

UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD



DIPLOMOVÁ PRÁCE

Současné možnosti laboratorní diagnostiky septických stavů

Bc. Karolína Šimová

Vedoucí diplomové práce: Mgr. Ilona Fátorová

HRADEC KRÁLOVÉ, 2021

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucí mé diplomové práce paní Mgr. Iloně Fátorové za cenné rady, připomínky, odborné vedení a věnovaný čas při zpracování mé práce.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové dne: 5.5.2021

.....

Bc. Karolína Šímová

OBSAH

1.	ABSTRAKT	6
2.	ABSTRACT	7
3.	ÚVOD	8
4.	ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE	9
5.	TEORETICKÁ ČÁST.....	10
5.1	Definice sepse – historie a vývoj.....	10
5.2	Patofyziologie sepse.....	14
5.2.1	Predisponující faktory sepse	16
5.2.2	Původci sepse.....	17
5.3	Klinická diagnostika sepse.....	18
5.4	Laboratorní diagnostika sepse	18
5.4.1	Biomarkery sepse	19
5.4.1.1	Proteiny akutní fáze	21
5.4.1.2	Cytokiny.....	23
5.4.1.3	Povrchové buněčné markery	24
5.4.1.4	Vyšetření krevního obrazu	27
5.4.1.5	Vyšetření hemokoagulace.....	32
5.4.1.6	ICIS skóre	34
5.5	Terapie sepse	38
6.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	40
6.1	Charakteristika vyšetřovaného souboru	40
6.2	Materiál a metody.....	41
6.2.1	Použitý materiál	41
6.2.2	Přístrojové vybavení a vyšetřovací metody	41
6.2.2.1	Hematologický analyzátor.....	41
6.2.2.2	Biochemický analyzátor	43
6.3	Statistické zpracování výsledků měření	44
6.4	Výsledky	44
6.4.1	Analýza závislosti ICIS skóre na výskytu SIRS a sepse	44
6.4.2	Analýza závislosti NLR poměru na výskytu SIRS a sepse	47
6.4.3	Analýza závislosti parametru Ret-He na výskytu SIRS a sepse.....	50

6.4.4	Analýza závislosti parametru PCT na výskytu SIRS a sepse	53
6.4.5	Analýza závislosti CRP na výskytu SIRS a sepse.....	56
6.4.6	Analýza závislosti vztahu IL-6 na výskytu SIRS a sepse	58
7.	DISKUSE	62
8.	ZÁVĚR	66
9.	POUŽITÉ ZKRATKY.....	68
10.	SEZNAM TABULEK	70
11.	SEZNAM OBRÁZKŮ	71
12.	SEZNAM GRAFŮ.....	71
13.	POUŽITÁ LETERATURA.....	72
14.	PŘÍLOHY	82

1. ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Autor: Bc. Karolína Šímová

Vedoucí práce: Mgr. Ilona Fátorová

Název diplomové práce: Současné možnosti laboratorní diagnostiky septických stavů

Cílem diplomové práce je provést rešerši literárních pramenů s tematikou příčin septických stavů, jejich laboratorní a klinické diagnostiky a léčby. Dále také porovnání laboratorních markerů pro časný záchyt sepse a následné statistické vyhodnocení výsledků.

Teoretická část se zabývá historií a vývojem definice sepse, patofyziologií septických stavů, jejich původci, rizikovými faktory a terapií. Dále klinickou i laboratorní diagnostikou, kdy je důraz kladen na popis současně využívaných a potenciálních biomarkerů pro diagnostiku sepse.

V praktické části je provedena statistická analýza závislosti vybraných hematologických parametrů Ret-He, ICIS skóre, NLR poměru a biochemických parametrů PCT, CRP a IL-6 na výskytu sepse či SIRS u sledované skupiny pacientů. U všech vybraných parametrů byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi hodnotami daného parametru u pacientů se sepsí či SIRS a pacientů bez přítomnosti sepse či SIRS. Statisticky významně nižší koncentrace Ret-He byly prokázány jak u skupiny pacientů se sepsí, tak u skupiny pacientů se SIRS. U parametrů ICIS skóre, NLR, IL-6, CRP a PCT byla prokázána statisticky významně vyšší hodnota daného parametru u skupiny pacientů se sepsí, stejně tak u skupiny pacientů se SIRS.

Klíčová slova: sepsa, ICIS skóre, biomarker, Sysmex XN-3000, COBAS 8000

2. ABSTRACT

Charles University

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biological and Medical Sciences

Author: Bc. Karolína Šímová

Supervisor: Mgr. Ilona Fátorová

Title of diploma thesis: Current possibilities of laboratory diagnostics of septic state

The aim of the thesis is to conduct a literature search on the causes of septic conditions, their laboratory and clinical diagnosis and treatment. Furthermore, the aim is to compare laboratory markers for the early detection of sepsis and statistically evaluate the results.

The theoretical part deals with the history and development of the definition of sepsis, pathophysiology of septic conditions, their causative agents, risk factors and therapy. Furthermore, it comprises clinical and laboratory diagnostics with emphasis on the description of currently used and potential biomarkers for the diagnosis of sepsis.

The practical part consists of statistical analysis of the dependence of selected hematological parameters Ret-He, ICIS score, NLR ratio and biochemical parameters PCT, CRP and IL-6 on the incidence of sepsis or SIRS in the studied group of patients. For all selected parameters, a statistically significant difference was found between the values of the parameter in patients with sepsis or SIRS and those without sepsis or SIRS. Statistically significantly lower Ret-He concentrations were found in both groups of patients with sepsis and with SIRS. For the parameters ICIS score, NLR, IL-6, CRP and PCT, statistically significantly higher values were found in the group of patients with sepsis as well as in the group of patients with SIRS.

Keywords: sepsis, SIRS, ICIS score, biomarker, Sysmex XN-3000, COBAS 8000

3. ÚVOD

Sepse je definována jako život ohrožující orgánová dysfunkce, která vzniká kvůli nepřiměřené odpovědi organismu na infekci. Jedná se o klinický syndrom, který komplikuje zdravotní stav pacientů odedávna. Prvně byla sepsa definována v roce 1914 a od té doby prošla její definice, díky nově získaným poznatkům v různých lékařských oborech, řadou úprav.

Ve snaze usnadnit časnou detekci sepse začaly také vznikat různé skórovací systémy, mezi které patří například PIRO koncept, SOFA skóre či qSOFA skóre. Tyto systémy mají vést k lepšímu poznání patogeneze sepse a také určují úroveň orgánové dysfunkce, čímž pomáhají odhalit rizikové pacienty. Avšak i přes všechny dosavadní pokroky neexistuje žádný specifický test pro detekci sepse a její včasná diagnostika tak stále zůstává poměrně problematická.

V mé diplomové práci se zabývám možnostmi laboratorní diagnostiky septických stavů. Existuje řada biomarkerů užitečných pro diagnostiku a určení prognózy sepse. Mezi tyto biomarkery patří například C-reaktivní protein, prokalcitonin, interleukin 6, buněčný znak CD64, d-dimery, fibrinogen a řada dalších. Žádný z těchto markerů však výhradně nepotvrzuje pouze přítomnost sepse, jelikož ke změnám v jejich koncentraci dochází vlivem různých chorobných stavů. Marker, který by byl stoprocentně specifický pouze pro sepsi, tak zůstává nadále předmětem vědeckého zkoumání.

Jedním z nových časných biomarkerů sepse je také ICIS skóre. ICIS skóre je vypočteno kombinací pěti parametrů, které se běžně získávají v rámci standardního vyšetření krevního obrazu, včetně diferenciálního rozpočtu leukocytů a retikulocytů. V porovnání se současně využívanými parametry pro diagnostiku sepse se ICIS skóre jeví jako více senzitivní a specifické.

4. ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE

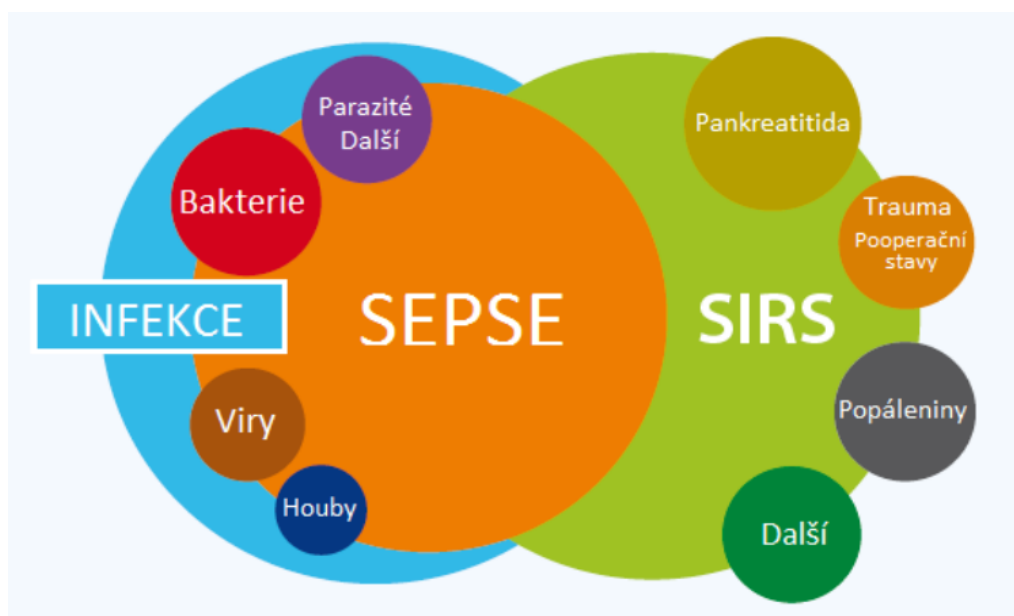
Cílem diplomové práce je vypracovat rešerši literárních pramenů týkající se příčin septických stavů, jejich laboratorní a klinické diagnostiky a léčby. V experimentální části práce u souboru pacientů hospitalizovaných na JIP provést z odběrů při příjmu pacienta porovnání vybraných laboratorních markerů s časným zachytem SIRS a/nebo sepse. Jedná se o hematologické parametry Ret-He (obsah hemoglobinu v retikulocytech), ICIS skóre, NLR poměr a biochemické parametry C-reaktivní protein, interleukin 6 a prokalcitonin. Následně provést statistickou analýzu získaných dat a zjistit, jaká je závislost změn těchto parametrů na časném výskytu sepse či SIRS u sledované skupiny pacientů.

5. TEORETICKÁ ČÁST

5.1 Definice sepse – historie a vývoj

Termín sepse, který v řeckém jazyce popisuje hnilobu, byl poprvé použitý Hippokratem. Další důležitý vývoj při definování sepse probíhal ve 20. století, kdy byla v roce 1914 publikována první vědecká definice sepse bakteriologem Hugem Schmottmüllerem. Ta označuje sepsi jako výskyt ložiska bakteriální infekce, ze kterého dochází střídavě či nepřetržitě k vyplavování bakterií do krevního řečiště, což vede k rozvoji celkových projevů a metastatických infekcí. (1)

Další posun ve vývoji definice nastal v roce 1989, kdy byla sepse podle Američana Rogera Bonea definována jako syndrom systémové zánětové reakce při infekci (dále jen SIRS – systemic inflammatory response syndrome). Mezi původce sepse se také začaly kromě bakterií řadit i některé viry (například virus chřipky), parazitární agens (např. Plasmodium falciparum) a plísňe (např. aspergily a kandidy). Boneova definice byla na konsenzuální konferenci v roce 1992 přijata a obecně uznávána po řadu let. Podle ní je tedy sepse popisována jako SIRS, který je vyvolaný potvrzenou či předpokládanou infekcí. Vztah mezi SIRS, infekcí a sepsí je znázorněn na obrázku č. 1. (2)



Obrázek 1 Vztahy mezi infekcí, SIRS a sepsí (3)

Pro diagnostiku sepse je nutná přítomnost alespoň dvou laboratorních a klinických kritérií pro SIRS, mezi které patří:

- tělesná teplota, která je vyšší než 38 °C nebo nižší než 36 °C,
- tepová frekvence větší než 90/min,
- dechová frekvence více než 20/min,
- počet leukocytů v krvi vyšší než $12 \times 10^9/L$ nebo nižší než $4 \times 10^9/L$, a/nebo více než 10 % nezralých forem neutrofilů – tyčí. (2)

Bone také dále definoval stav těžké sepse a septického šoku. Těžká sepse je stav spojený s alespoň jednou orgánovou dysfunkcí společně s hypotenzí či hypoperfuzí. Jako septický šok je pak označována sepse s hypoperfuzí či hypotenzí nereagující na adekvátní rehydrataci. Tato definice sepse byla pro svou nízkou senzitivitu a specifitu kritizována. (2)

Z tohoto důvodu byla v rámci mezinárodní konsenzuální konference evropských a amerických společenství intenzivní medicíny v roce 2001 definice sepse upravena. V rámci úpravy došlo k rozšíření a upřesnění jejích kritérií. Také byl zaveden tzv. „PIRO koncept“, jenž vychází z nejvýznamnějších charakteristik sepse a má sloužit k lepšímu poznání její patogeneze. Název „PIRO“ je zkratka pro predispozici k sepsi (P), vyvolávající infekci (I), hostitelskou odpověď (R) a orgánovou dysfunkci (O). (1, 4)

Základní definice sepse a septického šoku zůstala tedy po řadu let bez větších změn. K další úpravě došlo až v únoru 2016, kdy byla v časopisu Journal of American Medical Association publikována nová definice sepse i septického šoku. Vytvoření nové definice bylo možné vzhledem k nově získaným znalostem v oblasti epidemiologie sepse, patofyziologie orgánových dysfunkcí, biochemie, imunologie, buněčné biologie a dalších oborech. (2, 5)

Hlavním cílem nové definice, která začala být označována jako Sepsis-3, bylo odlišení sepse od nekomplikované infekce s ohledem na nejnovější zjištění v její patobiologii. (5)

Sepse byla nově definována jako život ohrožující orgánová dysfunkce, která je způsobená dysregulovanou a nepřiměřenou odpovědí organismu hostitele

na infekci. Tato nepřiměřená reakce organismu na infekci vede k poškození vlastních orgánů a tkání, může být smrtelná, proto je vyžadováno včasné rozeznání tohoto stavu. Septický šok byl definován jako podskupina sepse, při které probíhající patologické procesy na úrovni oběhové nebo v rámci buněčného metabolismu mají takovou intenzitu, aby vedly k zásadnímu zvýšení mortality. K rozvinutí septického šoku může dojít i při absenci předchozích příznaků sepse či těžké sepse. Tato skutečnost byla také důvodem pro vyřazení pojmu těžká sepse, jelikož může nesprávně poukazovat na možnou kontinuitu procesu infekce od sepse k septickému šoku. (6)

V průběhu přípravy nejnovější definice sepse bylo také zjištěno, že dosud používaná kritéria pro SIRS nejsou velmi vypovídající, jelikož jsou také přítomna i u dalších pacientů bez infekce a také u nemocných s příznivou prognózou. Nově je tedy důraz kladen především na známky orgánové dysfunkce, kterou kvantifikuje skórovací systém SOFA (Sequential Organ Failure Assessment). (5)

SOFA je skórovací systém, který slouží pro stanovení rychlosti orgánové dysfunkce související se sepsí. Jeho kritéria jsou uvedena v tabulce č. 1. Vypočítává úroveň dysfunkce v celkem šesti systémech, a to respiračním, kardiovaskulárním, renálním, jaterním, koagulačním a neurologickém. (7)

Tabulka 1 SOFA skóre (7)

SOFA skóre	1	2	3	4
Respirační systém PaO ₂ /FiO ₂ (mm Hg)	< 400	< 300	< 200 (s umělou plicní ventilací)	< 100 (s umělou plicní ventilací)
Koagulace Trombocyty (×10 ³ /mm ³)	< 150	< 100	< 50	< 20
Játra Bilirubin (μmol/L)	20 – 32	33 – 101	102 – 204	> 204
Kardiovaskulární systém Hypotenze	MAP < 70	dopamin < 5 nebo dobutamin	dopamin > 5 nebo noradrenalin ≤ 0,1	dopamin > 15 nebo noradrenalin > 0,1
Centrální nervový systém Glasgow Coma Scale	13 – 14	10 – 12	6 – 9	< 6
Ledviny Kreatinin (μmol/L) nebo diuréza	110 – 170	171 – 299	300 – 440 nebo < 500 ml/den	> 440 nebo < 200 ml/den

Orgánová dysfunkce je nově považována za stav, kdy dojde k akutní změně v hodnotě SOFA skóre o více než 2, přičemž výchozí hodnota SOFA skóre je u pacienta bez známek akutní nebo chronické dysfunkce rovna nule. (2)

Stanovení SOFA skóre ovšem vyžaduje řadu laboratorních vyšetření, což společně s obavou o pozdní identifikaci pacientů potencionálně ohrožených úmrtím na sepsi vedlo k rozhodnutí, že tento systém není v klinické praxi příliš praktický. Z tohoto důvodu bylo pro screening pacientů s možnou sepsí doporučeno stanovení zjednodušeného qSOFA (quick SOFA) skóre, jehož parametry jsou uvedené v tabulce č. 2. Pacient, u kterého je přítomnost alespoň dvou uvedených parametrů, získá tedy 2 a více bodů a je pokládán za rizikového. (8)

Tabulka 2 qSOFA skóre (8)

qSOFA kritéria	body
Dechová frekvence ≥ 22 /min	1
Změna ve stavu vědomí	1
Systolický krevní tlak ≤ 100 mmHg	1

5.2 Patofyziologie sepse

Obvyklou fyziologickou reakcí hostitele na přítomnost lokalizované infekce je spuštění obranných mechanismů, při kterých dochází k uvolnění zánětlivých mediátorů, zvýšení počtu leukocytů, místní vazodilataci a dalším změnám. V ideálním případě dochází po prvním kontaktu patogenu s imunitním systémem hostitele k eliminaci mikrobu a k rychlému návratu organismu do homeostázy. Sepsa pak vzniká v důsledku nevhodné regulace normální imunitní reakce hostitelského organismu na infekci. (9, 10)

Při rozvoji sepse dochází kromě systémové zánětlivé odpovědi také k hemostatické dysbalanci a endoteliální dysfunkci, která ovlivňuje kardiovaskulární systém a také intracelulární homeostázu. Tyto procesy vedou k buněčné hypoxii a apoptóze, což se projeví jako orgánová dysfunkce a následně také orgánovým selháním. (11)

Zabránění invaze patogenů do tkání či orgánů a následně jejich rozšíření do celého organismu je nezbytné pro zachování homeostázy a integrity lidského organismu. (11)

Při rozvoji SIRS a sepse je nezbytná aktivace receptorů rozpoznávajících vniknutí patogenu do organismu. Receptory jsou exprimovány buňkami vrozeného imunitního systému a jsou nazývány „receptory rozeznávající molekulové vzory“, označované také jako PRRs (pattern recognition receptors). Po detekci poškození tkáně či mikrobiální infekce pak receptory iniciují obranné reakce hostitele. Tyto specifické receptory jsou přítomné na monocytech, dendritických buňkách a makrofázích. Patří mezi ně Toll-like receptory, C-lektinové receptory a NOD-like receptory (nucleotid-binding oligomerization domain). (12, 13)

Přítomnost mikrobiální infekce je detekována rozpoznáním specifických molekul tzv. PAMPs (patogen associated molecular patterns), které jsou exprimovány napadajícím mikroorganismem. Poškozenou tkáň je imunitní systém schopný detekovat pomocí intracelulárních proteinů nebo mediátorů, které jsou uvolňovány z umírajících buněk. Tyto proteiny, známé také jako alarminy, se označují jako DAMPs (damage associated molecular patterns). (12)

Po rozpoznání těchto specifických molekul PRRs dochází k produkci prozánětlivých cytokinů, mezi které patří TNF α – tumor nekrotizující faktor α . TNF α indukuje uvolnění interleukinu 1 (IL-1), destičky aktivujícího faktoru (PAF) a dalších působků. Následně dochází k aktivaci kompenzační protizánětlivé reakce – CARS (Compensatory Anti-Inflammatory Reaction). Při této reakci se aktivují antiinflamatorní látky, mezi které patří například interleukin 4 (IL-4), interleukin 10 (IL-10) a antagonisté receptoru IL-1. Nejdříve se předpokládalo, že pokud jsou v převaze protizánětlivé aspekty CARS nad SIRS, dochází k nedostatečné antiinfekční obraně organismu. V opačném případě, kdy převažují prozánětlivé aspekty SIRS, dochází k rozvoji septického šoku a multiorgánového selhání. Později však vyšlo najevo, že CARS a SIRS se podílí na průběhu sepse společně a tento stav je popisován jako MARS (Mixed Antagonistic Response Syndrom). (14, 15)

Při rozvoji sepse hraje kromě imunitní reakce zásadní roli také hemokoagulační odpověď organismu. Místem, kde dochází ke spojení těchto dvou systémů, je endotel. Endoteliální buňky jsou aktivovány působením prozánětlivých cytokinů, což vede k uvolnění tkáňového faktoru. Tkáňový faktor je klíčový pro spuštění zevní koagulační kaskády, a to aktivací faktoru VII. Dále dochází k produkci trombinu, což je sám o sobě prozánětlivý mediátor, a také ke vzniku fibrinových trombů v rámci mikrocirkulace. Zároveň je IL-1 a TNF α stimulována produkce inhibitoru aktivátoru plazminogenu 1 (PAI-1), který potlačuje fibrinolýzu. (14, 16)

Za normálních podmínek je aktivace koagulace regulována celkem třemi mechanismy, mezi které patří inhibitor tkáňového faktoru (TFPI), antitrombin a systém aktivovaného proteinu C. Během sepse však dochází ve všech třech regulačních mechanismech k určitým poruchám. Za fyziologických podmínek tyto inhibitory zadržují koagulaci jen na místě poškození endotelu. U sepse je však předpokládáno, že se tkáňový faktor

uvolňuje soustavně a že inhibitory koagulace jsou inaktivovány nebo jsou jejich účinky převyšeny prokoagulačními mechanismy natolik, že nelze zabránit vzniku generalizované diseminované intravaskulární koagulace (DIC). Vzniklé mikrotromby se pak šíří po celém těle a vyvolávají dysfunkci a selhání orgánů, což postupně vede k rozvoji syndromu multiorgánové dysfunkce (MODS). (14, 17)

Syndrom multiorgánové dysfunkce je častou komplikací septických stavů. Jedná se o paralelní nebo postupné selhání dvou a více orgánů. Závažnost tohoto stavu a také počet selhávajících orgánů souvisí s mortalitou septických pacientů. Orgánovou dysfunkci je možné dělit na primární a sekundární. Rozvoj primární orgánové dysfunkce bývá způsoben vlivem přímého infekčního inzultu, tedy přímého poškození tkáně například vlivem zhmoždění hrudníku při traumatu či infekcí plic. Na vzniku sekundární orgánové dysfunkce se podílí nepřímý inzult, kdy poškození tkání či orgánu vzniká v souvislosti se silnou zánětlivou reakcí organismu. Sepsis patří mezi nejčastější případy sekundárního inzultu. (18)

Selhání orgánů je většinou postupné. Mezi nejdříve postižené orgány při sepsi patří plíce, kdy často dochází k rozvoji syndromu akutní dechové tísně. V rámci MODS dochází například také k renálnímu, jaternímu a kardiovaskulárnímu selhání nebo k postižení centrálního nervového systému. (16)

5.2.1 Predisponující faktory sepsy

Existuje řada rizikových faktorů, které ovlivňují vznik septických stavů. Patří mezi ně například věk pacienta, zdravotní stav, genetické predispozice a komorbidity. (19)

Nejvíce ohroženou skupinou jsou pacienti na jednotkách intenzivní péče, po úrazech nebo operaci mozku, transplantacích či s řízeným dýcháním. Dalším zdrojem může být i lokální infekce ve formě dekubitů. Septické komplikace bývají také často u pacientů s popáleninami. Nebezpečí rozvoje sepsy je spojeno také s imunosupresí, a to při podávání antibiotik či chemoterapie, dále při infuzích, používání centrálních venózních katetrů či močových periferních katetrů. Výrazným rizikovým faktorem je také dlouhodobý pobyt v nemocničním zařízení. (20)

Důležitým rizikovým faktorem je oslabený imunitní systém, k čemuž dochází vlivem malignit, podvýživy, či stresových faktorů (chirurgický zákrok či trauma). Rizikovou skupinou jsou také novorozenci a staří lidé, kdy více než polovina případů těžké sepsy se objevuje u pacientů starších 65 let. Těžká sepsy se také pravděpodobněji vyskytne u pacientů s chronickou obstrukční plicní nemocí, chronickým onemocněním ledvin a jater, diabetem a u pacientů s HIV. Další rizikovou skupinou mohou být také lidé s obezitou, u kterých se předpokládá vyšší náchylnost k infekcím a je u nich vyšší pravděpodobnost vzniku závažných komplikací u běžné infekce. (18)

5.2.2 Původci sepsy

Mezi etiologické agens sepsy se řadí gramnegativní i grampozitivní bakterie, dále spirochety, viry, houby i prvoci. Epidemiologie sepsy se neustále rozvíjí v souvislosti se změnami antibiotické léčby a dalšími inovacemi v lékařství. V období před druhou světovou válkou byly nejrozšířenějšími původci sepsy pneumokoky, streptokoky a v menší míře i stafylokoky. Po rozšíření antibiotické léčby byl za většinu sepsí odpovědný *Staphylococcus Aureus*. V průběhu šedesátých let došlo k rozvoji odlišných typů zlatého stafylokoka, které se vyznačují mnohonásobnou rezistencí proti antibiotikům. Dalším významným patogenem je také *Staphylococcus epidermidis*, jehož výskyt má souvislost s chirurgickými výkony spojenými s implantací umělých materiálů a používáním dlouhodobých intravaskulárních katetrů. (22)

Mezi nejčastější bakteriální původce sepsy patří také enterobakterie, zejména *Escherichia coli*, *Enterobacter sp.* a *Klebsiella pneumoniae*. Dále gramnegativní nefermentující tyčky, jako je *Pseudomonas aeruginosa* a *Acinetobacter baumannii*, enterokoky (např. *Enterococcus faecalis*), anaerobní bakterie (*Bacteroides sp.*) a streptokoky (*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae* a další). (23)

Celkově se odhaduje, že přibližně 50–60 % sepsí je spojeno s gramnegativními bakteriemi, 30–40 % způsobují grampozitivní bakterie. Okolo 15–20 % sepsí má smíšenou etiologii. (22)

5.3 Klinická diagnostika sepse

Mezi hlavní klinické příznaky sepse patří hypertermie nebo hypotermie, tachypnoe a tachykardie. Dalšími typickými příznaky jsou: třesavka, nechutenství, schvácenost, nevolnost, průjem a zvracení. Může docházet ke změnám psychiky, jako je oblužení nebo agitovanost, dále ke splenomegalii, kožním projevům, poruchám vědomí až septickému šoku. (20)

Klinické projevy sepse mohou také často napodobovat maligní choroby, autoimunitní choroby, granulomatózní choroby nebo lékovou chorobu. (20)

5.4 Laboratorní diagnostika sepse

Diagnostika sepse na základě klinických kritérií je poměrně obtížná, problematická a odlišení SIRS od sepse je náročné. Z tohoto důvodu má zásadní význam laboratorní diagnostika. Ta zahrnuje soubor parametrů z oblasti klinické biochemie, hematologie, imunologie, molekulární biologie a mikrobiologie. (20, 24)

Diagnostika infekce zahrnuje mimo jiné identifikaci ložiska a izolování kauzálního mikroorganismu. Pro tyto účely je zlatým standardem vyšetření hemokultury. Toto vyšetření také umožňuje stanovení citlivosti mikroorganismu k antibiotikům a tím poskytuje lékařům důležité informace pro cílenou terapii. U každého pacienta s podezřením na infekci krevního řečiště by měli být hemokultury odebrány co nejdříve. Krev na vyšetření se odebírá venepunkcí a optimální množství je 20 ml. Obvykle se odebírají alespoň 2 hemokultury. Klinický význam a účinnost tohoto vyšetření závisí na řadě faktorů, mezi které patří vhodný odběr vzorků, správný objem krve či inkubační doba. Jednou z limitací je ale čas nutný k jeho provedení. Vyšetření může trvat 1 až 5 dní, v případě podezření na sepsi způsobenou kvasinkami, i déle. (16, 24, 25)

5.4.1 Biomarkery sepsy

Přesná a včasná diagnostika sepsy je nezbytná pro rychlé zahájení vhodné terapie a pozitivně tak ovlivňuje výsledek léčby. Díky neustálému studiu a rozšiřování znalostí v patofyziologii a mechanismech sepsy byly objeveny některé z mnoha molekul, které jsou součástí celkové systémové reakce organismu na sepsi. Tyto molekuly byly navrženy jako potenciální biomarkery či indikátory sepsy. Některé z těchto biomarkerů mají klíčovou roli v imunitní odpovědi a jejich koncentrace se mění v závislosti na reakci organismu, čehož se využívá při určování přítomnosti nebo závažnosti sepsy. (19)

Biomarkery mohou mít 3 důležité role, a to:

- vyloučení (případně identifikace) sepsy,
- vyhodnocení závažnosti sepsy a stanovení prognózy,
- vyhodnocení odpovědi pacienta na terapii.

Úloha biomarkerů tkví především ve vyloučení přítomnosti sepsy než při jejím potvrzení. V současné době totiž žádný z dostupných markerů není stoprocentně specifický pro sepsi, podobné zánětlivé reakce se objevují i v závislosti na jiných stavech jakými jsou chirurgické zákroky či velké trauma. Zvýšení koncentrace biomarkeru může také naznačovat závažnější onemocnění a může být užitečné při rozhodování o dalších postupech v terapii. V tomto případě je nezbytné opakované měření hodnot biomarkerů. Naopak snižování hladin biomarkerů může naznačovat, že pacient na zvolenou léčbu reaguje. (19)

Jsou známy stovky biomarkerů, které by mohly být potenciálními kandidáty v diagnostice a stanovení prognózy sepsy. Příklady možných biomarkerů jsou uvedeny v tabulce č. 3. (24)

Tabulka 3 Příklady možných biomarkerů sepse (24)

Cytokiny a chemokiny (včetně jejich receptorů)	Interleukiny: IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-18, MIF, TNF, osteopontin, RANTES, chemokinový receptor 2, 3 a další
Biomarkery hemokoagulace	aPTT, PT, antitrombin, fibrinogen, D-dimery, inhibitor aktivátoru plazminogenu, protein S a C, thrombomodulin
Endoteliální biomarkery	Von Willebrandův faktor, ELAM-1, ICAM-1, Endocan, VCAM-1, a další
Biomarkery vazodilatace	nitráty, oxid dusnatý, nitrity, neuropeptid
Biomarkery orgánové dysfunkce	Troponin; natriuretický peptid A, B; a další

MIF – inhibiční faktor migrace makrofágů; TNF – tumor nekrotizující faktor; aPTT – aktivovaný parciální tromboplastinový čas; PT – protrombinový čas; ELAM-1 – endoteliální adhezí molekula leukocytů 1; ICAM-1 – intracelulární adhezivní molekula 1; VCAM-1 – vaskulární buněčný adhezí protein 1

Základním požadavkem pro tyto markery je vysoká specifita a senzitivita, dále možnost okamžitého, případně „bed-side“ stanovení a také finanční dostupnost. V klinické praxi se však využívá jen zlomek těchto biomarkerů. Řada z nich je totiž spíše než biomarkerem sepse ukazatelem dysfunkce orgánů či systémů, ke kterým při sepsi dochází. (24)

Pokud u pacienta došlo k rozvoji klinického obrazu sepse, je u něj jasně identifikováno ložisko infekce, izolováno patogenní agens a pacient reaguje na terapii, tak je diagnostika sepse založena na standardních diagnostických postupech. Využívají se rutinně dosažitelné parametry jako je prokalcitonin, C-reaktivní protein, mikrobiologické vyšetření a krevní obraz společně s diferenciálním rozpočtem. Pokud nebylo u pacienta možné identifikovat ložisko, izolovat etiologické agens či pacient nereaguje dostatečně na terapii, pak se diagnostická vyšetření mohou doplnit o vyšetření zjišťující stav imunitního systému pacienta. Jedná se jak o parametry buněčné, tak i humorální imunity (produkce cytokinů, exprese HLA-DR znaků na monocytech, koncentrace imunoglobulinů a další). V dalších kapitolách jsou uvedeny příklady biomarkerů, které je možné při diagnostice sepse využít. (24)

5.4.1.1 Proteiny akutní fáze

Reaktanty akutní fáze (nebo také proteiny akutní fáze) patří mezi markery zánětu, u kterých dochází v průběhu zánětu k významným změnám v jejich koncentraci v séru. Jedná se o proteiny, které jsou produkovány v játrech během akutních nebo chronických zánětlivých stavů. Jejich produkce je ovlivněna zejména cytokinem IL-6, dále také IL-1, TNF α a interferonem gama. (26)

Proteiny akutní fáze je možné klasifikovat v závislosti na jejich sérových koncentracích během zánětu do dvou skupin, a to na pozitivní a negativní. U pozitivních reaktantů dochází v průběhu zánětu ke zvyšování jejich koncentrace v séru, u negativních reaktantů naopak jejich koncentrace při zánětlivé reakci klesá. Mezi pozitivní reaktanty akutní fáze patří C-reaktivní protein, prokalcitonin, feritin, fibrinogen, hepcidin a sérový amyloid A. Mezi negativní reaktanty se řadí na příklad albumin, prealbumin, antitrombin a transferin. Mezi nejpoužívanější reaktanty akutní fáze v diagnostice pacientů se sepsí patří prokalcitonin a C-reaktivní protein. (26, 27)

C-reaktivní protein (dále CRP), který získal název podle své schopnosti reagovat s C-polysacharidem *Streptococcus pneumoniae*, byl objeven v roce 1930 Francesem a Tillem. Mezi jeho hlavní funkce patří schopnost aktivovat klasickou komplementovou kaskádu a také působí jako faktor opsonizace při fagocytóze bakterií, imunokomplexů a parazitů. (31)

Jedná se o cyklický pentamerový sérový protein, který patří do skupiny pentraxinů. Má diskoidní strukturu, která je tvořena pěti nekovalentně vázanými podjednotkami. Jeho produkce je součástí nespecifické odpovědi akutní fáze na zánět, infekci a poškození tkáně. U zdravých lidí je jeho koncentrace za normálních podmínek přibližně do 5 mg/L. V případě zánětlivého procesu dochází k výraznému vzestupu jeho koncentrace, v některých případech až stonásobně. U bakteriálních infekcí nabývá koncentrace CRP nejvyšších hodnot, na příklad při těžké bakteriální sepsi bývají hodnoty okolo 200 až 300 mg/L. Zvýšenou koncentraci je možné detekovat za 6 až 12 hodin po propuknutí zánětlivého procesu a nejvyšší hodnoty CRP nabývá za 24 až 48 hodin. CRP je také vhodný pro monitorování antibiotické léčby,

kdy při úspěšné léčbě dochází k rychlému poklesu jeho koncentrace (přibližně o polovinu za den). (28, 29)

CRP je citlivý parametr, ale není příliš specifický. K jeho sekreci stačí i malá zánětlivá reakce a jeho hodnoty se zvyšují nejen při sepsi, ale také na příklad při lokalizované infekci či po operaci. Vysoká senzitivita CRP také způsobuje rychlého dosažení maximálních hodnot koncentrace u sepse i septického šoku při MODS, což vede k znesnadnění vzájemného odlišení obou stavů a také sledování průběhu. (30)

Prokalcitonin (dále PCT) je protein, jehož řetězec je tvořen 116 aminokyselinami. Struktura řetězce plazmatického prokalcitoninu je shodná se strukturou peptidu, jenž je prohormonem kalcitoninu a je produkován C-buňkami štítné žlázy. PCT, který se nachází v plazmě v průběhu zánětu, ale buňkami štítné žlázy tvořen není. Je sice kódovaný stejným genem jako prekurzor prokalcitoninu, tedy genem CALC-1, ale k jeho produkci dochází v jiných tkáních, především v játrech, dále také v plicích, ledvinách, adipocytech, a slinivce břišní. (26, 31)

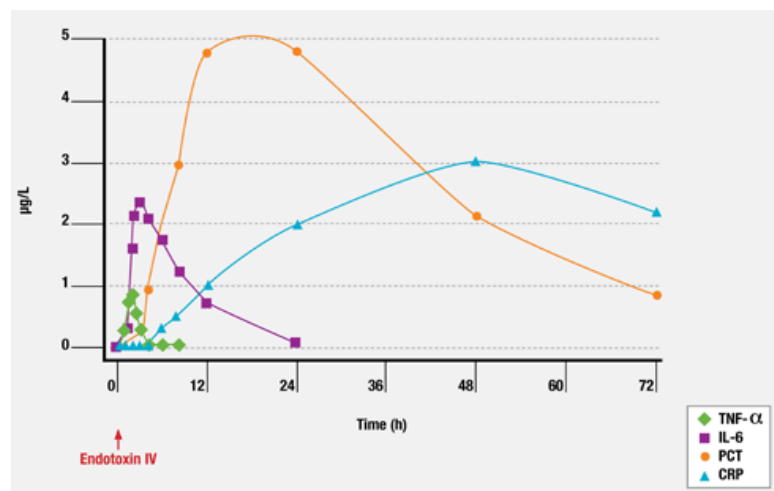
Fyziologická koncentrace PCT je u zdravého jedince 0 až 0,5 µg/L. Nejvyšší plazmatické koncentrace dosahuje PCT u těžkých bakteriálních infekcí a během sepse, kdy může dosahovat hodnot až 1000 µg/L. Zvýšení koncentrace odpovídá typu a rozsahu zánětu, koncentrace PCT u jednotlivých stavů je uvedena v tabulce č. 4. (31)

Tabulka 4 Koncentrace prokalcitoninu u jednotlivých klinických stavů (31)

Klinický stav	PCT (µg/L)
Zdravé osoby	0 – 0,5
Chronický zánět	0,5 - 1
Virózy	0,5 - 2
Lehká a lokalizovaná infekce (bakteriální)	0,5 - 2
SIRS	5 - 20
Sepse a multiorgánové selhání	10 - 1000

Zvýšená hladina PCT při systémovém zánětu nebo infekci se objevuje již po 2 až 4 hodinách a maximální hodnoty obvykle dosahuje po 8 až 24 hodinách. PCT je dobrým ukazatelem úspěšnosti terapie, jelikož jeho poločas rozpadu je přibližně 24 hodin, což vede s uzdravením pacienta k rychlé normalizaci jeho koncentrace v plazmě. (32, 33)

V porovnání s CRP se hladiny prokalcitoninu při zánětu zvyšují dříve a také se při vhodné léčbě rychleji normalizují. Z toho důvodu je tedy prokalcitonin vhodnější marker pro včasné odhalení sepse a také pro sledování progresu onemocnění. Kinetika prokalcitoninu vzhledem k ostatním markerům zánětu je patrná na obrázku č. 2. Bylo také prokázáno, že systematické využívání PCT pro diagnostiku a monitorování sepse může vést ke snížení zbytečné léčby antibiotiky a ke zkrácení pobytu pacienta na jednotce intenzivní péče (dále JIP). (32, 33)



Obrázek 2 Kinetika prokalcitoninu a dalších markerů (34)

5.4.1.2 Cytokiny

Mezi další markery, které se využívají v diagnostice sepse, patří cytokiny. Jedná se o regulátory imunitní odpovědi hostitele na infekci nebo poranění a mají svou roli v patofyziologii sepse. Nejčastěji studovanými cytokiny, které se využívají pro hodnocení stupně zánětlivé odpovědi a pomáhají při stanovení prognózy pacienta, jsou interleukin 6 (IL-6), interleukin 8 (IL-8) a interleukin 10 (IL-10). (35)

IL-6 patří mezi prozánětlivé cytokiny a je produkován několika typy buněk, a to na příklad monocyty, endoteliálními buňkami, T-lymfocyty a fibroblasty. IL-6 je diferenačním faktorem pro B-lymfocyty a také aktivačním faktorem pro T-lymfocyty. Jeho fyziologická koncentrace je u zdravého jedince ≤ 7 ng/L. Do krevního oběhu se začíná uvolňovat již po 4 až 6 hodinách a k poklesu dochází během 24 až 48 hodin. Hladiny IL-6 se zvyšují u pacientů s infekčními komplikacemi a také mohou být využity pro rozlišení SIRS a sepse. (24, 35, 36)

IL-8 patří mezi chemokiny a je syntetizován makrofágy, endoteliálními a epiteliálními buňkami, neutrofilů a monocytů. IL-10 se řadí mezi protizánětlivé cytokiny a je také produkován monocytů a makrofágy, dále i T-lymfocyty, B-lymfocyty a neutrofilů. (24)

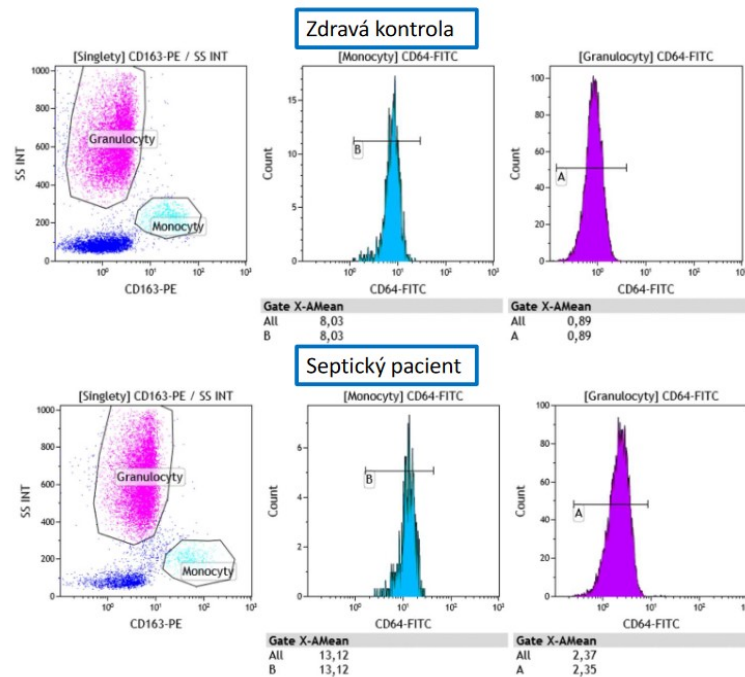
Obecně lze říci, že cytokiny jsou užitečné při monitorování zánětlivých reakcí a také mohou poskytovat kvantitativní hodnocení závažnosti sepse. Řada provedených studií dokázala, že hladina IL-6 a IL-8 koreluje s úmrtností pacientů se sepsí. IL-8 je možné využít při predikci závažnosti sepse u pediatrických pacientů, ale jeho užitečnost u dospělých pacientů potvrzena nebyla. U žádného z cytokinových markerů nebyla zatím prokázána větší senzitivita nebo specifita než u CRP a PCT. (35)

5.4.1.3 Povrchové buněčné markery

Mezi markery, které mohou být užitečné pro hodnocení sepse, patří také povrchové buněčné znaky aktivovaných neutrofilů a monocytů. Pro stanovení exprese buněčných znaků se uplatňuje kvantitativní průtoková cytometrie. Při zkoumání těchto markerů byl hlavní důraz kladen na znak CD64, ačkoli jako biomarkery sepse byly zkoumány i další buněčné znaky, mezi které patří HLA-DR, CD14, CD25, CD 40 a další. (27, 37)

CD64 je pravděpodobně jedním z nejvíce studovaných povrchových buněčných markerů sepse. Jedná se o membránový glykoprotein se zvýšenou expresí u pacientů s bakteriální infekcí. CD64 je vysoce afinitní IgG receptor Fc γ RI (Fc-gamma receptor I), který je exprimován na monocytech a ve velmi malé míře i na neaktivovaných neutrofilech. Zvýšená exprese CD64 na povrchu buněk odráží stav aktivace neutrofilů.

Příklad vyšetření exprese CD64 na monocytech a neutrofilech pomocí průtokové cytometrie u zdravého jedince a septického pacienta je uveden na obrázku č. 3. (37)



Obrázek 3 Stanovení exprese znaku CD64 na monocytech a neutrofilech pomocí průtokové cytometrie u zdravého a septického pacienta (38)

Ke zvýšení exprese CD64 dochází během několika hodin po aktivaci vrozené imunity a odráží tak velmi raná stádia infekce. Je tedy vhodným pomocníkem pro včasnou diagnostiku a k předpovědi prognózy. (39)

Expresí CD64 v neutrofilech odpovídá rozsahu zánětlivé reakce na infekci nebo poškození tkáně a je považována jako vysoce citlivý (>90 %) a specifický marker systémové infekce a sepse u dospělých, dětí a novorozenců. V posledních letech bylo provedeno značné množství studií zabývajících se úlohou exprese CD64 znaku v diagnostice bakteriální infekce a sepse. Některé studie také uvádí, že perzistující nízká exprese CD64 v prvních 24 hodinách hospitalizace by mohla lékařům umožnit ukončení antimikrobiální léčby bez nutnosti čekat na potvrzení výsledkem antimikrobiálního vyšetření. Podle současných zjištění se předpokládá, že by kvantitativní exprese CD64 v neutrofilech mohla být také užitečným biomarkerem pro rozlišení sepse od SIRS s odpovídající citlivostí a specifitou. Podle některých studií má mít exprese CD64 dokonce vyšší specifitu a citlivost při detekci sepse než prokalcitonin, avšak řada těchto studií měla omezený

počet pacientů a mnohdy i protichůdné výsledky a není tedy možné učinit žádné pevné závěry. (40, 41)

Dalším využívaným povrchovým znakem při diagnostice sepse je HLA-DR – lidský leukocytární antigen. HLA-DR patří mezi HLA molekuly II. třídy, které jsou exprimovány na povrchu makrofágů, monocytů a dalších antigen prezentujících buněk. Povrchová exprese lidského leukocytárního antigenu DR na monocytech se ukázala jako spolehlivý parametr funkce vrozeného imunitního systému při imunosupresi, která byla indukována sepsí. U septických pacientů často vzniká stav takzvané endotoxinové tolerance, při které dochází k poklesu exprese HLA-DR na monocytech. Úroveň exprese HLA-DR je považována za vynikající marker funkčnosti či nedostatečné reakce monocytů a poskytuje cenné informace při predikci mortality nebo hodnocení rizika vzniku sekundárních infekcí. Přetrvávající snížená exprese HLA-DR na monocytech je také spojena s rozvojem nozokomiálních infekcí a sepse. (37, 42)

Jako biomarker sepse se v posledních letech začíná využívat také znak CD14, a to především jeho solubilní forma sCD14-ST. CD14 je glykoprotein a k jeho expimaci dochází především na monocytech a v menší míře na neutrofilech. Účastní se reakce vrozené imunity na přítomnost infekce, jelikož má velmi důležitou roli při rozpoznání povrchových antigenů u infekčních agens, a to především lipopolysacharidu (dále LPS) u gramnegativních bakterií a peptidoglykanu u grampozitivních bakterií. CD14 je koreceptorem Toll-like receptorů a po navázání komplexu LPS dochází postupně k aktivaci prozánětlivé kaskády a ke spuštění systémové zánětlivé reakce na přítomnost infekčního agens. Po aktivaci dochází v membráně monocytů či makrofágů k odštěpení solubilního CD14, který je poté proteázami modifikován na subtyp sCD14-ST. (37, 43)

Tato solubilní forma sCD14-ST, nazývaná jako presepsin, je vhodným markerem pro časnou detekci sepse. Jeho koncentrace je detekovatelná již po hodině po expozici endotoxinem a maximálních hladin dosahuje za 3 hodiny, což je rychleji než u prokalcitoninu či C-reaktivního proteinu. Za fyziologických podmínek je presepsin přítomný v nízké koncentraci a nejvyšších koncentrací dosahuje při gramnegativních sepsích. Presepsin se uplatňuje při hodnocení účinnosti antibiotické léčby a jeho koncentrace také odráží závažnost orgánové dysfunkce. Vyšších hladin dosahuje také u trombocytopenie, poruchy mikrocirkulace a jaterní insuficience.

Z tohoto důvodu je vhodné využívat stanovení presepsinu při diagnostice sepse společně v kombinaci s dalšími biomarkery. (43)

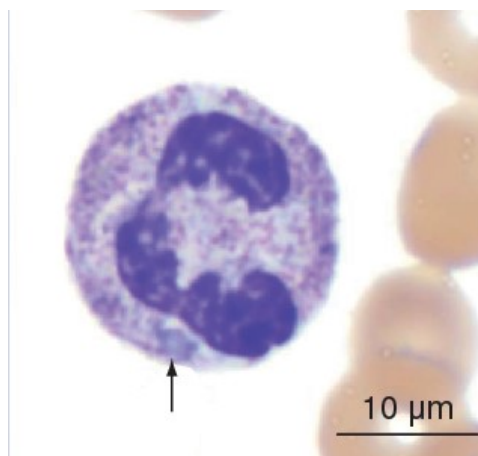
5.4.1.4 Vyšetření krevního obrazu

U pacientů se sepsí jsou přítomné abnormality i v hematologickém systému. Kromě poruch hemostázy dochází ke změnám také v rámci krevních elementů. Mezi nejčastější projevy sepse patří anémie, leukocytóza a trombocytopenie. (44)

Změny leukocytů jsou u pacientů se sepsí časté a patří i mezi čtyři základní kritéria SIRS, které se používají ke stanovení diagnózy sepse u pacientů s infekcí. Nejčastějším projevem sepse je leukocytóza, při které dochází k vzestupu počtu leukocytů nad $12 \times 10^9/L$. V rozpočtu leukocytů jsou obvykle zvýšené počty neutrofilů. Neutrofilní leukocytóza je častým projevem sepse a vzniká jako odpověď vrozené imunity organismu na infekci. Při infekci dochází ke stimulaci produkce cytokinů, které spouští vyplavování nezralých forem granulocytů z kostní dřeně. To se odráží v přítomnosti nezralých buněk v periferním oběhu a dochází k takzvanému „posunu doleva“. Nejčastější nezralou formou neutrofilů, kterou lze běžně pozorovat v periferní krvi jsou tyče, avšak se zvyšující se hladinou cytokinů dochází postupně k uvolňování dalších nezralých buněk, mezi které patří promyelocyty, myelocyty a metamyelocyty. (45, 46)

Přítomnost nezralých granulocytů v periferní krvi poskytuje důležité informace o zvýšené aktivitě kostní dřeně. Z tohoto důvodu je počet nezralých granulocytů také považován za možný biomarker pro diagnostiku sepse. Bylo zjištěno, že počet nezralých granulocytů dokáže rozlišit pacienty s neinfekční SIRS a pacienty se sepsí. Odráží také závažnost sepse, avšak není vhodný jako prognostický ukazatel mortality. (47)

Vyšetření nátěru periferní krve u pacienta se sepsí může odhalit přítomnost některých morfologických změn, a to toxickou granulaci, vakuolizaci a Döhleho tělíčka (obrázek č. 4). V některých případech může počet leukocytů v periferní krvi pacienta se sepsí přesáhnout hodnoty $50 \times 10^9/L$. Tato extrémní leukocytóza je také zvaná jako leukemoidní reakce. (45, 47)



Obrázek 4 Leukocyt s toxickou granulací a Döhleho tělísky (48)

U septických stavů může vlivem vyčerpání zásob kostní dřeně docházet k poklesu neutrofilů a rozvoji neutropenie. Ta se může vyskytnout u dospělých pacientů s těžkou sepsí, ale je častější u dětské populace. (47)

Při diagnostice sepse je možné využít také poměr počtu neutrofilů a lymfocytů označovaný jako NLR (Neutrophil to Lymphocyte Ratio). NLR poměr patří mezi zánětlivé biomarkery, který lze využít jako indikátor systémového zánětu. Je definován jako absolutní počet neutrofilů v poměru k absolutnímu počtu lymfocytů. (49)

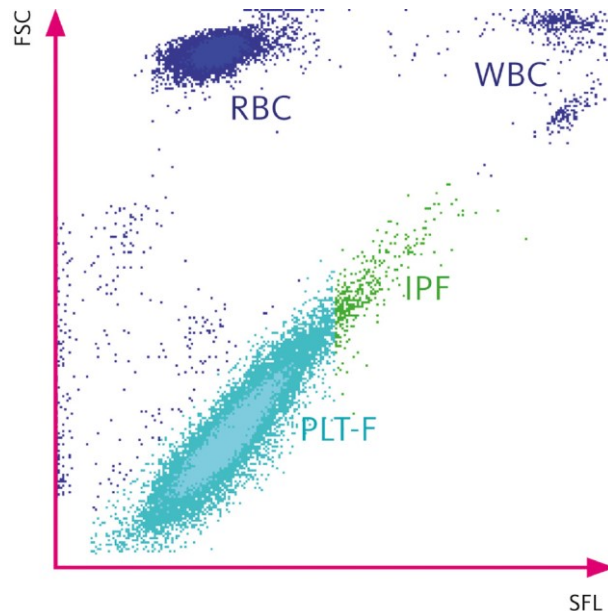
V průběhu stresových stavů organismu (systémový zánět, hypovolemický šok) dochází ke zvýšení počtu neutrofilů a ke snížení počtu lymfocytů, což vede ke zvýšení hodnoty NLR. K jeho zvýšení dochází obvykle do 6 hodin, díky čemuž je NLR dobrým odrazem akutního onemocnění a ukazuje i jeho závažnost. NLR je možné využívat při hodnocení septického šoku, kdy hodnota $NLR > 10$ naznačuje přítomnost sepse se specifitou 56 % a senzitivitou 80 %. Některé studie stanovily cut-off hodnotu spojenou s vysokým rizikem sepse > 5 , čímž došlo ke zvýšení senzitivity na 81 %, ale specifita se snížila na přibližně 36 %. Čím vyšší je hodnota NLR, tím se tento parametr stává více specifickým. (45)

Stejně jako u leukocytů, může docházet vlivem infekce ke zvýšení nebo snížení počtu trombocytů. Častým jevem v sepsi je právě trombocytopenie, kdy dochází k poklesu krevních destiček pod $150 \times 10^9/L$. Trombocytopenie se vyskytuje přibližně u 40 %

pacientů se sepsí a může být tedy užitečným vodítkem při diagnostice sepse. Závažnost trombocytopenie je také silným prognostickým faktorem mortality. Jedná se však o poměrně nespecifický marker, jelikož se trombocytopenie vyskytuje u řady dalších onemocnění. (45)

Mezi biomarkery sepse patří také parametr IPF – immature platelet fraction, neboli frakce nezralých trombocytů. Tento parametr udává množství mladých trombocytů cirkulujících v periferní krvi a odráží stav produkce a aktivace krevních destiček. IPF přímo koreluje s trombopoetickou aktivitou v kostní dřeni, tedy se zvyšuje či klesá v závislosti na stoupající či klesající produkci trombocytů. (50)

Množství nezralých trombocytů se udává buď jako jejich absolutní počet nebo procentuální zastoupení nezralých trombocytů v celkovém počtu trombocytů. IPF je možné měřit v optickém kanálu hematologického analyzátoru metodou průtokové fluorescenční cytometrie, příklad výsledného scattergramu je zobrazen na obrázku č. 5. (51)



Obrázek 5 Scattergram znázorňující parametr IPF (51)

Jelikož parametr IPF poskytuje informace o aktivitě megakaryocytů v kostní dřeni a délce života trombocytů, využívá se při diagnostice trombocytopenií neznámé

etiologie. Zvýšené IPF je možné pozorovat u pacientů s trombocytopenií způsobenou zvýšenou periferní destrukcí trombocytů, která je kompenzována zvýšenou produkcí destiček – na příklad u idiopatické trombocytopenické purpury. Snížené IPF je spojeno s trombocytopenií vznikající jako důsledek dřeňového útlumu způsobeného toxickými látkami nebo perzistující infekcí. Řada studií se také zabývala využitím IPF jako biomarkeru sepse. Bylo zjištěno, že IPF vykazuje vysokou senzitivitu při odlišení septických pacientů od neseptických, ale není vhodný pro stanovení závažnosti sepse. IPF je možné považovat za vhodný marker pro odhalení včasné odpovědi kostní dřeně na rozvíjející se sepsi, kdy ke zvýšení hodnot IPF dochází 2–3 dny před její klinickou manifestací. Po propuknutí sepse naopak jeho hodnoty klesají. (50, 52)

Sepse vyvolává změny také v rámci červené řady, kdy vlivem změn mechanických a membránových vlastností erytrocytů dochází k jejich snížené deformabilitě. Deformabilita erytrocytů, tedy jejich schopnost měnit tvar, je klíčovým faktorem průtoku krve, zejména v mikrocirkulaci. Snížená schopnost deformace erytrocytů se objevuje především v časně fázi sepse a má za následek snížení průtoku krve, což může negativně ovlivnit přísun kyslíku do tkání a přispět k orgánové dysfunkci. (46)

Sepse bývá také spojována se zvýšenou agregací červených krvinek, jedná se zřejmě o důsledek působení proteinů akutní fáze, které snižují negativní náboj erytrocytů. Laboratorním projevem snížení negativního náboje pak může být zrychlená sedimentace erytrocytů. (44, 46)

Studie z roku 2012 se také zabývala využitím přítomnosti normoblastů v periferní krvi jako možného biomarkeru u septických pacientů. Za normálních okolností nejsou normoblasty, tedy prekurzory erytrocytů, v periferní krvi dospělých přítomné. Vlivem některých závažných chorobných stavů však může k jejich vyplavování do krevního řečiště docházet. Důvodem může být zvýšená produkce a diferenciací erytrocytů prostřednictvím upregulace erythropoetinu či interleukinu 3 a 6, také dysregulace kostní dřeně nebo extramedulární erythropoéza. Bylo zjištěno, že přítomnost normoblastů v krvi je ukazatelem závažnosti onemocnění. Pacienti se sepsí po chirurgickém zákroku, u kterých byly přítomny normoblasty v periferní krvi, měli vyšší riziko úmrtí než pacienti bez detekovaných normoblastů. (53)

U septických pacientů a u pacientů v kritickém stavu se objevuje také anémie. Ta může vznikat jako důsledek krvácení, poklesu hladiny železa v séru, snížené produkce erythropoetinu nebo snížení délky života erytrocytů. U pacientů s těžkou sepsí se obvykle jedná o anémii chronických chorob. (44)

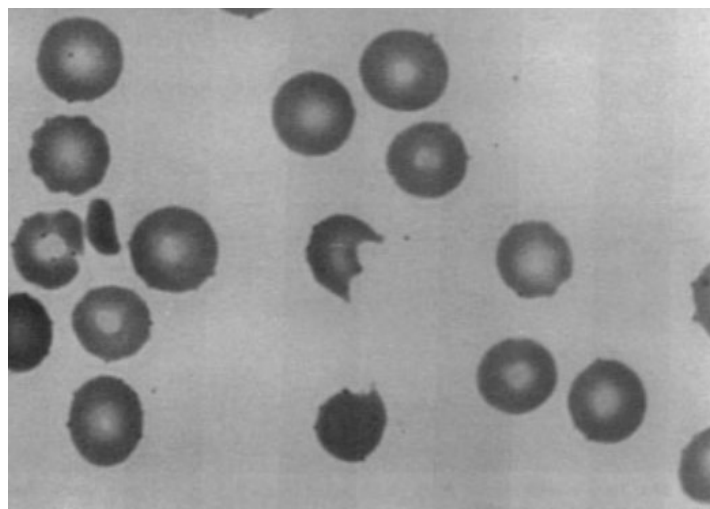
Základním vyšetřením pro určení tíže a typu anémie je stanovení krevního obrazu. Mezi nejdůležitější parametry patří hladina hemoglobinu, střední objem erytrocytu (MCV), koncentrace hemoglobinu v erytrocytu (MCH), procento hypochromních erytrocytů, šíře distribuce erytrocytů, počet retikulocytů a také obsah hemoglobinu v retikulocytech. Hladina hemoglobinu udává tíži anémie, pomocí parametru MCV je možné anémii charakterizovat jako normocytární, makrocytární nebo mikrocytární. Zvýšení procenta hypochromních erytrocytů poukazuje na jejich sníženou hemoglobinizaci, stejně tak na sníženou dostupnost železa pro erythropoézu v posledních několika měsících, protože životnost erytrocytů v krevním oběhu je cca 110 - 120 dní. (54)

Obsah hemoglobinu v retikulocytech, značený jako Ret-He či CHr, je parametr, který podává informaci o aktivitě kostní dřeně a také o deficitu železa pro erythropoézu v posledních několika dnech, protože retikulocyty se vyskytují v krevním oběhu pouze 1–2 dny, pak vyzárají v erytrocyty. Referenční hodnoty se pohybují v rozmezí 28 – 38 pg, kdy hodnoty menší než 28–29 pg, indikují nedostatek železa a porušenou erythropoézu. (54, 55)

Za normálních podmínek je obsah hemoglobinu v retikulocytech v porovnání s obsahem hemoglobinu v erytrocytech vyšší. Je to způsobeno menší velikostí zralých erytrocytů a postupným poklesem hemoglobinu v erytrocytech při jejich stárnutí. Při sepsi a dalších akutních zánětlivých stavech dochází ke změnám hladin cirkulujících cytokinů a reaktantů akutní fáze, což vede k poruchám metabolismu železa. Regulace metabolismu železa v organismu je zajišťována hepcidinem. Jedná se o reaktant akutní fáze, jehož hladina se při zánětu zvyšuje až stonásobně. Hepcidin snižuje hladinu železa v séru blokováním ferroportinu, který zajišťuje export železa z enterocytů a z makrofágů. Výsledkem je zadržování železa v makrofázích a enterocytech a potlačení dostupnosti železa pro syntézu hemoglobinu, což vede i k poklesu parametru Ret-He. Obsah hemoglobinu v retikulocytech je tedy nepřímou regulován

hepcidinem. Uvádí se, že nízké hodnoty Ret-He mají souvislost se zvýšenou potřebou krevní transfuze u kriticky nemocných pacientů. Studie z roku 2020 také zkoumala možnosti využití dynamiky parametru Ret-He a hepcidinu jako biomarkerů septického šoku. Bylo zjištěno, že měření těchto parametrů společně s rutinně používanými biomarkery může přidat cenné informace pro zhodnocení odpovědi pacientů na léčbu septického šoku. (55, 56)

Pokud je seps komplikována DIC, může k anémii přispět také hemolýza. Přibližně u 25 % pacientů s DIC jsou v nátěru periferní krve viditelné schistocyty (obrázek č. 6). (44)



Obrázek 6 Schistocyty v nátěru periferní krve (44)

5.4.1.5 Vyšetření hemokoagulace

U septických pacientů může dojít vlivem působení zánětlivých mediátorů a poškození buněk endotelu také k poruchám koagulace. Byla provedena řada studií, které uvádí, že přítomnost koagulopatie u sepse je spojena s orgánovým selháním a patří mezi rizikové faktory mortality. Závažnost koagulopatie u pacientů se sepsí se různí od mírných projevů, které je možné detekovat snížením počtu trombocytů a prodloužením doby srážení krve, až po těžké formy koagulopatie či diseminovanou intravaskulární koagulaci. Incidence DIC je u pacientů se sepsí 25 až 50 %. (57, 58)

Pro přesné vyhodnocení poruchy koagulace vyvolané sepsí se provádí měření různých biomarkerů hemokoagulace, mezi které patří například fibrin/fibrinogen degradační produkty (FDP), fibrinogen, protrombinový čas a aktivita antitrombinu. (58)

Řada studií uvádí, že plazmatické hladiny fibrinogenu a aktivita antitrombinu jsou u pacientů se špatnou prognózou významně nižší. Fibrinogen indikuje spotřebu koagulačních faktorů a odráží stav hyperkoagulace a hyperfibrinolýzy u pacientů se sepsí. Patří mezi reaktanty akutní fáze, jejichž hladina se u pacientů s infekcí a/nebo zánětem zvyšuje. U septických pacientů pak v některých případech dochází k naměření dokonce zvýšené či normální hladiny fibrinogenu až do pozdního stádia progresu koagulopatie. Z tohoto důvodu je fibrinogen, jako marker sepsí indukovaných koagulopatií, považován pro klinické využití za komplikovaný. Uvádí se také, že fibrinogen je pro diagnostiku sepsí indukované koagulopatie vysoce specifický, ale má nízkou senzitivitu. Většina pacientů s DIC nevykazuje při přijetí na jednotku intenzivní péče sníženou hladinu fibrinogenu, avšak bylo zjištěno, že při poklesu fibrinogenu pod 2 g/L dochází ke zvýšení rizika mortality. Užitečnější a pro diagnostiku přehlednější je tedy spíše sekvenční měření jeho hladiny. (19, 58)

Antitrombin má přirozené antikoagulační účinky a dokáže inhibovat přibližně 80 % koagulačních aktivit trombinu a také koagulační faktor X, v menší míře faktory VII, IX, XI, a XII. Aktivita antitrombinu v průběhu sepse klesá, a to z několika důvodů, například vlivem nadměrné tvorby trombinu, zhoršené syntézy nebo jeho degradace proteázami. Snížením aktivity antitrombinu dochází ke snížené schopnosti inaktivovat trombin, což má za následek zrychlení prokoagulačních dějů, které mohou vést k multiorgánové dysfunkci. Bylo zjištěno, že u pacientů s infekcí bez orgánového selhání klesají hodnoty aktivity antitrombinu přibližně na 80 %, u septických pacientů s orgánovou dysfunkcí dochází k poklesu aktivity přibližně na 60 %, u septických pacientů s DIC se hodnoty antitrombinu mohou pohybovat i kolem 40 %. Současná zjištění tedy naznačují, že aktivita antitrombinu klesá v souladu s progresí koagulopatie u sepse a pokud poklesne pod určitou prahovou hodnotu (přibližně 50 %) silně koreluje s nárůstem mortality. (58)

Dalším biomarkerem, jehož využití při diagnostice sepse bylo zkoumáno, jsou D-dimery. D-dimer je produktem degradace stabilního fibrinu, ke které dochází procesem fibrinolýzy. Jeho stanovení se využívá především jako spolehlivý test k vyloučení trombozy při diagnostice žilní tromboembolické nemoci. Avšak také existují studie, které se zabývají jeho využitím jako prognostického faktoru pro pacienty

s podezřením na sepsi. Vyšetření D-dimerů patří mezi jednoduché, levné a běžně dostupné testy. Jejich hladina se během sepse a při rozvoji DIC významně zvyšuje. Tvorba D-dimerů úzce odráží aktivaci koagulačního a fibrinolytického systému a tímto způsobem tedy také ukazuje závažnost reakce organismu. Z tohoto důvodu byla zvýšená hladina D-dimerů zkoumána jako potenciální rizikový faktor u pacientů s infekcí či sepsí, s další možností využití tohoto testu jako nezávislého prognostického ukazatele mortality. Podle studie z roku 2012 bylo zjištěno, že vysoké hladiny D-dimerů (v této studii nad 2,409 mg/L) slouží jako silný prediktivní ukazatel 28denní mortality. (59, 60)

Další studie, provedená v roce 2019 uvádí, že hladina D-dimerů nezávisí jen na množství vzniklého fibrinu, ale také na rozsahu jeho degradace. Sepse je spojena s inhibicí fibrinolýzy, což znamená, že hladina D-dimerů nemusí přesně odrážet tvorbu fibrinu. U některých septických pacientů tak může být vlivem silné inhibice fibrinolýzy stanoven falešně negativní výsledek měření D-dimerů a může docházet k nesprávné interpretaci výsledků. Bylo zjištěno, že korekce hladiny D-dimerů ve spojitosti s dalšími markery tvorby trombinu a plazminu, by mohla vykazovat vyšší prognostickou hodnotu u sepse než stanovení hladiny samotných D-dimerů. Pro validaci těchto údajů je však nutné provést další studie. (60)

5.4.1.6 ICIS skóre

Označení ICIS pochází z anglického názvu Intensive Care Infection Score a jedná se o nový časný marker sepse, který dokáže rychle a spolehlivě odlišit sepsi a neinfekční systémovou zánětlivou reakci organismu – SIRS v prvních kritických 48 hodinách. Vytvoření tohoto diagnostického skóre vycházelo z předpokladu, že vlivem složité patofyziologie SIRS a sepse není možné, aby měl pouze jediný parametr dostatečnou diagnostickou váhu pro stanovení sepse. Z tohoto důvodu bylo kombinováním pěti parametrů, které charakterizují časnou vrozenou imunitní odpověď, vytvořeno tzv. ICIS skóre. (61)

Mezi tyto parametry patří:

- sNFI – intenzita fluorescence zralých (segmentovaných) neutrofilů,
- sN# – absolutní počet zralých (segmentovaných) neutrofilů,
- aIG# – absolutní počet nezralých granulocytů,
- ASL – protilátky produkující lymfocyty (plazmatické buňky),
- dCHC – rozdíl v množství hemoglobinu mezi nezralými a zralými erytrocyty. (61)

Každý z těchto parametrů se mění jiným způsobem v závislosti na rozvoji infekce, u některých dochází k výraznějším změnám v časné fázi infekce, u jiných až při pokročilejších stádiích infekce. (62)

V prvních minutách po vzniku infekce dochází působením antigenů mikroorganismů k aktivaci neutrofilů v krevním oběhu. Membrány aktivovaných neutrofilů, u kterých došlo vlivem aktivace k expresi určitých signálních molekul a receptorů, jsou náchylnější k perforaci působením reagensů používaných v hematologických analyzátoch. U těchto aktivovaných buněk dochází k většímu průniku fluorescenčního barviva, což vede ke zvýšení intenzity fluorescence neutrofilů. Zvýšená intenzita fluorescence u zralých neutrofilů je jedním z nejčasnějších příznaků infekce. Dále dochází k postupné spotřebě neutrofilů v periferní krvi z důvodu boje proti infekci pomocí fagocytózy, při čemž dochází ke zvýšené produkci neutrofilů v kostní dřeni a k jejich zvýšenému vyplavování do periferní krve. Po vyčerpání zásob zralých neutrofilů v kostní dřeni dochází k uvolňování i nezralých forem granulocytů, což se projeví na jejich absolutním počtu. U některých B-lymfocytů dochází v rámci imunitní odpovědi na přítomnost bakteriálního lipopolysacharidu k diferenciaci na plazmatické buňky syntetizující nespecifické protilátky třídy IgM. Počet lymfocytů produkujících protilátky se zvyšuje, což odpovídá i vyšším hodnotám parametru ASL. (62)

Při pokročilé infekci dochází také k retenci železa v monocyto-makrofágovém systému, což má za následek okamžité snížení syntézy hemoglobinu a snížení jeho množství v nově vytvořených retikulocytech. Tento stav se projeví také poklesem hodnoty parametru dCHC. (61, 62)

U pacientů s infekcí dochází v prvních 48 hodinách k nárůstu počtu lymfocytů produkujících protilátky (parametr ASL), ke zvýšení celkového počtu zralých neutrofilů (parametr sN#) a nezralých neutrofilů (parametr aIG#), k nárůstu intenzity fluorescence zralých neutrofilů (parametr sNFI) a také ke snížení koncentrace intracelulárního hemoglobinu v retikulocytech oproti zralým erytrocytům (parametr dCHC). (61)

Tyto parametry byly pro výpočet ICIS vybrány z několika důvodů:

- každý parametr je možné získat v rámci standardního rutinního vyšetření krevního obrazu, diferenciálního rozpočtu leukocytů a retikulocytů,
- všechny použité parametry se podílí na zánětlivé odpovědi,
- parametry odráží stav produkce buněk kostní dřeně, podmínkou je tedy funkční hematopoéza. (61)

Pro výpočet ICIS skóre je nejprve nutné u každého uvedeného parametru určit hodnotu skóre na základě porovnání naměřené hodnoty se stanovenou mezní „cut-off“ hodnotou. Cut-off hodnoty, které mají optimální senzitivitu a specifitu pro detekci infekce byly vypočteny pomocí ROC analýzy (Receiver operating characteristic). Skóre pro jednotlivé parametry může nabývat hodnot od 0 až po 4. Hodnota 0 je přidělena pro data, která jsou pod cut-off hodnotou jednotlivých parametrů. Parametru, u něhož je naměřená hodnota nad stanovenou cut-off hodnotou pro plochu pod křivkou AUC je hodnota skóre 1, nad cut-off hodnotou se specificitou 85% je přiřazena hodnota skóre 2 a nad cut-off hodnotou se specificitou ve výši 95% je přiřazena hodnota 4. (61)

Tabulka 5 Parametry pro výpočet ICIS skóre (61)

Parametr	největší AUC	85% specifita	95% specifita
	cut-off hodnota	cut-off hodnota	cut-off hodnota
ASL [buněk/ μ L]	> 40	> 100	> 150
sN# (PLT) [buněk/ μ L]	> 9 000	> 12 000	> 20 000*
sNFI [ch*10]	> 480	> 500	> 550
aIG# [buněk/ μ L]	> 80	> 200	> 1 000
dCHC [pg]	< 0,9	< -0,5	< -3,0
hodnota	1	2	4

AUC- Area under the curve; plocha pod křivkou vypočtena pomocí ROC křivky; * sN# > 20 000/ μ L je kombinováno s hodnotou PLT pod 600 000/ μ L; FI-ch = intenzita fluorescence v jednotlivých kanálech

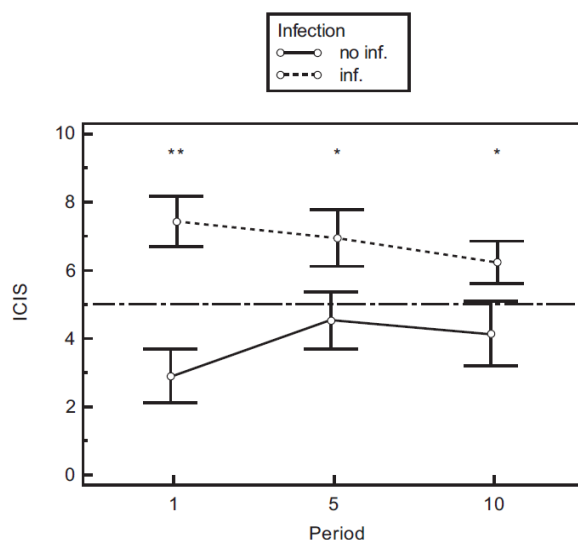
Hodnoty stanovené pro jednotlivé parametry jsou uvedené v tabulce č. 5. Podle tohoto pravidla je stanoveno nejprve skóre pro každý jednotlivý parametr. Následně se jejich součtem stanoví výsledné ICIS skóre, které se může pohybovat v hodnotách 0–20. Postup přidělování hodnot a celkového součtu ICIS skóre je uveden v tabulce č. 6. (61)

Tabulka 6 Hodnoty skóre pro jednotlivé parametry (63)

	Hodnota
sN# (PLT)	0 – 4
aIG#	0 – 4
sNFI	0 – 4
ASL	0 – 4
dCHC	0 – 4
součet =	
ICIS	0 – 20

0 – hodnota pod cut-off hodnotu pro nejlepší účinnost; 1 – hodnota nad cut-off hodnotu nejlepší účinnosti; 2 - hodnota vyšší než 85% specifita; 3 – hodnota vyšší než 90% specifita; 4 – hodnota vyšší než 95% specifita

Jak je patrné z obrázku č. 7, hodnota ICIS skóre se dynamicky mění v závislosti na rozvoji infekce. Cut-off hodnota pro ICIS skóre, která má optimální specifitu a senzitivitu pro detekci infekce v prvních 48 hodinách, byla stanovena na ≤ 5 . (61)



Obrázek 7 Vývoj hodnot ICIS skóre v průběhu infekce (61)

Period 1 – prvních 48 hodin infekce; Period 5 – dny 3, 4 a 5; Period 10 – dny 6, 7, 8 a 9

ICIS skóre bylo v rámci schopnosti rozlišení sepse od SIRS porovnáváno s dalšími současně používanými parametry, mezi které patří koncentrace CRP, IL-6, LBP (lipopolysacharid vázající protein), erythropoetin a TNF- α . Porovnáním bylo zjištěno, že ICIS skóre má oproti kterémukoli zmíněnému parametru vyšší senzitivitu i specifitu. Během prvních 48 hodin má také vysokou pozitivní (80 %) a negativní (75 %) prediktivní hodnotu. Používání ICIS má také oproti CRP a PCT řadu výhod. Pro stanovení ICIS není nutné odebrat další zkumavku krve, jelikož se určí z parametrů vyšetřených v rámci vyšetření krevního obrazu, také je cenově dostupnější a časově nenáročná. (61, 64)

5.5 Terapie sepse

Septický šok je závažný stav hypoperfuze tkáně, který je vyvolaný systémovou zánětlivou odpovědí infekčního původu a je doprovázen zhoršenou mikrocirkulací, intenzivní hypovolémií, vazodilatací a srdeční dysfunkcí. I přes neustálé inovace v terapii septických stavů zůstává mortalita vysoká. Hlavní příčinou smrti u pacientů se septickým šokem je multiorgánové selhání a hypotenze. Úspěch v léčbě sepse závisí

na včasné diagnostice a okamžitém zahájení vhodné antibiotické a podpůrné léčby. (65)

Při snaze snížit úmrtnost na sepsi byla v roce 2003 zahájena kampaň, která se nazývá Surviving Sepsis campaign. Jejím cílem je poskytnout informace o správných postupech v léčbě, které se pravidelně aktualizují. Mezi základní kroky v léčbě sepse patří tekutinová resuscitace, jejímž základem je regulace objemu krve a zajištění dostatečné perfuze orgánů. Doporučenými roztoky k tomuto účelu jsou krystaloidy. (16, 66)

Dalším nezbytným krokem je léčba antibiotiky. Z hlediska prognózy je důležité, aby byla intravenózní antimikrobiální léčba zahájena nejlépe do jedné hodiny po rozpoznání sepse. Vhodná a včasná antibiotická léčba je spojena se snížením mortality pacientů s grampozitivní i gramnegativní sepsí. Před nasazením antibiotik je ovšem nezbytné nejprve odebrat vzorky pro mikrobiologické vyšetření. Antibiotika se většinou podávají empiricky do doby získání výsledků z hemokultur a musí být širokospektrá, aby mohla pokrýt pravděpodobný patogenní mikroorganismus. Úvodní empirickou léčbu antibiotiky je po identifikaci patogenu nutné upravit. (16, 66)

Nezbytnou součástí léčby je také odhalení zdroje infekce a jeho následné odstranění. Obojí je nutné provést opět co nejdříve. Musí být provedeno například odstranění nekrotických tkání, cizích těles (např. žilních katetrů), drenáž abscesů, excize infekčního ložiska a další. Další léčebné postupy při sepsi zahrnují i podávání vazoaktivních léků a glukokortikoidů. V případě potřeby je zahájena také podpůrná terapie, kam patří na příklad léčba respiračního selhání, renálního selhání a profylaxe hluboké žilní trombózy. (16)

6. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6.1 Charakteristika vyšetřovaného souboru

Pro diplomovou práci byly použity výsledky laboratorního vyšetření pacientů, kteří byli přijati na JIP Kliniky anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, také na JIP Chirurgické kliniky, JIP Plicní kliniky nebo na JIP III. Interní gerontometabolické kliniky ve Fakultní nemocnici Hradec Králové. Data byla sbírána přibližně po dobu jednoho měsíce, v období od února až do března 2019. Pro statistické zpracování byly použity výsledky od 102 pacientů, u kterých bylo v hematologické laboratoři provedeno vyšetření krevního obrazu, diferenciálního rozpočtu leukocytů, retikulocytů a vypočteno ICIS skóre a poměr NLR. Pro porovnání byly stanoveny také biochemické markery, konkrétně c-reaktivní protein, prokalcitonin a interleukin 6. U každého pacienta byla klinicky zhodnocena přítomnost sepse či SIRS. Charakteristika vyšetřovaného souboru je uvedena v tabulce č. 7. Mezi diagnózy pacientů se sepsí patřil například septický šok, urosepse, absces či pneumonie. Podrobný přehled diagnóz a výsledků jednotlivých vyšetření je uveden v tabulce datového souboru v příloze č. 1.

Tabulka 7 Charakteristika vyšetřovaného souboru

Celkový počet pacientů		102
Počet mužů		50
Počet žen		52
Věkové rozmezí (roky)		28–97
Věk (roky)	průměr	66
	medián	68
Přítomnost sepse (počet pacientů)	ano	14
	ne	88
Přítomnost SIRS (počet pacientů)	ano	30
	ne	72

6.2 Materiál a metody

6.2.1 Použitý materiál

Pro výše uvedená hematologická vyšetření se využívá převážně žilní krev, která se odebírá do zkumavky s antikoagulačním činidlem K₃EDTA (chelatonát trojdraselný). Před odběrem není vyžadováno žádné striktní dietní opatření. Při teplotě 15-25 °C je stabilita vzorku 5 hodin. (67)

Pro stanovení biochemických parametrů CRP, PCT a IL-6 se jako biologický materiál využívá krevní sérum, které se odebírá do zkumavky pro srážlivou krev. Při teplotě 20-25 °C je stabilita vzorku pro vyšetření parametru CRP 1 den, pro PCT 24 hodin a pro IL-6 5 hodin. (28)

6.2.2 Přístrojové vybavení a vyšetřovací metody

6.2.2.1 Hematologický analyzátor

Data použitá v této práci byla změřena na hematologické lince Sysmex XN-3000 (výrobce Sysmex, Kobe, Japonsko), jejíž součástí jsou dva analyzátory krevních buněk XN-10, automatický podavač vzorků, nátěrový a barvicí automat SP-10, pneumatická jednotka pro udržení tlaku a vakua a také řídicí jednotka IPU, která umožňuje zpracování dat dodaných z analyzátorů. (67, 68)

Vyšetření počtu leukocytů, diferenciálního počtu leukocytů a retikulocytů bylo provedeno pomocí analyzátoru XN-10. (67 68)

Analyzátor XN-10 umožňuje manuální i systémový typ analýzy vzorků. Pro oba typy analýzy je aspirovaný objem vzorků 88 μl. Reagencie, které analyzátor využívá pro analýzu, jsou uvedeny v tabulce č. 8. (67, 68)

Tabulka 8 Reagencie používané na analyzátoru Sysmex XN-10 (68)

Reagencie	Množství	Použití
Cellpack DCL	20 l	měření KO, DIFF, RET
Cellpack DFL	1,5 l	analýza retikulocytů a trombocytů
Sulfolyser	5 l	stanovení koncentrace hemoglobinu
Lysercell WNR	5 l	lyzační roztok pro WNR kanál
Lysercell WDF	5 l	lyzační roztok pro WDF kanál
Fluorocell WNR	2 x 82 ml	určení počtu leukocytů, bazofilů a normoblastů
Fluorocell WDF	2 x 42 ml	diferenciální rozpočet leukocytů
Fluorocell RET	2 x 12 ml	počet a procenta retikulocytů, počet trombocytů
Fluorocell PLT	2 x 12 ml	počet trombocytů
Cellclean	50 ml	čisticí prostředek

Analyzátor XN-10 využívá pro analýzu krevních buněk řadu technologií, a to impedanční metodu, absorpční spektrofotometrii a průtokovou cytometrii. (68)

Průtoková fluorescenční cytometrie

Princip průtokové cytometrie se u analyzátoru Sysmex XN-10 využívá pro rozpočet leukocytů, počet leukocytů, retikulocytů a normoblastů. Tato metoda umožňuje získat informaci o struktuře, velikosti a vnitřním obsahu buňky. (68, 69)

Po nasátí vzorku dochází k jeho zředění a následně k označení fluorescenčním barvivem specificky se vázajícím na nukleové kyseliny. Takto připravený vzorek je pak přesunut do průtokové komůrky, kde díky hydrodynamické fokusaci dochází k seřazení buněk ve vzorku jednotlivě za sebou a následně k osvětlení laserovým paprskem. (67, 69)

Buňky je pak možné oddělit pomocí signálu předního rozptýleného světla, bočního rozptýleného světla a bočního fluorescenčního světla. Intenzita předního rozptylu podává informace o objemu buňky, boční rozptyl informuje o obsahu buňky a díky boční fluorescenci je možné identifikovat množství DNA a RNA v buňce. (68, 69)

Pro výpočet ICIS skóre byl využit přídatný software Extended IPU, který slouží mimo jiné i pro přenos dat mezi hematologickou linkou a Laboratorním informačním systémem. Tento software také umožňuje kontrolu a technickou validaci výsledků. (68)

6.2.2.2 Biochemický analyzátor

V diplomové práci byly také pro porovnání použity výsledky stanovení biochemických parametrů CRP, PCT a IL-6. Tyto parametry byly změřeny na analyzátoru COBAS 8000 (výrobce Roche, Basilej, Švýcarsko).

Kvantitativní in vitro měření C-reaktivního proteinu bylo provedeno na základě imunoturbidimetrického stanovení. Principem je aglutinace lidského CRP s latexovými částicemi, které jsou potaženy monoklonálními protilátkami proti CRP. Vzniklé agregáty se měří turbidimetricky při vlnové délce 570 nm. (70)

Kvantitativní stanovení prokalcitoninu bylo provedeno pomocí imunosoupravy Elecsys BRAHMS PCT, která využívá elektrochemiluminiscenční stanovení neboli „ECLIA“. Jedná se o sendvičový princip, při kterém dochází k reakci mezi antigenem ve vyšetřovaném vzorku, biotinylovanou monoklonální protilátkou proti PCT a monoklonální protilátkou proti PCT, jež je označena rutheniovým komplexem. Výsledkem reakce je vznik sendvičového komplexu. Následuje přidání mikročástic, které jsou potaženy streptavidinem, po kterém se vzniklý komplex váže na pevnou fázi prostřednictvím interakce streptavidinu s biotinem. Reakční směs je poté nasáta do měřicí cely, ve které jsou pomocí magnetu zachyceny mikročástice s navázaným komplexem. Následně dochází k odstranění nenavázaných složek. Na pracovní elektrodu je poté přivedeno napětí, které vyvolá chemiluminiscenční emisi fotonů. Emise je pak změřena fotonásobičem. Pro zjištění výsledků se využívá dvoubodová kalibrační křivka a master křivka, kterou je nutné do přístroje načíst z čárového kódu reagentie. Celková doba stanovení je 18 minut. (71)

Pro kvantitativní stanovení Interleukinu 6 in vitro se využívá imunosouprava Elecsys IL-6. Principem stanovení je stejně jako u PCT elektrochemiluminiscenční immunoanalýza neboli „ECLIA“. Princip a postup u tohoto testu je shodný s kvantitativním stanovením PCT. Zahrnuje tedy inkubaci vyšetřovaného vzorku s biotinylovanou monoklonální protilátkou specifickou pro IL-6, přidání monoklonální

protilátky specifické pro IL-6 značenou rutheniovým komplexem a mikročastic potažených streptavidinem. Protilátky pak vytvářejí s antigenem ve vzorku sendvičový komplex, následně pak dojde v měřicí cele pomocí magnetu k zachycení mikročastic s navázaným komplexem. Pomocí napětí je vyvolána chemiluminiscenční emise fotonů, která je změřena fotonásobičem. Výsledky jsou zjišťovány z dvoubodové kalibrační křivky a master křivky, jež se načte do přístroje z čárového kódu na reagentii. (72)

6.3 Statistické zpracování výsledků měření

Cílem této diplomové práce bylo porovnání celkem šesti laboratorních markerů pro časný záchyt SIRS/sepse. U každého z těchto markerů byla analyzována jeho závislost na přítomnosti SIRS a sepse. Statistické zhodnocení a vytvoření jednotlivých grafů bylo provedeno pomocí programu MedCalc (verze 19.7), R studio (verze 1.14.1106) a Microsoft Excel 2016.

Pro parametr ICIS skóre a NLR poměr byla zvolena kvalitativní analýza. Data byla rozdělena na základě cut-off hodnoty. Pro ICIS skóre byla zvolena cut-off hodnota ≥ 4 , respektive ≥ 5 , pro NLR poměr byla zvolena cut-off hodnota > 5 , respektive > 10 . Pro další statistické zpracování byl zvolen Fisherův exaktní test. Parametry Ret-He, CRP, PCT a IL-6 byly zhodnoceny kvantitativně. Prvním krokem pro kvantitativní analýzu bylo ověření normality dat pomocí Shapiro-Wilkova testu. Normalita byla pomocí tohoto testu zamítnuta ($P < 0,05$). Výsledky Shapiro-Wilkova testu jsou uvedeny v příloze č. 2. Pro další statistické zpracování kvantitativních znaků byl použitý Mann-Whitneyův U test.

6.4 Výsledky

6.4.1 Analýza závislosti ICIS skóre na výskytu SIRS a sepse

Prvním krokem pro statistické zpracování závislosti ICIS na výskytu sepse a SIRS bylo zvolení vhodné cut-off hodnoty. Nejprve byl proveden výpočet senzitivity, specifity, negativní prediktivní hodnoty a pozitivní prediktivní hodnoty pro zvolenou cut-off hodnotu ≥ 4 a cut-off hodnotu ≥ 5 . Následně byl pro každou skupinu vypočten také Youdenův index (tabulka č. 9).

Tabulka 9 Statistické údaje vypočtené pro vybrané cut-off hodnoty ICIS

Cut-off hodnota pro ICIS	Senzitivita (%)	Specifická (%)	Negativní prediktivní hodnota (%)	Pozitivní prediktivní hodnota (%)	Youdenův index
≥4 pacienti se sepsí	92,86	70,45	98,41	33,33	0,63
≥5 pacienti se sepsí	92,86	80,68	98,61	43,33	0,74
≥4 pacienti se SIRS	93,33	84,72	96,83	71,79	0,78
≥5 pacienti se SIRS	80,00	91,67	91,67	80,00	0,72

Na základě provedených výpočtů byla pro další zpracování dat zvolena cut-off hodnota 4. Zhodnocení závislosti ICIS skóre na výskytu SIRS a sepse bylo provedeno kvalitativně. Nejprve byl datový soubor s hodnotami ICIS skóre rozdělen na 2 skupiny podle zvolené cut-off hodnoty. Hodnota ICIS skóre, která byla <4 byla označena jako nízká, hodnota ICIS skóre ≥4 byla označena jako vysoká.

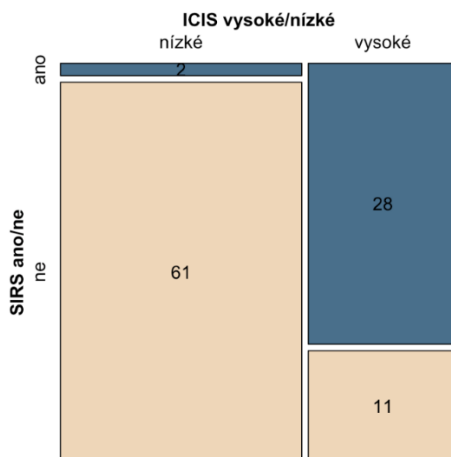
Nejprve byla provedena analýza vztahu ICIS skóre (vysoké/nízké) a výskytu SIRS (ano/ne). Pro zobrazení vzájemného vztahu byla použita kontingenční tabulka (tabulka č. 10).

Tabulka 10 Kontingenční tabulka – vztah ICIS a SIRS (počty pacientů)

ICIS skóre	SIRS		
	Ano	Ne	celkem
Nízké	2	61	63
Vysoké	28	11	39
celkem	30	72	102

Pro názornost byl také vytvořen mozaikový graf (graf č. 1). Jak je z tabulky i mozaikového grafu patrné, z celkového počtu 30 pacientů se SIRS, bylo naměřeno vysoké ICIS skóre (tedy hodnoty ≥4) u 28 pacientů, nízké hodnoty ICIS byly naměřeny

pouze u 2 pacientů se SIRS. Z celkového počtu 72 pacientů bez přítomného SIRS, byla naměřena vysoká hladina ICIS skóre u 11 pacientů a nízká hodnota u 61 pacientů.



Graf 1 Mozaikový graf – závislost ICIS na přítomnosti SIRS (počty pacientů)

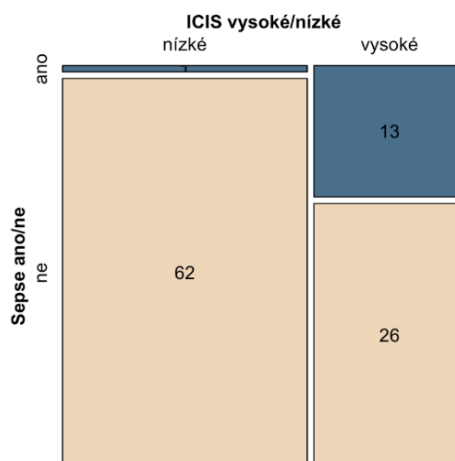
Pomocí Fisherova exaktního testu byla testována nulová hypotéza, že mezi hodnotami ICIS skóre a přítomností SIRS u pacienta není závislost. Hladina významnosti P byla menší než 0,05 ($P < 0,0001$), nulová hypotéza tedy byla zamítnuta. Mezi hodnotami ICIS a přítomností SIRS existuje statisticky významná závislost. Byla také prokázána statisticky významná závislost mezi pacienty se SIRS a vysokým ICIS skóre ($P < 0,0001$).

Dále byla provedena analýza vztahu ICIS skóre (vysoké/nizké) u pacientů se sepsí a pacientů bez přítomnosti sepse (sepsis ano/ne). Vzájemný vztah byl zobrazen pomocí kontingenční tabulky (tabulka č. 11).

Tabulka 11 Kontingenční tabulka – vztah ICIS a výskytu sepse (počty pacientů)

ICIS skóre	Sepse		
	Ano	Ne	celkem
Nizké	1	62	63
Vysoké	13	26	39
celkem	14	88	102

Pro vizualizaci byl také vytvořen mozaikový graf (graf č. 2). Z tabulky i grafu vyplývá, že ze 14 pacientů se sepsí byla hodnota ICIS skóre vysoká ve 13 případech a pouze u jednoho pacienta byla hodnota ICIS nízká. Z celkového počtu 88 pacientů bez přítomnosti sepse byla nízká hodnota ICIS zjištěna u 62 pacientů a vysoká hodnota ICIS u 26 pacientů.



Graf 2 Mozaikový graf – vztah ICIS a výskytu sepse (počty pacientů)

Pro ověření nulové hypotézy, že mezi hodnotami ICIS skóre a přítomností sepse u pacientů není závislost, byl použit Fisherův exaktní test. P hodnota byla menší než 0,0001, nulová hypotéza tedy byla zamítnuta. Výsledek Fisherova exaktního testu tak prokázal, že je mezi hodnotami ICIS skóre a výskytem sepse statisticky významná závislost. U pacientů se sepsí a vysokou hodnotou ICIS skóre byla prokázána statisticky významná závislost ($P < 0,0001$).

6.4.2 Analýza závislosti NLR poměru na výskytu SIRS a sepse

Prvním krokem pro statistické zpracování závislosti NLR poměru na výskytu sepse/SIRS bylo zvolení vhodné cut-off hodnoty. Jak je uvedeno v teoretické části této diplomové práce, pro parametr NLR jsou v literatuře uvedeny různé hodnoty. Z tohoto důvodu byla pro zpracování datového souboru zvolena cut-off hodnota >5 a také cut-off hodnota >10 . Pro tyto vybrané hodnoty byl proveden výpočet senzitivity, specifity, negativní prediktivní hodnoty a pozitivní prediktivní hodnoty. Také byl vypočten Youdenův index (tabulka č. 12).

Tabulka 12 Statistické údaje vypočtené pro vybrané cut-off hodnoty NLR

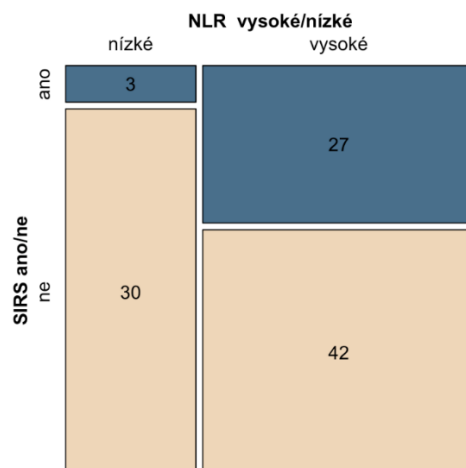
Cut-off hodnota pro NLR	Senzitivita (%)	Specificita (%)	Negativní prediktivní hodnota (%)	Pozitivní prediktivní hodnota (%)	Youdenův index
>5 pacienti se sepsí	92,86	36,36	96,97	18,84	0,29
>10 pacienti se sepsí	85,71	73,86	97,01	34,29	0,60
>5 pacienti se SIRS	90,00	41,67	90,91	39,13	0,32
>10 pacienti se SIRS	60,00	76,39	82,09	51,43	0,36

Na základě provedených výpočtů byla pro další zpracování zvolena cut-off hodnota 5. Zhodnocení závislosti NLR poměru na výskytu SIRS a sepse bylo provedeno kvalitativně. Nejprve byl datový soubor rozdělen na základě cut-off hodnoty. Hodnoty NLR ≤ 5 byly označeny za nízké, hodnoty > 5 potom za vysoké. Byla provedena analýza vztahu NLR poměru (vysoké/nízké) a výskytu SIRS (ano/ne). Vzájemný vztah těchto parametrů byl znázorněn pomocí kontingenční tabulky (tabulka č. 13).

Tabulka 13 Kontingenční tabulka – vztah NLR a výskytu SIRS (počty pacientů)

NLR poměr	SIRS		
	Ano	Ne	Celkem
Nízké	3	30	33
Vysoké	27	42	69
Celkem	30	72	102

Vizualizace dat byla provedena pomocí mozaikového grafu (graf č. 3). Z celkového počtu 30 pacientů s přítomností SIRS byla hodnota NLR vysoká (NLR > 5) u 27 z nich, pouze ve 3 případech byla hodnota NLR poměru u pacientů se SIRS nízká. U 72 pacientů bez přítomnosti SIRS byl NLR poměr vysoký u 42 pacientů a nízký u 30 z nich.



Graf 3 Mozaikový graf – vztah NLR a SIRS (počty pacientů)

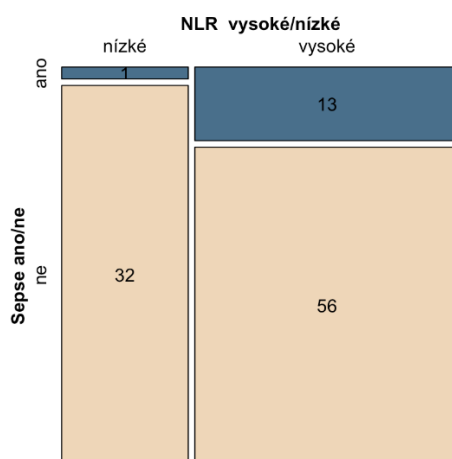
Pro testování závislosti NLR poměru a výskytu SIRS byl použit Fisherův exaktní test. Hodnota P byla rovna 0,0021 (P je menší než 0,05), nulová hypotéza, že data jsou nezávislá, byla zamítnuta. Mezi hodnotami NLR poměru a výskytem SIRS u pacientů je statisticky významná závislost. Závislost mezi pacienty se SIRS a vysokým NLR poměrem je tedy statisticky významná (P =0,0012).

Dále byla provedena analýza vztahu mezi NLR poměrem (vysoké/nízké) a výskytem sepse u pacientů (ano/ne). Pro zobrazení vzájemného vztahu byla použita kontingenční tabulka (tabulka č. 14).

Tabulka 14 Kontingenční tabulka – vztah NLR a sepse cut-off >5 (počty pacientů)

NLR poměr	Sepse		
	Ano	Ne	celkem
Nízké	1	32	33
Vysoké	13	56	69
celkem	14	88	102

Vizualizace dat byla provedena také pomocí mozaikového grafu (graf č. 4). U 13 pacientů se sepsí z celkem 14 byla zjištěna vysoká hodnota NLR poměru. Pouze u jednoho pacienta se sepsí byla hodnota NLR poměru nízká. U 56 pacientů z celkem 88 bez přítomnosti sepse byla zjištěna vysoká hladina NLR, u 32 pacientů byla hodnota NLR nízká.

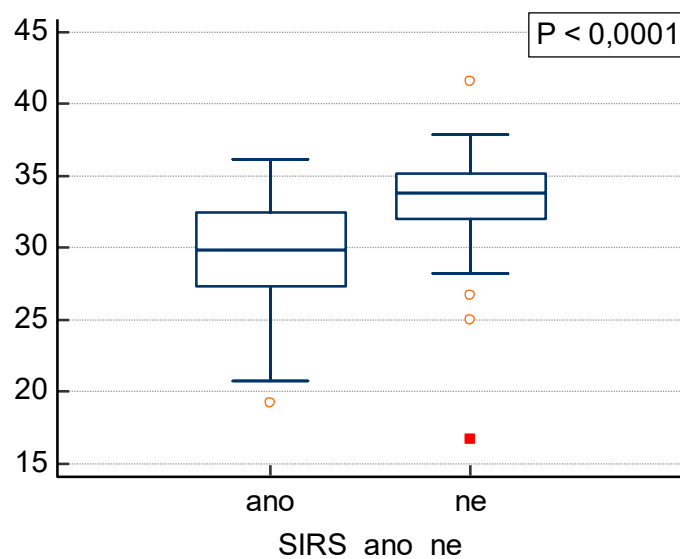


Graf 4 Mozaikový graf vztahu NLR a sepse cut off >5 (počty pacientů)

Závislost mezi NLR poměrem a výskytem sepse u pacientů byla statisticky ověřena pomocí Fisherova exaktního testu. Nulová hypotéza, že mezi daty není závislost, byla zamítnuta. Hodnota P se totiž rovnala 0,0329 (P je tedy menší než 0,05). Mezi hodnotami NLR poměru a výskytem sepse existuje statisticky významná závislost. Statisticky významná je tedy i závislost mezi pacienty se sepsí a vysokou hodnotou NLR poměru (P =0,0241).

6.4.3 Analýza závislosti parametru Ret-He na výskytu SIRS a sepse

Pro kvantitativní zhodnocení vztahu obsahu hemoglobinu v retikulocytech (Ret-He) a výskytu SIRS byl datový soubor rozdělen na 2 skupiny, první skupina tvořená 30 výsledky od pacientů se SIRS byla označená Ret-He-SIRS ano a druhá skupina tvořená 72 výsledky od pacientů bez přítomnosti SIRS označená jako Ret-He-SIRS ne. Data pro obě skupiny byla vizualizovaná pomocí krabicového grafu (graf č. 5), který umožňuje zobrazit minimum, první kvartil, medián, třetí kvartil a maximum.



Graf 5 Graf Vztah Ret-He a SIRS

Tabulka 15 Mann-Whitney U test – Ret-He a SIRS

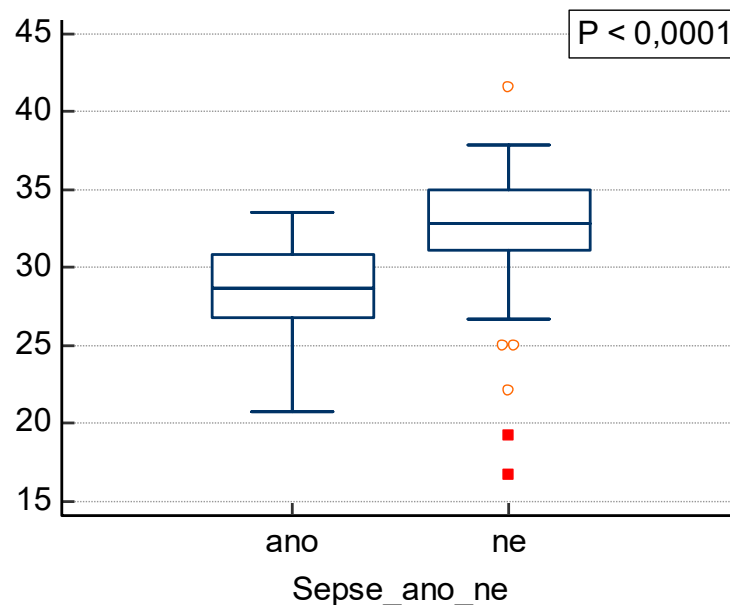
Mann-Whitney U test	
Průměrné pořadí skupiny Ret-He-SIRS ano	30,3333
Průměrné pořadí skupiny Ret-He-SIRS ne	60,3194
Mann-Whitney U	445,00
Testová statistika Z (po korekci shodných hodnot)	-4,664
P hodnota pro oboustranný test	<0,0001
P hodnota pro jednostranný test	<0,0001

Z krabicového grafu č. 5 a tabulky č. 15 je patrné, že hodnoty Ret-He jsou u pacientů se SIRS nižší než u pacientů bez SIRS. Pro další statistické zhodnocení byl použitý Mann-Whitneyho U test. Jako nulová byla zvolena hypotéza, že mezi hodnotami parametru Ret-He u pacientů se SIRS a bez výskytu SIRS není rozdíl.

Jak je vidět v tabulce č. 15, hodnota P je menší než 0,05, nulová hypotéza je zamítnuta. Mezi hodnotami Ret-He je statisticky významný rozdíl. Dále byla také otestována nulová hypotéza, že hodnoty Ret-He u pacientů se SIRS nejsou nižší než u pacientů bez výskytu SIRS.

Testování bylo provedeno pomocí jednostranného Mann-Whitneyho U testu s levostrannou alternativní hypotézou. Hodnota P je menší než 0,05. Hodnoty Ret-He u pacientů se SIRS jsou statisticky významně nižší než u pacientů bez SIRS.

V dalším kroku byl statisticky hodnocen vztah parametru Ret-He a přítomností sepse u pacientů. Datový soubor byl opět rozdělen na dvě skupiny, a to na skupinu tvořenou 14 výsledky od pacientů se sepsí označenou jako Ret-He-sepse ano a skupinou obsahující 88 výsledků od pacientů bez sepse značenou Ret-He-sepse ne. Data pro obě tyto skupiny byla vizualizována pomocí krabicového grafu (graf č. 6), jenž umožňuje zobrazit minimum, první kvartil, medián, třetí kvartil a maximum.



Graf 6 Krabicový graf Ret-He při sepsi

Z grafu č. 6 je vidět, že pacienti se sepsí mají nižší hodnoty Ret-He. Pomocí Mann-Whitneyho U testu byla ověřena nulová hypotéza, že není rozdíl mezi hodnotami Ret-He u pacientů se sepsí a bez sepse. Jak je vidět v tabulce č. 16, hodnota P je menší než 0,05, mezi hodnotami Ret-He je tedy statisticky významný rozdíl.

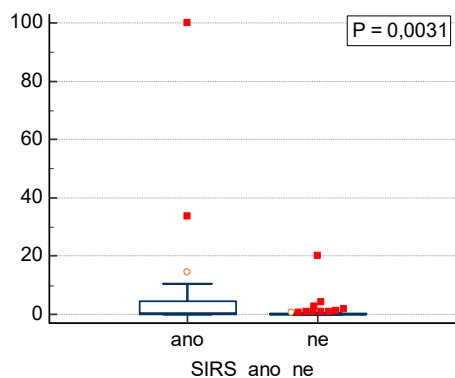
Tabulka 16 Mann-Whitney U test – Ret-He a sepse

Mann-Whitney U test	
Průměrné pořadí skupiny Ret-He-sepse ano	21,5000
Průměrné pořadí skupiny Ret-He-sepse ne	56,2727
Mann-Whitney U	196,00
Testová statistika Z (po korekci shodných hodnot)	-4,085
P hodnota pro oboustranný test	<0,0001
P hodnota pro jednostranný test	<0,0001

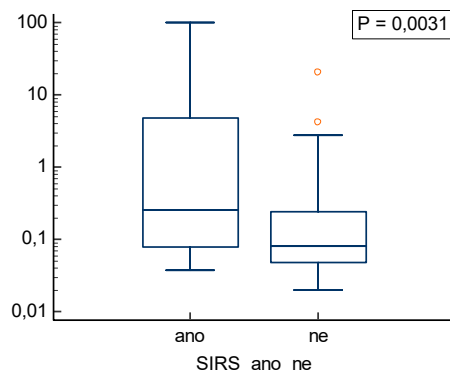
Následně byla ověřena nulová hypotéza, že hodnoty Ret-He u pacientů se sepsí nejsou nižší než u pacientů bez výskytu sepse. K tomu byl použitý jednostranný Mann-Whitney U test s levostrannou alternativní hypotézou. Hodnota P je opět menší než 0,05, pacienti se sepsí mají statisticky významně menší hodnoty Ret-He než pacienti bez sepse.

6.4.4 Analýza závislosti parametru PCT na výskytu SIRS a sepse

Pro kvantitativní zhodnocení vztahu PCT a výskytu SIRS u pacientů byl datový soubor rozdělen na 2 skupiny. První skupinu, označenou PCT-SIRS ano, tvořilo 30 výsledků od pacientů se SIRS a druhou skupinu, označenou PCT-SIRS ne, tvořilo 72 výsledků od pacientů bez výskytu SIRS. Data těchto skupin byla vizualizována pomocí krabicového grafu č. 7a, který zobrazuje minimum, první kvartil, medián, třetí kvartil a maximum.



Graf 7a Krabicový graf PCT při SIRS



Graf 7b Krabicový graf PCT při SIRS (upravený)

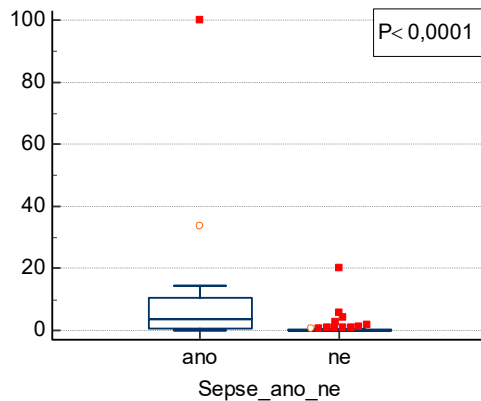
Z krabicového grafu (graf č. 7a) není případný rozdíl mezi hodnotami pro obě skupiny pacientů příliš viditelný. Pro větší přehlednost bylo proto provedeno zlogaritmování osy y (graf č. 7b). Jak je z grafu patrné, hodnoty PCT jsou u skupiny pacientů se SIRS vyšší než u pacientů bez výskytu SIRS.

Nejprve byla pomocí Mann-Whitneyho U testu ověřena nulová hypotéza, že mezi hodnotami PCT není rozdíl. Jak ukazuje tabulka č. 17, P hodnota je menší než 0,05, mezi hodnotami PCT je statisticky významný rozdíl. Pomocí jednostranného Mann-Whitneyho U testu s pravostrannou alternativní hypotézou byla také ověřena nulová hypotéza, že u pacientů se SIRS nejsou hodnoty významně vyšší. Hodnota P je i v tomto případě menší než 0,05. Hodnoty PCT u pacientů se SIRS jsou statisticky významně vyšší než u pacientů bez přítomnosti SIRS.

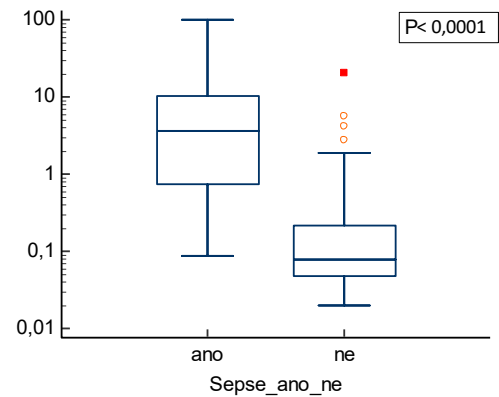
Tabulka 17 Mann-Whitney U test – PCT a SIRS

Mann-Whitney U test	
Průměrné pořadí skupiny PCT-SIRS ano	64,9167
Průměrné pořadí skupiny PCT-SIRS ne	45,9097
Mann-Whitney U	677,50
Testová statistika Z (upravená)	2,957
P hodnota pro oboustranný test	0,0031
P hodnota pro jednostranný test	0,0016

Dále byla provedena analýza vztahu PCT a výskytu sepse. Data byla rozdělena do 2 skupin: první skupina označená PCT-sepse ano obsahuje 14 výsledků od pacientů se sepsí, druhá skupina obsahuje 88 výsledků od pacientů bez sepse a je označená jako PCT-sepse ne. Pro zobrazení dat z obou skupin byl vytvořen krabicový graf č. 8a, který umožňuje vizualizovat minimum, první kvartil, medián, třetí kvartil a maximum.



Graf 8a Krabicový graf PCT při sepsi



Graf 8b Krabicový graf PCT při sepsi (upravený)

Z krabicového grafu č. 8a nebyl rozdíl v hodnotách mezi oběma skupina příliš patrný, pro lepší přehlednost bylo tedy provedeno zlogaritmování osy y (graf č. 8b). Je patrné, že hodnoty PCT jsou u pacientů se sepsí vyšší než u pacientů bez sepse. Pro testování hypotézy, že PCT nejsou rozdílné, byl použit Mann-Whitneyho U test, jehož výsledek je uveden v tabulce č. 18. P hodnota je menší než 0,05, hodnoty PCT jsou tedy statisticky významně rozdílné.

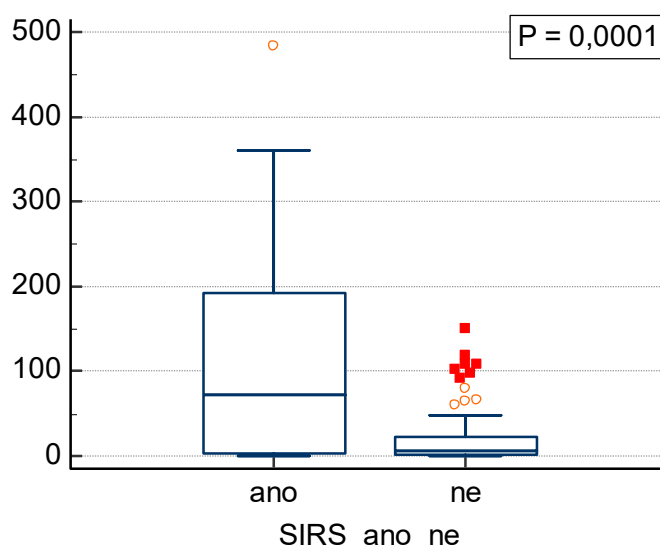
Tabulka 18 Mann-Whitney U test – PCT a sepse

Mann-Whitney U test	
Průměrné pořadí skupiny PCT-sepse ano	87,3929
Průměrné pořadí skupiny PCT-sepse ne	45,7898
Mann-Whitney U	113,50
Testová statistika Z (upravená)	4,888
P hodnota pro oboustranný test	<math>< 0,0001</math>
P hodnota pro jednostranný test	<math>< 0,0001</math>

Dále byla pomocí jednostranného Mann-Whitneyho U testu s pravostrannou alternativou testována hypotéza, že u septických pacientů nejsou hodnoty významně vyšší. P hodnota je také menší než 0,05. Hodnoty PCT u pacientů se sepsí jsou statisticky významně vyšší než u pacientů bez sepse.

6.4.5 Analýza závislosti CRP na výskytu SIRS a sepse

Pro kvantitativní analýzu závislosti hodnot C-reaktivního proteinu na přítomnosti SIRS byla data nejprve rozdělena do dvou skupin. První skupina byla tvořena 30 výsledky od pacientů se SIRS a byla označena CRP-SIRS ano. Druhá skupina obsahovala 72 výsledků od pacientů bez přítomnosti SIRS. Vizualizace dat byla provedena pomocí krabicového grafu č. 9, jenž zobrazuje minimum, první kvartil, medián, třetí kvartil a maximum.



Graf 9 Krabicový graf CRP při SIRS

Z krabicového grafu č. 9 je patrný rozdíl v hodnotách CRP u pacientů se SIRS a u pacientů bez přítomnosti SIRS.

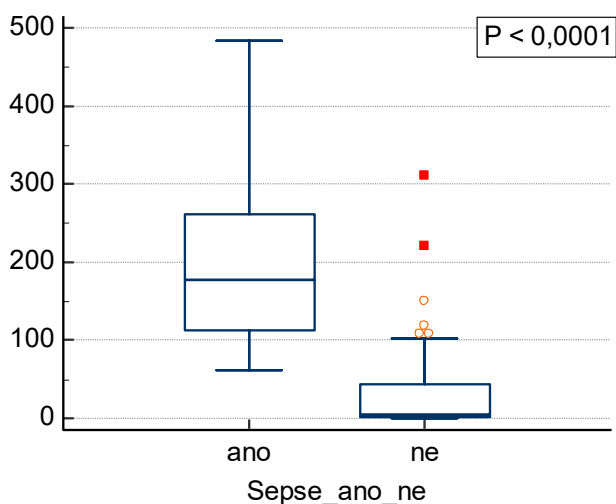
V tabulce č. 19 jsou uvedeny výsledky Mann-Whitneyho U testu. Pomocí tohoto testu bylo zjištěno, že rozdíl v hodnotách CRP je statisticky významný (P je menší než 0,05).

Pomocí jednostranného Mann-Whitneyho U testu s pravostrannou alternativní hypotézou bylo také zjištěno, že hodnoty CRP u pacientů se SIRS jsou významně vyšší.

Tabulka 19 Mann-Whitney U test – CRP a SIRS

Mann-Whitney U test	
Průměrné pořadí skupiny CRP-SIRS ano	69,1667
Průměrné pořadí skupiny CRP-SIRS ne	44,1389
Mann-Whitney U	550,00
Testová statistika Z (upravená)	3,893
P hodnota pro oboustranný test	0,0001
P hodnota pro jednostranný test	0,0001

Dále byla provedena kvantitativní analýza vztahu C-reaktivního proteinu a výskytu sepse. Data byla rozdělena do dvou skupin. Jednu skupinu tvořilo 14 výsledků od pacientů se sepsí (skupina CRP-sepse ano), druhá skupina obsahovala 88 výsledků pacientů bez sepse (skupina CRP-sepse ne). Vizualizace dat byla provedena pomocí krabicového grafu č. 10, který umožňuje zobrazit minimum, první kvartil, medián, třetí kvartil a maximum.



Graf 10 Krabicový graf CRP při sepsi

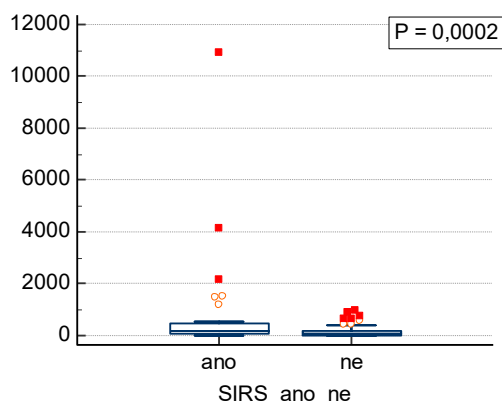
Z krabicového grafu je patrný rozdíl v hodnotách CRP u pacientů se sepsí a u pacientů bez sepse. Pomocí Mann-Whitneyho U testu bylo zjištěno, že rozdíl v hodnotách CRP je statisticky významný (P hodnota <0,05). Pomocí jednostranného Mann-Whitneyho U testu (s pravostrannou alternativní hypotézou) bylo také zjištěno, že hodnoty CRP u pacientů se SIRS jsou významně vyšší (P hodnota <0,05). Výsledky statistického zpracování jsou uvedeny v tabulce č. 20.

Tabulka 20 Mann-Whitney U test – CRP a sepse

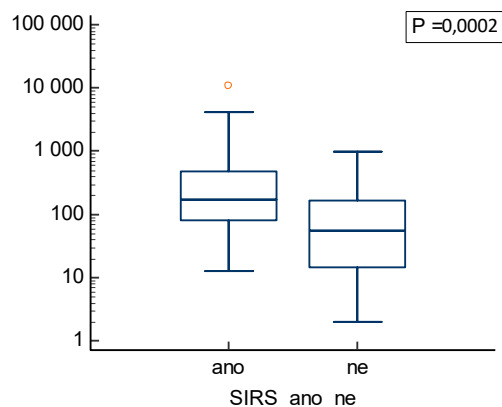
Mann-Whitney U test	
Průměrné pořadí skupiny CRP-sepse ano	91,7143
Průměrné pořadí skupiny CRP-sepse ne	45,1023
Mann-Whitney U	53,00
Testová statistika Z (upravená)	5,475
P hodnota pro oboustranný test	<0,0001
P hodnota pro jednostranný test	<0,0001

6.4.6 Analýza závislosti vztahu IL-6 na výskytu SIRS a sepse

Pro kvantitativní analýzu vztahu hodnot interleukinu 6 a přítomnosti SIRS u pacientů byl nejprve datový soubor rozdělen na dvě skupiny. Skupina IL6-SIRS ano obsahovala 30 výsledků od pacientů se SIRS, druhá skupina IL6-SIRS ne obsahovala 72 výsledků od pacientů bez přítomnosti SIRS. Pro zobrazení dat byl vytvořený krabicový graf č. 11a, který vizuálně znázorňuje minimum, první kvartil, medián, třetí kvartil a maximum.



Graf 11a Krabicový graf IL-6 při SIRS



Graf 11b Krabicový graf IL-6 při SIRS (upravený)

Z krabicového grafu č. 11a není případný rozdíl mezi hodnotami pro skupinu pacientů se SIRS a pacientů bez přítomnosti SIRS příliš viditelný. Pro větší přehlednost bylo proto provedeno zlogaritmování osy y.

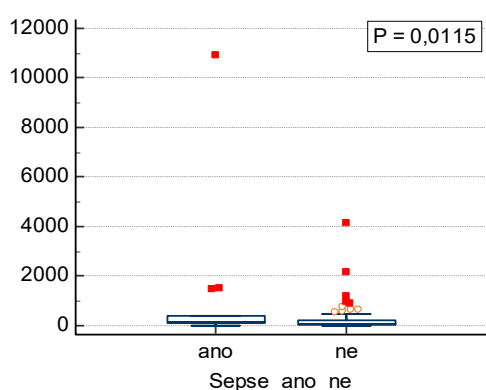
Z krabicové grafu č. 11b je patrné, že hodnoty IL-6 jsou u pacientů se SIRS a u pacientů bez přítomnosti SIRS rozdílné. To bylo také potvrzeno pomocí Mann-Whitneyho U testu (tabulka č. 21), kdy hodnota P byla menší než 0,05.

Byla také testována hypotéza, zda je u pacientů se SIRS statisticky významně vyšší hodnota IL-6. Pro potvrzení byl použitý jednostranný Mann-Whitneyho U test s pravostrannou alternativní hypotézou. Tímto testem bylo potvrzeno, že hodnoty u pacientů se SIRS jsou statisticky významně vyšší.

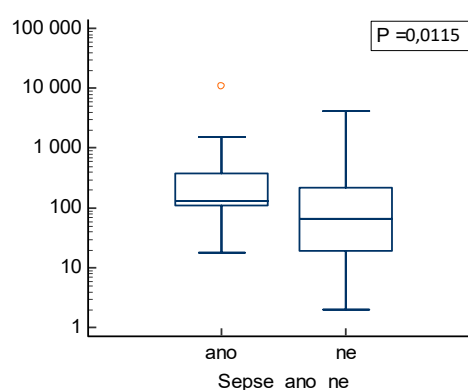
Tabulka 21 Mann-Whitney U test – IL-6 a SIRS

Mann-Whitney U test	
Průměrné pořadí skupiny IL6-SIRS ano	68,3833
Průměrné pořadí skupiny IL6-SIRS ne	44,4653
Mann-Whitney U	573,50
Testová statistika Z (upravená)	3,720
P hodnota pro oboustranný test	0,0002
P hodnota pro jednostranný test	0,0001

Následně byl také kvantitativně zhodnocený vztah mezi hodnotami interleukinu 6 a výskytem sepse u pacientů. Data byla opět rozdělena na skupinu IL6-sepse ano, kterou tvořilo 14 výsledků od pacientů se sepsí, a skupinu IL-6-sepse ne, která obsahovala 88 výsledků pacientů bez sepse. Data pro obě skupiny byla zobrazena pomocí krabicového grafu č. 12a, který umožňuje zobrazit minimum, první kvartil, medián, třetí kvartil a maximum.



Graf 12a Krabicový graf pro IL-6 při sepsi



Graf 12b Krabicový graf pro IL-6 sepsi (upravený)

V tomto grafu není rozdíl mezi oběma skupinami příliš viditelný. Pro větší přehlednost bylo tedy opět provedeno zlogaritmování osy y (graf č. 12b).

Jak je vidět z grafu č. 12b, hodnoty IL-6 jsou zřejmě rozdílné pro skupinu pacientů se sepsí a pro pacienty bez sepse. Tato hypotéza byla testována pomocí Mann-Whitneyho U testu. Jak ukazuje tabulka č. 22, P hodnota je menší než 0,05. Hodnoty IL-6 u pacientů se sepsí a bez sepse jsou statisticky významně rozdílné.

Testována byla i nulová hypotéza, že hodnoty IL-6 u pacientů se sepsí nejsou významně vyšší. P hodnota jednostranného Mann-Whitneyho U testu s pravostrannou alternativní hypotézou byla menší než 0,05. Hodnoty IL-6 u pacientů se sepsí jsou statisticky významně vyšší.

Tabulka 22 Mann-Whitney U test – IL-6 a sepse

Mann-Whitney U test	
Průměrné pořadí skupiny IL6-sepse ano	70,0714
Průměrné pořadí skupiny IL6-sepse ne	48,5455
Mann-Whitney U	356,00
Testová statistika Z (upravená)	2,528
P hodnota pro oboustranný test	0,0115
P hodnota pro jednostranný test	0,0058

7. DISKUSE

Pomocí statistické analýzy získaných dat byla zkoumána závislost vybraných hematologických parametrů Ret-He, ICIS skóre, NLR poměru na výskytu sepse či SIRS u sledované skupiny pacientů. Z celkového počtu 102 pacientů byla sepsa přítomna u 14 pacientů a SIRS u 30 pacientů.

V případě parametru Ret-He bylo pomocí Mann-Whitneyho U testu zjištěno, že mezi hodnotami tohoto parametru u pacientů se SIRS a bez přítomnosti SIRS je statisticky významný rozdíl ($P < 0,0001$). Byla také potvrzena hypotéza, že hodnoty Ret-He u pacientů se SIRS jsou statisticky významně nižší, než tomu je u pacientů bez přítomnosti SIRS ($P < 0,0001$). Stejněho zjištění bylo dosaženo také v případě skupiny pacientů se sepsí. Na základě Mann-Whitneyho U testu byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi hodnotami Ret-He u pacientů se sepsí a bez sepse ($P < 0,0001$). Pacienti se sepsí mají také statisticky významně nižší hodnoty Ret-He ($P < 0,0001$). Tyto výsledky se shodují se studií z roku 2020, jejímž cílem bylo zkoumání využití hepcidinu a Ret-He jako biomarkerů septického šoku. Koncentrace Ret-He u pacientů se septickým šokem se v prvních 72 hodinách kontinuálně snižovala. (55)

U parametru ICIS byla nejprve vypočítána senzitivita, specifická, negativní prediktivní hodnota a pozitivní prediktivní hodnota pro vybranou cut-off hodnotu ≥ 4 a hodnotu ≥ 5 . Pro další statistické zpracování byla zvolena cut-off hodnota ≥ 4 , ačkoli vypočtený Youdenův index v případě pacientů se sepsí vyšel lépe pro cut-off ≥ 5 (0,63; respektive 0,74). Důvodem pro zvolení hodnoty ≥ 4 , bylo sjednocení doporučení cut-off hodnoty pro obě skupiny pacientů (tedy pacientů se SIRS i se sepsí). ICIS patří mezi laboratorní markery pro časný záchyt sepse, tudíž je s ohledem na klinický cíl daného markeru důležitější senzitivita. Senzitivita byla pro obě cut-off hodnoty u pacientů se sepsí stejná a negativní prediktivní hodnota také (viz tabulka č. 9). U pacientů se SIRS byla dokonce senzitivita a negativní prediktivní hodnota pro cut-off hodnotu ≥ 4 vyšší (viz tabulka č. 9). V neposlední řadě byla důvodem pro zvolení cut-off ≥ 4 také i možná chyba malých čísel, kdy skupina pacientů se sepsí je méně početná a může být zatížena větší chybou. Další zpracování dat bylo provedeno kvalitativně využitím kontingenčních tabulek. U pacientů se SIRS bylo vysoké ICIS skóre přítomno

u 28 pacientů z 30, nízké hodnoty ICIS skóre byly u 61 ze 72 pacientů bez SIRS. Pomocí Fisherova exaktního testu bylo prokázáno, že mezi hodnotami ICIS a přítomností SIRS existuje statisticky významná závislost ($P < 0,0001$). Byla také prokázána statisticky významná závislost mezi pacienty se SIRS a vysokým ICIS skóre ($P < 0,0001$). V případě skupiny pacientů se sepsí byla zvýšená hodnota ICIS přítomna u 13 ze 14 pacientů se sepsí, z celkového počtu 88 pacientů bez sepse byla nízká hodnota ICIS zjištěna u 62. Pomocí Fisherova exaktního testu byla prokázána statisticky významná závislost mezi hodnotami ICIS skóre a výskytem sepse ($P < 0,0001$). Pacienti se sepsí mají statisticky významně vyšší hodnoty ICIS skóre ($P < 0,0001$). V případě jednoho pacienta se sepsí, kde byla vstupně hodnota ICIS menší než 4 (ICIS =3), došlo ke zvýšení této hodnoty po 24 hodinách od hospitalizace.

U dalšího zkoumaného parametru NLR byla opět vypočtena senzitivita, specifita, negativní prediktivní hodnota a pozitivní prediktivní hodnota pro dvě vybrané cut-off hodnoty, a to $NLR > 5$ a $NLR > 10$. Pro další zpracování dat byla zvolena cut-off hodnota > 5 i přesto, že Youdenův index vyšel lépe pro cut-off hodnotu > 10 (viz tabulka č. 12). Důvodem, bylo opět sjednocení doporučení cut-off hodnoty pro obě skupiny pacientů (se SIRS a se sepsí) a přihlídnutí k senzitivě, která je u tohoto markeru důležitější. Pro obě skupiny pacientů (tedy se SIRS i se sepsí) byla vypočtena vyšší senzitivita pro cut-off > 5 (90 % a 92,86 %; respektive 60 % a 85,71 %). V případě skupiny pacientů se SIRS byla vypočtena i vyšší negativní prediktivní hodnota (90,91 %; respektive 82,09 %). U pacientů se sepsí je negativní prediktivní hodnota prakticky stejná pro obě cut-off hodnoty (96,97 %; respektive 97,01 %). Stejná cut-off hodnota $NLR > 5$ pro marker sepse byla zvolena i ve studii z roku 2019, kde cut-off hodnota > 5 byla spojena se senzitivitou vyšší než 80 % a nižší specifitou. Tato zjištění korelují s naším výsledkem, kdy senzitivita pro tuto cut-off hodnotu u pacientů se sepsí byla 92,86 % a specifita 36,36 %. Při predikci sepse je preferovaná volba vyšší senzitivity pro identifikaci jedinců, u kterých může dojít k rozvinutí tohoto stavu. (55)

Další zpracování dat bylo provedeno kvalitativně využitím kontingenčních tabulek. U pacientů se sepsí bylo očekávané zvýšení NLR zjištěno u 13 pacientů ze 14. Nízký NLR pod hodnotu 5 byl zjištěn u totožného pacienta se sepsí jako v případě nízkého ICIS. Nízký NLR poměr byl u pacientů bez sepse u 32 pacientů z 88. Pomocí Fisherova

exaktního testu byla potvrzena statisticky významná závislost mezi hodnotou NLR poměru a pacienty se sepsí ($P < 0,0001$). Statisticky významná byla prokázána i závislost mezi pacienty se sepsí a vysokou hodnotou NLR poměru ($P = 0,0241$). V případě skupiny pacientů se SIRS byla hodnota NLR vysoká u 27 pacientů ze 30. U pacientů bez výskytu SIRS byly nízké hodnoty NLR poměru u 30 pacientů ze 72. Pomocí Fisherova exaktního testu byla potvrzena statisticky významná závislost mezi vysokou hodnotou NLR poměru a pacienty se SIRS ($P < 0,0001$), statisticky významná závislost je i mezi pacienty se SIRS a vysokým NLR ($P = 0,0012$).

Dále byla provedena statistická analýza závislosti vybraných biochemických parametrů IL-6, CRP a PCT na výskytu sepse a SIRS. Analýza těchto parametrů byla provedena kvantitativně. Jak bylo uvedeno v teoretické části diplomové práce, tyto parametry patří k nejpoužívanějším parametrům v diagnostice pacientů se sepsí. V případě zánětlivých procesů dochází k výraznému vzestupu jejich koncentrace.

Očekávané zvýšení koncentrace PCT a CRP u pacientů se sepsí a se SIRS bylo potvrzeno pomocí Mann-Whitneyho U testu. Byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi hodnotami PCT u pacientů se SIRS a pacientů bez přítomnosti SIRS ($P = 0,0031$). Hodnoty PCT u pacientů se SIRS jsou také statisticky významně vyšší než u pacientů bez výskytu SIRS ($P = 0,0016$). Využitím Mann-Whitneyho testu byl také zjištěn statisticky významný rozdíl mezi hodnotami PCT u pacientů se sepsí a bez sepse ($P < 0,0001$). Pacienti se sepsí měli statisticky významně vyšší hodnoty PCT než pacienti bez sepse ($P < 0,0001$). Stejný výsledek pak poskytla statistická analýza pro parametr CRP. Byl zjištěn statisticky významný rozdíl v hodnotách CRP u pacientů se sepsí a pacientů bez sepse ($P < 0,0001$). Hodnoty CRP jsou také statisticky významně vyšší u pacientů se sepsí ($P < 0,0001$). Stejně tak byl statisticky významný rozdíl mezi hodnotami CRP u pacientů se SIRS a bez přítomnosti SIRS ($P = 0,0001$). Hodnoty CRP jsou statisticky významně vyšší u pacientů se SIRS ($P = 0,0001$).

V případě IL-6 bylo také pomocí Mann-Whitneyho testu potvrzeno, že hodnoty IL-6 u pacientů se SIRS a hodnoty u pacientů bez výskytu SIRS jsou rozdílné ($P = 0,0002$). Hodnoty IL-6 u pacientů se SIRS jsou statisticky významně vyšší ($P = 0,0001$). V případě pacientů se sepsí byl také potvrzen statisticky významný rozdíl mezi hodnotami IL-6

u pacientů se sepsí a bez sepse ($P = 0,0115$). Pacienti se sepsí mají statisticky významně vyšší hodnoty IL-6 ($P = 0,0058$).

8. ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo porovnání vybraných laboratorních markerů pro časný záchyt SIRS a především sepse s klinickým stavem pacientů. Analýzou získaných dat se podařilo prokázat, že v případě SIRS/sepse byly všechny sledované parametry statisticky významně zvýšené, v případě Ret-He snižené, oproti skupině pacientů bez SIRS a/nebo sepse. Proto se tyto sledované parametry jeví jako vhodné markery pro včasný záchyt SIRS/sepse.

Velmi výhodné je využití rutinních laboratorních metod jako je Ret-He, NLR, ICIS a CRP, které se mohou provádět v režimu 24 hodin denně, 7 dní v týdnu, mají velmi rychlou dobou odezvy (cca 30 minut), jsou poměrně levné a dostupné i v nemocnicích nižšího typu.

V současnosti je velký trend pro jednoduchost a přehlednost využívat skórovací systémy s přesně danou cut-off hranicí. V naší práci se jedná o parametry NLR a především ICIS, k jehož výpočtu se využívá dokonce 5 laboratorních markerů, které se účastní přirozené imunitní reakce organismu a dynamicky se mění v průběhu infekce.

Pro námi stanovené cut-off hranice jsou oba parametry dostatečně senzitivní a mají vysokou negativní prediktivní hodnotu. Senzitivita NLR u pacientů se SIRS a sepsí při cut-off hodnotu >5 byla 90 %; respektive 92,86 % a negativní prediktivní hodnota byla 90,91 %; respektive 96,97 %. Senzitivita ICIS u pacientů se SIRS a sepsí při cut-off hodnotě ≥ 4 byla dokonce 93,33 %; respektive 92,86 % a negativní prediktivní hodnota byla 96,83 %; respektive 98,41 %. Proto se ze sledovaných markerů jeví ICIS jako nejvhodnější parametr pro včasný záchyt SIRS a/nebo sepse.

Parametry IL-6 a PCT vykazovaly také statisticky významně vyšší hodnoty u skupiny pacientů se SIRS či sepsí, ale jsou metodologicky i finančně náročnější a pro menší pracoviště mají omezenou dostupnost, také doba odezvy klinickým pracovníkům je delší.

Tato statistická analýza měla určité limity. Pro ověření výsledků, by bylo vhodné provedení další analýzy na větším souboru pacientů, a to především s vyšším zastoupením pacientů se SIRS a sepsí.

Sepse je závažný a život ohrožující stav, jehož včasná a přesná diagnostika je klíčová pro zahájení účinné terapie a snížení rizika mortality. V současnosti je k dispozici velké množství biomarkerů, které se jeví pro včasnou diagnostiku sepse jako užitečné, ale žádný z nich není pro průkaz sepse specifický. V tomto případě je vhodné kombinovat dostatečně senzitivní a dobře dostupné laboratorní testy a korelovat je s klinickým stavem pacienta. Slibným trendem je využívání skórovacích systémů, které jsou komplexnější a pro klinické pracovníky přehlednější.

9. POUŽITÉ ZKRATKY

aIG#	absolutní počet nezralých granulocytů
aPTT	aktivovaný parciální tromboplastinový čas
ASL	protilátky produkující lymfocyty
AUC	plocha pod křivkou (Area under the curve)
CARS	kompensační protizánětlivá reakce (Compensatory Anti-Inflammatory Reaction)
CD	povrchový znak
CRP	C-reaktivní protein
DAMPs	molekulární vzory asociované s poškozením (damage associated molecular patterns)
dCHC	rozdíl v množství hemoglobinu mezi nezralými a zralými erytrocyty
DIC	diseminovaná intravaskulární koagulace
ELAM-1	endoteliální adhezní molekula leukocytů 1
FcγRI	Fc-gamma receptor I
FDP	fibrin/fibrinogen degradační produkty
HIV	virus lidského imunodeficitu
HLA-DR	lidský leukocytární antigen DR
ICAM-1	intracelulární adhezivní molekula 1
ICIS skóre	Intensive Care Infection Score
IL	interleukin
IPF	frakce nezralých trombocytů (immature platelet fraction)
JIP	jednotka intenzivní péče
K ₃ EDTA	chelatonát trojdraselný
LBP	lipopolysacharid vázající protein
LPS	lipopolysacharid
MARS	Mixed Antagonistic Response Syndrom

MCH	koncentrace hemoglobinu v erytrocytu
MCV	střední objem erytrocytu
MIF	inhibiční faktor migrace makrofágů
MODS	syndrom multiorgánové dysfunkce
NLR	poměr počtu neutrofilů a lymfocytů (Neutrophil to Lymphocyte Ratio)
NOD	like receptor - nucleotid-binding oligomerization domain
PAF	destičky aktivující faktor
PAI-1	inhibitor aktivátoru plazminogenu 1
PAMPs	molekulární vzory asociované s patogeny (patogen associated molecular patterns)
PCT	procalcitonin
PRRs	receptory rozeznávající molekulové vzory (pattern recognition receptors)
PT	protrombinový čas
qSOFA	quick SOFA
Ret-He	obsah hemoglobinu v retikulocytech
ROC	Receiver operating characteristic
SIRS	syndrom systémové zánětové reakce (systemic inflammatory response syndrome)
sNFI	intenzita fluorescence zralých (segmentovaných) neutrofilů
sN#	absolutní počet zralých (segmentovaných) neutrofilů
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment
TFPI	inhibitor tkáňového faktoru
TNF α	tumor nekrotizující faktor α
VCAM-1	vaskulární buněčný adhezní protein 1

10. SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 SOFA skóre (7)	13
Tabulka 2 qSOFA skóre (8)	14
Tabulka 3 Příklady možných biomarkerů sepse (24).....	20
Tabulka 4 Koncentrace prokalcitoninu u jednotlivých klinických stavů (31)	22
Tabulka 5 Parametry pro výpočet ICIS skóre (61)	37
Tabulka 6 Hodnoty skóre pro jednotlivé parametry (63)	37
Tabulka 7 Charakteristika vyšetřovaného souboru	40
Tabulka 8 Reagencie používané na analyzátoru Sysmex XN-10 (68)	42
Tabulka 9 Statistické údaje vypočtené pro vybrané cut-off hodnoty ICIS	45
Tabulka 10 Kontingenční tabulka – vztah ICIS a SIRS (počty pacientů).....	45
Tabulka 11 Kontingenční tabulka – vztah ICIS a výskytu sepse (počty pacientů)	46
Tabulka 12 Statistické údaje vypočtené pro vybrané cut-off hodnoty NLR.....	48
Tabulka 13 Kontingenční tabulka – vztah NLR a výskytu SIRS (počty pacientů)	48
Tabulka 14 Kontingenční tabulka – vztah NLR a sepse cut-off >5 (počty pacientů)	49
Tabulka 15 Mann-Whitney U test – Ret-He a SIRS	51
Tabulka 16 Mann-Whitney U test – Ret-He a sepse	53
Tabulka 17 Mann-Whitney U test – PCT a SIRS.....	54
Tabulka 18 Mann-Whitney U test – PCT a sepse	55
Tabulka 19 Mann-Whitney U test – CRP a SIRS	57
Tabulka 20 Mann-Whitney U test – CRP a sepse	58
Tabulka 21 Mann-Whitney U test – IL-6 a SIRS.....	59
Tabulka 22 Mann-Whitney U test – IL-6 a sepse	61

11. SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Vztahy mezi infekcí, SIRS a sepsí (3)	10
Obrázek 2 Kinetika prokalcitoninu a dalších markerů (34)	23
Obrázek 3 Stanovení exprese znaku CD64 na monocytech a neutrofilech pomocí průtokové cytometrie u zdravého a septického pacienta (38).....	25
Obrázek 4 Leukocyt s toxickou granulací a Döhleho tělísky (48)	28
Obrázek 5 Scattergram znázorňující parametr IPF (51)	29
Obrázek 6 Schistocyty v nátěru periferní krve (44).....	32
Obrázek 7 Vývoj hodnot ICIS skóre v průběhu infekce (61).....	38

12. SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 Mozaikový graf – závislost ICIS na přítomnosti SIRS (počty pacientů).....	46
Graf 2 Mozaikový graf – vztah ICIS a výskytu sepse (počty pacientů)	47
Graf 3 Mozaikový graf – vztah NLR a SIRS (počty pacientů)	49
Graf 4 Mozaikový graf vztahu NLR a sepse cut off >5 (počty pacientů)	50
Graf 5 Graf Vztah Ret-He a SIRS	51
Graf 6 Krabicový graf Ret-He při sepsi	52
Graf 7a Krabicový graf PCT při SIRS.....	54
Graf 7b Krabicový graf PCT při SIRS (upravený)	54
Graf 8a Krabicový graf PCT při sepsi	55
Graf 8b Krabicový graf PCT při sepsi (upravený).....	55
Graf 9 Krabicový graf CRP při SIRS	56
Graf 10 Krabicový graf CRP při sepsi	57
Graf 11a Krabicový graf IL-6 při SIRS.....	59
Graf 11b Krabicový graf IL-6 při SIRS (upravený)	59
Graf 12a Krabicový graf pro IL-6 při sepsi	60
Graf 12b Krabicový graf pro IL-6 sepsi (upravený).....	60

13. POUŽITÁ LETERATURA

1. HOLUB, Michal. Definice sepse a septického šoku. *Klinická biochemie a metabolismus* [online]. 2018, **26**(47), 76-78 [cit. 2020-10-30]. Dostupné z: http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2018/2018-2/KBM_2_2018-Holub-76.pdf
2. MÁCA, J., P. SKLIENKA, P. RELMER a M. HOLUB. Nová definice sepse (Sepsis-3): cíle, přednosti a kontroverze. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie* [online]. 2018, **67**(1), 36-43 [cit. 2020-10-05]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/epidemiologie/2018-1-12/nova-definice-sepse-sepsis-3-cile-prednosti-a-kontroverze-63471>
3. PROSPEKT Presepsin - čas rozhoduje. *Medesa* [online]. 2015, s. 1-19 [cit. 2020-11-07]. Dostupné z: http://www.medesa.cz/wp-content/uploads/2015/03/PROSPEKT-CZ_PRESEPSIN-%C4%8Cas-rozhoduje.pdf
4. PRŮCHA, M. a V. MAŤOŠKA. PIRO koncept – „P“ (predispozice) a sepse. *Anesteziologie a intenzivní medicína* [online]. 2005, **16**(4), 203-209 [cit. 2020-10-28]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/anesteziologie-intenzivni-medicina/2005-4/piro-koncept-p-predispozice-a-sepse-5750>
5. HOLUB, M. a O. BERAN. Nová definice sepse a septického šoku – Sepsis-3. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství* [online]. 2016, **22**(4), 141-143 [cit. 2020-10-21]. Dostupné z: <https://www.trios.cz/wp-content/uploads/sites/149/2018/05/KMIL0416.pdf>
6. SKLIENKA, P., J. BENEŠ a J. MÁCA. Definice sepse 2016 (Sepsis-3). *Anesteziologie a intenzivní medicína* [online]. 2016, **27**(5), 302-308 [cit. 2020-10-29]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/anesteziologie-intenzivni-medicina/2016-5/definice-sepse-2016-sepsis-3-59644/download?hl=cs>
7. GÜL, Fethi, Mustafa Kemal ARSLANTAS, Ismail CINEL a Anand KUMAR. Changing Definitions of Sepsis. *Turkish Journal of Anesthesia and Reanimation* [online]. 2017, **45**(3), 129-138 [cit. 2020-11-01]. ISSN 21490937. Dostupné z: doi:10.5152/TJAR.2017.93753

8. MARIK, Paul E. a Abdalsamih M. TAEB. SIRS, qSOFA and new sepsis definition. *Journal of Thoracic Disease* [online]. 2017, **9**(4), 943-945 [cit. 2020-11-21]. ISSN 20721439. Dostupné z: doi:10.21037/jtd.2017.03.125
9. STEARNS-KUROSAWA, Deborah J., Marcin F. OSUCHOWSKI, Catherine VALENTINE, Shinichiro KUROSAWA a Daniel G. REMICK. The Pathogenesis of Sepsis. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* [online]. 2011, **6**(1), 19-48 [cit. 2020-10-29]. ISSN 1553-4006. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-pathol-011110-130327
10. NAIR, Muralitharan a Ian PEATE. *Patofyziologie pro zdravotnické obory*. Přeložil Hana POSPÍŠILOVÁ. Praha: Grada Publishing, 2017. ISBN 978-80-271-0229-7.
11. STREITOVÁ, Dana a Renáta ZOUBKOVÁ. *Septické stavy v intenzivní péči: ošetrovatelská péče*. Praha: Grada Publishing, 2015. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-5215-0.
12. RITTIRSCH, Daniel, Michael A. FLIERL a Peter A. WARD. Harmful molecular mechanisms in sepsis. *Nature Reviews Immunology* [online]. 2008, **8**(10), 776-787 [cit. 2020-10-26]. ISSN 1474-1733. Dostupné z: doi:10.1038/nri2402
13. GYAWALI, Bishal, Karan RAMAKRISHNA a Amit S DHAMOON. Sepsis: The evolution in definition, pathophysiology, and management. *SAGE Open Medicine* [online]. 2019, **7**, 1-13 [cit. 2020-10-27]. ISSN 2050-3121. Dostupné z: doi:10.1177/2050312119835043
14. SVOBODA, P. 2010. *Patofyziologie, diagnostika a léčba septických stavů*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2010. ISBN 978-80-7305-130-3
15. CHUN, Tristen T., Brittany A. POTZ, Whitney A. YOUNG a Alfred AYALA. Overview of the Molecular Pathways and Mediators of Sepsis. WARD, Nicholas S. a Mitchell M. LEVY, ed. *Sepsis* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2017, 2017-05-30, s. 47-69 [cit. 2020-11-21]. Respiratory Medicine. ISBN 978-3-319-48468-6. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-48470-9_4
16. ZADÁK, Zdeněk a HAVEL, Eduard. *Intenzivní medicína na principech vnitřního lékařství*. Praha: Grada Publishing, 2017. ISBN 978-80-271-0282-2. Dostupné také z: <https://ndk.cz/uuid/uuid:c2f35780-dce1-11e8-bc37-005056827e51>

17. HUANG, Min, Shaoli CAI a Jingqian SU. The Pathogenesis of Sepsis and Potential Therapeutic Targets. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2019, **20**(21), 1-31 [cit. 2020-11-05]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20215376
18. ŠEVČÍK, Pavel a MATĚJOVIČ, Martin. *Intenzivní medicína*. Praha: Galén, c2014. ISBN 978-80-7492-066-0. Dostupné také z: <https://ndk.cz/uuid/uuid:74908b20-1db7-11e7-a38c-005056827e51>
19. WIERSINGA, W. Joost a Christopher W. SEYMOUR, ed. *Handbook of Sepsis* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2018 [cit. 2020-10-06]. ISBN 978-3-319-73505-4. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-73506-1
20. ČERMÁK, Pavel. *Mikrobiologická diagnostika infekcí krevního řečiště*. Praha: Maxdorf, c2008. ISBN 978-80-7345-142-4. Dostupné také z: <https://ndk.cz/uuid/uuid:f91f4630-5cb1-11e3-ae59-005056827e52>
21. Derek C ANGUS. Epidemiology of severe sepsis. *Virulence* [online]. 2013, 5(1), 4-11 [cit. 2020-10-30]. ISSN 2150-5594. Dostupné z: doi:10.4161/viru.27372)
22. ŠEVČÍK, Vladimír lékař a Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví. *Sepse v intenzivní medicíně*. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1997. ISBN 80-7013-250-7. Dostupné také z: <https://ndk.cz/uuid/uuid:73b03620-0f80-11ea-a20e-005056827e51>
23. Kolář, Milan. Sepse z pohledu klinické mikrobiologie. *Klinická farmakologie a farmacie* [online]. 2016, **30**(3), 29-32 [cit. 2020-11-12]. Dostupné z: <https://www.klinickafarmakologie.cz/pdfs/far/2016/03/07.pdf>
24. PRŮCHA, Miroslav, Martin MATĚJOVIČ a Lenka SEDLÁČKOVÁ. Diagnostika sepse. *Časopis lékařů českých* [online]. 2011, **150**(4-5), 283-288 [cit. 2020-11-13]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/casopis-lekaru-ceskych/2011-4-5/diagnostika-sepse-34960>
25. ISKANDAR, Agustin, Hani SUSIANTI, Muhammad ANSHORY a Salvatore Di SOMMA. Biomarkers Utility for Sepsis Patients Management. BEGUM, Ghousia, ed. *Biomarker - Indicator of Abnormal Physiological Process* [online]. London:

- InTech, 2018, 2018-09-05, s. 57-82 [cit. 2020-11-21]. ISBN 978-1-78923-666-8.
Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.76107
26. GULHAR, R., M. ASHRAF a I. JIALAL. *Physiology, Acute Phase Reactants* [online]. StatPearls [Internet]: Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020 [cit. 2020-11-13]. PMID: 30137854. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519570/>
27. FAIX, James D. Biomarkers of sepsis. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* [online]. 2013, **50**(1), 23-36 [cit. 2019-11-12]. ISSN 1040-8363.
Dostupné z: doi:10.3109/10408363.2013.764490
28. PRŮŠA, Richard. *Průvodce laboratorními nálezy*. Praha: Raabe, c2012. s. [1i]. ISBN 978-80-87553-68-8. Dostupné také z: <https://ndk.cz/uuid/uuid:d0809080-8c7c-11e8-9588-5ef3fc9bb22f>
29. BIRON, Bethany M., Alfred AYALA a Joanne L. LOMAS-NEIRA. Biomarkers for Sepsis: What is and What Might Be? *Biomarker Insights* [online]. 2015, **10**(s4), 7-17 [cit. 2020-11-13]. ISSN 1177-2719. Dostupné z: doi:10.4137/BMI.S29519
30. ZIMA, Tomáš. *Laboratorní diagnostika*. 3., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, c2013. ISBN 978-80-7492-062-2.
31. KAZDA, Antonín. *Kritické stavy: metabolická a laboratorní problematika*. Praha: Galén, c2012. ISBN 978-80-7262-763-9.
32. NARGIS, Waheeda, BorhanUddin AHAMED a Md IBRAHIM. Procalcitonin versus C-reactive protein: Usefulness as biomarker of sepsis in ICU patient. *International Journal of Critical Illness and Injury Science* [online]. 2014, **4**(3), 195–199 [cit. 2020-11-10]. ISSN 2229-5151. Dostupné z: doi:10.4103/2229-5151.141356
33. VIJAYAN, Ashitha L., VANIMAYA, Shilpa RAVINDRAN, R. SAIKANT, S. LAKSHMI, R. KARTIK a Manoj. G. Procalcitonin: a promising diagnostic marker for sepsis and antibiotic therapy. *Journal of Intensive Care* [online]. 2017, **5**(1) DOI: 10.1186/s40560-017-0246-8. ISSN 2052-0492. Dostupné z: <http://jintensivecare.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40560-017-0246-8>

34. DAGUE, Chris Ann. Procalcitonin Measurement for Effective Antibiotic Stewardship. *Technology Networks* [online]. 2020 [cit. 2020-11-13]. Dostupné z: <https://www.technologynetworks.com/diagnostics/articles/procalcitonin-measurement-for-effective-antibiotic-stewardship-307670>
35. FAN, Shu-Ling, Nancy S. MILLER, John LEE a Daniel G. REMICK. Diagnosing sepsis – The role of laboratory medicine. *Clinica Chimica Acta* [online]. 2016,460, 203-210. DOI: 10.1016/j.cca.2016.07.002. ISSN 00098981. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009898116302935>
36. ŠPIRKOVÁ, Jana. *Laboratorní příručka: ÚSTAV KLINICKÉ BIOCHEMIE A DIAGNOSTIKY FAKULTNÍ NEMOCNICE HRADEC KRÁLOVÉ*. 6. Hradec Králové, 2015.
37. MANCINI, Nicasio, ed. *Sepsis* [online]. New York, NY: Springer New York, 2015 [cit. 2020-12-06]. Methods in Molecular Biology. ISBN 978-1-4939-1775-4. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4939-1776-1
38. FRANCOVÁ, I. *Laboratorní diagnostika sepse*. Praha: Laboratoř klinické imunologie a alergologie ÚLBDL VFN, 2019, 1-25. Dostupné také z: <https://ulbld.lf1.cuni.cz/file/3515/laboratorni-diagnostika-sepse.pdf>
39. CHO, Sung-Yeon a Jung-Hyun CHOI. Biomarkers of Sepsis. *Infection & Chemotherapy* [online]. 2014, **46**(1), 1-12 [cit. 2020-12-06]. ISSN 2093-2340. Dostupné z: doi:10.3947/ic.2014.46.1.1
40. DAL PONTE, SilvanaTeixeira, AnaPaula ALEGRETTI, DiogoAndré PILGER, et al. Diagnostic accuracy of CD64 for sepsis in emergency department. *Journal of Global Infectious Diseases* [online]. 2018, **10**(2), 42-46 [cit. 2020-12-06]. ISSN 0974-777X. Dostupné z: doi:10.4103/jgid.jgid_130_16
41. WANG, Xiao, Zhong-Yun LI, Ling ZENG, An-Qiang ZHANG, Wei PAN, Wei GU a Jian-Xin JIANG. Neutrophil CD64 expression as a diagnostic marker for sepsis in adult patients: a meta-analysis. *Critical Care* [online]. 2015, **19**(1), 1-9 [cit. 2020-12-06]. ISSN 1364-8535. Dostupné z: doi:10.1186/s13054-015-0972-z
42. WINKLER, Martin Sebastian, Anne RISSIEK, Marion PRIEFLER, et al. Human leucocyte antigen (HLA-DR) gene expression is reduced in sepsis and correlates

- with impaired TNF α response: A diagnostic tool for immunosuppression? *PLOS ONE* [online]. 2017, **12**(8), 1-14 [cit. 2020-12-08]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0182427
43. KÁŇOVÁ, Marcela. Presepsin v diagnostice sepse. *Vnitřní lékařství* [online]. 2019, **65**(7-8), 497-505 [cit. 2020-11-15]. Dostupné z: <https://casopisvnitrnilekarstvi.cz/pdfs/vnl/2019/07/06.pdf>
44. GOYETTE, Richert E, Nigel S KEY a E Wesley ELY. Hematologic Changes in Sepsis and Their Therapeutic Implications. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine* [online]. 2004, **25**(06), 645-659 [cit. 2020-12-11]. ISSN 1069-3424. Dostupné z: doi:10.1055/s-2004-860979
45. FARKAS, Joshua David. The complete blood count to diagnose septic shock. *Journal of Thoracic Disease* [online]. 2020, **12**(S1), S16-S21 [cit. 2020-12-11]. ISSN 20721439. Dostupné z: doi:10.21037/jtd.2019.12.63
46. AIRD, William C. The Hematologic System as a Marker of Organ Dysfunction in Sepsis. *Mayo Clinic Proceedings* [online]. 2003, **78**(7), 869-881. DOI:10.4065/78.7.869. ISSN 00256196. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025619611626888>
47. NIERHAUS, Axel, Stefanie KLATTE, Jo LINSSEN, Nina M EISMANN, Dominic WICHMANN, Jörg HEDKE, Stephan A BRAUNE a Stefan KLUGE. Revisiting the white blood cell count: immature granulocytes count as a diagnostic marker to discriminate between SIRS and sepsis – a prospective, observational study. *BMC Immunology* [online]. DOI: 10.1186/1471-2172-14-8. ISSN 1471-2172. Dostupné z: <https://bmcimmunol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2172-14-8>
48. FAIX, James D. Established and novel biomarkers of sepsis. *Biomarkers in Medicine* [online]. 2011, **5**(2), 117-130 [cit. 2020-12-13]. ISSN 1752-0363. Dostupné z: doi:10.2217/bmm.11.21
49. MARTINS, Eduarda Cristina, Lilian da Fe SILVEIRA, Karin VIEGAS, Andrea Diez BECK, Geferson FIORAVANTTI JÚNIOR, Rafael Viegas CREMONESE a Priscila Schmidt LORA. Neutrophil-lymphocyte ratio in the early diagnosis of sepsis in

an intensive care unit: a case-control study. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva* [online]. 2019, **31**(1), 63-70 [cit. 2020-12-11]. ISSN 0103-507X.

Dostupné z: doi:10.5935/0103-507X.20190010

50. DE BLASI, Roberto Alberto, Patrizia CARDELLI, Alessandro COSTANTE, Micol SANDRI, Marco MERCIERI a Roberto ARCIONI. Immature platelet fraction in predicting sepsis in critically ill patients. *Intensive Care Medicine* [online]. 2013, **39**(4), 636-643 [cit. 2020-12-11]. ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-012-2725-7
51. MEINTKER, Lisa a Stefan W. KRAUSE. Reticulated platelets – clinical application and future perspectives. *Journal of Laboratory Medicine* [online]. 2020, , 241-253 [cit. 2020-12-11]. ISSN 2567-9449. Dostupné z: doi:10.1515/labmed-2019-0166
52. PARK, Sang Hyuk, Sang Ook HA, Young-Uk CHO, Chan-Jeoung PARK, Seongsoo JANG a Sang-Bum HONG. Immature Platelet Fraction in Septic Patients: Clinical Relevance of Immature Platelet Fraction is Limited to the Sensitive and Accurate Discrimination of Septic Patients From Non-Septic Patients, Not to the Discrimination of Sepsis Severity. *Annals of Laboratory Medicine* [online]. 2016, **36**(1), 1-8 [cit. 2020-12-11]. ISSN 2234-3806. Dostupné z: doi:10.3343/alm.2016.36.1.1
53. DESAI, Sapana, Stephen L. JONES, Krista L. TURNER, Jeff HALL a Laura J. MOORE. Nucleated Red Blood Cells Are Associated with a Higher Mortality Rate in Patients with Surgical Sepsis. *Surgical Infections* [online]. 2012, **13**(6), 360-365 [cit. 2021-02-20]. ISSN 1096-2964. Dostupné z: doi:10.1089/sur.2011.089
54. POSPÍŠILOVÁ, D. Anémie chronických chorob ve světle nových poznatků. *Pediatric pro praxi* [online]. Solen, 2007, 8(5), 276-280 [cit. 2021-02-08]. Dostupné z: <https://www.solen.cz/artkey/ped-200705-0005> Anemie chronických chorob ve svetle novych poznatku.php
55. OLINDER, Jon, Daniel EHINGER, Erik LILJENBORG, Heiko HERWALD a Cecilia RYDÉN. Plasma Levels of Hecpidin and Reticulocyte Haemoglobin during Septic

- Shock. *Journal of Innate Immunity* [online]. 2020, **12**(6), 448-460 [cit. 2021-02-08]. ISSN 1662-811X. Dostupné z: doi:10.1159/000508561
56. DANIELSON, K., S. BESHARA, A. R. QURESHI, et al. Delta-He: a novel marker of inflammation predicting mortality and ESA response in peritoneal dialysis patients. *Clinical Kidney Journal* [online]. 2014, **7**(3), 275-281 [cit. 2021-02-09]. ISSN 2048-8505. Dostupné z: doi:10.1093/ckj/sfu038
57. KOYAMA, Kansuke, Seiji MADOIWA, Shin NUNOMIYA, et al. Combination of thrombin-antithrombin complex, plasminogen activator inhibitor-1, and protein C activity for early identification of severe coagulopathy in initial phase of sepsis: a prospective observational study. *Critical Care* [online]. 2014, **18**(1), 1-11 [cit. 2021-02-10]. ISSN 1364-8535. Dostupné z: doi:10.1186/cc13190
58. MATSUBARA, Tsunehiro, Kazuma YAMAKAWA, Yutaka UMEMURA, et al. Significance of plasma fibrinogen level and antithrombin activity in sepsis: A multicenter cohort study using a cubic spline model. *Thrombosis Research* [online]. 2019, **181**(17-23), 17-23 [cit. 2021-02-10]. ISSN 00493848. Dostupné z: doi:10.1016/j.thromres.2019.07.002
59. RODELO, Joaquín R., Gisela DE LA ROSA, Martha L. VALENCIA, et al. D-dimer is a significant prognostic factor in patients with suspected infection and sepsis. *The American Journal of Emergency Medicine* [online]. 2012, **30**(9), 1991-1999 [cit. 2021-02-13]. ISSN 07356757. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajem.2012.04.033
60. SEMERARO, Fabrizio, CT AMMOLLO, P CAIRONI a S MASSON. D-dimer corrected for thrombin and plasmin generation is a strong predictor of mortality in patients with sepsis. *Blood Transfusion* [online]. 2020, **18**(4), 304 - 311 [cit. 2021-02-13]. Dostupné z: doi:10.2450/2019.0175-19
61. NIERHAUS, Axel, Jo LINSSEN, Dominic WICHMANN, Stephan BRAUNE a Stefan KLUGE. Use of a Weighted, Automated Analysis of the Differential Blood Count to Differentiate Sepsis from Non-Infectious Systemic Inflammation: The Intensive Care Infection Score (ICIS). *Inflammation & Allergy-Drug Targets* [online]. 2012, **11**(2), 109-115 [cit. 2020-11-21]. ISSN 18715281. Dostupné z: doi:10.2174/187152812800392841

62. KAESLIN, Martha, Saskia BRUNNER, Janine RATHS a Andreas HUBER.
Improvement in detecting bacterial infection in lower respiratory tract infections using the Intensive Care Infection Score (ICIS). *LaboratoriumsMedizin* [online]. 2016, **40**(3), 175-182 [cit. 2020-11-18]. ISSN 1439-0477. Dostupné z: doi:10.1515/labmed-2016-0021
63. FÁTOROVÁ, I., F. VRBACKÝ, K. HRNČÍŘOVÁ, M. MALÁ a L. ŽALOUKOVÁ. ICIS skóre – nový ukazatel počínající sepse: IV. interní hematologická klinika Fakultní nemocnice Hradec Králové. Hradec Králové, 2020.
64. VAN DER GEEST, Patrick J., Mostafa MOHSENI, Jo LINSSEN, Servet DURAN, Robert DE JONGE a A. B. Johan GROENEVELD. The intensive care infection score – a novel marker for the prediction of infection and its severity. *Critical Care* [online]. 2016, **20**(1), 1-8 [cit. 2020-12-14]. ISSN 1364-8535. Dostupné z: doi:10.1186/s13054-016-1366-6
65. RELLO, Jordi, Francisco VALENZUELA-SÁNCHEZ, Maria RUIZ-RODRIGUEZ a Silvia MOYANO. Sepsis: A Review of Advances in Management. *Advances in Therapy* [online]. 2017, **34**(11), 2393-2411 [cit. 2020-11-11]. ISSN 0741-238X. Dostupné z: doi:10.1007/s12325-017-0622-8
66. POLAT, Gizem, Rustem Anil UGAN, Elif CADIRCI a Zekai HALICI. Sepsis and Septic Shock: Current Treatment Strategies and New Approaches. *The Eurasian Journal of Medicine* [online]. 2017, **49**(1), 53-58 [cit. 2020-11-12]. ISSN 13088734. Dostupné z: doi:10.5152/eurasianjmed.2017.17062
67. PECKA, Miroslav a BLÁHA, Milan. *Praktická hematologie: laboratorní metody*. Český Těšín: Infiniti art, 2010. ISBN 978-80-903871-9-5. Dostupné také z: <https://ndk.cz/uuid/uuid:9fdff860-3e63-11e8-8142-005056827e51>
68. PEŠKOVÁ, Eliška. SOPT Č. 111 - NÁVOD NA OBSLUHU, KONTROLU A ÚDRŽBU HEMATOLOGICKÉ LINKY SYSMEX XN-3000: Laboratoř IV. interní hematologické kliniky Fakultní nemocnice Hradec Králové. Hradec Králové, verze č. 02 platná od 1.9.2017.

69. Fluorescenční průtoková cytometrie. Sysmex [online]. [cit. 2021-03-31].
Dostupné z: <https://www.sysmex.cz/n/vzdelavani/technologie/technologie-mereni/fluorescencni-prutokova-cytometrie.html>
70. Příbalový leták CRPL3 - C-reaktivní protein 3. generace: Roche Diagnostics. V 8.0
Česky. 2017.
71. Příbalový leták Elecsys BRAHMS PCT - Prokalcitonin: Roche Diagnostics. V 11.0
Česky. 2018.
72. Příbalový leták IL-6 - Interleukin-6: Roche Diagnostics. V 7.0 Česky. 2018.

14. PŘÍLOHY

Příloha 1 Tabulka primárních dat

	Pohlaví	Věk	SIRS ano/ne	Sepse ano/ne	CRP (mg/L)	PCT (µg/L)	IL6 (ng/L)	ICIS score	NLR	RET- HE (pg)	Diagnóza
1	M	60	ne	ne	3.0	0.161	2.0	0	7.45	34.9	srdeční selhání + scabies
2	F	75	ano	ano	361.1	4.410	136.5	14	37.86	27.3	sepsy, absces třísla
3	F	82	ano	ne	81.0	0.279	2158.0	5	7.10	30.1	bronchopneumonie
4	F	78	ne	ne	2.6	0.080	11.8	2	3.67	16.7	dehydratace
5	F	97	ano	ne	51.8	0.109	66.7	3	2.79	29.7	pneumonie RSV +bakt
6	M	71	ne	ne	97.2	0.058	51.7	6	6.19	30.1	stenóza ACI
7	M	70	ne	ne	101.7	0.743	197.7	1	3.84	28.2	TU transversa
8	F	32	ano	ne	220.7	0.165	12.8	10	8.06	22.1	pneumonie, chřipka + bakter
9	M	71	ne	ne	27.6	0.315	36.0	1	7.32	34.4	TU tračníku, oper
10	M	72	ne	ne	7.0	0.048	428.0	1	4.43	32.6	ICHS
11	M	57	ne	ne	1.0	1.020	65.6	4	10.36	35.7	PNO a kontuze plic
12	M	71	ne	ne	1.1	0.063	33.8	3	9.19	34.0	TU transversa
13	M	31	ano	ano	113.1	0.742	1479.0	11	14.27	28.8	absces břišní po APPE
14	M	46	ne	ne	0.6	0.032	53.7	6	11.05	33.9	krvácení do CNS
15	F	42	ne	ne	3.1	0	7.6	0	1.63	35.5	spontánní pneumotorax
16	F	70	ne	ne	14.1	0.328	441.7	5	7.19	41.6	ileus v adheích
17	F	77	ne	ne	7.8	0.060	60.2	5	3.19	28.7	TU tračníku, oper
18	F	79	ne	ne	108.5	0.161	253.1	5	24.31	32.5	krvácení CNS
19	M	63	ne	ne	1.7	0.036	2.4	1	4.38	35.4	ICHS-IM
20	M	70	ne	ne	5.1	0.118	979.7	4	9.78	34.8	TU choledochu
21	F	79	ne	ne	0.9	0.025	61.3	5	10.92	26.7	TU céka
22	F	48	ne	ne	2.8	1.890	368.2	3	24.42	35.2	tu rekta
23	M	63	ne	ne	47.4	0.864	48.7	3	7.61	34.2	nefrektomie pro TU
24	M	51	ne	ne	2.3	0.355	10.7	0	14.58	36.8	epilepsie recid.
25	M	79	ne	ne	20.3	0.048	31.4	0	11.25	33.6	krv. pseudo aneur
26	F	36	ne	ne	0.5	0.027	6.7	1	1.11	32.3	ITP/splenektomie
27	M	67	ne	ne	2.7	0.047	13.9	0	1.99	35.9	ICHS - IM
28	F	72	ne	ne	6.1	0.095	9.4	3	1.53	31.5	ak.subarach.krv.
29	F	60	ne	ne	0.4	0.020	3.3	2	0.86	34.3	oper.meta jater
30	F	69	ano	ano	255.6	1.620	110.6	15	27.26	26.8	flegmona

31	M	81	ne	ne	6.6	0.125	46.4	0	7.74	30.6	AV blok III
32	F	77	ne	ne	4.9	0.078	918.4	3	11.47	37.4	hepatocelulární ca
33	M	47	ano	ne	49.0	0.076	208.9	8	12.78	29.3	trauma
34	F	56	ne	ne	9.9	0.069	240.0	2	9.54	33.8	CA rekta
35	F	32	ne	ne	3.9	0.160	16.9	0	1.66	30.8	císařský řez
36	M	76	ne	ne	44.6	0.916	49.2	1	8.73	35.1	TU rekta
37	M	64	ne	ne	1.1	2.770	23.8	0	2.84	35.4	hypo-Na, trauma
38	M	75	ne	ne	108.7	0.272	268.8	2	20.45	29.3	AKS + pneumonie
39	M	56	ne	ne	64.5	0.067	75.3	2	6.16	32.8	maligní výpotek
40	F	88	ano	ano	180.7	8.990	79.3	6	10.65	30.9	pneumonie
41	M	66	ne	ne	150.5	4.160	362.1	3	5.06	30.4	PNO
42	M	59	ano	ne	311.5	5.630	4151.0	15	16.10	25.0	TU tračníku, oper
43	M	34	ano	ne	2.3	0.044	207.6	5	19.66	30.2	ulcerosní kolitida
44	M	36	ano	ne	4.1	0.037	90.5	4	15.04	35.7	ak pankreatitida
45	M	45	ano	ne	2.4	0.079	76.0	6	4.55	36.2	trauma
46	M	31	ne	ne	0.7	0.033	33.9	3	2.65	35.3	trauma
47	F	77	ne	ne	22.6	0.065	6.4	4	2.16	31.2	neinf AE CHOPPN
48	F	75	ne	ne	7.2	0.150	15.2	0	3.47	35.3	demyeliniz neuro
49	M	36	ne	ne	117.9	0.104	99.8	3	10.45	34.3	ak. Pankreatitida
50	F	75	ano	ano	60.9	0.088	59.1	3	3.89	29.4	septický šok
51	M	90	ne	ne	7.6	0.021	27.9	1	7.69	34.4	dyspepsie
52	F	66	ne	ne	1.2	0.036	4.5	0	1.12	32.4	oper strumy
53	M	65	ano	ano	63.9	0.732	17.5	7	9.13	28.6	meningitida
54	F	60	ne	ne	92.0	1.290	126.0	3	26.41	28.7	ca rekta
55	M	60	ano	ano	192.1	5.230	10936.0	14	28.09	20.8	pyelonefritida
56	F	64	ano	ano	261.5	14.320	381.7	8	25.70	31.3	chřipka + CHOPN
57	F	84	ne	ne	2.5	0.024	9.9	0	2.00	32.7	stenóza ACI
58	F	85	ne	ne	0.6	0.025	660.5	3	9.01	32.8	TU žaludku
59	M	75	ne	ne	1.0	0.054	772.6	3	8.53	32.1	aneur AA
60	F	75	ne	ne	44.8	20.190	44.8	3	9.00	34.5	krv do břišní stěny
61	M	85	ne	ne	0.3	0.038	5.1	0	5.51	34.2	ICHS - nest AP
62	F	89	ne	ne	20.1	0.299	85.2	4	18.40	32.9	krv do stehna
63	M	62	ne	ne	13.8	0.784	144.7	3	7.36	37.9	krv GIT + pneumonie
64	F	94	ne	ne	21.7	0.061	61.9	0	4.12	35.6	krv do GIT
65	F	75	ne	ne	5.5	0.061	635.3	2	7.32	32.8	TU pankreatu, res
66	F	68	ano	ne	0.2	0.050	339.9	5	11.46	19.2	mCrohn resekcce

67	M	69	ne	ne	0.3	0	15.7	0	1.90	35.2	aneur. AA
68	F	52	ne	ne	10.8	0	40.5	2	4.74	31	cmp
69	F	58	ano	ano	333.6	33.700	124.1	7	23.69	23.6	urosepsse, šok
70	M	46	ano	ne	3.7	0.060	31.4	4	6.72	32.4	cholecystektomie
71	M	65	ano	ano	80.7	0.090	288.8	8	19.48	28.1	urosepsse
72	M	57	ne	ne	79.4	0.175	216.6	2	4.81	34.3	bili pankreatitida
73	M	55	ne	ne	1.7	0.025	6.5	1	3.21	33.1	stenozia ACI
74	F	61	ne	ne	0.5	0	254.5	3	12.42	34.5	Tu pankreatu
75	F	95	ano	ano	173.6	1.350	303.0	12	58.70	32.6	clostr. Kolitida
76	M	71	ne	ne	0.3	0.025	83.5	3	7.97	34.8	Aneurysma AA
77	F	87	ano	ne	51.7	0.236	554.6	10	13.72	32.8	pneumonie, KPR
78	F	88	ne	ne	10.3	0.156	131.0	4	47.16	28.8	srdeční selhání
79	F	68	ne	ne	4.8	0.034	57.4	1	3.64	33.1	divertikly střeva
80	M	67	ne	ne	8.0	0.115	71.9	0	6.25	37.4	u rekta
81	F	57	ano	ne	1.5	0.054	117.7	6	5.74	31.2	ca žlučníku
82	F	73	ne	ne	9.4	0.084	33.8	1	5.78	33.1	struma
83	M	76	ano	ano	483.2	10.410	1531.0	12	31.13	23.7	pneumone
84	F	79	ne	ne	66.8	0.562	80.7	2	11.02	32.1	ak.renální selh
85	F	81	ne	ne	3.9	0.080	21.9	0	1.13	34.5	hypothyreosa
86	F	79	ne	ne	2.9	0	4.9	0	1.16	31.2	cmp
87	M	60	ne	ne	2.2	0.060	6.8	0	3.85	34.6	stenozia aci
88	M	39	ne	ne	0.9	0.272	184.5	2	2.40	37.5	polytrauma
89	M	43	ano	ne	0.4	0	30.8	4	9.90	32.7	polytrauma
90	F	76	ne	ne	60.3	0.078	122.8	2	7.21	25.0	kenterorhagie
91	M	28	ano	ne	2.4	0	471.8	6	8.72	32.5	polytrauma
92	F	73	ano	ano	149.2	100.0	108.2	7	54.67	29.2	urosepsse
93	M	63	ano	ne	3.6	0.207	1183.0	6	8.02	30.9	polytrauma
94	M	66	ne	ne	5.1	0.029	8.6	0	4.04	37.1	stenozia aci
95	F	69	ne	ne	3.0	0.057	385.8	3	10.21	30.0	TU pankreatu
96	M	71	ne	ne	0.7	0.051	65.5	1	4.06	36.5	aneurysma ao
97	F	77	ano	ano	164.1	2.910	125.8	10	53.89	33.6	cévní ileus
98	M	62	ne	ne	42.5	0.090	76.6	2	13.73	32.2	enterorhagie z tu
99	F	68	ne	ne	46.7	0.084	104.5	2	5.88	32.0	polytrauma
100	F	72	ano	ne	52.8	0.065	217.2	4	7.88	32.5	TU ledviny
101	F	45	ne	ne	0.6	0.026	6.3	0	1.39	35.1	GB thyreoosikosa
102	F	66	ne	ne	12.3	0.110	567.8	3	9.40	32.5	Tu pankreatu

Příloha 2 Shapiro-Wilkův test normality

Parametr	Počet vzorků	Minimum	Maximum	Medián	Shapiro-Wilkův test
Ret-He	102	16,7000	41,6000	32,6500	W = 0,9180 P < 0,0001
PCT	102	0,0000	100,0000	0,08400	W = 0,2063 P < 0,0001
CRP	102	0,2000	483,2000	7,7000	W = 0,6367 P < 0,0001
IL-6	102	2,0000	10936,0000	76,3000	W = 0,2683 P < 0,0001