

UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD



DIPLOMOVÁ PRÁCE

Změny vybraných laboratorních parametrů u pacientů s komplikovaným průběhem COVID-19

Bc. Klára Sýkorová

Vedoucí diplomové práce: Mgr. Ilona Fátorová

HRADEC KRÁLOVÉ, 2022

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala paní Mgr. Iloně Fátorové za odborné vedení, vstřícný přístup, věcné připomínky a čas, který mi v průběhu zpracování této diplomové práce věnovala.

„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 13. května 2022

.....

Bc. Klára Sýkorová

OBSAH

1. ABSTRAKT.....	7
2. ABSTRACT.....	8
3. ÚVOD	9
4. ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE	10
5. TEORETICKÁ ČÁST.....	11
5.1 COVID-19 – původce onemocnění	11
5.2 Popis onemocnění COVID-19.....	13
5.2.1 Přenos COVID-19	14
5.2.2 Patogeneze COVID-19.....	16
5.2.3 Průběh COVID-19.....	17
5.2.3.1 Asymptomatický průběh.....	17
5.2.3.2 Mírný průběh.....	17
5.2.3.3 Středně závažný průběh	18
5.2.3.4 Závažný průběh	18
5.2.3.5 Kritický průběh	19
5.3 Rizikové faktory závažného průběhu COVID-19	19
5.4 Komplikace onemocnění COVID-19	21
5.4.1 ARDS - syndrom akutní respirační tísně.....	21
5.4.2 Akutní poškození ledvin	22
5.4.3 Kardiovaskulární komplikace	23
5.4.4 Jaterní poškození.....	25
5.4.5 Sekundární infekce	25
5.4.6 Imunopatologická reakce.....	26
5.4.7 Tromboembolické komplikace.....	26
5.5 Klinická diagnostika COVID-19	27
5.6 Laboratorní diagnostika COVID-19.....	28
5.6.1 Přímý průkaz.....	28
5.6.1.1 Detekce SARS-CoV-2 metodou RT-PCR.....	29
5.6.1.2 Detekce antigenu SARS-CoV-2	30
5.6.2 Nepřímý průkaz	32
5.6.2.1 Sérologické testy	32

5.6.3	Změny vybraných laboratorních parametrů	34
5.6.3.1	Změny hematologických parametrů.....	34
5.6.3.2	Změny biochemických parametrů.....	34
5.7	Léčba onemocnění COVID-19	35
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.....	45
6.4.1	Ověření normality dat.....	45
6.4.2	Analýza závislosti změny WBC na průběhu COVID-19	46
6.4.3	Analýza závislosti změny Lymfo# na průběhu COVID-19	47
6.4.4	Analýza závislosti změny Ret-He na průběhu COVID-19	49
6.4.5	Analýza závislosti změny sN# (abs) na průběhu COVID-19	50
6.4.6	Analýza závislosti změny aIG# (abs) na průběhu COVID-19	51
6.4.7	Analýza závislosti změny D-dimerů na průběhu COVID-19	52
6.4.8	Analýza závislosti změny FBG na průběhu COVID-19.....	53
6.4.9	Analýza závislosti změny CRP na průběhu COVID-19.....	55
6.4.10	Analýza závislosti změny PCT na průběhu COVID-19	56
6.4.11	Analýza závislosti změny myoglobinu na průběhu COVID-19	57
6.4.12	Analýza závislosti ICIS skóre na průběhu COVID-19	58
6.4.13	Analýza závislosti NLR poměru na průběhu COVID-19.....	59
7.	DISKUSE.....	61
8.	ZÁVĚR.....	65
9.	POUŽITÉ ZKRATKY.....	67
10.	SEZNAM TABULEK	70
11.	SEZNAM OBRÁZKŮ	71
12.	SEZNAM GRAFŮ.....	72

13. POUŽITÁ LITERATURA.....	73
14. PŘÍLOHY	84

1. ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Autor: Bc. Klára Sýkorová

Vedoucí práce: Mgr. Ilona Fátorová

Název diplomové práce: Změny vybraných laboratorních parametrů u pacientů s komplikovaným průběhem COVID-19

Cílem diplomové práce je vypracování odborné rešerše na dané téma pomocí dostupných literárních publikací. Dále porovnání změn vybraných laboratorních markerů při onemocnění COVID-19 u hospitalizovaných pacientů s komplikovaným průběhem nemoci a u pacientů s mírným průběhem onemocnění a poté statistické vyhodnocení získaných dat.

Teoretická část obsahuje stručně popsanou problematiku týkající se onemocnění COVID-19 a jeho původce – viru SARS-CoV-2. Zabývá se popisem onemocnění, přenosem, patogenezí a průběhem onemocnění. Dále rizikovými faktory závažného průběhu onemocnění, jeho komplikacemi, klinickou a laboratorní diagnostikou a možnostmi léčby.

V experimentální části práce je provedena statistická analýza naměřených dat. Mezi porovnávané hematologické a biochemické parametry patří WBC, lymfo#, NLR, Ret-He, ICIS skóre, sN# (abs), aIG# (abs), D-dimery, fibrinogen, CRP, PCT a myoglobin. U všech vybraných parametrů kromě WBC byl nalezen statisticky významný rozdíl. Pacienti se závažným průběhem onemocnění měli nižší hodnoty lymfo# a Ret-He. Zatímco hodnoty zbylých parametrů sN# (abs), aIG# (abs), D-dimery, fibrinogen, CRP, PCT, myoglobin, ICIS skóre a NLR poměr měli vyšší.

Klíčová slova: COVID-19, SARS-CoV-2, laboratorní markery, ICIS skóre

2. ABSTRACT

Charles University

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biological and Medical Sciences

Author: Bc. Klára Sýkorová

Supervisor: Mgr. Ilona Fátorová

Title of diploma thesis: Changes in selected laboratory parameters in patients with complicated COVID-19

The aim of the diploma thesis is to write a research on the topic using available literary publications. Comparison of changes in selected laboratory markers in COVID-19 disease in hospitalized patients and patients with a mild course of the disease and then statistical evaluation of the obtained data.

The theoretical part contains a briefly description of the COVID-19 disease and its originator – SARS-CoV-2 virus. It deals with the description of the disease, transmission, pathogenesis and the course of the disease. Furthermore, risk factors for the serious course of the disease, its complications, clinical and laboratory diagnostics and finally treatment.

In the experimental part of the work, a statistical analysis of the measured data is performed. Comparable hematological and biochemical parameters include WBC, lympho #, NLR, Ret-He, ICIS score, sN # (abs), aIG # (abs), D-dimers, fibrinogen, CRP, PCT and myoglobin. A statistically significant difference was found for all selected parameters except WBC. Patients with severe disease had lower lympho # and Ret-He values. While the values of the remaining parameters sN # (abs), aIG # (abs), D-dimers, fibrinogen, CRP, PCT, myoglobin, ICIS score and NLR ratio were higher.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, laboratory markers, ICIS score

3. ÚVOD

COVID-19 je závažné akutní infekční onemocnění, které postihuje především respirační trakt a je vyvolané virem SARS-CoV-2. První případy tohoto onemocnění se vyskytly na konci roku 2019 v čínském Wu-chanu. Na začátku roku 2020 se nákaza rozšířila do dalších zemí jihovýchodní Asie, dále do Austrálie, Evropy, Afriky a Ameriky a 11. března byla nazvaná pandemií.

Infekce COVID-19 může být doprovázena velkou variabilitou klinických symptomů. Někteří jedinci mohou prodělat onemocnění s asymptomatickým průběhem nebo mírně symptomatickým, ale pro část z nich může končit až fatálně.

Je klasifikováno pět klinických forem průběhu onemocnění dle závažnosti. První definovaná forma je asymptomatická, po ní následuje forma s mírným, středně závažným, závažným a kritickým průběhem. Se závažným průběhem je spojovaná řada rizikových faktorů a chronických stavů. Mezi ně patří například vyšší věk než 65 let, obezita, těhotenství, snížená funkce imunitního systému nebo chronické onemocnění. Mezi nejzávažnější komplikace onemocnění COVID-19 patří syndrom akutní respirační tísně (ARDS), akutní poškození ledvin, jaterní selhání, sekundární infekce, tromboembolické příhody, kardiovaskulární komplikace nebo imunopatologická reakce.

Aktuální zdravotní stav pacienta a prognózu vývoje onemocnění lze vyhodnocovat nejen pomocí fyzikálního vyšetření, při kterém se zjišťují hodnoty saturace krve kyslíkem (SpO_2), tepová frekvence (TF) a počet dechů za minutu, ale také pomocí změn některých hematologických a biochemických laboratorních markerů. Měnit se mohou jednotlivé parametry jako jsou počty leukocytů, poměr neutrofilů a lymfocytů (NLR), obsah hemoglobinu v retikulocytech, absolutní počet nezralých neutrofilů, koncentrace D-dimerů a fibrinogenu, C-reaktivní protein, prokalcitonin, myoglobin aj. Mezi robustnější ukazatele by mohlo patřit tzv. ICIS skóre, jehož výpočet vychází ze změn několika hematologických parametrů a komplexněji tak odráží klinický stav pacienta. Je to biomarker původně vytvořený pro včasnou diagnostiku sepse, ale v případě komplikovaných průběhů onemocnění COVID-19 by mohl mít nezanedbatelný prognostický význam.

4. ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce je sepsat rešerši literárních pramenů, zabývající se popisem onemocnění COVID-19, jeho projevy, komplikacemi, klinickou a laboratorní diagnostikou a léčbou. V experimentální části práce porovnat změny vybraných hematologických a biochemických laboratorních markerů u dvou souborů pacientů s prokázaným onemocněním COVID-19 a rozdílným průběhem tohoto onemocnění. Následně provést statistické vyhodnocení získaných dat a vyhodnotit závislost změn laboratorních parametrů na závažnosti průběhu onemocnění.

5. TEORETICKÁ ČÁST

5.1 COVID-19 – původce onemocnění

V čínském Wu-chanu se vyskytly na konci roku 2019 první případy závažně probíhající pneumonie nejasného původu, která klinickými charakteristikami připomínala závažný průběh chřipky či SARS. Sekvenací RNA, která byla vyizolovaná z bronchoalveolárního výplachu, se povedlo prokázat genom nového beta-koronaviru, jež je příbuzný původci SARS. Nejdříve byl pojmenován 2019-nCoV (novel coronavirus). Současné označení SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) získal dne 11. února po rozhodnutí Mezinárodního výboru pro klasifikaci virů (ICTV) a Světové zdravotnické organizace (WHO). (1) Onemocnění způsobené tímto typem koronaviru bylo označeno jako COVID-19 (coronavirus disease 2019). Začátkem roku 2020 se nákaza COVID-19 rozšířila do řady světových regionů, Světová zdravotnická organizace 30. ledna tak vyhlásila stav ohrožení veřejného zdraví mezinárodního významu a 11. března nazvala šíření infekce pandemií. (2)

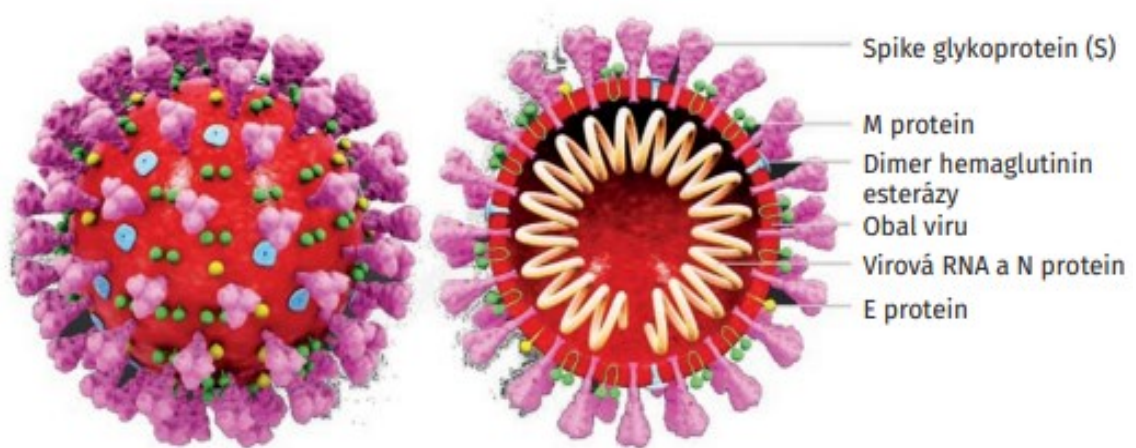
Koronaviry se zařazují do řádu *Nidovirales*. Podčeleď *Orthocoronavirinae* čeledi *Coronaviridae* se dělí do čtyř rodů: alfa-, beta-, gama- a delta-koronaviry. Zatímco alfa- a beta-koronaviry infikují jen savce. Gama- a delta-koronaviry dokáží infikovat savce i ptáky. (3, 4)

Nyní je identifikováno 7 druhů koronavirů, které způsobují onemocnění lidí. Jedná se o běžně vyskytující se beta-koronaviry HCoV-OC43, HCoV-HKU1 a alfa-koronavirus HCoV-229E. Vyvolávají běžná onemocnění dýchacích cest, avšak u malých dětí nebo starých osob mohou způsobit závažné onemocnění dolních cest dýchacích. Alfa-koronavirus HCoV-NL63 je u malých dětí původce život ohrožujícího onemocnění pseudokrup a bronchiolitidy. (4) SARS-CoV, SARS-CoV-2 a MERS-CoV jsou zvířecí koronaviry přenosné na člověka a mohou být původcem vážných, mnohdy smrtelných pneumonií s rizikem epidemického či pandemického šíření. (5)

Koronaviry patří mezi středně velké viry, jejich velikost je 60–140 nm. Jejich genom je tvořen nesegmentovanou jednovláknovou RNA pozitivní polarity. Velikost genomu se pohybuje okolo 26–32 kb (kilobází) s 6–11 čtecími rámci (opening reading frames, ORF). (6) Nukleokapsida má většinou sférický tvar a bývá pleomorfní. Virion má typický

vzhled v elektronovém mikroskopu, od něhož je odvozen název celé čeledi. S proteiny na povrchu virionu připomínají věnec neboli sluneční korunu při zatmění (z lat. corona = koruna, věnec). (1, 6)

První čtecí rámec kóduje polyprotein pro 16 nestrukturálních proteinů (NS), zbývající čtecí rámce kódují proteiny strukturální a pomocné. K nestrukturálním proteinům náleží například dvě cysteinové proteázy, a to proteáza podobná papainu (NS3) a hlavní proteáza štěpící polyprotein koronaviru podobná chymotrypsinu (NS5), dále RNA-dependentní RNA polymeráza (NS12) nebo helikáza (NS13). Virus kóduje také čtyři hlavní strukturální proteiny: spike („hrotový“) glykoprotein (S), membránový protein (M), nukleokapsidový protein (N) a protein E, který se vyskytuje ve virovém obalu. (6)



Obrázek 1 Struktura viru (6)

Povrchový S (spike) glykoprotein představuje hlavní faktor virulence a vyvolává tvorbu specifických neutralizačních protilátek. Je tvořen dvěma podjednotkami. Podílí se na vazbě virionu k buněčným receptorům a uplatňuje se při fúzi viru s buněčnou membránou. (2)

E protein je integrální membránový protein o velikosti 76–109 aminokyselin, který je přítomný na obalu viru v malém množství. Účastní se části životního cyklu viru, podílí se na shromažďování a uvolňování virionů z hostitelské buňky. Také má zásadní roli při produkci a maturaci viru, protože jeho absence či inaktivace vede ke snížení virového titru a toxicity. (7, 8)

M protein je malý transmembránový protein, který se vyskytuje v membráně viru. Považuje se za nejhojnější strukturální protein a hraje zásadní roli v sestavování a tvarování virionů. (7, 8)

N protein po navázání na virovou RNA vytváří helikální nukleokapsidu uvnitř virového obalu. Podílí se na tvorbě nových virových částic, zvyšuje účinnost transkripce viru a může také působit jako inhibitor interferonu. (7, 8, 9)

5.2 Popis onemocnění COVID-19

COVID-19 je závažné akutní respirační onemocnění s rozšířenou a rychlou infekčností. Šíření viru v populaci usnadňuje několik faktorů. Například se může jednat o poměrně vysokou virovou nálož v horních cestách dýchacích nakažených jedinců nebo o přenos asymptomatickými jedinci během inkubační doby. Inkubační doba onemocnění se pohybuje mezi 2 až 14 dny. Infekciozita se objevuje přibližně dva dny před rozvojem symptomů, maxima dosahuje na začátku klinicky manifestního onemocnění, koreluje s virovou náloží SARS-CoV-2 v horních cestách dýchacích. (1, 10)

Infekce vyvolaná SARS-CoV-2 se vyznačuje velkou variabilitou klinických symptomů. Pacienti mohou mít asymptomatický až mírně symptomatický průběh, ale pro část z nich může infekce končit až fatálně. (11)

I u pacientů s asymptomatickým průběhem nebo před rozvojem symptomů dochází k vylučování viru. Jedinci všech věkových kategorií nezávisle na etnickém původu či na pohlaví jsou náchylní k nákaze. Na závažnosti onemocnění má vliv i velikost infekční dávky. (2, 12)

Další šíření infekce v populaci se vyjadřuje pomocí epidemiologického parametru tzv. indexu nakažlivosti neboli základního reprodukčního čísla (R_0), vyjadřuje předpokládaný počet jedinců, které dále nakazí jeden infikovaný člověk. Podle dostupných studií se reprodukční číslo uvádí v rozmezí 1,9–6,5, závisí na řadě společenských faktorů a zdravotních opatření v populaci. (2)

5.2.1 Přenos COVID-19

První případy nákazy koronavirem SARS-CoV-2 jsou spojovány s Wu-čanem, hlavním městem čínské provincie Chu-pej. Je uváděno, že se lidé nakazili koronavirem na trhu s mořskými plody, kde se prodávaly různé druhy živých zvířat (netopýři, žáby, hadi, ptáci, svišti nebo králíci) a masa v různém stupni zpracování jako zdroje potravy. Nicméně další vyšetřování odhalilo, že jsou nakaženi i jedinci, kteří neměli žádný záznam o návštěvě trhu s mořskými plody. Tato pozorování naznačovala schopnost šíření viru z člověka na člověka. Počáteční ohnisko se brzy rozšířilo a postihlo další oblasti Číny. Zanedlouho byly první případy nákazy potvrzeny v dalších zemích jihovýchodní Asie, v Austrálii, postupně byla zasažena Evropa, Afrika a Amerika. (13, 14)

Jedná se o nemocnění zoonotického původu, na člověka se přenáší přímým kontaktem zvířecích tělesných tekutin nebo prostřednictvím vektorů, které obsahují zoonotický patogen. (15)

Stejně jako u ostatních koronavirů, dochází k primárnímu mechanismu přenosu SARS-CoV-2 prostřednictvím infikovaných respiračních kapének, aerosolu nebo kontaktu s kontaminovanými povrchy. (16) Virová infekce se přenáší přímým nebo nepřímým kontaktem přes nosní sliznici, spojivky či sliznici dutiny ústní. Cílové receptory člověka se nachází kromě epitelu dýchacích cest a oční sliznice i v gastrointestinálním traktu. (17) Role orofekálního nebo nasofekálního přenosu, krví, z matky na dítě nebo sexuální přenos zůstávají zatím nejasné. (18)

V porovnání se SARS-CoV-1, je infekční dávka SARS-CoV-2 o něco vyšší, odhaduje se na 100–1000 partikulí (100 partikulí u SARS-CoV-1). Jedním výdechem se uvolňuje zhruba 50–5000 kapének s minimem virových partikulí, mluvením se zvyšuje počet kapének i virových partikulí až na 200 za minutu (k nákaze postačí rozhovor tváří v tvář po dobu deseti minut). Při kašli se uvolňuje kolem 3000 kapének a při kýchnutí dokonce až 30000, počet virových částic může dosáhnout až ke 200 milionům. (19)

Bylo zaznamenáno, že většina případů přenosu infekce se odehrává v blízkém kontaktu s infikovanou osobou (15 minut v prostředí do 2 m²). K efektivnímu šíření infekce dochází nejčastěji v rámci jedné domácnosti, rodiny nebo skupiny přátel. Podstatně větší

riziko infekce je v uzavřeném, špatně větraném prostoru než ve venkovním prostředí. (17)

Dominantní cestou mezilidského přenosu nákazy je cesta respirační, při níž probíhá šíření viru uvolněním z dýchacích cest infikovaného prostřednictvím kapének nebo jemného aerosolu, kde jsou zavěšené viriony. (20) Bylo zjištěno, že 97 % kapének bývá menších než 50 mikrometrů, většina z nich je menší než 10 mikrometrů. Zatímco symptomatictí jedinci vytváří kapénky o velikosti 0,6–100 mikrometru, presymptomatictí a asymptomatictí pacienti kapénky menší než 1 mikrometr. (15) Kapénky jsou popisovány jako větší entity rychle klesající k zemi vlivem gravitační síly do vzdálenosti 1–2 metry od infikované osoby. (21) Při kýčání, kašli, zpívání nebo křičení se tvoří tzv. „plynová oblaka“, zabraňují odpařování respiračních kapének a prodlužují tak jejich životnost. Dosah kapének se zvyšuje až na 7–8 metrů, tím pádem kontaminují vzdálené předměty, dokonce i ventilační systémy. (22) Kapénky, které se ve vzduchu rychle vypařují a zanechávají po sobě jen jádra, se nazývají aerosoly. Jsou malé a lehké, proto zůstávají viset ve vzduchu až několik hodin. (21) Tvorba aerosolů je závislá na vlhkosti a teplotě okolního prostředí a na velikosti kapky.

Další způsob přenosu představuje kontakt s kontaminovanými předměty. SARS-CoV-2 zůstává životaschopný na hladkých površích (nerezová ocel, plast, sklo) mnoho dní při nižší teplotě a vlhkosti vzduchu. Přenos infekce z takto kontaminovaných povrchů rukama na sliznice očí, nosu nebo úst je možný. (17)

Některé studie se mimo jiné zabývají možností vertikálního přenosu SARS-CoV-2 a naznačují, že k tomuto přenosu dochází jen zřídka. Existují informace o časně pozitivitě SARS-CoV-2 v nosohltanu novorozenců, kterou odhalilo testování prostřednictvím polymerázové řetězové reakce s pozitivními výsledky. (20)

Po propuknutí pandemie byl teoretizován přenos fekálně-orální cestou. Důvodem byla známá vysoká koncentrace ACE2 receptorů v tenkém střevě. V současné době se ale nevyskytuje žádný důkaz o tomto přenosu i přesto, že je virová RNA obvykle detekovaná ve stolici. Živý virus byl izolovaný pouze zřídka. (20)

5.2.2 Patogeneze COVID-19

SARS-CoV-2 využívá pro vstup do buněk hostitele povrchový S-protein, jehož receptor je ACE2 (angiotensin-konvertující enzym 2). ACE2 je ektoenzym ukotvený v plazmatické membráně buněk například dolních cest dýchacích, srdce, ledvin nebo gastrointestinálního traktu. S-protein je nejpodstatnější antigen na povrchu SARS-CoV-2, tvoří transmembránový homotrimer, jenž vyčnívá na povrchu virové částice a připojuje se k hostitelskému receptoru ACE2. (23) S-protein o velikosti 180 kDa obsahuje 2 funkční podjednotky: podjednotku N-terminální S1 a C-terminální S2. Podjednotka S1 zahrnuje doménu pro vazbu na receptor (RBD, receptor binding domain). Tato podjednotka je cílem neutralizačních protilátek. Aby pronikl virus do buňky, je po vazbě na receptor velmi důležitá částečná proteolýza S-proteinu, ke které napomáhá buněčná transmembránová serinová proteáza 2 (TMPRSS2). Poté se podjednotka S2 účastní fúze membrán viru s hostitelskou buňkou. (2)

Po vstupu viru do buněk se uvolní jeho genom do cytoplazmy, poté dochází k translaci, která je následovaná samotnou replikací viru. (2) Nově syntetizované strukturální proteiny viru jsou obaleny membránou z Golgiho komplexu nebo endoplazmatického retikula a virová nukleokapsida vzniká splynutím nukleokapsidového proteinu a virového genomu. V tzv. ERGIC kompartmentu (endoplasmatic reticulum-Golgi intermediate compartment) vyzrávají vzniklé viriony. Posléze se kompletní virus uvolňuje z hostitelské buňky. (1, 23)

Antigeny viru jsou prezentovány při vstupu do buňky antigen prezentujícími buňkám prostřednictvím MHC molekul, zejména I. třídy, nato jsou rozpoznány virově specifickými cytotoxickými T lymfocyty. Prezentace virových antigenů stimuluje humorální a buněčnou imunitu, která je zprostředkována T a B lymfocyty. Předpokládá se, že protilátková imunitní reakce spočívá v tvorbě časných IgM, které vymizí do 12. týdne a pozdních IgG protilátek specifických proti virovému S a N antigenu. Pro buněčnou imunitu je charakteristický významný pokles CD4⁺ a CD8⁺ T lymfocytů a NK buněk v periferní krvi, současně je zachycena i jejich excesivní aktivace. (24)

Je zřejmé, že právě imunitní reakce se významně uplatňuje i v samotné patogenezí onemocnění. Hlavní příčinou úmrtí pacientů s infekcí SARS-CoV-2, SARS-CoV a MERS-

CoV je rozvoj syndromu akutní dechové tísně (ARDS). Jedním z možných mechanismů rozvoje ARDS je cytokinová bouře, nekontrolovaná systémová zánětlivá reakce, která je způsobená uvolněním velkého množství prozánětlivých cytokinů (např. IFN- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, IL-33, TNF- α , TGF- β) a chemokinů (CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10) efektorovými buňkami. Lze očekávat, že jedinci se závažným průběhem mohou vykazovat významně vyšší hladiny IL-6, IFN- α , CCL5, CXCL8, CXCL10, než pacienti s mírným až středně závažným průběhem infekce. Cytokinová bouře nastartuje prudký útok imunitního systému, způsobí ARDS, podílí se na multiorgánovém selhání, a nakonec může vést až k úmrtí. (24)

5.2.3 Průběh COVID-19

U onemocnění COVID-19 bylo klasifikováno pět klinických forem průběhu infekce dle závažnosti. První definovaný průběh infekce je asymptomatický, následuje ho mírný, středně závažný, závažný a kritický průběh. (25)

5.2.3.1 Asymptomatický průběh

Asymptomatický průběh probíhá bez jakýchkoliv klinických projevů po celou dobu nemoci. Výsledek testu detekce nukleové kyseliny nebo antigenu SARS-CoV-2 vyjde pozitivní. Infekce může být také detekovaná retrospektivně prostřednictvím specifické protilátky. (25) V době laboratorního potvrzení nemoci COVID-19 se neobjevují ani žádné významné abnormality na rentgenovém snímku hrudníku. Asymptomatická infekce se vyskytuje spíše v populacích s jedinci mladého a středního věku bez zdravotních komplikací. (26)

Asymptomatické případy v infikované populaci se podílí značně na urychlení šíření infekce z člověka na člověka. Virová nálož ve vzorcích dýchacích cest asymptomatických i symptomatických pacientů je podobná, v rozmezí od 1×10^4 do 1×10^7 kopií na mililitr. (27)

5.2.3.2 Mírný průběh

Infekce COVID-19 s mírným průběhem se vyznačuje příznaky akutní infekce horních cest dýchacích. Objevuje se horečka, únava, bolest svalů, kašel, bolest v krku, rýma nebo

kýchání. Fyzikálním vyšetřením se ukáže překrvení hltanu, avšak žádné auskultační abnormality. U některých jedinců se vyskytují pouze zažívací příznaky, jako je bolest břicha nevolnost, zvracení, či průjem. Častá je i ztráta čichu a chuti. Dušnost ani abnormální radiologický nález na plicích není pro mírný průběh charakteristický. (25, 28)

Většina pacientů s takovýmto průběhem může být léčena ambulantně. Výjimku tvoří starší pacienti nebo komorbidní pacienti, kteří jsou vystaveni vyššímu riziku progresi onemocnění. Tito pacienti by měli být poskytovateli zdravotní péče pečlivě pozorováni do doby klinického uzdravení. (28)

5.2.3.3 Středně závažný průběh

Středně závažný průběh onemocnění COVID-19 se projevuje jako pneumonie, pro níž je častá horečka, většinou suchý kašel, který je následovaný produktivním kašlem. Někteří pacienti mohou trpět sípáním. (25) Tento průběh je definován radiologickým průkazem infiltrativních změn v plicním parenchymu nebo mírnou hypoxií. Podle různých doporučených postupů je považovaná hranice saturace hemoglobinu kyslíkem 92–94 % na atmosférickém vzduchu, popřípadě u pacientů s chronickým plicním onemocněním ≤ 90 %. Postižení jedinci jsou kardiopulmonálně stabilní, ale může se u nich objevit schvácenost, malátnost, febrilie, záchvatovitý kašel, což může být indikací k hospitalizaci, frekventnímu monitorování vitálních funkcí, klinických a laboratorních parametrů, jež predikují progresi stavu. (29)

5.2.3.4 Závažný průběh

Pro závažný průběh onemocnění COVID-19 je charakteristická virová pneumonie s rozsáhlým poškozením plicního parenchymu a dušností. Mírný stupeň syndromu akutní dechové tísně (ARDS) je patofyziologickým korelátém závažného průběhu COVID-19. (29) Pacient musí splňovat navíc alespoň jedno ze 3 klinických kritérií: dechová frekvence $> 30/\text{min}$, saturace hemoglobinu kyslíkem < 93 % nebo respirační index (poměr $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$) < 300 mmHg. (2) U pacientů se závažným průběhem může dojít k rychlému klinickému zhoršení. Měla by jim být podaná kyslíková terapie prostřednictvím nosní kanyly nebo vysokoprůtokového kyslíkového přístroje.

Při podezření na sekundární bakteriální pneumonii nebo sepsi je třeba podat empiricky antibiotika. (28)

5.2.3.5 Kritický průběh

Onemocnění s kritickým průběhem odpovídá závažná pneumonie, která je komplikovaná respiračním selháním vyžadujícím umělou plicní ventilaci, šokem nebo orgánovým selháním. Tento stav vyžaduje péči na jednotce intenzivní péče. (2) Retrospektivní studie ukazuje, že u pacientů s kritickým průběhem COVID-19 se objevil poměrně pozdní rozvoj dušnosti s mediánem 5–8 dní, následující rozvoj ARDS může probíhat velmi rychle, jeho medián se pohybuje mezi 8–12 dny od počátku symptomů. Téměř polovina pacientů při překladech na jednotku intenzivní péče je afebrilní. Z toho lze vyvodit, že horečka není úplně spolehlivá známka progresu onemocnění. Pro většinu pacientů (70–90 %) s kritickým průběhem je potřebná umělá plicní ventilace, pro menší část pacientů je přínosná oxygenoterapie vysokoprůtokovým systémem nebo neinvazivní ventilace. (29)

5.3 Rizikové faktory závažného průběhu COVID-19

O závažnosti průběhu koronavirové infekce u každého jedince rozhoduje několik faktorů. Tyto faktory mohou být dané geneticky, další mohou být ovlivněné životou správou nebo mohou záležet na momentálních podmínkách, jako je současně působící stres nebo chování, které zvyšuje expozici virové infekce. (30)

Genetickou a antigenní výbavou hostitele se rozumí jak vrozené vlastnosti např. krevní skupina, tak postnatální vyladění imunitního systému, jež zůstává po celý život a do jisté míry má vliv v časných fázích vývoje na antigenní stimulaci. Genetická a antigenní výbava jedince určuje citlivost k infekci i ke komplikacím, například poruchám autoimunity. (30)

Na základě aktuálního stavu imunitního systému jedince se posuzuje schopnost znemožnit replikaci viru a následně ho eliminovat z organismu. Oproti tomu nadměrnou aktivací imunitního systému může dojít ke vzniku systémové zánětlivé odpovědi (SIRS). (30)

Celková zdatnost jedince ukazuje, jakou má organismus schopnost zvládnout metabolickou a kardiovaskulární zátěž spojenou s bojem proti infekci. Zdatnost je snižovaná různými komorbiditami. Velikost infekční dávky určují zvyklosti a chování spojené se situacemi s možným rizikem infekce. Přesáhnutí určité hranice může způsobit dysregulovanou imunitní odpověď, která vyvolá buď přílišnou aktivaci imunitního systému, nebo naopak její selhání. (30)

Byla objevena řada rizikových faktorů a chronických zdravotních stavů, které jsou spojovány se závažným průběhem onemocnění COVID-19. Patří mezi ně:

- vyšší věk než 65 let a mužské pohlaví
- těhotenství
- obezita
- snížená funkce imunitního systému (lidé s infekcí HIV, lidé s dlouhodobým užíváním imunosupresiv)
- chronické onemocnění (diabetes mellitus, hypertenze, kardiovaskulární onemocnění, onemocnění plic, nádorové onemocnění, cerebrovaskulární onemocnění, onemocnění ledvin nebo jater). (10, 11)

Vyšším rizikem závažného průběhu onemocnění COVID-19 jsou ohroženi nejen starší jedinci a jedinci s chronickým onemocněním, ale také těhotné ženy. U těhotných žen probíhá řada imunitních změn. Při srovnání s běžnou populací je u těhotných žen větší pravděpodobnost nepříznivého průběhu infekce. Nicméně i naprosto zdravé jedince bez žádných rizikových faktorů může postihnout závažný průběh COVID-19. (10, 31)

Jelikož SARS-CoV-2 silně interaguje s lidským receptorem ACE2, který se významně uplatňuje při vstupu do buněk s transmembránovou serinovou proteázou 2 (TMPRSS2), je zajímavé poznamenat, že gen pro ACE2 se nachází na chromozomu X. To znamená, že muži jsou hemizygoti (mají jen jeden chromozom X) a ženy mohou být potenciálně heterozygotky (mají dvě kopie chromozomu X). Tyto odlišnosti by mohly vysvětlovat rozdíly v závažnosti a úmrtnosti nemoci COVID-19 mezi mužem a ženou. (32)

5.4 Komplikace onemocnění COVID-19

Mezi komplikace onemocnění COVID-19 patří syndrom akutní respirační tísně (ARDS), akutní poškození ledvin, kardiovaskulární komplikace, jaterní selhání, sekundární infekce, imunopatologická reakce nebo tromboembolické příhody. (29, 33)

5.4.1 ARDS - syndrom akutní respirační tísně

U infikovaných pacientů virem SARS-CoV-2 se nejprve objevují chřipkové příznaky, jako je kašel, horečka, ucpaný nos a únava. U některých jedinců virová infekce postupuje a vyskytuje se dušnost a konzistentní příznaky virové pneumonitidy. Mezi ně patří snížená saturace kyslíkem, lymfopenie, denzity mléčného skla a alveolární exsudáty s intralobulárním postižením při zobrazování hrudníku. Výsledkem je těžký stav akutního poškození plic, nazývaný syndrom akutní respirační tísně, charakterizovaný respirační tísní spojenou s hypoxémií a nálezem bilaterálního infiltrátu na zobrazení hrudníku. (34)

V roce 2011 byla vytvořena Berlínská definice, která zahrnuje níže uvedená kritéria a zavádí termíny mírný, střední a těžký ARDS. Stupně závažnosti řídicí se touto definicí korelují lépe s vývojem zdravotního stavu nemocných jedinců. Kritéria Berlínské definice zní:

- časový nástup do 1 týdne od známého klinického inzultu nebo nových či zhoršujících se respiračních příznaků
- bilaterální opacity nejsou zcela vysvětlitelné výpotky, lobárním/plicním kolapsem nebo přítomností uzlin
- respirační selhání nelze plně vysvětlit srdečním selháním nebo přetížením tekutinami, je potřeba objektivní vyšetření např. echokardiografie k vyloučení hydrostatického plicního otoku v případě, že není přítomný žádný rizikový faktor
- porucha oxygenace, která může být:
 - mírná - $200 \text{ mm Hg} < \text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 300 \text{ mmHg}$ s PEEP nebo CPAP $\geq 5 \text{ cm H}_2\text{O}$
 - střední - $100 \text{ mmHg} < \text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 200 \text{ mmHg}$ s PEEP $\geq 5 \text{ cm H}_2\text{O}$
 - těžká - $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 100 \text{ mmHg}$ s PEEP $\geq 5 \text{ cm H}_2\text{O}$. (35)

Klinický obraz je histopatologicky definován jako difúzní alveolární poškození v plicích (DAD). Vyznačuje se trvalým poškozením kapilárních endoteliálních buněk a alveolárních epiteliálních buněk, únikem tekutiny bohaté na proteiny do alveolárního a intersticiálního prostoru, které kulminuje vytvořením hyalinní membrány, popřípadě intrakapilární trombózou. Souhrn těchto událostí ovlivňuje stabilizaci surfaktantu, můžou vést k alveolárnímu kolapsu a zhoršení oxygenace. (34)

Patofyziologicky je syndrom akutní respirační tísně popisován jako akutní a difúzní zánětlivé poškození alveolárně-kapilární bariéry spojené se zvýšením vaskulární permeability, sníženou poddajností a velikostí provzdušněné plicní tkáně. To zabraňuje výměně plynů a zapříčiňuje hypoxémii. (34)

Difúzní alveolární poškození lze rozdělit do dvou fází. První fáze, nazývaná exsudativní, odpovídá prvním 10 dnům virové infekce a je charakterizovaná především tvorbou výše zmíněné hyalinní membrány. Dále je pro ni typické poškození alveolární-kapilární bariéry s extravazací červených krvinek a také intenzivní infiltrace zánětlivých buněk do intraalveolárního prostoru. Druhá fáze neboli fáze proliferativní se vyznačuje exacerbovanou proliferací fibroblastů a myofibroblastů. Může vytvářet buď akutní fibrinózní organizující se pneumonii, nebo organizující se pneumonii s následným ukládáním extracelulární matrix, což směřuje k remodelaci parenchymu a plicní fibróze. Druhá fáze dále zahrnuje skvamózní metaplazii pneumocytů nebo proliferaci mnohojaderných obřích buněk. Mohou se objevit trombotické příhody malých plicních tepen. Fáze neprobíhají za sebou, v mnoha případech se vyskytují zároveň. (34)

5.4.2 Akutní poškození ledvin

Klinický obraz postižení ledvin při nákaze COVID-19 má rozsah od mírné proteinurie až po progresivní akutní poškození ledvin (AKI). U více než 40 % pacientů se při příjmu do nemocnice vyskytuje abnormální proteinurie. Akutní poškození ledvin je běžné u kriticky nemocných jedinců, postihuje 20-40 % pacientů přijatých na intenzivní péči. Zpravidla se rozvíjí až v pokročilé fázi onemocnění. Je možné ho považovat za negativní prognostický faktor přežití i marker závažnosti onemocnění. (36)

Příčina postižení ledvin je pravděpodobně multifaktoriální, je asociovaná s kardiovaskulárním onemocněním nebo řadou predisponujících faktorů např. sepsí, hypovolemií a nefrotoxiny. Kardiorenální syndrom, konkrétně selhání pravé komory, které je sekundární k pneumonii COVID-19, může způsobit překrvení ledvin a následně AKI nebo dysfunkce levé komory může vést k nízkému srdečnímu výdeji, což způsobí nedostatečné arteriální plnění a hypoperfúzi ledvin. (36)

Virové částice byly nalezeny v renálních endoteliálních buňkách, což může být jedna z příčin poškození endotelu v ledvinách, která se pravděpodobně podílí na AKI. SARS-CoV-2 je schopný prostřednictvím dráhy závislé na ACE2 infikovat renální tubulární epitel a podocyty, tím zapříčinit mitochondriální dysfunkci, akutní tubulární nekrózu, tvorbu vakuol pro reabsorpci proteinů, kolapsující glomerulopatii a únik proteinu v Bowmanově pouzdře. Mezi další mechanismus způsobující AKI patří dysregulace imunitní odpovědi související s infekcí SARS-CoV-2. Pro tento stav je charakteristická lymfopenie a syndrom uvolnění cytokinů neboli cytokinová bouře. K AKI dále může přispívat rhabdomyolýza, syndrom aktivace makrofágů, rozvoj mikroembolů a mikrotrombů v kontextu hyperkoagulability a endotelitidy. Dále mohou být poškozeny proximální tubuly s rozvojem Fanconiho syndromu, pro něhož je typická hypokalémie, hypofosfatémie, aniontová metabolická acidóza a dehydratace. (36, 37)

Brzká diagnostika AKI společně s preventivními a terapeutickými opatřeními zabraňuje přidruženým komplikacím, jako je chronické onemocnění ledvin či konečné stádium onemocnění ledvin. (38)

5.4.3 Kardiovaskulární komplikace

Kardiovaskulární komplikace spojené s COVID-19 zahrnují poškození myokardu, myokarditidu, akutní infarkt myokardu, srdeční selhání, kardiomyopatii, arytmií, kardiogenní šok a zástavu srdce. (39)

Existuje několik mechanismů odpovědných za kardiovaskulární komplikace u pacientů s COVID-19:

- Přímé poškození myokardu – jak již bylo výše uvedeno bránou vstupu pro SARS-CoV-2 do lidských buněk je ACE2, který hraje klíčovou roli v neuro-humorální

regulaci kardiovaskulárního systému, jak u zdravých jedinců, tak u jedinců s různými chorobnými stavy. Vazbou viru na ACE2 se mohou změnit signální dráhy ACE2, což vede k akutnímu poškození myokardu a plic kvůli vysoké expresi ACE2.

- Systémový zánět – pro závažnější průběh nemoci je charakteristická akutní systémová zánětlivá reakce s cytokinovou bouří, jejímž důsledkem může být multiorgánové poškození.
- Změna v poměru myokardiální poptávky a nabídky – zvýšená kardiometabolická poptávka asociovaná se systémovou infekcí a hypoxií může narušit vztah mezi poptávkou myokardu a nabídkou kyslíku, což směřuje k akutnímu poškození myokardu.
- Ruptura plátu a koronární trombóza – systémový zánět a zvýšené smykové napětí, jehož příčinou je zvýšený koronární průtok krve, mají vliv na urychlení ruptury plátu s následkem akutního infarktu myokardu. Riziko zvyšuje i protrombotické prostředí vyvolané zánětem.
- Nežádoucí účinky terapie – antivirotika, kortikosteroidy a další terapie zaměřená na léčbu COVID-19 mohou přispívat svými nežádoucími účinky k poškození kardiovaskulárního systému.
- Elektrolytová nerovnováha – možný nálezný u jakéhokoli kritického systémového onemocnění, jež může zapříčinit arytmiie, především u pacientů se základním onemocněním srdce. Hypokalémie přispívá k různým tachyarytmiím.

Kterýkoliv z mechanismů může vést k akutnímu poškození srdce a vzestupu srdečních troponinů. Je uváděno, že nejvíce časté mechanismy jsou přímé mechanismy (nekoronární), tedy poškození myokardu důsledkem virové myokarditidy či účinkem systémového zánětu. (40)

Pro pacienty s již základním kardiovaskulárním onemocněním může kardiovaskulární komplikace znamenat zvýšené riziko úmrtí. U jedinců s kritickým průběhem onemocnění se může vyskytnout velmi závažná srdeční komplikace, a to kardiogenní šok. (39, 41)

5.4.4 Jaterní poškození

Definice jaterního poškození související s COVID-19 zahrnuje jakékoliv poškození jater, k němuž došlo v průběhu progresu onemocnění a léčby u pacientů s již existujícím onemocněním jater nebo bez něho. Vyznačuje se zvýšenými hodnotami jaterních enzymů ALT, AST a mírně zvýšeným bilirubinem. Zvýšené hladiny těchto enzymů byly sledovány převážně u mužů. Hladina albuminu je snižená, vypovídá o závažnosti infekce a špatné prognóze. (42)

Poškození jater spojené s COVID-19 je charakterizované jaterní steatózou, lobulárním a portálním zánětem, apoptickými či nekrotickými ložisky a již zmiňovaným zvýšením ALT a AST. Jaterního poškození se účastní několik mechanismů. Jedním z mechanismů je přímá cytotoxicita virové replikace SARS-CoV-2 v játrech. Mezi další mechanismy patří těžké zánětlivé reakce nebo syndrom systémové zánětové odpovědi (SIRS), hypoxické změny vyvolané respiračním selháním, vaskulární změny v důsledku koagulopatie, endotelitida, srdeční kongesce, poškození jater vyvolané léky nebo exacerbace základního onemocnění jater. (42)

U jedinců s těžkým průběhem onemocnění je přítomnost jaterního poškození vyšší než u pacientů s mírným průběhem onemocnění. Jaterní poškození u jedinců s mírným průběhem onemocnění COVID-19 je mnohdy dočasné a vrátí se do normálního stavu bez speciální léčby. (43)

5.4.5 Sekundární infekce

Bakteriální koinfekce u pacientů s COVID-19 nejsou tolik rozšířené jako u pacientů s chřipkou. Nejčastěji detekovaný bakteriální patogen je *Mycoplasma pneumoniae*, dále *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* a *Klebsiella pneumoniae*. (44)

Na rozdíl od bakteriální koinfekce je virová koinfekce zcela běžná pro virové respirační infekce. S virem SARS-CoV-2 byly detekovány současně další viry např. lidský respirační syncytiální virus (RSV), lidský rhinovirus (hRV), parainfluenza virus typu 2 (PIV2) a koronavirus HKU1 (HKU1). Koinfekce s jinými respiračními viry může být jedním z hlavních důvodů chybné diagnózy COVID-19, protože klinické projevy, laboratorní a zobrazovací nálezy jsou téměř shodné. U některých pacientů byla prokázána také

koinfekce způsobená houbami *Aspergillus flavus*, *Candida albicans* a *Candida glabrata*.
(45)

5.4.6 Imunopatologická reakce

U některých jedinců s onemocněním COVID-19 se rozvine systémový hyperinflamatorní stav typický pro závažný a kritický průběh. O něco vzácnější jsou specifické imunopatologické komplikace spojované s infekcí COVID-19. Patří mezi ně například MIS-C (multisystémový zánětlivý syndrom dětského věku) či Guillainův-Barrého syndrom. Tento syndrom může svou podobností připomínat Kawasakiho nemoc, ale na rozdíl od ní se objevuje ve většině případech až u starších dětí a adolescentů. Vyznačuje se perzistující febrilií, bolestí hlavy, lymfadenopatií, makulopapulózním exantémem, gastrointestinálními potížemi, konjunktivitidou, slizničním postižením, encefalopatickými symptomy, dušností bez přítomnosti kašle, otoky dlaní a chodidel.
(29)

5.4.7 Tromboembolické komplikace

Těžší průběh infekce může být doprovázen hyperkoagulačním stavem, poškozením endotelu a následně vyšším rizikem žilních trombotických a tromboembolických komplikací (TEN), jež zvyšují riziko úmrtí. (46) Plicní embolie s žilní trombózou patří k nejčastěji se vyskytujícím trombotickým příhodám u jedinců s COVID-19. Riziko venózního tromboembolismu je vysoké, i přes antikoagulační profylaxi. Další trombotické komplikace jsou cévní mozková příhoda, akutní ischemie končetin a akutní koronární syndrom. Koagulopatie vyvolaná infekcí COVID-19 postihuje různé orgány včetně cév plic, nohou, sleziny, srdce a mozku. Tyto potíže se podílí až na multiorgánovém selhání a vysoké mortalitě u závažných případů. (47)

Syndrom systémové zánětlivé odpovědi organismu (SIRS) je charakteristickým rysem těžkého onemocnění COVID-19, jehož následkem je vznik nerovnováhy mezi prokoagulačními a antikoagulačními mechanismy hemostázy. (46, 48)

Vzniku trombózy se účastní několik patofyziologických mechanismů. Patří mezi ně endoteliální dysfunkce způsobená přímou invazí viru SARS-CoV-2 do endotelií, cytokinovým poškozením či intravaskulárně zavedenými katétry. Aktivace koagulace

se vyznačuje zvýšením koncentrace von Willebrandova faktoru, fibrinogenu, koagulačního faktoru VIII, aktivací tkáňového faktoru. Významné jsou také trombocyty, které jsou aktivované rozpoznáním antigenů interagujících s leukocyty. Cílem této reakce je aktivace leukocytů, na jejímž základě dojde k odstranění patogenů. Zároveň s leukocyty se aktivují i trombocyty, což vede právě k tvorbě trombů. Zánětlivé cytokiny, především IL-6, IL-8 a TNF- α , zesilují apoptózu buněk v plicích, játrech, ledvinách a dalších tkáních při extenzivní tkáňové distribuci koronavirové infekce. Tím v rámci syndromu mnohočetné orgánové dysfunkce aktivují koagulaci. Na základě těchto dějů vzniká generalizovaná vaskulitida malých cév s extenzivní mikrotrombotizací. (46)

Nález trombocytopenie, prodlouženého PT a zvýšené koncentrace D-dimerů nasvědčuje tomu, že se může jednat o diseminovanou intravaskulární koagulopatii (DIC). Její projev je jiný než projev DIC u sepse, která je charakteristická silnou trombocytopenií a elavace D-dimerů se nepřibližuje hodnotám pozorovaných u případů COVID-19. Z dostupných studií plyne, že koagulopatie asociovaná s COVID-19 je kombinací DIC nízkého stupně a plicní trombotické mikroangiopatie, která může mít dopad na již zmiňovanou orgánovou dysfunkci u pacientů se závažným průběhem onemocnění. (48)

5.5 Klinická diagnostika COVID-19

Typické klinické příznaky počáteční fáze nemoci COVID-19 jsou především únava, horečka a kašel. Mezi další příznaky se řadí dušnost, bolest svalů, bolest kloubů, bolest hlavy, bolest na hrudi, nepříjemný pocit na hrudi, zimnice, hemoptýza, bolest v krku, rýma, otok mandlí, zvětšení lymfatických uzlin, ageuzie, anosmie a zánět spojivek. Mohou se objevit i nonrespirační symptomy, jako je nechutenství, nevolnost, bolest břicha, průjem, vomitus a bušení srdce. (10, 49)

U značné části infikovaných osob probíhá COVID-19 asymptomaticky. Klinické příznaky se liší podle závažnosti onemocnění. Ve starším věku může jít o nespecifické zhoršení zdravotního stavu, apatii, zmatenost, závratě a ataxii. (50)

5.6 Laboratorní diagnostika COVID-19

Rychlá a přesná diagnostika onemocnění COVID-19 přispívá k získání kontroly nad pandemií a k nastavení odpovídající terapeutické strategie, aby došlo ke snížení morbidity a mortality. Bylo vyvinuto několik metodických přístupů pro epidemiologické i klinické účely. Diagnostické metody se rozdělují do dvou hlavních kategorií: imunologické a molekulární. K imunologickým metodám patří sérologické testy, které detekují zejména protilátky v krvi nebo virové antigeny v respiračních sekretech. Molekulární testy jsou založeny na detekci RNA SARS-CoV-2 především ve vzorku z nosohltanu. Kromě výše uvedených testů pomáhá vyšetření laboratorních parametrů a jejich změny při klinickém monitorování pacientů s onemocněním COVID-19. (51)

Laboratorní detekci viru lze rozdělit také na přímou a nepřímou. Mezi přímou detekci patří detekce nukleové kyseliny, detekce antigenu, případně kultivace. Nepřímou detekcí se rozumí detekce protilátek. Obě skupiny zahrnují značné množství variabilit, které limitují laboratorní diagnostiku. (6)

První často přehlíženou variabilitou je průběh infekce, protože zpočátku se virus nachází spíše v horních cestách dýchacích, které jsou později ve většině případech již negativní a ani kvantita v dolních cestách není nijak vysoká, infekce SARS-CoV-2 totiž ustupuje a patofyziologický proces po přestimulování imunitního systému pokračuje sám. Dále je zásadní pro správnou detekci správně provedený odběr klinického materiálu, výběr a objem transportního média či vhodný detekční komerční PCR kit. (6)

5.6.1 Přímý průkaz

V získaném vzorku se přímo dokazuje mikroorganismus, popřípadě jeho složka či produkt. (5) Vzorek pro přímý průkaz viru lze získat výtěrem z horních cest dýchacích, konkrétně hlubokým výtěrem z nosohltanu (přes nosní dutinu). Může být proveden také výtěr ze zadní části orofaryngu (přes dutinu ústní a bez dotyku mandlí). (6, 50) Vzorek může být odebrán alternativně z přední části nosu, to je pro testovaného jedince mnohem příjemnější. V nabídce jsou validované PCR a antigenní testy, kdy se může použít krev, dokonce i sliny. U intubovaných pacientů se upřednostňuje odběr

tracheálního aspirátu před bronchoalveolární laváží (BAL), jelikož se pojí s menším rizikem tvorby aerosolu, jestliže se při provedení nerozpojí okruh. (52)

Výtěr se provádí pomocí štětičky na plastové tyčince s jemným kartáčkem ze syntetického materiálu. Nepoužívají se špejle ze dřeva ani vaty, protože inhibují PCR reakci. Odebraný vzorek se skladuje při teplotě 2–8 °C a transportuje se co nejrychleji do laboratoře. Pokud vzorky není možné ihned zpracovat, skladují se zmrazené při teplotě –20 až –70 °C. (50)

5.6.1.1 Detekce SARS-CoV-2 metodou RT-PCR

Polymerázová řetězová reakce s reverzní transkripcí v reálném čase (rRT-PCR) je jeden z nejvyužívanějších a přesných testů pro diagnostiku viru SARS-CoV-2, který umí detekovat vybrané části nukleové kyseliny viru v odebraném vzorku. RT-PCR je schopná poskytnout výsledek za 3–4 hodiny. (53)

Nejprve je genetický materiál viru z odebraného vzorku extrahován, poté následují dvě po sobě jdoucí reakce. (54) První reakcí je konverze virové RNA na komplementární DNA (cDNA) prostřednictvím enzymu reverzní transkriptázy. Vytvořené templáty DNA se využijí v druhém kroku, kterým je amplifikace vzorku polymerázovou řetězovou reakcí pomocí genově specifických primerů a fluorescenčně značených hydrolyzačních sond. Počet kopií DNA se zvyšuje během opakování tepelných cyklů. Genově specifické primery způsobují amplifikaci jen vybraných oblastí genomu. Hydrolyzační sondy produkují fluorescenční signály při každé úspěšně proběhlé amplifikaci. (55)

K amplifikační reakci dochází v termocykleru, který obsahuje zdroj záření (xenonová lampa, LED dioda, laser) a detektor (CCD kamera, fotonásobič). Po filtraci optického paprsku je detektorem zaznamenaná fluorescence odpovídající počtu dopadajících fotonů. Zatímco zahřívání nastává prostřednictvím topné spirály nebo halogenové lampy, chlazení nasáváním vzduchu z okolního prostředí. (56)

Pro provedení rRT-PCR byly identifikovány molekulární cíle RNA viru SARS-CoV-2. Konkrétně se jedná o helikázu (Hel), nukleokapsidový protein (N), membránový protein (M), obalový protein (E), spike glykoprotein (S), hemaglutinin esterázu (HE), otevřené čtecí rámce (ORF1a a ORF1b) a RNA dependentní RNA polymerázu (RdRp). V ideálním

případě by se měly použít alespoň dva nezávislé molekulární cíle. Jeden nespecifický cíl pro detekci jiných koronavirů, aby se zabránilo zkřížené reakci s jinými lidskými koronaviry a druhý specifický pro SARS-CoV-2, aby nedocházelo k jeho potenciálnímu genetickému driftu. (57, 58)

Cílová RNA je měřena pomocí prahové hodnoty cyklu (Ct), jež je definovaná jako počet cyklů rRT-PCR potřebných k tomu, aby fluorescenční signál přesáhnul prahovou hodnotu a stal se tak detekovatelný. Hodnota Ct je nepřímo úměrná množství virové RNA ve vyšetřovaném vzorku. (59)

Tato metoda má vysokou specifitu, případy falešné positivity byly hlášeny jen vzácně. Výsledek bývá často ovlivněn preanalytickými faktory: místem odběru (lokální dynamikou virové nálože v závislosti na závažnosti a fázi onemocnění), technikou provedení odběru a transportem materiálu. (1)

Pozitivní výsledek testu potvrzuje infekci způsobenou virem SARS-CoV-2, negativní výsledek infekci nevylučuje, při trvajícím podezření je vhodné opakovat odběr v odstupu 2–5 dnů. Po prodělání infekce může být záchyt virové RNA i několik týdnů až měsíců, avšak pacient se z hlediska přenosu infekce již nepovažuje za rizikového. (52)

5.6.1.2 Detekce antigenu SARS-CoV-2

Antigenní testy detekují přítomnost virových proteinů SARS-CoV-2 ve vzorcích dýchacích cest. Většina komerčně dostupných souprav vyžaduje odběr vzorků z nosní dutiny nebo nosohltanu. Existují již studie na odběr alternativních vzorků, a to konkrétně slin. (59)

Na rozdíl od metod založených na polymerázové řetězové reakci, antigenní testy detekují virové složky (S glykoprotein, M protein a N protein) přímo bez tepelné amplifikace. Stejně jako metody založené na PCR odhalují pouze aktivní virovou infekci, nikoli situaci zotavení. (55)

Testy detekce antigenu jsou založené na několika mechanismech. Výkonné testování lze provádět na poloautomatických nebo automatických přístrojích, které využívají technologie enzymové imunoanalýzy (EIA) nebo chemiluminiscenční imunoanalýzy (CIA). Přednost však mají metody, které umožňují snadné a rychlé testování pomocí

přenosných zařízení. Mezi ně patří například technologie laterálního toku nebo imunochromatografické testy s laterálním tokem. (60)

Mezi výhody antigenních testů patří zejména rychlost, nízká cena a jednoduchost, výsledek lze získat během 15–30 minut. (6) Jejich specifita je obdobná s testy založenými na průkazu virové nukleové kyseliny. Senzitivita je o něco nižší, přibližuje se v průměru k 56 %. Je dostačující zvláště pro záchyt pacientů s vysokou virovou náloží. Mezi ně patří presymptomatictí a částečně symptomatictí jedinci, jež se nejvýznamněji podílejí na přenosu nákazy v populaci. (1) Antigenní testy nevyžadují drahé vybavení, chemikálie ani vyškolené specialisty jako je tomu u metod založených na PCR. Z toho důvodu je lze využít v ordinacích ambulantních lékařů, ve firmách či školách. Rychlé získání výsledků přispívá k rychlé izolaci pozitivně testovaných osob a snížení nebezpečí šíření infekce v populaci. (61)

Hlavní nevýhodou antigenních testů je míra falešně negativních výsledků, která může být způsobená buď nízkou virovou zátěží, nebo v případě špatného odběru nízkým titrem viru ve vzorku. Kvůli nižší citlivosti pro robustnost testů je doporučeno používat antigenní detekci k testování opakovaně. (62)

Pozitivita testu u symptomatického jedince infekci potvrzuje, negativita testu však infekci nevylučuje. Pokud vyjde test negativní, je doporučeno ověřit výsledek metodou rRT-PCR, stejně tak jako pozitivní výsledek testu od asymptomatického jedince. (52)

Tabulka 1 Porovnání PCR a antigeních testů (30)

Charakteristika	PCR testy	Antigení testy
Citlivost metody	vysoká (detekce cca od 10^3 molekul)	střední (detekce cca od 10^6 molekul)
Specifita	vysoká	Vysoká
Rychlost získání výsledku	Hodiny	desítky minut
Cena ze vyšetření	tisíce Kč	stovky Kč
Období positivity testu	cca 2 dny před začátkem onemocnění, pozitivita může přetrvávat týdny	od začátku onemocnění po dobu replikace viru
Využití pro diagnostiku	průkaz etiologie akutního nebo právě proběhlého onemocnění	průkaz etiologie akutního onemocnění
Zjištění nakažlivosti	pozitivita neznamena, že pacient je nakažlivý	pozitivita Ag testu svědčí o aktuální infekciozitě pacienta

5.6.2 Nepřímý průkaz

V získaném vzorku se detekuje výsledek reakce imunitního systému jedince na přítomnost mikroba zejména prostřednictvím průkazu tvorby protilátek (jejich množství a třída v závislosti na čase). Při využití sérologického vyšetření se pozoruje jak primární, tak sekundární humorální imunitní odpověď na antigen, ale taktéž tvorba protilátek proti specifickým antigenům, jež se odhalují postupně vývojem infekce. (5)

5.6.2.1 Sérologické testy

Sérologické testy detekují protilátky specifické proti SARS-CoV-2 v séru, plazmě nebo plné krvi. Zkoumá se i možnost detekce protilátek v jiných tělesných tekutinách například ve slinách. (60) Nejsou vhodné k průkazu infekce v akutní fázi. Tato metoda se uplatňuje při epidemiologickém sledování promořenosti populace, může také identifikovat osoby s vytvořenými protilátkami a nižším rizikem infekce či reinfekce. (50) Dále je jejich významnost založena na retrospektivním průkazu infekce nebo při objasňování role asymptomatických jedinců. Mohou mít přínos jako doplňkové testy

při opakované negativitě rRT-PCR a podezření na COVID-19 na základě typického klinického nálezu. (2)

Sérologické testy jsou založeny na průkazu IgG, IgM nebo IgA protilátek proti SARS-CoV-2. Protilátky se začínají objevovat přibližně šest dnů po nástupu symptomů. První detekovatelnou protilátkou v lidské krvi je protilátka typu IgM, která je následovaná protilátkou IgG. Zdá se, že hladina IgA neboli markeru slizniční imunitní odpovědi roste dříve, než začínají být detekovatelné hodnoty IgM. V průběhu infekce IgA a IgM rychle klesají a jsou zastupovány IgG, jejichž hladina prudce roste 14. den po nástupu symptomů. Existují i případy, kdy se protilátky třídy IgM a IgG tvoří současně. Dokonce se někdy mohou začít tvořit protilátky třídy IgG dříve než protilátky třídy IgM. (2, 60, 62)

K zachycení specifické protilátky proti SARS-CoV-2 sérologické testy často využívají rekombinantní antigeny. Nejvíce používaný antigen je protein N a doména vázací receptor S1 podjednotky glykoproteinu S. Sérologické metody mohou cílit na jeden nebo více izotypů imunoglobulinů (IgA, IgM, IgG) nebo na celkovou protilátku. (60)

Virus-neutralizační test je zlatým standardem sérologické diagnostiky koronavirových onemocnění. Kvantifikaci titru protilátek umožňuje s vysokou senzitivitou a specifitou. Velkým omezením pro rutinní užití testu je vysoká časová i technická náročnost. Více dostupnou metodou je ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), podobných výsledků se dosahuje s využitím jak různých komerčně distribuovaných kitů, tak in-house vyráběných souprav. Zkřížená sérologická reaktivita s běžnými lidskými koronaviry je relativně nízká. Pozitivní výsledek nezaručuje ochranu proti onemocnění, neslouží ani jako potvrzení, že daný jedinec je neinfekční. (2)

Sérologické testy mají obecné nevýhody sérologie. Nehrají roli v diagnostice akutní fáze onemocnění, neříkají nám nic o délce nebo aktivitě onemocnění, jejich diagnostická přesnost je velmi variabilní a specifita je ovlivněna možností zkřížené reaktivity protilátek s jinými koronaviry. Nález a hladina diagnostických protilátek nezajišťují protektivní imunitu proti reinfekci. (1)

5.6.3 Změny vybraných laboratorních parametrů

Hematologické a biochemické změny u pacientů s onemocněním COVID-19, získané pomocí rutinních laboratorních metod nejsou dostatečně specifické pro diagnostiku onemocnění COVID-19, ale jsou nepostradatelné při zhodnocení závažnosti onemocnění, vhodném výběru terapeutických možností a při sledování odpovědi na léčbu. (63)

5.6.3.1 Změny hematologických parametrů

V krevním obraze u pacientů s onemocněním COVID-19 se nachází obvykle normální počet leukocytů, ale může být také snížený nebo mírně zvýšený. (29) Nejběžnějším nálezem je lymfopenie, která je přítomna v různé míře u většiny symptomatických pacientů. V některých studiích se uvádí, že nižší počty lymfocytů mohou být asociovány s horším průběhem onemocnění. Dalším typickým nálezem je nízký počet eozinofilů. Právě kombinace lymfopenie a nízkého počtu eozinofilů u symptomatických jedinců je silným indikátorem infekce. Významný je také zvýšený počet neutrofilů, který v kombinaci s nízkým počtem lymfocytů a zvýšeným poměrem neutrofilů k lymfocytům (NLR) souvisí též s větší závažností a horší prognózou onemocnění. (64) Počet trombocytů bývá normální, respektive pohybuje se při dolní hranici fyziologického rozmezí. (29) V červené řadě nebyly zjištěny žádné významné změny v počtu erytrocytů, ale byl zaznamenán pokles hemoglobinu, hematokritu a zvýšená distribuční šíře erytrocytů. Změny těchto parametrů jsou závislé na závažnosti onemocnění. (65, 66)

Mezi významné změny koagulačních parametrů náleží zvýšené D-dimery. Koagulopatie asociovaná s COVID-19 se může projevit prodloužením protrombinového času (PT), prodloužením aktivovaného parciálního tromboplastinového času (APTT) a zvýšeným fibrinogenem. Naopak pacienti, u kterých se rozvine diseminovaná intravaskulární koagulopatie (DIC) mají hladiny fibrinogenu snížené, vyskytuje se u nich také trombocytopenie. (64)

5.6.3.2 Změny biochemických parametrů

Dalším typickým nálezem pro pacienty s COVID-19 jsou zvýšené hodnoty zánětlivých markerů. Mezi ně patří běžně měřený nespecifický marker zánětu c-reaktivní protein

(CRP), jeho alternativa rychlost sedimentace erytrocytů (ESR), pozitivní protein akutní fáze feritin a prokalcitonin, který se navíc může využít pro diagnostiku sekundární bakteriální infekce. Lze použít i mnoho dalších markerů zánětu například interleukin-6 (IL-6), interferon gama indukovaný protein 10 (IP-10), monocytární chemotaktický protein 3 (MCP-3) nebo presepsin. (64)

Pro pacienty s COVID-19 jsou typické zvýšené hodnoty kardiálních markerů. Nejčastěji se jedná o zvýšení kardiálního troponinu (cTn), ale není vyloučené zvýšení hodnot i jiných srdečních markerů jako jsou kreatinkináza-MB, myoglobin či natriuretické peptidy. (64)

V souvislosti s onemocněním COVID-19 se sledují změny markerů jaterních a ledvinných funkcí. Při vyšetření jaterních funkcí jsou pozorovány zvýšené hladiny aspartátaminotransferázy (AST), alaninaminotransferázy (ALT) a bilirubinu. Naopak hladiny albuminu i prealbuminu jsou sníženy. U ledvinných funkcí je obvykle nalezena zvýšená hladina kreatininu a močoviny. Laktátdehydrogenáza (LDH) je nespecifický marker poškození tkáně. Jeho zvýšená hladina je asociovaná s nepříznivým průběhem onemocnění. (64)

Zhoršení infekce způsobené SARS-CoV-2 se pojí s hypoxémií a metabolickou acidózou, které mohou přejít do syndromu akutní respirační tísně (ARDS). Významnou roli zde hraje měření parametrů arteriálních krevních plynů, a to zejména pH, $p\text{CO}_2$, $p\text{O}_2$, HCO_3^- a laktátu. (64)

5.7 Léčba onemocnění COVID-19

Základem léčby infekce způsobené virem SARS-CoV-2 je terapie symptomů podle jejich závažnosti, ať už se jedná o pacienty s léčbou ambulantní, na standardních nebo intenzivních lůžkách. Při symptomatické terapii se podávají antipyretika při teplotě nad 38 °C (paracetamol, ibuprofen, metamizol). K utlumení suchého dráždivého kašle se podávají antitusika (kodein, dextromethorfan, butamirát, dropropizin, levodropropizin), je možná jejich kombinace s mukolytikem (acetylcystein, erdostein, ambroxol). Při obstrukci nosních cest se podávají dekongesční nosní kapky (oxymetazolin, nafazolin, tramazolin, xylometazolin, fenylefrin). V případě bronchiální

obstrukce se indikují bronchodilatancia v ručním inhalátoru (salbutamol, ipratropium), pokud pacient nedokáže synchronizovat nádech nebo při mělkém dýchání, lze je podávat přes spacer. Podstatná je také adekvátní hydratace s vyváženou tekutinovou bilancí a zvlhčené prostředí. Oxygenoterapie je indikovaná pouze při SpO_2 pod 93 %. (50, 52)

Cílem oxygenoterapie je dostatečné okysličení a ventilace pacienta. Lze využít několik způsobů například doplňkovou kyslíkovou terapii, vysokoprútokovou nazální oxygenoterapii, neinvazivní a invazivní ventilaci či mimotělní membránovou oxygenaci. (10)

Doplňková kyslíková terapie je doporučena pacientům s chorobou COVID-19 s mírným respiračním selháním. Vysokoprútoková nazální oxygenoterapie je určena pro pacienty s mírným až středně těžkým hypoxemickým respiračním selháním. Neinvazivní ventilace je jedním z pokroků v nouzové a kritické péči pacientů s respiračním selháním. Využívá se u pacientů, pro které je nedostačující doplňková kyslíková terapie nebo vysokoprútoková nazální oxygenoterapie, s kterou je možná i kombinace. Invazivní ventilace je účinná pro těžké respirační selhání. Plicní ochranná ventilace s pozitivním koncovým výdechovým tlakem (PEEP) je konvenční léčbou těžké sekundární pneumonie s ARDS. Extrakorporální membránová oxygenace je doporučena pouze velmi těžkým formám ARDS. Používá se k podpoře okysličení, ventilace a k podpoře oběhu. Měla by být indikovaná včas, než dojde k vícenásobnému poškození orgánů. (10)

Léčba je zaměřena v počáteční fázi infekce na protivirový účinek, cílem je zabránit replikaci a neutralizaci viru. K tomu se využívá remdesivir, jediné antivirotikum, které je registrované k léčbě nemoci COVID-19. Také byl nalezen antivirotický účinek u favipiraviru, ale jeho praktický význam v léčbě je zatím nejasný. Kvůli neutralizačnímu účinku na virus a dalším imunomodulačním účinkům se využívá k léčbě rekonvalescentní plazma. Na podobném principu jako rekonvalescentní plazma jsou postaveny monoklonální protilátky a jejich neutralizační účinek. Mezi současně podávané monoklonální protilátky patří (casirivimab/imdevimab, bamlanivimab/etesevimab). (52)

Remdesivir je RNA-dependentní polymerázový inhibitor vyvinutý společností Gilead Sciences pod označením GC-5734. Jedná se o fosforamidátové proléčivo analogu

adenosinu se širokospektrální aktivitou proti mnoha virům, jako jsou filoviry, pneumoviry, paramyxoviry, SARS-CoV, MERS-CoV, a byl zkoušen při léčbě eboly. Je určen pro děti starší 12 let a dospělé s pneumonií a nutností oxygenoterapie (standardní či vysokoprůtoková oxygenoterapie, neinvazivní ventilace). S léčbou je nutné začít co nejdříve, nejlépe do 7 dnů od prvních příznaků. Dávka první den pro dospělého pacienta je 200 mg, další čtyři dny 100 mg jednou denně. Podává se intravenózně, infuze trvají 30–60 minut. (52, 67)

Favipavir je inhibitor RNA-dependentní RNA polymerázy účinný proti široké škále virů, kromě koronavirů ještě proti viru chřipky, eboly, západonilské horečky nebo žluté zimnice. Jeho indikaci lze zvážit u pacientů s infekcí COVID-19, kteří nevyžadují oxygenoterapii a hospitalizaci. Podává se místo monoklonálních protilátek. Dávka pro dospělého je první den 2×1800 mg, 2.–14. den 2×800 mg. Přestože není v ČR registrovaný, je možné jeho použití pod názvem Fabiflu – favipiravir tablets 200 mg, 34x200 mg v souladu se specifickým léčebným programem. (52, 68)

Rekonvalescentní plazma je v ČR vyráběna od dárců s prokázanou hladinou virus-neutralizačních protilátek (alespoň s titrem 1:160 a vyšší) jako transfuzní přípravek. Doporučuje se v časných fázích nemoci, aby se zabránilo rozvoji do těžkých forem u rizikových pacientů. Podává se pacientům bez oxygenoterapie nebo s oxygenoterapií s nízkým průtokem kyslíku, do tří dnů od vzniku symptomů a negativním výsledkem vyšetření IgG anti-SARS-CoV-2 protilátek. Doporučuje se aplikace 250-300 ml maximálně třikrát během 5 dnů. (52)

Monoklonální protilátky (casirivimab/imdevimab, bamlanivimab/etesevimab) se aplikují ambulantně pacientům s rizikem závažné formy onemocnění a v co nejkratší době po zjištění infekce. Casirivimab a imdevimab jsou neutralizační monoklonální protilátky cílené na nepřekrývající se epitopy receptorového místa spike proteinu. V ČR jsou podávány kombinovaně pod názvem REGN-COV2, v jednorázové intravenózní infuzi (600 mg casirivimabu a 600 mg imdevimabu). Bamlanivimab, také znám pod názvy LY-CoV555 nebo LY3819253, je neutralizační monoklonální protilátka IgG1, jež se váže na spike protein SARS-CoV-2, tím zabraňuje vazbě viru na receptor ACE-2 a jeho vstupu do buňky hostitele. Kvůli přítomnosti beta a delta mutace se podává kombinovaný

přípravek bamlanivimabu s etesevimabem, v dávce 700 mg bamlanivimabu a 1400 mg etesevimabu jako jednorázová intravenózní infuze. (52)

Cílem léčby je i potlačení přehnané zánětlivé reakce, k tomu se využívá dexamethason. V klinické praxi se vyskytují i další imunosupresiva baricitinib a tocilizumab, při jejichž podání byla prokázána redukce úmrtí. Naproti tomu se u řady léků (např. hydroxychlorochin, azitromycin, lopinavir/ritonavir, interferony), které byly na počátku pandemie nadějně, jejich účinnost v klinických studiích zatím nepotvrdila. (52)

Dexamethason představuje velký přínos pro pacienty s těžkým poškozením plic a vyžadujících oxygenoterapii. Má vliv na zlepšení prognózy i zkrácení hospitalizace těchto pacientů. V ČR je doporučena dávka 8 mg 1× denně nejdříve šestý den od počátku klinických příznaků. (69)

Monoklonální protilátka tocilizumab, je mířená proti IL-6 receptoru. Běžně se indikuje k léčbě revmatoidní artritidy. Při léčbě COVIDU-19 má využití u pacientů s neadekvátní imunologickou odpovědí. Obvyklá dávka je pro dospělého člověka 4–8 mg/kg (maximálně 800 mg), v případě nedostatečného účinku je dovoleno podání zopakovat, ale více než dvě dávky nelze podávat. Nevýhodou je velmi vysoká cena. (69)

Imunosupresivum baricitinib, inhibitor enzymu JAK1 a JAK2, je používán při léčbě revmatoidní artritidy a atopického ekzému. U infekce COVID-19 se předpokládá, že inhibuje systémový a alveolární zánět, také brání před proniknutím viru do buňky. Je indikován dospělým osobám hospitalizovaným s COVIDEM-19 a oxygenoterapií (avšak ne s invazivní ventilací). Podává se dávka 4 mg p.o. jednou denně 14 dní nebo do doby propuštění z nemocnice s nutností současné antikoagulační profylaxe. (52)

U onemocnění COVID-19 je zvýšené riziko tromboembolické nemoci. Ukazatelem možné začínající trombotické komplikace jsou zvýšené D-dimery, prodloužený aktivovaný parciální tromboplastinový čas a protrombinový čas. Podle Společnosti infekčního lékařství ČLS JEP se doporučuje preventivně podávat nízkomolekulární heparin (enoxaparin, nadroparin) ve vyšší profylaktické nebo nižší terapeutické dávce za současné monitorace anti-Xa aktivity s rozmezím 0,3-0,5 IU/ml. (69)

Tabulka 2 Riziko vzniku tromboembolismu (52)

Rizikový faktor	Skóre
anamnéza žilní trombózy/plicní embolie	3
známá trombofilie	2
paréza/plegie končetiny	2
aktivní maligní onemocnění	2
aktuální pobyt na JIP	1
kompletní imobilizace delší než 1 den	1
věk nad 60 let	1

Tabulka 2 zobrazuje riziko vzniku tromboembolismu: skórované podle IMPROVE VTE. Skóre, které je ≥ 4 , znamená zvýšené riziko tromboembolické nemoci. (52)

6. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6.1 Charakteristika vyšetřovaného souboru

Pro statistické zpracování diplomové práce byly použity výsledky vyšetření laboratorních parametrů pacientů přijatých do Fakultní nemocnice v Hradci Králové. Jednalo se o výsledky celkem 205 pacientů s prokázaným onemocněním COVID-19, kteří byli rozděleni na dva podsoubory podle závažnosti průběhu onemocnění. Kritériem pro rozdělení bylo, zda pacient potřebuje kyslíkovou podporu, či nikoliv. Data nemocných byla sbíraná v období od září do listopadu v roce 2020. Pacientům byl v hematologické laboratoři vyšetřen krevní obraz, rozpočet leukocytů, počet a parametry retikulocytů. Z naměřených dat byl vypočten poměr NLR a ICIS skóre. Nechybělo ani stanovení koagulačních a biochemických parametrů. V našem souboru jsme konkrétně sledovali rozdíly v koncentraci D-dimerů, fibrinogenu, C-reaktivního proteinu, prokalcitoninu a myoglobinu. V tabulce č. 3 je znázorněna charakteristika vyšetřovaného souboru.

Tabulka 3 Charakteristika vyšetřovaného souboru

Celkový počet pacientů	205		
Počet mužů	126		
Počet žen	79		
Věkové rozmezí (roky)	16-98		
Věk (roky)	Průměr	68	
	Medián	69	
Závažný průběh	Počet pacientů	157	
	Počet mužů	98	
	Počet žen	59	
	Věkové rozmezí (roky)	16-98	
	Věk (roky)	Průměr	71
Medián		72	
Lehký průběh	Počet pacientů	48	
	Počet mužů	28	
	Počet žen	20	
	Věkové rozmezí (roky)	26-89	
	Věk (roky)	Průměr	55

6.2 Materiál a metody

6.2.1 Použitý materiál

Vyšetření hematologických parametrů jako je krevní obraz, retikulocyty a diferenciální počet leukocytů se provádí z odběrů žilní krve do zkumavek s K₃EDTA (trojdraselná sůl kyseliny etylendiaminteraoctové). Pro hemokoagulační stanovení se odebírá také žilní krev, a jako antikoagulant se používá citrát sodný 0,109 mol/l. Vzorek určený pro krevní obraz je nutné zpracovat do 5 hodin od odběru. Plazma pro koagulační vyšetření se musí oddělit od krevních buněk ve většině případů maximálně do 2 hodin od odběru a poté zpracovat do 4-6 hodin od odběru. (70)

Pro biochemická vyšetření CRP, PCT a myoglobin se jako biologický materiál používá krevní sérum. Odebírá se do zkumavky pro srážlivou krev. Stěny odběrových zkumavek obsahují vrstvu kaolinu urychlující srážení a inertní gel, který po odstředění vytváří rozhraní mezi krvinkami a vrstvou séra. (71)

6.2.2 Přístrojové vybavení a vyšetřovací metody

6.2.2.1 Hematologický analyzátor

Data krevních parametrů v diplomové práci byla získána na hematologické lince Sysmex XN-3000 se systémem digitální morfologie DI-60. Linka Sysmex XN-3000 s DI-60 zahrnuje dva analyzátory krevních buněk XN-10, automatický podavač vzorků, IPU (procesor zpracovávající data dodaná z analyzátorů), pneumatickou jednotku udržující tlak a vakuum, dále nátěrový a barvicí automat SP-10 a systém digitální morfologie DI-60 i s podavačem CF-60. Výrobce je Sysmex Corporation, Kobe, Japonsko a distributorem je Sysmex CZ s.r.o., Brno. (72)

Počet leukocytů, diferenciální rozpočet leukocytů a retikulocytů byl naměřen na analyzátoru XN-10. Jeho chod je založen na několika principech analýzy, a to na průtokové cytometrii, impedanční metodě a spektrofotometrii. Na tomto analyzátoru lze provádět manuální i systémovou analýzu. (72)

Pro určení počtu WBC, diferenciálního počtu leukocytů, počtu NRBC a pro měření retikulocytů se využívá princip fluorescenční průtokové cytometrie. Tato metoda

poskytuje informace o velikosti, struktuře buňky a vnitřním obsahu buňky. Nejdříve dojde k nasátí vzorku, jeho rozdělení, zředění v předem definovaném poměru s diluentem a označení fluorescenčním barvivem, které se naváže specificky na nukleové kyseliny. Následně se vzorek přesune do průtokové komory, kde je osvětlen laserovým paprskem. Na základě toho lze buňky rozdělit podle předního rozptýleného světla, bočního rozptýleného světla a bočního fluorescenčního světla. O objemu krvinky poskytuje informace intenzita předního rozptylu, boční rozptyl podává informace o obsahu buňky (jádro a granula) a na identifikaci množství DNA a RNA v krvince má podíl boční fluorescence. (73)

V tabulce č. 4 je uvedený seznam a objem reagensů používaný na analyzátoru XN-10. Pro všechny typy analýz a režimů je aspirovaný objem vzorku 88 µl. (72)

Tabulka 4 Seznam reagensů používaný na analyzátoru Sysmex XN-10 (72)

Reagencie	Objem
Cellpack DCL	20 l
Cellpack DFL	1,5 l
Sulfolyser	5 l
Lysercell WNR	5 l
Lysercell WDF	5 l
Fluorocell WNR	2 x 82 ml
Fluorocell WDF	2 x 42 ml
Fluorocell RET	2 x 12 ml
Fluorocell PLT	2 x 12 ml
Cellclean (nebo Savagro Basic)	50 ml (5 kg)

ICIS skóre (intensive care infection score) je vytvořené původně pro včasnou diagnostiku sepse, ale při vstupním vyšetření se jeví i jako vhodný prognostický marker pro onemocnění COVID-19. Výsledek tohoto parametru je vypočítaný pomocí softwaru Extended IPU. Výpočet se skládá z těchto dílčích parametrů:

- sN# (absolutní počet zralých/segmentovaných neutrofilů)
- alG# (absolutní počet nezralých granulocytů)
- sNFL (intenzita fluorescence segmentovaných/zralých neutrofilů)
- ASL (protilátky produkující lymfocyty)

- dCHC (rozdíl v množství hemoglobinu mezi nezralými a zralými erytrocyty). (74, 75)

U každého výše zmíněného parametru se nejdříve podle konkrétní hodnoty určuje míra patologie, vyjádřená číslem od 0 do 4, kdy číslo 4 znamená nejvyšší míru patologie. Součtem přiřazených hodnot všem pěti parametrům se získá výsledné ICIS skóre. Může nabývat hodnot 0 až 20. (76)

Koagulační parametry, v této práci D-dimery a fibrinogen, byly stanoveny na analyzátoru STAR-R EVOLUTION, jeho výrobce je Diagnostica Stago, Francie. Jedná se o plně automatický koagulometr, který umožňuje provádět základní i speciální koagulační testy na mechanicko-magnetickém principu detekce, dále imunoturbidimetrické a spektrofotometrické testy. (77)

Stanovení koncentrace fibrinogenu patří mezi koagulační testy. Bylo provedeno za využití setu STA®-Fibrinogen 5. Principem je sledování tvorby fibrinového vlákna, kdy vlivem rostoucí viskozity měřeného systému dochází k zástavě pohybu kovové kuličky v kyvetě. V tu chvíli se odečítá koagulační čas. Koncentrace D-dimerů se stanovuje imunoturbidimetricky pomocí setu STA®-Liatest® D-Di. Princip imunoturbidimetrických testů spočívá v měření změny absorbance monochromatického světla, které prochází vzorkem plazmy při vlnové délce 540 nm. Oba testy jsou již překalibrované výrobcem. (77, 78)

6.2.2.2 Biochemický analyzátor

V této práci byly stanoveny také biochemické parametry, jako C-reaktivní protein, prokalcitonin a myoglobin, které byly změřeny na analyzátoru COBAS 8000. Výrobcem je Roche, Basilej, Švýcarsko. Jedná se o sérii modulárních analyzátorů. Celý systém je složen z transportní jednotky, 4 analytických modulů a modulu ISE. (79)

Kvantifikace myoglobinu byla provedena pomocí soupravy Elecsys Myoglobin, založené na principu elektrochemiluminiscenční immunoanalýzy (ECLIA). ECLIA spočívá v tom, že se vzorek pacienta ošetří biotinylovanou monoklonální protilátkou proti myoglobinu a monoklonální protilátkou proti myoglobinu značenou ruthenylovaným komplexem. Následuje inkubace, při které se tvoří sendvičový komplex myoglobinu

s biotinylovanou monoklonální protilátkou proti myoglobinu a monoklonální protilátkou proti myoglobinu značenou rutheniovým komplexem. Po přidání mikročásteček potažených streptavidinem probíhá druhá inkubace. Sendvičové komplexy se vážou na mikročástečky a vazbou biotin-streptavidin k pevné fázi. Dále jsou nenavázané složky reakční směsi odstraněny. Na pracovní elektrodu je vloženo napětí, jež vyvolá spuštění reakce a chemiluminiscenční emise fotonů. Síla signálu změřeného fotonásobičem je úměrná koncentraci myoglobinu ve vzorku. (80)

Pro kvantitativní stanovení prokalcitoninu byla použita souprava Elecsys BRAHMS Prokalcitonin. Při stanovení prokalcitoninu se využívá stejného principu jako při stanovení myoglobinu, a to elektrochemiluminiscenční imunoanalýzy (ECLIA). (81)

Stanovení CRP bylo provedeno pomocí soupravy Tina-quant® C-Reactive Protein. Principem stanovení CRP je imunoturbidimetrie, dochází k aglutinaci lidského CRP s latexovými částicemi potaženými monoklonálními anti-CRP protilátkami za vzniku agregátů, které jsou změřeny turbidimetricky. (82)

6.3 Statistické zpracování výsledků měření

V této diplomové práci bylo cílem statisticky zpracovat celkem dvanáct laboratorních parametrů. U jednotlivých parametrů byla statisticky vyhodnocena závislost jejich změn na závažnosti průběhu onemocnění COVID-19. Statistické vyhodnocení a jednotlivé grafy byly vytvořeny pomocí programu MedCalc (verze 20.106) a Microsoft Excel 2016.

Hematologické parametry WBC, lymfo#, Ret-He, sN# (abs), aIG# (abs), D-dimery, fibrinogen a biochemické parametry CRP, PCT a myoglobin byly statisticky zpracovány pomocí kvantitativní analýzy. Klíčovým krokem pro kvantitativní analýzu bylo provést ověření normality dat. K tomu byl použit Shapiro-Wilkův test. S výjimkou parametru Ret-He u skupiny pacientů s mírným průběhem (viz tabulka č. 5; $P = 0,7951$), byla normalita u všech ostatních parametrů v obou souborech zamítnuta ($P < 0,05$). Výsledky ověření normality dat obou souborů pacientů lze vidět v tabulce č. 5 a 6. Poté následovalo statistické zpracování dat pomocí Mann-Whitneyho U testu. Parametry ICIS skóre a poměr NLR byly zpracovány kvalitativně. Nejprve byla zvolena pro oba parametry optimální cut-off hodnota. Pro další statistickou analýzu byl použit Fisherův exaktní test.

Pro zvolení optimální cut off hodnoty pro oba parametry byla rozhodující specifita, pozitivní prediktivní hodnota a Youdenův index.

6.4 Výsledky

6.4.1 Ověření normality dat

Tabulka 5 Shapiro-Wilkův test - ověření normality dat (mírný průběh)

Parametr	Počet vzorků	Minimum	Maximum	Medián	Shapiro-Wilkův test
WBC	48	3,1900	14,3100	5, 9250	W = 0,9288 P = 0,0062
Lymfo#	48	0,5200	2,9800	1,2650	W = 0,9151 P = 0,0020
Ret-He	48	28,1000	38,3000	33,4000	W = 0,9851 P = 0,7951
sN# (abs)	48	1,5300	10,7200	3, 9250	W = 0,9225 P = 0,0036
alG# (abs)	48	0,01000	0,2200	0,03000	W = 0,7036 P < 0,0001
D-dimery	28	0,08000	2,0800	0,4350	W = 0,7641 P < 0,0001
FBG	28	2,8000	8,3100	4,4300	W = 0,9013 P = 0,0122
CRP	46	0,5000	115,0000	13,6000	W = 0,7856 P < 0,0001
PCT	26	0,02000	0,1800	0,05000	W = 0,8260 P = 0,0005
Myoglobin	30	21,0000	418, 5000	44,5500	W = 0,6694 P < 0,0001

Tabulka 6 Shapiro-Wilkův test - ověření normality dat (závažný průběh)

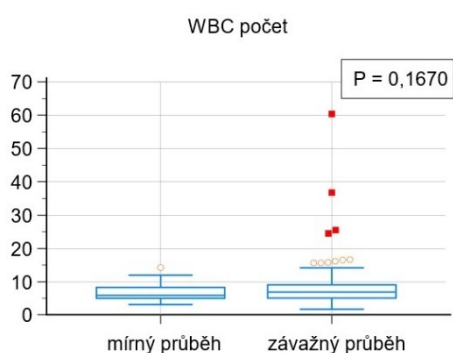
Parametr	Počet vzorků	Minimum	Maximum	Medián	Shapiro-Wilkův test
WBC	157	1,8000	60,4000	6,9300	W = 0,5818 P < 0,0001
Lymfo#	157	0,2300	3,1000	0,8800	W = 0,9187 P < 0,0001
Ret-He	157	19,6000	39,4000	31,3000	W = 0,9750 P = 0,0059
sN# (abs)	157	1,1100	34,3800	5,3600	W = 0,7469 P < 0,0001
aIG# (abs)	157	0,0000	0,9500	0,05000	W = 0,5996 P < 0,0001
D-dimery	146	0,1800	20,000	1,3150	W = 0,5781 P < 0,0001
FBG	139	2,5400	8,5300	5,0100	W = 0,9583 P = 0,0003
CRP	155	66,6000	368,0000	66,6000	W = 0,8497 P < 0,0001
PCT	142	0,02000	35,2000	0,1400	W = 0,1797 P < 0,0001
myoglobin	142	21,0000	18790,0000	106,1000	W = 0,1878 P < 0,0001

6.4.2 Analýza závislosti změny WBC na průběhu COVID-19

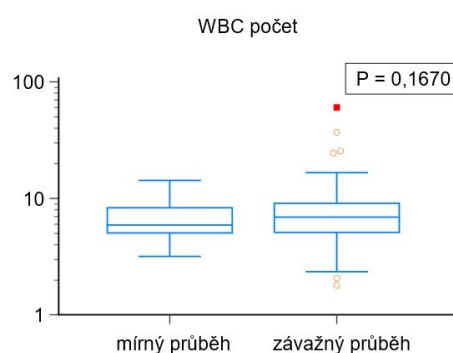
Kvantitativní analýza závislosti změny parametru počtu WBC na průběhu onemocnění COVID-19 byla provedena ze dvou souborů dat. První soubor zahrnoval data 48 pacientů s mírným průběhem COVID-19 označená WBC počet – mírný průběh a druhý soubor obsahoval 157 pacientů se závažným průběhem COVID-19 označený WBC počet – závažný průběh. Pro statistické zhodnocení byl zvolen Mann-Whitneyho U test. Byla nastavena nulová hypotéza, že mezi hodnotami parametru WBC není rozdíl u pacientů s mírným a závažným průběhem onemocnění.

Tabulka 7 Mann-Whitney U test – WBC a průběh onemocnění COVID-19

Mann-Whitney U test	
Průměrné pořadí skupiny WBC-mírný průběh	92,6458
Průměrné pořadí skupiny WBC-závažný průběh	106, 1656
Mann-Whitney U	3271,00
Testová statistika Z (upravená)	-1,382
P hodnota oboustranného testu	0,1670



Graf 1 Krabicový graf WBC a průběh onemocnění



Graf 2 Krabicový graf WBC a průběh onemocnění (upravený)

Z tabulky č. 7 lze vyčíst, že hodnota $P = 0,1670$ neboli 16,7 %, to znamená, že platí nulová hypotéza. Není statisticky významný rozdíl v počtu WBC u pacientů s mírným nebo závažným průběhem onemocnění. To je patrné i z krabicových grafů č. 1 a 2, pomocí nichž jsou vizualizovaná data obou souborů pacientů. Krabicový graf zobrazuje minimum, první kvartil, medián, třetí kvartil a maximum. Pro lepší přehlednost byla zlogaritmovaná osa y (viz graf č. 2).

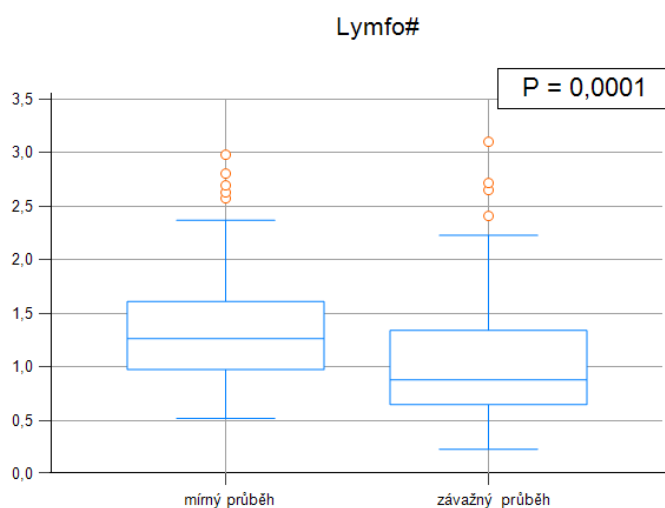
6.4.3 Analýza závislosti změny Lymfo# na průběhu COVID-19

Pro kvantitativní analýzu závislosti absolutního počtu lymfocytů na mírném nebo závažném průběhu onemocnění COVID-19 byly k dispozici dvě skupiny výsledků. První skupina výsledků od pacientů s mírným průběhem označená Lymfo# – mírný průběh zahrnovala 48 výsledků. Druhá skupina označená Lymfo# – závažný průběh zahrnovala 157 výsledků, patřily pacientům se závažným průběhem onemocnění. Byla zvolena

nulová hypotéza, že není rozdíl mezi absolutním počtem lymfocytů u pacientů s mírným a závažným průběhem onemocnění a byla ověřena Mann-Whitneyho U testem.

Tabulka 8 Mann-Whitney U test – Lymfo# a průběh onemocnění COVID-19

Mann-Whitney U test	
Průměrné pořadí skupiny Lymfo#-mírný průběh	132,0521
Průměrné pořadí skupiny Lymfo#-závažný průběh	94,1178
Mann-Whitney U	2373,50
Testová statistika Z (upravená)	3,878
P hodnota oboustranného testu	0,0001



Graf 3 Krabicový graf Lymfo# a průběh onemocnění

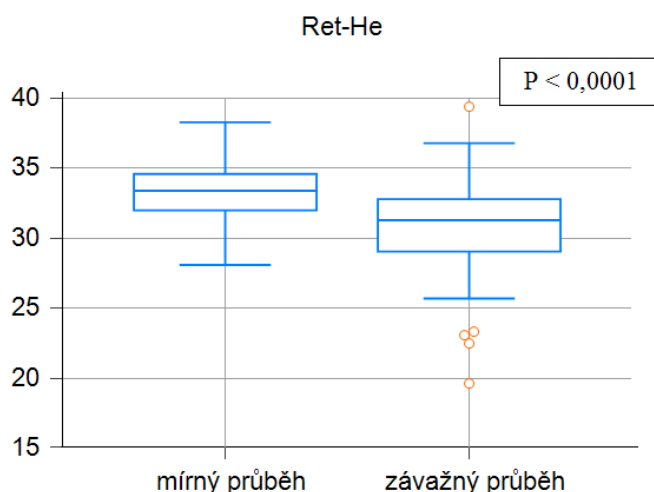
V tabulce č. 8 je uvedena hodnota P, která je menší než 0,05, mezi absolutním počtem lymfocytů u pacientů s mírným a závažným průběhem je statisticky významný rozdíl, nulová hypotéza je tedy zamítnuta. Z tabulky č. 8 i grafu č. 3 je vidět, že hodnoty lymfocytů u mírného průběhu onemocnění jsou vyšší než hodnoty lymfocytů při závažném průběhu. Data obou skupin byla vizualizovaná opět pomocí Mann-Whitneyho U testu, jenž zobrazuje minimum, první kvartil, medián, třetí kvartil a maximum.

6.4.4 Analýza závislosti změny Ret-He na průběhu COVID-19

Kvantitativní analýza závislosti obsahu hemoglobinu v retikulocytech (Ret-He) na mírném nebo závažném průběhu onemocnění COVID-19 byla provedena ze dvou souborů dat. První soubor tvořilo 48 výsledků od pacientů s mírným průběhem onemocnění označený Ret-He – mírný průběh a druhý soubor tvořilo 157 výsledků od pacientů se závažným průběhem označený Ret-He – závažný průběh. Pro statistické zhodnocení byl použit Mann-Whitneyho U test, pomocí něhož byla ověřena nulová hypotéza, že mezi výsledky pacientů s mírným a závažným průběhem se nenachází statisticky významný rozdíl. Data obou skupin byla zobrazena pomocí krabicového grafu, který umožňuje vizualizovat minimum, první kvartil, medián, třetí kvartil a maximum.

Tabulka 9 Mann-Whitney U test – Ret-He a průběh onemocnění COVID-19

Mann-Whitney U test	
Průměrné pořadí skupiny Ret-He-mírný průběh	140,6146
Průměrné pořadí skupiny Ret-He-závažný průběh	91,5000
Mann-Whitney U	1962,50
Testová statistika Z (upravená)	5,020
P hodnota oboustranného testu	<0,0001



Graf 4 Krabicový graf Ret-He a průběh onemocnění

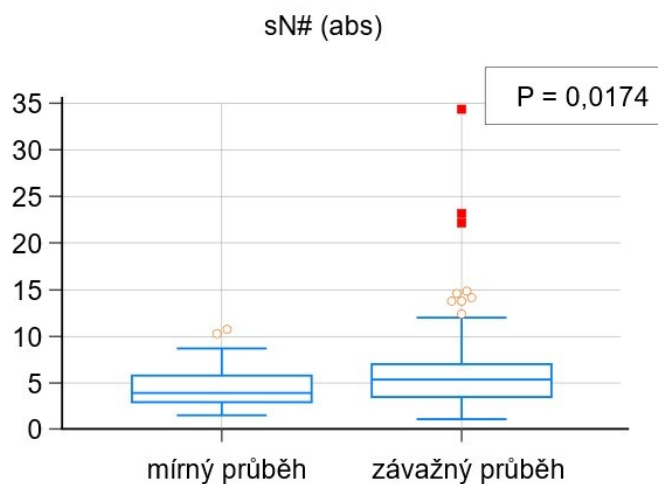
Z tabulky č. 9 a krabicového grafu č. 4 je viditelné, že se nachází v parametru Ret-He změny závislé na závažnosti průběhu onemocnění. P hodnota je menší než 0,05. Vyjadřuje, že mezi soubory dat je statisticky významný rozdíl. Hodnoty Ret-He jsou u pacientů s mírným průběhem vyšší než hodnoty Ret-He u pacientů se závažným průběhem onemocnění.

6.4.5 Analýza závislosti změny sN# (abs) na průběhu COVID-19

Kvantitativní zhodnocení závislosti zralých neutrofilů na mírném či závažném průběhu onemocnění bylo provedeno ze dvou skupin výsledků. První skupina označená sN# (abs) – mírný průběh zahrnovala 48 výsledků pacientů s mírným průběhem onemocnění. Druhá skupina označená sN# (abs) – závažný průběh zahrnovala 157 výsledků pacientů se závažným průběhem onemocnění COVID-19. Nulová hypotéza, že mezi parametry sN# (abs) a mírným či závažným průběhem onemocnění není rozdíl, byla ověřena pomocí Mann-Whitneyho U testu. K vizualizaci výsledků obou skupin byl použit krabicový graf, který zobrazuje minimum, první kvartil, medián, třetí kvartil a maximum.

Tabulka 10 Mann-Whitney U test – sN# (abs) a průběh onemocnění COVID-19

Mann-Whitney U test	
Průměrné pořadí skupiny sN# (abs)-mírný průběh	85,1875
Průměrné pořadí skupiny sN# (abs)-závažný průběh	108,4459
Mann-Whitney U	2913,00
Testová statistika Z (upravená)	-2,377
P hodnota oboustranného testu	0,0174



Graf 5 Krabicový graf sN# (abs) a průběh onemocnění

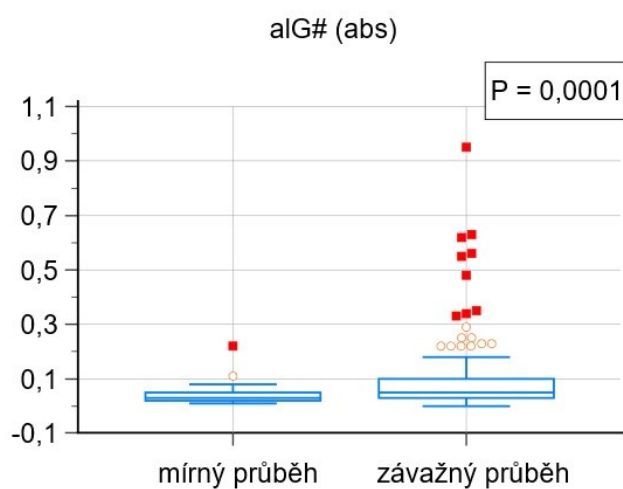
Hodnota P v tabulce č. 10 je menší než 0,05, mezi počtem zralých neutrofilů v obou skupinách je statisticky významný rozdíl a nulová hypotéza je zamítnuta. Z hodnot v tabulce a grafu č. 5 je také vidět, že výsledky sN# (abs) jsou vyšší u pacientů se závažným průběhem než u pacientů s průběhem mírným.

6.4.6 Analýza závislosti změny aIG# (abs) na průběhu COVID-19

Kvantitativní analýza vztahu absolutního počtu nezralých granulocytů a průběhu onemocnění COVID-19 byla provedena ze dvou datových souborů. První byl soubor 48 pacientů s mírným průběhem onemocnění označený aIG# (abs) – mírný průběh. Druhý byl soubor 157 pacientů se závažným průběhem onemocnění označený aIG# (abs) – závažný průběh. Data obou skupin byla zobrazena prostřednictvím krabicového grafu zobrazujícího minimum, první kvartil, medián, třetí kvartil a maximum. Jako nulová byla nastavena hypotéza, že není rozdíl mezi hodnotami aIG# (abs) mírného a závažného průběhu onemocnění.

Tabulka 11 Mann-Whitney U test – aIG# (abs) a průběh onemocnění COVID-19

Mann-Whitney U test	
Průměrné pořadí skupiny aIG# (abs)-mírný průběh	74,0417
Průměrné pořadí skupiny aIG# (abs)-závažný průběh	111,8535
Mann-Whitney U	2378,00
Testová statistika Z (upravená)	-3,884
P hodnota oboustranného testu	0,0001



Graf 6 Krabicový graf aIG# (abs) a průběh onemocnění

Nulová hypotéza byla ověřena pomocí Mann-Whitneyho U testu. Tabulka č. 11 ukazuje hodnotu P, která je menší než 0,05, nulová hypotéza je tedy zamítnuta. Počet nezralých granulocytů je statisticky významně nižší u pacientů s mírným průběhem a vyšší u pacientů se závažným průběhem. V krabicovém grafu č. 6 není rozdíl tolik zřetelný, ale z důvodu výskytu číselné hodnoty 0 nelze zlogaritmovat osu y.

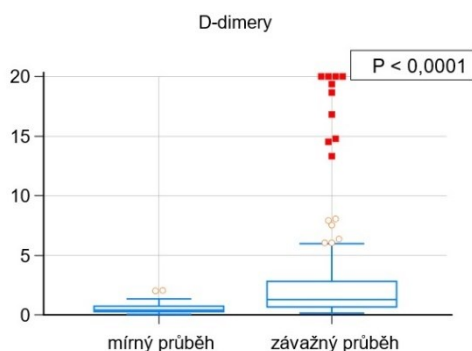
6.4.7 Analýza závislosti změny D-dimerů na průběhu COVID-19

Kvantitativní zhodnocení laboratorního parametru D-dimery bylo provedeno ze dvou skupin výsledků. První skupina D-dimery – mírný průběh obsahovala výsledky 28 pacientů s mírným průběhem onemocnění a druhá skupina D-dimery – závažný průběh obsahovala výsledky 146 pacientů se závažným průběhem onemocnění COVID-19. Byla testovaná nulová hypotéza, že výsledky parametru D-dimery nejsou rozdílné u pacientů

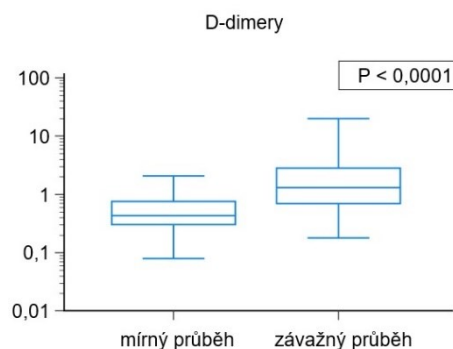
s mírným a závažným průběhem onemocnění. Byl vytvořený krabicový graf pro zobrazení dat obou skupin, který znázorňuje minimum, první kvartil, medián, třetí kvartil.

Tabulka 12 Mann-Whitney U test – D-dimery a průběh onemocnění COVID-19

Mann-Whitney U test	
Průměrné pořadí skupiny D-dimery-mírný průběh	41,5357
Průměrné pořadí skupiny D-dimery-závažný průběh	96,3151
Mann-Whitney U	757,00
Testová statistika Z (upravená)	-5,271
P hodnota oboustranného testu	<0,0001



Graf 7 Krabicový graf D-dimery a průběh onemocnění



Graf 8 Krabicový graf D-dimery a průběh onemocnění (upravený)

V tabulce č. 12 je uveden výsledek Mann-Whitneyho U testu. Bylo zjištěno, že hodnoty D-dimerů u pacientů s mírným a závažným průběhem se statisticky liší, P hodnota je menší než 0,05. Hodnoty D-dimerů jsou nižší u mírného průběhu nemoci než hodnoty u závažného průběhu onemocnění. To je vidět i z krabicových grafů 7 a 8, které zobrazují data pacientů s mírným a závažným průběhem onemocnění. Pro lepší přehlednost byla zlogaritmovaná osa y (graf č. 8).

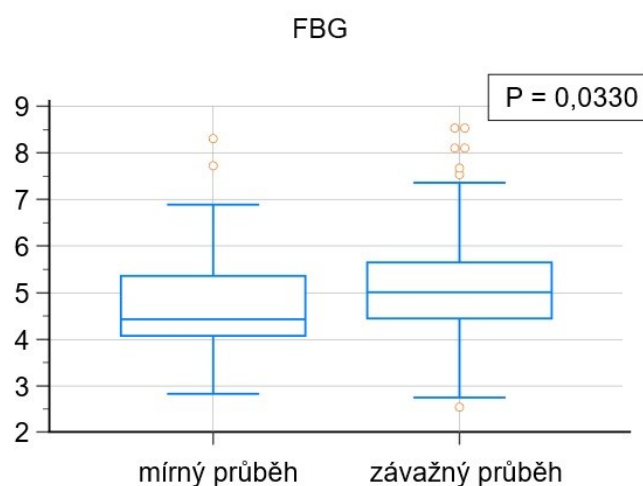
6.4.8 Analýza závislosti změny FBG na průběhu COVID-19

Pro kvantitativní analýzu závislosti fibrinogenu na průběhu onemocnění COVID-19 byly k dispozici dva soubory dat. První soubor označený FBG – mírný průběh, tvořilo 28

výsledků pacientů s mírným průběhem a druhý soubor označený FBG – závažný průběh, tvořilo 139 výsledků pacientů se závažným průběhem. Nulová hypotéza, že hodnoty fibrinogenu nejsou rozdílné u mírného a závažného průběhu, byla testovaná pomocí Mann-Whitneyho U testu. Data těchto souborů byla zobrazena krabicovým grafem, který umožňuje znázornit minimum, první kvartil, medián, třetí kvartil a maximum.

Tabulka 13 Mann-Whitney U test – FBG a průběh onemocnění COVID-19

Mann-Whitney U test	
Průměrné pořadí skupiny FBG-mírný průběh	66,2321
Průměrné pořadí skupiny FBG-závažný průběh	87,5791
Mann-Whitney U	1448,50
Testová statistika Z (upravená)	-2,132
P hodnota oboustranného testu	0,0330



Graf 9 Krabicový graf FBG a průběh onemocnění

Jak ukazuje tabulka č. 13, P hodnota Mann-Whitneyho testu je menší než 0,05, mezi hodnotami FBG u mírného a závažného průběhu onemocnění se nachází významný statistický rozdíl. Z hodnot v tabulce č. 13 a grafu č. 9 je také vidět, že výsledky

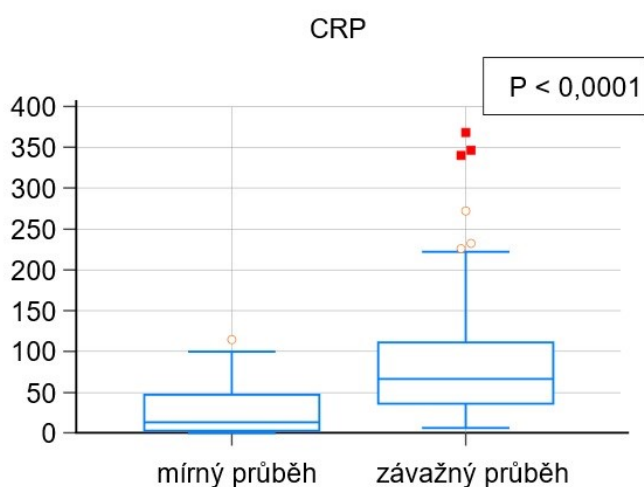
fibrinogenu jsou vyšší u pacientů se závažným průběhem než u pacientů s mírným průběhem.

6.4.9 Analýza závislosti změny CRP na průběhu COVID-19

Kvantitativní zhodnocení vztahu hodnot C-reaktivního proteinu a průběhu onemocnění COVID-19 bylo provedeno ze dvou skupin výsledků. První skupinu tvořilo 46 výsledků pacientů s mírným průběhem označených CRP – mírný průběh a druhou skupinu tvořilo 155 výsledků pacientů se závažným průběhem označených CRP – závažný průběh. K ověření nulové hypotézy, že výsledky CRP u mírného a závažného průběhu nejsou rozdílné, byl použit Mann-Whitneyho U test. Data obou skupin byla vizualizovaná pomocí krabicového grafu, který umožňuje zobrazit minimum, první kvartil, medián, třetí kvartil a maximum.

Tabulka 14 Mann-Whitney U test – CRP a průběh onemocnění COVID-19

Mann-Whitney U test	
Průměrné pořadí skupiny CRP-mírný průběh	51,9656
Průměrné pořadí skupiny CRP-závažný průběh	115,5548
Mann-Whitney U	1309,00
Testová statistika Z (upravená)	-6,512
P hodnota oboustranného testu	<0,0001



Graf 10 Krabicový graf CRP a průběh onemocnění

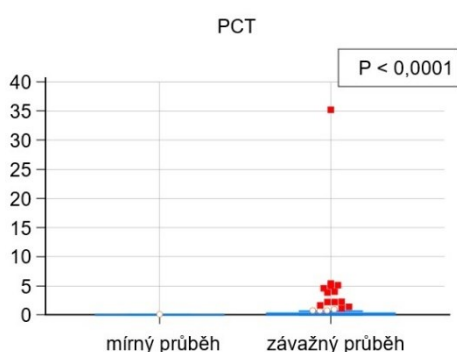
V tabulce č. 14 je uvedena P hodnota, která je menší než 0,05. Uvádí, že rozdíl v hodnotách CRP je statisticky významný. Z grafu č. 10 je patrné, že hodnoty CRP jsou vyšší u závažného průběhu než hodnoty CRP u mírného průběhu nemoci.

6.4.10 Analýza závislosti změny PCT na průběhu COVID-19

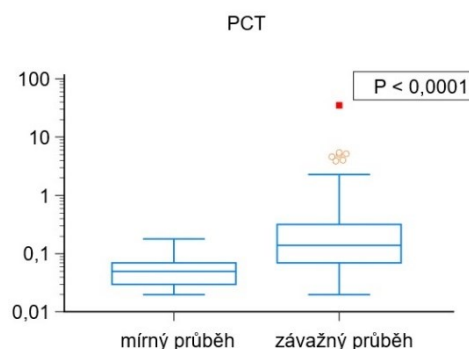
Při kvantitativním hodnocení vztahu PCT a průběhu onemocnění COVID-19 se pracovalo se dvěma skupinami datových souborů. První soubor, značený PCT – mírný průběh, tvořilo 26 výsledků od pacientů s mírným průběhem. Druhý soubor, značený PCT – závažný průběh, tvořilo 142 výsledků od pacientů se závažným průběhem onemocnění COVID-19. Za použití Mann-Whitneyho testu byla ověřena nulová hypotéza, že mezi hodnotami není rozdíl při odlišném průběhu onemocnění. Byl vytvořený krabicový graf pro vizualizaci dat obou souborů. Graf umožňuje zobrazit minimum, první kvartil, medián, třetí kvartil a maximum.

Tabulka 15 Mann-Whitney U test – PCT a průběh onemocnění COVID-19

Mann-Whitney U test	
Průměrné pořadí skupiny PCT-mírný průběh	36,2308
Průměrné pořadí skupiny PCT-závažný průběh	93,3380
Mann-Whitney U	591,00
Testová statistika Z (upravená)	-5,511
P hodnota oboustranného testu	P <0,0001



Graf 11 Krabicový graf PCT a průběh onemocnění



Graf 12 Krabicový graf PCT a průběh onemocnění (upravený)

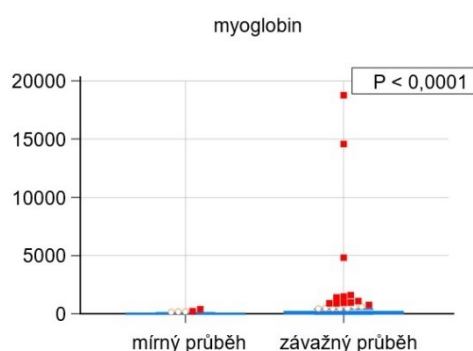
Podle P hodnoty, která se nachází v tabulce č. 15, je zamítnuta nulová hypotéza, P hodnota je menší než 0,05. Mezi dvěma soubory dat se vyskytuje statisticky významný rozdíl. Graf č. 11 je velmi nepřehledný, proto bylo provedeno zlogaritmování osy y (graf č. 12). Z upraveného grafu je patrné, že hodnoty CRP u pacientů se závažným průběhem jsou vyšší než u pacientů s mírným průběhem.

6.4.11 Analýza závislosti změny myoglobinu na průběhu COVID-19

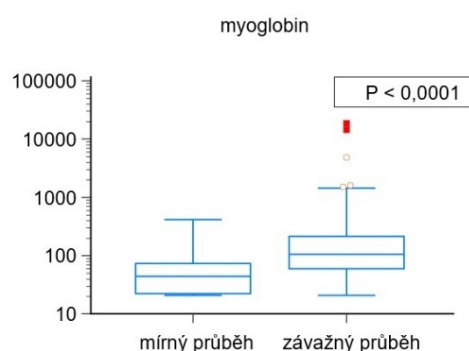
Kvantitativní analýza závislosti parametru myoglobin na mírném či závažném průběhu onemocnění COVID-19 byla provedena ze dvou datových souborů. První soubor označený myoglobin – mírný průběh tvořilo 30 výsledků od pacientů s mírným průběhem. Druhý soubor označený myoglobin – závažný průběh tvořilo 142 výsledků od pacientů se závažným průběhem onemocnění. Data těchto souborů byla zobrazena pomocí krabicového grafu, který umožňuje vizualizaci minima, prvního kvartilu, mediánu, třetího kvartilu a maxima. K ověření nulové hypotézy byl použit Mann-Whitneyho U test.

Tabulka 16 Mann-Whitney U test – myoglobin a průběh onemocnění COVID-19

Mann-Whitney U test	
Průměrné pořadí skupiny myoglobin-mírný průběh	52, 8333
Průměrné pořadí skupiny myoglobin-závažný průběh	93, 6127
Mann-Whitney U	1120,00
Testová statistika Z (upravená)	-4,077
P hodnota oboustranného testu	P <0,0001



Graf 13 Krabicový graf myoglobinu a průběh onemocnění



Graf 14 Krabicový graf myoglobinu a průběh onemocnění (upravený)

Zvolená nulová hypotéza, že není rozdíl v parametru myoglobinu při mírném a závažném průběhu onemocnění je zamítnuta. P hodnota v tabulce č. 16 je menší než 0,05. Mezi hodnotami myoglobinu v obou souborech je statisticky významný rozdíl. Z grafu č. 13 není rozdíl mezi oběma soubory dat viditelný, pro lepší přehled byla zlogaritmovaná osa y (graf č. 14). Hodnoty myoglobinu u závažného průběhu onemocnění jsou vyšší než hodnoty u mírného průběhu onemocnění.

6.4.12 Analýza závislosti ICIS skóre na průběhu COVID-19

Pro statistické zhodnocení závislosti ICIS skóre na průběhu onemocnění COVID-19 byla zvolena kvalitativní analýza. V prvním kroku bylo nutné prostřednictvím ROC analýzy nalézt optimální cut-off hodnotu pro ICIS skóre z celkového testovaného souboru 205 nemocných. Následně byl pro zvolenou cut-off hodnotu proveden výpočet senzitivity, specifity, pozitivní prediktivní hodnoty, negativní prediktivní hodnoty, a nakonec Youdenův index. Tabulka č. 17 ukazuje statistické výpočty pro vybranou optimální cut-off hodnotu 3.

Tabulka 17 Statistické výpočty pro cut-off hodnotu ICIS skóre

Cut-off hodnota (ICIS skóre)	Senzitivita (%)	Specifita (%)	Pozitivní prediktivní hodnota (%)	Negativní prediktivní hodnota (%)	Youdenův index
> 3	65, 61	81,25	92,00	41,90	0,47

Podle této cut-off hodnoty byla rozdělena data obou souborů na dvě skupiny. Hodnota ICIS skóre nižší a rovna třem byla označena za nízkou. Hodnota vyšší než tři byla označena za vysokou. Vzájemná závislost ICIS skóre (nízké a vysoké) na mírném či závažném průběhu byla zobrazena pomocí kontingenční tabulky (tabulka č. 18)

Tabulka 18 Kontingenční tabulka - závislost ICIS skóre na průběhu COVID-19

ICIS skóre	Průběh onemocnění COVID-19		
	Mírný	závažný	celkem
Nízké	39	54	93
Vysoké	9	103	112
Celkem	48	157	205

Z celkového počtu 48 pacientů s mírným průběhem, mělo 39 pacientů hodnotu ICIS skóre nízkou (≤ 3) a 9 pacientů hodnotu vyšší. Ze 157 pacientů se závažným průběhem onemocnění mělo 54 pacientů ICIS skóre nízké (≤ 3) a 103 pacientů vysoké (> 3).

Pro testování závislosti ICIS skóre na průběhu onemocnění COVID-19 byl použit Fisherův exaktní test. Jako nulová byla nastavena hypotéza, že ICIS skóre není závislé na průběhu onemocnění. Nulová hypotéza byla však zamítnuta, P hodnota byla menší než 0,0001. Mezi hodnotami ICIS skóre a u pacientů s mírným či závažným průběhem COVID-19 se nachází statisticky významná závislost.

6.4.13 Analýza závislosti NLR poměru na průběhu COVID-19

Pro statistické zhodnocení vztahu NLR poměru a mírném nebo závažném průběhu onemocnění COVID-19 byla použita kvalitativní analýza. Prvním krokem statistického zpracování bylo nalézt vhodnou cut-off hodnotu pro parametr NLR pomocí ROC analýzy z celkového souboru 205 nemocných. Následně pro vybranou optimální cut-off hodnotu byla vypočtena senzitivita, specifita, pozitivní a negativní prediktivní hodnota, dále i hodnota Youdenova indexu.

Tabulka 19 Statistické výpočty pro cut-off hodnotu NLR poměr

Cut-off hodnota (NLR poměr)	Senzitivita (%)	Specifita (%)	Pozitivní prediktivní hodnota (%)	Negativní prediktivní hodnota (%)	Youdenův index
> 4	57,96	75,00	88,30	35,30	0,33

Pro NLR poměr byla zvolena cut-off hodnota 4. Tabulka č. 19 zahrnuje statistické výpočty pro vybranou cut-off hodnotu NLR poměru. Na základě zvolené cut-off hodnoty byly

rozděleny výsledky obou datových souborů na dvě části. Hodnota NLR nižší a rovna čtyřem byla označena jako nízká a hodnota vyšší než čtyři byla označena jako vysoká. Vzájemný vztah parametrů NLR (nízký a vysoký) a průběh onemocnění byly znázorněny v kontingenční tabulce (tabulka č. 20).

Tabulka 20 Kontingenční tabulka - závislost NLR poměru na průběhu COVID-19

NLR poměr	Průběh onemocnění COVID-19		
	Mírný	závažný	Celkem
Nízké	36	66	102
Vysoké	12	91	103
Celkem	48	157	205

V tabulce č. 20 lze vidět, že u 36 z celkem 48 pacientů s mírným průběhem byl poměr NLR nízký a u 12 pacientů byl poměr NLR vysoký. U 66 pacientů z celkem 157 byla hodnota NLR nízká, u 91 pacientů byla hodnota NLR vysoká.

Nulová hypotéza, že NLR poměr nezávisí na průběhu onemocnění, byla ověřena pomocí Fisherova exaktního testu. Hodnota $P = 0,000066$, nulová hypotéza byla tudíž zamítnuta, mezi hodnotami NLR poměru a průběhem onemocnění je statisticky významná závislost.

7. DISKUSE

V této diplomové práci byla pomocí statistické analýzy srovnávána závislost vybraných hematologických a biochemických markerů u pacientů s mírným a závažným průběhem onemocnění COVID-19.

Z celkového počtu 205 pacientů mělo 157 pacientů závažný průběh a 48 pacientů mírný průběh onemocnění. Kritériem pro rozdělení do skupin podle závažnosti bylo to, zda nemocní potřebovali či nepotřebovali kyslíkovou podporu. Pacienti s mírným průběhem byli ve většině případů ambulantní. Ze 157 pacientů se závažným průběhem si vyžádal zdravotní stav 100 pacientů doplňkovou kyslíkovou terapii, zdravotní stav 14 pacientů vysokoprútokovou nosní oxygenoterapii, 8 pacientů neinvazivní plicní ventilaci a 18 pacientů umělou plicní ventilaci. Velmi závažný zdravotní stav u 17 případů již neumožňoval napojení na kyslíkovou podporu. Tito pacienti byli polymorbidní, objevily se u nich komplikace jako hemorhagický šok, rozvrat minerálů, encefalopatie, kardiogenní šok, srdeční selhání či septický šok aj.

Ze 157 hospitalizovaných pacientů jich 31 (19,7 %) zemřelo. Průměrný věk zemřelých pacientů byl 77 let (medián 76 let). Nejmladšímu zemřelému pacientovi bylo 52 let a nejstaršímu zemřelému pacientovi 94 let. Průměrná doba hospitalizace pacientů se závažným průběhem onemocnění činila 13 dnů (medián 10 dnů). Maximální doba hospitalizace byla 46 dnů. Avšak údaje o délce hospitalizace jsou do jisté míry ovlivněné úmrtími pacientů.

Kvantitativní statistickou analýzou byly vyhodnoceny hematologické parametry WBC, lymfo#, Ret-He, sN# (abs), alG# (abs), D-dimery, fibrinogen a biochemické parametry CRP, PCT a myoglobin. Vypočtené parametry ICIS skóre a NLR poměr byly zhodnoceny kvalitativní analýzou.

U zkoumaného parametru, počtu leukocytů, byla provedena kvantitativní statistická analýza, ke které byl zvolen Mann-Whitneyho U test. Tímto testem se dospělo k závěru, že mezi počtem WBC pacientů s mírným a závažným průběhem onemocnění není statisticky významný rozdíl ($P=0,1670$ neboli 16,7 %). V odborné literatuře se popisuje,

že počet WBC při infekci COVID-19 je variabilní, může se nacházet ve fyziologickém rozmezí, ale může být také snížený či zvýšený. (29)

Ke statistickému zhodnocení absolutního počtu lymfocytů byl použit také Mann-Whitneyho U test. Bylo zjištěno, že mezi absolutními počty lymfocytů u mírného a závažného průběhu onemocnění se nachází statisticky významný rozdíl ($P = 0,0001$). Pacienti se závažným průběhem onemocnění COVID-19 mají nižší hodnoty lymfo# než pacienti s mírným průběhem onemocnění. Jak bylo již uvedeno v teoretické části, některé studie popisují, že nižší počty lymfocytů mohou být spojovány se závažnějším průběhem. (64)

Závislost změny u parametru obsah hemoglobinu v retikulocytech na mírném nebo závažném průběhu onemocnění byla vyhodnocena Mann-Whitneyho U testem. Bylo zjištěno, že se mezi soubory dat vyskytuje statisticky významný rozdíl ($P < 0,0001$), a že parametr Ret-He je u pacientů se závažným průběhem onemocnění snížen. Parametr Ret-He odráží aktuální zásobu železa v erythropoéze. Jeví se jako vhodný časný diagnostický marker pro záchyt těžšího průběhu onemocnění COVID-19, při kterém často dochází k rozvoji anémie. Tento parametr je jedním z dílčích, které slouží k výpočtu ICIS skóre.

Dále byla provedena kvantitativní analýza parametrů, které jsou také součástí výpočtu ICIS skóre, a to sN# (abs) a aIG# (abs). Ke statistické analýze byl využit Mann-Whitneyho U test. Na základě analýzy se došlo k závěru, že parametr sN# (abs) se statisticky významně liší u pacientů s mírným a závažným průběhem ($P = 0,0174$). U pacientů se závažným průběhem je vyšší než u pacientů s průběhem mírným. V hodnotách parametru aIG# (abs) byl zjištěn také statisticky významný rozdíl ($P = 0,0001$). Jako u předchozího parametru, hodnoty pacientů se závažným průběhem byly vyšší a hodnoty u pacientů s nižším průběhem byly nižší.

V případě koagulačních parametrů D-dimerů a fibrinogenu byla opět provedena kvantitativní analýza. Ke zhodnocení závislosti změny D-dimerů na průběhu onemocnění byl využit Mann-Whitneyho U test. Pomocí tohoto testu se došlo k výsledku, že mezi skupinou pacientů s mírným a závažným průběhem je statisticky významný rozdíl ($P < 0,0001$). Statistická analýza druhého koagulačního parametru byla provedena také

Mann-Whitneyho testem, pomocí kterého se zjistilo, že parametry fibrinogenu u pacientů s mírným a závažným průběhem jsou statisticky významně rozdílné ($P = 0,0330$). Tak jak je popisováno v literatuře, i v našem případě byly hodnoty obou parametrů nižší při mírném průběhu a vyšší při závažném průběhu onemocnění. (64)

Biochemické parametry CRP, PCT a myoglobin byly opět vyhodnoceny pomocí kvantitativní analýzy, při které se prostřednictvím Mann-Whitneyho U testu hodnotila závislost těchto parametrů na závažnosti průběhu onemocnění. U všech tří parametrů bylo zjištěno, že se statisticky významně liší při mírném a závažném průběhu onemocnění. Ve všech třech případech byl vyhodnocen stejný statisticky významný rozdíl $P < 0,0001$. C-reaktivní protein i prokalcitonin patří mezi zánětlivé markery, které mohou být u pacientů s onemocněním COVID-19 zvýšené. Prokalcitonin lze dokonce využít i jako marker sekundární infekce. Hodnoty CRP i PCT byly nižší při mírném průběhu onemocnění a vyšší při závažném průběhu onemocnění. Hodnoty kardiálního markeru myoglobinu byly v souladu s literaturou nižší v souboru s mírným průběhem a vyšší v souboru se závažným průběhem onemocnění. Zvyšující se hodnoty těchto parametrů mohou být odrazem závažnosti průběhu onemocnění. (52)

Statistické zhodnocení parametru ICIS skóre bylo provedeno kvalitativní analýzou. Pro ICIS skóre byla ROC analýzou vybrána cut-off hodnota >3 , vyznačuje se vysokou specifitou 81,25 % a pozitivní prediktivní hodnotou 92 %. Youdenův index pro zvolenou prahovou hodnotu je 0,47. Z počtu 48 pacientů s mírným průběhem onemocnění bylo nízké ICIS skóre u 39 pacientů a vysoké u 9 pacientů. Pouze v 2 případech bylo ICIS skóre vyšší než 4 a zde se nabízí otázka, zda tito dva pacienti neměli být hospitalizováni. Ze souboru 157 pacientů se závažným průběhem mělo nízké ICIS skóre 54 pacientů, kdy se ve většině případů jednalo o pacienty ve věku nad 75 let a se závažnými komorbiditami. Tito pacienti byli hospitalizováni a napojeni na kyslíkovou podporu často z preventivních důvodů. 103 pacientů z tohoto souboru mělo ICIS skóre vysoké. Pomocí Fisherova exaktního testu byla testovaná závislost ICIS skóre na průběhu onemocnění. Bylo prokázáno, že se mezi hodnotami ICIS skóre v obou souborech nachází statisticky významný rozdíl ($P < 0,0001$). Lze tedy předpokládat, že pacienti s ICIS skóre ≤ 3 by mohli mít mírnější průběh onemocnění než pacienti s ICIS skóre >3 . ICIS skóre je parametr zamýšlený především pro včasnou diagnostiku sepse, ale mohl by pomoci prokázat

závažnější průběh onemocnění COVID-19 často s přidruženou sekundární infekcí. V literatuře je popisováno, že pro časný záchyt sepse se cut-off hodnoty pohybují v rozmezí 3–4. (83)

Pro další zkoumaný parametr NLR poměr byla použita také kvalitativní analýza. Zvolená cut-off hodnota >4 se vyznačovala vysokou specifitou 75 %, pozitivní prediktivní hodnotou 88,3 %. Youdenův index pro námi zvolenou prahovou hodnotu byl 0,33. V souboru 48 pacientů s mírným průběhem onemocnění byl zjištěn nízký NLR poměr u 36 nemocných a vysoký NLR poměr u 12 nemocných. Ze 157 pacientů se závažným průběhem byl zjištěn nízký NLR poměr u 66 pacientů a vysoký NLR poměr u 91 pacientů. Ke zhodnocení závislosti NLR poměru na průběhu onemocnění byl použit Fisherův exaktní test, pomocí kterého byl učiněn závěr, že mezi NLR poměrem a průběhem onemocnění existuje statisticky významný rozdíl ($P = 0,000066$). Lze tedy předpokládat u pacientů s parametrem $NLR \leq 4$ mírnější průběh nemoci a při $NLR > 4$ závažnější průběh onemocnění. V různých studiích se nachází různé cut-off hodnoty pro NLR poměr k předpovědi závažnosti průběhu onemocnění, hodnoty se většinou pohybují v rozmezí od 3,3 do 5,9. (84)

8. ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo porovnat vybrané hematologické a biochemické laboratorní markery u dvou skupin pacientů s prokázaným onemocněním COVID-19. Je prokázáno, že tyto markery by se měly dynamicky měnit v závislosti na tíži onemocnění. První skupinu tvořili pacienti s mírným průběhem onemocnění a druhou skupinu pacienti se závažným průběhem onemocnění. Klíčovým rozdílem obou skupin byla potřeba kyslíkové podpory. Laboratorní vyšetření bylo indikováno ze vstupních odběrů těchto pacientů.

Statistickou analýzou laboratorních parametrů se došlo k závěru, že u všech námi sledovaných parametrů, kromě parametru WBC, se nachází statisticky významný rozdíl mezi skupinou pacientů s mírným a závažným průběhem onemocnění. Pacienti se závažným průběhem měli signifikantně nižší hematologické parametry lymfo# a Ret-He než pacienti s mírným průběhem. Hodnoty ostatních hematologických parametrů sN# (abs), alG# (abs), ICIS skóre, poměru NLR, D-dimerů, fibrinogenu a biochemických parametrů CRP, PCT a myoglobinu byly u pacientů se závažným průběhem signifikantně vyšší.

Je prokázáno, že závažné klinické stavy pacientů s onemocněním COVID-19 provází i změny v koagulaci. V našem souboru byly u pacientů s těžším průběhem onemocnění signifikantně zvýšené hodnoty fibrinogenu jako proteinu akutní fáze při probíhající pneumonii a hodnoty D-dimerů, kdy příčinou mohl být DIC nízkého stupně s následnou plicní trombotickou mikroangiopatií. (48)

Biochemické parametry prokalcitonin a myoglobin byly u skupiny pacientů s těžším průběhem onemocnění také signifikantně zvýšeny, což koresponduje s literárními údaji. (64) Jejich průkaz ovšem není rutinně dostupný v menších typech laboratoří, a stanovení těchto markerů je i více časově a finančně náročné.

ICIS skóre je parametr, který je primárně používán pro včasnou diagnostiku sepse. Je vypočten z pěti hematologických parametrů, které se dynamicky mění v závislosti na tíži stavu pacienta, a odráží tak komplexněji jeho aktuální klinický stav. Proto by mohl být vhodným prognostickým markerem i u onemocnění COVID-19, zvláště u těžších

případů, kdy se přidruží pneumonie. NLR poměr je parametr, který slouží pro posouzení závažnosti klinického stavu opět v případě přidružené pneumonie. V této práci byly pro oba parametry zvolené cut-off hodnoty, které byly vysoce specifické a měly vysokou pozitivní prediktivní hodnotu. Specifita ICIS skóre pro cut-off hodnotu >3 byla 81 % a pro cut-off hodnotu NLR poměru >4 byla 75 %. Pozitivní prediktivní hodnota ICIS skóre byla 92 % a NLR poměru 88,3 %. Oba parametry patří k velmi rychlým a lehce dostupným i v menších laboratořích, lze je získat v rámci rutinního vyšetření krevního obrazu, diferenciálního počtu leukocytů a retikulocytů.

Tato statistická analýza byla provedena z celkového počtu 205 pacientů. Z toho 48 pacientů mělo mírný průběh onemocnění a 157 pacientů závažný průběh onemocnění. Ze 157 pacientů byla 140 pacientům indikovaná kyslíková podpora, 17 pacientů z důvodu velmi závažného klinického stavu již nebylo na kyslíkovou podporu napojeno. Průměrná doba hospitalizace byla 13 dnů (medián 10 dnů). Ze skupiny pacientů se závažným průběhem jich 31 zemřelo.

Žádný z laboratorních markerů není 100% specifický pro posouzení závažnosti stavu pacienta. Proto je velmi důležitá skladba testů při vstupním vyšetření, korelovaná s aktuálním klinickým stavem pacienta. Testy by měly být snadno dostupné s rychlou odezvou. Vhodnou alternativou se jeví skórovací systémy, kdy klinik místo výsledků několika dílčích testů obdrží jednu vypočtenou hodnotu, která komplexněji odráží daný stav pacienta.

9. POUŽITÉ ZKRATKY

ACE2	angiotensin-konvertující enzym 2
AKI	akutní poškození ledvin
alG#	absolutní počet nezralých granulocytů
ALT	alaninaminotransferáza
APC	aktivovaný protein C
APTT	aktivovaný parciální tromboplastinový čas
ARDS	syndrom akutní respirační tísně
ASL	protilátky produkující lymfocyty (plazmatické buňky)
AST	aspartátaminotransferáza
BAL	bronchoalveolární laváž
CD	diferenční antigen (cluster of differentiation)
cDNA	komplementární DNA
COVID-19	coronavirus disease 2019
CRP	C-reaktivní protein
Ct	prahová hodnota cyklu
cTn	kardiální troponin
ČLS JEP	Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně
DAD	difúzní alveolární poškození
dCHC	rozdíl v množství hemoglobinu mezi nezralými a zralými erytrocyty
DIC	diseminované intravaskulární koagulopatie
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ECLIA	elektrochemiluminiscenční imunoanalýza
EIA	enzymová imunoanalýza
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
ERGIC	endoplasmatic reticulum-Golgi intermediate compartment
ESR	rychlost sedimentace erytrocytů

FiO ₂	inspirační koncentrace kyslíku
ICIS	intensive care infection score
ICTV	mezinárodní výbor pro klasifikaci virů
IgA	imunoglobulin A
IgG	imunoglobulin G
IgM	imunoglobulin M
IL	interleukin
INF	interferon
IP-10	interferon gama indukovaný protein
JAK	janus kináza
K ₃ EDTA	trojdraselná sůl kyseliny etylendiaminteraoctové
Kb	kilobáze
kDa	kilodalton
lymfo#	absolutní počet lymfocytů
LDH	laktátdehydrogenáza
MCP-3	monocytární chemotaktický protein 3
MERS CoV	Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus
MHC	hlavní histokompatibilní complex
MIS-C	multisystémový zánětlivý syndrom dětského věku
mmHg	milimetr rtuťového sloupce
neu/lym	poměr neutrofil/lymfocyt
NS	nestrukturální protein
ORF	čtecí rámec
PaO ₂	parciální tlak kyslíku (pO ₂)
PCR	polymerázová řetězová reakce
PCT	prokalcitonin
PEEP	pozitivním koncový výdechový tlak
p.o.	per os (ústy)

PT	protrombinový čas
R_0	základní reprodukční číslo (index nakažlivosti)
RBD	receptor binding domain (doména pro vazbu na receptor)
RdRp	RNA dependentní RNA polymerázu
Ret-He	obsah hemoglobinu v retikulocytech
RNA	ribonukleová kyselina
ROC	receiver operating characteristic
rRT-PCR	polymerázová řetězová reakce s reverzní transkripcí v reálném čase
SARS-CoV-2	severe acute respiratory syndrome coronavirus 2
SIRS	systemic inflammatory response syndrome (syndrom systémové zánětové reakce)
sN#	absolutní počet zralých/segmentovaných neutrofilů
sNFL	intenzita fluorescence segmentovaných/zralých neutrofilů
spO ₂	saturace kyslíkem (nasycenost krve kyslíkem)
TEN	tromboembolické komplikace
TGF	transforming growth factor (transformující růstový factor)
TF	tepová frekvence
TMPRSS2	transmembránová serinová proteáza 2
TNF	tumor necrosis factor (factor nekrotizující nádory)
WHO	World Health Organization (Světová zdravotnická organizace)
WBC	leukocyty

10. SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Porovnání PCR a antigeních testů (30)	32
Tabulka 2 Riziko vzniku tromboembolismu (52)	39
Tabulka 3 Charakteristika vyšetřovaného souboru	40
Tabulka 4 Seznam reagensů používaný na analyzátoru Sysmex XN-10 (72)	42
Tabulka 5 Shapiro-Wilkův test - ověření normality dat (mírný průběh)	45
Tabulka 6 Shapiro-Wilkův test - ověření normality dat (závažný průběh)	46
Tabulka 7 Mann-Whitney U test – WBC a průběh onemocnění COVID-19	47
Tabulka 8 Mann-Whitney U test – Lymfo# a průběh onemocnění COVID-19	48
Tabulka 9 Mann-Whitney U test – Ret-He a průběh onemocnění COVID-19	49
Tabulka 10 Mann-Whitney U test – sN# (abs) a průběh onemocnění COVID-19	50
Tabulka 11 Mann-Whitney U test – aIG# (abs) a průběh onemocnění COVID-19	52
Tabulka 12 Mann-Whitney U test – D-dimery a průběh onemocnění COVID-19	53
Tabulka 13 Mann-Whitney U test – FBG a průběh onemocnění COVID-19	54
Tabulka 14 Mann-Whitney U test – CRP a průběh onemocnění COVID-19	55
Tabulka 15 Mann-Whitney U test – PCT a průběh onemocnění COVID-19	56
Tabulka 16 Mann-Whitney U test – myoglobin a průběh onemocnění COVID-19	57
Tabulka 17 Statistické výpočty pro cut-off hodnotu ICIS skóre	58
Tabulka 18 Kontingenční tabulka - závislost ICIS skóre na průběhu COVID-19	59
Tabulka 19 Statistické výpočty pro cut-off hodnotu NLR poměr	59
Tabulka 20 Kontingenční tabulka - závislost NLR poměru na průběhu COVID-19	60

11. SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Struktura viru (6)	12
------------------------------------	----

12. SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 Krabicový graf WBC a průběh onemocnění	47
Graf 2 Krabicový graf WBC a průběh onemocnění (upravený)	47
Graf 3 Krabicový graf Lymfo# a průběh onemocnění	48
Graf 4 Krabicový graf Ret-He a průběh onemocnění	49
Graf 5 Krabicový graf sN# (abs) a průběh onemocnění	51
Graf 6 Krabicový graf aIG# (abs) a průběh onemocnění	52
Graf 7 Krabicový graf D-dimery a průběh onemocnění	53
Graf 8 Krabicový graf D-dimery a průběh onemocnění (upravený)	53
Graf 9 Krabicový graf FBG a průběh onemocnění.....	54
Graf 10 Krabicový graf CRP a průběh onemocnění.....	55
Graf 11 Krabicový graf PCT a průběh onemocnění	56
Graf 12 Krabicový graf PCT a průběh onemocnění (upravený)	56
Graf 13 Krabicový graf myoglobin a průběh onemocnění	57
Graf 14 Krabicový graf myoglobin a průběh onemocnění (upravený).....	57

13. POUŽITÁ LITERATURA

1. GREBENYUK, V., TROJÁNEK, M. Nový koronavirus SARS-CoV-2 a onemocnění COVID-19 pohledem infektologa. *Urgentní medicína: Časopis pro neodkladnou lékařskou péči* [online]. 2020; 7-18 [cit. 2021-10-11]. ISSN 1212–1924. Dostupné z: https://urgentnimedicina.cz/dokumenty/UM-4-2020_Grebenyuk-Trojanek.pdf
2. TROJÁNEK, M., GREBENYUK, V., HERRMANNOVÁ, K., et al. Nový koronavirus (SARS-CoV-2) a onemocnění COVID-19. *Časopis lékařů českých* [online]. 2020; 159:55-66 [cit. 2021-10-11]. ISSN 0008-7335. Dostupné z: <https://www.infekce.cz/Covid2019/Covid19-CLC20.pdf>
3. VELAVAN, T., P., MEYER, CH., G. The COVID-19 epidemic. *Tropical Medicine & International Health* [online]. 2020, 25(3), 278-280 [cit. 2021-10-11]. ISSN 1360-2276. Dostupné z: doi:10.1111/tmi.13383
4. ECDC. *Cluster of pneumonia cases caused by novel coronavirus, Wuhan, China, 2020* [online]. [cit. 2021-10-11]. Dostupné z: <https://www.who.int/health-topics/coronavirus>
5. HURYCH, J., ŠTÍCHA, R., et al. Lékařská mikrobiologie: repetitorium. Praha: Stanislav Juhaňák -Triton, 2020, 621 s. ISBN 978-80-7553-844-4.
6. HUBÁČEK, P. Nově popsaný koronavirus SARS-CoV-2 a jeho biologické souvislosti. *Farmakoter Revue* [online]. 2020, 5(Suppl 1), 15–22 [cit. 2021-10-11]. ISSN: 2533-6878. Dostupné z: https://bulovka.cz/wp-content/uploads/2020/11/FARMAKOTERAPEUTICKE_REVUE_COVID_19.pdf
7. LIN, P., WANG, M., WEI, Y., et al. Coronavirus in human diseases: Mechanisms and advances in clinical treatment. *MedComm* [online]. 2020, 1(3), 270-301 [cit. 2021-10-24]. ISSN 2688-2663. Dostupné z: doi:10.1002/mco2.26
8. DHAMA, K., KHAN, S., TIWARI, R., et al. Coronavirus Disease 2019–COVID-19. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 2020, 33(4) [cit. 2021-10-24]. ISSN 0893-8512. Dostupné z: doi:10.1128/CMR.00028-20

9. ALANAGREH, L., ALZOUGHLOOL, F., ATOUM, M. The Human Coronavirus Disease COVID-19: Its Origin, Characteristics, and Insights into Potential Drugs and Its Mechanisms. *Pathogens* [online]. 2020, 9(5) [cit. 2021-10-25]. ISSN 2076-0817. Dostupné z: doi:10.3390/pathogens9050331
10. LIU, J., LIU, S. The management of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Journal of Medical Virology* [online]. 2020, 92(9), 1484-1490 [cit. 2022-01-27]. ISSN 0146-6615. Dostupné z: doi:10.1002/jmv.25965
11. THOMAS-RÜDDEL, D., WINNING, J., DICKMANN, P., et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): update for anesthesiologists and intensivists March 2020. *Der Anaesthetist* [online]. 2021, 70(S1), 1-10 [cit. 2021-12-30]. ISSN 0003-2417. Dostupné z: doi:10.1007/s00101-020-00760-3
12. POLLARD, C., A., MORRAN, M., P., NESTOR-KALINOSKI, A., L. The COVID-19 pandemic: a global health crisis. *Physiological Genomics* [online]. 2020, 52(11), 549-557 [cit. 2021-12-29]. ISSN 1094-8341. Dostupné z: doi:10.1152/physiolgenomics.00089.2020
13. GÖPFERTO VÁ, D., FABIÁNOVÁ, K. Epidemiologická charakteristika onemocnění COVID 19: úvaha nad současnými poznatky o onemocnění. *Farmakoter Revue* [online]. 2020, 5(Suppl 1), 30–36 [cit. 2021-10-11]. ISSN: 2533-6878. Dostupné z: https://bulovka.cz/wp-content/uploads/2020/11/FARMAKOTERAPEUTICKE_REVUE_COVID_19.pdf
14. SHEREEN, M., A., KHAN, S., KAZMI, A., et al. COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *Journal of Advanced Research* [online]. 2020, 24, 91-98 [cit. 2021-12-29]. ISSN 20901232. Dostupné z: doi:10.1016/j.jare.2020.03.005
15. SALIAN, V., S., WRIGHT, J., A., VEDELL, P., T., et al. COVID-19 Transmission, Current Treatment, and Future Therapeutic Strategies. *Molecular Pharmaceutics* [online]. 2021, 18(3), 754-771 [cit. 2021-12-29]. ISSN 1543-8384. Dostupné z: doi:10.1021/acs.molpharmaceut.0c00608

16. HARRISON, A., G., LIN, T., WANG, P. Mechanisms of SARS-COV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends in Immunology* [online]. 2020, 41(12), 1100–1115 [cit. 2021-12-29]. ISSN 14714906. Dostupné z: doi:10.1016/j.it.2020.10.004
17. CEVIK, M., KUPPALLI, K., KINDRACHUK, J., et al. Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. *BMJ* [online]. 2020, m3862 [cit. 2021-12-29]. ISSN 1756-1833. Dostupné z: doi:10.1136/bmj.m3862
18. KWON, T., GAUDREAU, N., N., RICHT, J., A. Seasonal Stability of SARS-CoV-2 in Biological Fluids. *Pathogens* [online]. 2021, 10(5), 540 [cit. 2021-12-29]. ISSN 2076-0817. Dostupné z: doi:10.3390/pathogens10050540
19. STEJSKAL, F. Covid 19 – devět měsíců zkušeností. Jsou přístupy ke kontrole této infekce racionální? . *Farmakoter Revue* [online]. 2020, 5(Suppl 1), 8–14 [cit. 2021-12-29]. ISSN: 2533-6878. Dostupné z: https://bulovka.cz/wp-content/uploads/2020/11/FARMAKOTERAPEUTICKE_REVUE_COVID_19.pdf
20. MEYEROWITZ, E., A., RICHTERMAN, A., GANDHI, R., T., et al. Transmission of SARS-CoV-2: A Review of Viral, Host, and Environmental Factors. *Annals of Internal Medicine* [online]. 2021, 174(1), 69–79 [cit. 2021-12-29]. ISSN 0003-4819. Dostupné z: doi:10.7326/M20-5008
21. KLOMPAS, M., BAKER, M., A., RHEE, CH. Airborne Transmission of SARS-CoV-2. *JAMA* [online]. 2020, 324(5), [cit. 2021-12-29]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2020.12458
22. BOUROUIBA, L. Turbulent Gas Clouds and Respiratory Pathogen Emissions. *JAMA* [online]. 2020, 323(18), 1837-1838 [cit. 2021-12-29]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2020.4756
23. BCHETNIA, M., GIRARD, C., DUCHAINE, C., et al. The outbreak of the novel severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): A review of the current global status. *Journal of Infection and Public Health* [online]. 2020, 13(11), 1601–1610 [cit. 2021-01-24]. ISSN 18760341. Dostupné z: doi:10.1016/j.jiph.2020.07.011

24. LI, X., GENG, M., PENG, Y., et al. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *Journal of Pharmaceutical Analysis* [online]. 2020, 10(2), 102–108 [cit. 2021-12-30]. ISSN 20951779. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpha.2020.03.001
25. SOUZA, T., H., NADAL, J., A., NOGUEIRA, R., J., N., et al. Clinical manifestations of children with COVID-19: A systematic review. *Pediatric Pulmonology* [online]. 2020, 55(8), 1892–1899 [cit. 2021-12-30]. ISSN 8755-6863. Dostupné z: doi:10.1002/ppul.24885
26. GAO, Z., XU, Y., SUN, CH., et al. A systematic review of asymptomatic infections with COVID-19. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* [online]. 2021, 54(1), 12–16 [cit. 2021-12-30]. ISSN 16841182. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmii.2020.05.001
27. HAN, D., LI, R., HAN, X., et al. COVID-19: Insight into the asymptomatic SARS-COV-2 infection and transmission. *International Journal of Biological Sciences* [online]. 2020, 16(15), 2803–2811 [cit. 2021-12-30]. ISSN 1449-2288. Dostupné z: doi:10.7150/ijbs.48991
28. COVID-19 Treatment Guidelines Panel. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines. National Institutes of Health [online]. 2021 [cit. 2022-01-11]. Dostupné z: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>
29. GREBENYUK V., ROHÁČOVÁ H., TROJÁNEK M. Klinické a laboratorní nálezy u pacientů s COVID 19. *Farmakoter Revue* [online]. 2020, 5(Suppl 1), 37–44 [cit. 2021-12-30]. ISSN: 2533-6878. Dostupné z: https://bulovka.cz/wp-content/uploads/2020/11/FARMAKOTERAPEUTICKE_REVUE_COVID_19.pdf
30. BENEŠ, J., NOVÁKOVÁ, D. Pathogenesis of covid-19: principles of viral infection and immune response. *Intervenční a akutní kardiologie* [online]. 2021, 20(2), 73-77 [cit. 2022-03-04]. ISSN 1213807X. Dostupné z: doi:10.36290/kar.2021.023
31. PETRILLI, CH., M., JONES, S., A., YANG, J., et al. Factors associated with hospital admission and critical illness among 5279 people with coronavirus disease 2019 in New York City: prospective cohort study. *BMJ* [online]. 2020, (369:m1966) [cit. 2021-12-30]. ISSN 1756-1833. Dostupné z: doi:10.1136/bmj.m1966

32. GEMMATI, D., BRAMANTI, B., SERINO, M., L., et al. COVID-19 and Individual Genetic Susceptibility/Receptivity: Role of ACE1/ACE2 Genes, Immunity, Inflammation and Coagulation. Might the Double X-Chromosome in Females Be Protective against SARS-CoV-2 Compared to the Single X-Chromosome in Males? *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2020, 21(10) [cit. 2021-12-30]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms21103474
33. ANKA, A., U., TAHIR, M., I., ABUBAKAR, S., D., et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): An overview of the immunopathology, serological diagnosis and management. *Scandinavian Journal of Immunology* [online]. 2021, 93(4) [cit. 2022-01-10]. ISSN 0300-9475. Dostupné z: doi:10.1111/sji.12998
34. BATAH, S., S., FABRO, A., T. Pulmonary pathology of ARDS in COVID-19: A pathological review for clinicians. *Respiratory Medicine* [online]. 2021, 176, [cit. 2022-01-10]. ISSN 09546111. Dostupné z: doi:10.1016/j.rmed.2020.106239
35. Acute Respiratory Distress Syndrome. *JAMA* [online]. 2012, 307(23) [cit. 2022-01-10]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2012.5669
36. RONCO, C., REIS, T., HUSAIN-SYED, F. Management of acute kidney injury in patients with COVID-19. *The Lancet Respiratory Medicine* [online]. 2020, 8(7), 738–742 [cit. 2022-01-10]. ISSN 22132600. Dostupné z: doi:10.1016/S2213-2600(20)30229-0
37. SELBY, N., M., FORNI, L., G., LAING, CH., M., et al. COVID-19 and acute kidney injury in hospital: summary of NICE guidelines. *BMJ* [online]. 2020, m1963 [cit. 2022-01-10]. ISSN 1756-1833. Dostupné z: doi:10.1136/bmj.m1963
38. CHEN, Y., T., SHAO, S., CH., HSU CH., K., et al. Incidence of acute kidney injury in COVID-19 infection: a systematic review and meta-analysis. *Critical Care* [online]. 2020, 24(1), ISSN 1364-8535 [cit. 2022-01-10]. Dostupné z: doi:10.1186/s13054-020-03009-y

39. LONG, B., BRADY, W., J., KOYFMAN, A., et al. Cardiovascular complications in COVID-19. *The American Journal of Emergency Medicine* [online]. 2020, 38(7), 1504–1507 [cit. 2022-01-10]. ISSN 07356757.
Dostupné z: doi:10.1016/j.ajem.2020.04.048
40. BANSAL, M. Cardiovascular disease and COVID-19. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* [online]. 2020, 14(3), 247–250 [cit. 2022-01-10]. ISSN 18714021. Dostupné z: doi:10.1016/j.dsx.2020.03.013
41. ZHENG, Y., Y., MA, Y., T., ZHANG, J., Y., et al. COVID-19 and the cardiovascular system. *Nature Reviews Cardiology* [online]. 2020, 17(5), 259–260 [cit. 2022-01-10]. ISSN 1759-5002. Dostupné z: doi:10.1038/s41569-020-0360-5
42. SUN, J., AGHEMO, A., FORNER, A., et al. COVID-19 and liver disease. *Liver International* [online]. 2020, 40(6), 1278–1281 [cit. 2022-01-10]. ISSN 1478-3223.
Dostupné z: doi:10.1111/liv.14470
43. WU, J., SONG, S., CAO, H., C., et al. Liver diseases in COVID-19: Etiology, treatment and prognosis. *World Journal of Gastroenterology* [online]. 2020, 26(19), 2286–2293 [cit. 2022-01-10]. ISSN 1007-9327.
Dostupné z: doi:10.3748/wjg.v26.i19.2286
44. LANSBURY, L., LIM, B., BASKARAN, V., et al. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Infection* [online]. 2020, 81(2), 266–275 [cit. 2022-01-11]. ISSN 01634453.
Dostupné z: doi:10.1016/j.jinf.2020.05.046
45. CHEN, X., LIAO, B., CHENG, L., et al. The microbial coinfection in COVID-19. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 2020, 104(18), 7777–7785 [cit. 2022-01-11]. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-020-10814-6
46. KARETOVÁ, D., BULTAS, J. Koagulopatie provázející těžší formy koronavirové infekce (COVID-19) – incidence trombotických komplikací, jak jim předcházet a jak je léčit. *Cor et Vasa* [online]. 2020, 62(Suppl.1), 22–26 [cit. 2022-01-16]. ISSN 00108650. Dostupné z: doi:10.33678/cor.2020.045

47. ALI, M., A., M., SPINLER, S., A. COVID-19 and thrombosis: From bench to bedside. *Trends in Cardiovascular Medicine* [online]. 2021, 31(3), 143–160 [cit. 2022-01-16]. ISSN 10501738. Dostupné z: doi:10.1016/j.tcm.2020.12.004
48. GÓMEZ-MESA, J., E., GALINDO-CORAL, S., MONTES, M., C., et al. Thrombosis and Coagulopathy in COVID-19. *Current Problems in Cardiology* [online]. 2021, 46(3), [cit. 2022-01-27]. ISSN 01462806.
Dostupné z: doi:10.1016/j.cpcardiol.2020.100742
49. UMAKANTHAN, S., SAHU, P., RANADE, A., V., et al. Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Postgraduate medical journal* [online]. 2020, 96(1142), 753–758 [cit. 2021-11-27]. ISSN 1469-0756.
Dostupné z: doi:10.1136/postgradmedj-2020-138234
50. DLOUHÝ, P., PAZDERKOVÁ, J., BARTOŠ, H., et al. COVID-19: diagnóza, terapie a prevence. *Acta medicae* [online]. 2020, 8(9), 36-46 [cit. 2021-11-27]. ISSN (print) 1805-398X. Dostupné z: <https://www.infekce.cz/Covid2019/Covid19-prehled0520-1.pdf>
51. PIZZOL, J., L., D., HORA, V., P., D., REIS, A., J., et al. Laboratory diagnosis for Covid-19: A mini-review. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* [online]. 2020, 53, 1-6 [cit. 2021-11-27]. ISSN 1678-9849. Dostupné z: doi:10.1590/0037-8682-0451-2020
52. ŠTEFAN, M., CHRDLA A. and HUSA P. Covid-19: diagnostika a léčba. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství* [online]. 2021, 2, 60–87 [cit. 2021-11-27]. ISSN 1211-264X. Dostupné z: https://www.lkcr.cz/doc/cms_library/kmil_2021_2-101629.pdf
53. WHO. Laboratory testing for novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases: interim guidance [online]. 2020, 6 [cit. 2021-11-27]. ISBN 978-92-4-000097-1. Dostupné z: <https://www.who.int/publications/i/item/10665-331501>

54. CHAU, C., H., STROPE, J., D., FIGG, W., D. COVID-19 Clinical Diagnostics and Testing Technology. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy* [online]. 2020, 40(8), 857–868 [cit. 2021-11-17]. ISSN 0277-0008. Dostupné z: doi:10.1002/phar.2439
55. YÜCE, M., FILIZTEKIN, E., ÖZKAYA, K., G. COVID-19 diagnosis —A review of current methods. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2021, 172 [cit. 2021-11-27]. ISSN 09565663. Dostupné z: doi:10.1016/j.bios.2020.112752
56. BERÁNEK, M. *Molekulární genetika pro bioanalytiky*. Praha: Karolinum, 2016. ISBN 978-80-246-3224-7.
57. MATHURIA, J., P., YADAV, R., RAJKUMAR. Laboratory diagnosis of SARS-CoV-2 - A review of current methods. *Journal of Infection and Public Health* [online]. 2020, 13(7), 901–905 [cit. 2021-11-17]. ISSN 18760341. Dostupné z: doi:10.1016/j.jiph.2020.06.005
58. MOHAMADIAN, M., CHITI, H., SHOGHLI, A., et al. COVID-19: Virology, biology and novel laboratory diagnosis. *The Journal of Gene Medicine* [online]. 2021, 23(2) [cit. 2021-11-17]. ISSN 1099-498X. Dostupné z: doi:10.1002/jgm.3303
59. LAI, CH., K., C., LAM, W. Laboratory testing for the diagnosis of COVID-19. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [online]. 2021, 538, 226–230 [cit. 2021-11-17]. ISSN 0006291X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbrc.2020.10.069
60. SAFIABADI TALI, S., H., LEBLANC, J., J., SADIQ, Z., et al. Tools and Techniques for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 Detection. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 2021, 34(3) [cit. 2021-11-17]. ISSN 0893-8512. Dostupné z: doi:10.1128/CMR.00228-20
61. SERVICE, R. Coronavirus antigen tests: quick and cheap, but too often wrong? *Science* [online]. 2020 [cit. 2021-11-27]. ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.abc9586

62. GOUDOURIS, E., S. Laboratory diagnosis of COVID-19. *Jornal de Pediatria* [online]. 2021, 97(1), 7–12 [cit. 2021-11-27]. ISSN 00217557. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpmed.2020.08.001
63. BOHN, M., K., LIPPI, G., HORVATH, A., et al. Molecular, serological, and biochemical diagnosis and monitoring of COVID-19: IFCC taskforce evaluation of the latest evidence. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* [online]. 2020, 58(7), 1037–1052 [cit. 2022-01-27]. ISSN 1437-4331. Dostupné z: doi:10.1515/cclm-2020-0722
64. THOMPSON, S., BOHN, M., K., MANCINI, N., et al. IFCC Interim Guidelines on Biochemical/Hematological Monitoring of COVID-19 Patients. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* [online]. 2020, 58(12), 2009–2016 [cit. 2022-01-27]. ISSN 1434-6621. Dostupné z: doi:10.1515/cclm-2020-1414
65. RAHMAN, A., NILOOFA, R., JAYARAJAH, U., et al. Hematological Abnormalities in COVID-19: A Narrative Review. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* [online]. 2021, 104(4), 1188–1201 [cit. 2022-03-07]. ISSN 0002-9637. Dostupné z: doi:10.4269/ajtmh.20-1536
66. DHINATA, K., S. Common Change of Complete Blood Count Parameters in COVID-19: a Literature Review. *Journal of Medicine and Health* [online]. 2021, 3(2) [cit. 2022-03-07]. ISSN 2442-5257. Dostupné z: doi:10.28932/jmh.v3i2.3097
67. GAVRIATOPOULOU, M., NTANASIS-STATHOPOULOS, I., KOROMPOKI, E., et al. Emerging treatment strategies for COVID-19 infection. *Clinical and Experimental Medicine* [online]. 2021, 21(2), 167–179. ISSN 1591-8890 [cit. 2022-01-28]. Dostupné z: doi:10.1007/s10238-020-00671-y
68. BARTOLI, A., GABRIELLI, F., ALICANDRO, T., et al. COVID-19 treatment options: a difficult journey between failed attempts and experimental drugs. *Internal and Emergency Medicine* [online]. 2021, 16(2), 281–308 [cit. 2022-01-28]. ISSN 1828-0447. Dostupné z: doi:10.1007/s11739-020-02569-9

69. CHMELAŘ, J., KOSINA P., CHLÍBEK R. Onemocnění covid 19 na standardním lůžkovém oddělení. *Farmakoter Revue* [online] . 2020, 5(Suppl1), 70–73 [cit. 2022-01-28]. ISSN 2533-6878. Dostupné z: https://bulovka.cz/wp-content/uploads/2020/11/FARMAKOTERAPEUTICKE_REVUE_COVID_19.pdf
70. PECKA, M., BLÁHA, M. Praktická hematologie: laboratorní metody. Český Těšín: Infiniti art, 2010. ISBN 978-80-903871-9-5
71. RACEK, J. Klinická biochemie. 2., přeprac. vyd. Praha: Galén, c2006. ISBN 80-7262-32-49.
72. PEŠKOVÁ, E. SOPT Č. 112 - NÁVOD NA OBSLUHU, KONTROLU A ÚDRŽBU HEMATOLOGICKÉ LINKY SYSMEX XN-3000 S DI-60: Laboratoř IV. interní hematologické kliniky Fakultní nemocnice Hradec Králové. Hradec Králové, verze č. 01 platná od 1.9.2017.
73. Fluorescenční průtoková cytometrie. *Sysmex* [online]. [cit. 2022-03-31]. Dostupné z: https://www.sysmex.cz/n/vzdelavani/technologie/technologie_mereni/fluorescencni-prutokova-cytometrie.html
74. FÁTOROVÁ, I., VRBACKÝ, F., HRNČÍŘOVÁ, K., et al. ICIS skóre – nový ukazatel počínající sepse: IV. interní hematologická klinika Fakultní nemocnice Hradec Králové. Hradec Králové, 2020.
75. VRBACKÝ, F., FÁTOROVÁ, I., HRNČÍŘOVÁ, K., et al. ICIS skóre jako prognostický znak těžkého průběhu COVID-19 v časně fázi onemocnění: IV. interní hematologická klinika Fakultní nemocnice Hradec Králové. Hradec Králové, 2021.
76. NIERHAUS, A., LINSSEN, J., WICHMANN, D., et al. 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. 2022-03-22]. ISSN 18715281. Dostupné z: doi:10.2174/187152812800392841
77. Sadílek, P. SOPT Č. 010 - NÁVOD NA OBSLUHU, KONTROLU A ÚDRŽBU ANALYZÁTORU STA-R EVOLUTION: Laboratoř IV. interní hematologické kliniky Fakultní nemocnice Hradec Králové. Hradec Králové, verze č. 03 platná od 1.9. 2017.
78. Hemostasis Catalogue. *Diagnostica Stago, Inc.* [online]. 2019 [cit. 2022-05-05]. Dostupné z: <https://www.stago-us.com/products-services/catalog-product-information>

79. Cobas 8000 série modulárních analyzátorů. *Roche diagnostics* [online]. [cit. 2022-03-23]. Dostupné z: https://diagnostics.roche.com/cz/cs/products/systems/cobas_-8000-modular-analyzer-series.html#productSpecs
80. Elecsys Myoglobin. *Roche diagnostics* [online]. [cit. 2022-03-23]. Dostupné z: https://a.storyblok.com/f/94122/x/e3e20eba45/05-kardiologie-pdf-myoglobin_factsheet.pdf?msclid=c67baf68aae711ec89dd1a03a2bbc238
81. Elecsys BRAHMS Procalcitonin (PCT). *Roche diagnostics* [online]. [cit. 2022-03-23]. Dostupné z: <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/params/elecsys-brahms-procalcitonin-pct.html#productInfo>
82. Příbalový leták CRPL3 - C-reaktivní protein 3. generace: Roche Diagnostics [online] 2017. [cit. 2022-03-23]. Dostupné z: https://labogids.sintmaria.be/sites/default/files/files/crpl3_2017-01_v9.pdf
83. WEIMANN, K., ZIMMERMANN, M., SPIES, C., D., et al. Intensive Care Infection Score – A new approach to distinguish between infectious and noninfectious processes in intensive care and medicosurgical patients. *Journal of International Medical Research* [online]. 2015, 43(3), 435-451 [cit. 2022-05-06]. ISSN 0300-0605. Dostupné z: doi:10.1177/0300060514557711
84. SIMADIBRATA, D., M., CALVIN, J., WIJAYA, A., D., et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio on admission to predict the severity and mortality of COVID-19 patients: A meta-analysis. *The American Journal of Emergency Medicine* [online]. 2021, 42, 60-69 [cit. 2022-05-06]. ISSN 07356757. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajem.2021.01.006

14. PŘÍLOHY

Příloha 1 Tabulka primárních dat pacientů s mírným průběhem onemocnění COVID-19

	Věk	M/F	Pozitivita na Covid-19 od:	Datum 1. odběru	1. odběr WBC	1. odběr Lymfo#	1. odběr Neu/Lym	1. odběr RET-HE	1. odběr ICIS score	1. odběr sN# (abs)	1. odběr alG# (abs)	1. odběr DDI	1. odběr FBG	1. odběr CRP	1. odběr PCT	1. odběr Myoglobin
1	46	M	02.10.2020	07.10.2020	4,44	1,45	1,57	33,5	2	2,28	0,05			15,9		65,1
2	68	F	07.10.2020	07.10.2020	3,49	0,58	3,79	34,2	2	2,2	0,01			21,5		
3	52	F	06.10.2020	08.10.2020	5,52	1,12	3,47	34	2	3,89	0,02			2,7		
4	46	M	13.10.2020	13.10.2020	4,41	0,8	3,88	31,6	4	3,1	0,01			91,8		242,1
5	60	M	16.10.2020	16.10.2020	9,47	1,58	4,28	34,7	1	6,77	0,05			34,2		
6	43	M	13.10.2020	16.10.2020	4,96	0,73	5,12	32,3	3	3,74	0,02	0,3	4,63	20,5		
7	72	M	16.10.2020	17.10.2020	4,13	1,43	1,56	30,8	4	2,23	0,01			26,2		
8	50	F	01.10.2020	19.10.2020	6,84	2,57	0,99	35	1	2,54	0,01	0,22	3,32	0,5	0,03	31,6
9	36	M	19.10.2020	19.10.2020	5,78	1,87	1,84	34,7	0	3,45	0,01					
10	34	F	19.10.2020	19.10.2020	6,73	0,98	5,22	32	2	5,12	0,02			6		21
11	70	M	19.10.2020	19.10.2020	8,55	0,82	8,57	36,3	4	7,03	0,22			81,7		
12	66	F	20.10.2020	23.10.2020	7,36	1,28	4,25	28,9	4	5,44	0,05			88,9		
13	69	M	23.10.2020	23.10.2020	6,93	0,57	9,89	36,1	0	5,64	0,08			6,2		
14	81	M	24.10.2020	24.10.2020	4,6	0,65	5,68	33,4	3	3,69	0,02			115		
15	57	M	22.10.2020	24.10.2020	4,09	1,07	2,26	34,5	1	2,42	0,01			1,5		
16	40	F	18.10.2020	24.10.2020	3,19	1,24	1,27	30,2	6	1,57	0,04	0,43	5,27	48,3		
17	41	M	16.10.2020	24.10.2020	6,61	1,26	3,83	34,8	1	4,82	0,07	0,4	4,37	47,3	0,03	21
18	61	M	08.10.2020	24.10.2020	14,31	1,54	6,96	34,2	3	10,72	0,02	0,56	8,31	76,9	0,12	86,3

19	54	M	26.10.2020	26.10.2020	6,75	1,6	2,88	31,5	2	4,6	0,02	0,4	4,56	15,7		
20	29	F	22.10.2020	27.10.2020	8,16	0,99	6,43	32,1	2	6,37	0,03	0,48	4,77	31,7	0,06	21
21	51	F	22.10.2020	27.10.2020	3,41	1,58	0,97	32,7	4	1,53	0,02	2,08	6,09	31,8	0,07	24,5
22	89	F	19.10.2020	27.10.2020	6,42	1,19	3,72	35,7	3	4,43	0,11	0,54	4,13	7,1	0,1	204,4
23	45	F	16.10.2020	29.10.2020	8,63	1,86	3,28	34,8	1	6,11	0,04	0,4	4,49	3,1	0,03	
24	45	F	19.10.2020	29.10.2020	9,85	2,81	2,11	32,3	2	5,93	0,03	0,29	4,18	13,4	0,03	22,4
25	50	M	29.10.2020	30.10.2020	6,47	1,16	3,92	30,3	1	4,55	0,06			7,6		
26	51	M	25.10.2020	30.10.2020	5,63	2,98	0,65	33,9	1	1,95	0,01	0,08	2,83	0,6	0,02	
27	41	F	29.10.2020	02.11.2020	5,41	1,68	1,90	33	3	3,19	0,01	0,22		1,1	0,04	118,3
28	51	M	26.10.2020	02.11.2020	5,93	0,7	6,47	34,5	0	4,53	0,03	0,48	5,69	27,4	0,13	54,7
29	41	F	23.10.2020	02.11.2020	9,79	1,62	4,30	29,7	3	6,97	0,04	1,03	5,45	54,3	0,03	74
30	58	M	20.10.2020	03.11.2020	5,69	1,24	2,91	34,2	0	3,61	0,06	0,28	3,63	1,1	0,02	22,7
31	55	M	28.10.2020	03.11.2020	5,79	0,93	4,33	32	2	4,03	0,06	0,95	6,4	87,2	0,07	227,8
32	50	F	27.10.2020	03.11.2020	4,5	1,14	2,55	30,2	4	2,91	0,01	0,7	5,19	22,3	0,05	21
33	41	M	21.10.2020	03.11.2020	8,74	0,7	10,37	28,1	2	7,26	0,04			69,1	0,05	42,7
34	72	M	03.11.2020	03.11.2020	8,77	0,89	7,98	31,3	4	7,1	0,03			86,5	0,07	46,4
35	55	F	21.10.2020	03.11.2020	6,79	2,63	1,24	34,8	1	3,26	0,02			4	0,04	22,5
36	62	M	03.11.2020	04.11.2020	12,01	1,03	10,00	32	7	10,3	0,01	1,31	6,89	100	0,18	418,5
37	63	M	22.11.2020	04.11.2020	5,75	1,98	1,49	36,1	0	2,96	0,05			4,4		
38	66	M	03.11.2020	05.11.2020	8,5	2,28	2,33	38,3	0	5,32	0,04	1,37	3,5	4,1	0,07	164,7
39	26	M	03.11.2020	09.11.2020	4,36	1,27	2,09	33,4	3	2,66	0,04	0,25	3,92	13,8	0,07	33,2
40	67	F	24.10.2020	09.11.2020	5,92	2,7	1,01	33,1	1	2,73	0,02	2,06	4,24	3,9	0,04	21
41	45	F	11.11.2020	13.11.2020	9,66	2,37	2,56	32,8	1	6,06	0,02	0,32	3,55	2,5	0,06	25,8
42	51	M	10.10.2020	10.10.2020	4,85	1,34	2,01	32,1	2	2,7	0,05	0,31	4,43	3,2		33,7
43	70	M	17.10.2020	17.10.2020	5,58	1,28	2,86	36,1	1	3,66	0,07	0,83	4,43	1,2	0,04	70,4

44	58	F	16.10.2020	20.10.2020	5,52	0,97	4,08	33,5	0	3,96	0,04					
45	80	M	20.10.2020	20.10.2020	10,29	0,52	16,73	32,8	1	8,7	0,04		4,02	3,6		65,6
46	53	F	17.10.2020	25.10.2020	5,18	1,08	3,24	29,2	3	3,5	0,06	0,38	4,37	2	0,02	21
47	50	M	23.10.2020	27.10.2020	5,57	1,39	2,63	34,1	3	3,65	0,01	0,44	7,72	10,3	0,05	68,4
48	75	F	26.10.2020	04.11.2020	7,81	1,48	3,45	33,6	0	5,11	0,08	0,45	4,16	2,6		47,9

Příloha 2 Tabulka primárních dat pacientů se závažným průběhem onemocnění COVID-19

	Věk	M/F	Pozitivita na Covid-19 od:	Datum vstupní odběr	1. odběr WBC	1. odběr LYMF#	1. odběr NEU/LYM	1. odběr RET-HE	1. odběr ICIS score	1. odběr sN# (abs)	1. odběr alG# (abs)	1. odběr DDI	1. odběr FBG	1. odběr CRP	1. odběr PCT	1. odběr Myoglobin
1	69	M	01.10.2020	1.10.2020	9,36	0,73	10,70	32,4	2	7,81	0,02	0,61	5,01	38,3	0,04	65,4
2	87	M	01.10.2020	1.10.2020	16,51	0,47	31,06	28,4	9	14,6	0,48	19,38	4,9	31,8	5,16	4845
3	58	M	02.10.2020	1.10.2020	5,38	0,9	4,49	31,8	3	4,04	0,02	0,9	5,35	37,1	0,11	69,4
4	77	M	25.09.2020	2.10.2020	5,62	1,11	3,35	32,3	1	3,72	0,02	0,45	5,45	43	0,15	982,8
5	75	F	01.10.2020	2.10.2020	7,19	1,11	4,83	27,8	8	5,36	0,03	18,66	4,07	36,1	0,32	120,5
6	85	M	05.10.2020	5.10.2020	6,05	0,45	11,71	28	6	5,27	0,04	0,76	4,78	30,7	5,42	1506
7	91	F	06.10.2020	6.10.2020	9,27	1,04	7,01	27	4	7,29	0,13	3,1	6,21	68,4	0,14	56,8
8	95	M	06.10.2020	6.10.2020	7,76	2,22	2,08	34,9	1	4,61	0,08	1,01	3,72	6,7	0,14	50,9
9	86	F	07.10.2020	7.10.2020	3,8	0,99	2,59	27,1	4	2,56	0,03	2,26	4,5	80,9	0,14	322,3
10	63	M	08.10.2020	8.10.2020	3,97	1,39	1,66	31,9	3	2,31	0,01	0,28	4,7	27,5	0,06	38,4
11	72	F	19.09.2020	9.10.2020	24,49	0,66	33,64	31,5	8	22,2	0,95	13,32	7,36	368	0,68	194,6
12	56	F	09.10.2020	10.10.2020	5,6	1,41	2,42	32,2	2	3,41	0,02	0,76	3,67	6,6	0,05	21,7
13	66	F	05.10.2020	10.10.2020	10,21	1,33	5,89	25,7	8	7,83	0,07	1,35	5,76	37,4	0,57	946,2
14	73	F	09.10.2020	10.10.2020	4,13	0,95	2,99	30,9	4	2,84	0,06	0,18	5,98	110,1	0,07	36,4

15	87	F	10.10.2020	10.10.2020	7,02	1,52	2,92	33,6	0	4,44	0,03	0,51	4,78	95,2	0,12	106,5
16	86	M	10.10.2020	10.10.2020	11,3	0,73	12,97	36,2	4	9,47	0,35	3,54	3,86	30,3	1,64	275,9
17	63	F	10.10.2020	10.10.2020	2,08	0,82	1,35	32,1	5	1,11	0	0,48	5,65	35,9	0,05	21
18	81	M	11.10.2020	11.10.2020	5,01	1,05	3,33	31,9	2	3,5	0,04	0,75	5,55	136,2	0,51	106,1
19	68	M	09.10.2020	12.10.2020	6,93	0,77	7,06	30,2	3	5,44	0,04	0,73	7,67	226,1	0,07	
20	75	M	10.10.2020	12.10.2020	8,28	0,32	21,94	30,1	4	7,02	0,06	0,53	4,43	37,3	0,07	241,7
21	55	F	12.10.2020	12.10.2020	5,32	0,59	7,36	31,1	2	4,34	0,05	0,32	4,63	18,2	0,06	197,3
22	76	M	13.10.2020	13.10.2020	10,74	0,36	27,08	28,1	5	9,75	0,14	5	6,5	89,8	0,51	172,6
23	94	M	12.10.2020	13.10.2020	5,19	1,28	2,70	30,5	4	3,45	0,02	3,52	4,62	84,6	0,13	64,1
24	79	M	01.10.2020	13.10.2020	8,04	3,1	1,32	31,3	2	4,1	0,03	3,05	5,09	45,4		74,1
25	83	M	09.10.2020	13.10.2020	8,2	2,65	1,92	28,2	3	5,1	0,03	0,93	5,36	51,1	0,07	82,3
26	58	F	13.10.2020	13.10.2020	1,8	0,45	2,60	31,6	3	1,17	0,03	1,1	4,93	12	0,09	63,5
27	43	M	08.10.2020	13.10.2020	6,19	0,57	8,81	27,6	5	5,02	0,03	0,41	5,79	96,8	0,76	72,9
28	29	M	13.10.2020	14.10.2020	6,09	1,74	2,09	31,2	3	3,64	0,04	1,81	4,69	54,4	0,2	56,8
29	67	M	14.10.2020	14.10.2020	7,65	1,28	4,27	32,2	2	5,47	0,1	16,82	4,55	32,8	0,04	47
30	63	M	14.10.2020	14.10.2020	6,11	0,65	7,60	32,1	2	4,94	0,07	2,67	6,21	221,3	0,49	58
31	89	M	15.10.2020	15.10.2020	6,23	0,9	5,30	31,6	5	4,77	0,11	5,89	4,93	80,4	0,09	61,1
32	91	F	15.10.2020	15.10.2020	4,6	0,48	7,71	22,5	7	3,7	0,15	2,73	5,19	120,1	0,13	195,3
33	82	F	15.10.2020	15.10.2020	3,14	0,73	2,99	30,9	4	2,18	0,01	2,04	4,93	33,4	0,1	232,9
34	91	F	16.10.2020	16.10.2020	7,44	1,76	2,81	32,2	2	4,95	0,06	0,76	4,07	40,7	0,07	62
35	58	F	12.10.2020	16.10.2020	3,55	0,78	3,17	31,2	4	2,47	0,02	0,51	4,78	34,8	0,07	55,3
36	89	F	12.10.2020	17.10.2020	6,59	1,09	4,31	26,4	6	4,7	0,08	1,98	5,98		0,09	
37	67	M	18.10.2020	18.10.2020	4,8	0,7	5,26	32,2	3	3,68	0,02	0,51	4,37	89	0,17	488,9
38	74	F	19.10.2020	19.10.2020	7,41	1,56	2,93	39,4	4	4,57	0,06	0,54		10,3	0,05	
39	64	F	19.10.2020	19.10.2020	10,49	0,78	11,29	27,3	6	8,81	0,56	3,64	5,96	196,4	35,2	434,3

40	71	M	13.10.2020	20.10.2020	10,13	0,23	40,87	28,5	3	9,4	0,08	0,63	5,44	122,2	4,06	491,8
41	77	F	19.10.2020	20.10.2020	3,7	1,21	1,65	28,5	6	2	0,02	3,07		28,4		
42	16	F	16.10.2020	20.10.2020	7,27	1,11	4,97	29,1	4	5,52	0,03	2,86	5,18	74,6	0,5	94,7
43	64	M	16.10.2020	21.10.2020	15,77	0,6	24,72	34,9	7	14,83	0,11	14,52	8,1	340,4	5,09	146,7
44	63	M	20.10.2020	21.10.2020	12,95	2,41	3,80	32,9	9	9,16	0,18	1,27	4,7	80,2	0,54	435,9
45	70	M	21.10.2020	21.10.2020	12,18	0,26	42,42	27,8	4	11,03	0,04	0,73	5,36	184,8	0,2	666,5
46	69	F	22.10.2020	22.10.2020	9,23	2,09	2,97	36,3	1	6,21	0,04	7,54	5,45	26,3	0,05	21
47	43	F	16.10.2020	22.10.2020	4,55	0,71	4,90	30,1	3	3,48	0,01	0,71	5,36	46,8	0,03	21
48	70	M	22.10.2020	22.10.2020	5,34	1,28	2,73	29,8	6	3,49	0,07	0,32	4,93	58,6	0,03	33,6
49	93	F	12.10.2020	22.10.2020	8,75	1,42	4,54	26,3	6	6,44	0,13	6,08	5,51	132,5	0,15	435
50	52	M	21.10.2020	23.10.2020	6,28	1,41	3,09	28,8	2	4,36	0,1	0,23	4,18	24,9	0,07	90,9
51	92	F	23.10.2020	23.10.2020	9,1	0,39	20,95	31,4	5	8,17	0,22	1,71	4,43	111,2	0,14	71,6
52	48	F	20.10.2020	23.10.2020	6,6	0,79	6,97	31,2	4	5,51	0,02	0,65	5,76	91,1	0,04	64,1
53	68	M	21.10.2020	23.10.2020	2,84	0,73	2,30	31,2	2	1,68	0,02	0,82	3,72	17,3	0,09	88,8
54	67	M	19.10.2020	23.10.2020	6,22	0,34	15,88	33,8	4	5,4	0,15	0,53		141	0,79	458,3
55	74	M	23.10.2020	23.10.2020	4,61	0,53	6,94	32,4	1	3,68	0,02	0,3	4,37	9,3		48,6
56	69	M	21.10.2020	23.10.2020	7,24	2,23	1,70	33,6	2	3,8	0,02	2,04		45,3	0,08	53,6
57	71	M	23.10.2020	23.10.2020	5,07	1,6	1,78	33,4	3	2,84	0,01		4,02	7,9		
58	73	M	23.10.2020	24.10.2020	6,11	1,43	2,87	33,8	3	4,11	0,03	2,8	5,18	70,9	0,3	183,3
59	27	F	23.10.2020	24.10.2020	12,05	1,4	6,94	30,3	5	9,71	0,04	0,35	5,65	133,5	0,08	21
60	68	M	23.10.2020	24.10.2020	5,94	1,31	3,08	32	4	4,04	0,02	0,71	5,86	23,3	0,05	37,8
61	81	M	24.10.2020	24.10.2020	9,5	0,8	9,63	32,9	4	7,7	0,34			107,1	0,2	94,8
62	43	M	24.10.2020	24.10.2020	3,77	0,6	4,62	29,9	6	2,77	0,01			30,1	0,04	82,3
63	23	F	24.10.2020	24.10.2020	6,51	0,56	9,93	32,9	2	5,56	0,02	6,07	4,85		0,04	198
64	88	M	24.10.2020	24.10.2020	4,39	0,7	4,63	33,3	4	3,24	0,02	1,59	4,18	63,1	0,08	153,9

65	68	M	21.10.2020	24.10.2020	8,52	1,04	6,20	33,4	4	6,45	0,05			64,6	0,09	98,3
66	80	F	24.10.2020	24.10.2020	8,28	1,15	5,85	29,9	4	6,73	0,03	1,52	5,36	109	0,14	61,5
67	69	M	19.10.2020	24.10.2020	7,39	0,76	8,26	31,7	3	6,28	0,03	0,71	4,63	176,1	0,37	198,6
68	68	F	24.10.2020	24.10.2020	6,34	0,83	5,99	34	4	4,97	0,04	0,52	4,56	47,8	0,07	152,4
69	66	M	24.10.2020	25.10.2020	2,88	0,73	2,37	32,1	6	1,73	0,04	0,8	4,7	56	0,15	57,4
70	84	M	25.10.2020	25.10.2020	8,84	0,81	9,35	32,8	2	7,57	0,06	2,58	5,01	96	0,2	86,4
71	89	F	25.10.2020	25.10.2020	3,72	0,24	12,88	32,2	0	3,09	0,05			8,6	0,05	91,4
72	79	F	27.10.2020	25.10.2020	8,57	0,93	7,54	29,3	5	7,01	0,08	1,7	5,01	122,2	0,23	361
73	75	M	19.10.2020	25.10.2020	15,65	1,7	7,27	33,4	2	12,36	0,07	0,37	4,3	22	0,06	39,1
74	58	F	26.10.2020	26.10.2020	3,25	0,54	4,57	29,1	3	2,47	0,01	0,71	4,93	49,2	0,1	21
75	69	M	23.10.2020	26.10.2020	4,9	0,48	8,50	25,7	6	4,08	0,08	1,88	4,84	141,9	0,26	132,9
76	83	M	?	26.10.2020	10,64	0,84	10,51	29,3	5	8,83	0,08	5,87	5,74	162,2	0,38	378,2
77	69	M	24.10.2020	26.10.2020	8,7	0,89	7,98	31,5	10	7,1	0,1			73,4		
78	80	M	27.10.2020	27.10.2020	4,26	0,99	3,15	33,2	5	3,12	0,03	2,48	3,97	76,9	0,07	128,7
79	81	F	27.10.2020	27.10.2020	2,72	0,64	2,64	28,4	6	1,69	0,02	0,84	4,19	34,1	0,04	68,1
80	76	M	26.10.2020	29.10.2020	6,5	0,56	9,71	30,6	4	5,44	0,08	2,26	5,01	111,3	0,19	222,6
81	79	M	28.10.2020	29.10.2020	6,7	0,57	9,98	32,8	7	5,69	0,25	2,23	7,05	141,5	1,01	179
82	61	M	26.10.2020	29.10.2020	6,5	0,35	16,51	25,8	9	5,78	0,1	2,31	6,89	346,7	3,88	78,9
83	84	F	29.10.2020	29.10.2020	5,44	1,52	2,29	33	3	3,48	0,02			14,4	0,08	653,7
84	63	M	20.10.2020	29.10.2020	10,66	0,59	15,68	29,5	9	9,25	0,55	20	4,07	144,9	0,54	65,8
85	83	M	29.10.2020	29.10.2020	9,74	0,73	11,64	29,7	4	8,5	0,07	1,21		106	0,14	145,2
86	64	M	29.10.2020	30.10.2020	9,12	0,88	8,86	32,4	5	7,8	0,04	1,49	5,54	90,1	0,28	60,1
87	69	M	29.10.2020	30.10.2020	5,32	1,32	2,61	34,4	4	3,44	0,05	2,84	3,87	7,8	0,09	152,6
88	64	F	29.10.2020	30.10.2020	6,56	0,65	8,60	28,1	7	5,59	0,09	0,45	5,64	85,2	1,13	154,5
89	63	M	29.10.2020	30.10.2020	8,63	1,76	3,36	34,3	5	5,91	0,1	0,35	4,36	109,3	0,55	289,7

90	62	F	29.10.2020	30.10.2020	3,97	0,51	5,84	27,9	4	2,98	0,03	0,73	4,77	44,2		121,3
91	80	M	30.10.2020	30.10.2020	12,16	0,76	13,12	23,3	4	9,97	0,06	3,86	2,86	111,4	0,63	515
92	74	M	24.10.2020	30.10.2020	16,16	1,56	8,82	28,3	10	13,76	0,25			194,5	1,41	126,5
93	50	M	28.10.2020	30.10.2020	7,17	0,82	6,51	32,2	4	5,34	0,33	14,77	5,54	140,8	0,3	492,8
94	90	M	30.10.2020	30.10.2020	8,41	1,37	4,73	32,7	3	6,48	0,04	1,51	4,3	9,5	0,09	347,4
95	71	F	28.10.2020	30.10.2020	5,1	1,87	1,37	30,8	3	2,56	0,03	3,36	5	71,4	0,09	76,4
96	79	M	02.11.2020	2.11.2020	7,02	0,68	8,15	32,2	3	5,54	0,11	1,28	8,53	74,2	0,23	118,4
97	83	M	31.10.2020	2.11.2020	6,79	0,69	8,39	34,6	3	5,79	0,1	0,81	4,85	66	0,07	281,8
98	86	M	29.10.2020	2.11.2020	7,01	0,93	5,84	30,7	6	5,43	0,1	1,08	5,57	15	0,05	52,9
99	78	F	29.10.2020	2.11.2020	8,88	1,05	6,94	28,8	7	7,29	0,16	1,38	6,47	83,7	0,06	106,3
100	88	F	24.10.2020	2.11.2020	5,82	0,59	8,20	31,5	2	4,84	0,05	4,8	4,78	52,5	0,16	361
101	74	F	02.11.2020	2.11.2020	8,66	1,03	6,46	30	4	6,65	0,12	1,25	6,53	148	0,14	211,5
102	69	M	23.10.2020	2.11.2020	10,11	1,6	4,40	31,5	5	7,04	0,22	4,98	7,36	116	0,17	77,9
103	63	M	02.11.2020	3.11.2020	6,42	0,48	11,63	34,7	3	5,58	0,09	0,37	5,9	83,7	0,11	78,4
104	67	F	03.11.2020	3.11.2020	3,94	1,25	1,80	28,9	6	2,25	0,02	0,84	4,62	53,1	0,08	21
105	60	M	?	3.11.2020	25,55	0,64	36,20	32,8	5	23,17	0,18	4,7	7,36	191,1	4,62	944,8
106	88	M	26.10.2020	4.11.2020	7,23	0,52	12,44	28	7	6,47	0,06	2,25	5,9	222,2	0,76	106,4
107	74	M	03.11.2020	4.11.2020	8,11	0,48	13,75	26,3	5	6,6	0,09			32,9		
108	78	M	03.11.2020	4.11.2020	6,62	0,76	6,96	31,5	4	5,29	0,05	1,8	5,01	39,9	0,1	148,4
109	86	M	28.10.2020	4.11.2020	36,79	0,73	47,10	28,9	12	34,38	0,63	5,79	3,42	102,3	2,29	18790
110	73	M	04.11.2020	4.11.2020	5,13	0,82	4,59	33,8	3	3,76	0,06	0,66	5,98	137,2	0,16	99,4
111	46	M	03.11.2020	4.11.2020	14,19	1,54	7,30	32,5	4	11,24	0,13	3,7	3,67	111,8	0,33	14573
112	56	F	04.11.2020	4.11.2020	5,29	1,7	1,84	31,4	7	3,13	0,08	0,22	4,56	75,9	0,09	72,8
113	70	M	29.10.2020	4.11.2020	16,66	1,66	8,30	33,5	6	13,77	0,17	0,82	8,1	39	0,24	1125
114	72	M	29.10.2020	4.11.2020	6,93	0,82	6,95	23,1	5	5,7	0,04	1,92	3,16	43,6	0,39	

115	74	M	31.10.2020	4.11.2020	9,47	0,63	13,68	34,4	3	8,62	0,03	2,29		160	0,13	
116	72	M	01.11.2020	5.11.2020	15,72	0,66	21,41	34,1	6	14,13	0,62	20		104	0,08	68,2
117	52	M	02.11.2020	5.11.2020	2,62	0,55	3,44	26,8	4	1,89	0,04	0,61		79,5	0,6	119,2
118	62	M	05.11.2020	5.11.2020	10,09	1,86	3,60	30	7	6,7	0,22	2	6,6	41,6	0,08	51,3
119	73	M	05.11.2020	5.11.2020	13,75	0,71	16,08	28,8	5	11,42	0,06			125,5	0,09	1615
120	78	M	04.11.2020	6.11.2020	60,4	1,05	4,15	31,4	6	4,36	0,11	0,64	7,54	63,8	0,17	174,3
121	80	M	06.11.2020	6.11.2020	7,15	0,5	12,36	33,5	1	6,18	0,03	0,7	5,01	89	0,19	116
122	78	M	06.11.2020	6.11.2020	6,4	0,68	7,66	30,4	2	5,21	0,02	0,68	5,01	47,9	0,02	98,4
123	98	M	30.10.2020	6.11.2020	9,97	0,52	17,40	19,6	10	9,05	0,15			118		
124	63	M	01.11.2020	6.11.2020	10,32	1,43	5,71	30,8	7	8,17	0,15	0,75	6,82	47,9	0,1	75,2
125	93	F	09.11.2020	9.11.2020	8,47	1,01	6,60	26,2	5	6,67	0,06	5,1	4,43	90,3	0,15	161,7
126	68	M	09.11.2020	9.11.2020	13,41	0,71	16,90	35,4	4	12	0,11	1,52	8,53	232,6	2,26	242,4
127	87	M	05.11.2020	11.11.2020	7,84	1,39	3,99	32,4	5	5,55	0,1	0,73	5,26	23,4	0,05	99,9
128	66	M	03.11.2020	12.11.2020	5,34	1,07	3,45	34,9	2	3,69	0,06	0,77	5,26	121,8	0,58	128,2
129	70	F	10.11.2020	12.11.2020	7,09	0,96	4,24	35,3	3	4,07	0,12	1,9	2,75	34,5	0,05	26,5
130	86	F	01.10.2020	03.10.2020	3,97	0,33	10,58	29,5	6	3,49	0,04	1,47	5,76	98,8	2,23	180
131	92	M	?	05.10.2020	6,66	1,23	4,15	33,6	3	5,1	0,03	0,61	5,37	137,1	0,24	52,7
132	90	M	09.10.2020	09.10.2020	2,99	0,57	3,42	28,4	6	1,95	0,01	1,16	4,19	42,6	0,2	44,5
133	81	M	11.10.2020	11.10.2020	5,01	1,05	3,33	31,9	2	3,5	0,04	0,75	5,55	136,2	0,51	106,1
134	49	M	11.10.2020	11.10.2020	7,77	1,16	4,84	30,2	4	5,62	0,02	0,46	3,91	29,9	0,08	154,3
135	87	M	14.10.2020	15.10.2020	2,97	0,73	2,70	31,8	1	1,97	0,01	1,57	2,54	39,1	0,15	216
136	62	F	18.10.2020	18.10.2020	5,83	1,74	2,06	30	5	3,58	0,07	0,77	5,01	83,9	0,06	21
137	60	F	18.10.2020	18.10.2020	8,37	1,1	6,10	30,2	5	6,71	0,06	1,06	4,78	58,9	0,07	21
138	76	F	18.10.2020	20.10.2020	7,34	0,64	9,41	29,2	5	6,02	0,04	1,55	5,15	140,5	0,14	
139	75	F	20.10.2020	20.10.2020	8,98	1,89	2,97	31,6	4	5,62	0,06	7,93	5,09	15,8	0,07	58,7

140	77	M	17.10.2020	21.10.2020	5,64	1,63	1,72	33,6	1	2,8	0,01	0,55	4,85	20,4		
141	64	F	15.10.2020	22.10.2020	9,28	1,33	5,23	28,2	8	6,95	0,22	0,75	5,98	60,3	0,02	21
142	82	M	22.10.2020	22.10.2020	6,56	2,01	1,84	33,1	2	3,7	0,03	1,72	4,13	55,7	0,14	1450
143	56	F	16.10.2020	22.10.2020	3,4	1,04	2,06	31,6	4	2,14	0,01	2,23	3,76	18,9	0,02	21
144	63	F	20.10.2020	23.10.2020	3,65	0,79	3,29	28,9	4	2,6	0,02	1,1	5,09	66,6		75,6
145	65	F	23.10.2020	23.10.2020	10,23	0,35	26,60	34,8	5	9,31	0,23	2,55	5,65	96		
146	77	F	22.10.2020	24.10.2020	4,78	1,2	1,87	28,7	4	2,24	0,04	6,38	4,19	29	0,65	
147	87	F	25.10.2020	25.10.2020	8,91	1,42	4,65	29,8	2	6,6	0,05	1,78	5,01	99		783,7
148	66	M	30.10.2020	02.11.2020	4,98	1,08	3,19	36,8	4	3,44	0,08	20	3,27	48,7	0,14	193,8
149	86	F	01.11.2020	02.11.2020	4,95	0,7	1,90	30,1	6	1,33	0,29	8,09	3,58	150,3	0,2	45,1
150	86	M	21.10.2020	02.11.2020	8,4	1,92	2,99	29,1	5	5,74	0,23	5,4	5,09	63,4		994
151	43	M	05.11.2020	06.11.2020	4,73	1,75	1,30	32,9	1	2,27	0,02	0,54	4,77	18,3	0,06	36,4
152	78	F	05.11.2020	12.11.2020	5,24	0,84	4,58	30,3	3	3,85	0,02	0,97	4,43	54,3	0,11	41,4
153	74	M	12.11.2020	13.11.2020	8,13	1,43	3,96	31,4	5	5,66	0,1	0,65	5,85	70,2	0,08	81
154	68	M	16.11.2020	23.11.2020	13,62	0,72	16,53	33,3	6	11,9	0,18	20	7,23	271,9	0,25	272,8
155	69	M	02.11.2020	05.11.2020	4,14	1,11	2,31	30,4	6	2,56	0,04	0,69	5,68	42,4	0,09	138,1
156	61	F	20.10.2020	20.10.2020	9,71	2,72	2,15	31,1	7	5,86	0,02	0,4	4,77	45,5		26,9
157	53	F	19.10.2020	22.10.2020	2,36	0,64	2,19	26,7	6	1,4	0	6	4,7	9,2		