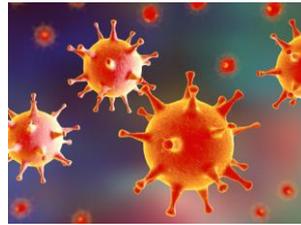




UNIVERSITÄTS  
KLINIKUM  
HEIDELBERG



**BAD HONNEF-SYMPIOSIUM 2019**

ausgerichtet von der Paul-Ehrlich-Gesellschaft  
für Chemotherapie e.V.

**Update Infektionskrankheiten:  
Erkennen, Bewerten, Handeln**

**29. / 30. April 2019**  
Gustav-Stresemann-Institut, Bonn

# Infektionsbiomarker der Zukunft

**Thorsten Brenner**  
**-Heidelberg-**

# Agenda



1) Einführung: Worauf kommt es bei Sepsis an?



2) Sepsis-Diagnostik: Künstliche Intelligenz & SeptiCyte LAB?



3) Theragnostische Biomarker der Zukunft:

- Thromboelastometrischer Lyseindex (LI)
- Human Leukocyte Antigen (HLA)-DR
- (Mid-regional pro)adrenomedullin ((MR-pro)ADM)



4) Infektionsdiagnostik 2.0: NGS-basierte Diagnostik bei Sepsis!



5) Zusammenfassung: Was soll hängenbleiben?

# Sepsis – Ein (globales) Problem!



DRG-codierte Fälle **2015: 320.198** (2010: 229.214)  
→ Implizite Fälle: **1.166.061**

Fleischmann-Struzek C et al., *Intensive Care Med* (2018)



**Steigende Inzidenz** von +4-8% jährlich

Fleischmann C et al., *Dtsch Arztebl Int* (2016)



10 - 45% **Sterblichkeit** je nach Schweregrad

Fleischmann-Struzek C et al., *Intensive Care Med* (2018)



**Behandlungskosten:** \$2.595 – \$3.068 / Tag  
→ \$8.571 – \$81.100 Fallkosten

Fernando SM et al., *Crit Care* (2018)  
Paoli CJ et al., *Crit Care Med* (2018)

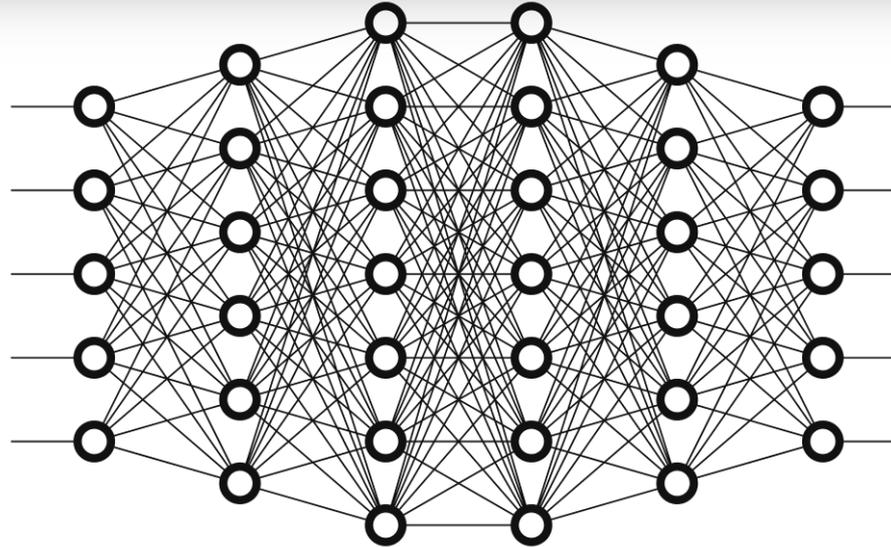
# Worauf kommt es bei der Sepsis an?



# Sepsis-Diagnostik: Künstliche Intelligenz hilft!

Deep Learning Microarray-basierte Datensätze aus GEO- bzw. ArrayExpress-Datenbanken

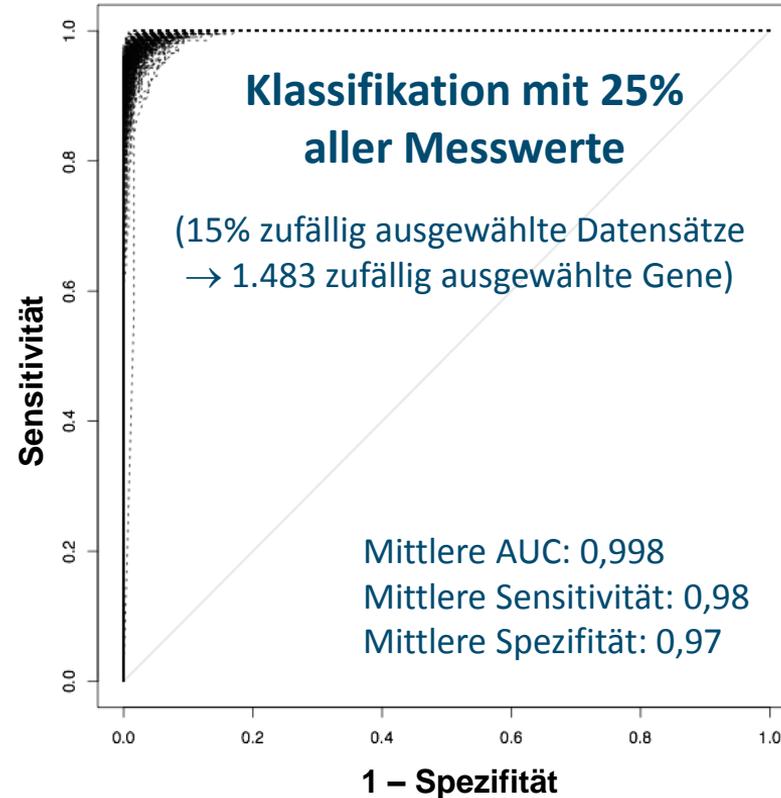
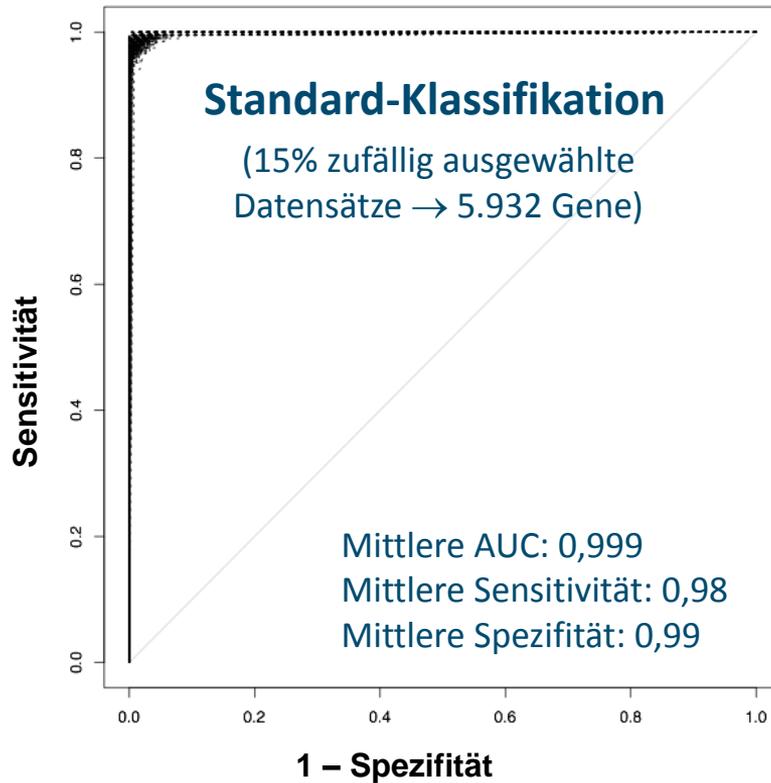
**Adulte Sepsis**  
(n=1.013)  
+  
**Kontrollen**  
(n=185)



**Pädiatrische Sepsis**  
(n=341)  
+  
**Kontrollen**  
(n=161)

Zur Abgrenzung: **Trauma-Patienten** (n=1.268) + **Kontrollen** (n=37)

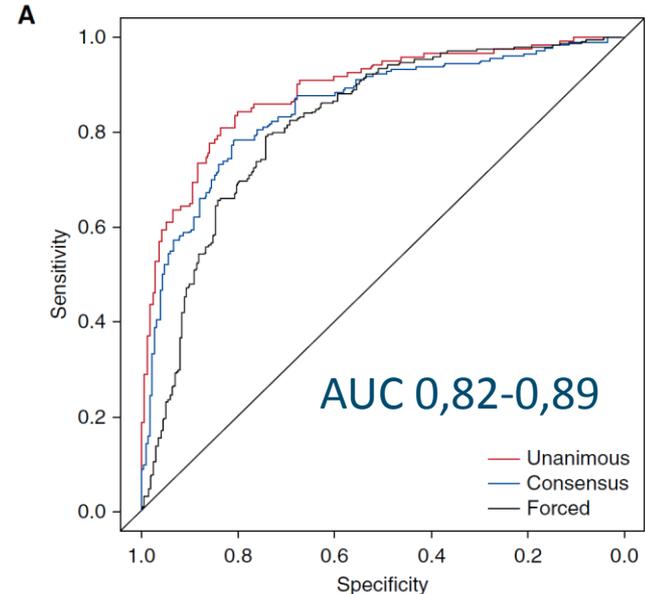
# Sepsis-Diagnostik: Künstliche Intelligenz hilft!



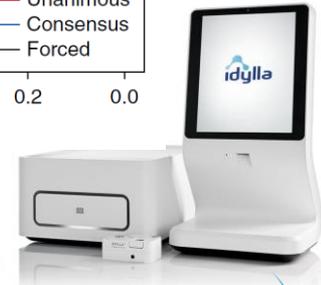
# Sepsis-Diagnostik mittels SeptiCyte LAB (RT-qPCR)

## Studiendesign:

- 2 inkludierte Kohorten (insg. n=447 Patienten):
  1. VENUS-Trial (n=249 / 7 Zentren in den USA)
  2. MARS (Molecular Diagnosis and Risk Stratification of Sepsis)-Trial (n=198 / NL)
- Vollblut-Genexpression von 4 Genen:  
*CEACAM4, LAMP1, PLAC8, PLA2G7*
- Evaluation der Performance des SeptiCyte LAB für die Abgrenzung nicht-infektiöses SIRS vs. Sepsis durch Vgl. mit retrospektivem Experten-Panel bestehend aus 3 Experten



  
Immunexpress



# NGS: Immunologische Heterogenität bei Sepsis!

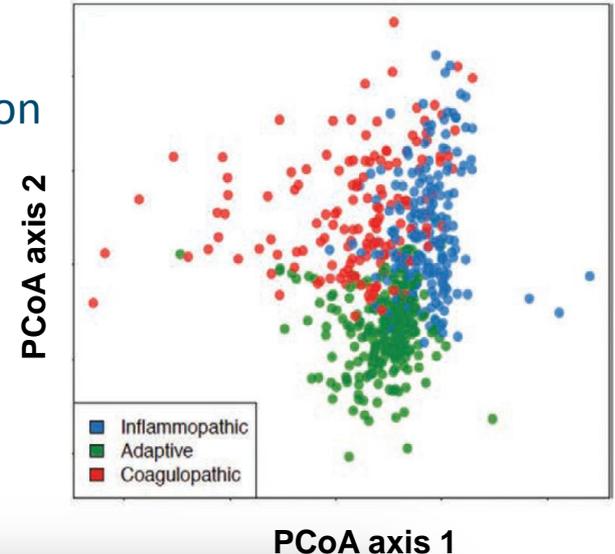
## Studiendesign:

▪ Zweistufige, retrospektive bioinformatische Analyse von Transkriptom-Datensätzen von **Patienten mit bakt. Sepsis:**

1. „*Discovery*“: 14 Datensätze (8 Länder; n=700)
2. „*Validation*“: 9 Datensätze (5 Länder; n=600)

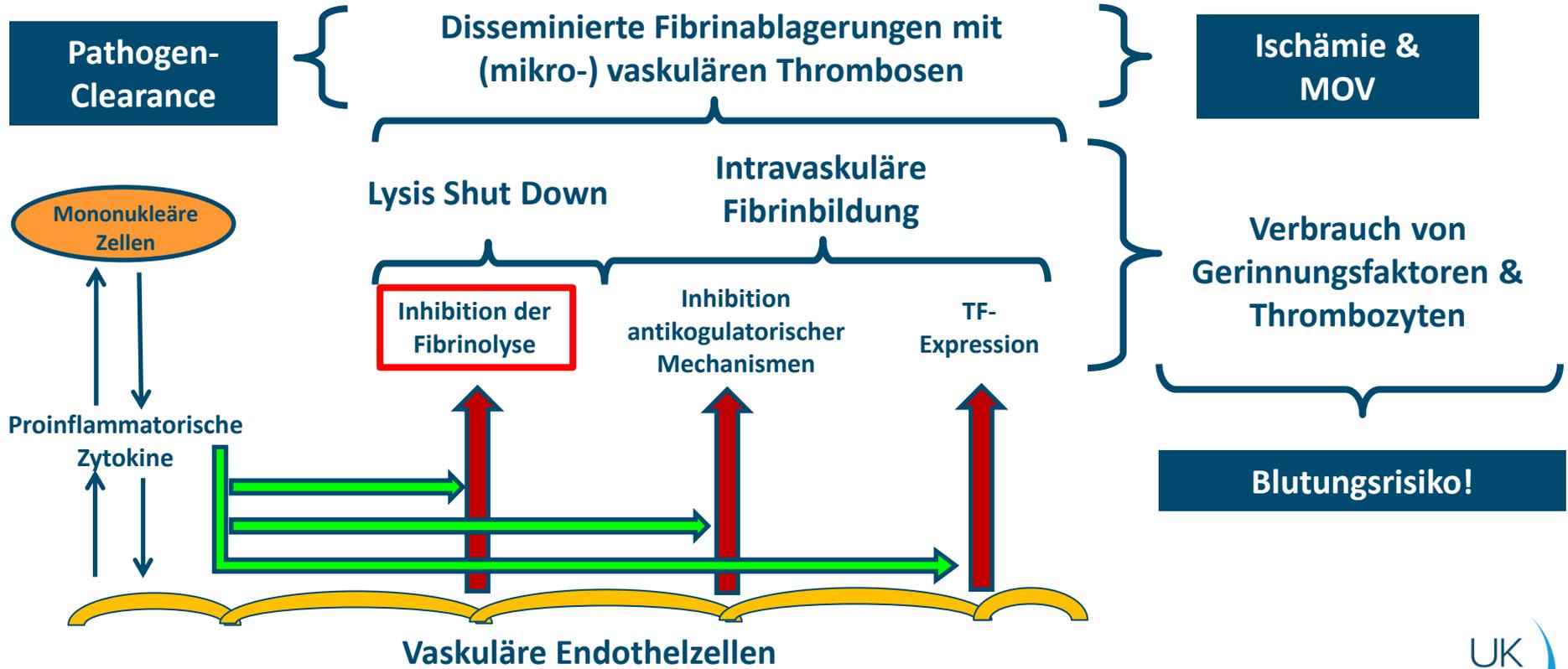
## Ergebnisse:

▪ Identifizierung von **drei funktionellen Subtypen:** „*Inflammopathic*“, „*Adaptive*“ & „*Coagulopathic*“



*„Immunologisch-molekulare Heterogenität bedingt die Notwendigkeit für personalisierte Therapieansätze“* → Theragnostische Biomarker der Zukunft?!

# Septische Koagulopathie - Pathophysiologie



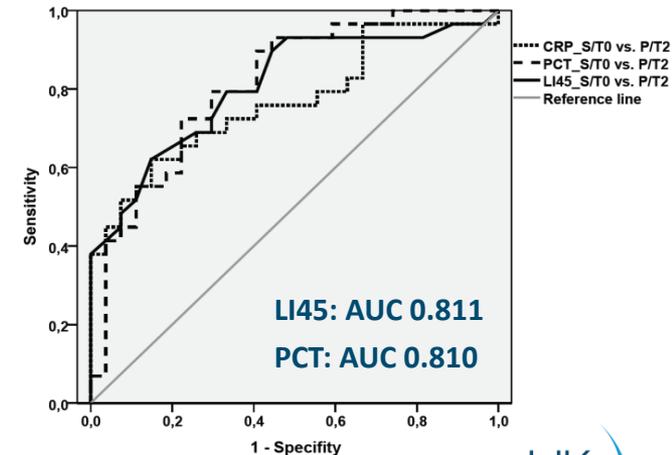
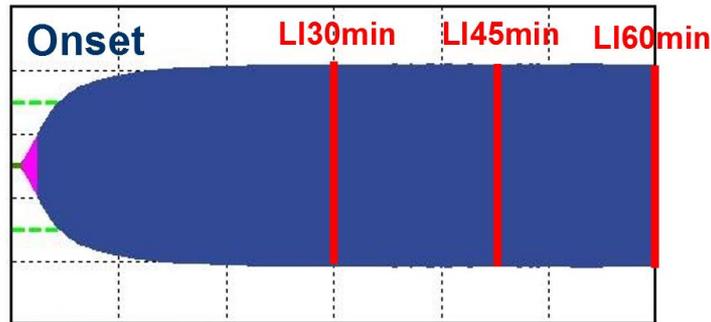
# Lysis Shut Down in der humanen Sepsis



ROTEM® delta

## Studiendesign:

- **Septischer Schock** (n=30) → Sepsis-Onset, 24h, 4d, 7d, 14d & 28d später
- **Postoperative Kontrollen** (n=30) → prä-OP, direkt post-OP & 24h später
- **Gesunde Probanden** (n=30) → einmalige Probengewinnung
- **Rotationsthrombelastometrie & Inflammation** (IL-6, TNF-alpha, PCT, CRP)



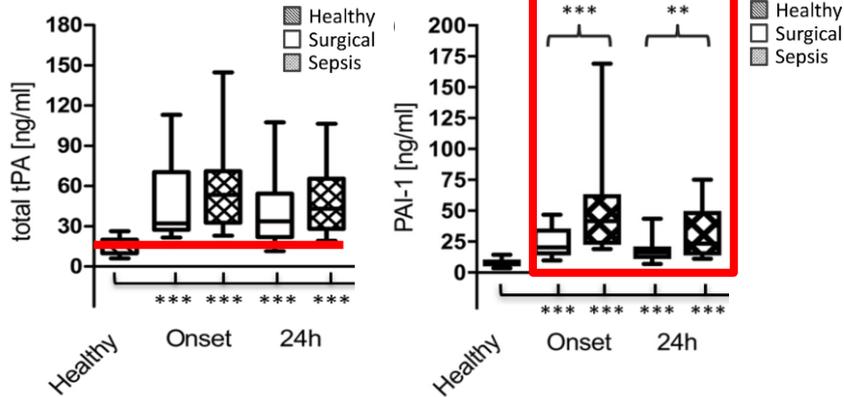
## Ergebnisse:

- Der **Lyseindex (LI)** ist ein **POC-fähiger Sepsis-Biomarker!**

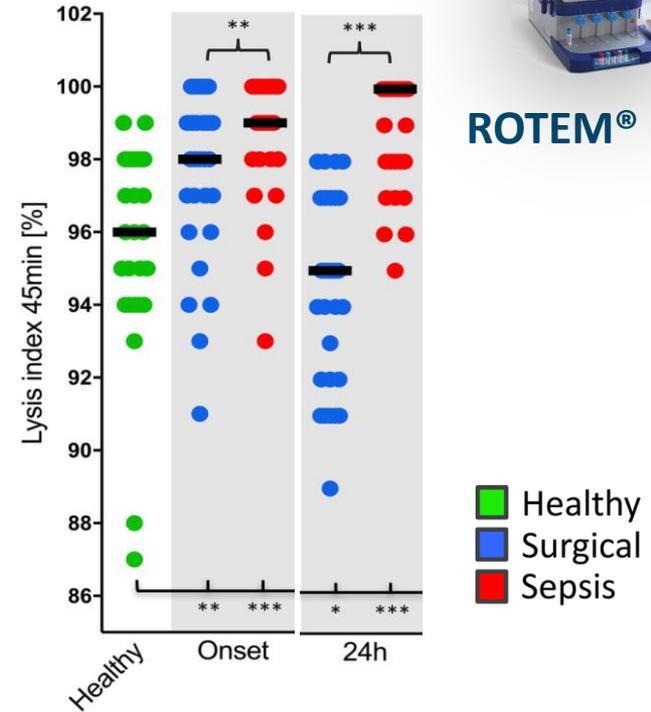
# Lysis Shut Down bei humaner Sepsis

## Studiendesign:

- Klinisch, prospektive Observationsstudie
- Sept. Schock (n=30), operative Kontrollen (n=30) & gesunde Probanden (n=30)



## Ergebnisse:



ROTEM® delta

# Hyper- vs. Hypokoagulabilität bei Sepsis



ROTEM® delta

## Studiendesign:

- Klinisch, prospektive Observationsstudie
- **Sept. Schock** (n=30), **operative Kontrollen** (n=30) & **gesunde Probanden** (n=30)

## Ergebnisse:

- **Initiale Hyperkoagulabilität (Ø DIC)**

→ Verbrauch von Faktoren & Thrombozyten

→ **Sek. Hypokoagulabilität (Overt DIC)**

→ Prognose↓↓



**Steuerung der  
Antikoagulation mittels  
viskoelastischem POCT?**



**STOP den Teufelskreis → Antikoagulation bei Sepsis?**

# NGS: Immunologische Heterogenität bei Sepsis!

## Studiendesign:

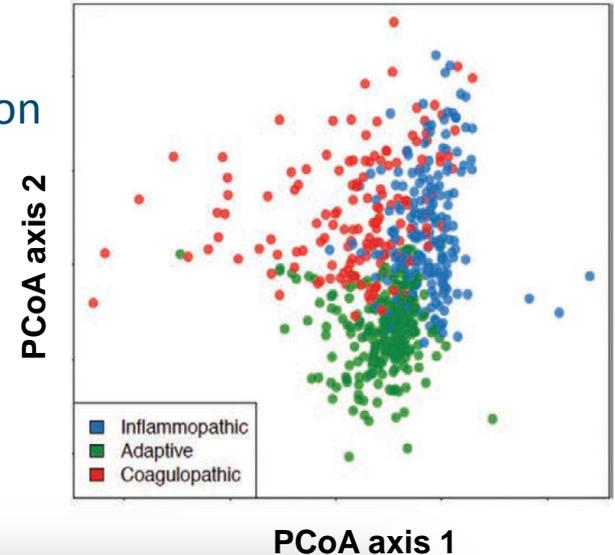
▪ Zweistufige, retrospektive bioinformatische Analyse von Transkriptom-Datensätzen von **Patienten mit bakt. Sepsis:**

1. „**Discovery**“: 14 Datensätze (8 Länder; n=700)
2. „**Validation**“: 9 Datensätze (5 Länder; n=600)

## Ergebnisse:

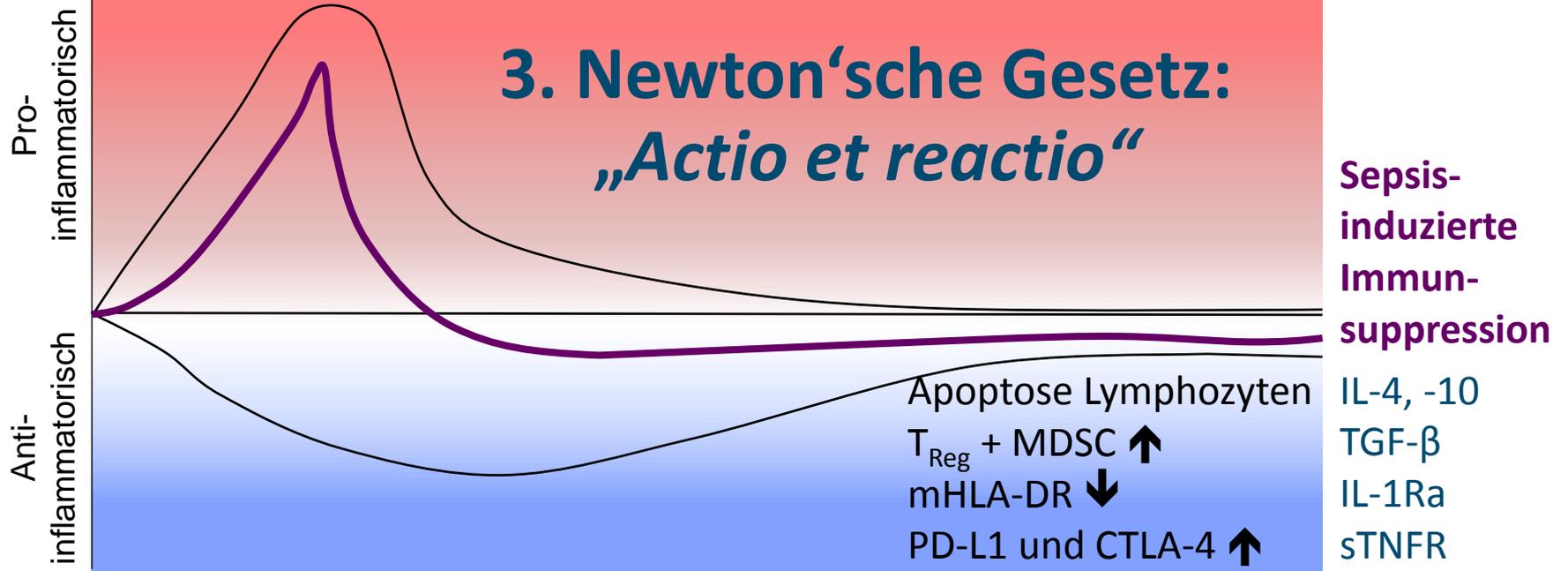
▪ Identifizierung von **drei funktionellen Subtypen:**

„**Inflammopathic**“, „**Adaptive**“ & „**Coagulopathic**“



*„Immunologisch-molekulare Heterogenität bei Sepsis bedingt die Notwendigkeit für (POC-basierte) personalisierte Therapieansätze!“*

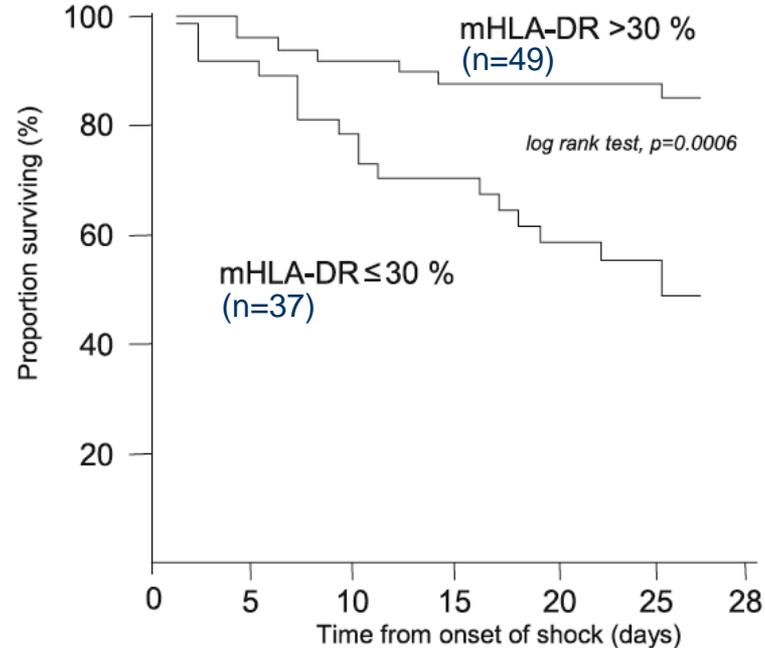
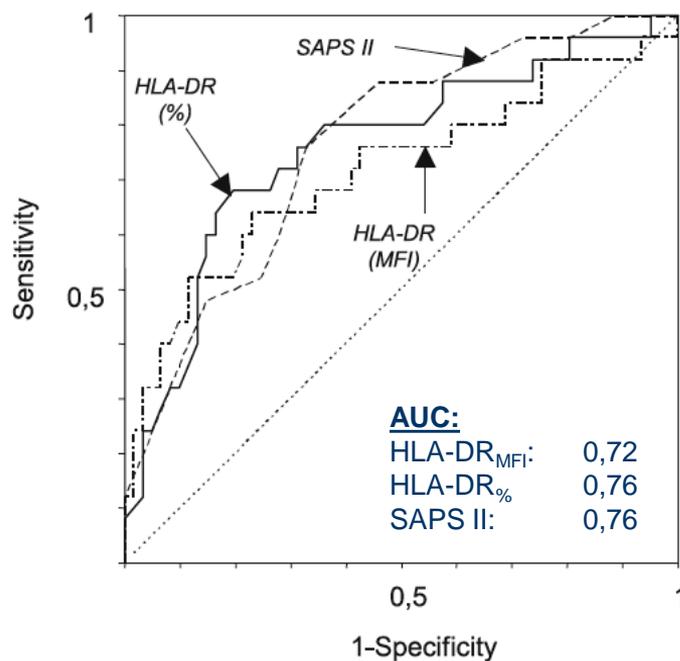
## Systemic Inflammatory Response Syndrome



## Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome

# Prognostische Wertigkeit von HLA-DR

## Untersuchung der prädiktiven Wertigkeit an Tag 3-4 für Sterblichkeit



# Prognostische Wertigkeit von HLA-DR



## Wissenschaftlicher Hintergrund:

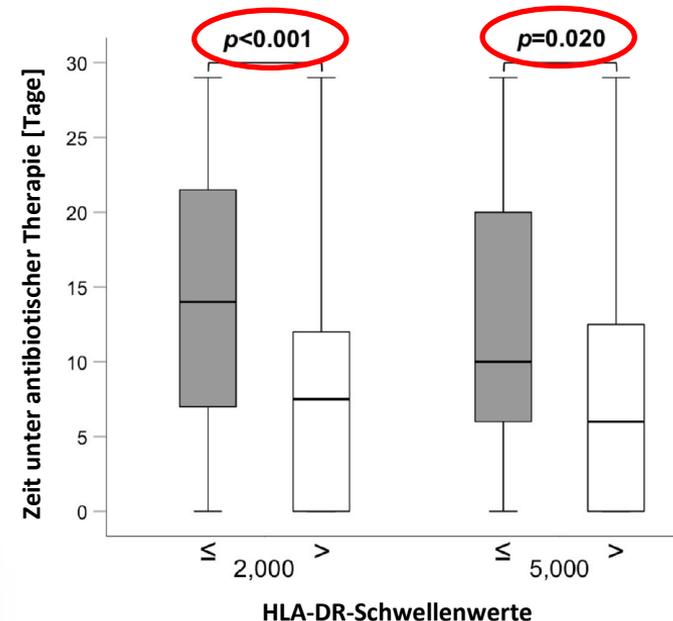
- Human Leucocyte Antigen (HLA) – DR
- Surrogat für Monozyten(dys-)funktion
- Ass. mit (Sekundär-)infektion & Prognose

## Studiendesign:

- Klinisch, prospektive Observationsstudie mit ITS-Patienten (n=135)
- Einmalige Bestimmung des HLA-DR-Status bei ITS-Aufnahme mittels POC-fähigem FACS

## Ergebnis:

- HLA-DR stratifiziert nach Verlaufsschwere!



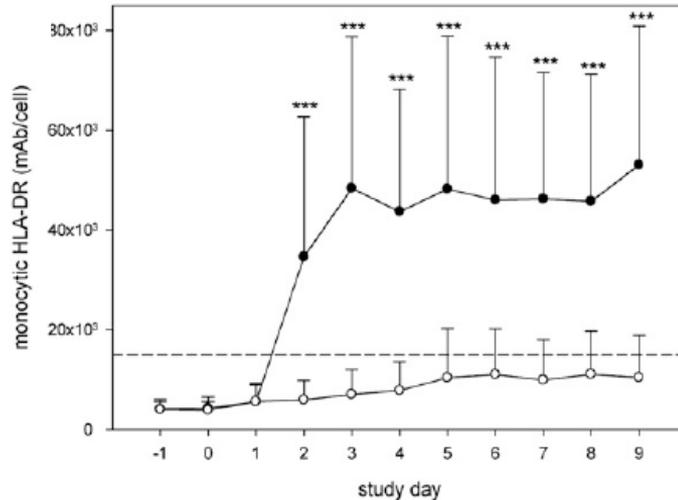
**GM-CSF-Appl. via HLA-DR-Steuerung**

(ClinicalTrials.gov: NCT00252915 / NCT02361528)

# HLA-DR-basierte Therapiesteuerung

GM-CSF (n=19) vs. Placebo (n=19)

## Monozytäres HLA-DR



„... the first controlled **biomarker-guided** immunostimulatory trial in sepsis.“

# HLA-DR-basierte Therapiesteuerung

## GM-CSF to Decrease ICU Acquired Infections (GRID)

ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02361528

Study Type : Interventional (Clinical Trial)  
Actual Enrollment : 166 participants  
Allocation: Randomized  
Intervention Model: Parallel Assignment  
Masking: Quadruple (Participant, Care Provider, Investigator, Outcomes Assessor)  
Primary Purpose: Treatment  
Official Title: A Double-Blind, Randomized, Placebo-controlled Multicenter Trial of GRanulocyte-Macrophage Colony-stimulating Factor Administration to Decrease ICU Acquired Infections in Sepsis-induced ImmunoDepression  
Study Start Date : September 2015  
Actual Primary Completion Date : June 2018  
Actual Study Completion Date : June 2018

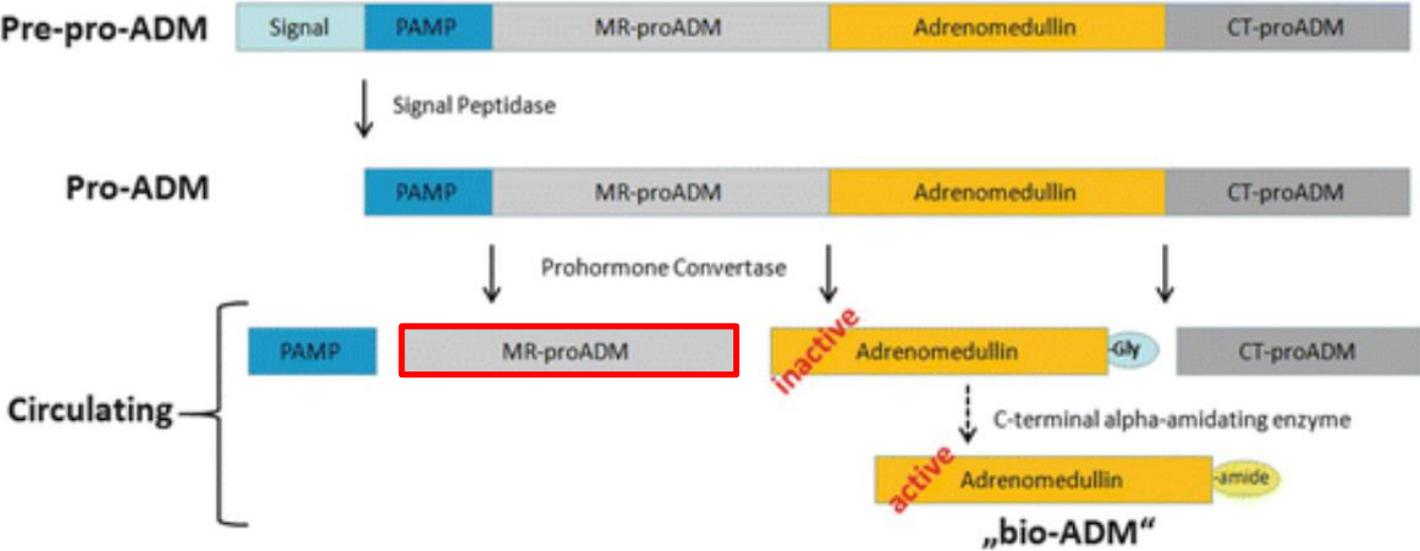
Recruitment Status : Completed  
First Posted : February 11, 2015  
Last Update Posted : September 18, 2018

(ClinicalTrials.gov: NCT02361528)

<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02361528>.



# Mid-regionales proadrenomedullin (MR-proADM)



**MR-proADM reflects activation of the ADM system**

**Detection of amidated ADM (bio-ADM) reflects the actual bioactivity**

# Diagnostische Wertigkeit von MR-proADM & PCT

Silvia Angeletti\*, Fabrizio Battistoni, Marta Fioravanti, Sergio Bernardini and Giordano Dicuonzo

## Procalcitonin and mid-regional pro-adrenomedullin test combination in sepsis diagnosis

### Studiendesign:

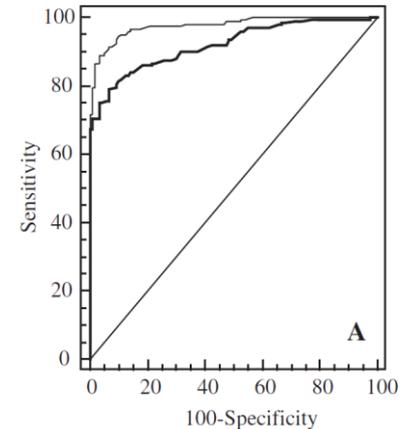
- Prospektive Observationsstudie
- Gesund (n=30), SIRS (n=90), Sepsis (n=200)
- PCT & MR-proADM → Sepsisdiagnose

Patients	n	PCT	MR-proADM	MR-proADM+PCT
All sepsis	200	0.950	0.980	0.998
Sepsis	84	0.826	0.852	0.975
Severe sepsis	116	0.928	0.982	0.998
Gram-negative sepsis	95	0.987	0.955	0.999
Gram-negative fermenters	80	0.985	0.947	0.999
Gram-negative non-fermenters	12	0.687	0.517	0.960
Gram-positive sepsis	57	0.725	0.803	0.957
<i>S. aureus</i> sepsis	23	0.543	0.577	0.895
CoNS sepsis	23	0.604	0.757	0.960
Yeast sepsis	14	0.665	0.928	0.995
Polymicrobial sepsis	35	0.885	0.942	0.997

**Table 6** Post-test probability analysis results of the diagnostic value derived from the combined use of PCT and MR-proADM testing in the 200 sepsis patients stratified in sepsis or severe sepsis, Gram-negative sepsis, Gram-negative fermenters, Gram-negative non-fermenters, Gram-positive sepsis, yeast sepsis and polymicrobial sepsis. MR-proADM, mid-regional pro-adrenomedullin

**Conclusions:** In conclusion, data from this study demonstrates that the combined use of PCT and MR-proADM, may substantially improve the early diagnosis of sepsis.

ROC curve of PCT (thick line) and ADM (thin line) in the 200 sepsis patients and 120 controls



# Diagnostische Wertigkeit von MR-proADM & PCT

Silvia Angeletti\*, Fabrizio Battistoni, Marta Fioravanti, Sergio Bernardini and Giordano Dicuonzo

## Procalcitonin and mid-regional pro-adrenomedullin test combination in sepsis diagnosis

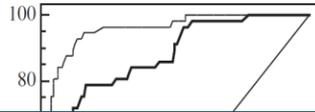
### Studiendesign:

- Prospektive Observationsstudie
- Gesund (n=30), SIRS (n=90), Sepsis (n=200)
- PCT & MR-proADM → Sepsisdiagnose

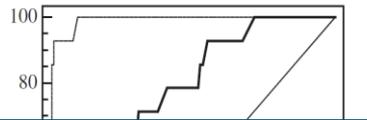
ROC curve of PCT (thick line) and ADM (thin line) in the 95 Gram-negative sepsis and 120 controls



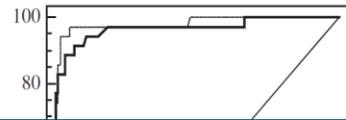
ROC curve of PCT (thick line) and ADM (thin line) in the 57 Gram-positive sepsis and 120 controls



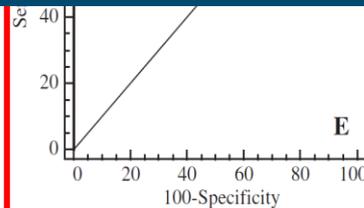
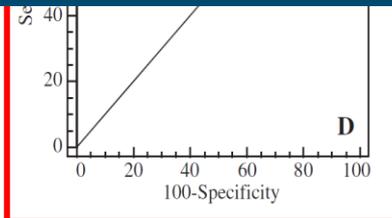
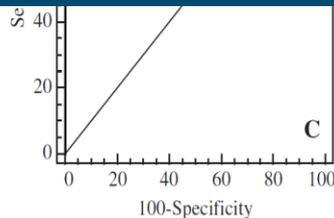
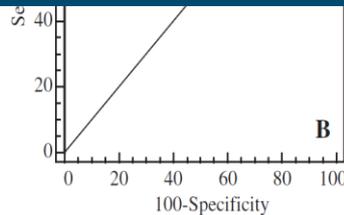
ROC curve of PCT (thick line) and ADM (thin line) in the 14 yeast sepsis and 120 controls



ROC curve of PCT (thick line) and ADM (thin line) in the 35 polymicrobial sepsis and 120 controls



**Pilzinfektionen: PCT deutlich schlechter geeignet als MR-proADM!**



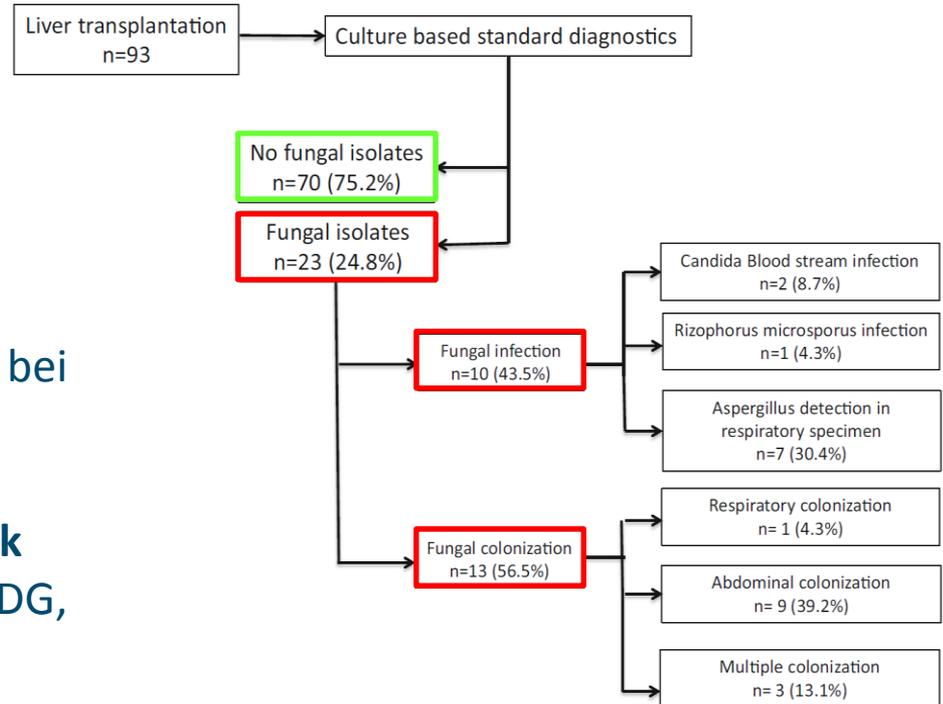
# Diagnostische Wertigkeit von MR-proADM

## Hintergrund:

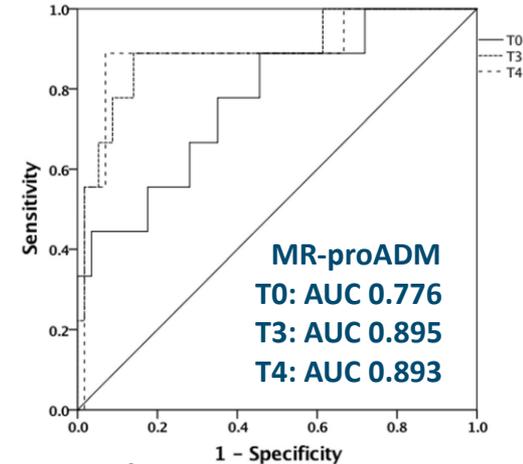
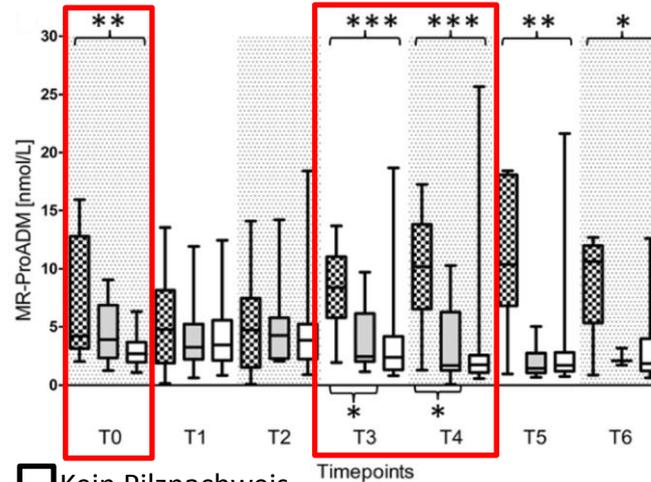
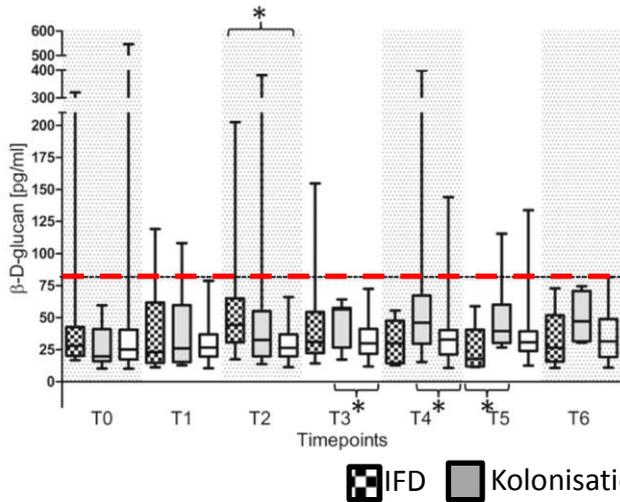
- LTX-Patienten → Hohes Risiko für opportunist. Infektionen (einschl. IFD)!

## Studiendesign:

- Klinisch, prospektive Observationsstudie bei LTX-Patienten (n=93)
- 6 Zeitpunkte binnen 28 Tagen n. LTX
- Kultur- vs. NGS-basierte Erregerdiagnostik
- Biomarkerpanel (IL-2, -4, -6, -10, -17A, BDG, GM, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  & MR-proADM)



# Diagnostische Wertigkeit von MR-proADM



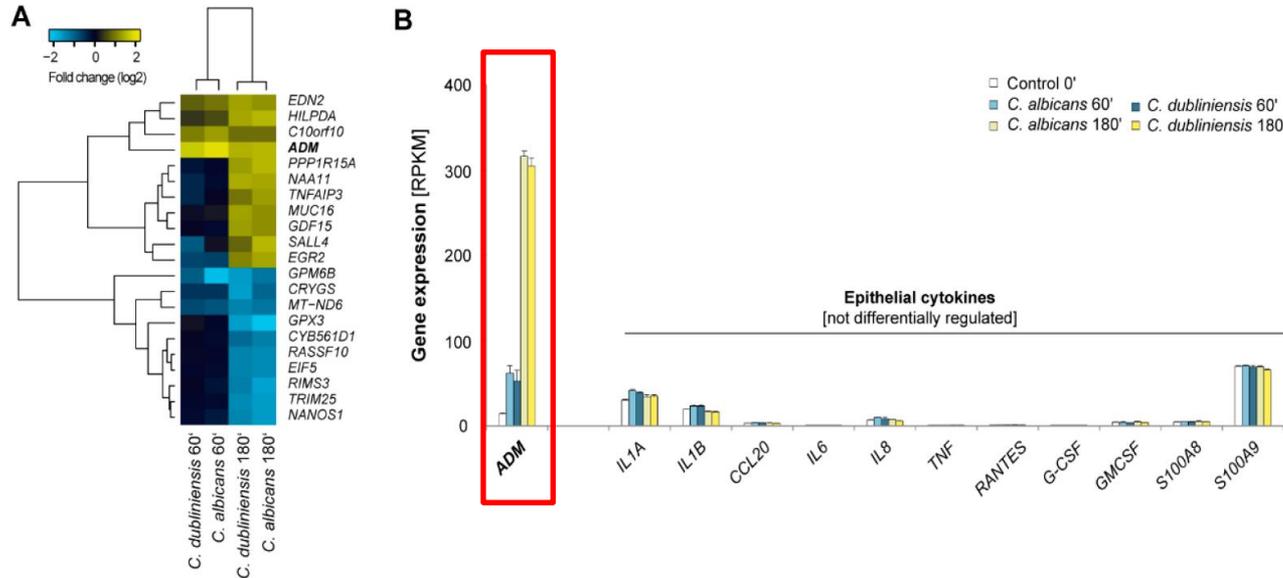
## Ergebnisse:

- **BDG** besitzt nur **geringe diagn. Wertigkeit** für den **IFD-Nachweis**!
- **MR-proADM** ist geeignet, um eine **IFD bei LTX-Patienten** zu detektieren!

# Diagnostische Wertigkeit von MR-proADM

## Studiendesign:

- Zellkultur → Infektion von vulvovaginalem Epithel mit *Candida* spp.



## Ergebnisse:

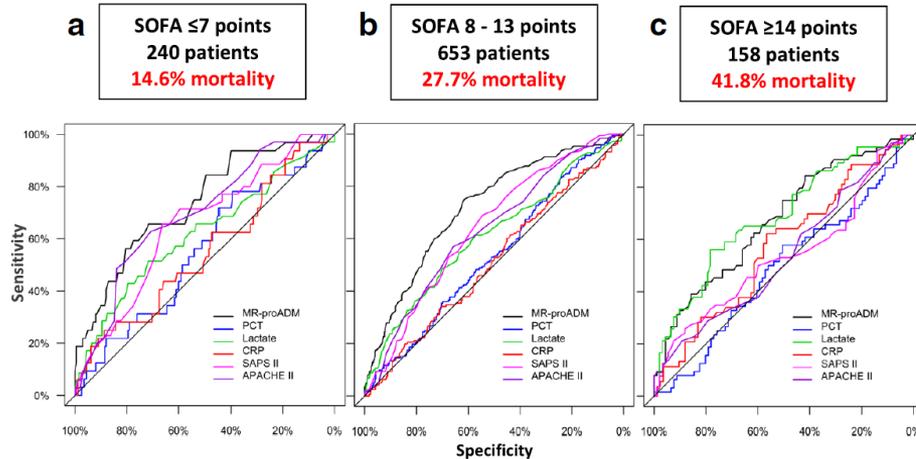
- RNAseq. identifiziert **ADM** als ein sehr **frühes Zielgen**, das nach einer epithelialen **Infektion mit *Candida* spp.** hochreguliert ist!

# Prognostische Wertigkeit von MR-proADM

The use of mid-regional proadrenomedullin to identify disease severity and treatment response to sepsis - a secondary analysis of a large randomised controlled trial

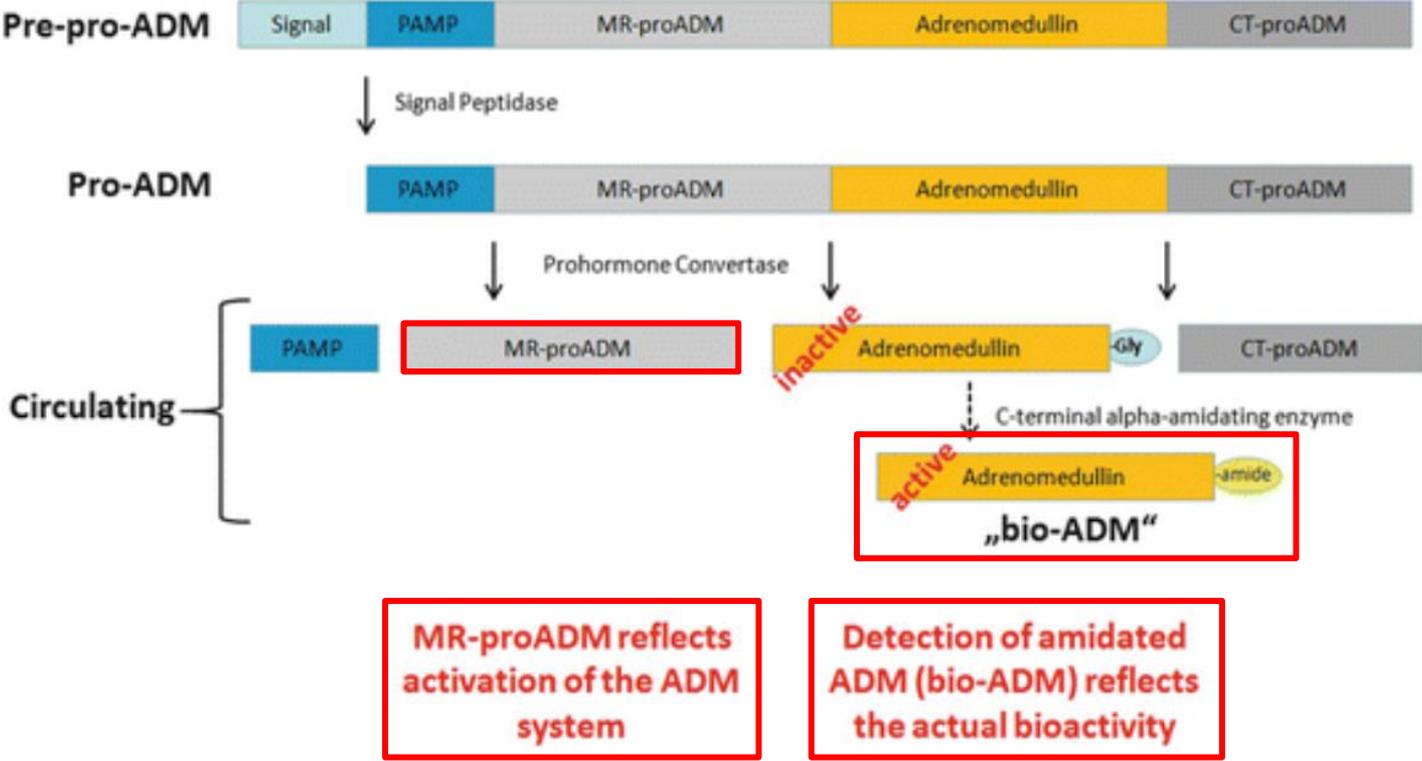
## Studiendesign:

- Prospektiv, multizentrisch (33 ICUs), randomisiert, klinisch, 2x2-faktorielles Design
- Selenase 1000 $\mu$ g vs. Placebo / PCT vs. Non-PCT
- Schwere Sepsis/sept. Schock  $\rightarrow$  insg. 1.180 Patienten



Sekundäranalyse SIS-PCT-Trial:  
„SIS-ADM-Trial“

# MR-proADM versus Bio-ADM

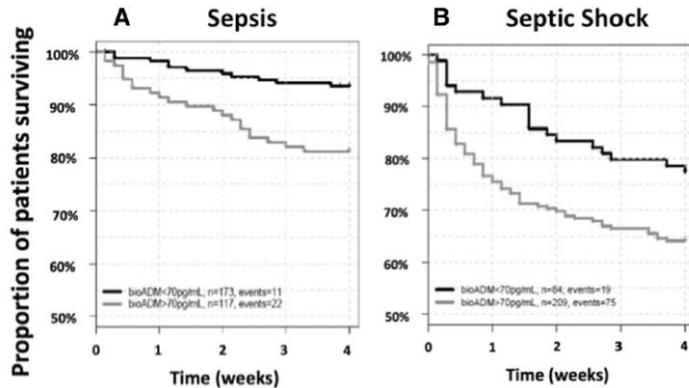


# Bio-ADM als prognostischer Biomarker (AdrenOSS-1)

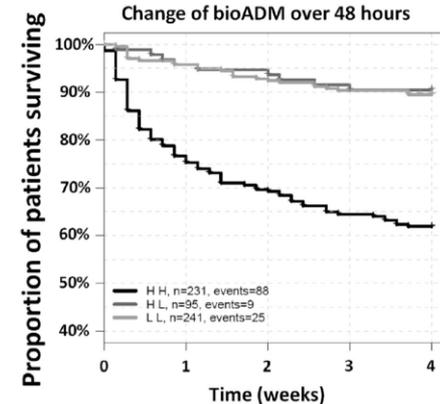
Circulating adrenomedullin estimates survival and reversibility of organ failure in sepsis: the prospective observational multinational Adrenomedullin and Outcome in Sepsis and Septic Shock-1 (AdrenOSS-1) study

## Studiendesign:

- Multinationale, prospektive Observationsstudie
- Sepsis/sept. Schock (n=583)
- bioADM bei Onset & 48h → Readout: 28d-Mortalität

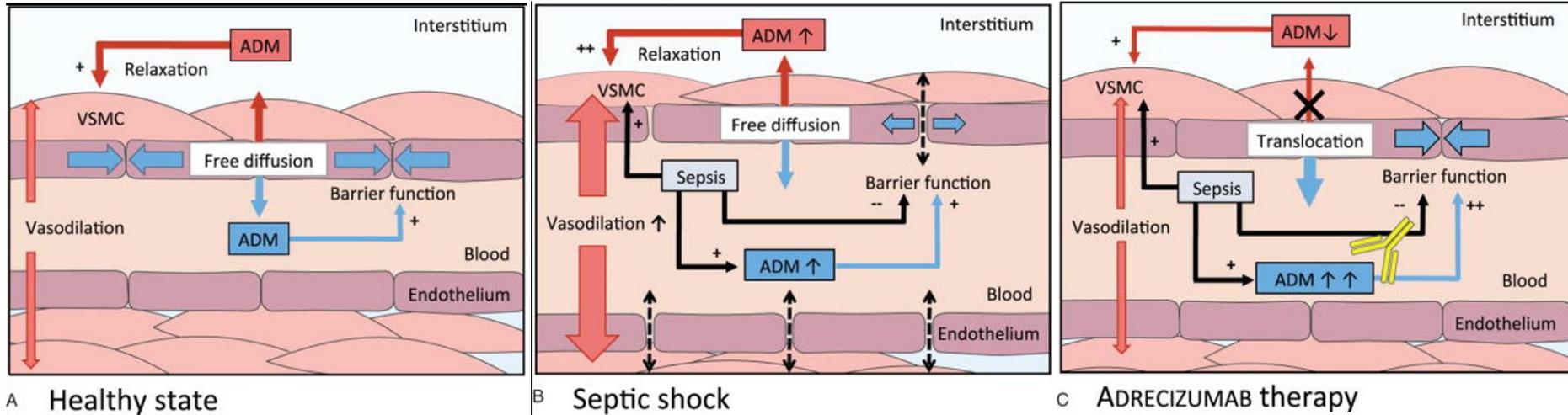


48h-Kinetik?



**Conclusions:** AdrenOSS-1 shows that early levels and rapid changes in bio-ADM estimate short-term outcome in sepsis and septic shock. These data are the backbone of the design of the biomarker-guided AdrenOSS-2 trial.

# Bio-ADM-Effekte & Wirkprinzip von ADRECIZUMAB

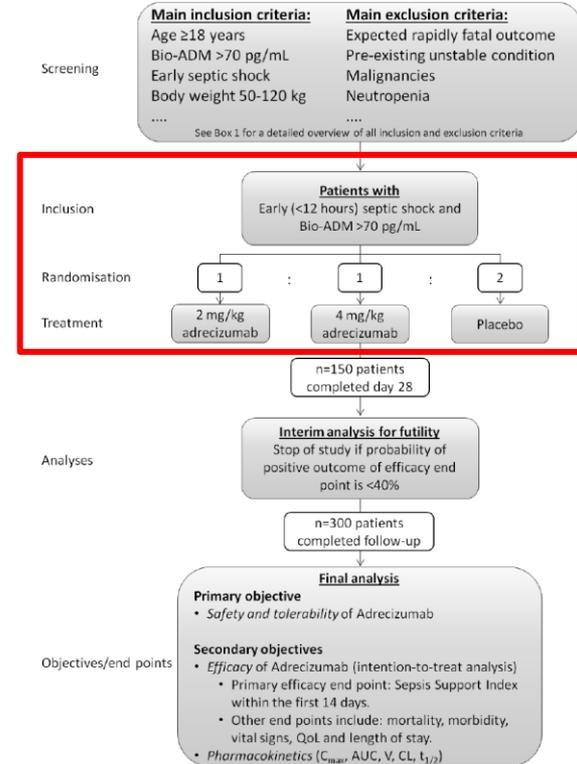


# Bio-ADM als theragnostischer Ansatz (AdrenOSS-2)

A double-blind, placebo-controlled, randomised, multicentre, proof-of-concept and dose-finding phase II clinical trial to investigate the safety, tolerability and efficacy of adreicuzumab in patients with septic shock and elevated adrenomedullin concentration (AdrenOSS-2)

## Studiendesign:

- Multizentrische, randomisierte, doppelblinde, Plazebo-kontrollierte, Biomarker-gestützte Phase-II-Studie
- „Proof-of-Concept“- & Dosisfindungsstudie
- Sept. Schock (<12h) & Bio-ADM >70pg/ml



# Konzept der NGS-basierten Diagnostik bei Sepsis



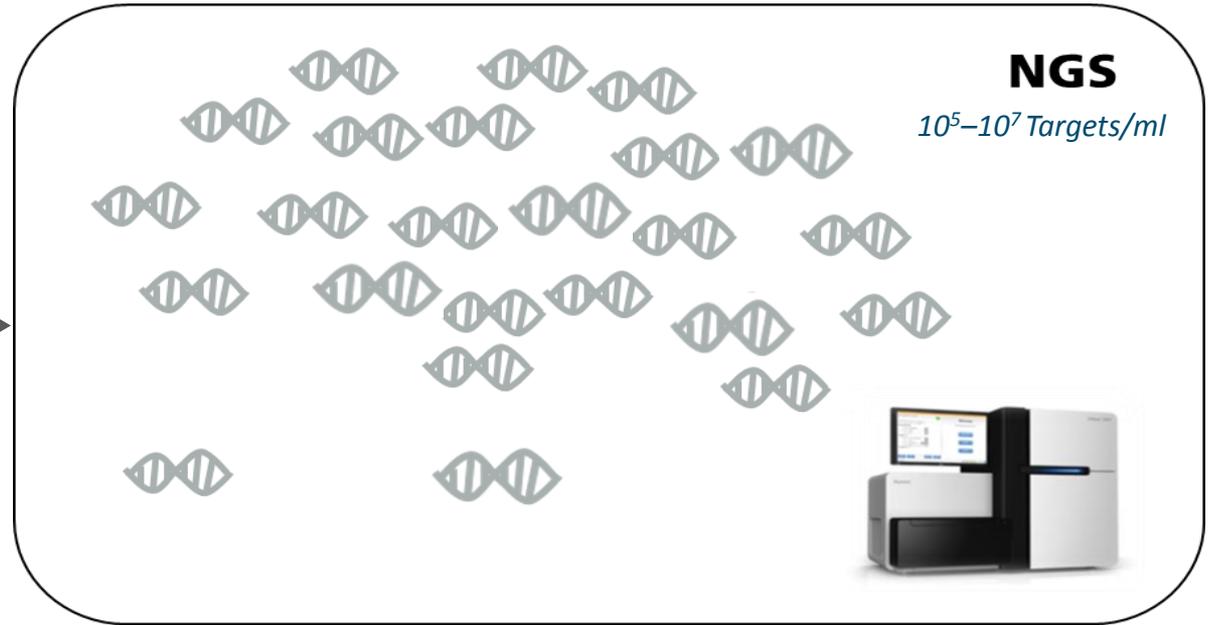
(2) Sequenzierung

Sequenz-Daten

Plasmaprobe

Blutentnahme

(1) Präanalytik



cfDNA (=zirkulierende , zellfreie DNA)

# NGS: Von der Wirtsantwort zur Erregerdiagnostik!



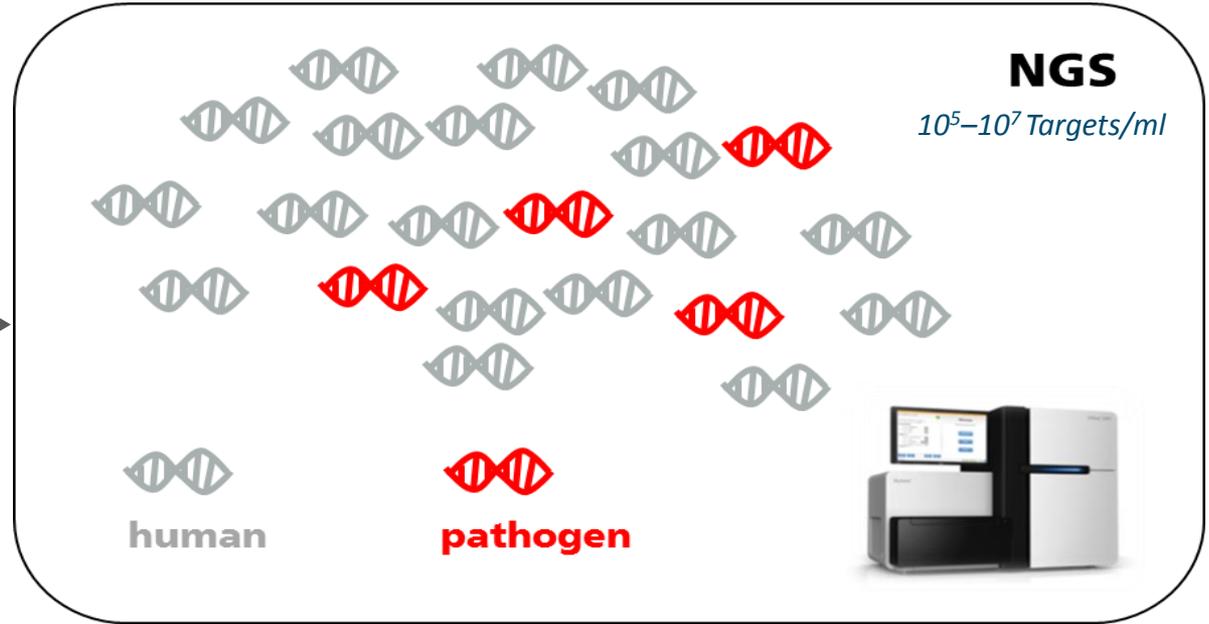
(2) Sequenzierung

Sequenz-Daten

Plasmaprobe

Blutentnahme

(1) Präanalytik



cfDNA: Human (>95%) vs. Pathogen (<5%)

# NGS: Von der Wirtsantwort zur Erregerdiagnostik!



(2) Sequenzierung

Sequenz-Daten

Plasmaprobe

Blutentnahme

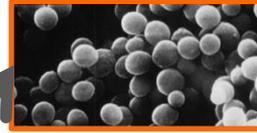
(1) Präanalytik

(3) Mapping

Nicht-humane Reads

Humane Reads

(4) Klassifizierung

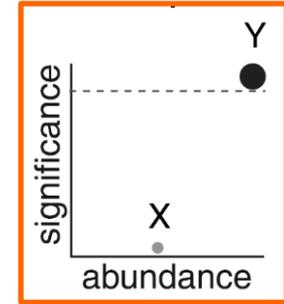


(6) Zuordnung



(7) Resistenz-Datenbank

(5) Quantifizierung  
(SIQ-Score pro Spezies)



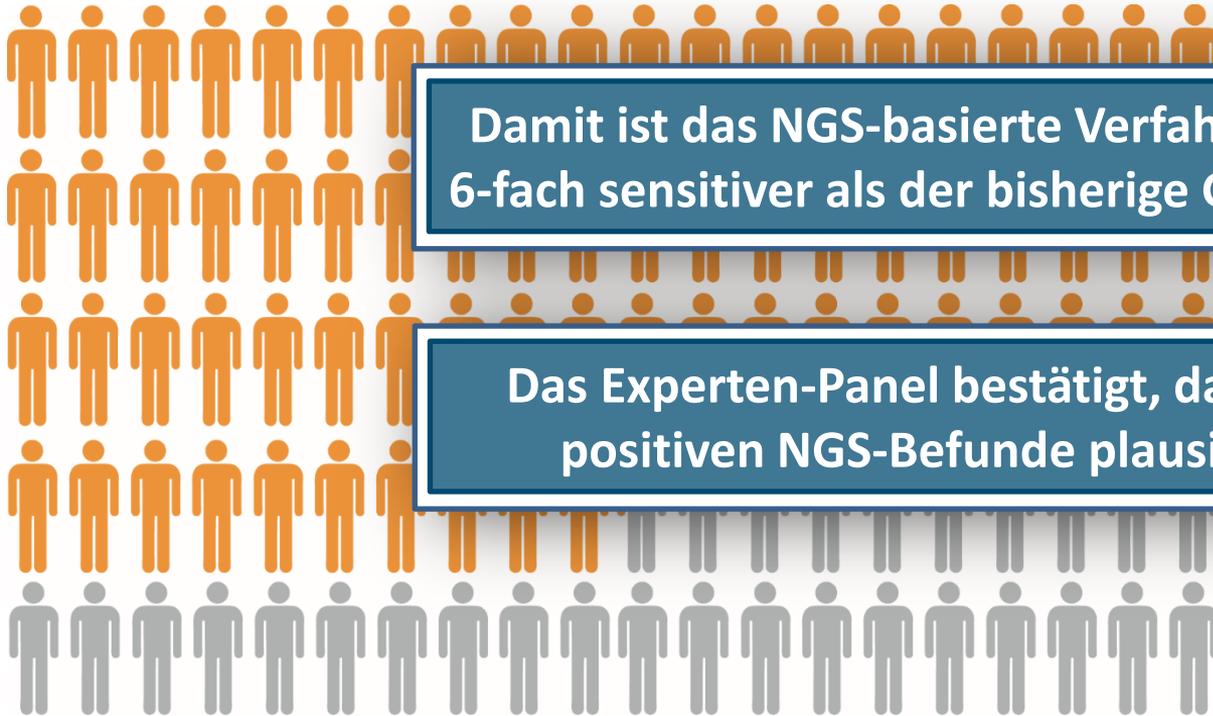
*Enterokokkus faecium*  
VRE (VanA/B)

(8) Diagnostischer Report

# NGS: Identifiziert den Erreger viel häufiger!

*BGS*kultur

71%



Damit ist das NGS-basierte Verfahren mehr als 6-fach sensitiver als der bisherige Goldstandard!

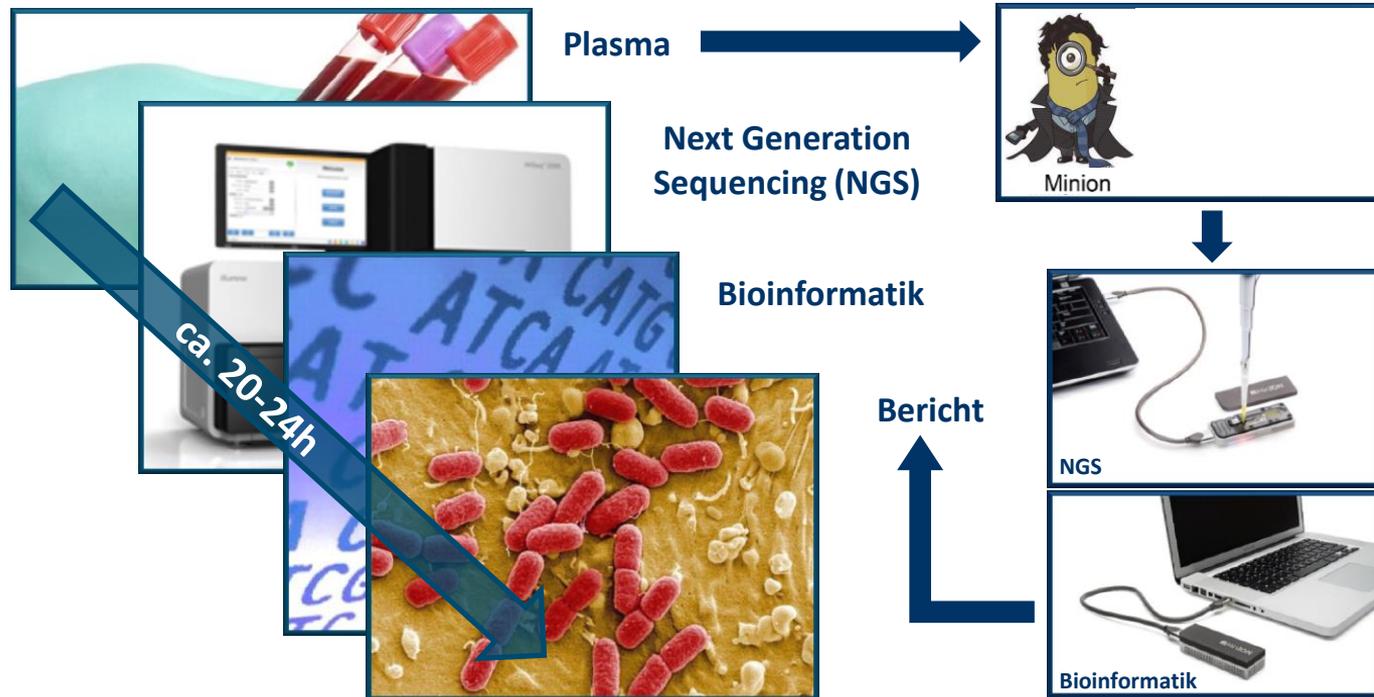
Das Experten-Panel bestätigt, dass 96% der positiven NGS-Befunde plausibel sind!

# NGS: Ermöglicht eine personalisierte AB-Therapie!



# Next-Next-GenSeq: Ein POC-fähiges Diagnostikum!

(Real-time (=Echtzeit) Sequenzierdiagnostik mittels der MinION-Plattform)



# Zusammenfassung

- 1) Den perfekten Infektions- bzw. Sepsis-Biomarker gibt es bisher leider nicht!
- 2) KI & SeptiCyte LAB sind vielversprechende Tools für die Sepsis-Diagnostik!
- 3) Jeder Septiker ist anders! → Molekular-immunolog. Heterogenität bei Sepsis!
- 4) Theragnostische Biomarker der Zukunft:
  - Allgemeine Sepsisdiagnostik: „Fibrinolyse-Shut-Down“
  - Differenziert Hypo- vs. Hyperkoagulabilität: „Thromboelastometrie“
  - Erkenne die Immunsuppression: „HLA-DR-Monitoring“
  - Prognoseabschätzung: „MR-proADM / Bio-ADM“
- 5) NGS bei Sepsis: „Von der Wirtsantwort zur Erregerdiagnostik!“

# Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!



[Thorsten.Brenner@med.uni-heidelberg.de](mailto:Thorsten.Brenner@med.uni-heidelberg.de)