

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2021

Denisa Kočová

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví B5345

Denisa Kočová

Studijní obor: Zdravotní laborant 5345R020

PŮVODCI SEPTICKÝCH ONEMOCNĚNÍ U ČLOVĚKA

Bakalářská práce

Vedoucí práce: MUDr. Jana Amlerová, Ph.D.

PLZEŇ 2021

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI

Fakulta zdravotnických studií

Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Denisa KOČOVÁ**
Osobní číslo: **Z17B0088P**
Studijní program: **B5345 Specializace ve zdravotnictví**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Původci septických onemocnění u člověka**
Zadávající katedra: **Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví**

Zásady pro vypracování

- Zpracovat seznam odborné literatury na vybrané téma
- Stanovit cíl kvalifikační práce
- Zpracovat teoretickou a praktickou část práce dle požadavků FZS
- Popsat metodiku praktické části
- Vypracovat diskuzi a závěr kvalifikační práce
- Dodržet formální úpravu kvalifikační práce dle požadavků FZS
- Dodržet citační normu

Rozsah bakalářské práce:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

- WILDOVÁ, MUDr. Olga. Sepse komunitního původu [online]. 6. leden 2017 [cit. 2019-05-19].
- BENEŠ, doc. MUDr. Jiří. Infekční lékařství. Praha 5: Galén, 2009. ISBN 978-80-7262-644-1.
- Fakultní nemocnice Plzeň. Fakultní nemocnice Plzeň [online]. Plzeň: NAVA TISK, 2019, 14(Březen/Duben 2019), 16 [cit. 2019-05-19]. Dostupné z: https://www.fnplzen.cz/flipbook/magazine/casopis_0219/#page/5
- ROZSYPAL, MUDr. Hanuš, prof. MUDr. Michal HOLUB a Monika KOSÁKOVÁ. Infekční nemoci ve standardní a intenzivní péči. Univerzita Karlova v Praze: Karolinum, 2013. ISBN 978-80-246-2197-5.
- Quick Review Series: Microbiology. Quick Review Series: Microbiology [online]. 3. India: Elsevier India, 2010, s. 370 [cit. 2019-05-19]. ISBN 978-81-312-1971-3. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=uHo9Rd7CnYAC&printsec=frontcover&hl=cs&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage

Vedoucí bakalářské práce: **MUDr. Jana Amlerová**
Katedra záchranářství, diagnostických oborů
a veřejného zdravotnictví

Datum zadání bakalářské práce: **18. června 2019**
Termín odevzdání bakalářské práce: **31. března 2021**



PhDr. Lukáš Štich, MBA
děkan



Mgr. Stanislava Reichertová
vedoucí katedry

V Plzni dne 29. ledna 2021



FAKULTNÍ NEMOCNICE PLZEŇ

Útvar náměstka pro ošetrovatelskou péči

Edvarda Beneše 13, 305 99 Plzeň - Bory
alej Svobody 80, 304 60 Plzeň - Lochotín
IČO 00669806 tel.: 377 401 111, 377 103 111

Vážená paní

Denisa Kočová

Studentka oboru Zdravotní laborant

Fakulta zdravotnických studií, Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví
Západočeská univerzita v Plzni

Povolení sběru informací ve FN Plzeň

Na základě Vaší žádosti Vám jménem Útvaru náměstkyně pro ošetrovatelskou péči FN Plzeň **uděluji souhlas** se sběrem a zpracováním anonymizovaných dat z výsledků laboratorních metod, používaných v *Ústavu mikrobiologie (MIKRO) FN Plzeň*. Tento souhlas je vydáván, při splnění níže uvedených podmínek, v souvislosti s vypracováním Vaší bakalářské práce s názvem „*Původci septických onemocnění u člověka*“.

Podmínky, za kterých Vám bude umožněna realizace Vašeho šetření ve FN Plzeň:

- Vrchní zdravotní laborantka MIKRO souhlasí s Vaším postupem.
- Osobně povedete svoje šetření.
- Vaše šetření nenaruší chod pracoviště ve smyslu provozního zajištění dle platných směrnic FN Plzeň, ochrany dat pacientů a dodržování Hygienického plánu FN Plzeň. **Vaše šetření bude provedeno za dodržení všech legislativních norem, zejména s ohledem na platnost zákona č. 372/2011 Sb.,** o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování, v platném znění.
- Údaje ze zdravotnické dokumentace pacientů, které budou uvedeny ve Vaší bakalářské práci, musí být anonymizovány.
- Sběr informací budete provádět v době Vaší, školou schválené, odborné praxe, **pod přímým vedením** oprávněného zdravotnického pracovníka, kterým je **MUDr. Jana Amlerová, zástupce přednosty MIKRO FN Plzeň.**

Po zpracování Vámi zjištěných údajů poskytnete zdravotnickému oddělení / klinice či organizačnímu celku FN Plzeň závěry Vašeho šetření, pokud o ně projeví oprávněný pracovník ZOK / OC zájem a budete se aktivně podílet na případné prezentaci výsledků Vašeho šetření na vzdělávacích akcích pořádaných FN Plzeň.

Toto povolení nezakládá povinnost zdravotnických pracovníků s Vámi spolupracovat, pokud by spolupráce s Vámi narušovala plnění pracovních povinností zaměstnanců. Spolupráce zaměstnanců FN Plzeň na Vašem šetření je dobrovolná.

Přeji Vám hodně úspěchů při studiu.

Mgr. Bc. Světluše Chabrová
manažerka pro vzdělávání a výuku NELZP
zástupkyně náměstkyně pro oš. péči

Útvar náměstkyně pro oš. péči FN Plzeň
tel.: 377 103 204, 377 402 207
e-mail: chabrovas@fnplzen.cz

24. 2. 2021

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a všechny použité prameny jsem uvedla v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 20. 3. 2021

Kočíová Denisa

vlastnoruční podpis

Abstrakt

Příjmení a jméno: Denisa Kočová

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Původci septických onemocnění u člověka

Vedoucí práce: MUDr. Jana Amlerová, Ph.D.

Počet stran-číslované: 44

Počet stran-nečíslované: 19

Počet příloh: 0

Počet titulů použité literatury: 37

Klíčová slova: sepse, septický šok, laboratorní diagnostika, bakterie, hemokultura

Souhrn:

Jako téma své bakalářské práce jsem si vybrala „Původci septických onemocnění u člověka“ a rozdělila jsem ji na teoretickou a praktickou část.

V teoretické části jsem se zaměřila na sepsi a podobné pojmy, se kterými se můžeme v této problematice setkat, na nejčastější původce sepse, jejich diagnostiku v mikrobiologické laboratoři a léčbu. Podrobně jsem rozpracovala problematiku hemokultivace jako základního a nejdůležitějšího postupu v diagnostice sepse.

V praktické části jsem se zaměřila na odběr, transport a zpracování materiálu pro hemokultivaci. Dále jsem se věnovala pozitivním hemokulturám, které byly zaznamenány v rozmezí 3 měsíců (červenec, srpen, září) roku 2020. Tyto údaje byly použity z Fakultní nemocnice v Plzni.

Abstract

Surname and name: Denisa Kočová

Department: Department of Rescue, Diagnostics and Public Health

Title of thesis: Agents of septic diseases in humans

Consultant: MUDr. Jana Amlerová, Ph.D.

Number of pages: 44

Number of pages: 19

Number of appendices: 0

Number of literature items used: 37

Keywords: sepsis, septic shock, laboratory diagnostics, bacteria, hemoculture

Summary:

I picked „Agents of septic diseases in humans“ as a topic for my thesis and I separated it into a practic and a theoretic segment.

In the theoretic segment I focused on sepsis and similar terms that we can encounter, the most common agents of sepsis, their diagnosis in a laboratory, the treatment and hemocultures, which are the essential component.

In the practic segment I focused on the collecting, the processing and the transportation of material for hemocultivation. Next I focused on the positive hemocultures, which were recorded over period of 3 months (July, August, September) of 2020. This data comes from Fakultní nemocnice Plzeň.

Předmluva

Tato bakalářská práce cílí na problematiku jednoho z nejzávažnějších projevů infekce v organismu, a to sepse, septického šoku a syndromu toxického šoku, jejich diagnostiku a detekci nejčastějších původců. Cílem mé bakalářské práce bylo teoreticky popsat tyto život ohrožující stavy, jejich příčiny a jejich diagnostiku. V praktické části pak zjištění přítomnosti a množství druhů mikroorganismů, které byly zachyceny v pozitivních hemokulturách v období červenec, srpen, září roku 2020 na Ústavu mikrobiologie FN v Plzni, zpracování těchto dat a jejich interpretace.

Poděkování

Chtěla bych velmi poděkovat paní MUDr. Janě Amlerové, Ph.D. za odborné vedení práce, cenné rady a poskytování potřebných dat a materiálu. Dále bych chtěla poděkovat všem pracovníkům ve Fakultní nemocnici v Plzni na oddělení mikrobiologie za vstřícnost a ochotu.

Obsah

Obsah.....	23
SEZNAM GRAFŮ.....	26
SEZNAM OBRÁZKŮ.....	27
SEZNAM ZKRATEK.....	28
TEORETICKÁ ČÁST	16
1. ÚVOD DO PROBLEMATIKY	16
2. DEFINOVÁNÍ SEPSE A PŘÍBUZNÝCH POJMŮ	17
2.1 Bakteriémie.....	17
2.2 Septikémie	17
2.3 Sepse.....	17
2.4 Syndrom toxického šoku	18
2.5 Pyémie	18
3. TŘÍDĚNÍ SEPSÍ	19
3.1 Patologickoanatomické třídění dle Bingolda.....	19
3.2 Třídění sepse dle Siegela	19
4. RIZIKOVÉ FAKTORY VZNIKU SEPSE	20
5. PROJEVY SEPSE.....	21
6. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA SEPSE	22
6.1 Hemokultura	23
6.1.1 Druhy kultivačních lahvíček	23
6.1.2 Hemokultivace v automatických systémech.....	24
7. LÉČBA SEPSE	25
7.1 Antibiotická léčba.....	25
8. PŮVODCI SEPSE.....	28
8.1 Bakteriální původci.....	28

8.2	Houby	29
9.	CHARAKTERISTIKA NEJČASTĚJŠÍCH PŮVODCŮ SEPSE	31
9.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	31
9.1.1	Laboratorní diagnostika	31
9.2	Koaguláza negativní stafylokoky	32
9.2.1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	33
9.2.2	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	33
9.2.3	<i>Staphylococcus hominis</i>	33
9.3	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	33
9.3.1	Laboratorní diagnostika	33
9.4	<i>Streptococcus pyogenes</i>	34
9.4.1	Laboratorní diagnostika	35
9.5	<i>Neisseria meningitidis</i>	36
9.5.1	Laboratorní diagnostika	36
9.6	<i>Escherichia coli</i>	37
9.6.1	Laboratorní diagnostika	38
	PRAKTICKÁ ČÁST.....	40
10.	CÍL PRÁCE.....	40
10.1	Hypotézy	40
11.	CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU.....	41
12.	METODIKA PRÁCE	42
12.1	Materiál	42
12.2	Preanalytická část.....	42
12.2.1	Odběr vzorku.....	42
12.2.2	Transport vzorku	43
12.2.3	Příjem vzorku v laboratoři	43

12.3	Analytická část.....	44
12.3.1	Pozitivní nález.....	44
12.3.2	Negativní nález	46
13.	VÝSLEDKY.....	48
13.1	Výsledky vyšetřovaného souboru.....	48
13.1.1	Rozdělení výsledků sledovaného souboru	48
14.	Diskuze	57
15.	ZÁVĚR.....	59
	Citovaná literatura.....	17

SEZNAM GRAFŮ

Graf č. 1: Rozdělení pozitivních pacientů podle pohlaví

Graf č. 2: Rozdělení pozitivních pacientů dle věku

Graf č. 3: Počet pozitivních hemokultivačních lahviček v období 3 měsíců

Graf č. 4: Porovnání počtu všech lahviček v jednotlivých měsících

Graf č. 5: Porovnání počtu pozitivních a negativních lahviček

Graf č. 6: Přehled nejčastějších mikroorganismů v pozitivních hemokulturách

Graf č. 7: Četnost jednotlivých agens ve skupině KNS

Graf č. 8: Rozdělení počtu pozitivních hemokultur do jednotlivých měsíců

Graf č. 9: Původ všech odebraných lahviček v období 3 měsíců roku 2020

Graf č. 10: Podíl pozitivních hemokultur k celkovému počtu všech odebraných na daném oddělení.

Graf č. 11: Porovnání všech pozitivních a negativních lahviček přijatých v období tří měsíců roku 2020

Graf č. 12: Zastoupení oddělení, ze kterých pacienti pocházeli

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1: *Staphylococcus aureus* ve světelném mikroskopu po Gramově barvení

Obrázek č. 2: *Staphylococcus aureus* v elektronovém mikroskopu

Obrázek č. 3: *Streptococcus pneumoniae* ve světelném mikroskopu po Gramově barvení

Obrázek č. 4: *Streptococcus pneumoniae* v elektronovém mikroskopu

Obrázek č. 5: *Streptococcus pyogenes* ve světelném mikroskopu po Gramově barvení

Obrázek č. 6: *Streptococcus pyogenes* v elektronovém mikroskopu

Obrázek č. 7: *Neisseria meningitidis* v elektronovém mikroskopu

Obrázek č. 8: *Escherichia coli* ve světelném mikroskopu po Gramově barvení

Obrázek č. 9: *Escherichia coli* v elektronovém mikroskopu

Obrázek č. 10: *Escherichia coli* na krevním agaru

Obrázek č. 11: *Escherichia coli* na Endově půdě

Obrázek č. 12: Technika rozočkování kmene na pevné půdě

Obrázek č. 13: E-test, zjištění minimální inhibiční koncentrace antibiotik

Obrázek č. 14: Diskový difúzní test (viditelná inhibiční zóna v okolí papírových disků)

SEZNAM ZKRATEK

AMI	amikacin
AmpC	serinové β -laktamázy (cefalosporinázy)
ATB	antibiotika
CNS	centrální nervová soustava
COL	kolistin
CPE	karbapenemy produkované <i>Enterobacteriaceae</i>
CRP	C- reaktivní protein
CŽK	Centrální žilní katétr
DPM	daptomycin
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ESBL	širokospektré beta-laktamázy
FN	Fakultní nemocnice
G ⁻	Gramnegativní bakterie
G ⁺	Grampozitivní bakterie
HCD	horní cesty dýchací
HOO	Hematoonkologické oodělení
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> karbapenemase
LDN	Léčebna dlouhodobě nemocných
LIS	Laboratorní informační systém
LZN	linezolid
MBL	metallo-beta-lactamase

MDR-ACBA	multi drug resistant <i>Actinobacter baumannii</i>
MDR-PSAE	multi drug resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
MRSA	methicilin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
NDM	New Delhi metallo- beta- lactamase
ORL	otorhinolaryngologické oddělení
PCT	prokalcitonin
TIG	tigecyklin
ÚM	Ústav mikrobiologie
VAN	vankomycin
VRE	vankomycin rezistentní enterokoky

TEORETICKÁ ČÁST

1. ÚVOD DO PROBLEMATIKY

Sepse je život ohrožující stav, který provází lidstvo odnepaměti. Sepse získala spoustu jiných pojmenování jako horečka omladnic, tichý zabiják nebo známěji jako otrava krve. Pojmenování „tichý zabiják“ získala, protože od stanovení diagnózy do jednoho měsíce je riziko smrti již na 30 % a do 6 měsíců zemře až 50 % nemocných (Streitová, 2011). Tento život ohrožující stav je vždy spojen s různým stupněm orgánové dysfunkce. Několikanásobně se zvýšil počet sepsí vzniklých ve zdravotnických zařízeních kvůli zvýšenému počtu léčebných zákroků, operací, transplantací, zvýšenému množství zranění, popálenin a kvůli používání cytostatik či imunosupresiv (Ševčík, 1993).

2. DEFINOVÁNÍ SEPSE A PŘÍBUZNÝCH POJMŮ

Jde se o stavy, kdy v krvi kolují mikroorganismy nebo jejich produkty. V další části textu jsou definovány typy sepsy a příbuzné pojmy.

2.1 Bakteriémie

Bakteriémii můžeme popsat jako přítomnost bakterií v krvi, ale bez klinické odezvy. S bakteriemi se můžeme setkat i u zdravých lidí, například při extrakci zubů (Ševčík, 1993).

2.2 Septikémie

Septikémie je pouze jiný název pro septický šok či septický syndrom.

2.3 Sepse

Můžeme říct, že sepsy je souhrn příznaků, nikoli specifická choroba (Ševčík, 1993). Odborné společnosti European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) a Society of Critical Care Medicine (SCCM) vytvořili na podkladě nově zjištěných klinických, metabolických a zánětlivých ukazatelů novou definici sepsy, která byla zapotřebí. V roce 2015 došlo k vytvoření nové definice, která je nazývána jako Sepsis-3. Tato definice říká, že sepsy je „*život ohrožující orgánová dysfunkce způsobená aberantní odpovědí na infekci*“ (Holub, 2016). Sepse je rozdělena do třech stádií a to sepsy, těžká sepsy a septický šok.

2.3.1 Sepse

U pacienta můžeme diagnostikovat sepsi, pokud má tělesnou teplotu pod 36 °C nebo nad 38 °C, tepovou frekvenci nad 90/min a dechovou frekvenci nad 20/min, parciální tlak oxidu uhličitého pod 4,3 kPa, hodnotu bílých krvinek nad $12 \cdot 10^9/l$ (leukocytóza) nebo pod $4 \cdot 10^9/l$ (leukopenie) či více jak 10 % tyčových forem (Novák et al., 2001).

2.3.2 Těžká sepsy

Je charakterizována příznaky sepsy, které jsou výše uvedeny, a navíc dochází ke změně vědomí či chování, u pacienta dochází k dysfunkci nebo hypoperfuzi orgánů a také dochází k hypotenzi, kdy tlak krve je pod 90 mm Hg (Novák et al., 2001).

2.3.3 Septický šok

Je jako třetí stádium sepsy je charakterizován příznaky stejnými jako u předešlých dvou stádií, a navíc dochází k tomu, že hypotenzní organismus nereaguje na doplnění

objemu tekutin. U tohoto stádia dochází též ke sníženému prokrvení orgánů neboli hypoperfuzi (Novák et al., 2001). Podle definice jde o „sepsi s cirkulačními, buněčnými a metabolickými abnormalitami, které jsou natolik závažné, že zvyšují její smrtnost“ (Holub, 2016).

2.4 Syndrom toxického šoku

Tento syndrom je spojen s infekcí způsobenou některými kmeny *Staphylococcus aureus*, které produkují toxin TSST-1 (Toxic shock syndrome toxin) nebo některý typ enterotoxinu. Se syndromem toxického šoku se můžeme setkat také u žen, které používají v období menstruace vaginální tampóny. Dále se s ním můžeme setkat i u pacientů, kteří mají abscesy či pooperační infekce. Syndrom toxického šoku je charakterizován teplotou, nízkým krevním tlakem, zvracením, bolestí hlavy, průjmem a příznaky postižení centrální nervové soustavy (dezorientace, změna vědomí) (Ševčík, 1993). Zjistilo se, že existují jedinci, kteří díky své snížené imunitě jsou vnímavější k syndromu toxického šoku. Tito lidé mají imunitní insuficienci vůči toxickým antigenům, které jsou produkovány bakteriemi a způsobují tato onemocnění (Křížová, 2012).

2.5 Pyémie

Jedná se o stav, kdy krví kolují mikrobi, kteří jsou často navázáni na zbytku trombu a snadněji uváznou v nějaké menší cévě. Na těchto místech se pak vytvoří hnisavé ložisko (absces). Typickým zdrojem pyémie bývá akutní endokarditida, která je vyvolána bakteriemi (Mačák et al., 2004).

3. TŘÍDĚNÍ SEPSÍ

Sepsi můžeme rozdělit do dvou skupin, a to podle Bingolda a Siegela (Ševčík, 1993).

3.1 Patologickoanatomické třídění dle Bingolda

Bingold rozdělil sepsi do čtyř skupin z pohledu patologickoanatomického na:

1. Sepse vycházející z dutých orgánů (dutina děložní, žlučník, dřevňové dutiny)
2. Sepse lymfangitická (sepsi z operačních a traumatických ran)
3. Sepse z tromboflebitidy (výchozím ložiskem je infikovaný trombus v žíle)
4. Sepse centrální (řadíme sem endokarditidu a endarteritidu)

3.2 Třídění sepsi dle Siegela

Siegel rozdělil sepsi do čtyř stádií podle klinických a metabolických ukazatelů.

1. Stadium A: kompenzovaná sepsi (pacient s rychlejší srdeční frekvencí, teplotou, zvýšenou hladinou glukagonu, inzulínu, katecholaminů a glukokortikoidů v plazmě, zvýšenou glykemií).
2. Stadium B: hyperkinetické, stadium metabolické insuficience (pacient ve vážném stavu s tachykardií, tachypnoí, teplotou, zvýšenou koncentrací laktátu, metabolickou acidózou, zvýšenou hladinou glukagonu, zvýšeným odpadem dusíku do moči a se zvýšeným zadržováním sodíku).
3. Stadium C: stadium orgánových selhání (pacient s poruchami v mikrocirkulaci, acidózou, rozvojem syndromu akutní dechové tísně neboli ARDS, vzestupem aminokyselin a zvýšenou tvorbou falešných neuromediátorů – projevy septické encefalopatie).
4. Stadium D: terminální, stadium studeného šoku (pacient se sníženým krevním tlakem, chladnou kůží, stav pacienta je doprovázen selháváním orgánů a metabolismu) (Ševčík, 1993).

4. RIZIKOVÉ FAKTORY VZNIKU SEPSE

Mezi rizikové faktory patří celé spektrum událostí, výkonů, rutin, které mohou dříve či později vyvolat sepsi.

1. Osobní faktory: věk, strava, vakcinace, imunosuprese, současný výskyt více nemocí, genetika
2. Komunitní faktory: cestování, sociální zařazení, epidemie
3. Nozokomiální faktory: délka hospitalizace, druh oddělení, rezistence bakterií, závažnost stavu
4. Chirurgie: traumata, druhy výkonů, typy procedur (čisté, nečisté), katetry (Chmelík)

5. PROJEVY SEPSE

Sepse se projeví u každého pacienta odlišně. Zaleží hlavně na tom, o jaké stadium sepsy se jedná a jak moc je proces rozvinutý. Mezi nejtypičtější projevy sepsy patří teplota člověka pod 36 °C nebo nad 38 °C, změna tepové frekvence, změna dechové frekvence, slabost, bledost pacienta, třesavka, zmatenost, snížená či úplná tvorba moči nebo selhání orgánů, a to plic, ledvin, gastrointestinálního traktu, jater, centrální nervové soustavy a celkově oběhu (Vilímovský, 2019).

Ne vždy bývá jasné ložisko sepsy, spíše se nacházejí metastatické změny. U řady pacientů je sepsy doprovázena cirkulačními, srdečními a metabolickými změnami. Dle Ševčíka je klinický průběh sepsy rozdělen na perakutní, akutní, subakutní a chronický. Sepsi u novorozenců a pacientů s vyšším věkem je velmi obtížné diagnostikovat (Ševčík, 1993).

6. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA SEPSE

Výsledek léčby může být zásadně ovlivněn včasným stanovením diagnózy sepse a rychlým zahájením antibiotické léčby. Mezi základní laboratorní vyšetření patří odběr hemokultury předtím, než se pacientovi podá první dávka antibiotik. Je doporučeno, aby se pacientovi odebraly nejméně 2 hemokultury. Dále je třeba u pacientů s předpokládaným zdrojem infekce odebrat moč, sputum, mozkomíšní mok nebo stěr z rány na mikrobiologické vyšetření.

Při laboratorní diagnostice se vyšetřují zánětlivé markery z krevního obrazu pomocí diferenciálního rozpočtu, stanovuje se CRP, kdy při bakteriálních infekcích stoupá hladina do 10 hodin, PCT, cytokiny, další proteiny akutní fáze a laktát (Streitová et al., 2015).

Zánětlivé markery z krevního obrazu: pozorujeme zvýšený počet neutrofilů s posunem doleva (vyplavení nezralých forem), leukocytóza nad $12 \cdot 10^9/l$, leukopenie pod $4 \cdot 10^9/l$.

CRP: C-reaktivní protein, nejčastěji indikovaný marker zánětu, hodnota za fyziologických podmínek je do 8 mg/l. U bakteriálních infekcí je vzestup hladiny CRP rychlý a hodnota bývá nad 60 mg/l. Pacienti se sepsí mohou mít hodnotu 200–300 mg/l. U virových infekcí je vzestup hladiny pomalý až minimální, hodnota nebývá vyšší než 50 mg/l.

PCT: prokalcitonin, nejčastěji používaný marker časně sepse, vzestup hladiny do 2 hodin. Je tedy dynamičtější než CRP. Umožňuje časně diagnostikovat sepsi a monitorovat antimikrobiální léčbu.

Cytokiny: protizánětlivé faktory, které stoupají dle závažnosti infekce. Mezi hlavní cytokiny zodpovědné za sepsi patří IL-6, IL-8 a TNF.

Proteiny akutní fáze: při laboratorní diagnostice se také vyšetřuje, alfa-1-antitrypsin, prealbumin, ceruloplazmin, transferin nebo haptoglobin. Jejich koncentrace stoupá při zánětech nebo infekcích.

Laktát: hodnota laktátu je 1,2–2,1 mmol/l. V krevním séru při sepsi začne hladina laktátu stoupat (Streitová et al., 2015).

6.1 Hemokultura

Je to zásadní důležité mikrobiologické vyšetření, které se provádí u podezření na vážnější infekční onemocnění, jako je právě sepse. Jedná se o nesrážlivou krev odebranou do speciálních lahviček, ve kterých se následně provádí automatická kultivace. Krev se odebírá z žíly (venepunkce), většinou při zvýšené teplotě. Odběr krve se také provádí z katétru při podezření na katérovou sepsi, tedy infekci lokalizovanou na umělém povrchu katétru. Vždy se musí dbát na maximální sterilitu při odběru. Pokud tomu tak není, může dojít ke kontaminaci vzorku. Výsledek tak může být falešně pozitivní. (Zahradníček, 2010).

Odběr hemokultur se provádí ideálně před antibiotickou léčbou, a to minimálně do dvou sad hemokultivačních lahviček. Jedna sada obsahuje 2–6 lahviček. Odběrové lahvičky na hemokulturu je potřeba nejdříve označit. Dále se musí dezinfikovat alkoholem gumové zátky a místo, odkud bude následně proveden odběr krve. Po zaschnutí dezinfekce se doporučuje odebrat u dospělých 8–10 ml krve do jedné lahvičky. U novorozenců a dětí se objem odebírané krve pohybuje mezi 1–2 ml. Krev je odebírána do pediatrických lahviček.

Při jednorázovém odběru z venepunkce jsou zapotřebí minimálně 2 sady obsahující 4 lahvičky (v nejlepším případě 3 sady obsahující 6 lahviček) a 1 sada obsahující 1 lahvičku aerobní a 1 anaerobní. (Scharfen, 2014).

6.1.1 Druhy kultivačních lahviček

Můžeme se setkat s různými druhy lahviček pro hemokultivaci. Mluvíme o aerobních, anaerobních, mykologických a pediatrických odběrových lahvičkách (Jirsa).

Některé lahvičky obsahují například černé uhlí. Tyto lahvičky se používají k odběru krve u pacientů, u kterých se již zahájila antibiotická léčba. Pokud by se u těchto pacientů použily lahvičky bez černého uhlí, mohlo by dojít k falešnému výsledku kultivace (Zahradníček, 2010).

Existují i speciální lahvičky na *Mycobacterium species*, které obsahují různé suplementy, antikoagulanty a antimikrobní neutralizační látky (Scharfen, 2014).

Doba kultivace v analyzátoru je běžně 5 dní, u detekce mykologických agens je doba podle typu analyzátoru prodloužena. Výsledek pozitivní hemokultivace analyzátor zpravidla zobrazí během několika hodin. Dobu od příjmu hemokultury po její pozitivitu je nutno zapsat. Okamžitě po ohlášení pozitivitu se provádí mikroskopické vyšetření nátěru připraveného z hemokultury, které je následně barveno dle Grama. Dále se krev vyočkuje na různé kultivační půdy, jako jsou krevní agar, MacConkey agar či Sabouraudův agar.

Identifikace kmene se provádí co nejdříve, nejčastěji pomocí hmotnostní spektrometrie (MALDI-TOF MS). Současně se provede stanovení citlivosti. Druhý den se vyhodnocuje výsledek. Pozitivní výsledek a výsledek mikroskopického vyšetření se obratem hlásí klinickému lékaři, aby mohl nastavit správnou léčbu.

Při laboratorní diagnostice sepse se kromě hemokultivace provádí také kultivace jiných materiálů jako například sputum, BAL (bronchoalveolární laváž), moč, punktáty nebo likvor. Dále se provádí detekce antigenů nebo detekce původce pomocí PCR metody (Čermák et al., 2008).

6.1.2 Hemokultivace v automatických systémech

K hemokultivaci se využívají automatické systémy. Jejich princip je v zásadě totožný, detekují produkty metabolismu v lahvičkách při přítomnosti bakterií nebo hub. Proto je tento způsob někdy označován jako metabolická kultivace. V textu dále je uveden podrobný princip systému BacT/ ALERT® VIRTUO© (BioMerieux).

Tento přístroj je schopen inkubace, míchání a průběžného monitorování růstu mikroorganismů, které jsou kultivačně různě náročné (aerobní, anaerobní, fakultativně anaerobní nebo mikromycety). Pro tento systém se používají lahvičky: BacT/ ALERT VIRTUO FA Plus pro záchyt aerobních a fakultativně anaerobních bakterií a kvasinek, BacT/ ALERT FN Plus pro záchyt anaerobních bakterií a BacT/ ALERT PF Plus pro záchyt aerobních, fakultativně anaerobních bakterií a kvasinek u dětí – vhodné pro menší objem vzorku. Systém BacT/ ALERT VIRTUO je založen na kolorimetrickém principu měření. Každá lahvička má ve svém dně zabudovaný senzor. Pokud jsou v lahvičce přítomny bakterie, dochází k produkci CO₂ a také ke změně pH. Tím, že se změní pH, dochází ke změně barvy senzoru. BacT/ ALERT VIRTUO každých deset minut provádí monitoring a analyzuje, zda-li nedošlo k barevné změně z modrozelené na žlutou či nikoliv. Barevná změna senzoru tedy znamená pozitivní výsledek – nález mikroorganismů v hemokultivační lahvičce. V případě pozitivity přístroj zvukově ohlásí, že došlo k detekci mikroorganismů a lahvička se ze systému vyndá. Pokud však nedochází k žádné detekci a barevné změně, lahvička se nechá kultivovat v přístroji po dobu pěti dní.

7. LÉČBA SEPSE

Léčba sepse je podstatně náročnější než například léčba traumatického nebo anafylaktického šoku. Jednotlivé kroky lze zařadit do 6 skupin (Ševčík, 1993).

Tabulka č. 1: Postup opatření, kterými lze docílit uzdravení pacienta léčícího se sepsí

1.	Odstranění ložiska sepse
2.	Cílená a radikální antibiotická léčba
3.	Podpora a náhrada jednotlivých funkčních a orgánových systémů
4.	Ostatní opatření obecného rázu
5.	Speciální postupy u některých druhů sepsí
6.	Léčba základního onemocnění

Na prvním místě se nejprve musí odstranit u pacienta nebezpečná hypoxémie a pacienta je nutno udržovat v normálních fyziologických hodnotách. Monitoruje se tlak, tělesná teplota, kontroluje se množství vyloučené moči, provede se rentgenový snímek plic, základní laboratorní testy (krevní plyny, acidobazická rovnováha, funkce ledvin), hematologické vyšetření, kultivační vyšetření hemokultur (Ševčík, 1993).

Průměrná doba terapie u sepsí se pohybuje mezi dvěma a deseti týdny. Záleží na vážnosti stavu pacienta. Nejkratší doba terapie, a to 2–4 týdny, je u pacientů se sepsí v plicní, gastrointestinální, urologické, gynekologické a neurologické oblasti. 4–6 týdnů by měla léčba trvat u sepsí centrálních, u akutních osteomyelitid a také některých dalších sepsích. Nejdelší doba léčby, a to 4–10 týdnů je léčba mykotických sepsí (Ševčík, 1993).

7.1 Antibiotická léčba

Podkladem pro stanovení cílené antibiotické léčby je správná identifikace infekčního agens a stanovení citlivosti k antibiotikům. Cílem je tedy co nejrychleji snížit množství bakterií v organismu. Problém nastává tehdy, když v závislosti na použití antibiotik (dále jen ATB) původce vyvine k podávanému přípravku rezistenci (Průcha et al., 2015).

Sepse u nemocného člověka, který přichází z domova, dlouho nebyl hospitalizovaný a nepodrobil se žádným zákrokům, je pravděpodobně způsobena

komunitním kmenem bakterií, které mají většinou běžnou citlivost na antibiotika. Naopak u pacienta, který je hospitalizovaný ve zdravotnickém zařízení, je vyšší pravděpodobnost výskytu multirezistentních forem bakterií (Průcha et al., 2015).

Tabulka č. 2: Nejvýznamnější multirezistentní původci nozokomiálních infekcí (Průcha et al., 2015)

Skupina	Bakterie	Akronymy označující multirezistenci	ATB, proti nimž je kmen odolný	ATB, která je obvykle možné použít
G⁺ koky	Staphylococcus aureus	MRSA	Všechny beta-laktamy	VAN, LNZ, DPM
	Enterococcus spp.	VRE	Vankomycin	LNZ, DPM
Enterobakterie (fermentující G⁻ tyčinky)	Klebsiella pneumoniae, E. coli	ESBL, AmpC	Penciliny, cefalosporiny	Karbapenemy
	Klebsiella pneumoniae, E. coli	KPC, MBL, NDM, CPE	Všechny beta-laktamy	TIG
Nefermentující G⁻ tyčinky	Pseudomonas aeruginosa	MDR-PSAE	Většina ATB	COL, AMI
	Actinobacter baumannii	MDR-ACBA	Většina ATB	COL, TIG

Pokud u septického pacienta zjistíme, že jeho stav je doprovázen trombocytopenií, jde pravděpodobně o výskyt gramnegativních bakterií anebo zlatého stafylokoka. Jestliže se naopak u pacienta trombocytopenie nevyskytuje, jedná se s velkou pravděpodobností o grampozitivní (dále jen G⁺) sepsi. Gramnegativní (dále jen G⁻) sepse má větší sklon způsobovat snížení krevního tlaku neboli hypotenzi. U sepsí, kde bakterie tvoří toxin, je důležitější zabránit dalšímu uvolnění toxinu než zahubení bakterií jako takových. Zabránit tomu můžeme přidáním ATB, které inhibuje proteosyntézu bakterií (Průcha et al., 2015).

Pro léčbu sepse se upřednostňují baktericidní přípravky. Tyto přípravky můžeme rozdělit podle rychlosti zabíjení bakterií. Nejrychleji působící antibiotika (kolistin, daptomycin a aminoglykosidy), středně rychle působící (peniciliny, cefalosporiny, karbapenemy) a antibiotika s pomalým účinkem (vankomycin) (Průcha et al., 2015).

Antibiotika jsou velmi dobře účinná v krevním řečišti, ale špatně pronikají do abscesů nebo do tkáně, která je špatně prokrvená.

Pokud známe původce sepse, je vhodné použít pouze antibiotika s úzkým spektrem (Průcha et al., 2015).

Streptokoky, bakterie rodu *Enterobacteriaceae* a anaeroby způsobují komunitní infekce, které mají nízké riziko rezistence. Na tyto bakterie velmi dobře působí antibiotika jako ampicilin/sulbactam, amoxicil/klavulanát, ertapenem, cefazolin, cefuroxim nebo cefotaxim.

G⁺ bakterie, *Pseudomonas aeruginosa* a bakterie rodu *Enterobacteriaceae* jsou bakterie, které způsobují infekce s vysokou závažností a rizikem rezistence. Na tyto bakterie působí antibiotika jako imipenem/cilastatin, meropenem, cefepim či ciprofloxacin a metronidazol (Beroušek, 2018).

Empirická terapie: vychází z velmi obecných kritérií, slouží pouze k léčbě bakteriálních infekcí. Zahájením terapie se neopírá o mikrobiologické vyšetření. Odběr vzorku je proveden, ale terapie je zahájena ještě před známým výsledkem (Adámková, 2015). K terapii se většinou používají širokospektrá antibiotika. Jakmile je znám původce a jeho citlivost, je možné antibiotickou terapii deeskalovat (Adámková, 2010).

Cílená deeskalační terapie: ideální postup, spektrum ATB je zúžené na původce infekce Principem je přechod z širokospektré terapie (kombinace 2 a více antibiotik) na terapii cílenou na konkrétního původce. Po zjištění bakteriálního původce a jeho citlivosti na antibiotika je tedy léčba upravena a redukována (Adámková, 2010).

8. PŮVODCI SEPSE

Za vznik sepse jsou zodpovědné bakterie, viry, houby a i prvoci. Nejčastějšími původci jsou ale bakterie.

Sepse lze rozdělit na primární a sekundární, komunitní a nozokomiální. U primárních sepsí je zdroj infekce v krevním řečišti, u sekundárních je zdroj v jiném orgánu, tkáni (Ševčík, 1993).

8.1 Bakteriální původci

Tabulka č. 3: Primární sepse, druh onemocnění a nejčastější původci infekce (Průcha et al., 2015).

Flebitidy	Staphylococcus aureus, Staphylococcus pyogenes
Endarteritidy	Stafylokoky, Salmonella Enteritidis
Infekční endokarditidy	Staphylococcus aureus, koaguláza negativní stafylokoky, enterokoky, G ⁻ tyčky, kvasinky, Haemophilus aphrophilus, Actinobacillus actinomycetemcomitans, legionelly, mykobacteria
Katéetrové sepse	Koaguláza negativní stafylokoky, Staphylococcus aureus, G ⁻ tyčky

Tabulka č. 4: Sekundární sepse, druh onemocnění a nejčastější původci infekce (Vilímovský, 2019)

Pneumonie	Streptococcus pneumoniae, Klebsiella pneumoniae
Meningitidy	Neisseria meningitidis, Streptococcus agalactiae, Escherichia coli u novorozenců
Urosepse	Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa
Osteomyelitidy	Staphylococcus aureus
Ranné infekce	Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes
Cholecystitidy	Escherichia coli, Enterococcus faecalis
Peritonitidy	Smíšená střevní flóra
Dekubity	Smíšená aerobní flóra kožní a střevní

Tabulka č. 5: Nozokomiální infekce a jejich původci (Průcha et al., 2015)

Pneumonie	Streptococcus pneumoniae, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus, Escherichia coli
Intraabdominální infekce	Anaerobní bakterie, Klebsiella pneumoniae, enterokoky, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa
Uroinfekce	Escherichia coli, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa
Katétrové infekce	Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus haemolyticus, Staphylococcus hominis

Tabulka č. 6: Komunitní infekce a jejich původci (Lochmannová, 2006)

Infekce HCD (tonsilitidy, faryngitidy, sinusitidy)	Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae
Pneumonie	Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae
Infekce močových cest	Escherichia coli, Proteus mirabilis
Kožní infekce	Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes
Infekce genitálního traktu	Anaerobní bakterie, Streptococcus agalactiae, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, enterokoky
Infekce CNS	Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae

Ševčík ve své knize uvádí, že za sepsi způsobené bakteriálními původci jsou zhruba v 50–80 % zodpovědné gramnegativní bakterie a z 20–40 % grampozitivní bakterie. V 10 % jsou zodpovědné za sepsi také anaerobní mikroorganismy (Ševčík, 1993).

8.2 Houby

Mezi další původce sepsi řadíme houby. Houbami se zabývá mikrobiologické odvětví zvané mykologie. Zde se houby rozdělují do třech skupin, a to kvasinkovité houby, vláknité houby (plísně) a dimorfní houby (Drnková, 2019).

Kvasinkovité houby: jednobuněčné mikroorganismy, které se množí pučením. Řada kvasinek je součástí lidské mikroflóry v dutině ústní, ve střevě či v oblasti pochvy. Jedná se o podmíněné patogeny. Mezi nejznámější kvasinkovité houby řadíme rod *Candida*, *Cryptococcus*, *Sacharomyces* nebo *Rodotorula*.

Vláknité houby: tvoří dlouhá vlákna (hyfy). Shluk hyf tvoří mycelium, které má dvě části. Jedná se o část reprodukční (vzdušnou), kdy lze vidět vlákna na povrchu, a

vegetativní část (trofickou), která vrůstá do substrátu. Plísně způsobují povrchové i systémové mykózy. Nejznámějšími vláknitými houbami jsou například zástupci rodu *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* či *Fusarium*.

Dimorfní houby: rostou jako vláknité houby při teplotě nižší než 30 °C, při teplotě 37 °C rostou jako kvasinky. Nejznámějšími zástupci jsou *Histoplasma* a *Blastomyces* (Drnková, 2019).

Výskyt hub nebo kvasinek v krevním řečišti se nazývá fungémie. K fungémii často dochází při vysokodávkové chemoterapii, imunosupresi nebo po alogenní transplantaci kmenových buněk. Fungémie se objevuje u pacientů, kteří mají velmi sníženou a narušenou imunitu. V populaci obecně převažují infekce způsobené vláknitými houbami. Jedním z problémů je velmi obtížná diagnóza (Sedláček, 2008).

9. CHARAKTERISTIKA NEJČASTĚJŠÍCH PŮVODCŮ SEPSE

Mezi nejčastější původce sepse tedy patří bakterie rodu *Staphylococcus*, *Streptococcus* a *Enterobacteriaceae*, po případě bakterie anaerobní (Ševčík, 1993).

9.1 *Staphylococcus aureus*

Jedná se o nepohyblivou G⁺ bakterii kulovitého tvaru, kterou můžeme v organismu najít i za fyziologických podmínek. Patří do skupiny bakterií fakultativně anaerobních. Znamená to, že tyto bakterie jsou schopny růst v aerobním i anaerobním prostředí. Nejčastěji stafylokoky kultivujeme za přístupu vzduchu a bez ovlivnění atmosféry (24 h při 37 °C v termostatu). *Staphylococcus aureus* se pohybuje velikostí mezi 0,7–0,9 µm a shlukuje se do hroznovitého tvaru. Při růstu produkuje polysacharidy, kterými se může přichytit na různé povrchy sliznic a vytvořit biofilm.

Velmi často se v laboratoři vyskytnou kmeny, které jsou rezistentní na určitý druh antibiotik, jako například MRSA (methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*) nebo kmeny VRSA (vankomycin rezistentní *Staphylococcus aureus*) (Bednář, 1996).

Staphylococcus aureus je významný patogen, který způsobuje různorodá onemocnění s různou závažností. Infekce způsobené touto bakterií mohou postihovat různé orgány od kostí, měkkých tkání, kloubů až po větší poranění. Přítomnost této bakterie může vyvolat řadu závažných onemocnění kromě sepse také například pneumonii, meningitidu či endokarditidu. *Staphylococcus aureus* je úzce spojen s nozokomiálními infekcemi. U některých kmenů je možné prokázat i přítomnost stafylokokového enterotoxinu, který může způsobit průjem, zvracení, bolesti břicha a nevolnosti (Reports, 2012).

9.1.1 Laboratorní diagnostika

Staphylococcus aureus roste velmi dobře na krevním agaru. Tuto bakterii lze identifikovat pomocí průkazu katalázy a volné či vázané koagulázy.

Průkaz katalázy se provádí v laboratoři na podložním sklíčku, kdy na sklíčko dáme malé množství peroxidu vodíku. Do peroxidu vložíme pomocí bakteriologické kličky vzorek. V pozitivním případě se na sklíčku objeví bublinky, v negativním případě je peroxid beze změny. Pozitivní výsledek tohoto testu najdeme u bakterií rodu *Staphylococcus*, *Corynebacterium* a rodu *Neisseria*. Negativní výsledek, tedy beze změn, najdeme u bakterií rodu *Streptococcus* a *Arcanobacterium*.

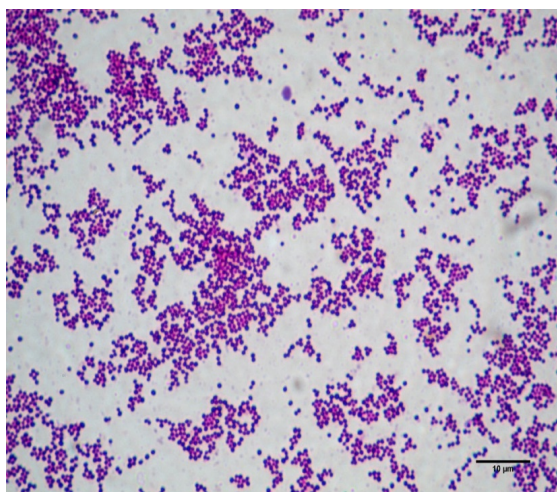
Průkaz volné koagulázy se provádí tak, že do zkumavky s roztokem králičí plazmy se přidá pomocí bakteriologické kličky několik kolonií testovaného kmene, zkumavka se promíchá a inkubuje při 30 °C. Výsledek se odečítá po 1 hodině, po 3 a po 24 hodinách. Pozitivní výsledek bude právě u bakterie *Staphylococcus aureus* a *Staphylococcus intermedius*, kdežto negativní výsledek u celé skupiny tzv. koaguláza negativních stafylokoků (např. *Staphylococcus epidermidis*).

Průkaz vázané koagulázy se provádí na podložním sklíčku v kapce plazmy, kde se promíchá několik kolonií testovaného kmene. V pozitivním výsledku se objeví aglutinace. Typický pozitivní výsledek je právě *Staphylococcus aureus* a *intermedius* (Votava et al., 2010).

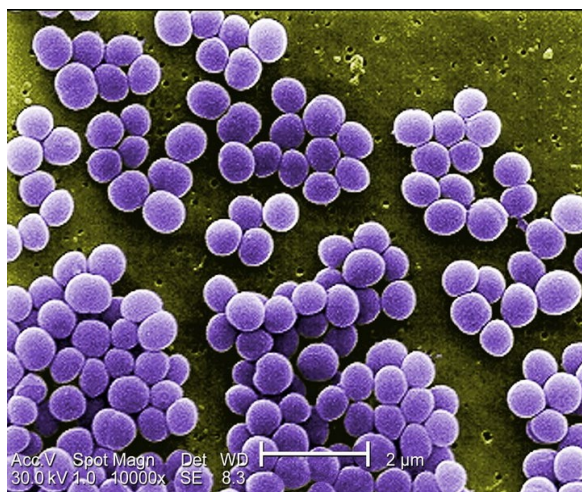
Obrázek č. 1: *Staphylococcus aureus* ve světelném mikroskopu po Gramově barvení, zvětšení 1000x

Obrázek č. 2: *Staphylococcus aureus* v elektronovém mikroskopu

Obrázek č. 1



Obrázek č. 2



Zdroj: <https://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/xsa/xsa01.html>

Zdroj: <http://www.bacteriainphotos.com/Staphylococcus%20aureus%20electron%20microscopy.html>

9.2 Koaguláza negativní stafylokoky

Sepsis způsobují také bakterie rodu *Staphylococcus*, které jsou koaguláza negativní (dále jen KNS). Patří sem *Staphylococcus epidermidis*, *S. condimenti*, *S. haemolyticus*, *Staphylococcus hominis* a mnoho dalších druhů. Jsou součástí běžné mikroflóry kůže. Patří k podmíněně patogenním mikroorganismům, neprodukují toxiny a hlavním faktorem

virulence je tvorba biofilmu. Vytvořením biofilmu mohou kolonizovat a infikovat katétrů z různých materiálů. Nejdůležitějším a někdy i velmi obtížným krokem v laboratoři je u těchto druhů odlišit etiologické agens od kontaminace (Čermák et al., 2008).

9.2.1 Staphylococcus epidermidis

Jedná se o nepohyblivé, fakultativně anaerobní, grampozitivní koky tvořící hroznovité uspořádání. Roste na krevním agaru, masopectonovém (živný agar) a také na manitolovém agaru (MSA). Jeho nejdůležitějším faktorem virulence je tvorba biofilmu. Způsobuje infekce krevního řečiště a katérové sepse (Reports, 2012).

9.2.2 Staphylococcus haemolyticus

S. haemolyticus je nepohyblivá, nesporulující, fakultativně anaerobní bakterie, která je součástí lidské mikroflóry (v axilách a tříselných oblastech). Způsobuje kromě septikémie také katérové sepse, endokarditidu, infekce krevního řečiště, infekce ran a kostí (Eltwisy, 2020).

9.2.3 Staphylococcus hominis

Bakterie rostoucí v malých koloniích bílé barvy. Má tendenci kolonizovat v oblasti podpaží, paží a nohou. Způsobuje pooperační komplikace, septikémii, cystitidy či meningitidy (Sapkota, 2020).

9.3 Streptococcus pneumoniae

Patří mezi G⁺ koky, nepohybuje se, netvoří spóry, vyskytuje se v párech (tvoří diplokoky), patří do skupiny α -hemolytických (viridujících) streptokoků, roste za zvýšené tenze CO₂.

Tato bakterie v lidském organismu může způsobit zápal plic (pneumonii), který je problémem u velmi mladých a starých pacientů. Proto se ve většině případů setkáváme v dětském věku a stáří s očkováním proti pneumokokovým nákazám (vakcíny Prevenar 13 a Synflorix). Vyvolává také i sinusitidy, záněty středního ucha, meningitidy, sepse, bakteriémie, artritidy, mozkové abscesy. Pneumokok se nachází v těle i za fyziologických podmínek, a to v horní polovině respiračního traktu (Reports, 2012).

9.3.1 Laboratorní diagnostika

K identifikaci α -hemolytických streptokoků a zároveň k odlišení pneumokoka od ostatních orálních streptokoků slouží optochinový test. Při tomto testu se na krevní agar hustě naočkuje testovaný kmen a sterilně se přiloží papírový disk s optochinem. Krevní agar se pak inkubuje 24 h při 37 °C. Po inkubaci se hodnotí vytvoření inhibiční zóny a

odečte se průměr. Je-li průměr více jak 14 mm, jedná se o *Streptococcus pneumoniae*. Je-li inhibiční zóna menší než 14 mm, pravděpodobně se nejedná o pneumokoka. Výsledek lze ověřit testem rozpustnosti ve žluči. Pokud nenarostla žádná inhibiční zóna, jedná se o orální streptokoky (Sagar, 2019).

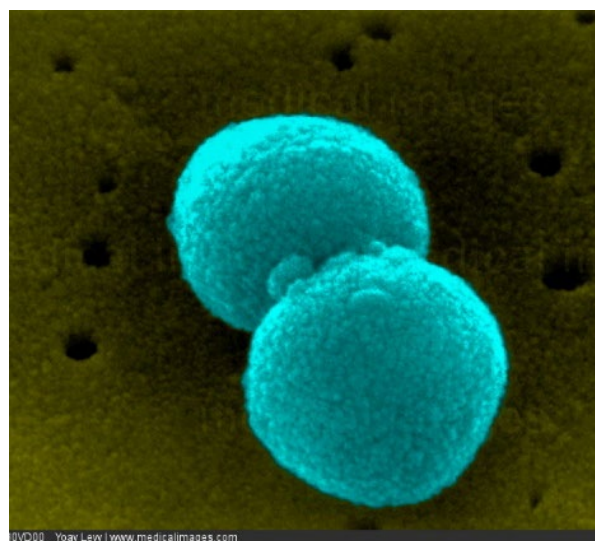
Obrázek č. 3: *Streptococcus pneumoniae* ve světelném mikroskopu po Gramově barvení, zvětšení 1000x

Obrázek č. 4: *Streptococcus pneumoniae* v elektronovém mikroskopu

Obrázek č. 3



Obrázek č. 4



Zdroj: <https://microbeonline.com/wp-content/uploads/2013/07/gram-positive-cocci-streptococcus-pneumoniae.jpg>

Zdroj: <https://www.medicalimages.com/stock-photo-scanning-electron-micrograph-of-streptococcus-pneumoniae-bacteria-also-called-pneumococcus-this-image22420144.html>

9.4 *Streptococcus pyogenes*

Bakterie patřící do skupiny G⁺ koků, je fakultativně anaerobní, tvoří řetízky a je stejně jako ostatní bakterie rodu *Streptococcus* kataláza negativní. *Streptococcus pyogenes* patří také do skupiny β-hemolytických streptokoků. Některé druhy této bakterie produkují toxiny (například erytrogenní), který způsobuje spálu (Reports, 2012).

Streptococcus pyogenes vyvolává kromě sepse také respirační onemocnění jako spálu (scarlatina), angínu (akutní tonsilofaryngitidu), dále artritidy, meningitidy a také kožní hnisavé infekce, které jsou nakažlivé (pyodermie) (Motlová, 2010).

Pro případnou prevenci proti této bakterii není k dispozici žádná vakcína (Reports, 2012).

9.4.1 Laboratorní diagnostika

Streptococcus pyogenes je odolný vůči optochinovému testu. Proto se při laboratorní diagnostice této bakterie dříve používal bacitracinový test, jehož provedení je obdobné jako u optochinového, jen slouží k odlišení této bakterie od ostatních β -hemolytických streptokoků. *Streptococcus pyogenes* je citlivý na přítomnost bacitracinu a v okolí tedy neroste. Ostatní β -hemolytické streptokoky v jeho přítomnosti rostou, protože jsou rezistentní.

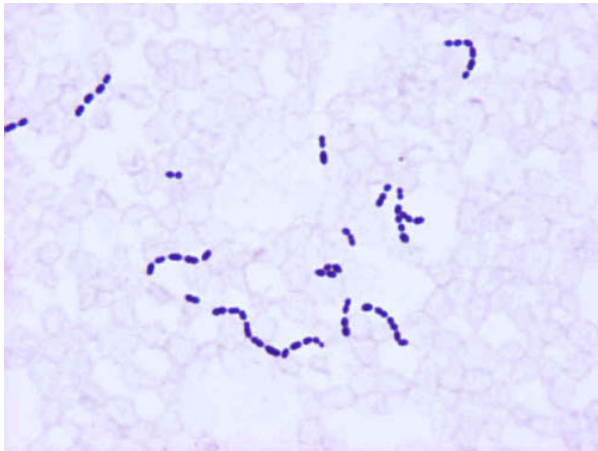
Další diagnostický test, jak rychle odlišit tuto bakterii od ostatních β -hemolytických streptokoků je PYR test. Principem je odlišení streptokoků na základě přítomnosti enzymu pyrázy, který produkuje právě *Streptococcus pyogenes*. Výsledek testu je hotov do pár minut.

Na detekční polštářek se nanese destilovaná voda nebo fyziologický roztok, do kterého se přidá pomocí bakteriologické kličky testovaná kolonie. Takto připravený detekční polštářek se nechá 2 minuty inkubovat při laboratorní teplotě, a pak se zakápně jednou kapkou vývojky a sleduje se barevná změna. Pokud se detekční polštářek zbarví do růžové, červené nebo fialové, jedná se o bakterii *Streptococcus pyogenes* (Bednář, 1996).

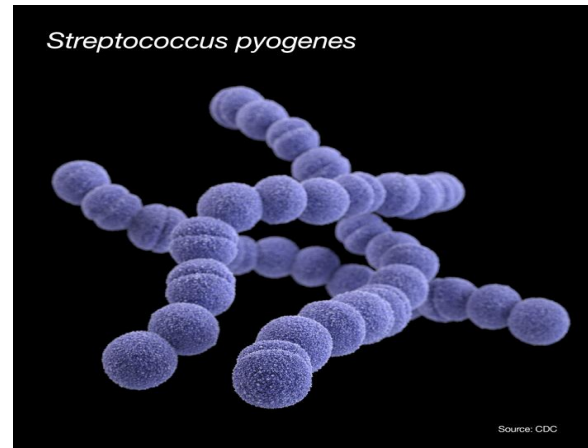
Obrázek č. 5: *Streptococcus pyogenes* ve světelném mikroskopu po Gramově barvení

Obrázek č. 6: *Streptococcus pyogenes* v elektronovém mikroskopu

Obrázek č. 5



Obrázek č. 6



Zdroj: <http://faculty.weber.edu/kendalbeazer/protectedpage/Web%20photo%20gallery%20and%20images/Streps/S%20pyogenes%20blood%20gram%20stain%20large%20page.htm>

Zdroj: <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=22884>

9.5 *Neisseria meningitidis*

Neisseria meningitidis neboli meningokok je G⁻ kok, který se vyskytuje ve dvojicích (diplokok). Je to kultivačně náročná, aerobní, mikroaerofilní (potřeba vlhkosti a zvýšené tenze CO₂), nesporující, opouzdřená bakterie, která snadno podléhá autolýze. Bakterie tvoří oxidázu, takže při oxidázovém testu vyjde výsledek pozitivní. Podle pouzdrového polysacharidu je známo 13 serologických skupin, z toho 5 nejdůležitějších. Tyto skupiny jsou označovány písmeny A, B, C, W135 a Y (Roháčová, 2014). Právě tyto skupiny způsobují život ohrožující stavy nazývané invazivní meningokokové onemocnění charakterizované purulentní meningitidou a sepsí.

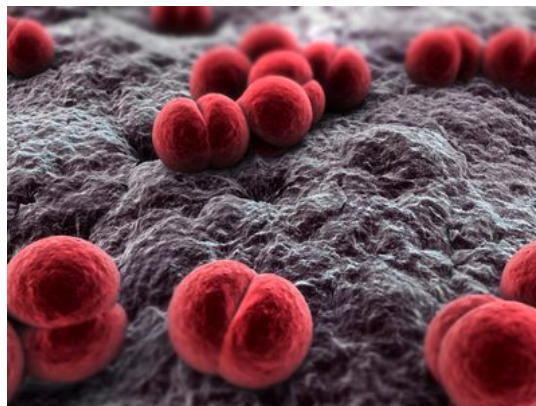
Tato bakterie je přenosná vzduchem a osidluje horní část respiračního systému. Meningokoková onemocnění se vyskytují pouze u lidí. *Neisseria meningitidis* kromě sepse a meningitidy způsobuje i další onemocnění jako například nasofaryngitidu, pneumonii, bronchitidu, artritidu nebo myokarditidu (Roháčová, 2014).

9.5.1 Laboratorní diagnostika

Biologickým materiálem je krev, mozkomíšní mok, kloubní tekutiny nebo výtěry. Průkaz *Neisserie meningitidis* se provádí mikroskopicky a kultivačně. Provádí se také latexová aglutinace likvoru. *Neisserie* velmi dobře roste na čokoládovém agarů a na

speciálních půdách jako Mueller-Hintonově půdě. Používá se také GC agar, který je určený pro gonokoky a meningokoky. GC agar obsahuje speciální peptony, škrob, krev a antibiotika vankomycin a kolistin. Jedná se o selektivní půdu, na které meningokoky vyrostou v průhledné mírně šedivé kolonie (Votava et al., 2010).

Obrázek č. 7: *Neisseria meningitidis* v elektronovém mikroskopu



Zdroj: <https://www2.le.ac.uk/projects/vgec/highereducation/topics/microbial-genetics-1/human-pathogens-1/neisseria-meningitidis>

9.6 *Escherichia coli*

E. coli je odolná G⁻ tyčka, která se pohybuje pomocí bičíků. Roste za fakultativně anaerobních podmínek, netvoří spory a na svém povrchu má dva různé typy fimbrií, které umožňují adhezi na hostitelskou buňku. Tato bakterie je schopna růst při teplotě 8–48 °C, ale optimální teplotou pro její růst je 37 °C. Některé typy tvoří pouzdra a jejich kolonie mají mukózní (hlenovitý) charakter. *E. coli* je běžnou součástí střevní flóry u lidí i zvířat (Bednář, 2009).

Patogenní typy *E. coli* jsou velmi zastoupeny v prostředí, a tím mohou kontaminovat vodu, potraviny živočišného i rostlinného původu. Podle místa patogenního působení a účinku se *E. coli* rozděluje na intestinální (enteropatogenní) a extraintestinální. Mezi intestinální kmeny způsobující infekce patří **EPEC** (enetropatogenní *E. coli* způsobující novorozenecké průjmy), **ETEC** (enterotoxigenní *E. coli* způsobující cestovatelské průjmy), **EHEC** (enterohemoragické *E. coli*), **EIEC** (enteroinvazivní *E. coli*), **EAEC** (enteroagragativní *E. coli*) a **DAEC** (difúzně adherentní *E. coli*). Tato klasifikace je založena na přítomnosti různých faktorů virulence a způsobu interakce s hostitelskou buňkou (Levine, 1987).

Escherichia coli kromě průjmových onemocnění a sepse způsobuje také pneumonii, kolitidu, enteritidu, pyelitidu (Cupáková et al., 2011).

9.6.1 Laboratorní diagnostika

Kultivačně je *Escherichia coli* nenáročná. Na krevním agaru tvoří velké šedé kolonie. Na Endově půdě (selektivně diagnostická půda pro střevní bakterie obsahující laktózu) zkvašuje laktózu a má kovový lesk, kolonie jsou zbarveny do tmavě fialové barvy. Na XLD agaru (půda pro záchyt patogenních střevních bakterií obsahující laktózu, lyzin, xylózu a sacharózu) tvoří intenzivně žluté kolonie. Na MacConkeyho agaru (MCA) tvoří růžovočervené kolonie (Zahradníček, 2012).

Escherichia coli se může dále laboratorně identifikovat pomocí biochemické aktivity. Při těchto postupech se pracuje s mnoha testy prokazujícími produkci enzymů a dalších biochemických látek. Podle spektra výsledků je pak softwarem vyhodnocena identifikace daného kmene. Testy jsou prováděné buď ve zkumavkách, nebo komerčními kity (např. Enterotest) (Votava et al., 2000).

Pro včasnou identifikaci bakteriálních původců při septických stavech je vhodné provést stanovení pomocí systému MALDI-TOF MS, který je založen na hmotnostní spektroskopii. Tato metoda nám umožňuje zjistit bakteriálního původce hned první den po naočkování materiálu na příslušnou kultivační půdu (Kolář, 2016).

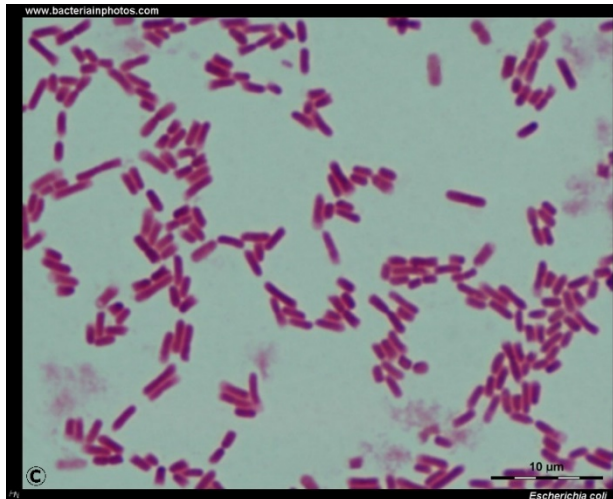
Obrázek č. 8: *E. coli* ve světelném mikroskopu po Gramově barvení, zvětšení 1000x

Obrázek č. 9: *Escherichia coli* v elektronovém mikroskopu

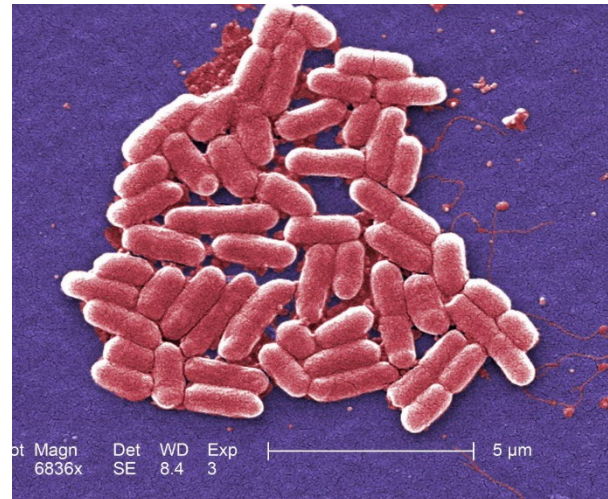
Obrázek č. 10: *Escherichia coli* na krevním agaru

Obrázek č. 11: *Escherichia coli* na Endově půdě

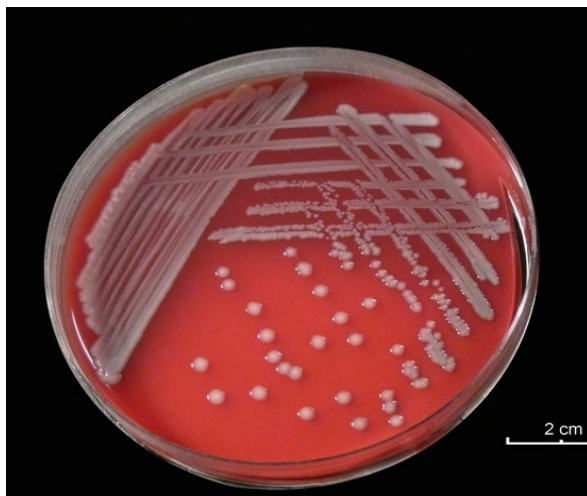
Obrázek č. 8



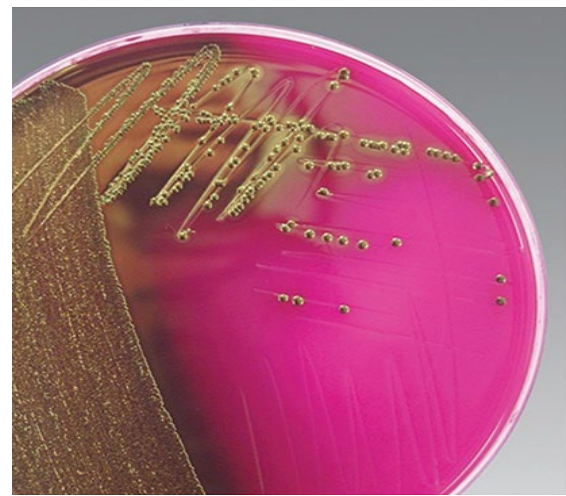
Obrázek č. 9



Obrázek č. 10



Obrázek č. 11



Zdroj: <http://www.bacteriainphotos.com/Escherichia%20coli%20light%20microscopy.html>

Zdroj: <https://www.eurekalert.org/multimedia/pub/86125.php>

Zdroj: <https://microbenotes.com/escherichia-coli-e-coli/>

Zdroj: <https://microbenotes.com/endo-agar/>

PRAKTICKÁ ČÁST

10. CÍL PRÁCE

Cílem praktické části bylo zjištění přítomnosti a spektra druhů bakterií, případně kvasinek, v pozitivních hemokulturách vyšetřovaných na Ústavu mikrobiologie Fakultní nemocnice Plzeň v období tří měsíců roku 2020 (červenec, srpen, září). Dalším cílem bylo zpracování těchto dat. Kromě typu a množství infekčního agens jsem sledovala také pohlaví pacienta, věk, počet použitých hemokultivačních lahviček a oddělení, ze kterého byl vzorek přijat.

10.1 Hypotézy

Hypotéza č. 1: Pozitivní hemokultivace je více než v 50 % všech vyšetřených vzorků.

Hypotéza č. 2: Nejčastěji detekovaným agens jsou bakterie ze skupiny koaguláza negativních stafylokoků.

Hypotéza č. 3: Nejvíce pozitivních hemokultivací (vztaženo k celkovému počtu vzorků) je z oddělení hematoonkologie.

11. CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU

Pro téma mé bakalářské práce jsem zvolila kvantitativní typ výzkumu, který vedl ke shromáždění výsledků a potvrzení či vyvrácení hypotéz. Vyšetřovaný soubor dat pochází z Ústavu mikrobiologie FN Plzeň (ÚM FN v Plzni). Vzhledem k velkému množství pozitivních hemokultur jsem se zaměřila pouze na období tří měsíců roku 2020, a to červenec, srpen a září.

Byla analyzována data výsledků všech hemokultivačních vyšetření provedených ve výše zmíněném časovém období na daném pracovišti. Vzorke pocházely z lůžkových zařízení FN.

12. METODIKA PRÁCE

12.1 Materiál

Primárním materiálem pro tento druh bakteriologického vyšetření je krev. Odběr krve je proveden venepunkcí periferní žíly nebo můžeme krev získat z katetru. Krev se odebírá za přísně aseptických podmínek a přímo u pacienta se aplikuje ze stříkačky do hemokultivačních lahvíček. Lahvičky jsou následně vkládány do automatizovaného kultivačního systému, v případě ÚM FN v Plzni do přístroje BacT/ ALERT VIRTUO. Výsledek hemokultivace potvrdí či vyvrátí přítomnost bakterií či hub ve vzorku.

12.2 Preanalytická část

12.2.1 Odběr vzorku

Vzorky krve (hemokultury) byly odebrány na lůžkových oddělení FN v Plzni podle doporučených postupů platných pro FN v Plzni uvedených v Laboratorní příručce ÚM FN v Plzni (Amlerová, 2020).

12.2.1.1 Doporučení pro odběr hemokultur ve FN Plzeň

Doporučení pro odběr hemokultur pro všechna klinická oddělení FN Plzeň je uvedeno v Laboratorní příručce ÚM FN v Plzni (Amlerová, 2020). Podle něho se u dospělých aplikuje 8–10 ml krve, u dětí 1–2 ml (podle hmotnosti). U katérové sepse je nutno odebrat krev do jedné sady lahvíček (z katetru) a do 1–2 sad z periferie, u akutní sepse je potřeba odebrat venepunkcí do 2–3 sad, u akutní endokarditidy 3 sady s delší časovou prodlevou (1–2 hodiny) a u horečky neznámého původu se odebírá krev do 2–3 sad. Lahvičky je nutno řádně označit identifikačním štítkem, který obsahuje jméno, rodné číslo, datum odběru, oddělení, ze kterého je vzorek posílán, a pořadí, v jakém byly lahvičky odebrány. K dispozici je pět druhů hemokultivačních lahvíček. Každá má jiné složení tekuté kultivační půdy z důvodu lepšího záchytu různě náročných bakterií. Díky této rozmanitosti můžeme detekovat mikroorganismy aerobní, anaerobní, fakultativně anaerobní nebo mikromycety.

Podle Laboratorní příručky ÚM FN v Plzni

„Indikace a časování odběru:

akutní sepse: 2–3 sady z různých venepunkcí během 15 min.

akutní endokarditida: 3 sady ze 3 venepunkcí během 1–2 hodin

subakutní endokarditida: 3 dtto, jsou-li do 24 hod. negativní, ještě jednou opakujeme

horečka neznámé etiologie: 2–3 sady (1hodinové intervaly), v případě negativity a pokud nebyla podána antibiotika opakovat za 24 hod.

katérová sepse: 1 sada z katétru a 1–2 sady z periferie

Odběrová souprava: *Odběrové lahvičky BACT/ALERT – aerobní, anaerobní, a mykologická, pediatrická. Za jednu sadu je považováno 2–6 lahviček s různými kultivačními médii podle potřeby. Obvykle se používají 2–3 aerobní a 2–3 anaerobní lahvičky. U dětí zpravidla 1 pediatrická lahvička.*

Vlastní provedení odběru: *dezinfekce gumové zátky lahvičky alkoholem, dezinfekce místa venepunkce – 70% alkohol, pak tamponem s iodoforem (Betadinem) koncentricky od místa venepunkce. Nechat důkladně zaschnout. Po zaschnutí již nepalpovat v místě vpichu a odebrat 8–10 ml do každé lahvičky (u dětí 1–2 ml, event. více podle hmotnosti). Nutná zkušenost personálu a dodržování postupu při dezinfekci kvůli nebezpečí kontaminace a následných chybných výsledků. Odběr hemokultur provádíme vždy před nasazením (nebo změnou v případě neúspěšné dosavadní terapie) antibiotik. Odebíráme minimálně 2 sady.*

Hemokultury – Strategie odběru u dospělých:

Jednorázový odběr z jedné venepunkce – z periferie, vždy minimálně 2 sety (4 lahvičky – celkem 40 ml), optimálně 3 sety (6 lahviček – 60 ml), 1 set – 1 aerobní a 1 anaerobní lahvička

Odběr z CŽK – 1 pár v případě podezření na katérovou infekci + 2 páry z periferie (z jednoho odběru)

Infekční endokarditida: dosud platí tradiční způsob odběru 3 samostatných párů hemokultur“

12.2.2 Transport vzorku

Hemokultivační lahvičky byly ihned po odběru doručeny do bakteriologické laboratoře ÚM FN. Pokud to nebylo z provozních důvodů možné, byly na nezbytně dlouhou dobu uloženy na oddělení při pokojové teplotě.

12.2.3 Příjem vzorku v laboratoři

Při příjmu lahviček do laboratoře se nejprve zkontrolovaly informace na hemokultivační lahvičce a na průvodce, zda jsou všechny údaje shodné. Každé lahvičce

bylo přiděleno laboratorní protokolové číslo, které bylo zapsáno do laboratorního informačního systému (LIS).

12.3 Analytická část

Vlastní provedení začíná vložení lahvičky do automatizovaného kultivačního systému. Lahvičky sledovaného souboru byly vyšetřovány v systému (přístroji) BacT/ALERT VIRTUO.

12.3.1 Pozitivní nález

Po vyndání pozitivní lahvičky z přístroje je nutno ji protřepat. Zátka na lahvičce byla dezinfikována 70% alkoholem, injekční stříkačkou se nasála krev z lahvičky pro další zpracování. Dezinfekce zátky a nasátí krve injekční stříkačkou z hemokultivační lahvičky probíhalo v laminárním boxu. Lahvička byla následně uschována do doby ukončení kultivace.

Krev z injekční stříkačky se vyočkovala na kultivační půdy a zhotovil se mikroskopický preparát, který byl následně barven dle Grama.

Do laboratorní knihy s názvem „Pozitivní hemokultury“ se zapsalo číslo pozitivní lahvičky a pacientova data. Zápis těchto údajů se provedl také do LIS.

Očkování na pevné půdy

Krev nanesená na pevnou půdu se pomocí sterilní bakteriologické kličky rozočkovala po celé ploše půdy rychlými rovnoběžnými pohyby, dále se půda nechala inkubovat v termostatu při 37 °C na 24 nebo 48 hodin. Krev se vyočkovala na krevní agar a Endovu půdu. V případě, kde bylo podezření na anaerobní agens, se použila Fortnerova půda, kde bylo podezření na mykotickou etiologii půda Sabouraudova. Při podezření na patogenní neisserii nebo hemofily se používal čokoládový agar, který se nechal inkubovat 48 hodin při 37 °C a v prostředí s 5–10 % CO₂.

Obrázek č. 12: Technika rozočkování kmene na pevné půdě

Obrázek č. 12



Zdroj: vlastní

Mikroskopický průkaz

Z lahvičky byl zhotoven mikroskopický preparát, který byl dále barven dle Grama. Vzniklý preparát se po zaschnutí mikroskopoval pomocí optického mikroskopu, imerzního oleje a objektivu s 1000 x zvětšením.

Test citlivosti

Po zhodnocení mikroskopického preparátu lékařem nebo jiným vysokoškolským pracovníkem byl proveden přímý test citlivosti na antibiotika, volba zpracování podle typu mikroskopicky prokázaných mikrobů. Standardně byla volena disková difuzní metoda, diluční metoda pro zjištění minimální inhibiční koncentrace nebo gradientová metoda E-testem. V případě potřeby byla stanovena podrobnější citlivost z izolovaných bakterií.

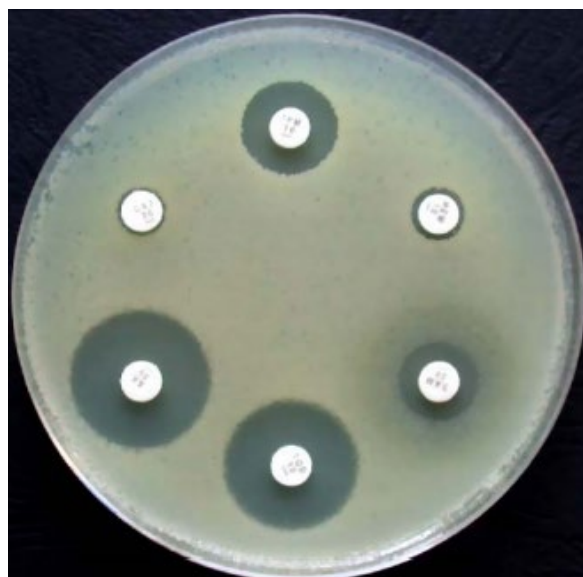
Obrázek č. 13: E-test, zjištění minimální inhibiční koncentrace antibiotik

Obrázek č. 14: Diskový difúzní test (viditelná inhibiční zóna v okolí papírových disků)

Obrázek č. 13



Obrázek č. 14



Zdroj: <https://www.rapidmicrobiology.com/news/etest-bringing-on-scale-mic-determination-to-all-microbiology-labs>

Zdroj: http://mikrobiologie.lf3.cuni.cz/bak/vseob/P2v/ATB_vs.pdf

Lékař či jiný vysokoškolský pracovník ihned nahlásil pozitivitu hemokultury ošetřujícímu lékaři s doporučením na vhodnou antibiotickou léčbu. Opět se vše zapsalo do knihy „Pozitivní hemokultury“ a do LIS. Následující den se hodnotila kultivace a test citlivosti.

Identifikace

V případě, že nárůst kmene byl v den positivity hemokultury dostatečný, ještě tentýž den se provedla identifikace kmene pomocí hmotnostní spektrometrie na přístroji MALDI-TOF MS. Jedná se o rozdělení nabitých částic podle jejich molekulové hmotnosti v magnetickém či elektrickém poli za přítomnosti matrice v kombinaci s detekcí doby letu. Pomocí této metody jsme schopni přesné a rychlé identifikace bakterií, plísní nebo kvasinek izolovaných z biologického materiálu.

12.3.2 Negativní nález

V případě, že přístroj po kultivaci vyhodnotil hemokultivační lahvičku jako negativní, lahvička byla po vyndání z přístroje zlikvidována do odpadu. Opět byl proveden zápis do LIS s hodnocením, že výsledek hemokultury je negativní.

Můžeme se však setkat i se situací, že hemokultivační lahvička byla přístrojem vyhodnocena jako pozitivní, ale po jejím zpracování vyšla mikroskopie negativní. V tomto případě se kontrolovala růstová křivka v přístroji BacT/ALERT VIRTUO a lahvička byla vrácena do přístroje, kde se lahvička dále kultivovala. Po vrácení lahvičky do přístroje bylo důležité vymazat předchozí údaje o tom, že lahvička byla pozitivní a do červeného komentáře se napsal důvod vrácení. Kultivace lahvičky byla pak ukončena po uplynutí doby kultivace nebo při hlášení, že lahvička byla opět pozitivní.

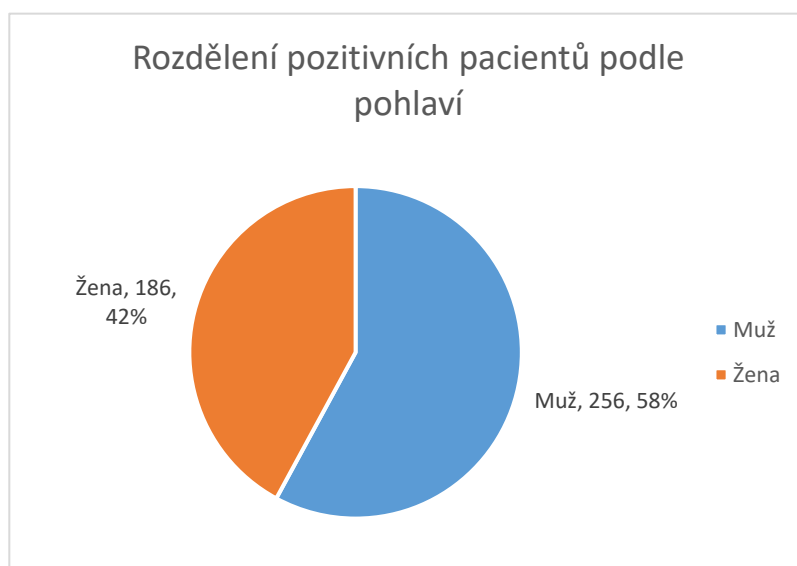
13. VÝSLEDKY

13.1 Výsledky vyšetřovaného souboru

V roce 2020 v období červenec, srpen, září bylo ve FN Plzeň v mikrobiologické laboratoři diagnostikováno 442 pacientů s pozitivními výsledky hemokultur (počet pozitivních lahvíček byl 1110, tj. 13,3 % z celkového počtu 8345). U pacientů se objevilo přes 60 různých druhů mikroorganismů. Dohromady bylo tedy po dobu 3 měsíců diagnostikováno v pozitivních hemokulturách 485 mikroorganismů. Pacienti pocházeli z různých nemocničních oddělení jako například z chirurgie, infekčního oddělení, z interních oddělení, z kliniky anesteziologie, resuscitace či z dětských oddělení jako jsou neonatologie a dětská klinika.

13.1.1 Rozdělení výsledků sledovaného souboru

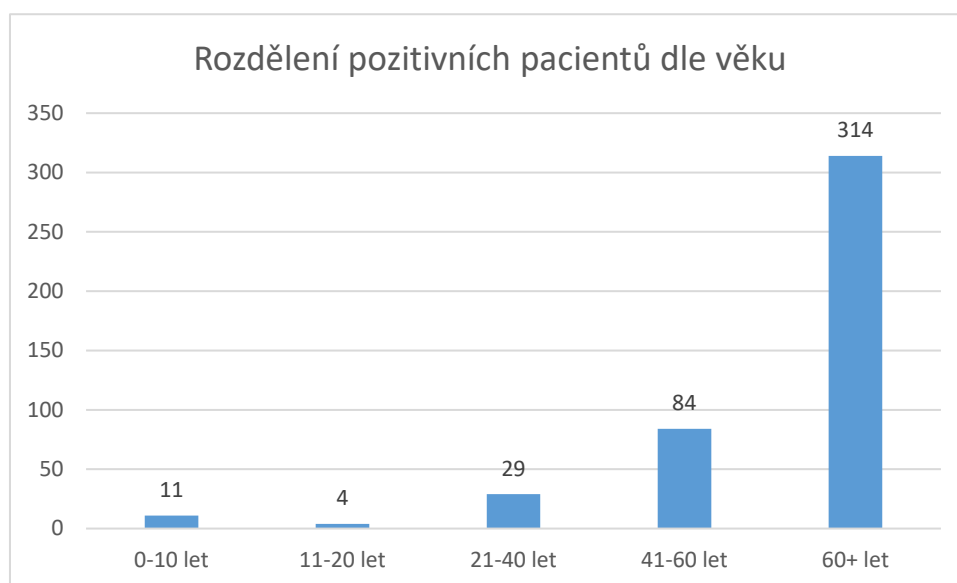
Graf č. 1: Rozdělení pozitivních pacientů podle pohlaví



Zdroj: vlastní

V intervalu 3 měsíců se pozitivní výsledek diagnostikoval u 186 žen a 256 mužů. Procentuálně bylo tedy pozitivních 42 % žen a 58 % mužů. Nejmladší pacient byl ve věku do 1 roku, nejstarší pacientka ve věku 95 let.

Graf č. 2: Rozdělení pozitivních pacientů dle věku



Zdroj: vlastní

Nejvíce pozitivních pacientů bylo ve věkovém rozmezí 60 a více let. V této věkové skupině bylo 314 pacientů. Naopak nejméně pozitivních pacientů bylo ve věku od 11 do 20 let. Jednalo se pouze o 4 pacienty.

Graf č. 3: Počet pozitivních hemokultivačních lahvíček v období 3 měsíců



Zdroj: vlastní

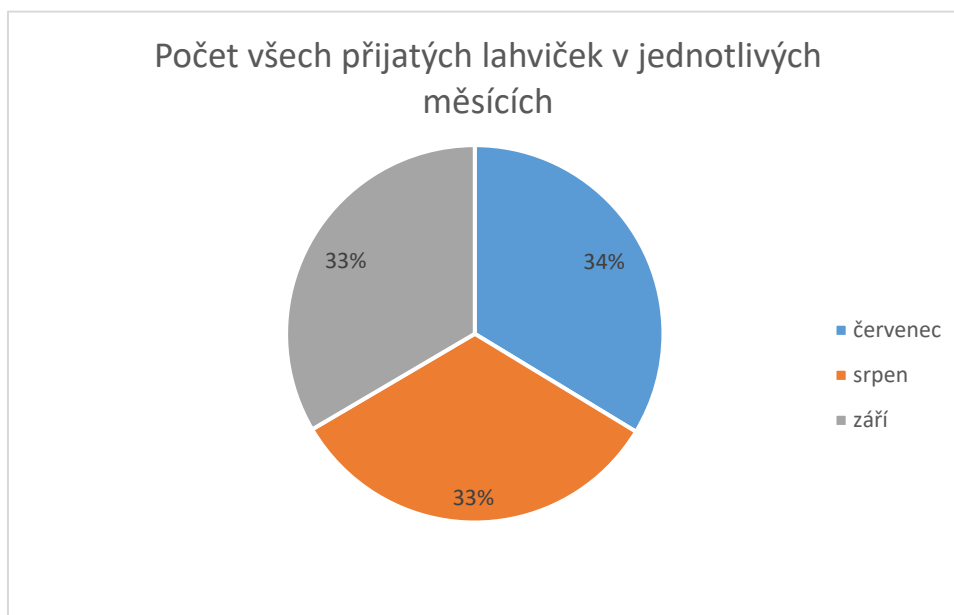
Za období 3 měsíců roku 2020 ve FN Plzeň vyšlo 1110 pozitivních hemokultivačních lahvíček. Jednalo se o 551 aerobních, 541 anaerobních a 18 pediatrických.

Tabulka č. 7: Celkový počet přijatých lahviček v ÚM FN v Plzni

Období	Počet lahviček (pozitivní + negativní)
Červenec	2811
Srpen	2742
Září	2792

Celkem bylo diagnostikováno 8345 lahviček (pozitivní + negativní). V červenci roku 2020 prošlo laboratoří 2811 lahviček, v srpnu 2742 a v září 2792.

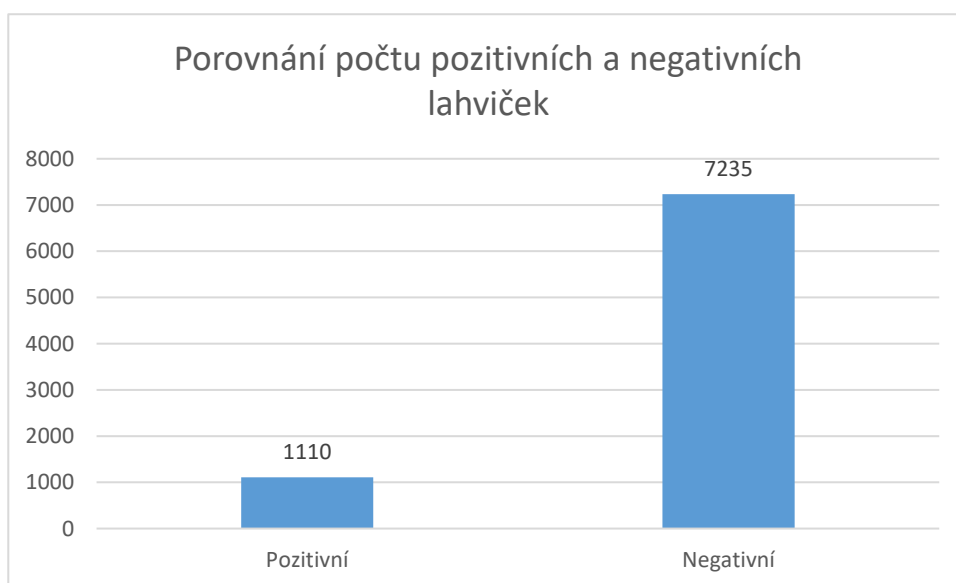
Graf č. 4: Porovnání počtu všech lahviček v jednotlivých měsících



Zdroj: vlastní

Do laboratoře bylo přijato v jednotlivých měsících podobné množství lahviček.

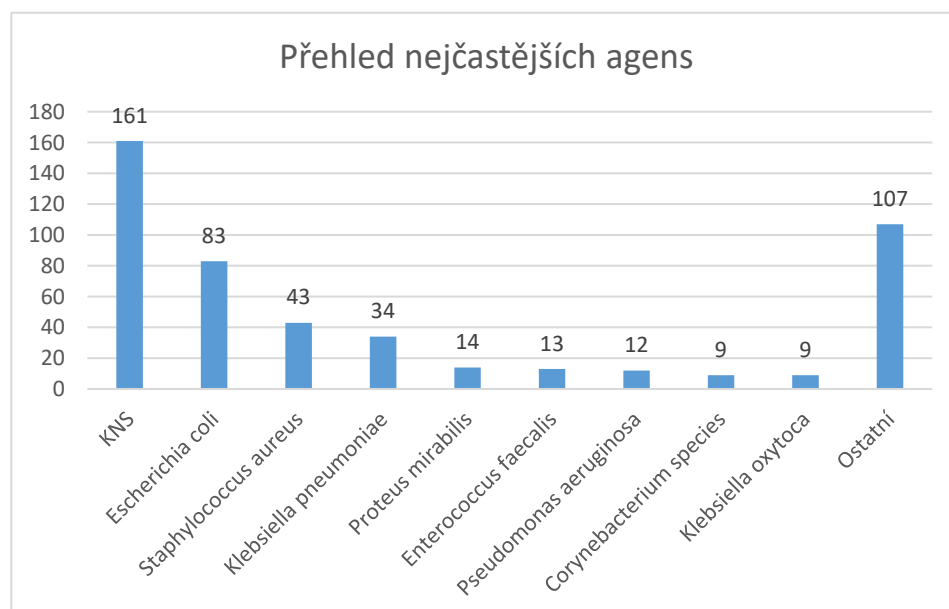
Graf č. 5: Porovnání počtu pozitivních a negativních lahviček



Zdroj: vlastní

Za období 3 měsíců bylo do laboratoře přijato 1110 pozitivních lahviček a 7235 negativních.

Graf č. 6: Přehled nejčastějších mikroorganismů v pozitivních hemokulturách

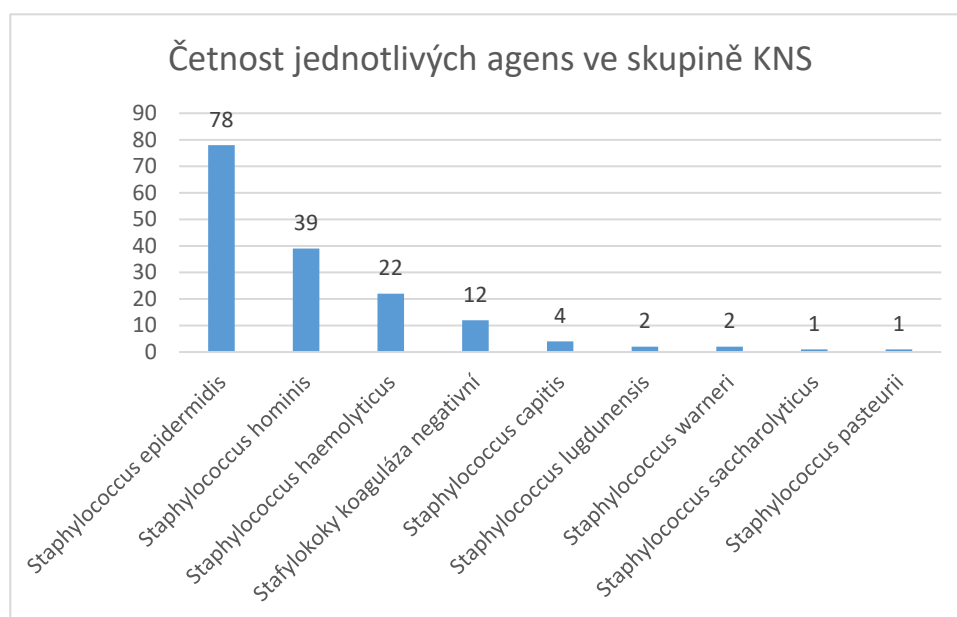


Zdroj: vlastní

Nejčastěji se vyskytující mikroorganismy v pozitivních hemokulturách patří do skupiny koaguláza negativní stafylokoky (KNS). Jako další nejčastější agens se vyskytovala *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* a *Klebsiella pneumoniae*.

Do skupiny ostatních mikrobů, kteří se nacházeli v pozitivních hemokulturách, patří mikrobi jako *Bacillus cereus*, *Bacillus species*, *Salmonella enteritidis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus viridans*, *Corynebacterium species*, *Enterococcus hirae* a *gallinarum*, *Acinetobacter baumannii* či *Morganella morganii*. V pěti případech se dokonce jednalo o kvasinku *Candida albicans*.

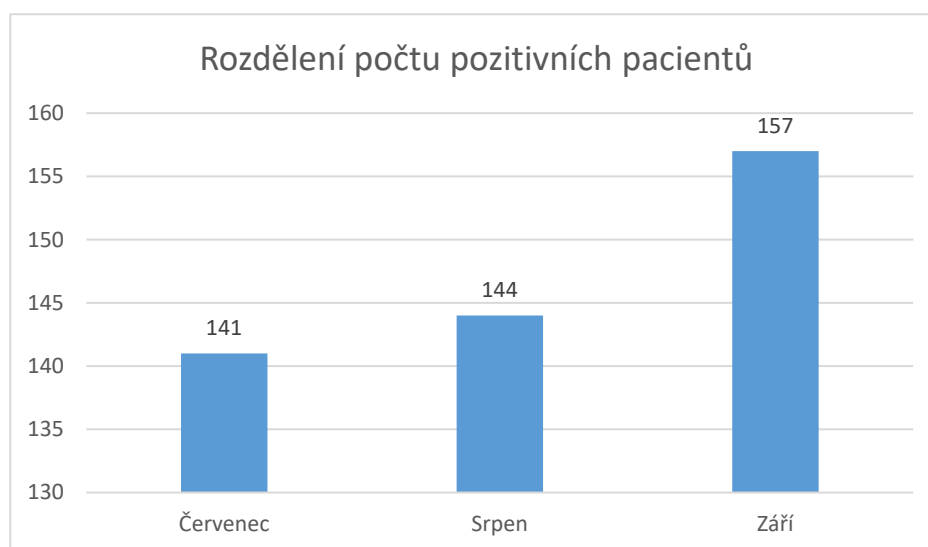
Graf č. 7: Četnost jednotlivých agens ve skupině KNS



Zdroj: vlastní

Z grafu č. 7 lze vyčíst, že nejčastěji ve skupině koaguláza negativních stafylokoků se nejčastěji vyskytoval *Staphylococcus epidermidis*. Jako další nejčastěji se vyskytující se umístil *Staphylococcus hominis* a *Staphylococcus haemolyticus*. Mezi jednotlivými agens je zařazena skupina koaguláza negativních stafylokoků. Jde o bakterie, které se řadí do skupiny KNS, ale dále již nebyl určen specifický druh.

Graf č. 8: Rozdělení počtu pozitivních pacientů do jednotlivých měsíců



Zdroj: vlastní

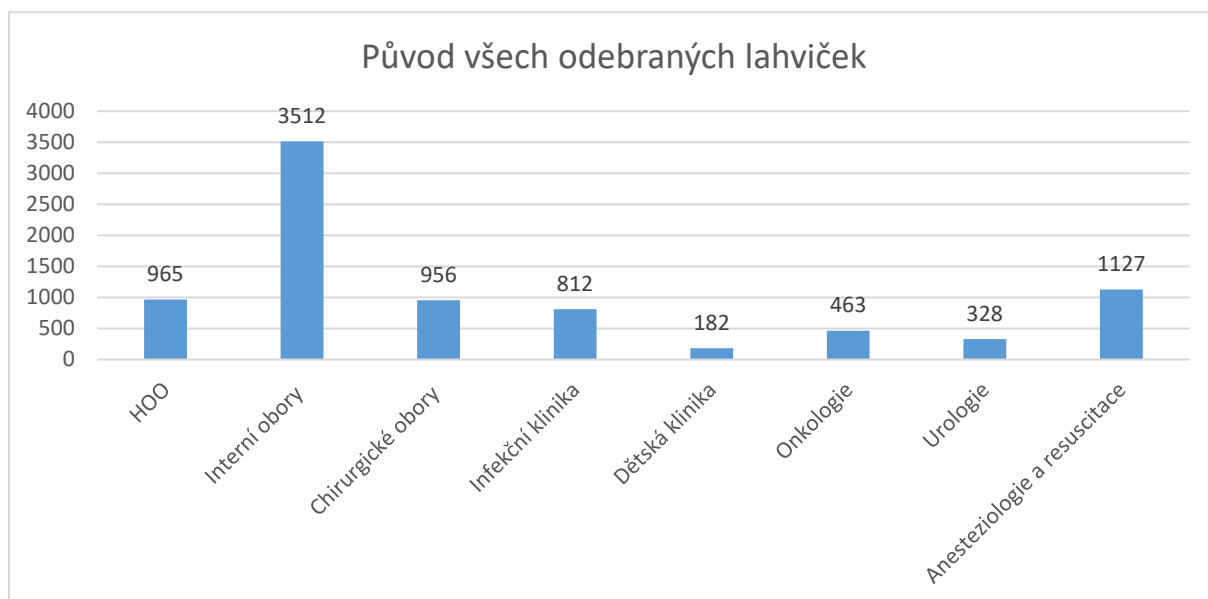
V červenci roku 2020 bylo ve FN Plzeň diagnostikováno nejméně pozitivních pacientů ze všech tří měsíců, a to 141. V srpnu jich bylo 144 a v září 157.

Tabulka č. 8: Celkový počet odebraných lahvíček v období 3 měsíců roku 2020

Oddělení	Počet lahvíček		
	Pozitivní	Negativní	Celkem
Hematoonkologické oddělení	67	898	965
Interní obory (interna, neurologie, pneumologie, LDN, geriatric...)	458	3054	3512
Chirurgické obory (chirurgie, ortopedie, kardiochirurgie, neurochirurgie, ORL, gynekologie...)	147	809	956
Infekční klinika	59	753	812
Dětská klinika	13	169	182
Onkologie	40	423	463
Urologie	71	257	328
Anesteziologie a resuscitace	255	872	1127

Zdroj: ÚM FN v Plzni

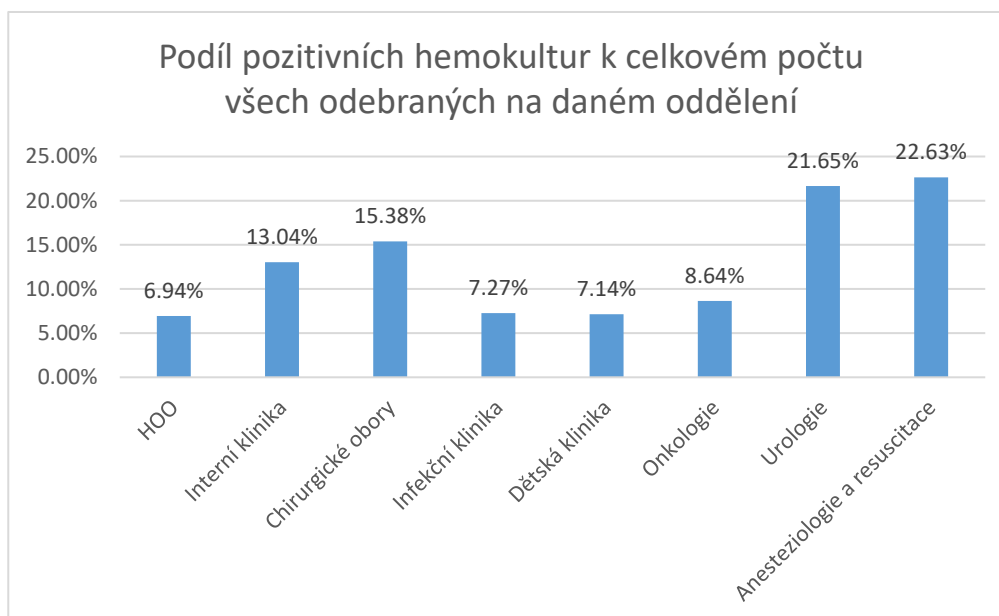
Graf č. 9: Původ všech odebraných lahviček v období 3 měsíců roku 2020



Zdroj: vlastní

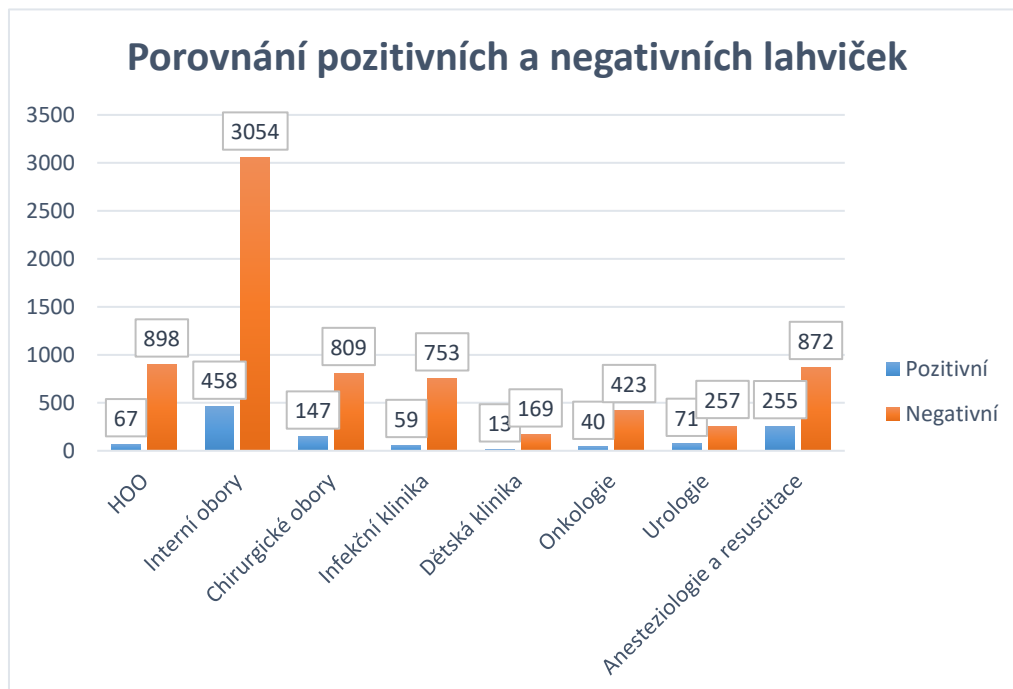
Nejvíce lahviček z období červenec, srpen a září roku 2020 pocházelo z interních oborů. Velké množství lahviček pocházelo také z anesteziologie a resuscitace.

Graf č. 10: Podíl pozitivních hemokultur k celkovému počtu všech odebraných na daném oddělení



Zdroj: vlastní

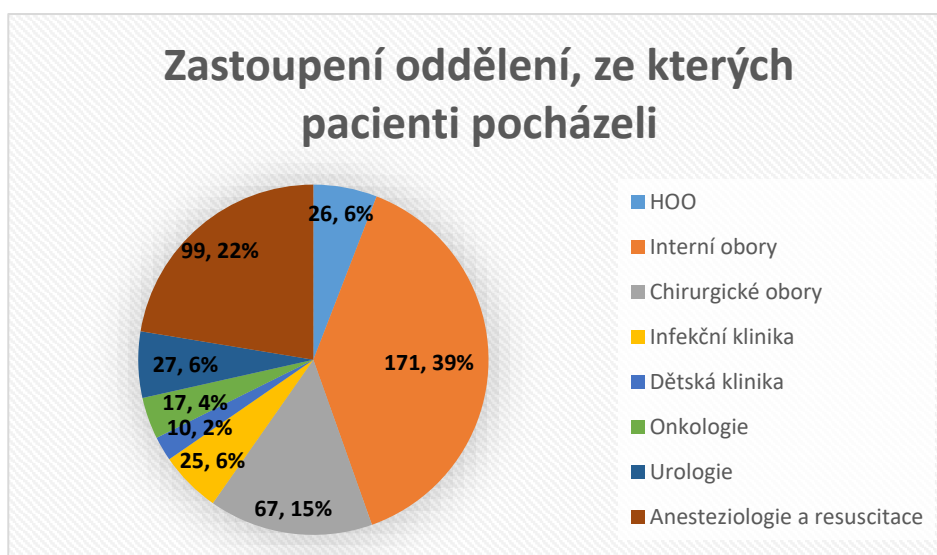
Graf č. 11: Porovnání všech pozitivních a negativních lahviček přijatých v období tří měsíců roku 2020



Zdroj: vlastní

Nejvíce hemokultur pocházelo z interních oborů, dále z anesteziologie a resuscitace. Nejméně lahviček pocházelo z dětské kliniky.

Graf č. 12: Zastoupení oddělení, ze kterých pacienti pocházeli



Zdroj: vlastní

Nejvíce pacientů (39 %) pocházelo z oddělení interních oborů. Dále nejvíce pacientů (22 %) pocházelo z oddělení anesteziologie a resuscitace. Naopak nejméně pacientů pocházelo z dětské kliniky (2 %).

14. Diskuze

Téma této bakalářské práce bylo zaměřeno na původce septických onemocnění u člověka. Důvodem výběru tohoto tématu bylo setkání mé velmi blízké osoby se syndromem toxického šoku. Chtěla jsem se dozvědět bližší informace spojené s tímto onemocněním.

Důležitou součástí mé bakalářské práce je zpracování hemokultur a diagnostika mikroorganismů. Teoretická část je zaměřena na pojmy spojené se sepsí a septickým šokem, rizikové faktory, hemokultury, původce onemocnění a léčbu. V praktické části jsem zjistila, kolik bylo přijato hemokultivačních lahvíček v ÚM FN v Plzni roku 2020 v období červenec, srpen a září. Dále jsem zjistila, z jakých oddělení nejčastěji byly hemokultury přijaty a také to, jaký mikroorganismus byl v hemokultuře přítomen. Vše jsem zaznamenala do přehledných grafů a tabulek v rámci přehledného vyhodnocení výsledků.

Do své praktické části jsem použila výsledky z Fakultní nemocnice v Plzni. Jednalo se konkrétně o 442 pozitivních pacientů. Důležité u vyhodnocování výsledků bylo nezaměňovat počet pacientů a počet přítomných agens. U 36 pacientů (18 žen a 18 mužů) byl totiž nalezen více než jeden druh mikroorganismu.

U 29 pacientů byly prokázány dva různé druhy agens, u 7 pacientů dokonce tři druhy. Pouze v jednom případě se jednalo o více agens v jedné pozitivní hemokultivační lahvičce. U tohoto pacienta byl prokázán mikrob ze skupiny koaguláza negativních stafylokoků, který nebyl dále dourčen, a *Corynebacterium species*. V ostatních 35 případech se jednalo o 2–8 lahviček. Dohromady u těchto 36 pacientů bylo použito 72 aerobních a 69 anaerobních lahviček. Zde nebyla použita žádná pediatrická hemokultivační lahvička. U jednoho pacienta se vyskytovalo více mikrobů v jedné lahvičce. Je dost pravděpodobné, že došlo ke kontaminaci vzorku.

Drozenová a Petráš ve svém článku v časopise Epidemiologie, mikrobiologie a imunologie uvedli, že při diagnostice bakterií KNS v jejich sledovaném souboru bylo největší množství bakterií zastoupeno v pořadí *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis* a *Staphylococcus haemolyticus*. Stejně pořadí výskytu těchto bakterií ze skupiny KNS bylo i v mém sledovaném souboru v období 3 měsíců v ÚM FN v Plzni. Tyto kmeny jsou podmíněně patogenní způsobující onemocnění u slabších osob a vyvolávají nejčastěji infekce krevního řečiště či katéetrové sepsy.

Po zpracování všech výsledků jsem vyvrátila hypotézu č. 1. Ve sledovaném období bylo pozitivních hemokultur 13,3 % z celkového počtu.

Díky zpracování získaných dat jsem potvrdila hypotézu č. 2 a to, že nejčastěji detekovaným agens jsou bakterie ze skupiny koaguláza negativních stafylokoků.

Nejvíce pozitivních hemokultivací (vztaženo ke všem hemokultivacím z daného oddělení) pocházelo z oddělení anesteziologie a resuscitace. Z celkových 1127 hemokultivací jich bylo 255 pozitivních (22,63 %). Díky tomu jsem vyvrátila hypotézu č. 3, která zněla, že nejvíce pozitivních hemokultivací pochází z oddělení hematoonkologie. U hematoonkologických pacientů se předpokládá, že díky své snížené obranyschopnosti bude vysoké riziko výskytu mikrobů v organismu. Z oddělení hematoonkologie pocházelo z celkových 965 hemokultur bylo pouze 67 pozitivních. (6,94 %).

Počet vyšetření hemokultur byl rovnoměrný v každém měsíci. Po zpracování údajů mohu potvrdit, že pohlaví nemá u pacienta vliv na pozitivní výsledek hemokultur. Také jsem zjistila, že s rostoucím věkem roste riziko výskytu mikroorganismů v krvi. Důvodem je snížená obranyschopnost, stárnutí organismu nebo výskyt více nemocí najednou. S věkem stoupá tedy incidence sepse.

Druhým nejčastěji se vyskytujícím agens ve sledovaném období roku 2020 byla *Escherichia coli*. Tato bakterie způsobuje kromě sepse a pneumonie také řadu onemocnění jako třeba močové infekce. Důvodem velkého výskytu této bakterie v pozitivních hemokulturách může být například u žen usnadněný přístup bakterií do močové trubice díky krátké vzdálenosti od gynekologických cest či konečníku (Matoušková, 2005). Dalším důvodem výskytu *E. coli* může být také i špatná hygiena, kontaminovaná voda či potravina.

15. ZÁVĚR

Septická onemocnění jsou jedny z nejzávažnějších onemocnění, se kterými se můžeme setkat. S problematikou sepse a septických stavů se potýkají lékaři i pacienti po celém světě.

Cílem této bakalářské práce bylo seznámení se sepsí jako takovou a příbuznými pojmy. Dalším cílem bylo zpracování vzorků hemokultur, diagnostika patogenů z pozitivních hemokultivačních lahvíček a zpracování zjištěných informací do tabulek a grafů.

Výsledkem mé bakalářské práce bylo potvrzení jedné hypotézy a vyvrácení dvou.

Šetření jsem prováděla v mikrobiologické laboratoři ve Fakultní nemocnici Plzeň. Zjistila jsem, že za pouhé 3 měsíce bylo diagnostikováno 442 pacientů s pozitivními hemokulturami.

Hemokultivace patří mezi nejdůležitější diagnostické postupy v mikrobiologii. Odběr hemokultur je snadný a pro pacienta nezatěžující způsob vyšetření. Důležitá je spolupráce mezi klinickým lékařem a mikrobiologem. Díky této spolupráci a včasnou diagnostikou se může například urychlit výběr antibiotické léčby a zlepšit stav pacienta. Pacient v život ohrožujícím stavu tak má větší šanci na zotavení.

Seznam použité literatury

Citovaná literatura

1. **Aryal, Sagar.** Microbiologyinfo.com. [Online] 12. Duben 2019. <https://microbiologyinfo.com/optochin-susceptibility-test-for-the-identification-of-streptococcus-pneumoniae/>.
2. **Bednář, Marek.** *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie a parazitologie.* Praha : Marvil, 1996. 80-238-0297-6.
3. **Eltwisy, Hala O.** Pathogenesis of Staphylococcus haemolyticus on primary human skin fibroblast cells. *www.tandfonline.com.* [Online] 30. srpen 2020. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21505594.2020.1809962>.
4. **Holub, M.** infekce.cz. *Nová definice sepse.* [Online] 19. září 2016. <https://www.infekce.cz/zprava16-24.htm>.
5. **Chmelík, Václav.** *Sepse aneb pohádka o špatně vedené válce.* České Budějovice : Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita.
6. **Karel Novák, Zdeněk Chudáček, Čestmír Neoral a kol.** *Infekce v chirurgii, miniinvazivní radiodiagnostické a chirurgické trendy a další aktuální pohledy.* Praha : GRADA Publishing, 2001. 80-247-0229-0.
7. **Kolář, Milan.** Sepse z pohledu klinické mikrobiologie. *Klinická Farmakologie a Farmacie.* 30, 2016, Sv. 3, 29-32.
8. **Levine, Myron M.** The Journal of Infectious Diseases. *Pubmed.gov.* 1. březen 1987, Sv. 155, 3.
9. **Reports, Pharma and Biotech Industry.** *Klinicky významné bakterie.* Praha : Triton, 2012. 978-80-7387-588-6.
10. **Sapkota, Anupama.** <https://microbenotes.com/staphylococcus-hominis/>. <https://microbenotes.com/>. [Online] 9. prosinec 2020.
11. **Sedláček, Petr.** Terapie invazivních mykotických infekcí u imunosuprimovaných pacientů. *Solen, Onkologie.* 2, 2008, Sv. 3, 186-190.

12. **Šárka Cupáková, Lenka Necidová, Renata Karpíšková.** STEC – Shiga-like toxigenní *Escherichia coli*. *Bakteriální původci alimentárních onemocnění*. [Online] CIT VFU Brno, 2011. <https://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/>.
13. **Drozenová, J.** Vlastnosti koaguláza-negativních stafylokoků izolovaných z hemokultur. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie*. 2000, Sv. 51-58, 2.
14. **Adámková, Václava.** Antibiotická léčba. *Medicína pro praxi*. 12, 2015, Sv. 5, 227-230.
15. **Beroušek, Jan.** *Sepse*. Praha : Institut postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví, 2018. <https://www.ipvz.cz/vzdelavaci-akce/dokumenty/11059-mudr-berousek-sepse-2018sepse-3-top-pp.pdf>.
16. **Miroslav Průcha, M. Fedora, E. Kieslichová.** *Sepse*. Praha : Maxdorf, 2015. 978-80-7345-448-7.
17. **Roháčová, Hana.** Meningokokové infekce. *Remedia*. 24, 2014, Sv. 5, 407-410.
18. **Vilímovský, Michal.** cs.medlicker. [Online] 30. září 2019. <https://cs.medlicker.com/1673-otrava-krve>.
19. **Kolář, Milan.** *Sepse z pohledu mikrobiologa*. [online] Olomouc : Ústav mikrobiologie LF UP a FNOL, 2014-2015. http://old.lf.upol.cz/fileadmin/user_upload/LF-kliniky/mikrobiologie/dokumenty/2014-2015/Sepse_z_pohledu_mikrobiologa.pdf.
20. **Adámková, Václava.** *Racionální terapie komplikovaných infekcí z pohledu mikrobiologa*. [online] Praha : Klinická mikrobiologie a ATB centrum VFN, 2010. <https://el.lf1.cuni.cz/atbterapiezaklad/>.
21. **Lochmannová, Jindra.** *Problematika nejčastějších infekcí ve vnitřním lékařství*. [online] Olomouc : Interní medicína pro praxi, SOLEN, 2006. <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2006/03/08.pdf>.
22. **Drnková, Barbora.** *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie a hygiena pro zdravotnické obory*. Praha : Grada Publishing, a.s., 2019. 978-80-271-0693-6.
23. **Amlerová, Jana.** fnplzen.cz. *Laboratorní příručka- mikrobiologie*. [Online] FN Plzeň, 24. červenec 2020. https://www.fnplzen.cz/sites/default/files/dokumenty/lp/sme_8_006.pdf.

24. **Ševčík, Pavel.** *Sepse v intenzivní péči.* Martin : OSVETA, 1993. 80-217-0584-1.
25. **Pavla Křížová, Petr Petráš.** <http://www.szu.cz/tema/prevence/syndrom-toxickeho-soku.szu.cz>. [Online] 29. květen 2012.
26. **J. Mačák, J. Mačáková.** *Patologie.* Praha : GRADA Publishing, 2004. 80-247-0785-3.
27. **Dana Streitová, Renáta Zoubková.** *Prevence sepse v intenzivní péči.* Ostrava : Ostravská univerzita v Ostravě, Lékařská fakulta, 2011. 978-80-7368-830-1.
28. **Dana Streitová, Renáta Zoubková a kol.** *Septické stavy v intenzivní péči.* Praha : Grada Publishing, a.s., 2015. 978-80-247-5215-0.
29. **Motlová, Jitka.** Vyjádření k anginám a nosičství streptokoků skupiny A ve školkách. *szu.cz*. [Online] 13. říjen 2010. <http://www.szu.cz/vyjadreni-k-anginam-a-nosicstvi-streptokoku-skupiny-a-ve-skolkach>.
30. **Jirsa, Roman.** <http://www.klaudianovanemocnice.cz>. [Online] Oddělení klinické mikrobiologie. http://www.klaudianovanemocnice.cz/assets/File.ashx?id_org=427004&id_dokumenty=1665.
31. **Votava, Miroslav.** *Lékařská mikrobiologie- přehled vyšetřovacích metod v lékařské mikrobiologii.* Brno : Illustrations, 2000. 80-210-2272-8.
32. **Čermák, Pavel.** *Mikrobiologická diagnostika infekcí krevního řečiště.* Praha : Maxdorf, 2008. 978-80-7345-142-4.
33. **Bednář, Marek.** *Lékařská mikrobiologie: Bakteriologie, virologie, parazitologie.* Praha : Triton, 2009. 978-80-9028-966-5.
34. **Zahradníček, Ondřej.** *Repetitorium podzimního semestru– diagnostika jednotlivých skupin mikrobů.* [Dokument] Brno : Masarykova univerzita, 2012. https://is.muni.cz/el/med/podzim2013/VLLM0522c/um/35388112/Zahradnickovo_podzimni_repetitorium.pdf.
35. **Votava, Miroslav.** *Lékařská mikrobiologie- vyšetřovací metody.* Brno : Neptun, c2010. 978-80-86850-04-7.

36. **Scharfen, Josef.** *Mikrobiologické vyšetření hemokultur metodou mikroskopickou a kultivační v automatickém a manuálním hemokultivačním systému.* [dokument] 2014.

37. **Matoušková, Michaela.** Terapie infekcí močových cest. *Remedia.* 2005, Sv. 15, 4-5.