-nei Prof. Olga Dorobat** și **D-lui Dr. Dragoș Florea**.

Doctorand

Mădălina Maria MERIȘESCU

Motivația alegerii temei

Sepsisul la copil este o afecțiune destul de frecventă, cu mortalitate mare ceea ce impune un tratament corect administrat și terapie antibiotică empirică până la stabilirea diagnosticului etiologic.

Deși avem la dispoziție scheme terapeutice moderne și antibiotice cu spectru larg incidența sepsisului este în creștere datorită selecției de tulpini rezistente implicate în etiologia infecțiilor bacteriene sistemice severe. Secțiile de terapie intensivă se confruntă cu germeni multirezistenți ce pot determina infecții nosocomiale, extrem de severe, ce pot evolua nefavorabil cu risc crescut de deces.

De asemenea, creșterea numărului afecțiunilor oncologice în populația pediatrică, ce determină o imunodepresie severă atât prin prezența lor cât și secundar administrării de terapie imunosupresoare, creează astfel condiții favorizate pentru apariția infecțiilor bacteriene severe ale copiilor.

Diagnosticul clasic al infecțiilor bacteriene este în prezent utilizat în majoritatea laboratoarelor de microbiologie, dar prezintă unele dezavantaje:

- Întârzierea diagnosticului etiologic;
- Costuri crescute prin mobilizarea multor resurse umane și materiale până la evidențierea agentului etiologic și a chimiosensibilității acestuia;
- Costuri indirecte crescute prin utilizarea unei antibioticoterapii empirice;
- Rată mare de rezultate neconcludente (fals pozitive și fals negative).

Datorită severității afecțiunii, pacientul cu sepsis necesită o perioadă lungă de spitalizare, ceea ce implică un consum important de resurse soldat de multe ori cu insucces materializat printr-o rată mică de vindecare completă, cu multe complicații și sechele importante, uneori chiar deces. În aceasta situație au fost mobilizate importante resurse umane și materiale pentru descoperirea unor metode noi de diagnostic, mai rapide și mai eficiente.

Metodele de diagnostic și tratament ale sepsisului sunt într-o continuă evoluție atât prin creșterea specificității și sensibilității celor clasice cât și prin apariția unor metode noi, moderne bazate pe tehnica PCR (Polymerase Chain Reaction) și PCR/ESI-MS. Prognosticul unui pacient diagnosticat cu sepsis este direct proporțional cu timpul scurs până la momentul stabilirii etiologiei acestuia, motiv pentru care actualmente diagnosticul sepsisului se bazează pe metode rapide cu specificitate și sensibilitate înaltă. De asemenea, cunoașterea chimiosensibilității germenilor implicați în etiologia infecțiilor severe este esențială în succesul terapeutic al acestora.

Recent și în România au fost introduse aceste metode moderne de diagnostic molecular atât pentru infecțiile virale cât și bacteriene.

Cele mai recente metode de diagnostic în infecțiile severe bacteriene au la baza metode moleculare.

Avantajele metodei:

- Determinarea agentului etiologic în primele ore de la internare;
- Permite identificarea speciilor bacteriene implicate în până la 90% din cazurile de sepsis;
- Se poate efectua direct din probele de sânge sau alte produse patologice;

- Poate determina și infecțiile mixte.
- Are un grad mai mare de detecție a agenților patogeni decât culturile “clasice”.

Cercetarea personală este axată pe metodele moderne de diagnostic și identificare cât mai rapidă a agenților etiologici implicați în infecțiile severe ale copiilor internați în secțiile de Boli Infecțioase – Pediatrie din cadrul Institutului Național de Boli Infecțioase ”Prof. Dr. Matei Balș”.

Deoarece răsunetul oricărei infecții severe se răsfrânge asupra dezvoltării neurologice ulterioare a copilului, se impune un diagnostic precoce și corect cu instituirea rapidă a unui tratament eficient.

Impactul implementării metodelor de diagnostic al sepsisului bacterian la copil se materializează la diverse niveluri:

1. Tehnic:

- realizarea acestui proiect prioritar, cu un pronunțat caracter interdisciplinar, implică dezvoltarea activității de cercetare și în alte unități.
- integrarea, creșterea calității și a nivelului de performanță al activităților de cercetare-dezvoltare în cadrul instituțiilor medicale;
- racordarea la prioritățile, obiectivele și activitățile de cercetare europene și mondiale.

2. Economic:

- evaluarea diagnostică rapidă de certitudine;
- conduita terapeutică corectă;
- scăderea în ansamblu a costurilor de spitalizare a pacienților;
- evaluarea impactului metodelor descrise asupra a tot ceea ce presupune un pacient cu sepsis;
- scăderea morbidității asociate altor abordări terapeutice.

Profitul estimat în urma implementării acestui proiect în domeniul bolilor infecțioase la grupa de vârstă pediatrică, se evidențiază prin:

- creșterea indicelui de performanță clinică;
- creșterea indicelui performanței economice (raportul dintre costurile efective pe zi de spitalizare și costurile teoretice);
- reducerea duratei medii de spitalizare;
- reducerea ratei complicațiilor majore și a mortalității.

Compararea datelor trebuie făcută cu standardul internațional al specialității și cu alte centre din zone economice similare.

3. Impactul social:

- stabilirea unui protocol concis și eficient de diagnostic și tratament al sepsisului la copil va avea ca rezultat reducerea complicațiilor asociate și a sechelelor;
- scăderea morbidității asociate altor abordări terapeutice, cu reintegrare rapidă socială.

Structura lucrării

Lucrarea intitulată „Rolul și importanța metodelor moleculare în diagnosticul, tratamentul și prognosticul sepsisului bacterian la copil”, cuprinde două părți: o parte generală și o parte specială ce conține contribuția personală.

În partea generală sunt sintetizate în 12 capitole cele mai noi date din literatură de specialitate privind sepsisul la adult și particularizat la copil și nou-născut, cu prezentarea celor mai noi definiții de sepsis stabilite cu ocazia celui de-al Treilea Congresul Internațional de Sepsis din Februarie 2016 și referirea la noul scor rapid ce poate fi folosit în secțiile de terapie intensivă, numit qSOFA. Acesta reprezintă o variantă simplificată a scorului SOFA ce se calculează la pacienții internați în secțiile de terapie intensivă și se bazează pe evaluarea a trei parametri (alterarea statusului mental, polipnee și hipotensiune), la care se poate adăuga valoarea lactatului seric. Astfel, noile definiții cuprind doar doi termeni și anume sepsis și șoc septic. Vezi fig 1 și 2

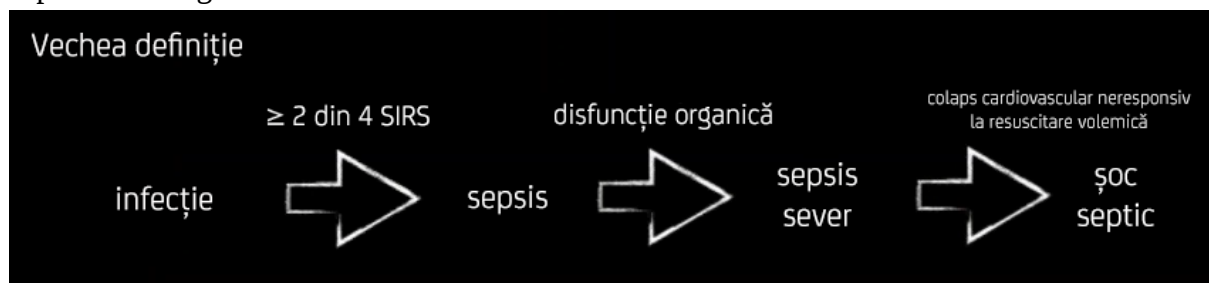


Figura nr. 1 Vechile definiții ale sepsisului

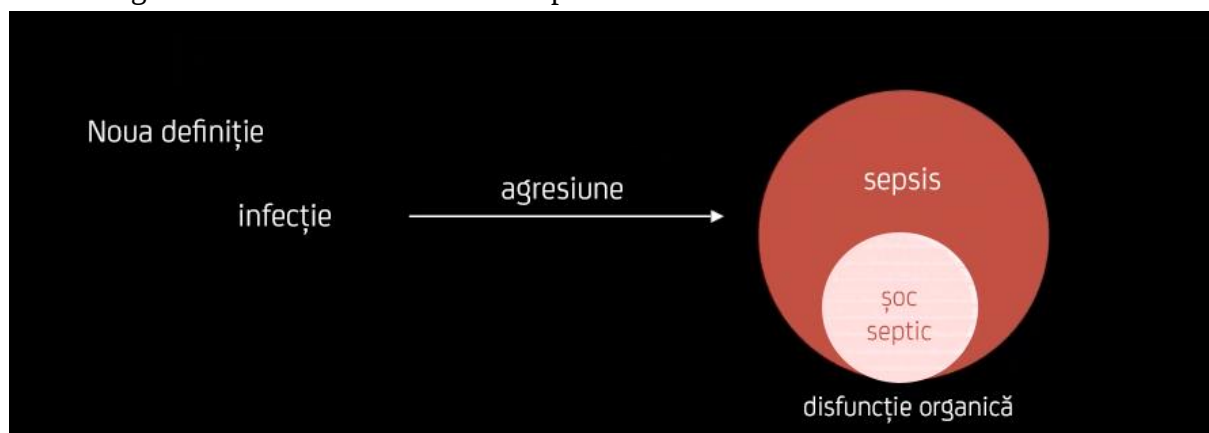


Figura nr. 2 Noile definiții ale sepsisului

De asemenea sunt prezentate datele epidemiologice de la nivel mondial și național precum și multiple clasificări ale infecțiilor severe bacteriene la pacienții pediatrici.

Agenții etiologici posibil implicați în etiologia sepsisului sunt clasificați în funcție de vârsta pacienților, punctul de plecare și statusul imun și ulterior sunt prezentate în detaliu atât mecanismele patogenice implicate în etiologia sepsisului cât și etapele diagnosticului pozitiv și posibilele diagnostice diferențiale.

Metodele moderne de diagnostic ce stau la dispoziția clinicienilor sunt descrise în capitolul VIII, punându-se accent în special pe **PCR** (**P**olymerase **C**hain **R**eaction = Reacție de Polimerizare în Lanț) și pe **PCR/ESI-MS** (PCR Coupled with Electrospray Ionization Mass Spectrometry) care reprezintă o metodă nouă, moleculară apărută în România după

2010, care combina PCR cu spectrometria de masă cu ionizare. Avantajul major al acestei metode „multiplex” este constituit de capacitatea sa de a identifica ADN-ul bacterian din diverse lichide în mod normal sterile chiar și pentru infecții pluribacteriene, fără necesitatea cultivării probei. [11] Denumirea comercială a fost inițial PLEX-ID, acum numindu-se IRIDICA. Au fost menționate și alte metode moderne de diagnostic utilizate și în cadrul INBI „Prof. Dr. Matei Balș” și anume PNA-FISH (peptide nucleic acid fluorescent *in situ* hybridization) și MALDITOF (Matrix-assisted laser desorption/ionization).[12]

Următoarele capitole descriu tipurile de medicație utilizată în cadrul acestor afecțiuni severe și sunt detaliate particularitățile unor infecții severe și destul de frecvent întâlnite în populația pediatrică și anume infecția determinată de *Neisseria meningitidis* și *Streptococcus pneumoniae*.

Partea generală se încheie cu un capitol de profilaxie a infecțiilor severe, amintindu-se de măsurile nespecifice și de cele mai noi vaccinuri pe care le avem la dispoziție pentru a preveni cazurile severe potențial letale de boala invazivă meningococică sau pneumococică.

Lucrarea se continuă cu partea specială, care reprezintă aportul personal la cercetarea științifică și studiul personal efectuat pe o perioadă de 5 ani în cadrul Institutului Național de Boli Infecțioase „Prof. Dr. Matei Balș”, la pacienții internați în secțiile de pediatrie cu suspiciunea clinică de sepsis.

Obiectivele cercetării personale

Pentru a aborda cât mai complex problematica impusă de sepsisul pediatric, în această cercetare mi-am propus să studiez următoare aspecte legate de această temă de actualitate:

1. Identificarea cazurilor clinice care îndeplinesc criteriile de sepsis la copil
2. Stabilirea incidenței sepsisului la copil, conform noilor definiții internaționale
3. Analiza cazurilor de sepsis pediatric în funcție de metoda de laborator folosită
4. Studiu comparativ al metodelor de diagnostic etiologic ale sepsisului: metodele clasice versus cele noi, moleculare
5. Evidențierea avantajelor metodelor moderne de diagnostic în sepsis la copil
6. Precizarea rolului și importanței metodelor modern de diagnostic în evoluția și prognosticul sepsisului la copil

Material și metodă

Pentru efectuarea temei propuse, am efectuat un studiu clinic prospectiv în perioada ianuarie 2011- decembrie 2015- (60 luni) în secțiile de pediatrie a INBI „Prof. Dr. Matei Balș” la pacienții internați cu diverse forme clinico-evolutive de sepsis.

În studiu au fost înrolați copii cu vârste cuprinse între 0-18 ani, ce îndeplineau criteriile de sepsis conform definiției de caz.

La pacienții înrolați am observat următorii parametri:

1. Vârsta

2. Sexul
3. Mediu de proveniență
4. Apartenența la colectivități
5. Scorul Carmeli
6. Repartiția pe ani în funcție de momentul intrării în studiu
7. Comorbidități preexistente
8. Puncte de plecare
9. Metoda de diagnostic utilizată
10. Timpul scurs până la identificarea etiologiei
11. Agentul etiologic izolat
 - a. Coinfecții
 - b. Infecții monobacteriene
12. Tratamentul efectuat
13. Complicații survenite
14. Numărul de zile de spitalizare
15. Decese
16. Costuri aproximative

În funcție de metoda utilizată pentru stabilirea diagnosticului etiologic, pacienții au fost împărțiți în **2 loturi comparative** :

- **Lotul I**- Pacienți cu vârste între 0-18 ani, la care diagnosticul etiologic a fost stabilit atât prin intermediul probelor de microbiologie standard (hemoculturi și culturi din LCR) cât și prin intermediul metodelor moleculare (PCR, Plex-ID). În cadrul acestui lot, au fost incluse 4 subloturi de pacienți, în funcție de metoda de diagnostic folosită sau de agentul etiologic implicat. În cadrul primului lot au fost înregistrați: 158 pacienți.
 - **Sublotul 1**- pacienți diagnosticați cu ajutorul PLEX ID-54 pacienți (41 probe pozitive)
 - **Sublotul 2**- pacienți diagnosticați cu ajutorul PCR specific-104 pacienți
 - **Mycobacterium tuberculosis**- 8 pacienți
 - **Clostridium difficile**- 57 pacienți
 - **Streptococcus pneumoniae**.- 39 pacienți
- **Lotul II** – Al doilea lot de pacienți, cu vârste cuprinse între 0-18 ani, format din pacienți care pe lângă criteriile clinice, au avut și probe pozitive din sânge sau LCR, diagnosticul stabilindu-se pe criteriile cunoscute și general valabile. Diagnosticul a fost stabilit doar prin metode microbiologice clasice (culturi pe medii folosite în toate laboratoarele de microbiologie) – hemoculturi și culturi din LCR. În cadrul celui de-al doilea lot au fost înregistrați 263 de pacienți eligibili, iar 169 cu etiologie.

Rezultate

Pe parcursul celor 60 de luni de la inițierea studiului până la finalul înrolării pacienților am urmărit un număr de 2851 de copii cu vârste cuprinse între 0 și 18 ani, ce îndeplineau criteriile clinice și paraclinice de SIRS, sepsis sever și șoc septic. Dintre aceștia, 2588, au fost încadrați ca SIRS și 263 ca sepsis, unii având o stare extrem de gravă din momentul internării. 23 dintre aceștia au necesitat IOT și VM, iar 63 prezentau insuficiență multiplă de organ.

Pe parcursul celor 60 de luni de studiu, am înregistrat un număr de 24 de decese.

- Numărul total de pacienți-2851
- SIRS-2588
- Sepsis- 263 dintre care:
 - MODS-63
 - IOT+VM-23
- Decese- 24

Calculând o medie lunară a numărului de pacienți, am ajuns la o valoare de 47,5 în ceea ce privește numărul total de pacienți, la o valoare de 43,13 în ceea ce privește diagnosticul de SIRS, iar media lunară a pacienților internați pentru sepsis a fost de 4,38/lună.

O schimbare majoră în noile definiții este eliminarea noțiunii de SIRS. Definiția SIRS include tahicardie, tahipnee, hipertermie sau hipotermie și modificări ale leucocitelor. Studiile au arătat că SIRS este aproape omniprezent la pacienții spitalizați și apare în multe benigne afecțiuni, legate sau nu de infecție, prin urmare, nu este suficient de specific pentru diagnosticul sepsis.[13]

Având în vedere faptul că există în loturile de studiu 2851 de pacienți cu criterii de sepsis sau SIRS și doar 263 prezentau criterii clare de sepsis, se susține și prin această cercetare necesitatea reducerii definițiilor și criteriilor de sepsis. Vezi tabelul nr 1.

Sepsis	Frecvența Absolută (Frecvența Relativă)
Da	263/2588 (9.22)
Nu	2588/2851 (90.77)

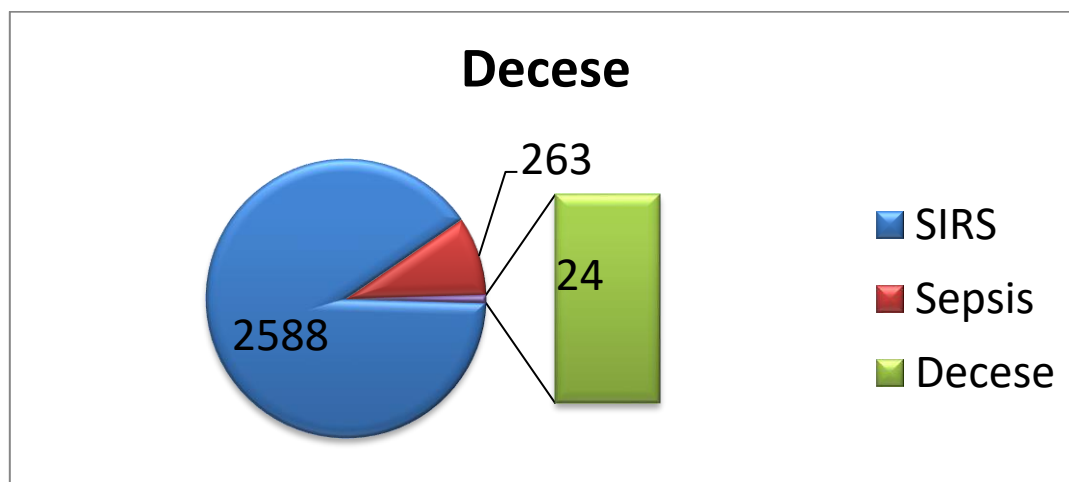
Tabelul nr. 1 - Frecvența cazurilor de sepsis

Noul scor de calcul al sepsului, care se folosește la pacienții internați în secțiile de terapie intensivă se numește quickSOFA și evaluează 3 parametri:

- Tensiune arterială scăzută <100mmHg
- Tahipnee >22 r/min
- Alterarea stării de conștiință cu SCG<15 [13]
- La acești parametri se mai poate adăuga valoarea lactatului sanguin

Dacă toate cele 3 variabile sunt pozitive, qSOFA $\geq$ 3 sunt indicatori pentru un prognostic nefavorabil al pacientului. Aceste definiții nu se știe exact cum se pot aplica în populația pediatrică [14]

Dacă am aprecia pe loturile de lucru luate în calcul, acest scor ar fi aplicabil doar pentru cei 263 de pacienți internați în secția de terapie intensivă și care au evoluat către sepsis și către deces în proporție de aproximativ 10% cum se observa și în graficul nr 3.

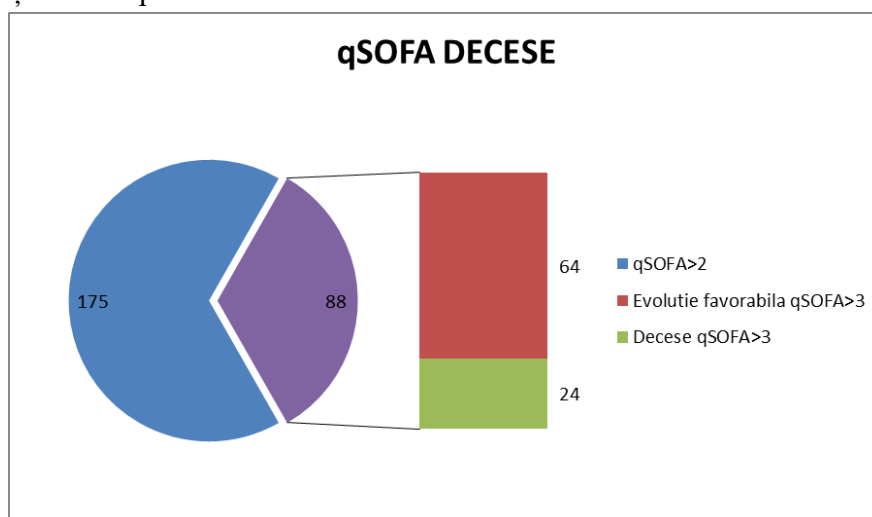


Graficul nr. 3 - Numarul deceselor inregistrate din totalul pacientilor luati in studiu

qSOFA

La copii nu a fost implementat un scor care să reprezinte gold standardul diagnosticării și prevenirii evoluției sepsisului către deces, dar am raportat qSOFA folosit la adulți, pe lotul de 263 de pacienți studiați, ce îndeplineau criteriile clinice și paraclinice de sepsis sever și erau internați în secțiile de terapie intensivă.

A fost calculat scorul qSOFA la aceștia și s-a constatat că la 88 dintre pacienți reprezentând 33% dintre pacienți a fost ≥ 3 , iar la 175, reprezentând 67% de pacienți a fost ≥ 2 . Dintre aceștia 88, au decedat 24, reprezentând 27.27% dintre cei cu qSOFA > 3 și 9% din totalul pacienților cu sepsis.



Graficul nr. 4 - Scorul qSOFA și corelația cu evoluția către deces a pacienților

Totuși, deși, toți pacienții decedați și toți pacienții intubați au avut scorul qSOFA ≥ 3 , nu toți cei cu acest scor ≥ 3 au evoluat către deces, ceea ce ar putea fi explicat prin faptul că acest scor nu este aplicabil în totalitate la copii și se considera necesară crearea unor noi metode adaptate acestei categorii speciale de pacienți.

Este cunoscut faptul că tahipneea și alterarea statusului neurologic la copil pot fi secundare unor multitudini de cauze cum ar fi sindromul de deshidratare acută sau unei insuficiențe respiratorii acute determinate de o viroză respiratorie.

Ulterior, au fost detaliate loturile și subloturile de lucru și au fost puse în evidență în special sensibilitatea și specificitatea metodelor, timpul scurs până la diagnosticare și rata deceselor.

ANALIZA COMPARATIVĂ A LOTURILOR

În această a III-a secțiune, datele obținute, au fost utilizate într-o analiză comparativă, prin care să se poată evidenția avantajele și dezavantajele celor două metode de diagnostic. Au fost comparate sublotul pacienților diagnosticați prin PCR/ESI-MS(Plex-Id) și lotul al doilea, reprezentat de pacienții diagnosticați prin metode microbiologice clasice. Nu au fost comparate subloturile pacienților cu *Clostridium difficile*, *Streptococcus pneumoniae* sau *Mycobacterium tuberculosis* deși aceștia au fost analizați separat, deoarece metoda era diferită, reprezentată de PCR specific. Astfel lotul I este reprezentat de pacienții diagnosticați prin Plex-Id și lotul II, de pacienții diagnosticați cu ajutorul hemoculturilor și culturilor din LCR.

În primul lot au fost urmăriți 57 de pacienți, iar în cel de-al doilea cei 169 analizați anterior.

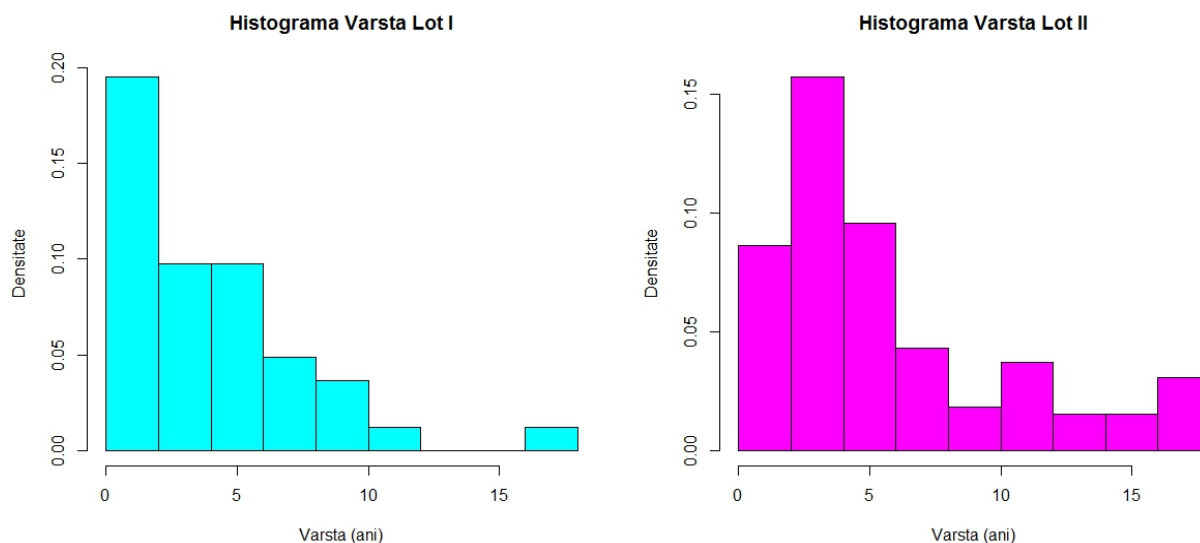
Cele 2 loturi evaluate au fost comparate luând în considerare mai mulți parametri: vârstă, sex, mediu de proveniență, scorul Carmeli, timpul scurs până la identificarea agentului etiologic, specificitatea metodei, complicațiile apărute, decese, număr de zile de spitalizare și s-a încercat o evaluare a costurilor.

Comparație în funcție de vârstă

Primul parametru important evaluat a fost vârsta pacienților. În ceea ce privește lotul I, Vârsta medie a fost de 4.34 ani, iar la cel de-al doilea lot de 6.22 ani-vezi tabelul nr. 50

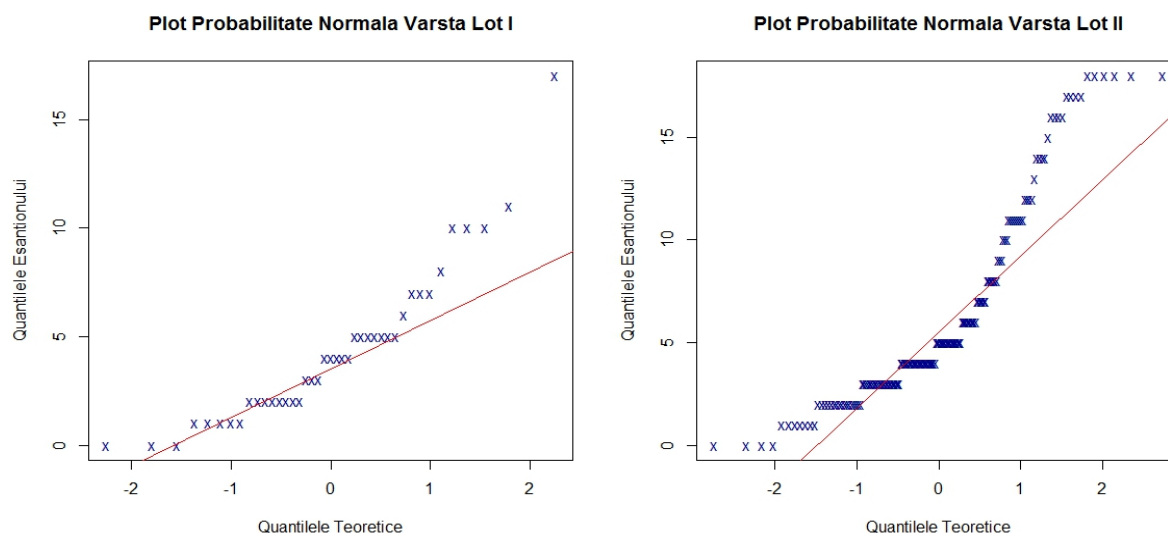
Vârsta	Lotul I	LotulII
Medie ($\pm$ SEM) [IC95%]	4.34 ($\pm$ 0.55) [3.22 la 5.46]	6.22 ($\pm$ 0.26) [5.50 la 6.95]
Mediană (IQR)	4.00 (3.50)	5.00 (5.00)
Min – Max (Range)	0.00 la 17.00 (17.00)	0.00 la 18.00 (18.00)
Deviație Standard (Variantă)	3.54 (12.58)	4.67 (21.82)
Skewness	1.43	1.16
Kurtosis	2.81	3.42
Test de normalitate Shapiro-Wilk	0.0005	< 0.0001

Tabelul nr. 50 - Comparația între vârsta pacienților din cele 2 loturi



Graficul nr. 80 - Histograma privind vârsta pacienților din cele 2 loturi

Ploturile de probabilitate normală :



Graficul nr. 82 - Reprezentarea probabilității normale a vârstei celor 2 loturi

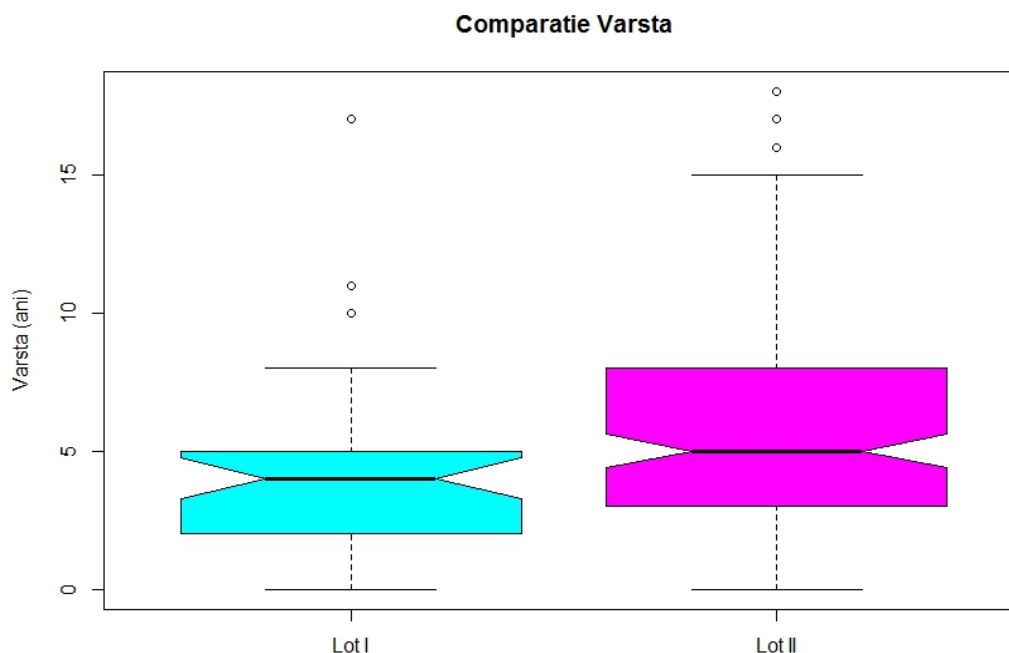
Ambele distribuții au fost depărtate de distribuția normală.

Pentru că nu s-au putut aplica testele parametrice datorită distribuțiilor depărtate de distribuția gaussiană, s-a decis pentru a decela dacă există diferențe semnificative statistic între cele loturi să se folosească o procedură de bootstrap cu 100000 de reșantionari din loturile inițiale, tendința centrală a distribuțiilor fiind măsurată cu ajutorul medianelor, iar IC95% a fost estimat pe baza quantilelor de 97.5 și 2.5 ale distribuției obținută prin bootstrap.

Diferența de mediane	Eroarea Standard	Valoare p	IC95% pentru diferența de mediane
-1.00	0.9131	0.40319	-3.00 la 1.00

Tabelul nr. 51 - Diferența de mediane dintre cele 2 loturi

Rezultatul testului ($p > 0.05$) ne arată că nu au fost diferențe semnificative statistic între cele 2 loturi a se vedea și boxploturile de mai jos :



Graficul nr. 83 - Comparație grupe de vârstă

Comparație în funcție de sexul pacienților

În ceea ce privește sexul pacienților evaluați în cele 2 loturi, observăm o predominantă a sexului masculin în ambele cazuri, ceea ce este în concordanță cu datele din literatură, confirmând predispoziția sexului masculin pentru forme severe de boală, așa cum se observa în tabelul nr. 52

Sexul	Lot I	Lot II
M	23/41 (56.09)	100/169 (59.17)
F	18/41 (43.91)	69/169 (40.83)

Tabelul nr. 52 - Comparație între sexe și loturi

Pentru a se vedea dacă există diferențe semnificative statistic între cele 2 loturi s-a făcut un χ^2 test bidirecțional pentru diferența de proporții, variabilă urmărită fiind proporția de bărbați la cele 2 loturi de pacienți, al cărui rezultat este redat mai jos în tabelul nr. 53 :

Diferență Proporții	Statistica χ^2	Valoare p	IC95% ptr diferență
-0.03	0.13	0.7200	-0.19 la 0.13

Tabelul nr. 53 - Diferența de proporții

Rezultatul testului ($\chi^2 = 0.13$, $p > 0.05$) ne determină să inferăm că nu sunt diferențe semnificative statistic în ceea ce privește distribuția pe sexe între cele 2 loturi.

Comparație în funcție de mediul de proveniență

Au fost de asemenea comparați pacienții în funcție de mediul de proveniență, iar distribuțiile sunt relativ egale cu o ușoară predominantă a pacienților din mediul rural. Pacienții din lotul I erau din mediul rural în proporție de 58.54%, față de lotul II cu un procent de 52.07% ceea ce se poate observa în tabelul nr. 54

Mediu Proveniență	Lot I	Lot II
Urban	17/41 (41.46)	81/169 (47.92)
Rural	24/41 (58.54)	88/169 (52.07)

Tabelul nr. 54 - Diferența dintre mediu de proveniență între cele 2 loturi

Pentru a se vedea dacă există diferențe semnificative statistic între cele 2 loturi s-a făcut un χ^2 test bidirecțional pentru diferența de proporții, variabilă urmărită fiind proporția de pacienți proveniți din mediul urban la cele 2 loturi de pacienți, al cărui rezultat este redat mai jos în tabelul nr. 55 :

Diferența Proporții	Statistica χ^2	Valoare p	IC95% ptr diferență
-0.06	0.55	0.4566	-0.23 la 0.10

Tabelul nr. 55 - Diferența de proporții dintre cele 2 loturi și mediul de proveniență

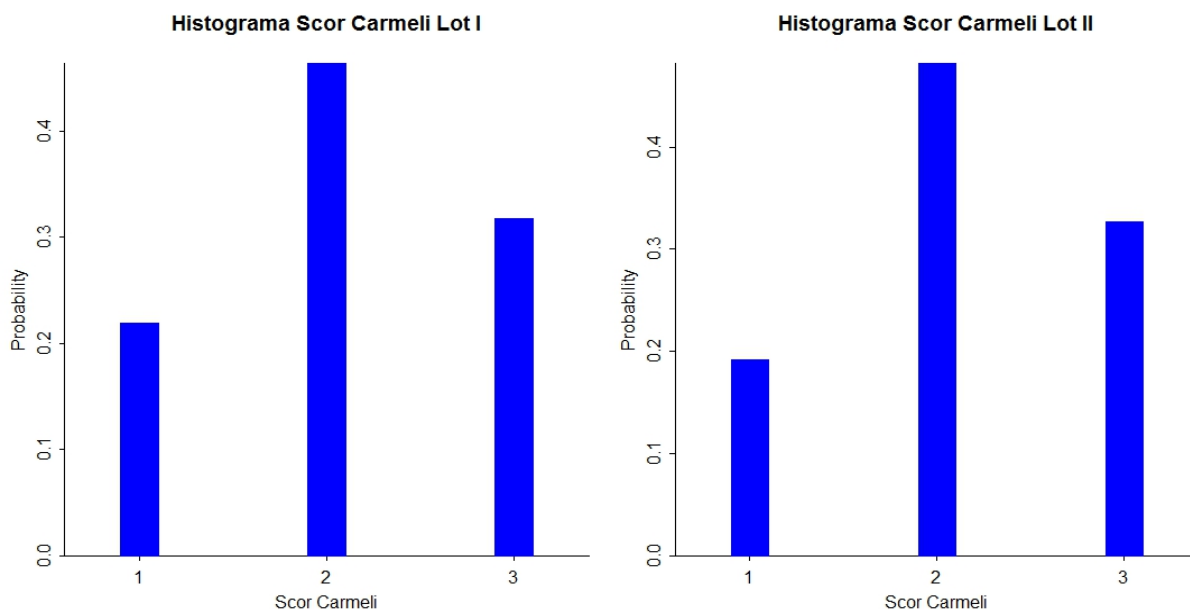
Rezultatul testului ($\chi^2 = 0.55$, $p > 0.05$) ne determină să inferăm că nu sunt diferențe semnificative statistic în ceea ce privește mediul de proveniență între cele 2 loturi.

Comparație în funcție de scorul Carmeli

În ceea ce privește scorul Carmeli, loturile au fost evaluate după cum urmează:

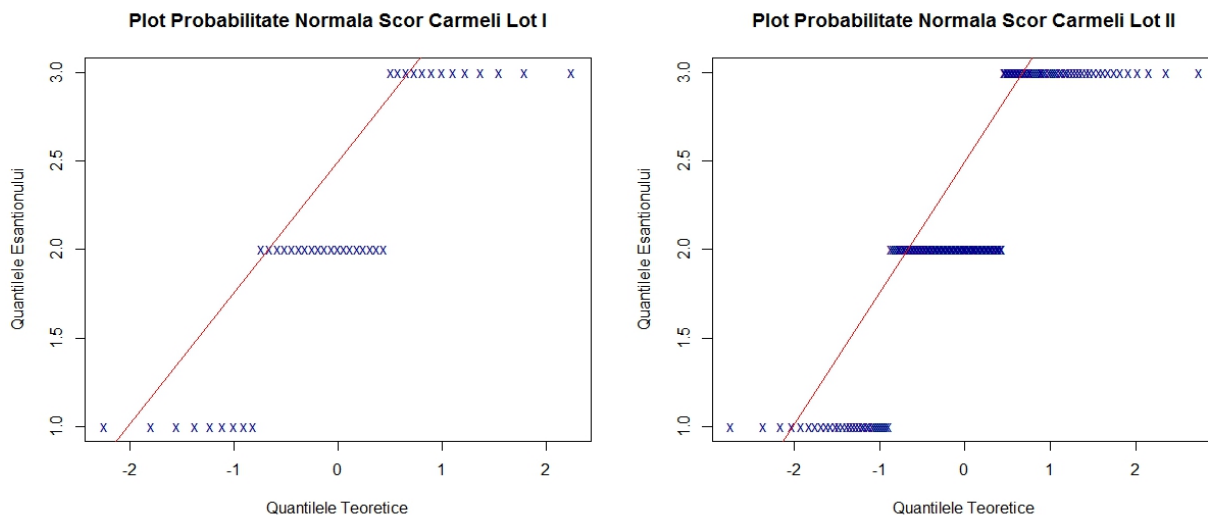
Scor Carmeli	Lotul I	LotulII
Medie ($\pm$ SEM) [IC95%]	2.09 ($\pm$ 0.11) [1.86 la 2.32]	2.13 ($\pm$ 0.05) [2.02 la 2.24]
Mediană (IQR)	2.00 (1.00)	2.00 (1.00)
Min – Max (Range)	1.00 la 3.00 (2.00)	1.00 la 3.00 (2.00)
Deviație Standard (Variantă)	0.73 (0.54)	0.70 (0.50)
Skewness	-0.15	-0.20
Kurtosis	-1.08	-0.98
Test de normalitate Shapiro-Wilk	< 0.0001	< 0.0001

Tabelul nr. 56 - Repartiția în funcție de scorul Carmeli a celor 2 loturi



Graficul nr. 86 - Distribuția în funcție de scorul Carmeli a celor 2 loturi

Ploturile de probabilitate normală :



Graficul nr. 87 - Probabilitatea celor 2 loturi în funcție de scorul Carmeli

Ambele distribuții au fost apropiate de distribuția normală discretă cum se observa în graficele nr 86 și 87

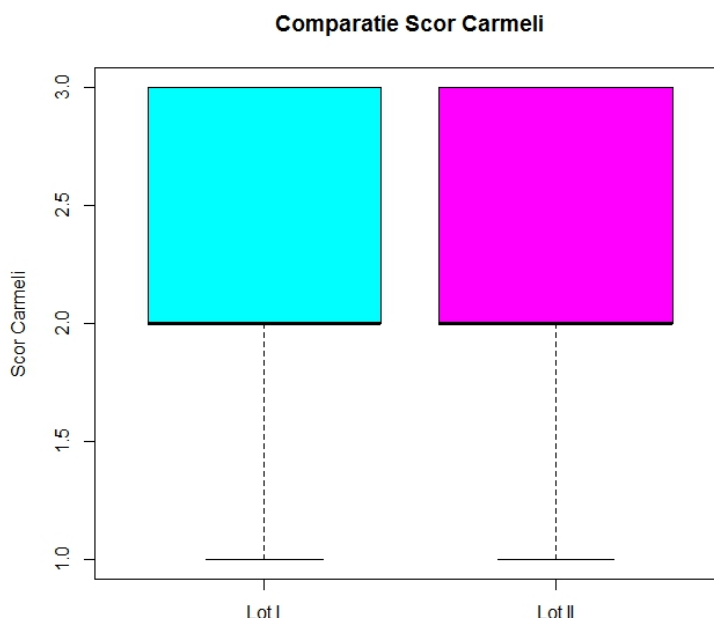
Pentru a investiga dacă există diferențe semnificative statistic între cele 2 loturi se folosește un Welch t test bidirecțional tendința centrală a distribuțiilor fiind apreciată cu ajutorul mediei aritmetice, IC95% pentru diferența de medii fiind calculat folosind distribuția T. Rezultatul testului îl redăm în tabelul de mai jos cu nr. 57 :

Diferența mediilor	Statistica T	Grade de libertate (gl)	Valoare p	IC95% pentru diferența mediilor
-0.04	-0.29969	60.249	0.7654	-0.29 la 0.21

Tabelul nr. 57 - Diferența mediilor dintre cele 2 loturi

În ambele cazuri se observă o valoare a scorului Carmeli de 2.

Rezultatul testului ($t = -0.29$, $gl = 60.24$, $p > 0.05$) ne determină să inferăm că nu există diferențe cu semnificație statistică între cele 2 loturi în ceea ce privește scorul Carmeli a se vedea și boxploturile următoare :



Graficul nr. 88 - Comparație între cele 2 loturi în ceea ce privește scorul Carmeli

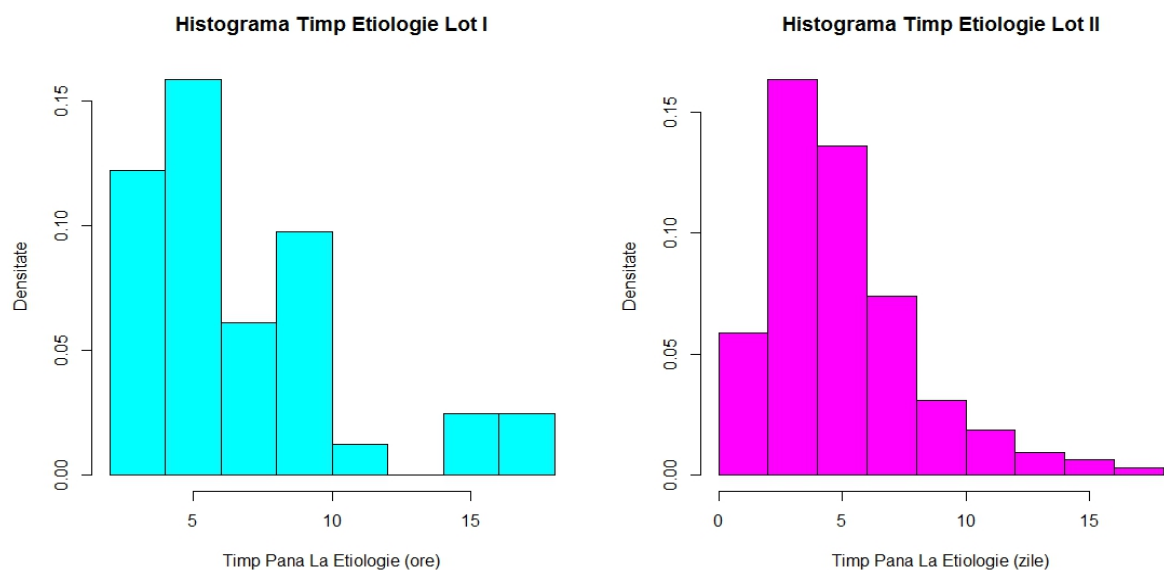
Comparație în funcție de timpul necesar izolării agentului etiologic

Timpul până la diagnosticare a fost considerat punctul cheie al lucrării de față, deoarece tehnicile clasice se raportează la numărul de zile, iar cele moleculare pot determina agentul etiologic într-un număr mic de ore, ceea ce devine incomparabil în favoarea metodelor moleculare.

Numărul mediu de zile până la identificarea etiologiei este de 5 în cazul celui de-al doilea lot, iar în cazul primului lot, de aproximativ 7 ore. Acest lucru ar putea aduce un avantaj în scăderea mortalității, numărului de zile de spitalizare, costurilor și tratamentelor efectuate pacienților- vezi tabelul nr. 58

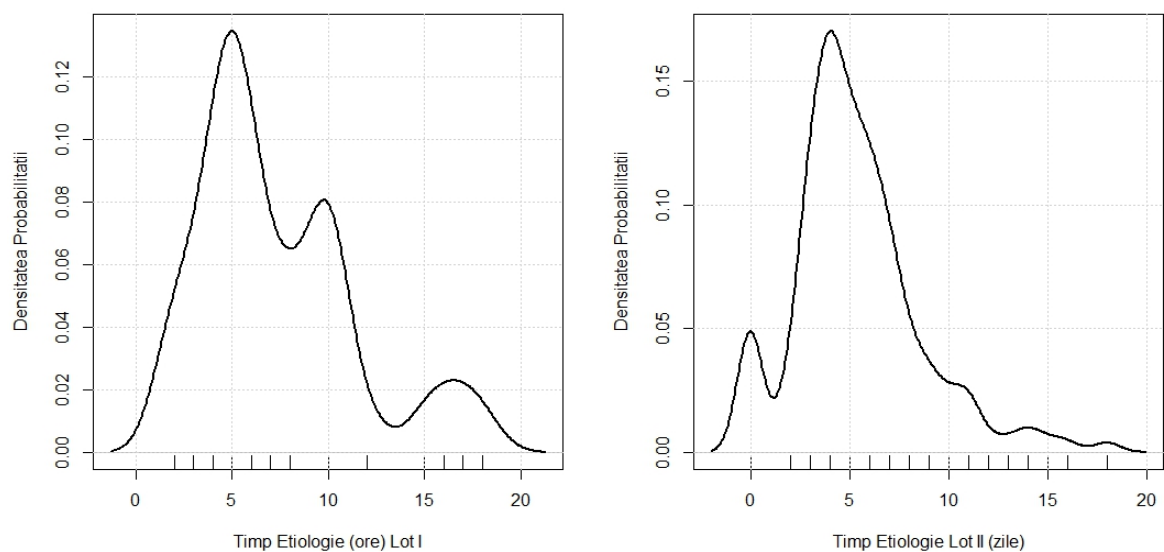
Timp până la diagnostic	Lotul I (h)	LotulII(zile)
Medie ($\pm$SEM) [IC95%]	7.26 ($\pm$ 0.63) [5.98 la 8.55]	5.37 ($\pm$ 0.25)
Mediană (IQR)	6.00 (5.50)	5.00 (4.00)
Min – Max (Range)	2.00 la 18.00 (16.00)	0.00 la 18.00 (18.00)
Deviație Standard (Variantă)	4.06 (16.55)	3.22 (10.39)
Skewness	1.02	0.99
Kurtosis	0.66	1.95
Test de normalitate Shapiro-Wilk	0.0014	< 0.0001

Tabelul nr. 58 - Timpul până la identificarea agentului etiologic



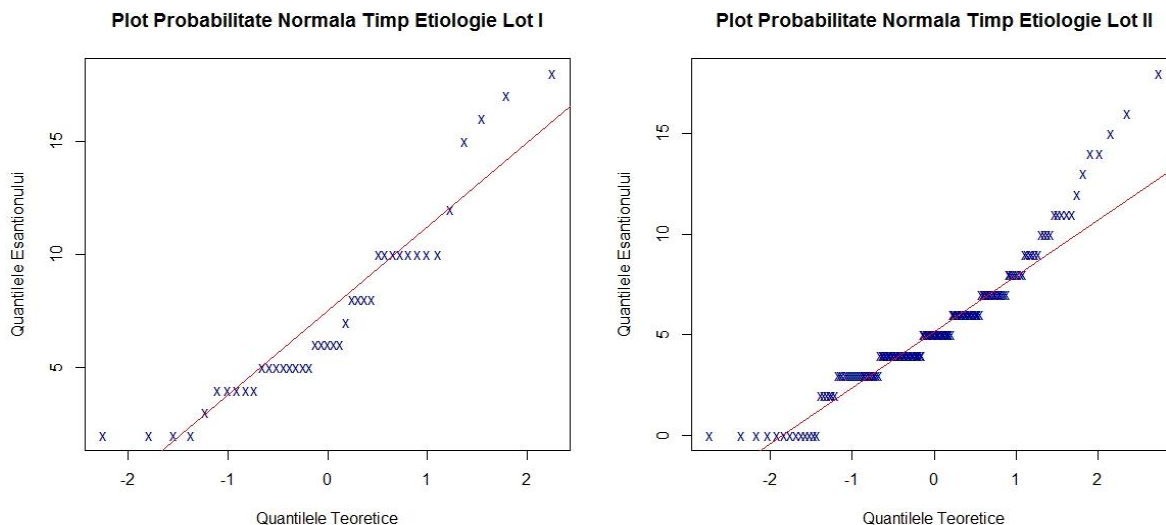
Graficul nr. 89 - Timpul până la identificarea agentului etiologic

Ploturile densității de probabilitate :



Graficul nr. 90 - Timpul până la identificarea agentului etiologic

Ploturile de probabilitate normală :



Graficul nr. 91 - Timpul până la identificarea agentului etiologic

Specificitatea metodei

În ceea ce privește **specificitatea metodei**, la lotul I de pacienți, rata de determinare microbiană a fost de 75.92%, față de 64.25% în cazul pacienților din lotul II- vezi tabelul nr. 59

Culturi Bacteriene	Lot I Mărit	Lot II Mărit
Pozitive	41/54 (75.92)	169/263 (64.25)
Negative	13/54 (24.08)	94/263 (35.75)

Tabelul nr. 59 - Specificitatea metodei-numarul de probe pozitive din fiecare lot

Pentru a se vedea dacă există diferențe semnificative statistic între cele 2 loturi s-a făcut un χ^2 test bidirecțional pentru diferența de proporții, variabilă urmărită fiind proporția de pacienți la care au existat culturi pozitive la cele 2 loturi de pacienți, al cărui rezultat este redat mai jos în tabelul nr. 60:

Diferență Proporții	Statistica χ^2	Valoare p	IC95% ptr diferență
0.11	2.73	0.0986	-0.01 la 0.24

Tabelul nr. 60 - Diferența de proporții la cele două loturi

Rezultatul testului ($\chi^2 = 2.73$, $p > 0.05$ dar $p < 0.10$) este marginal nesemnificativ. Testul modern pare a fi superior din punct de vedere al sensibilității.

Comparația cu studii internaționale

S-a analizat în continuare dacă sensibilitatea pentru metoda moderna (lotul I din studiul nostru) este comparabilă cu cea obținută de studiul numit "Rapid Diagnosis of Infection in the Critically Ill, a Multicenter Study of Molecular Detection in Bloodstream Infections, Pneumonia, and Sterile Site Infections" efectuat în 6 țări europene, în perioada

octombrie 2013-iunie 2014 pe 616 probe de sange ale unor pacienti internati in sectiile de terapie intensive, cu suspiciunea de sepsis, sau pneumonie severa asociata ventilatiei mecanice.

La acesti 616 pacienti, s-a efectuat atat Plex-Id cat si hemocultura, iar la 228 de cazuri, reprezentand 37% dintre pacienti, PCR/spectrometria de masa a identificat agentul etiologic responsabil pentru infectia severa, in timp ce prin hemoculturi, au fost identificati doar 68 de germeni, reprezentand 11% din totalul probelor. [11]

Astfel, sensibilitatea metodei moleculare este de 81% si specificitatea de 69%, iar valoarea predictiva negativa a fost de 97% la 6 ore de la recoltarea probei.[11]

Datele obtinute in studiul nostrum, au fost comparate cu datele din studiul European, acestea fiind prezentate in tabelul urmator nr. 60b :

Sensibilitate Studiu Curent [IC95%]	Sensibilitate Studiu Extern [IC95%]	Diferenta [IC95%] Valoare p
76% [64% la 87%]	81% [70% la 89%]	-5% [-20% la 10%] p = 0.506 ¹

¹ Testul folosit a fost χ^2 bidirectional **Tabelul nr. 60b**- Semsibilitatea comparata cu studiile internationale

Concluzia testului bidirectional a fost ca nu au existat diferente cu semnificatie statistica in ceea ce priveste sensibilitatea metodei in cele 2 studii, sensibilitatea determinata in studiul nostru fiind de 76%, comparabila cu valoarea studiului multicentric international, unde sensibilitatea a fost apreciata la o valoare de 81%.

Comparație în funcție de produsul din care a fost izolat agentul etiologic

În funcție de **produsul din care a fost izolat** agentul etiologic, se observă o diferență semnificativă în cazul pacienților din lotul I, la care s-a folosit Plex ID, în special la identificarea din LCR care este de 41.46%, față de 16.66% în cazul pacienților din lotul II. De asemenea, Plex Id se poate efectua din orice produs patologic posibil infectat fără a se modifica timpul de identificare sau sensibilitatea și specificitatea.

Produs Identificare	Lot I	Lot II
LCR	17/41 (41.46)	13/78 (16.66)
Sânge	24/41 (58.14)	163/169 (96.44)

Tabelul nr. 61 - Tipul de produs de identificare

Analiză comparativă în funcție de numărul zilelor de spitalizare

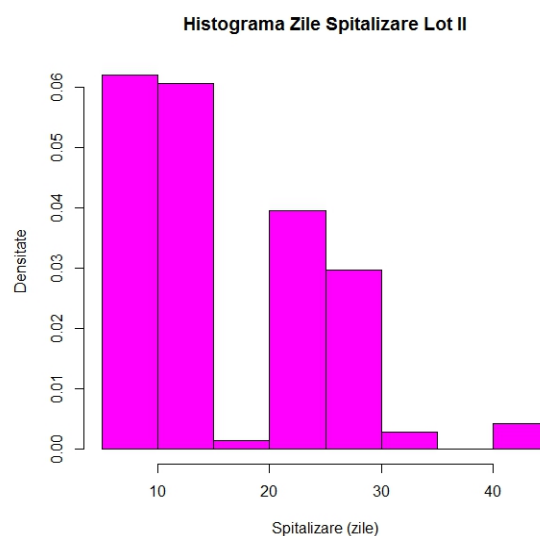
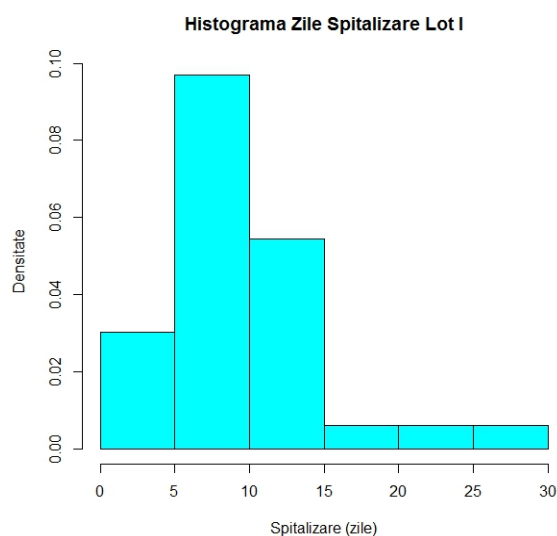
În funcție de **numărul de zile de spitalizare**, se poate observa o diferență marcată între numărul mediu de zile de spitalizare ale unui pacient din lotul I, la care durata medie a fost de 10 zile comparativ cu lotul II de studiu la care numărul mediu de zile de spitalizare a ajuns la 17, ceea ce determină o evidentă diferență, care se observă în costurile spitalizării și evoluția pacienților așa cum se observa în tabelul nr. 62.

Zile Spitalizare Supraviețuitori	Lotul I	Lotul II
Medie ($\pm$ SEM) [IC95%]	10.24 ($\pm$ 0.87) [8.46 la 12.01]	17.05 ($\pm$ 0.64) [15.78 la

		18.32]
Mediană (IQR)	9.00 (6.00)	14.00 (11.00)
Min – Max (Range)	3.00 la 26.00 (23.00)	7.00 la 42.00 (35.00)
Deviație Standard (Variantă)	5.01 (25.12)	7.67 (58.84)
Skewness	1.08	1.10
Kurtosis	1.59	0.75
Test de normalitate Shapiro-Wilk	0.03328	< 0.0001

Tabelul nr. 62 - Numărul de zile de spitalizare supraviețuitori

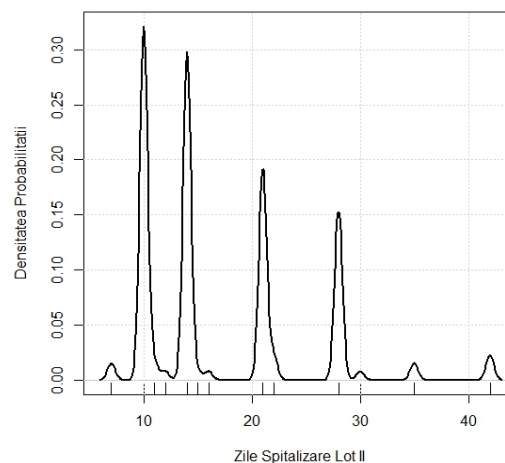
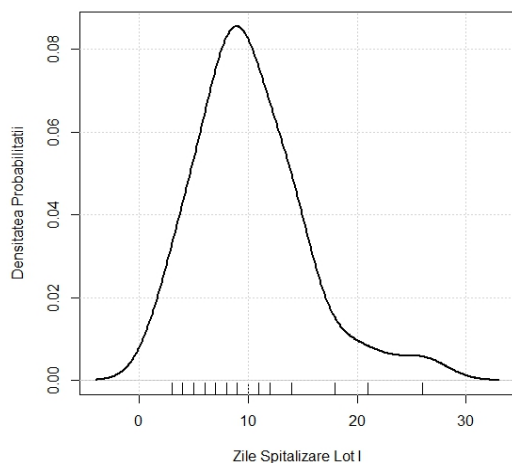
Histogramele :



Graficul nr. 94 - Numărul de zile de spitalizare

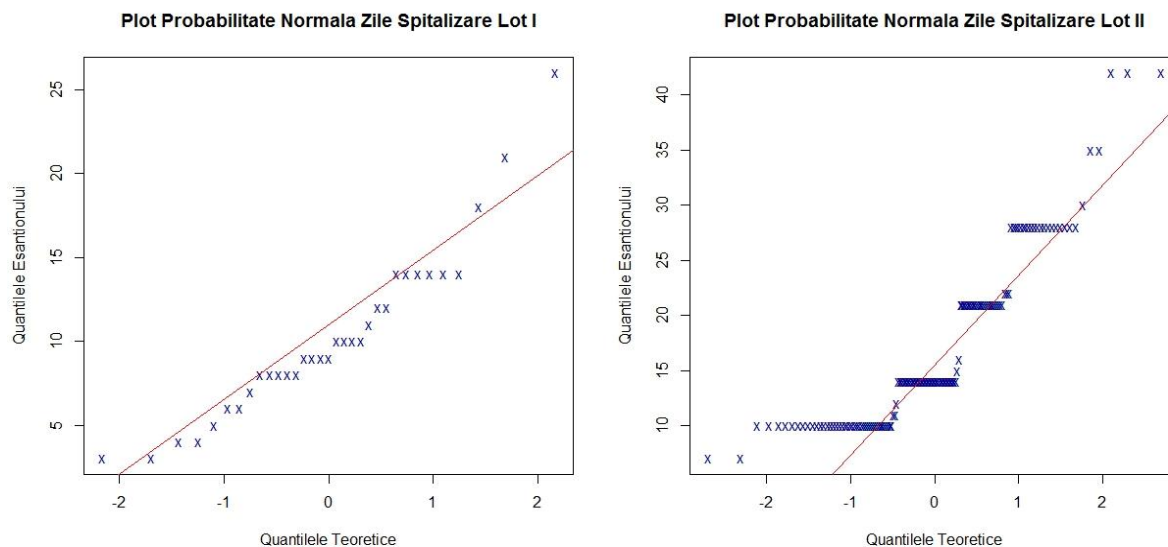
Se observă cu ajutorul graficelor nr. 94 și 95 o diferență remarcabilă între cele două loturi, în primul lot media fiind de 10 zile, puțini pacienți primind tratament până la 28-30 zile, față de lotul II, unde numărul de zile de tratament ajunge și depășește 40 zile.

Ploturile densității de probabilitate:



Graficul nr. 95 - Numărul de zile de spitalizare

Ploturile de probabilitate normală:



Graficul nr. 96 - Probabilitate număr de zile de spitalizare

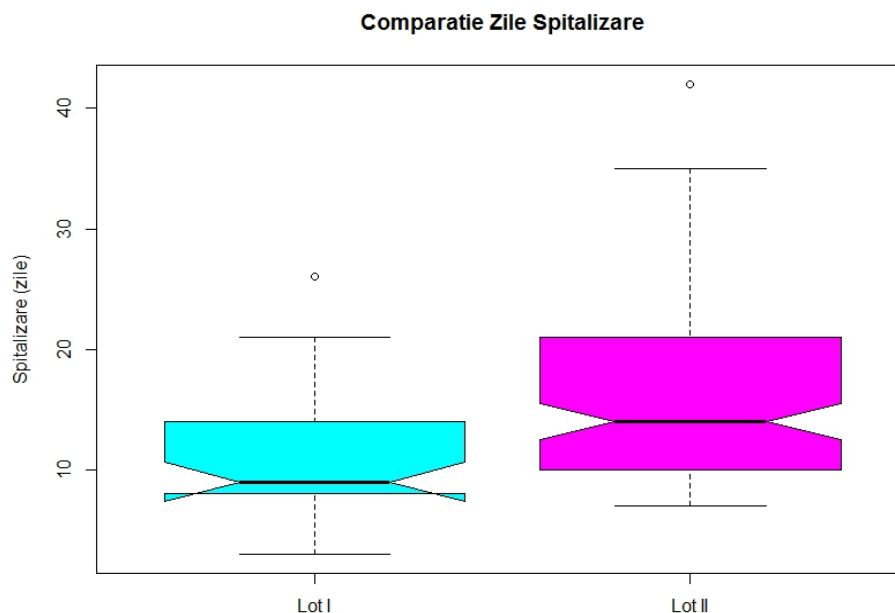
Ambele distribuții au fost depărtate de distribuția normală.

Pentru că nu s-au putut aplica testele parametrice datorită distribuțiilor depărtate de distribuția gaussiană, s-a decis pentru a decela dacă există diferențe semnificative statistic între cele loturi să se folosească o procedură de bootstrap cu 100000 de reeșantionări din loturile inițiale, tendința centrală a distribuțiilor fiind măsurată cu ajutorul medianelor iar IC95% a fost estimat pe baza quantilelor de 97.5 și 2.5 ale distribuției obținută prin bootstrap.

Diferență de mediane	Eroarea Standard	Valoare p	IC95% pentru diferență de mediane
-5.00	0.89561	0.00334	-6.00 la -3.00

Tabelul nr. 64 - Diferența de mediane în ceea ce privește zilele de spitalizare ambele loturi

Rezultatul testului ($p < 0.01$) ne permite să inferăm că există diferențe cu semnificație statistică între cele 2 loturi, pacienții cu etiologia stabilită prin metode moderne stând median cu 5 zile în spital (vorbiți aici de supraviețuitori) a se vedea și boxploturile de mai jos nr 97:



Graficul nr. 97 - Comparație număr de zile de spitalizare

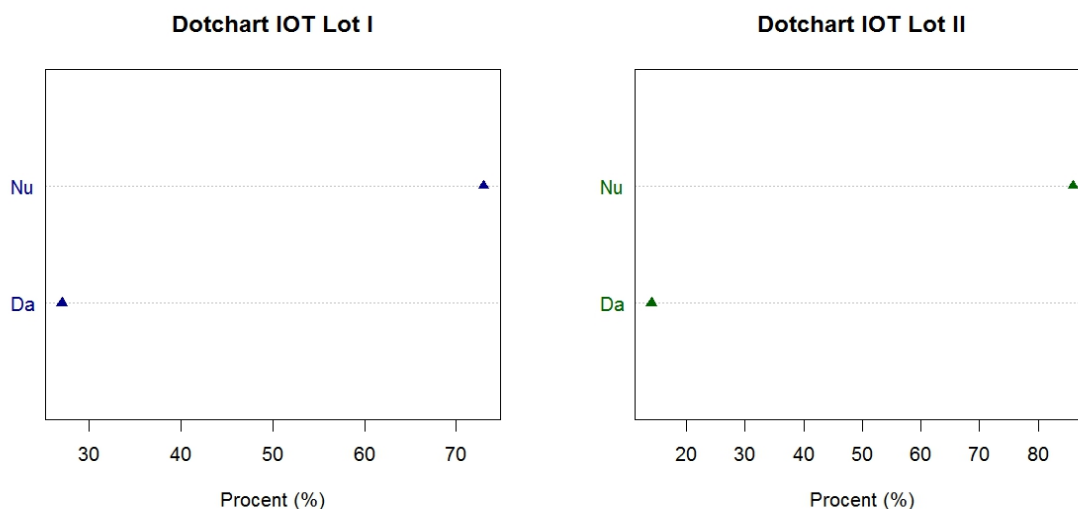
Analiză comparativă în funcție de gravitatea pacintilor și necesitatea protezării ventilatorii

În funcție de numărul de pacienți **intubați**, observăm o valoare mai mare a pacienților ce au necesitat protezare ventilatorie și ventilație mecanică (26.82%) la lotul I, față de 13.60% în lotul al doilea cum se observa in tabelul nr. 65

IOT	Lot I	Lot II
Da	11/41 (26.82)	23/169 (13.60)
Nu	30/41 (73.18)	146/169 (86.40)

Tabelul nr. 65 - Pacienți protezați ventilator

Dotcharturile de mai jos ne arată cele 2 distribuții :



Graficul nr. 98 - Pacienți protezați ventilator- comparație între cele două loturi

Pentru a se vedea dacă există diferențe semnificative statistic între cele 2 loturi s-a făcut un χ^2 test bidirecțional pentru diferența de proporții, variabilă urmărită fiind proporția de pacienți cu IOT la cele 2 loturi de pacienți al cărui rezultat este redat mai jos:

Diferență Proporții	Statistica χ^2	Valoare p	IC95% ptr diferență
0.13	4.25	0.0393	-0.01 la 0.27

Tabelul nr. 66 - Diferența de proporții în ceea ce privește pacienții intubați

Rezultatul testului ($\chi^2 = 4.25$, $p < 0.05$) ne determina să inferăm că sunt diferențe semnificative statistic în ceea ce privește proporția de pacienți cu IOT între cele 2 loturi.

Analiză comparativă în funcție de rată de deces a pacienților

În funcție de **rată de deces** a pacienților din ambele loturi, se observă o valoare similară a proporțiilor din ambele cazuri. În cazul lotului I, rata de deces a fost de 19.51%, față de lotul II, la care rata de deces a fost de 13.60%- vezi tabelul nr. 67

Deces	Lot I	Lot II
Da	8/41 (19.51)	23/169 (13.60)
Nu	33/41 (80.49)	146/169 (86.40)

Tabelul nr. 67 - Decese, valori comparative ale celor 2 loturi

Pentru a se vedea dacă există diferențe semnificative statistic între cele 2 loturi s-a făcut un χ^2 test bidirecțional pentru diferența de proporții, variabilă urmărită fiind proporția de pacienți decedați la cele 2 loturi de pacienți, al cărui rezultat este redat mai jos în tabelul nr. 68:

Diferență Proporții	Statistica χ^2	Valoare p	IC95% ptr diferență
0.05	0.91	0.3391	-0.07 la 0.19

Tabelul nr. 68 - Diferența de proporții în ceea ce privește pacienții decedați

Rezultatul testului ($\chi^2 = 0.91$, $p > 0.05$) ne determină să inferăm că nu sunt diferențe semnificative statistic în ceea ce privește proporția de pacienți decedați între cele 2 loturi.

Costurile spitalizării

S-a încercat să se facă o evaluare a diferențelor de cost pentru pacienții ce au fost investigați cu Plex ID vs cei la care s-au folosit metodele clasice.

Din nefericire a fost foarte greu de evaluat costul mediu al unei zile de spitalizare în România pentru o secție de boli infecțioase.

Singură informație pe care am putut să o folosim a fost costul unei zile de spitalizare într-o secție de ATI. Costul unei zile de îngrijiri ar fi 617 lei conform site-ului www.economica.net [10]

Costul unei analize plexID a fost estimat între 100 și 300 de Euro, media fiind deci de aproximativ 200 Euro.

Diferența între durata medie de spitalizare pentru pacienții care au fost investigați

clasic față de cei care au fost investigați cu plex ID a fost de aproximativ 7 zile, cu alte cuvinte luând în considerare costul mediu al unei zile de spitalizare pentru pacienții care au fost investigați clasic s-au cheltuit în plus $7 * 617 = 4319$ RON, adică aproximativ 950 de Euro. Se observă că s-a realizat o economie de 750 Euro pentru fiecare pacient.

Dar pacienții urmăriți de noi în studiu au avut o gravitate a bolii pentru care au fost internați mult peste medie (fiind vorba de pacienți care au îndeplinit condițiile de sepsis, deci pacienți foarte gravi) costul unei zile de spitalizare la aceștia fiind de fapt mult mai mare de 617 RON, deci economiile fiind de fapt mult mai importante.

DISCUȚII

Pe parcursul celor 60 de luni de la inițierea studiului până la finalul înrolării pacienților au fost urmăriți un număr de 2851 de copii cu vârste cuprinse între 0 și 18 ani, ce îndeplineau criteriile clinice și paraclinice de SIRS, sepsis sever și șoc septic. Dintre aceștia, 2588, au fost încadrați ca SIRS și 263 ca sepsis, unii având o stare extrem de gravă din momentul internării

23 dintre aceștia au necesitat IOT și VM, iar 63 prezentau insuficiență multiplă de organ. Pe parcursul celor 60 de luni de studiu, am înregistrat un nr de 24 de decese.

Se observă o repartitie inegală pe grupele de vârstă, cu o predominantă a sugarilor, care au prezentat criterii de SIRS și ulterior de sepsis, aceștia reprezentând 42 % din totalul pacienților luați în studiu. Dintre aceștia, 13 pacienți reprezentând 0.004 % din totalul de 2851 de pacienți și 0.01% dintre pacienții cu vârste mai mici de 1 an

Deoarece definițiile de sepsis la nivel internațional s-au schimbat și a fost introdus un nou scor de apreciere a severității și prognosticului pacienților adulți (qSOFA) care se calculează în funcție de 3 parametri (hipotensiune, tahicardie și SCG <15, la care se poate adăuga valoarea lactaului seric), am adaptat acest scor și la pacienții pediatriei luați în studiu.

Dacă am aprecia pe loturile de lucru luate în calcul, scorul qSOFA ar fi aplicabil doar pentru cei 263 de pacienți internați în secția de terapie intensivă și care au evoluat către sepsis și către deces în proporție de aproximativ 10%

Deși toate cazurile pediatrie de sepsis cu evoluție severă (decedați și toți pacienții intubați), au avut scorul qSOFA ≥ 3 , nu toți au evoluat nefavorabil, ceea ce demonstrează că acest scor nu este aplicabil în totalitate la copii, fiind astfel necesare metode suplimentare de predicție la această categorie de vârstă.

Având în vedere faptul că există în loturile de studiu 2851 de pacienți cu criterii de sepsis sau SIRS și doar 263 prezentau criterii clare de sepsis, se susține și prin această cercetare necesitatea reducerii definițiilor și criteriilor de sepsis.

Studiul a fost efectuat pe o perioadă de 5 ani, respectiv 60 luni, iar distribuția cazurilor în funcție de momentul intrării în studiu s-a dovedit a fi aproximativ egală în fiecare an.

În funcție de scorul Carmeli, doar 80 (30%) de pacienți din cei 263 aveau la internare scorul Carmeli 1, iar la extremă, 59 (23%) de pacienți proveneau din unități sanitare unde au efectuat intervenții chirurgicale sub tratament antibiotic cu spectru larg, având scorul Carmeli 3. 124 de pacienți reprezentând 47% dintre pacienți aveau scorul Carmeli 2

Pacienții au fost împărțiți în două loturi mari, reîmpărțite ulterior în subloturi în funcție de modul de diagnosticare și agentul etiologic implicat. În cadrul primului lot au fost înregistrați 263 de pacienți eligibili, iar 169 cu etiologie. În cadrul celui de-al doilea lot au fost înregistrați: 158 pacienți, împărțiți în mai multe subloturi în funcție de etiologie. 57 de pacienți au fost diagnosticați prin Plex-Id cu infecții bacteriene multiple, 57 au avut infecție cu *Clostridium difficile*, 39 *Streptococcus pneumoniae*, iar 8 pacienți au avut infecție cu *Mycobacterium tuberculosis*.

În funcție de vârstă, statistică descriptivă ne arată că distribuția a fost depărtată de distribuția normală, având un important skewness pozitiv (deviație la dreapta a distribuției), majoritatea cazurilor fiind cu vârste tinere (au fost și adolescenți în lot dar aceștia au constituit excepția)

În funcție de sex, așa cum este descris și în literatura de specialitate, pacienții de sex masculin au reprezentat 57,79% din total, spre deosebire de pacienții de sex feminin care au fost în proporție de 42,51%. Cu acest studiu, se confirmă acest lucru.

În funcție de mediul de proveniență, am observat o ușoară predominantă a pacienților din mediul urban 135 reprezentând 51.3%, versus pacienții din mediul rural 128, reprezentând 48.6%. Discutabil este însă accesul și adresabilitatea pacienților din mediul rural într-un spital din mediul urban.

Apartenența la colectivități de asemenea reprezintă un factor important în ceea ce privește sepsisul la copii, deoarece acest fapt, în mod teoretic, expune mai mult pacienții la agenți microbieni, atât prin copiii bolnavi cât și prin cei purtători de diverși germeni. Majoritatea pacienților, 65,39 %, reprezentați de 172 de pacienți proveneau din colectivități.

În ceea ce privește punctul de plecare al sepsisului, la 92 dintre pacienți, reprezentând aproximativ 35 % din total, acesta a fost necunoscut. La 44 dintre pacienți, (16,73%), punctul de plecare a fost respirator, urmat de ORL cu 11,40 de procente. S-a înregistrat un singur caz cu punct de plecare osos și 13 cazuri, reprezentând aproximativ 5 % din total, cu punct de plecare urinar.

În funcție de tratamentul instituit, 90 de pacienți, reprezentând 34.22%, au primit tratament cu Cefalosporina de gen a III-a, 23.95%, adică 63 de pacienți au primit asociere de antibiotice cuprinzând un carbapenem și oxazolidinona/quinolona/glicopeptid/polimixina, etc. 53 de pacienți adică 20.15% au primit carbapenemi și la polul opus, 5 pacienți, reprezentând aproximativ 2% din total au fost tratați cu Ciprofloxacină.

În cazul pacienților studiați, nr. mediu al zilelor de spitalizare a fost de 14, cu o minimă de 1, 2 zile în cazul pacienților ce au fost internați în stare extrem de gravă și au decedat la câteva ore de la internare și o maximă de aproximativ 50 de zile în cazul pacienților ce au suferit complicații severe și au necesitat pe lângă IOT+ VM, dializa peritoneală sau alte tipuri de intervenții.

Statistică descriptivă ne releva că distribuția a fost depărtată de distribuția gaussiană, având un skewness important pozitiv (deviație la dreapta) marea majoritate a pacienților având o perioadă de spitalizare între 7 și 30 de zile.

Deși 161 dintre cei 263 luați în studiu nu prezentau comorbidități, restul de 104, reprezentând aproximativ 40% din total, prezentau comorbidități, ceea ce reprezintă o valoare extrem de mare. Dintre aceștia, au predominat pacienții malformați cu un procent de 11%, imunodepresiile congenitale, aproximativ 10%, pacienții oncologici 6,84%.

63 dintre pacienți au prezentat insuficiența multiplă de organ, aceștia reprezentând 23,95% din totalul pacienților, iar 23 reprezentând 8.74% din totalul pacienților cu sepsis și 36,5 % dintre pacienții cu insuficiență multiplă de organ, au necesitat protezare respiratorie, prin intubare și ventilație mecanică, iar 24 au decedat.

Din numărul total de 263 de pacienți au prezentat forme severe de boală, iar dintre aceștia 24, reprezentând 0,912% au avut evoluție nefavorabilă, până la exitus.

LOTUL I

Sublotul pacienților diagnosticați prin PCR/ES-MS (Plex-Id)

În primul sublot de pacienți am înregistrat 54 de probe din care 41, reprezentând 76% din total, au avut agent etiologic evidențiat, iar 13, reprezentând 24% au fost negative.

Distribuția pacienților în funcție de vârstă, a avut extreme de la 5 luni la 17 ani, iar media vârstei a fost de 4 ani. Cei mai mulți pacienți aveau vârste cuprinse între 0-10 ani, copiii mai mari de 10 ani fiind mai puțini în acest sublot

Distribuția variabilei a fost depărtată de distribuția normală, având un important skewness pozitiv și a fost concentrată în jurul mediei aritmetice pacienții adolescenți fiind excepții.

Distribuția în funcție de sex este aproximativ egală și în acest caz, înregistrându-se 23 de paciente de sex feminin și 18 de sex masculin.

Analizând datele în funcție de punctul de plecare, observăm o predominantă a sepsisului cu punct de plecare respirator, cu un procent de aproximativ 30%, urmat de cel meningeal și ORL (27%). Cele mai puține cazuri au fost cazurile cu punct de plecare digestiv și cutanat care au reprezentat aproximativ 10% din total.

În cadrul acestui sublot, au fost înregistrate 8 decese din cei 54 de pacienți luați în studiu, reprezentând 14,8% din total și 19,51% din cei la care etiologia a fost evidențiată.

În funcție de gravitatea cazurilor și necesitatea protezării ventilatorii, au fost înregistrați 11 pacienți în stare extrem de gravă ce au necesitat intubare oro-traheală și ventilație mecanică, aceștia reprezentând 27% din total.

Scorul Carmeli reprezintă un indicativ important în evaluarea inițială a pacienților și în stabilirea schemei terapeutice ulterioare. În funcție de scorul Carmeli, pacienții au avut o medie de 2

Este un lucru binecunoscut faptul că Plex-Id poate detecta bacterii din orice produs patologic în mod normal steril. Poate fi utilizat pe produse de sânge, LCR, lichid pleural, aspirat traheal, lichide din abcese sau colecții, lichide articulare, etc.

În cazul pacienților studiați în acest sublot, lichidele din care s-a efectuat Plex-Id au fost: în cazul a 36 de probe, reprezentând 69%- sânge, 17 probe reprezentând 29%- LCR, 1 aspirat traheal.

Luând în considerare pacienții cu etiologie, la 58% dintre aceștia, agentul etiologic a fost identificat din sânge și la 41% dintre pacienți, din LCR.

În funcție de agenții etiologici izolați, 41 de probe, reprezentând 76% din total au fost pozitive și 24%, negative. Dintre izolatele determinate prin Plex-Id, au predominat *Streptococcus pneumoniae* cu 19,5%, *Neisseria spp* și *Mycobacterium* cu 6 izolate, reprezentând 14,6%. Au fost înregistrate 4 probe pozitive cu *Acinetobacter Spp* și 3 izolate cu *Pseudomonas*.

În acest lot de 54 de pacienți, 25 nu aveau boli asociate în momentul internării pentru sepsis, iar 29 dintre aceștia prezentau diverse comorbidități cum se poate observa și din tabelul de mai jos. Au predominat malformațiile congenitale, infecția HIV, malnutriția protein-calorică, afecțiuni oncologice

Raportându-ne la pacienții cu agent etiologic identificat, 19 pacienți prezentau

comorbidități și 11 dintre aceștia erau imunocompetenți. Au predominat malformațiile și pacienții afecțiunile oncologice.

La acest lot de pacienți, media numărului zilelor de spitalizare a fost de 10, cu o mediană de 9 și o variație de la min 3 zile până la un maxim de 26 de zile.

Unul din cele mai importante atuuri ale acestei metode este rapiditatea cu care poate detecta agentul etiologic, fiind vorba de o metodă eminamente automată. La pacienții studiați, intervalul de timp din momentul recoltării până la pozitivarea probei a fost în medie de 2 h-24 ore.

În cadrul studiului nostru, mediana orară a fost de 6 ore, cu medie 7.26 ore, variand de la o minimă de 2 ore până la o valoare maximă de 18 ore.

Sublotul pacienților cu *Clostridium difficile*

În această categorie au fost luați în studiu un număr de 57 de pacienți la care agentul etiologic a fost stabilit cu ajutorul PCR.

Vârsta medie a pacienților incluși în studiu este de 6 ani, așa cum este descris și în studiile de specialitate din literatură

La pacienții cu *Clostridium difficile*, scorul Carmeli este extrem de important, fiind recunoscută rata de apariție a acestei infecții după spitalizare prelungită și administrare de tratament antibiotic îndelungat. Se observa la acești pacienți ca majoritatea (41 din 57, reprezentând aproximativ 72%), aveau scorul Carmeli 3, explicabil în această situație.

Deoarece stabilirea diagnosticului etiologic rapid este esențială în acest caz, mai ales pentru reconsiderarea terapiei și înlăturarea potențialelor medicamente ce pot agrava starea pacienților, am urmărit timpul scurs din momentul suspiciunii acestei infecții până la evidențierea agentului etiologic. Media a fost de 7,22 ore, ceea ce este considerat foarte rapid și considerăm că poate crește eficiența terapiei specifice, a numărului de zile de spitalizare și implicit a costurilor.

Deși numărul de zile de tratament în acest caz este destul de fix, aflându-se între 14 și 21 de zile, media a fost de aproximativ 14 zile, deoarece o parte din pacienți au fost externați pentru continuarea terapiei specifice la domiciliu, atunci când starea acestora a permis-o.

Evoluția acestor pacienți a fost favorabilă sub tratament în proporție de 100%, neînregistrându-se nici un deces la acest sublot.

Sublotul pacienților cu *Mycobacterium tuberculosis*

Deoarece în cei 5 ani de studiu au existat cazuri extrem de severe de sepsis cu insuficiență multiplă de organ, la pacienți cu infecție acută cu *Mycobacterium tuberculosis*, care s-au soldat cu deces în câteva cazuri, am considerat importanta evaluarea acestor pacienți într-un sublot.

Vârsta pacienților a variat de la 1 la 16 ani cu o medie de 9 ani și o mediană de 13

În funcție de timpul scurs până la stabilirea etiologiei, media a fost de 25.7 ore, cu o minimă de 12 ore și o maximă de 48 ore.

Au fost înregistrați în studiu 8 pacienți din care 3 au decedat, ceea ce reprezintă

37,5%. Considerăm esențial timpul de diagnosticare al acestor pacienți, având în vedere rata atât de mare de deces la acest pacienți.

Sublotul pacienților cu Streptococcus Pneumoniae

În studiu au fost înrolați 39 de pacienți la care diagnosticul a fost stabilit prin PCR din LCR sau sânge care a determinat atât agentul etiologic cât și serotipul implicat în fiecare caz în parte.

În funcție de vârstă, media a fost de 4 ani, cu o minimă de câteva luni și o maximă de 10 ani. Așa cum am anticipat, cele mai multe cazuri s-au înregistrat la pacienții cu vârsta preșcolară, din colectivități.

În funcție de sex, ca și la celelalte loturi, se observă o predominantă a sexului masculin cu un procent de 58.97%, față de 41.03% la sexul feminin.

În funcție de scorul Carmeli, majoritatea pacienților, 53.84%, aveau un scor Carmeli de 2, iar 25.64%, aveau un scor Carmeli de 3, ceea ce impunea un tratament și o evaluare mai atentă pentru a scădea rata complicațiilor și a deceselor.

În funcție de timpul scurs până la stabilirea etiologiei, media a fost de 13 ore, cu o minimă de 2 ore ceea ce a ajutat foarte mult în stabilirea precoce a terapiei specifice. Cu ajutorul metodelor clasice (hemoculturi, culturi din LCR), durata medie ar fi fost în jurul a 3 zile ceea ce ar fi întârziat foarte mult stabilirea schemei terapeutice corecte.

În funcție de numărul de zile de spitalizare, am determinat o medie de aproximativ 20 zile, cu o limită de 10 zile și o maximă de 42 de zile la pacienții ce au necesitat IOT și VM pentru boala severă, invazivă și au suferit și alte complicații.

În funcție de serotip, se observă o clară predominantă a serotipului 19F cu 51.28%, urmată de 19A cu 17.94%, și serotipurile 3, 6A, 6B cu același procent de 7.69%. Aceste serotipuri sunt prezente în vaccinurile antipneumococice disponibile pe piață și se așteaptă în viitor o scădere a numărului de cazuri de boala severă.

În funcție de produsul patologic din care a fost recoltat PCR-ul, 15.38% însumând 6 pacienți au avut prezent Streptococcus pneumoniae în LCR iar 33 de pacienți, reprezentând 84.92%, au avut bacteria în sânge.

În funcție de punctul de plecare, la 18 pacienți, reprezentând 46.15 % punctul de plecare a fost reprezentat de un focar ORL, iar la 15 pacienți -38.46%, punctul de plecare a fost respirator.

În funcție de necesitatea IOT și VM, 5 dintre pacienți, însemnând 12.82% din total, au necesitat protezare ventilatorie deoarece starea extrem de gravă a pacienților a impus-o.

Dintre acești pacienți, 3 au decedat, însemnând 7.69% din total. Dintre pacienții intubați și ventilați mecanic, 2 au supraviețuit și au avut o evoluție favorabilă.

LOTUL II

Au fost analizați în special pacienții la care a fost posibilă identificarea agentului etiologic implicat, (hemoculturi 163 și culturi din LCR pozitive 13), întrunind un număr de 169 de pacienți unici, considerându-se importanta această categorie. Restul de 94 de pacienți, au întrunit criteriile clinice și paraclinice de sepsis, însă agentul etiologic nu a putut fi evidențiat.

În funcție de repartitia pe grupe de vârstă, dintre acești 169, au predominat grupele de vârstă 3-5 ani și 5-18 ani

Repartia în funcție de sex au fost: sexul feminin- 65 reprezentând 38,46% dintre cei 169 de pacienți, iar sexul masculin-104 reprezentând 61,5% dintre cei 169 de pacienți

Repărțita în funcție de mediul de proveniență: Urban-79,(46,74%), Rural-90 ,(53,25%). Se observă o proporție aproximativ egală între mediile de proveniență de la ambele categorii sociale.

În ceea ce privește izolatele la 2 pacienți am înregistrat coinfectii, iar la 167 dintre pacienți a fost vorba despre infecții monobacteriene

- Coinfecțiile au fost următoarele: *Burkholderia cepacia* asociat cu *Pseudomonas fluorescens* la unul dintre pacienți și *Klebsiella oxytoca* asociat cu *Enterobacter cloacae*
- Au predominat Cocii Gram pozitivi, cu un procent de 62.72%, urmați de Bacilii Gram negativi cu 28.40% și Cocii Gram negativi în procent de 7.10%.
- *Mycobacterium tuberculosis*, deși a reprezentat o suspiciune clinică mult mai frecventă, a fost identificat la 2 pacienți, reprezentând 1.18% din total.
- Analizând cocii gram pozitivi, observăm că *Staphylococcus Aureus* s-a identificat în 16 cazuri, reprezentând 9.46% din total, iar *Streptococcus pneumoniae* a fost izolat la 15 pacienți 8.87%. Enterococul a reprezentat 1.77%.
- În ceea ce privește cocii Gram negativi, au fost predominat *Neisseria meningitidis*-8 izolate, reprezentând 4.73%.
- Analizând germenii Gram negativi identificați am constatat o predominantă a speciilor de *Klebsiella* care au reprezentat 41.66% din totalul germenilor Gram negativi și 11.83% din totalul izolatelor din hemoculturi și LCR.
- *Klebsiella pneumoniae* a fost identificată în 9 cazuri, reprezentant 18.75% din totalul bacililor gram negativi și 5.32% din totalul probelor pozitive, iar *Klebsiella oxytoca* a fost identificată la 15 pacienți însumând 31.25% din totalul bacililor gram negativi și 8.87% din totalul probelor.
- *Serratia marcescens* a urmat ca număr de izolate după *Klebsiella*, cu un procent de 20% dintre germenii gram negativi și cu un procent de 5.91% din totalul probelor pozitive.
- *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Enterobacter cloacae* au fost într-un procent mic (1.77%) din totalul izolatelor cu un număr de 3, respectiv 4 izolate.
- *Acinetobacter baumannii* a fost identificat într-un singur caz, însemnând 0.59% din total.

S-au înregistrat 24 de decese, din care 8 pacienți au decedat în prima zi de internare, acesta reprezentând 30% dintre cazuri (formele fulminante de meningococemie). Același procent se înregistrează și în cazul pacienților spitalizați pentru mai mult de 21 de zile. Restul de 40% este distribuit în proporții aproximativ egale între pacienții spitalizați 7, 14 zile sau până în 20.

La mulți dintre aceștia agentul etiologic a fost izolat după decesul acestora, atunci când culturile au fost pozitive. Cei 30% dintre pacienți care au decedat în prima zi de la internare, diagnosticul de deces s-a bazat doar pe suspiciunea clinică și pe probele nespecifice.

În cazul a 8 probe 4.73% din total, rezultatul a fost pozitiv în 2 zile, iar în extremă, la 33 de pacienți reprezentând 19.5%, într-un procent semnificativ mai mare, timpul scurs până la identificare a fost mai mare de 7 zile.

Vârstele extreme prezintă forme mai severe de sepsis datorită fie imaturității, fie comorbidităților. În funcție de vârstă de deces, s-a observat o valoare sensibil mai mare la pacienții cu vârsta mică, 12 pacienți, reprezentând 50% dintre decese având vârsta mai mică de 3 ani, iar 7 reprezentând 29,16% dintre ei, erau sugari, cu vârste sub 1 an, ceea ce se corelează cu datele din literatura care se bazează pe aceleași procentaj.

Categoriile de vârstă 3-5 ani și 5-7 ani au înregistrat o valoare foarte mică a deceselor, procentul fiind de 8%, (2 din 24). Se observa însă o creștere la categoriile de vârstă 7-14 ani, la 16,6 % (4 cazuri) și 14-18 ani la 25% (6 pacienți).

Cele mai multe cazuri s-au înregistrat la categoriile de vârstă 0-1 ani și 14-18 ani.

În ceea ce privește repartitia pe ani a deceselor, în anul 2011 s-au înregistrat cele mai multe decese-8, reprezentând 33,33%, din total. 5-20,8% a fost procentul pentru anii 2012 și 2014, iar în 2013 și 2015 a scăzut la 12,5%.

Mortalitatea a scăzut semnificativ între anii 2011 și 2015 cu aproximativ 20%, datorită îmbunătățirii metodelor de diagnostic și implicit inițierii rapide a terapiei antibiotice specifice.

ANALIZA COMPARATIVĂ A LOTURILOR

Lotul I a fost constituit din pacienții ce au fost investigați cu ajutorul metodei (PCR/ES-MS) Plex ID iar lotul II din cei investigați cu ajutorul metodei clasice (analiza microbiologică a hemoculturilor și culturilor din LCR). În primul lot au fost urmărit 57 de pacienți, iar în cel de-al doilea cei 169.

Primul parametru important evaluat a fost vârsta pacienților. În ceea ce privește lotul I, vârsta medie a fost de 4.34 ani, iar la cel de-al doilea lot de 6.22 ani.

În ceea ce privește sexul pacienților evaluați în cele 2 loturi observăm o predominanță a sexului masculin în ambele cazuri, ceea ce este în concordanță cu datele din literatură, confirmând predispoziția sexului masculin pentru forme severe de boală. Rezultatul testului ($\chi^2 = 0.13$, $p > 0.05$) ne determina să inferăm că nu sunt diferențe semnificative statistic în ceea ce privește distribuția pe sexe între cele 2 loturi

Au fost de asemenea comparați pacienți în funcție de mediul de proveniență, iar distribuțiile sunt relativ egale cu o ușoară predominanță a pacienților din mediul rural. Pacienții din lotul I erau din mediul rural în proporție de 58.54%, față de lotul II cu un procent de 52.07%. Rezultatul testului ($\chi^2 = 0.55$, $p > 0.05$) ne determina să inferăm că nu sunt

diferențe semnificative statistic în ceea ce privește mediul de proveniență între cele 2 loturi.

În cazul ambelor loturi se observă o valoare medie a scorului Carmeli de 2. Rezultatul testului ($t = -0.29$, $gl = 60.24$, $p > 0.05$) ne determina să inferăm că nu există diferențe cu semnificație statistică între cele 2 loturi în ceea ce privește scorul Carmeli.

Nr mediu de zile până la identificarea etiologiei este de 5 în cazul celui de-al doilea lot, iar în cazul primului lot, de aproximativ 7 ore. Acest lucru ar putea aduce un avantaj în scăderea mortalității, numărului de zile de spitalizare, costurilor și tratamentelor efectuate pacienților.

În ceea ce privește specificitatea metodei, la lotul I de pacienți, rata de determinare microbiană a fost de 75.92%, față de 64.25% în cazul pacienților din lotul II. Rezultatul testului ($\chi^2 = 2.73$, $p > 0.05$ dar $p < 0.10$) este marginal nesemnificativ. Testul modern pare a fi superior din punct de vedere al sensibilității dar nu sunt suficiente date pentru a putea confirma acest lucru.

S-a analizat dacă sensibilitatea pentru metoda moderna (lotul I din studiul nostru) este comparabilă cu cea obținută de studiul numit "*Rapid Diagnosis of Infection in the Critically Ill, a Multicenter Study of Molecular Detection in Bloodstream Infections, Pneumonia, and Sterile Site Infections*" efectuat în 6 țări europene, în perioada octombrie 2013-iunie 2014 pe 616 probe de sange ale unor pacienți internați în secțiile de terapie intensivă, cu suspiciunea de sepsis, sau pneumonie severă asociată ventilatiei mecanice.

Concluzia testului a fost că nu au existat diferențe cu semnificație statistică în ceea ce privește sensibilitatea metodei în cele 2 studii, sensibilitatea determinată în studiul nostru fiind de 76%, comparabilă cu valoarea studiului multicentric internațional de 81%

În funcție de produs din care a fost izolat agentul etiologic, se observă o diferență semnificativă în cazul pacienților din lotul I, la care s-a folosit Plex ID, în special la identificarea din LCR care este de 41.46%, față de 16.66% în cazul pacienților din lotul II.

De asemenea, Plex ID se poate efectua din orice produs patologic posibil infectat fără a se modifica timpul de identificare sau sensibilitatea și specificitatea.

În funcție de numărul de zile de spitalizare, se poate observa o diferență marcată între numărul mediu de zile de spitalizare ale unui pacient din lotul I, la care durata medie a fost de 10 zile comparativ cu lotul II de studiu la care numărul mediu de zile de spitalizare a ajuns la 17, ceea ce determină o evidentă diferență, care se observă în costurile spitalizării și evoluția pacienților.

Rezultatul testului ($p < 0.01$) ne permite să inferăm că există diferențe cu semnificație statistică între cele 2 loturi, pacienții cu etiologia stabilită prin metode moderne stând median cu 5 zile în spital (vorbiți aici de supraviețuitori)

În funcție de numărul de pacienți intubați, observăm o valoare mai mare a pacienților ce au necesitat protezare ventilatorie și ventilație mecanică (26.82%) la lotul I, față de 13.60% în lotul al doilea. Rezultatul testului ($\chi^2 = 4.25$, $p < 0.05$) ne determina să inferăm că sunt diferențe semnificative statistic în ceea ce privește proporția de pacienți cu IOT între cele 2 loturi.

În funcție de rată de deces a pacienților din ambele loturi, se observă o valoare similară a proporțiilor din ambele cazuri. În cazul lotului I, rata de deces a fost de 19.51%, față de lotul II, la care rata de deces a fost de 13.60%. Rezultatul testului ($\chi^2 = 0.91$, $p > 0.05$) ne determina să inferăm că nu sunt diferențe semnificative statistic în ceea ce privește

proporția de pacienți decedați între cele 2 loturi

Diferența între durata medie de spitalizare pentru pacienții care au fost investigați clasic față de cei care au fost investigați cu plex ID a fost de aproximativ 7 zile, cu alte cuvinte luând în considerare costul mediu al unei zile de spitalizare pentru pacienții care au fost investigați clasic s-au cheltuit în plus $7 * 617 = 4319$ RON adică aproximativ 950 de Euro. Se observă că s-a realizat o economie de 750 Euro pentru fiecare pacient.

CONCLUZII

1. Sepsisul la copil este o afecțiune rară dar poate evolua sever mai ales la copiii cu deficit imun (congenital sau dobândit). În studiul efectuat, pe parcursul a 60 luni, am înregistrat la copil 2.851 de cazuri ce îndeplineau criteriile de SIRS, ceea ce reprezintă 15% din totalul internărilor din Institutul Național de Boli Infecțioase "Prof. Dr. Matei Balș" în aceeași perioadă. Majoritatea cazurilor (90.8 %) au fost clasificate ca SIRS și doar 263 de cazuri (9.2 %) reprezintă sepsisul propriu-zis. Analiza cazurilor incluse în studiu (numărul mare de cazuri de SIRS comparativ cu cele de sepsis propriu-zis) confirmă necesitatea redefinirii criteriilor de sepsis, fapt demonstrat recent și de alți specialiști din domeniu.
2. La pacienții diagnosticați cu sepsis am calculat scorul qSOFA (noul scor de evaluare a severității și prognosticului pacienților) și am constatat că:
 - a. 33 % dintre cazuri aveau qSOFA 3 (88/263), 27 % dintre acestea au decedat (24/88), ceea ce reprezintă 9 % din totalul cazurilor de sepsis (24/263).
 - b. 67 % dintre pacienți au avut qSOFA < 3 (175/263)Deși toate cazurile pediatrice de sepsis cu evoluție severă (decedați și toți pacienții intubați), au avut scorul qSOFA ≥ 3 , nu toți au evoluat nefavorabil, ceea ce demonstrează că acest scor nu este aplicabil în totalitate la copii, fiind astfel necesare metode suplimentare de predicție la această categorie de vârstă.
3. Vârsta, sexul, mediul de proveniență nu sunt predictorii pentru riscul de deces (val $p \gg 0.05$, IC95% pentru odds-ratio conține 1)
4. Pacienții proveniți din colectivități au un risc de deces de aprox 4 ori mai mare de deces față de cei care nu provin din colectivități ($p < 0.05$, IC95% nu conține 1).
5. Analiza scorului Carmeli sugerează că o creștere cu o unitate pe această scară este asociată cu un risc de deces de 1.7 ori mai mare față de unitatea anterioară, dar nu avem date suficiente pentru a afirma acest lucru la o semnificație de 95% (val $p < 0.05$)
6. 23,95 % dintre cazurile analizate (63/263) au prezentat MSOF iar 8.74 % din aceștia (23/263) ceea ce reprezintă 36,5 % dintre cei cu MSOF au necesitat protezare respiratorie, prin intubare (IOT) și ventilație mecanică (VM). IOT și VM reprezintă o manevră invazivă, care poate constitui un factor de predicție negativ în ceea ce privește evoluția pacienților septici, prin creșterea riscului de infecție nozocomială, mai ales când această procedură este necesară o perioadă lungă de timp. Prezența MSOF crește riscul de deces de aproximativ 13 ori ($p < 0.05$, IC95% nu conține 1)
7. IOT crește riscul de deces de aprox 48 de ori ($p < 0.05$, IC95% nu conține 1), atât severitatea sepsisului la acest grup de pacienți cât și prin consecințele ce derivă din această procedură complexă.
8. Am înregistrat 24 decese ceea ce reprezintă 9,1 % dintre cazurile de sepsis. În funcție de rată de deces a pacienților din ambele loturi, se observă o valoare similară a proporțiilor din ambele cazuri. În cazul lotului I, rata de deces a fost de 19.51 %, iar la cel de al II-lea de 13.60 %. Rezultatul testului ($\chi^2 = 0.91$, $p > 0.05$) ne determina să inferăm că nu sunt diferențe semnificative statistic în ceea ce privește proporția de pacienți decedați între cele 2 loturi.
9. Concluzie privind etiologia stabilită prin cele metode precum și avantaje și/sau

dezavantaje:

- Specificitatea metodei de diagnostic:
 - a. 75.92% în cazul folosirii Plex ID
 - b. 64.25% în cazul pacienților diagnosticați prin metode clasice.
- Rezultatul testului ($\chi^2 = 2.73$, $p > 0.05$ dar $p < 0.10$) este marginal nesemnificativ. Testul modern pare superior din punct de vedere al sensibilității.
- Intervalul de timp până la identificarea etiologiei:
 - c. 5 zile (120 ore) la lotul la care s-au folosit metode clasice de diagnostic
 - d. aproximativ 7 ore la pacienții la care s-a efectuat Plex ID

Se observă că metodele moderne de diagnostic au fost de aproximativ 17 ori mai rapide în stabilirea diagnosticului etiologic, ceea ce reprezintă un real avantaj prin introducerea terapiei adecvate, scăderea mortalității, a numărului de zile de spitalizare și costurilor aferente.

10. În funcție de produsul din care a fost izolat agentul etiologic, se observă o diferență semnificativă în cazul pacienților la care s-a folosit Plex ID (în special la identificarea din LCR) care este de 41.46 %, față de 16.66 % la cazurile diagnosticate prin metode clasice. De asemenea, Plex ID se poate efectua din orice produs patologic posibil infectat fără a se modifica timpul de identificare sau sensibilitatea și specificitatea.
11. În funcție de numărul de zile de spitalizare, se poate observa o diferență marcată între numărul mediu de zile de spitalizare ale unui pacient din lotul I, la care durata medie a fost de 10 zile comparativ cu lotul II de studiu la care numărul mediu de zile de spitalizare a ajuns la 17, ceea ce determină o evidentă diferență, care se observă în costurile spitalizării și evoluția pacienților. Fiecare zi de spitalizare crește riscul de deces cu 0.5% ($p < 0.05$, IC95% nu conține 1)
12. Rezultatul testului ($p < 0.01$) ne permite să inferăm că există diferențe cu semnificație statistică între cele 2 loturi, pacienții cu etiologia stabilită prin metode moderne având în medie o spitalizare cu 5 zile mai scurtă față de pacienții diagnosticați prin metode clasice.
13. Diferența între durata medie de spitalizare pentru pacienții care au fost investigați clasic față de cei care au fost investigați cu plex ID a fost de aproximativ 7 zile, cu alte cuvinte luând în considerare costul mediu al unei zile de spitalizare pentru pacienții care au fost investigați clasic s-au cheltuit în plus $7 * 617 = 4319$ RON adică aproximativ 950 de Euro. Se observă că s-a realizat o economie de 750 Euro pentru fiecare pacient.

Bibliografie

1. <https://CRAN.R-project.org/package=asbio>
2. <https://CRAN.R-project.org/package=arm>
3. <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMra1208623>
4. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. Crit Care Med 2001;29:1303-1310]
5. Mayr FB, Yende S, Linde-Zwirble WT, et al. Infection rate and acute organ dysfunction risk as explanations for racial differences in severe sepsis. JAMA 2010;303:2495-2503
6. <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=2492856>
7. <http://www.qsofa.org>
8. <http://www.wfpiccs.org/projects/sepsis-initiative/>
9. www.economica.net
10. http://www.economica.net/cat-costa-ziua-de-spitalizare--stat-vs--privat_68993.html
11. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21048006>
12. <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/501214/>
13. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3), <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26903338>,
14. <http://lifeinthefastlane.com/ccs/sepsis-definitions/>