



Evaluation of Modified Early Warning Score Combined with Procalcitonin and D-Dimer in the Early Diagnosis and Prognosis of Sepsis in the Elderly

Gang Zhao^{1,*}, Hongping Yu²

¹Department of Geriatric Medicine, Shanghai Fifth Rehabilitation Hospital, Shanghai, China

²Infectious Disease Department, Songjiang District Central Hospital, Shanghai, China

Email address:

Zg7632@163.com (Gang Zhao), ldyynk5@163.com (Hongping Yu)

*Corresponding author

To cite this article:

Gang Zhao, Hongping Yu. Evaluation of Modified Early Warning Score Combined with Procalcitonin and D-Dimer in the Early Diagnosis and Prognosis of Sepsis in the Elderly. *Science Discovery*. Vol. 10, No. 4, 2022, pp. 204-208. doi: 10.11648/j.sd.20221004.11

Received: May 15, 2022; Accepted: June 17, 2022; Published: June 27, 2022

Abstract: *Objective* To explore the value of modified early warning score (MEWS) combined with procalcitonin (PCT) and D-Dimer (D-D) in evaluating the condition and prognosis of elderly patients with sepsis. *Methods* A retrospective study was conducted to collect the data of elderly patients (aged ≥ 60 years) who were hospitalized in Shanghai Fifth rehabilitation hospital and diagnosed with sepsis from January 2016 to June 2020. The MEWS score at admission, PCT, D-D, sequential organ failure score (SOFA) within 24 hours and the 28 day prognosis were recorded. The patients were divided into groups according to the severity of the disease and the 28 day prognosis, and the index differences among the groups were compared; To analyze the prognostic value of the above indexes alone or in combination in elderly patients with sepsis. *Results* 105 patients were divided into sepsis group (75 cases) and septic shock group (30 cases); According to the 28 day prognosis, the patients were divided into survival group (71 cases) and death group (34 cases). The scores of MEWS, PCT, D-D and SOFA in septic shock group were significantly higher than those in sepsis group (all $P < 0.05$). The scores of MEWS, PCT, D-D and SOFA in the death group were significantly higher than those in the survival group (all $P < 0.01$). ROC curve analysis showed that the area under the ROC curve (AUC) of MEWS score, PCT, D-D, SOFA score and MEWS+PCT+D-D score were 0.662, 0.683, 0.626, 0.698 and 0.720 respectively, indicating that all indicators have a certain predictive value for the 28d prognosis of elderly patients with sepsis, and the combination of the three has the greatest predictive value. *Conclusion* MEWS score is a convenient and rapid scoring system. It can evaluate the condition and prognosis of elderly patients with sepsis together with PCT and D-D.

Keywords: Modified Early Warning Score (MEWS), Procalcitonin (PCT), D-Dimers (D-D), Aged, Sepsis

改良早期预警评分联合降钙素原与D-二聚体对老年脓毒症早期诊断和预后的评价分析

赵刚^{1*}, 郁红萍²

¹上海市第五康复医院老年医学科, 上海, 中国

²上海市松江区中心医院感染科, 上海, 中国

邮箱

Zg7632@163.com (赵刚), ldyynk5@163.com (郁红萍)

摘要: 目的: 探讨改良早期预警评分(MEWS)联合降钙素原(PCT)、D-二聚体(D-D)对老年脓毒症患者病情判断和预后的评估价值。方法: 采用回顾性研究方法, 收集2016年1月至2020年6月在上海市第五康复医院住院并诊断为脓毒症的老年患者(年龄 ≥ 60 岁)的资料, 记录患者入院时MEWS评分及24小时内PCT、D-D、序贯器官衰竭评分(SOFA)以及28d预后, 根据病情严重程度及28d预后分组, 比较各组的指标差异; 分析上述指标单独或联合应用对老年脓毒症患者预后的评估价值。结果: 共纳入105例患者, 根据病情严重程度分为脓毒症组(75例)和脓毒性休克组(30例); 根据28d预后分为存活组(71例)和死亡组(34例)。脓毒性休克组患者MEWS、PCT、D-D、SOFA评分均明显高于脓毒症组, 差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。死亡组患者MEWS、PCT、D-D、SOFA评分均明显高于存活组, 差异有统计学意义(均 $P < 0.01$)。ROC曲线分析显示, MEWS评分、PCT、D-D、SOFA评分、MEWS+PCT+D-D联合评分的ROC曲线下面积(AUC)分别为0.662、0.683、0.626、0.698、0.720, 说明各项指标对老年脓毒症患者28d预后均有一定预测价值, 以三者联合预测价值最大。结论: MEWS评分是一种方便、快捷的评分系统, 与PCT、D-D均能够评估老年脓毒症患者的病情及预后, 三者联合应用具有更高的评估价值。

关键词: 改良早期预警评分, 降钙素原, D-二聚体, 老年人, 脓毒症

1. 引言

脓毒症(Sepsis)被定义为宿主对感染的反应失调而导致危及生命的器官功能损害的症候群, 是高病死率的临床综合征[1]。脓毒症病情常进展迅速, 尤其是在老年患者中, 如果不能及时诊断和治疗, 极易出现器官功能障碍, 甚至死亡。快速对患者的病情评估, 给予危险程度分层尤为重要, 能使患者得到及时有效的监护和治疗, 从而改善老年患者的预后, 降低病死率, 同时可大幅度减少医疗费用[2]。但老年患者往往难以及时发现病情变化, 因此急需实用的工具来协助判断患者病情严重程度和预后。本研究通过比较MEWS评分、PCT、D-D水平及SOFA评分, 探讨各指标对老年脓毒症患者的病情严重程度和预后的预测价值, 为老年脓毒症的诊疗提供依据。

2. 资料与方法

2.1. 病例的选择

采取回顾性研究方法, 收集2016年1月至2020年6月在本院住院治疗的老年脓毒症患者为研究对象。

2.1.1. 入选标准

①年龄 ≥ 60 岁; ②入院时间 > 24 h, 临床资料完整; ③符合2016年第45届危重病医学年会美国重症医学学会(SCCM)发布脓毒症3.0定义及诊断标准[1]。

2.1.2. 排除标准

①基本信息、临床资料不完整或家属不配合或放弃治疗病例; ②急性脑血管病或心肺复苏术后; ③长期应用免疫抑制剂、糖皮质激素; ④存在血液系统疾病或接受抗凝治疗; ⑤恶性肿瘤晚期或疾病终末期。

2.2. 研究方法

采集所有入选病例的一般资料, 包括年龄、性别, 测量生命体征, 完成MEWS评分, 记录入院24h内降钙素原(Procalcitonin, PCT)、D-二聚体(D-dimer, D-D)、

白细胞计数(WBC)、血小板计数(PLT)、总胆红素(TBil)、血肌酐(SCr)、氧合指数($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$)、平均动脉压(MAP)、尿量等指标, 完成MEWS与SOFA评分, 同时记录28d预后。根据患者病情的严重程度和28d预后分组, 并进行组间比较。

2.3. 统计学分析

所有数据采用IBM SPSS25统计软件进行统计分析。连续变量呈正态分布用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用独立样本 t 检验; 非正态分布的计量资料以中位数(四分位数)[$M(Q_L, Q_U)$]表示, 组间比较采用非参数秩和检验。分类变量采用 χ^2 检验。通过单因素Logistic回归分析各项预测因子对预后的影响。绘制受试者工作特征曲线(ROC), 以最大约登指数时的评分为临界值(Cutoff值), 并计算其95%可信区间(95%CI)、ROC曲线下面积(AUC)、敏感度、特异度和最佳截断值。以 $\alpha = 0.05$ 作为检验水平, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. 一般资料

本研究最终纳入105例患者, 平均年龄81.3(61~99)岁。其中男性65例(61.9%), 女性40例(38.1%)。根据患者的病情严重程度分为脓毒症组(75例)和脓毒性休克组(30例); 根据28d预后分为存活组(71例)和死亡组(34例), 总体病死率32.38%。脓毒症组死亡14例, 脓毒性休克组死亡20例, 两组患者28d病死率比较, 差异有统计学意义(18.67%比66.67%; $\chi^2 = 22.548$, $P < 0.001$)。

3.2. 病情严重程度不同的老年脓毒症患者临床数据比较(表1)

脓毒症组和脓毒性休克组患者的性别、年龄比较差异均无统计学意义($P > 0.05$); 脓毒性休克组患者MEWS、PCT、D-D、SOFA评分均明显高于脓毒症组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表1 病情严重程度不同的老年脓毒症患者临床数据比较。

组别	性别 男/女	年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	MEWS评分 [分, (M (Q _L , Q _U))]]	PCT [ug/L, (M (Q _L , Q _U))]]	D-D [mg/L, (M (Q _L , Q _U))]]	SOFA评分 [分, (M (Q _L , Q _U))]]
脓毒症组	46/29	80.97±9.16	5.0 (3.0, 7.0)	2.36 (1.51, 4.99)	2.55 (1.67, 5.73)	6.0 (4.0, 8.0)
脓毒性 休克组	19/11	82.13±8.61	7.0 (6.0, 10.0)	7.53 (3.93, 12.41)	5.40 (3.24, 6.95)	8.0 (5.75, 11.0)
$\chi^2/t/Z$ 值	0.036	0.596	3.489	2.666	2.277	2.148
P值	0.849	0.552	0.001	0.012	0.025	0.034

注: MEWS为改良早期预警评分, PCT为降钙素原, D-D为D-二聚体, SOFA为序贯器官衰竭评分。

3.3. 28d不同预后的老年脓毒症患者临床数据比较 (表2)

存活组与死亡组老年脓毒症患者的性别差异无统计学意义 ($P>0.05$); 二组间年龄构成差异有统计学意义 ($P<0.001$)。死亡组MEWS、PCT、D-D、SOFA评分均明显高于存活组, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。

表2 28d不同预后的老年脓毒症患者临床数据比较。

组别	性别 男/女	年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	MEWS评分 [分, (M (Q _L , Q _U))]]	PCT [ug/L, (M (Q _L , Q _U))]]	D-D [mg/L, (M (Q _L , Q _U))]]	SOFA评分 [分, (M (Q _L , Q _U))]]
存活组	44/27	79.20±9.54	5.0 (3.0, 8.0)	2.43 (1.59, 6.49)	2.80 (1.70, 6.10)	6.0 (4.0, 8.0)
死亡组	21/13	85.71±5.60	6.0 (5.0, 9.25)	4.07 (2.96, 11.97)	3.83 (2.62, 6.80)	7.5 (5.0, 10.25)
$\chi^2/t/Z$ 值	0.000	4.383	2.489	2.054	2.143	2.968
P值	0.984	<0.001	0.014	0.048	0.038	0.004

注: MEWS为改良早期预警评分, PCT为降钙素原, D-D为D-二聚体, SOFA为序贯器官衰竭评分。

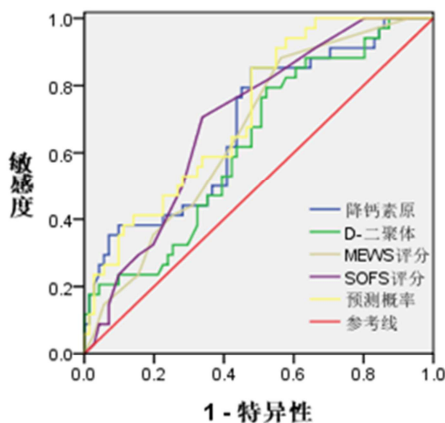
3.4. MEWS、PCT、D-D、SOFA评分及联合指标预测预后的能力分析 (表3; 图1)

MEWS、PCT、D-D、SOFA评分对老年脓毒症患者28d预后均有一定预测价值, 以MEWS+PCT+D-D三者联合预测的AUC最大, 其敏感度为94.1%, 特异度为56.3%。

表3 MEWS评分、PCT、D-D及联合指标预测老年脓毒症28d预后的分析。

指标	AUC (95%CI)	最佳截断值	敏感度 (%)	特异度 (%)	P值
MEWS	0.662 (0.556~0.767)	4.5	88.2	56.3	0.008
PCT	0.683 (0.574~0.791)	2.52	85.3	47.9	0.002
D-D	0.626 (0.515~0.737)	2.55	79.4	52.1	0.037
SOFA	0.698 (0.598~0.799)	6.5	70.6	33.8	0.001
MEWS+PCT+D-D	0.720 (0.621~0.818)		94.1	56.3	<0.001

注: MEWS为改良早期预警评分, PCT为降钙素原, D-D为D-二聚体, SOFA为序贯器官衰竭评分, AUC为受试者工作特征曲线下面积, 95%CI为95%可信区间。



MEWS为改良早期预警评分, PCT为降钙素原, D-D为D-二聚体, SOFA为序贯器官衰竭评分, ROC曲线为受试者工作特征曲线

图1 MEWS评分、PCT、D-D、SOFA及联合指标预测老年脓毒症28d预后的ROC曲线。

4. 讨论

脓毒症是宿主对感染的反应失调而导致危及生命的疾病, 是院内死亡的最常见原因之一, 也是最昂贵的治疗疾病之一。老年人由于生理功能衰退, 各器官、组织、细胞等代谢下降, 机体免疫功能低下, 且常合并多种慢性基础疾病, 容易并发各种感染而发生脓毒症。老年脓毒症患者病情凶险, 病死率高达40%, 绝大多数脓毒症患者从发病到死亡时间不到30d[3]。

现在研究发现高龄是脓毒症发病与死亡的独立危险因素。本研究中, 死亡组患者的年龄显著大于存活组 ($P<0.001$), 进一步证实了年龄是死亡的重要相关因素。而且, 本研究中80岁以上的高龄患者占比为63.81%, 高龄脓毒症患者病死率达46.27%, 与其他研究接近, 提示年龄是脓毒症死亡的独立危险因素。对其做Logistic回归分析, 得到Logistic回归方程: $\text{LogitP} = -8.752 + 0.097 \times \text{年龄}$ 。年龄的EXP(B)=1.102 (95%CI: 1.040-1.167), 结果提示

年龄每增加1岁, 死亡发生的风险增加1.102倍。高龄患者由于存在与年龄相关的脏器功能衰退, 且常合并多种慢性疾病, 各脏器储备代偿功能减退, 在脓毒症早期即易出现多器官功能障碍(multiple organ dysfunction syndrome, MODS), 病死率极高。所以, 早期准确判断老年脓毒症患者的病情并及时干预具有重要意义。

根据Sepsis 3.0对脓毒症的定义, 感染后序贯器官衰竭评分SOFA评分 ≥ 2 分(即感染+SOFA评分 ≥ 2 分), 可作为脓毒症的临床诊断标准[1]。SOFA评分是评估危重病人器官功能障碍严重程度的临床评分系统, 其与APACHE II评分系统一样被广泛应用于评估危重患者的病情[4]。SOFA量表根据患者呼吸、凝血、肝脏、循环、神经、肾脏等功能情况进行评分, ≥ 5 分者, 必然有2个或2个以上器官出现功能障碍。患者SOFA评分越高, 病情越重, 预后也更差。本研究的结果同样如此, 脓毒性休克组SOFA评分高于脓毒症组($P < 0.05$); 死亡组SOFA评分高于存活组($P < 0.05$), SOFA ≥ 5 分的患者高达83.58%。提示老年患者由于平素即存在与年龄相关的脏器功能衰退, 且合并多种基础慢性疾病, 脏器储备代偿功能减退, 发生脓毒症早期即易合并MODS, 病死率高。

脓毒症的病情是一个动态变化过程, 但对其病情严重程度和预后判别目前尚缺乏较有效的指标和方法。如干预不及时, 可发展为MODS, 甚至死亡[5]。因此, 早期对患者的严重程度做出正确的判断, 及时干预, 是提高治愈率、降低死亡率的关键。公认的脓毒症识别与诊断工具包括“序贯器官衰竭评分”、“APACHE II评分”等。但这些评分方法多以ICU住院病例为基础, 常需要较多的实验检查数据作支持, 项目繁多且时间相对滞后。而绝大多数老年患者并不能早期入住ICU, 常首诊于普通内科或老年科。国外研究显示, 超过半数的脓毒症患者和普通病房接受治疗[6]。因此SOFA、APACHE II评分的实用性不足。目前, 多数研究认为单一的生物标志物检测对于诊断脓毒症和判断预后存在一定的缺陷, 因此大多数学者建议多种生物标志物联合使用对脓毒症作出诊断[7]。

研究认为降钙素原(PCT)和D-二聚体(D-D)在脓毒症的诊断中具有较高的特异性和敏感性, 并与患者病情的危重程度存在显著的相关性[8, 9]。PCT是降钙素前肽, 生理状态下主要由甲状腺合成, 病理状态下则可通过单核细胞、巨噬细胞合成[10]。研究表明PCT是细菌感染的标志物, 具有良好的敏感性和特异性[11], 可有效预测严重感染或脓毒症。本研究结果显示, 脓毒症休克组患者的PCT水平显著高于脓毒症组, 死亡组PCT水平高于存活组, 差异均有统计学意义。通过绘制ROC曲线可知, PCT的AUC为0.683, 当最佳截断值为 $2.52\mu\text{g/L}$ 时, 其敏感度为85.3%, 特异度为47.9%, 说明PCT水平可以用来评估老年脓毒症患者的病情严重程度, 并可提示预后。

D-二聚体是纤维蛋白单体经活化因子交联后, 被纤溶酶水解而产生的特异性降解产物, 其含量增加反映体内血栓形成和继发纤溶亢进的存在[12]。近年的研究发现, 脓毒症的病情程度和预后与D-D浓度的升高显著相关。D-二聚体检测有助于脓毒症的诊断、严重程度分级和预后评估[13]。本研究结果与该报道结果一致, 脓毒性休克组D-D水平显著高于脓毒症组($P < 0.05$); 死亡组D-D水平高于

存活组($P < 0.05$)。表明随着老年脓毒症患者病情的加重, 其D-D水平会出现非常明显的增长。另通过回归分析, 提示D-D水平与28d预后呈显著的正相关性($P < 0.05$)。通过ROC曲线也可以发现, D-D的AUC为0.626, 当最佳截断值为 2.55mg/L 时, 其敏感度和特异度分别为79.4%、52.1%, 表明在老年脓毒症的预测中, D-D同样可以用来评估老年脓毒症患者的病情严重程度, 同时也是28d预后的重要预测因子。

由于老年患者不典型的临床表现, 常常延误诊断与治疗。相对于其他年龄相关的疾病, 老年脓毒症患者更难以被识别[14]。MEWS具有临床应用简便、操作快捷和不受医院条件限制等特点, 能实现对患者的快速动态的病情评估, 已在临床中得到广泛的应用[15,16]。MEWS与患者病情和预后也密切相关, MEWS分值越高, 患者的预后越差。本研究显示脓毒性休克组的MEWS评分显著大于脓毒症组($P < 0.001$), 死亡组的MEWS评分显著大于存活组($P < 0.05$), 随着MEWS评分分值的增加病死率增加, 当MEWS评分 ≥ 5 分时病死率达到42.86%。本研究显示MEWS的最佳截断点分值为4.5, 灵敏度为88.2%, 特异度为56.3%。与一些研究结果一致[17]。

本研究还比较了MEWS、SOFA评分对老年脓毒症患者28d预后的预测能力。发现死亡组的两种评分值均明显高于存活组, 差异有统计学意义, 意味着分值越高, 患者病死率风险就越大。另外, 通过比较MEWS、PCT、D-D、SOFA的AUC, 发现四种预测因子曲线下面积大小依次为SOFA评分(0.698)、降钙素原(0.683)、MEWS评分(0.662)、D-D(0.626), 而MEWS评分联合降钙素原、D二聚体的AUC(0.720)高于SOFA评分的AUC, 并具有较好的敏感度(94.1%)和特异度(56.3%), 表明组合评分的预测能力优于SOFA评分。因此我们认为以MEWS评分与PCT、D-D相结合的方法, 有助于迅速、准确地判别老年脓毒症患者的病情严重程度、预测预后。

5. 结论

年龄是老年脓毒症患者发病和死亡的独立危险因素。PCT、D-二聚体和MEWS对老年脓毒症的诊断都具有较高的特异性和敏感性, 可用于评估老年脓毒症患者的病情严重程度, 并可提示预后。此外, MEWS评分联合降钙素原、D二聚体的预测能力优于SOFA评分, 有助于快速、准确地判断老年脓毒症患者的病情严重程度、预测预后。

随着社会老龄化的不断加深, 老年危重症患者日益增多。老年人是脓毒症的易感人群, 与其他常见的老年疾病相比, 目前对老年脓毒症尚缺乏系统性的临床研究, 且老年脓毒症呈现临床表现不典型、并发症多、容易延误诊治、致死率高等特点。结合本研究结果, 老年脓毒症患者MEWS评分、PCT、D-D水平及SOFA评分明显升高, 与患者的预后有一定关系, 可作为老年脓毒症的联合诊断指标。当然, 本研究的样本量较小, 且为回顾性单中心取样, 研究结果或许存在一定偏倚。在今后的临床研究中, 我们应该开展前瞻性、大样本、多中心的研究, 更全面地探究老

年脓毒症患者的临床特点, 进一步提高老年脓毒症患者的救治成功率。

参考文献

- [1] Singer Mervyn, Deutschman Clifford S, Seymour Christopher Warren, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315 (8): 801-810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287.
- [2] 王长远, 汤辉, 王晶, 等. 改良早期预警评分对急诊监护室老年患者预后的评估价值[J]. 中国基层医药. 2013 (1): 37-39。
- [3] 刘大为. 实用重症医学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 809-876。
- [4] Schlapbach LJ, Straney L, Bellomo R, et al. Prognostic accuracy of age-adapted SOFA, SIRS, PELOD-2, and qSOFA for in-hospital mortality among children with suspected infection admitted to the intensive care unit[J]. Intensive Care Med, 2018, 44 (2): 179-188.
- [5] FATHI M, MARKAZI-MOGHADDAM N, RAMEZANKHANI A. A systematic review on risk factors associated with sepsis in patients admitted to intensive care units [J]. Aust Crit Care, 2019, 32 (2): 155-164. DOI: 10.1016/j.aucc.2018.02.005.
- [6] Esteban A, Frutos-Vivar F, Ferguson ND, et al. Sepsis incidence and outcome: Contrasting the intensive care unit with the hospital ward [J]. Crit Care Med, 2007, 35 (5): 1284-1289. DOI: 10.1097/01.CCM.0000260960.94300.DE.
- [7] Vincent JL, Beumier M. Diagnostic and prognostic markers in sepsis [J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2013, 11 (3): 265-275. DOI: 10.1586/eri.13.9.
- [8] Schuetz P, Bretscher C, Bernasconi L, et al. Overview of procalcitonin assays and procalcitonin guided protocols for the management of patients with infections and sepsis [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2017, 17 (6): 593-601. Doi: 10.1080/14737159.2017.1324299.
- [9] Dalton HJ, Carcillo JA, Woodward DB, et al. Biomarker response to drotrecogin alfa (activated) in children with severe sepsis: Results from the RESOLVE clinical trial [J]. Pediatr Crit Care Med, 2012, 13 (6): 639-645.
- [10] Meili M, Kutz A, Briel M, et al. Infection biomarkers in primary care patients with acute respiratory tract infections-comparison of Procalcitonin and C-reactive protein [J]. BMC Pulm Med, 2016, 16: 43.
- [11] Bartoletti M, Antonelli M, Bruno Blasi FA, et al. Procalcitonin-guided antibiotic therapy: an expert consensus [J]. Clin Chem Lab Med. 2018, 56 (8): 1223-1229. DOI: 10.1515/ccm-2018-0259.
- [12] Schutte T, Thijs A, Smulders Y M. Never ignore extremely elevated D-dimer levels: they are specific for serious illness [J]. The Netherlands journal of medicine, 2016, 74 (10): 443-448.
- [13] “D-二聚体检测”急诊临床应用专家共识[J]. 中华急诊医学杂志, 2013, 22 (08): 827-836. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2013.08.003。
- [14] Starr ME, Saito H. Sepsis in old age: review of human and animal studies [J]. Aging Dis, 2014, 5 (2): 126-136.
- [15] Bleyer AJ, Vidya S, Russell GB, et al. Longitudinal analysis of one million vital signs in the patient in an academic medical center [J]. Resuscitation, 2011, 82 (11): 1387-1392.
- [16] 刘新平, 谢虹, 陶方萍. 改良早期预警评分与急性生理和慢性健康状况对ICU创伤患者病情评价和预后预测的对比研究[J]. 中国实用医刊, 2011, 38 (19): 25-28。
- [17] Ruan H, Zhu Y, Tang Z, et al. Modified early warning score in assessing disease conditions and prognosis of 10, 517 pre-hospital emergency cases [J]. Int J Clin Exp Med, 2016, 9 (7): 14 554-14 558.