

UNIVERZITA KARLOVA  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ  
KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD



DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Možnosti laboratorní diagnostiky závažnosti  
infekce na analyzátorech krevních buněk**

**Bc. Veronika Štveráková**

**Školitel diplomové práce: RNDr. Petr Sadílek, Ph.D.**

**Konzultant diplomové práce: Ing. Martin Pulcer, Ph.D., MBA**

**HRADEC KRÁLOVÉ, 2024**

## **Poděkování**

Chtěla bych poděkovat RNDr. Petrovi Sadílkovi, Ph.D. za odborné a cenné rady a vstřícnost při konzultacích. Dále bych ráda poděkovala Ing. Martinovi Pulcerovi, Ph.D., MBA za odborné vedení a vstřícnost při konzultacích v průběhu vypracování mé diplomové práce. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat laboratornímu personálu oddělení Klinická hematologie Městské nemocnice Ostrava a laboratornímu personálu Oddělení klinické hematologie Fakultní nemocnice v Ostravě za vstřícnost a veškerou pomoc.

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

V Hradci Králové dne 31.8.2024



Bc. Veronika Štveráková

# OBSAH

<b>1</b>	<b>ABSTRAKT .....</b>	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>ABSTRACT .....</b>	<b>7</b>
<b>3</b>	<b>ÚVOD .....</b>	<b>8</b>
<b>4</b>	<b>ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE .....</b>	<b>9</b>
<b>5</b>	<b>TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>10</b>
5.1	INFEKCE KREVNIHO ŘEČIŠTĚ .....	10
5.2	SEPSE.....	11
5.3	VÝVOJ DEFINICE SEPSE .....	12
5.4	ETIOLOGIE A RIZIKOVÉ FAKTORY SEPSE .....	15
5.5	PATOFYZIOLOGIE SEPSE.....	16
5.5.1	<i>Patogeneze.....</i>	<i>16</i>
5.5.2	<i>Hemodynamika.....</i>	<i>18</i>
5.5.3	<i>Koagulace/Fibrinolýza.....</i>	<i>19</i>
5.5.4	<i>Metabolismus.....</i>	<i>20</i>
5.5.5	<i>Sepsí indukovaná imunosuprese .....</i>	<i>20</i>
5.6	KLINICKÁ DIAGNOSTIKA SEPSE .....	22
5.6.1	<i>SOFA skóre .....</i>	<i>23</i>
5.6.2	<i>qSOFA skóre .....</i>	<i>24</i>
5.7	LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA SEPSE .....	25
5.7.1	<i>Hematologické markery – Krevní obraz a Morfologie .....</i>	<i>27</i>
5.7.1.1	<i>Celkový počet leukocytů (WBC) .....</i>	<i>28</i>
5.7.1.2	<i>Poměr neutrofilů a lymfocytů (NLR) .....</i>	<i>28</i>
5.7.1.3	<i>Distribuční šíře monocytů (MDW).....</i>	<i>30</i>
5.7.1.4	<i>ICIS Skóre .....</i>	<i>35</i>
5.7.1.5	<i>Další vybrané parametry krevního obrazu a morfologie.....</i>	<i>36</i>
5.7.2	<i>Hematologické markery – Koagulace/Fibrinolýza .....</i>	<i>37</i>
5.7.2.1	<i>Fibrinogen (FBG) .....</i>	<i>37</i>
5.7.2.2	<i>Antitrombin (AT) .....</i>	<i>37</i>
5.7.2.3	<i>Fibrin/Fibrinogen degradační produkty (FDP, D-dimery) .....</i>	<i>38</i>
5.7.2.4	<i>SIC skóre.....</i>	<i>39</i>
5.7.2.5	<i>Další vybrané parametry koagulace/fibrinolýzy.....</i>	<i>40</i>
5.7.3	<i>Povrchové buněčné markery .....</i>	<i>41</i>
5.7.3.1	<i>CD64.....</i>	<i>41</i>
5.7.3.2	<i>CD11b.....</i>	<i>41</i>
5.7.4	<i>Biochemické markery.....</i>	<i>42</i>
5.7.4.1	<i>Cytokiny .....</i>	<i>42</i>

5.7.4.2	C-reaktivní protein (CRP).....	43
5.7.4.3	Prokalcitonin (PCT).....	43
5.7.4.4	Presepsin (sCD14-ST) .....	44
5.7.4.5	Další biochemické markery .....	44
5.7.5	<i>Mikrobiologický průkaz infekce</i> .....	45
5.7.5.1	Odběr hemokultury.....	45
5.7.5.2	Metody přímého průkazu .....	45
5.8	TERAPIE SEPSE .....	46
5.8.1	<i>Kontrola probíhající infekce</i> .....	46
5.8.2	<i>Hemodynamická stabilizace</i> .....	47
5.8.3	<i>Modulace odpovědi hostitele</i> .....	48
5.8.4	<i>Možnosti podání dalších terapeutik</i> .....	49
<b>6</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>50</b>
6.1	CHARAKTERISTIKA VYŠETŘOVANÉHO SOUBORU .....	50
6.2	MATERIÁL A METODY .....	52
6.2.1	<i>Materiál</i> .....	52
6.2.2	<i>Přístrojové vybavení a vyšetřovací metody</i> .....	52
6.2.2.1	Hematologický analyzátor DxH 900 .....	52
6.2.2.2	Hematologický analyzátor XN-9000 .....	56
6.2.2.3	Analyzátor DI-60.....	56
6.2.2.4	Biochemické analyzátory .....	57
6.3	STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ VÝSLEDKŮ MĚŘENÍ.....	59
6.3.1	<i>GraphPad Prism 10.2.3</i> .....	59
6.3.2	<i>MedCalc 20.032</i> .....	61
6.3.3	<i>JMP 18.0.1</i> .....	62
6.4	VÝSLEDKY.....	63
6.4.1	<i>Stabilita parametru MDW v čase</i> .....	63
6.4.2	<i>Opakovatelnost MDW a MO<sub>rel</sub> v sérii</i> .....	67
6.4.3	<i>Porovnání vybraných laboratorních markerů pro časný záchyt sepse</i> .....	70
6.4.3.1	Parametr MDW při záchytu sepse .....	71
6.4.3.2	Parametr NLR při záchytu sepse .....	74
6.4.3.3	Parametr WBC při záchytu sepse .....	76
6.4.3.4	Parametr MO <sub>#</sub> při záchytu sepse.....	79
6.4.3.5	ICIS skóre při záchytu sepse .....	82
6.4.3.6	Porovnání parametru MDW s vybranými hematologickými markery při záchytu sepse .....	85
6.4.3.7	Korelace parametru MDW s vybranými zánětlivými markery při záchytu sepse .....	87
6.4.4	<i>Vyhodnocení vybraných laboratorních markerů v závislosti na klinickém stavu pacientů</i> ..	89
6.4.4.1	Analýza vybraných markerů v závislosti na přítomnosti sepse .....	90
6.4.4.2	Analýza MDW v závislosti na přítomnosti sepse při jejím záchytu.....	94

6.4.4.3	Analýza NLR v závislosti na přítomnosti sepse při jejím záchytu.....	96
6.4.4.4	Analýza WBC v závislosti na přítomnosti sepse při jejím záchytu .....	98
6.4.4.5	Analýza MO# v závislosti na přítomnosti sepse při jejím záchytu.....	100
6.4.4.6	Analýza ICIS skóre v závislosti na přítomnosti sepse při jejím záchytu .....	102
6.4.4.7	Kazuistika – Vyhodnocení vybraných markerů v závislosti na klinickém stavu pacienta .....	104
6.4.5	<i>Sledování morfologických a početních odchylek v nátěru periferní krve při sepsi .....</i>	<i>109</i>
<b>7</b>	<b>DISKUZE .....</b>	<b>113</b>
<b>8</b>	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>118</b>
<b>9</b>	<b>POUŽITÉ ZKRATKY .....</b>	<b>120</b>
<b>10</b>	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>125</b>
<b>11</b>	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ.....</b>	<b>127</b>
<b>12</b>	<b>SEZNAM GRAFŮ .....</b>	<b>128</b>
<b>13</b>	<b>CITOVANÁ LITERATURA .....</b>	<b>129</b>
<b>14</b>	<b>PŘÍLOHY .....</b>	<b>142</b>

# 1 ABSTRAKT

**Úvod:** Sepsa je život ohrožující orgánová dysfunkce způsobená dysregulovanou odpovědí hostitele na infekci. Celosvětově je stále jednou z hlavních příčin úmrtí na jednotkách intenzivní péče. Vedle standardních parametrů používaných při diagnostice sepse se v poslední době objevují nové parametry. Distribuční šíře monocytů (MDW) je snadno dostupný nový časný indikátor sepse (ESId) a jediný hematologický FDA-schválený parametr pro diagnostiku sepse.

**Cíle práce:** Cílem této diplomové práce bylo porovnat vybrané laboratorní markery pro časný záchyt sepse a vyhodnotit parametr MDW a další parametry v závislosti na klinickém stavu pacientů. Práce se zabývá dalšími problematikami.

**Metodika:** Při diagnostice sepse byl parametr MDW měřen na analyzátoru Beckman Coulter DxH 900 a ostatní hematologické parametry byly měřeny na analyzátoru Sysmex XN-9000. Používaly se vzorky nesrážlivé krve s K<sub>3</sub>EDTA ve zkumavkách značky Sarstedt. Zánětlivé markery byly měřeny na analyzátoru Atellica a přístroji Pathfast. Používaly se vzorky plazmy s heparinem lithným ve zkumavkách značky Sarstedt. Celkově bylo vyhodnoceno 35 septických pacientů a 38 zdravých dárců v rámci různých cílů.

**Výsledky:** Výsledky porovnání hematologických parametrů byly hodnoceny pomocí ROC analýzy. Jako nejvíce přesný se ukázal parametr MDW (AUC = 0,971) v porovnání s NLR (AUC = 0,955), WBC (AUC = 0,867), MO# (AUC = 0,709) a skórem ICIS (AUC = 0,953). U parametru MDW byla z kritérií vybrána cut-off hodnota MDW >20,43 (senzitivita 100; specifita 86,84) asociována s Youdenovým indexem a optimální cut-off hodnota MDW >21,41 (senzitivita 86,36; specifita 94,74). Při sledování závislosti hodnot hematologických parametrů na přítomnosti sepse byla zjištěna statisticky významná závislost u parametrů MDW, NLR, WBC a skóre ICIS (P <0,0001).

**Závěr:** Vedle ostatních markerů používaných pro diagnostiku sepse se parametr MDW osvědčil jako velmi přesný marker při záchytu sepse. V kombinaci s dalšími biomarkery mají MDW a ICIS skóre velký potenciál pro časnou diagnostiku sepse.

**Klíčová slova:** Sepsa, MDW, NLR, ICIS skóre, Beckman Coulter DxH 900, Sysmex XN-9000.

## 2 ABSTRACT

**Introduction:** Sepsis is a life-threatening organ dysfunction caused by a dysregulated host response to infection. It is still one of leading causes of death in ICU worldwide. In addition to standard parameters used in the diagnosis of sepsis, new parameters have recently appeared. Monocyte distribution width (MDW) is a readily available new early indicator of sepsis (ESId) and the only hematological FDA-approved parameter for the diagnosis of sepsis.

**The aim of the work:** The aim of this master thesis was to compare selected laboratory markers for the early detection of sepsis and to evaluate the MDW and other parameters depending on the clinical condition of the patients. The thesis is dealing with other problematics.

**Methodology:** When diagnosing sepsis, MDW was measured on Beckman Coulter DxH 900 analyzer, and other hematological parameters were measured on Sysmex XN-9000 analyzer. Anticoagulated blood samples with K<sub>3</sub>EDTA in Sarstedt tubes were used. Inflammatory markers were measured on Atellica Analyzer and Pathfast device. Anticoagulated blood samples with lithium heparin in Sarstedt tubes were used. Total of 35 septic patients and 38 healthy donors were evaluated for various objectives.

**Results:** Results of comparing hematological parameters were evaluated using ROC analysis. Parameter MDW (AUC = 0.971) proved to be the most accurate compared to NLR (AUC = 0.955), WBC (AUC = 0.867), MO# (AUC = 0.709) and score ICIS (AUC = 0.953). Cut-off value MDW >20.43 (sensitivity 100, specificity 86.84) associated with Youden index and optimal cut-off value of MDW >21.41 (sensitivity 86.36, specificity 94.74) were selected from the criteria. Statistically significant addiction was found during monitoring addiction of MDW values depending on the presence of sepsis.

**Conclusion:** In addition to other markers used for the diagnosis of sepsis, the MDW proved to be a very accurate marker in detection of sepsis. MDW and ICIS score in combination with other biomarkers have a great potential for early sepsis diagnostics.

**Key words:** *Sepsis, MDW, NLR, ICIS score, Beckman Coulter DxH 900, Sysmex XN-9000.*



### 3 ÚVOD

Sepse je život ohrožující orgánová dysfunkce způsobená dysregulovanou zánětlivou odpovědí hostitele na infekci. Vzhledem k riziku rychlého rozvoje a závažnosti stavu je sepsa celosvětově stále jednou z hlavních příčin úmrtí na jednotkách intenzivní péče. Klinické projevy sepse mohou být ovšem u jednotlivých pacientů různorodé. Existuje mnoho klinických stavů a onemocnění, které mají velmi podobné klinické projevy jako sepsa. Tím může při diagnostice docházet k záměně sepse s jiným onemocněním. Je proto nezbytné sepsi rychle identifikovat a včas zahájit adekvátní terapii.

Zlatým standardem v rámci laboratorní diagnostiky sepse jsou mikrobiologické kultivační techniky pro izolaci a detekci infekčního patogenního organismu. Doba kultivace je ovšem velmi zdlouhavá, což není vzhledem k riziku rychlého rozvoje septického stavu žádoucí. Během posledních let bylo představeno více než 250 laboratorních biomarkerů sepse. Vedle konvenčních parametrů a skórovacích systémů (C-reaktivní protein, prokalcitonin, interleukin 6, presepsin, NLR, SOFA skóre, qSOFA skóre, aj.) používaných při diagnostice sepse se v poslední době objevují další nové parametry (ICIS skóre, MDW, aj.).

Distribuční šíře monocytů (MDW) je morfologický parametr reflektující tvarové a objemové odchylky monocytů v periferní krvi při jejich aktivaci během odpovědi na infekci. Jde o první buněčný hematologický biomarker označovaný jako časný indikátor sepse (ESId – Early sepsis indicator) a jediný hematologický FDA-schválený parametr pro diagnostiku sepse (FDA – Úřad pro kontrolu potravin a léčiv).

Jeho výhodou je, že se stanovuje rutinně v rámci krevního obrazu společně s diferenciálním rozpočtem leukocytů na hematologickém analyzátoru DxH 900 (výrobce Beckman Coulter Diagnostics, USA), což MDW činí levným rutinním snadno a rychle dostupným parametrem, a tedy velmi slibným biomarkerem sepse. Pro svoji vysokou diagnostickou přesnost je MDW doporučován jako screeningový nástroj pro časnou identifikaci septických pacientů.

## **4 ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE**

Teoretická část diplomové práce je zaměřena na popis závažných infekčních stavů a počínající sepse, klinickou a laboratorní diagnostiku a terapii.

Cílem experimentální části diplomové práce je porovnání vybraných laboratorních markerů pro časný záchyt sepse a vyhodnocení parametru MDW a dalších laboratorních markerů v závislosti na klinickém stavu pacientů. Práce se zabývá i dalšími problematikami parametru MDW.

Dále je popsána kazuistika septického pacienta. Nakonec jsou sledovány morfologické a početní odchylky v nátěru periferní krve při sepsi.

## 5 TEORETICKÁ ČÁST

### 5.1 Infekce krevního řečiště

Infekce krevního řečiště (IKŘ) je stav, kdy dochází k pronikání mikroorganismů do krevního řečiště doprovázenému celkovými projevy infekce. Mezi infekce krevního řečiště se řadí sepse a septický šok, dále infekční endokarditida, myokarditida a perikarditida. [1] [2]

Podle typu agens mohou být infekce bakteriálního, virového, parazitárního nebo fungálního původu. Dále rozlišujeme infekce primární a sekundární na základě místa infekčního ložiska. Při primární infekci se agens vyskytuje v samotném krevním řečišti a současně nemá souvislost s jiným procesem infekce, popřípadě je zdroj infekce neznámý. U sekundární infekce se ložisko vyskytuje mimo krevní řečiště a agens se dostane do krevního oběhu až druhotně, např. při pneumonii nebo pyelonefritidě. [1] [2]

**Tabulka 1 – Infekce krevního řečiště (Hurych, 2020) [2]**

<b>Primární infekce krevního řečiště</b>	infekční endokarditidy, katéetrové sepse, tromboflebitidy, infekce velkých cév, infekce cévních náhrad, infekce aneurysmat.	
<b>Sekundární infekce krevního řečiště</b>	<b>Sepse z poranění</b>	
	<b>Sepse z dutých orgánů</b>	urosepsie, cholangiogenní sepse, střevní sepse.
	<b>Sepse spojené s jiným infekčním procesem</b>	pneumonie, osteomyelitidy, purulentní meningitidy.

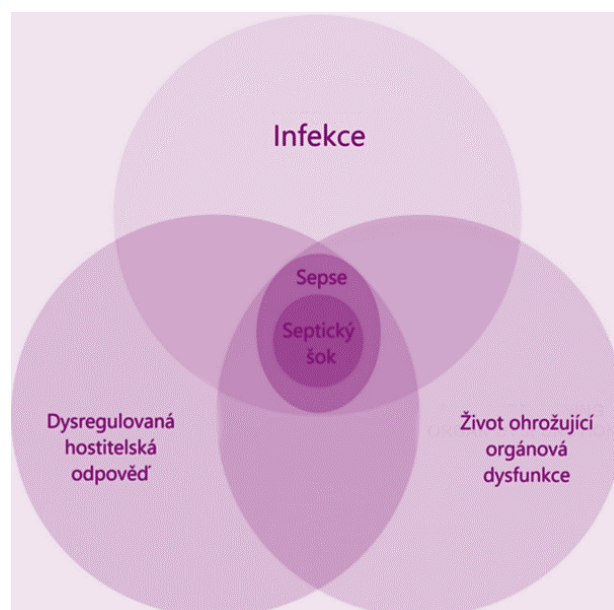
Pokud jsou mikroorganismy pouze přítomny v krevním řečišti bez známky infekčního procesu, pak se tyto stavy označují jako bakteriémie, virémie, fungémie a parazitémie. Imunitní systém u zdravých jedinců odstraňuje mikroorganismy velmi rychle, a tím nedochází k tvorbě významné systémové zánětlivé odpovědi. Pokud je však jedinec oslaben jiným onemocněním nebo velmi virulentním patogenem, vzniká deregulovaná systémová zánětlivá odpověď (SIRS), která může následně způsobit rozvoj četných orgánových dysfunkcí, selhání až úmrtí jedince. Tento stav je popisován jako sepse. [2]

## 5.2 Sepsa

Sepsa je život ohrožující orgánová dysfunkce způsobená dysregulovanou odpovědí hostitele na přítomnost infekce (definice Sepsis-3). Jde o častou komplikaci v boji se zraněními a traumatem. Celosvětově je sepsa stále jednou z hlavních příčin úmrtí na jednotkách intenzivní péče. [3] [4]

Pojem sepsa vždy signalizuje přítomnost infekce, na kterou organismus reaguje zánětlivou reakcí. Přestože je zánět primárně kompenzačním obranným mechanismem hostitele s cílem odstranit infekční ložisko a zamezit šíření infekce, za určitých podmínek může však zánětlivá reakce chronicky přetrvávat a začít poškozovat hostitele. Později dochází k přechodu zánětlivé reakce na další původně infekcí nepoškozené orgány, což následně způsobuje rozvinutí orgánové dysfunkce, nevratné poškození celistvosti funkcí orgánu, multiorgánové selhávání a terminálně úmrtí pacienta. [5] [6] [7]

U sepsy se rozlišují dvě stádia: sepsa a septický šok. S rozvojem septického stavu souvisí vznik různých buněčných, cirkulačních a metabolických abnormalit krevního oběhu, které přispívají k vyššímu riziku mortality u pacientů. Závažnost sepsy, potřeba její včasné diagnostiky a časného zahájení terapie proto vedla postupně k úpravám definice sepsy a rozvoji guidelines pro terapii sepsy. [4] [8] [9]



**Obrázek 1 – Infekce vs Sepsa**  
(upraveno z: Armstrong, 2017) [10]

### **5.3 Vývoj definice sepse**

Pojem sépsis (řecky rozklad, hnití) byl poprvé použit Hippokratem již ve 4. století př. n. l.. Později až díky objevům biologa a chemika Louise Pasteura začal být termín sepse spojován s infekcí. [11]

#### **První definice sepse (1991)**

Původní definice sepse vznikla až v roce 1989, kdy doktor Bone nabídl odborné veřejnosti definici sepse jako stav způsobený invazí mikroorganismů nebo jejich toxinů do krve současně s reakcí makroorganismu na tento proces. Roku 1991 byla publikována první definice sepse (Sepsis-1), která diagnostikovala sepsi pomocí kritérií systémové zánětlivé odpovědi (SIRS) a současnou potvrzenou nebo předpokládanou přítomností infekce. K potvrzení diagnózy byla dostačující přítomnost minimálně 2 ze 4 kritérií SIRS (horečka, leukocytóza, tachykardie, tachypnoe). V rámci klasifikace byl doplněn termín septický šok. Definice však nebyla dostatečně specifická, aby odlišila pacienty se sepsí od pacientů s regulovanou zánětlivou odpovědí na infekci anebo od pacientů se zánětlivou odpovědí, která nebyla způsobena infekcí. [4] [8] [11] [12]

#### **Druhá definice sepse (2001)**

Pro zlepšení diagnostiky sepse došlo v roce 2001 k aktualizaci definice sepse (Sepsis-2). K diagnostickým kritériím sepse byl doplněn rozsáhlý list dalších klinických a laboratorních znaků. Pro rozlišení míry závažnosti sepse došlo k zavedení klasifikace sepse do praxe. Klasifikace rozlišovala sepsi (infekce + SIRS), těžkou sepsi (infekce + SIRS + akutní orgánová dysfunkce) a septický šok (těžká sepse + hypotenze nereagující na tekutinovou resuscitaci). Nová definice sepse ovšem nevyřešila problém týkající se specifičnosti a byla neustále kritizována kvůli SIRS kritériím, jejich nedostatečné senzitivitě a specifitě, čímž docházelo k výskytu velkého počtu falešně negativních a falešně pozitivních případů sepse. [4] [11] [12]

#### **Třetí definice sepse (2016)**

V roce 2016 byla publikována nová definice sepse (Sepsis-3) v časopise The Journal of American Medical Association (JAMA). Definice byla formulována na základě retrospektivní analýzy dat 1,2 milionů septických pacientů. Cílem bylo objevit ta data, která by pomohla urychlit a upřesnit diagnostiku sepse a zároveň by byla schopna rozlišit mezi nekomplikovanou infekcí a infekcí vedoucí k akutní orgánové dysfunkci.

Dle nové definice (Sepsis-3) je sepse život ohrožující orgánová dysfunkce způsobená dysregulovanou odpovědí hostitelského organismu na přítomnost infekce. V definici nastala změna a v rámci diagnostiky sepse se již doporučuje, aby byla rozpoznána akutní orgánová dysfunkce. K posouzení přítomnosti orgánové dysfunkce je určeno tzv. SOFA skóre (Sequential/Sepsis-related Organ Failure Assessment skóre), případně qSOFA skóre (quick SOFA skóre) pro zjednodušení a zrychlení posouzení. [3] [4] [11] [12]

Septický šok se podle nové definice sepse označuje jako podtyp sepse, který se projevuje cirkulační, buněčnou a metabolickou nestabilitou asociovanou s vyšším rizikem mortality. Rozvíjí se hypotenze nereagující na dostatečnou objemovou resuscitaci, která vyžaduje podání látky působící vazopresor (vazopresoru) pro udržení středního arteriálního tlaku (MAP) na hodnotách  $\geq 65$  mm Hg. Hladina laktátu je zvýšena  $>2$  mmol/L. [3] [11]

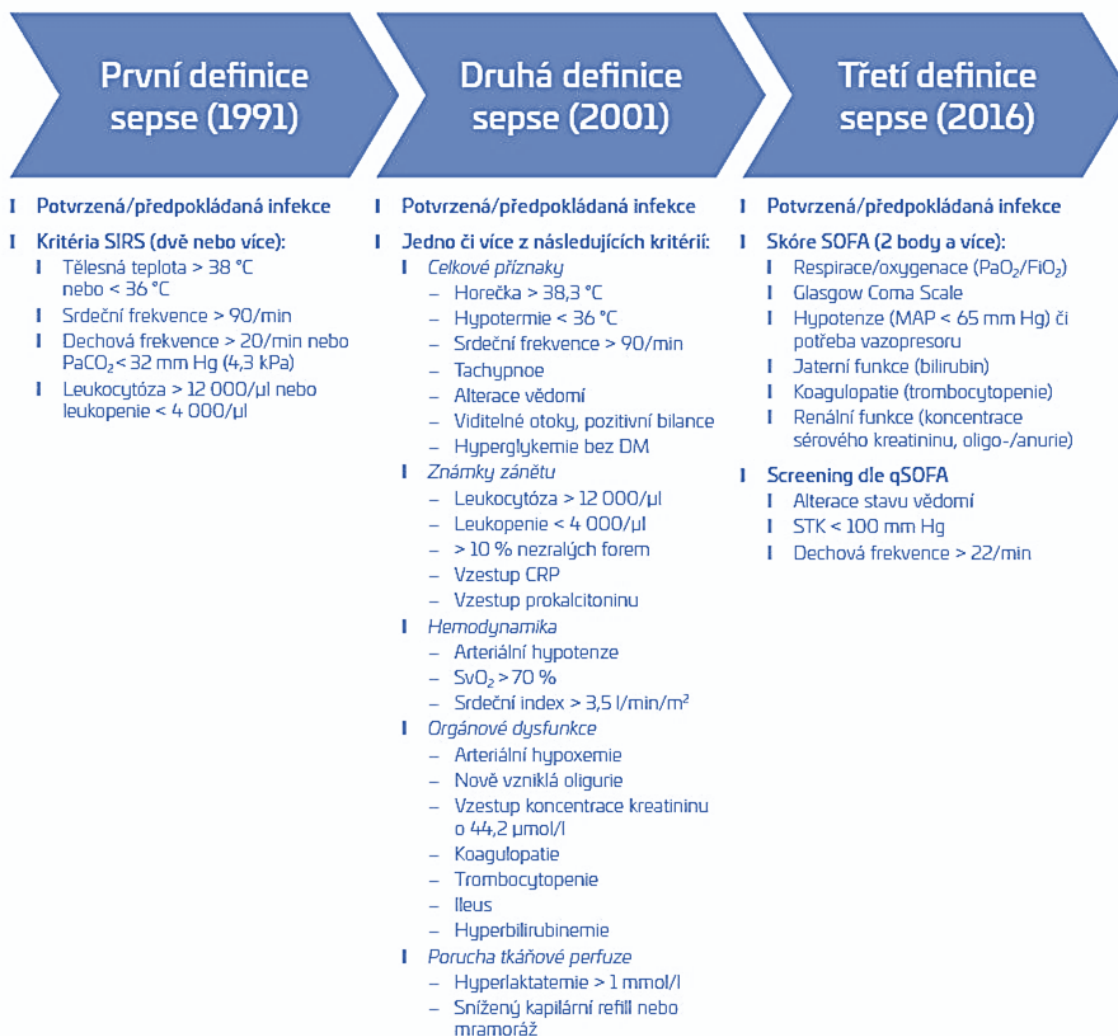
### **Problematika definice sepse**

Všechny tři definice sepse jsou ovšem stále konfrontovány kvůli nedostatečné identifikaci pacientů. [12] [13]

Sepse je velmi různorodý stav a při její diagnostice je potřeba brát v úvahu širokou oblast šedé zóny a obtížnou identifikaci. Velkému množství pacientů nemusí sedět žádné z kritérií definic, a přesto bude u nich sepse přítomna. Většinou se jedná o pacienty s rozvojem sepse jako komplikace na původní závažné onemocnění. [12]

Jelikož sepse patří mezi stav „medical emergency“, tj. stav, kdy je potřeba bezodkladně zahájit terapii, je nutné při jakémkoli klinickém podezření na sepsi u pacienta pamatovat na její rizikovost. A tudíž, i přestože u pacienta nejsou při diagnostice splněna diagnostická kritéria sepse (SIRS, SOFA, qSOFA), přítomnost sepse nelze na základě toho vyloučit. [12]

Skóre SOFA a qSOFA v rámci definice Sepsis-3 slouží jako nápomocné nástroje při identifikaci sepse a jsou hodnoceny komplexně s klinickými symptomy u pacienta s podezřením na septický stav. Uvedením nové definice nenastává změna v doporučených terapeutických postupech. [11] [12]



CRP – C-reaktivní protein, DM – diabetes mellitus, FiO<sub>2</sub> – inspirační koncentrace kyslíku, MAP – střední arteriální tlak, PaCO<sub>2</sub> – parciální tlak oxidu uhličitého v arteriální krvi, PaO<sub>2</sub> – parciální tlak kyslíku v arteriální krvi, SIRS – systémová zánětlivá odpověď, SvO<sub>2</sub> – saturace smíšené venózní krve, STK – systolický krevní tlak.

**Obrázek 2 – Kritéria sepse v průběhu vývoje definice sepse  
(upraveno z: Matějovič, 2017) [12]**

## 5.4 Etiologie a rizikové faktory sepse

Sepse se může rozvinout z infekce způsobené různými patogeny, např. bakteriemi, viry nebo houbami. Mezi nejčastější infekční původce sepse patří gramnegativní bakterie a grampozitivní bakterie. Virové sepse jsou způsobeny nejčastěji viry influenzy (chřipky), koronaviry a adenoviry. K významnému rozvoji virových sepsí docházelo u pacientů s infekčním onemocněním Covid-19 způsobeným koronavirem SARS-CoV-2. Velké množství sepsí je však neznámé etiologie. Etiologická agens septických stavů jsou dále rozličná vzhledem k umístění infekčního ložiska (viz tabulka 2). [14] [15]

Mezi rizikové faktory pro rozvoj sepse jsou zahrnuty zejména věk >65 let, novorozenci, ženy těhotné či po porodu, mužské pohlaví, chronické užívání alkoholu, chronické klinické stavy, nedávné chirurgické zákroky, komorbidity (rakovina, onemocnění ledvin a plic, diabetes mellitus,...) a imunokompromitovaný stav. [16] [17] [18]

**Tabulka 2 – Bakteriální agens sepse (Hurych, 2020) (Kolářová, 2020) [2] [19]**

<b>Primární infekce krevního řečiště</b>	<b>Katérové sepse</b>	Koaguláza-negativní stafylokoky, kandidy, <i>Staphylococcus aureus</i> , enterobakterie.
<b>Sekundární infekce krevního řečiště</b>	<b>Sepse z poranění</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , další $\beta$ -hemolytické streptokoky, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (popáleniny), <i>Clostridium septicum</i> .
	<b>Sepse z dutých orgánů</b>	<b>Urosepse</b> <i>Escherichia (E.) Coli</i> , <i>Proteus</i> , jiné enterobakterie.
		<b>Cholangiogenní sepse</b> <i>E. Coli</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Proteus</i> , <i>Klebsiella</i> .
		<b>Střevní sepse</b> anaeroby ( <i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Peptostreptococcus</i> ), <i>E. Coli</i> , enterokoky.
<b>Sepse spojené s jiným infekčním procesem</b>	<b>Pneumonie</b>	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> .
	<b>Purulentní meningitidy</b>	<i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>E. Coli</i> (novorozenci).
	<b>Osteomyelitidy</b>	<i>Staphylococcus Aureus</i> .



## **5.5 Patofyziologie sepse**

Sepse je syndrom charakterizovaný projevy akutní orgánové dysfunkce, který je vyvolaný systémovou zánětlivou dysregulovanou odpovědí organismu na přítomnost infekce. Rozvoj sepse je podmíněn interakcí hostitele s infekčním původcem, při které má dominantní roli především imunitní systém hostitele a virulence infekčního agens. Původně kompenzační lokalizovaná zánětlivá reakce organismu se může převrátit v reakci dysregulovanou, která organismus již začíná poškozovat a rozšiřuje se na orgány, které nebyly původně poškozené infekcí. Dochází k dysbalanci hemostázy a poruchám endotelu, které mají vliv na kardiovaskulární systém a homeostázu vnitřního prostředí buněk. Rozvíjí se buněčná hypoxie spolu s apoptózou. To postupně způsobuje vznik orgánových dysfunkcí, nevratných poškození až selhání orgánů a v konečném důsledku úmrtí pacienta. [7] [20] [21]

### **5.5.1 Patogeneze**

Iničiačním signálem pro aktivaci vrozeného imunitního systému je rozpoznání molekulárních vzorů asociovaných s patogenem (PAMP – Pathogen associated molecular patterns) nebo endogenních nebezpečných signálních molekulárních vzorů asociovaných s hostitelem (DAMP – Damage associated molecular patterns), uvolňovaných z poškozených a stresovaných buněk, pomocí receptorů rozpoznávajících vzory, tzv. receptorů PRR (PRR – Pattern recognition receptors). Za rozvoj pro- a protizánětlivé odpovědi makroorganismu je u gramnegativní bakteriální sepse odpovědný endotoxin, u grampozitivní bakteriální sepse je odpovědná kyselina lipoteichoová. [7] [20] [22] [23]

Molekulární vzory DAMP a PAMP aktivují specifickou rodinu PRR receptorů, receptory podobné genu Toll, tzv. Toll-like receptory (TLR) na povrchu antigen-prezentujících buněk a monocytů. V případě proniknutí celých bakterií do buněk se aktivují receptory nukleotid-vázající-oligomerační doménu 2, tzv. NOD2 receptory (NOD – Nucleotide-binding oligomerization domain) z rodiny NLR (NLR – NOD-like receptory). To vyústí v přenos signálních molekul buňkou (transdukci), který způsobí translokaci jaderného faktoru kappa z aktivovaných B lymfocytů (NF- $\kappa$ B – Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) do buněčného jádra. Dochází k expresi

genů časně aktivace a produkci prozánětlivých interleukinů (IL-1, IL-12, IL-18,...), tumor nekrotizujícího faktoru alfa (TNF- $\alpha$ ), interferonů, intracelulárních/vaskulárních adhezivních molekul 1 (ICAM1/VCAM1), oxidu dusnatého a reaktivních forem kyslíku (ROS). Cytokiny spustí aktivaci dalších zánětlivých cytokinů (IL-6, IL-8, IFN- $\gamma$ ,...) a následně dochází k potlačení složek adaptivní imunity. [7] [22] [24] [25]

Především cytokiny TNF- $\alpha$  a IL-1 beta (IL-1 $\beta$ ) posilují odpověď imunitního systému. Podněcuje se tvorba zánětlivých cytokinů, kyseliny arachidonové (tvorba lipidových a peptidových mediátorů zánětu), exprimují se adhezní molekuly, aktivuje se komplement a cesty koagulace. Pro vyvážení prozánětlivé reakce dochází kompenzačně k rozvoji protizánětlivé reakce, vyvolané účinkem glukokortikoidů (kortizol) a protisměrných cytokinů (IL-4, IL-10, IL-11, IL-13,...). [7] [26]

Neutrofilů jsou součástí vrozeného imunitního systému. Mají velký podíl na prvotní obraně organismu proti patogenu. Při bakteriální infekci se zvyšuje uvolňování zralých i nezralých forem neutrofilů z kostní dřeně. Neutrofilů jsou aktivovány molekulárními vzory PAMP a DAMP. Jakmile se chemotaxí dostanou k místu infekce, fagocytují patogen, který následně usmrcují produkcí ROS a pomocí proteolytických enzymů. [22] [25]

Při zvýšené produkci neutrofilů dochází vlivem cytokinů, chemokinů a také vlivem agonistů krevních destiček (např. ADP – Adenosindifosfát, trombin) ke spontánní zvýšené tvorbě a uvolnění neutrofilních extracelulárních pastí, tzv. NET (NET – Neutrophil extracellular traps). NET jsou difúzní struktury, které se skládají z nekondenzovaného chromatinu s granulárními a jadernými proteiny neutrofilů. Dokážou znehybnit velké množství patogenů, jež nelze kvůli jejich velikosti fagocytovat. Zvýšený výskyt NET je spojován s rozvojem hyperkoagulace a poškození endotelu. [22]

### **Komplementový systém**

Systém komplementu je jedním z obranných mechanismů vrozeného imunitního systému proti patogenům. V časných fázích infekce se systém komplementu aktivuje a produkuje velké množství fragmentů C3a, C4a a C5a. Spouští se prozánětlivá odpověď a dochází ke zvýšení permeability cév a k chemotaxi leukocytů. Nadměrná aktivace však vede k úniku tekutin z cév (vascular leak) a poškození tkání hostitele. Fragment C5a se

podílí na chemotaxi neutrofilů směrem k místu infekce. Jeho nadměrná produkce ovšem zhoršuje systémový zánět a způsobuje apoptózu lymfocytů a dysfunkci neutrofilů. [20] [22]

## **5.5.2 Hemodynamika**

### **Endoteliální a makrocirkulační dysfunkce**

Endotel má důležitou úlohu v patofyziologii septického stavu. Účastní se koagulačního procesu, regulování napětí v cévách a imunitních reakcí organismu. Za fyziologických podmínek endotel tvoří vazoaktivní látky a působí antikoagulačně. [21]

V průběhu sepse je působením prozánětlivých mediátorů aktivován endotel postupně v celém krevním řečišti. Rozvíjí se systémová vazodilatace. Zvyšuje se propustnost (permeabilita) kapilár, díky čemuž mohou z cév pronikat buňky a krevní proteiny, které se dále podílejí na boji s infekčním patogenem, na úklidové reakci a na reparačních mechanismech. Zvýšená propustnost cév ovšem způsobuje unikání tekutiny a tvorbu otoků po celém těle. Snižuje se objem tekutin v cévách (hypovolemie) a rozvíjí se hypotenze. Zároveň dochází k aktivaci koagulační kaskády v celkovém organismu a k postupnému rozvinutí diseminované intravaskulární koagulace (DIC). [21] [27]

### **Mikrocirkulační dysfunkce a rozvoj orgánového poškození**

Vlivem dysregulace nastávají změny v prokrvení dílčích tkání a orgánů. Změny na úrovni makrocirkulace způsobují následné poruchy mikrocirkulační. Tvoří se mikrotromby, které spolu s erytrocyty a aktivovanými leukocyty způsobují okluzi kapilár. To vede ke stázi krve v cévách a rozvoji buněčné hypoxie. Vlivem mikrocirkulačních poruch a rozvinuté hypotenze dojde k poškozování orgánů. [21] [27]

Nejčastěji dochází k poškození plic. To je dáno tím, že uvolněné prozánětlivé mediátory doputují ze všech míst v organismu žilním řečištěm přes pravé srdce nejprve do plic. Mediátory proto začínají většinou účinkovat již v plicních kapilárách jako prvním místě působení. Důsledkem toho se rozvíjí poškození plic, tzv. syndrom akutní dechové tísně (ARDS – Adult respiratory response syndrome). [20] [27]

Dále se může rozvinout sepsí indukované akutní poškození ledvin (AKI – Sepsis-associated acute kidney injury), kardiální dysfunkce a mnoho dalších

orgánových poškození. V případě progresivního poškození 2 a více orgánů se u pacienta rozvíjí tzv. syndrom multiorgánové dysfunkce (MODS – Multiple organ failure syndrome). [22] [28] [29]

### 5.5.3 Koagulace/Fibrinolýza

Během počátečních fází infekce funguje proces koagulace jako vrozený obranný mechanismus, kterým se organismus snaží zabránit šíření infekčního patogenu do systémové cirkulace. Vnější cesta koagulace je zahájena uvolněním tkáňového faktoru při reakci imunitních buněk na přítomnost molekulárních vzorů PAMP a DAMP. Exprese tkáňového faktoru je zesílena pomocí  $\text{TNF-}\alpha$ ,  $\text{IL-1}\beta$  a aktivovaného komplementu. U těžkých infekcí vede zvýšená tvorba cytokinů a jejich uvolňování do krevního oběhu k aktivaci koagulačního procesu, omezení fibrinolýzy a potlačení antikoagulačních mechanismů. Vlivem těchto dějů se u septických pacientů zvyšuje náchylnost k protrombotickému stavu a rozvíjí se mnoho hemostatických abnormalit, od subklinických koagulopatií až po diseminovanou intravaskulární koagulaci (DIC). [24] [30] [31]

Endotel při fyziologických podmínkách udržuje rovnováhu mezi koagulací a fibrinolýzou, a tím zabraňuje systémovému krvácení anebo srážení. Při sepsi endotel ztrácí po stimulaci prozánětlivými mediátory svůj antikoagulační účinek a podporuje koagulaci zvýšenou expresí tkáňového faktoru (TF) a sníženou expresí trombomodulinu a heparansulfátu na buněčném povrchu. Zvýšená exprese tkáňového faktoru aktivovaným endotelem a leukocyty aktivuje koagulační kaskádu vazbou na faktor VII, což vede k tvorbě trombinu. V procesu koagulace je aktivován trombin pomocí faktoru Xa. Trombin mění fibrinogen na nerozpustný fibrin a dochází k tvorbě krevní sraženiny. Aktivovaný trombin svou aktivitou zesiluje účinky prozánětlivých cytokinů ( $\text{TNF-}\alpha$ ,  $\text{IL-1}\beta$ ,  $\text{IL-6}$ ) a podílí se na tvorbě štěpných fragmentů C5a. Trombin rovněž moduluje trombocyty, leukocyty a endotelové buňky svým navázáním na specifické receptory. Dochází k aktivaci a agregaci trombocytů. [20] [22] [24] [32]

Současně dochází k proteolytické inaktivaci inhibitoru dráhy tkáňového faktoru (TFPI – Tissue factor pathway inhibitor) a snižuje se aktivace proteinu C, což podporuje prokoagulační stav. Zvýšená produkce inhibitoru aktivátoru plazminogenu (PAI-1)

endotelem vede k potlačení fibrinolýzy cestou inhibice tkáňového aktivátoru plazminogenu (tPA). [20] [32]

### **Sepsí indukovaná koagulace (SIC)**

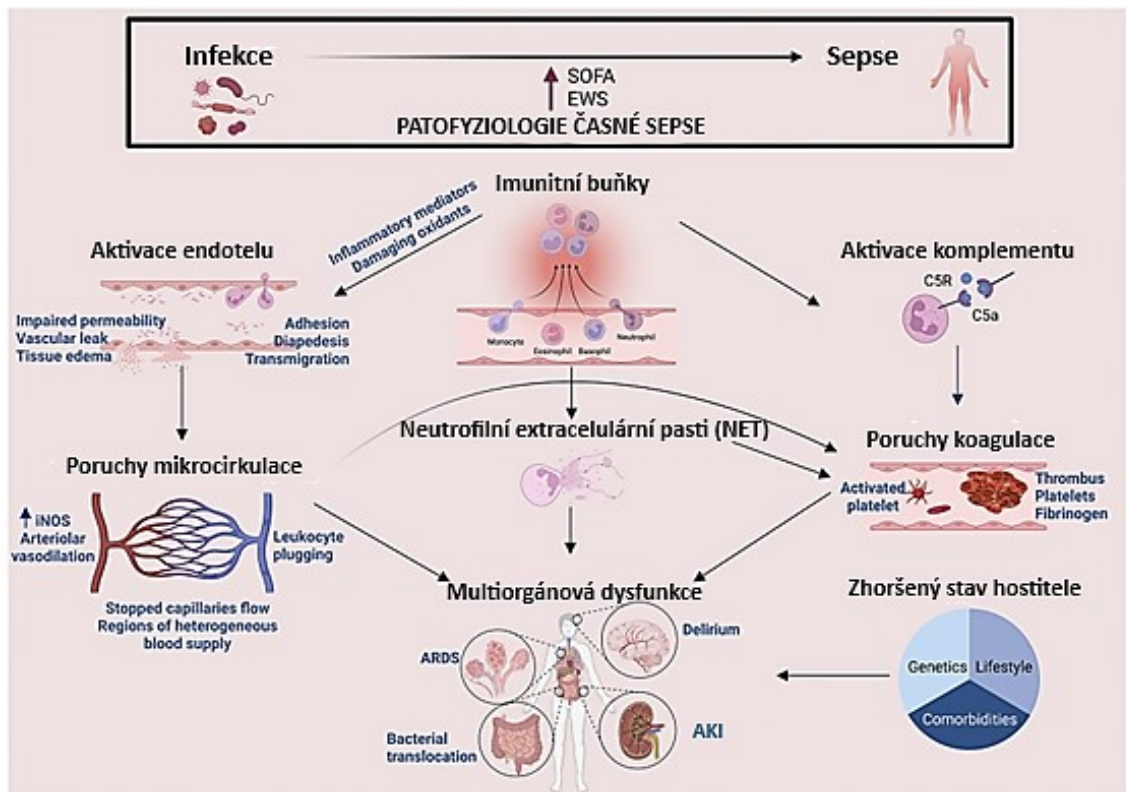
Protrombotický stav je významnou komplikací sepse a podílí se na rozvoji orgánových dysfunkcí. Sepsí indukovaná koagulace (SIC) je definována jako systémová aktivace koagulace s potlačením fibrinolýzy. Vychází z diseminované intravaskulární koagulace (DIC). Pro se sepsí spojenou DIC vznikl specifitější přístup SIC, který se zaměřuje na přítomnost orgánové dysfunkce, snížený počet krevních destiček a prodloužený protrombinový test (PT). [22]

### **5.5.4 Metabolismus**

Metabolické změny jsou součástí patofyziologických dějů při sepsi. Nepatří mezi komplikace při sepsi, které jsou vyvolané sekundárně v důsledku nedostatečného přísunu kyslíku a energetických substrátů buňkám. Metabolismus při septickém stavu je málo účinný a velmi komplikovaný. Jednou z teorií je proces hibernace, kdy organismus utlumuje funkce v buňkách a uchovává energii, s čímž se spojuje omezená činnost mitochondrií. Dalším tvrzením je teorie podobnosti bakterií a mitochondrií, kdy imunitní systém namíří obrannou nespecifickou reakci proti bakteriím za současného poškození mitochondrií. V tom případě organismus musí přijímat energii alternativními méně výtěžnými cestami odehrávajícími se v cytoplazmě, nebo zprostředkovává energii mitochondriím skrze nestandardní substráty (ketogenní aminokyseliny tvořené proteokatabolicky). [27]

### **5.5.5 Sepsí indukovaná imunosuprese**

U některých pacientů je doprovodným jevem sepsí indukovaná imunosuprese, která vzniká v důsledku narušení imunitní homeostázy. Imunosuprese je způsobená snížením počtu (downregulací) aktivujících buněčných povrchových molekul, zvýšenou apoptózou imunitních buněk a vyčerpáním T buněk. V pozdějších stádiích onemocnění vede k imunoparalýze. To činí pacienty náchylnější k nozokomiálním infekcím, oportunním patogenům a virové reaktivaci. Imunosuprese je v současnosti jednou z hlavních příčin úmrtí u sepse. [22] [33]



Obrázek 3 – Patofyziologie časně sepsie  
(upraveno z: Arora, 2023) [20]

## **5.6 Klinická diagnostika sepse**

Pro úspěšnou terapii a zlepšení prognózy pacienta se sepsí je rozhodující včasná diagnostika sepse, odběr adekvátního klinického materiálu a bezodkladné zahájení odpovídající léčby. V rámci diagnostiky sepse je důležité nejprve zjistit, zda pacient infekci má, a pátrat následně po zdroji a původci infekce. Je tedy nutné rychle diagnostikovat přítomnost infekce pomocí mikrobiologického a klinického průkazu. [15] [34]

Sepse je charakteristická projevy orgánové dysfunkce. Zlatým standardem v rámci diagnostiky sepse je proto klinická diagnostika sepse, která má zásadní důležitost pro konečný výsledek. Dále je dostupné velké množství pomocných laboratorních parametrů z jednotlivých oborů, které se s různou mírou používají v rámci laboratorní diagnostiky sepse. [7] [34]

Při rutinním vyhodnocení pacienta s podezřením na infekci se v souhrnu pokládají tyto tři hlavní otázky:

1. Zda pacient infekci má.
2. Zda je infekce závažná až život ohrožující (posouzením akutní orgánové dysfunkce a ostatních upozorňujících znaků).
3. Zda pacient reaguje adekvátně na indikovanou terapii. [34]

### **Klinické projevy sepse**

Klinické projevy sepse mohou být u jednotlivých pacientů různorodé. Pro sepsi jsou charakteristické projevy orgánové dysfunkce, např. dušností, hypoxémií, poklesem krevního tlaku, akutním ledvinovým poškozením, encefalopatií, případně nově vzniklou koagulopatií nebo trombocytopenií. Často však pacienti mají v časných stádiích rozvoje sepse nespecifické projevy, např. nevolnost, zvracení, průjem a bolesti břicha, zmatenost, malátnost, spavost nebo extrémní svalovou slabost. Mnohdy nejsou u septických pacientů přítomny ani projevy systémové zánětlivé odpovědi. [34] [35]

### **Imitátory sepse**

Existuje mnoho klinických stavů a onemocnění, které mají velmi podobné klinické projevy jako sepse. Důvodem jsou obdobné patofyziologické mechanismy. Tím může při diagnostice docházet k záměně sepse s jiným onemocněním. Je proto nezbytné včas rozpoznat sepsi od jiných klinicky podobných stavů, jelikož od toho se následně odvíjí odlišný typ léčby. Mezi stavy imitující sepsi patří např. hemofagocytární lymfocytóza, trombotické mikroangiopatie (TTP – Trombotická trombocytopenická purpura, HUS – Hemolyticko-uremický syndrom), antifosfolipidový syndrom (APS), anafylaxe, pankreatitida, plicní embolie, adrenální insuficience, hyper/hypotyreóza aj. [36]

### **Klinická kritéria sepse**

V rámci klinické diagnostiky sepse se hodnotí vitální projevy akutní orgánové dysfunkce na základě skórovacího systému SOFA (SOFA – Sepsis-related Organ Failure Assessment). U septických pacientů je hodnota SOFA skóre  $\geq 2$ . V současnosti se pro rychlé klinické odhadnutí přítomnosti sepse využívá novější systém skórování, tzv. quick SOFA skóre, kdy se hodnotí přítomnost pouze 3 vitálních projevů akutní orgánové dysfunkce. U septických pacientů je hodnota qSOFA skóre  $\geq 2$ . [2] [11]

#### **5.6.1 SOFA skóre**

Sequential/Sepsis-related Organ Failure Assessment (SOFA) skóre pomáhá zhodnotit přítomnost akutní orgánové dysfunkce u septických pacientů. Vyhodnocují se respirační funkce, funkce jater, funkce ledvin, hemodynamika, koagulační parametry a stav vědomí, tzv. Glasgow Coma Scale (GCS) podle bodové stupnice (0–4 body). [12]

Pro hodnocení je požadováno mnoho laboratorních vyšetření, které nejsou pokaždé dostupné brzy a využívají se především na jednotkách intenzivní péče (JIP). Dle nové definice Sepsis-3 se proto preferuje tzv. quick SOFA (qSOFA) skóre pro rychlejší a snazší zhodnocení přítomnosti orgánové dysfunkce. [12]



**Tabulka 3 – SOFA skóre (Li, 2020) [37]**

SOFA skóre (0–24 bodů)	body				
	0	1	2	3	4
Respirační systém PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> (mm Hg)	≥400	<400	<300	<200 (+ UPV)	<100 (+ UPV)
Kardiovaskulární systém MAP (mm Hg) /vazopresor	≥70	<70	Dopamin <5 /dobutamin	Dopamin >5 /NA ≤0,1	Dopamin >15 /NA >0,1
Jaterní funkce Bilirubin (μmol/L)	<1,2	1,2–1,9	2,0–5,9	6,0–11,9	>12,0
Renální funkce Kreatinin (μmol/L) /diuréza (ml/den)	110	110–170	171–299	300–440 /<500 ml/den	>440 /<200 ml/den
Koagulace PLT (×10 <sup>9</sup> /L)	≥150	<150	<100	<50	<20
Stav vědomí GCS	15	13–14	10–12	6–9	<6

PaO<sub>2</sub> – Parciální tlak kyslíku, FiO<sub>2</sub> – Frakce vdechovaného kyslíku, UPV – Umělá plicní ventilace, MAP – Střední arteriální tlak, NA – Noradrenalin, PLT – Počet trombocytů, GCS – Glasgow Coma Scale.

### 5.6.2 qSOFA skóre

Quick SOFA skóre je tvořeno třibodovým systémem. Jednotlivé body představují odchýlení určitého vitálního parametru. Hodnotí se vysoká dechová frekvence (tachypnoe), nízký systolický krevní tlak (hypotenze) a změna stavu vědomí, tzv. Glasgow Coma Scale (GCS). Pokud má pacient s infekcí hodnotu qSOFA skóre ≥2 bodů, má vysokou pravděpodobnost přítomnosti sepse a větší riziko pro nepříznivý průběh nemoci. Dále se aktivně zjišťuje, zda má pacient i jiné projevy akutní orgánové dysfunkce. [12]

**Tabulka 4 – qSOFA skóre (Horák, 2016) [11]**

Quick SOFA skóre	body
Vysoká dechová frekvence (>22 dechů/min)	1
Nízký systolický krevní tlak (<100 mm Hg)	1
Stav vědomí (GCS <15)	1
<b>Celkové skóre</b>	<b>3</b>

## 5.7 Laboratorní diagnostika sepse

Zlatým standardem pro laboratorní diagnostiku sepse jsou mikrobiologické kultivační techniky pro izolaci a detekci patogenních organismů. Doba rutinní kultivace krve ovšem může být velmi dlouhá v rozmezí 6 hodin až 5 dní. Pro následnou identifikaci patogenu je potřeba dalších 24 hodin a pro vyšetření citlivosti na antibiotika je potřeba 48 hodin. To je velké množství času, což není vzhledem k riziku rychlého rozvoje septického stavu žádoucí. Proto bylo během posledních let představeno více než 250 laboratorních biomarkerů sepse. [38] [39] [40]

### Biomarkery sepse

Laboratorní biomarkery popisují měřitelné znaky biologického stavu pacienta. Mají významnou roli v diagnostice, identifikaci patogenu, stanovení prognózy, rozpoznání dysfunkcí, stratifikaci rizik a stanovení vhodné terapie. V ideálním případě jsou žádány biomarkery přesné a reprodukovatelné, které nabízejí vysokou senzitivitu a vysokou specificitu zároveň. Biomarkery mohou být klasifikovány jako markery prognostické, prediktivní a terapeutické. Proto má větší význam a informačnost sledování kinetiky biomarkeru než samotné jednotlivé hodnoty biomarkerů. [40] [41]

**Tabulka 5 – Klasifikace biomarkerů (Póvoa, 2022) [40]**

<b>Prognostické markery</b>	Posouzení pravděpodobnosti události nebo výsledku v průběhu sepse, omezená klinická užitečnost.
<b>Prediktivní markery</b>	Přidání cenné informace k počátečnímu klinickému podezření na sepsi před rozvojem specifických symptomů, mohou být užitečné při diagnostice sepse a sledování odpovědi na terapii.
<b>Terapeutické markery</b>	Schopnost identifikovat konkrétního pacienta, který by mohl mít prospěch ze specifické terapie

Biomarkery sepse zahrnují proteiny akutní fáze, cytokiny, chemokiny, signální molekulární vzory asociované s hostitelem (DAMP), komplementový systém, endoteliální buněčné markery, povrchové markery leukocytů, nekódující RNA, miRNA, solubilní receptory, buněčné proteiny a metabolity, hormony a peptidové prekurzory, biomarkery vztažené k neutrofilům, změny v genové expresi, aj. [41]

**Tabulka 6 – Příklady laboratorních markerů sepse [36] [42] [43] [44] [45] [46]  
(Matějovič 2019, Pierrakos 2020, Francová 2021, Farkas 2019, Tsantes 2023, Nierhaus 2012)**

<b>HEMATOLOGIE</b> Krevní obraz	CBC+DIF (WBC, MO, NE, LY, BAND, PLT, dCHC), NLR, MDW, ICIS skóre.
<b>Markery koagulace/fibrinolýzy</b>	Protrombinový test (PT), fibrinogen, aktivita antitrombinu, trombomodulin, protein C, PAI-1, TAT komplex, D-dimery, FDP, SIC skóre.
<b>POVRCHOVĚ BUNĚČNÉ MARKERY</b>	CD64, CD11b.
<b>BIOCHEMIE / IMUNOCHEMIE</b>	CRP, PCT, presepsin (sCD14-ST), TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$ , IL-10, laktát, feritin, LBP, sérový kalprotektin, cfDNA.

CBC – Kompletní krevní obraz (Complete blood count), DIF – Diferenciální rozpočet leukocytů, WBC – Počet leukocytů, MO – Počet monocytů, NE – Počet neutrofilů, LY – Počet lymfocytů, BAND – Počet neutrofilních tyčí, PLT – Počet krevních destiček, dCHC – Rozdíl v množství hemoglobinu u nezralých a zralých erytrocytárních buněk, NLR – Poměr neutrofilů a lymfocytů, MDW – Distribuční šíře monocytů, PAI-1 – Inhibitor aktivátoru plasminogenu, TAT komplex – Trombin-antitrombin komplex, CRP – C-reaktivní protein, PCT – Prokalcitonin, TNF- $\alpha$  – Tumor nekrotizující faktor  $\alpha$ , LBP – Lipopolysacharid vázající protein, cf-DNA – Cell-free DNA.

Je nutné brát v úvahu, že některé biomarkery (IL-6, CRP, PCT, aj.) mohou být velmi ovlivněny pooperačním stresem u pacientů bez infekčních komplikací. Žádný z dosud popsaných markerů sepse neumožňuje rozpoznat mezi systémovou infekcí a SIRS způsobeným neinfekčními příčinami. [36] [38]

### **Problematika hledání univerzálního biomarkeru**

Hledání univerzálního biomarkeru z mnoha důvodů nikam nevede. Jedním z důvodů je přímá souvislost mezi biomarkerem a patologickým procesem, která v případě sepse mnohdy nekoreluje. U jednoho pacienta odpovídají vysoké hodnoty biomarkerů míře zánětlivé odpovědi a mohou často jako jediné včas upozornit, že pacientův stav je horší, než se po klinické stránce zdá. Avšak u jiného septického pacienta mohou být hodnoty biomarkerů pouze mírně zvýšené a nekorelují zcela s klinickým stavem pacienta. Proto je dobré brát na vědomí, že jedné totožné diagnóze přísluší široké rozmezí hodnot biomarkerů. Dalším problémem je fakt, že není žádný představitelný měřitelný bod zlomu, kdy by se obranná odpověď makroorganismu na infekci přeměnila na sebedestruktivní nekontrolovatelný proces zvaný jako sepse. [34]

### 5.7.1 Hematologické markery – Krevní obraz a Morfologie

Kompletní krevní obraz (CBC – Complete Blood Count) spolu s morfologií nabízí mnoho užitečných parametrů a obsahuje velké množství informací. Mezi jeho výhody patří, že jde o vyšetření rutinně požadované kliniky, které je levné, rychle a snadno dostupné ve většině zdravotnických zařízení. I když žádný z parametrů krevního obrazu nespĺňuje kritéria ideálního biomarkeru (zejména kvůli své nespecifitě), jsou velmi nápomocné jak v rámci diagnostiky sepse, tak při monitorování léčby. [44] [47] [48] [49]

#### Odchylky v krevním obraze

Významnými odchylkami v krevním obraze při sepsi jsou posun doleva (výskyt >10 % nezralých forem), leukocytóza >12 x 10<sup>9</sup>/L, resp. leukopenie <4 x 10<sup>9</sup>/L, neutrofilie v diferenciálním rozpočtu, zvýšená hodnota poměru neutrofilů a lymfocytů (NLR) a snížený počet trombocytů (PLT). V rámci leukocytární řady je charakteristický nález leukocytózy/leukopenie, nezralých granulocytů (posun doleva), neutrofilie, lymfopenie, eozinopenie a bazopenie. [21] [47]

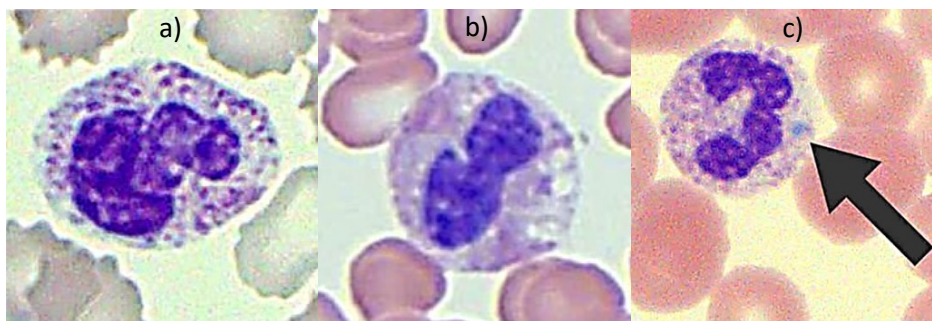
V rámci erytrocytární řady je sepsi charakteristická poklesem hemoglobinu (rozvoj anémie), poklesem množství hemoglobinu v retikulocytech (Ret-He) a snížením rozdílu v množství hemoglobinu u nezralých a zralých erytrocytárních buněk (dCHC). Vzniklé odchylky jsou způsobené vlivem rozvoje zánětlivé reakce v boji proti infekci, kdy dochází k zadržování železa především v makrofázích, tím je omezena jeho využitelnost pro tvorbu hemoglobinu a následkem toho se tvoří nově produkované retikulocyty s nižším množstvím hemoglobinu. Dále je typický nárůst retikulocytů a zvětšení distribuční šíře erytrocytů (anizocytóza: RDW >15,2 %). Současně dochází k poklesu počtu erytrocytů a s tím souvisejícímu poklesu hematokritu v důsledku funkčního nedostatku železa, snížené hladiny erythropoetinu, infekce a zánětu. [46] [47]

V rámci trombocytární řady je u sepse charakteristický pokles počtu trombocytů, tzv. trombocytopenie (vlivem konzumpce cirkulujících trombocytů, tvorbou agregátů leukocytů s trombocyty, působením patogenů, rozvojem diseminované intravaskulární koagulace,...) a zvýšení nezralé frakce trombocytů (IPF). [47]

### **Morfologické odchylky v nátěru periferní krve**

Při mikroskopickém hodnocení nátěrů periferní krve septických pacientů je charakteristická přítomnost morfologických změn leukocytů. Mezi časté změny patří toxická granulace neutrofilů, cytoplazmatická vakuolizace a Döhleho inkluze. [47]

Míra toxické granulace koreluje s hodnotami CRP u pacientů s infekcí nebo zánětem. Přítomnost vakuolizace v neutrofilech naznačuje vysoký předpoklad infekce u pacienta. Döhleho inkluze v neutrofilech jsou zbytky endoplazmatického retikula. Jsou přítomny při výrazném stresu během bakteriální infekce. [50]



**Obrázek 4 – Morfologické odchylky v neutrofilech  
toxická granulace (a), cytoplazmatická vakuolizace (b), Döhleho inkluze (c).  
(MedSchool, 2021) [50]**

#### **5.7.1.1 Celkový počet leukocytů (WBC)**

Celkový počet leukocytů (WBC – White blood cell count) představuje nejpoužívanější parametr pro vyšetření infekce, ale také nejméně užitečný kvůli jeho velmi nízké specificitě. Jeho fyziologické rozmezí je  $4\text{--}10 \times 10^9/\text{L}$  pro dospělou populaci. V průběhu sepsy a septického šoku se u pacienta může objevit leukopenie ( $\text{WBC} < 4 \times 10^9/\text{L}$ ), nebo naopak leukocytóza ( $\text{WBC} > 10 \times 10^9/\text{L}$ ). Ovšem mnoho septických pacientů má normální hodnotu WBC a leukocytóza se u nich rozvine se zpožděním. Fyziologický WBC poskytne velmi málo informací oproti abnormálnímu WBC, který již může usuzovat na přítomnost infekce. Při extrémně nízkém WBC je potřeba stanovit absolutní počet neutrofilů, jelikož pacienti s neutropenií často nevykazují známky infekce a je u nich podezření na infekci, např. s pouhou přítomností horečky. [3] [44] [51]

#### **5.7.1.2 Poměr neutrofilů a lymfocytů (NLR)**

Poměr neutrofilů a lymfocytů (NLR – Neutrophil to lymphocyte ratio) je parametr, který odráží míru neuroendokrinního stresu a imunitní zánětlivé odpovědi. Je nejlepším

vyjádřením dynamického vztahu mezi imunokompetentními populacemi leukocytů, neutrofilními granulocyty (vrozená imunitní odpověď) a lymfocyty (získaná imunitní odpověď). Během reakce na stresový faktor (infekční/neinfekční) rychle stoupá hladina neutrofilů a zároveň dochází k poklesu lymfocytů. V průběhu sepse je stimulována apoptóza lymfocytů, čímž dochází ke zvýšení NLR hodnot. [44] [48] [52]

NLR je odvozený parametr, který se snadno vypočítá dělením absolutního počtu neutrofilů absolutním počtem lymfocytů, získanými z celkového krevního obrazu periferní krve. Parametr je ovlivněn několika faktory zahrnujícími věk, rasu, léky (kortikoidy) a chronická onemocnění (ischemická choroba srdeční, infarkt, diabetes, obezita, rakovina, psychiatrická diagnóza, anémie a stres). [48] [52]

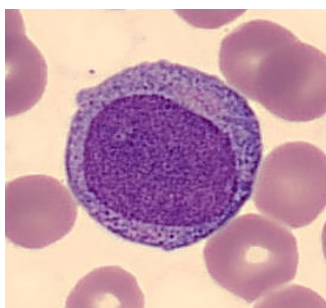
Optimální fyziologické NLR hodnoty jsou v rozmezí hodnot 1–2. Rozmezí NLR 2,3–3,0 tvoří tzv. šedou zónu s nejednoznačně prokázanou pozitivitou/negativitou, ve které se nacházejí pacienti s latentním subklinickým menším zánětem/stresem, nebo mohou hodnoty upozornit na patologický proces či stav, např. rakovinu, aterosklerózu, infekci, zánět, stres, aj. Hodnoty NLR  $<0,7$  nebo naopak NLR  $>3$  jsou patologické u dospělých jedinců. NLR 3–7 značí mírný až střední zánět. NLR v rozmezí 7–11 poukazuje na těžký zánět, systémovou infekci, sepsi a SIRS. NLR v rozmezí 11–17 odráží těžký zánět, infekci, těžkou sepsi a SIRS, nebo bakteriémií. NLR v rozmezí 17–23 značí závažnou imunitní zánětlivou reakci s vysokou stresovou zátěží, septický šok nebo četná traumata. NLR  $\geq 23$  odráží závažnou systémovou zánětlivou reakci s vysokou stresovou zátěží, polytrauma, velký chirurgický zákrok nebo rakovinu v terminálním stádiu. [52]

NLR je velmi senzitivní indikátor infekce, zánětlivé reakce a sepse. Původně byl navržen jako jednoduchý ukazatel systémové zánětlivé odpovědi a stresu u kriticky nemocných pacientů pro vyhodnocení závažnosti sepse a systémové infekce. V dnešní době je parametr široce využíván napříč všemi lékařskými obory. Jde o parametr levný, snadno dostupný, spolehlivý, rychle reagující a vysoce senzitivní, avšak velmi nespecifický. NLR má ovšem vysokou výpovědní hodnotu při stratifikaci rizika mortality a dalšího průběhu onemocnění, anebo při monitorování efektu terapie. Ukazuje se jako dobrý marker predikce závažnosti sepse. [48] [52] [53]

### **5.7.1.3 Distribuční šíře monocytů (MDW)**

Monocyt je druh leukocytu, který má významnou roli při nespecifické obranné imunitní odpovědi hostitele namířené proti infekci. Tvoří se v rámci granulomonocytární řady, jejíž mateřskou buňkou je progenitorová buňka CFU-GM. Následně se od stádia tetrapotentní buňky rozlišují čtyři vývojové linie, kdy monocytární řadu iniciuje progenitorová buňka CFU-M. V rámci vývoje monocytu se rozlišují tři vývojové linie: monoblast, promonocyt a monocyt. [38] [54]

Monoblast je buňka, která má jádro kulatého až oválného tvaru. Chromatin jádra má jemné uspořádání a je patrné jedno či více jadérek. Cytoplazma je mírně azurofilní až do šeda, obvykle bez granulace. [55]



**Obrázek 5 – Monoblast**  
**(Pulcer, 2022)** [56]

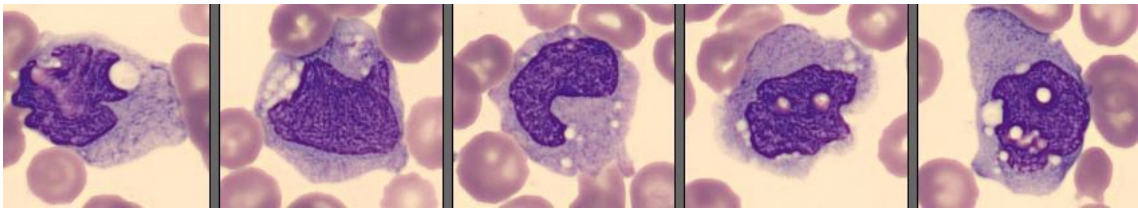
Promonocyt je dalším následným vývojovým stádiem monocytární řady po monoblastu. Jádro je nepravidelného tvaru s hrubším chromatinem než u monoblastu. Jadérka již nejsou viditelná. Jeho cytoplazma je zbarvena šedomodře a mnohdy se v ní vyskytují jemná azurofilní granula. [55]



**Obrázek 6 – Promonocyt**  
**(Pulcer, 2022)** [56]

Monocyt je vyzrálá buňka nepravidelného tvaru o průměru 10–18  $\mu\text{m}$ . Morfologicky je monocyt největší buňkou v obvodové krvi. Jeho relativně velké jádro podkovovitého, laločnatého nebo fazolovitého tvaru je mírně excentricky uložené. Chromatin v jádře je

vláknitý a řídký. Je uspořádaný do stuh tvořících síťovitá oka s uzlovitým zesílením a hrudkami. Cytoplazma monocytu je velmi bohatá a zbarvena do šedomodra až kouřova. Občas obsahuje vakuoly anebo spoustu jemných azurofilních (lehce nafialovělých) granul, která jsou nestejněmálně uložena a tvoří jemný poprašek. Okraje cytoplazmy jsou nepravidelné. Z enzymů monocyty obsahují esterázy citlivé na inhibici fluoridem sodným (NaF) a lysozomy. Mladší formy obsahují také myeloperoxidázu. Pro monocytární řadu je vysoce specifická reakce na butyrátesterázu s následným blokem NaF. [38] [54] [55] [57]



**Obrázek 7 – Monocyt**  
**(vlastní fotografie z digitální morfologie, 2024)**

Monocyty jsou v kostní dřeni zastoupeny v rozmezí relativních hodnot 0–3 %. Odtud jsou vyplavovány do periferního krevního řečiště. Referenční rozmezí pro počet monocytů v periferní krvi u dospělé populace je v rozmezí absolutních hodnot 0,08–1,2 x 10<sup>9</sup>/L (analyzátor) a v rozmezí relativních hodnot je 2–12 % (analyzátor) nebo 2–10 % (mikroskopicky). Monocyty přežívají v krevním oběhu pouze po dobu 1–3 dnů a následně migrují do tkání a orgánů. Některé se vrátí zpět do oběhu a jiné se usazují natrvalo ve tkáních, kde se diferencují na specifické tkáňové makrofágy, které plní specifické funkce v některých tkáních (např. osteoklasty v kostní tkáni, Kupfferovy buňky v játrech, Langerhansovy buňky v kůži, mikroglie v mozku, aj.). Za určitých podmínek se mohou ve tkáních i množit. [38] [51] [54] [58]

Monocyty spolu s makrofágy tvoří mononukleární-fagocytární systém (MFS), který organismus chrání proti mikrobiálním patogenům, podílí se na odstraňování poškozených a starých buněk, regulaci hematopoézy, ochraně proti vzniku nádoru a má úlohu při imunitních reakcích. Monocyty se podílejí na zánětlivém procesu uvolňováním cytokinů. Jsou důležitými efektorovými buňkami imunity, které chrání organismus před mikrobiálními patogeny a podporují imunitní dohled. Patří mezi fagocyty a mají schopnost chemotaxe. Při sepsi zaujímají důležité role zahrnující fagocytózu patogenů, předkládání antigenu fragmentovaných částic buňkám specifické imunitní odpovědi



(T- a B-lymfocyty) a produkci pro a protizánětlivých cytokinů. Nastává přeprogramování mezi monocylem a makrofágem, které způsobí morfologické a objemové změny buněk. [38] [57] [59]

Na základě exprese CD znaků na svém povrchu jsou monocyty rozděleny do subpopulací založených na expresi CD16 a CD14: klasické monocyty (CM), „intermediate“ monocyty (IM) a neklasické monocyty (NCM). Klasické monocyty tvoří 80–90 % z celkových monocytů v periferní krvi. Při zánětlivých podmínkách během sepse dochází ke změnám funkčních vlastností (počet, objem, funkce) těchto tří subpopulací monocytů. Při časně sepsi se zvýší hladina „intermediate“ monocytů v krvi. [60]

**Tabulka 7 – Rozdělení monocytů dle exprese CD16 a CD14 (Slavík, 2023) [38]**

<b>CD14++/CD16-</b>	klasické monocyty (CM)
<b>CD14++/CD16+</b>	„intermediate“ monocyty (IM)
<b>CD14+/CD16++</b>	neklasické monocyty (NCM)

Absolutní počet monocytů je při diagnostice sepse kontroverzní. Některé zdroje popisují monocytózu ve spojitosti se zvýšenou mortalitou a jiní uvádějí monocytopenii. V rámci diagnostiky sepse se ovšem používá detekování morfologických a objemových změn monocytů pomocí vyšetření parametru tzv. Distribuční šíře monocytů (MDW). [47] [61] [62]

#### **Distribuční šíře monocytů (MDW)**

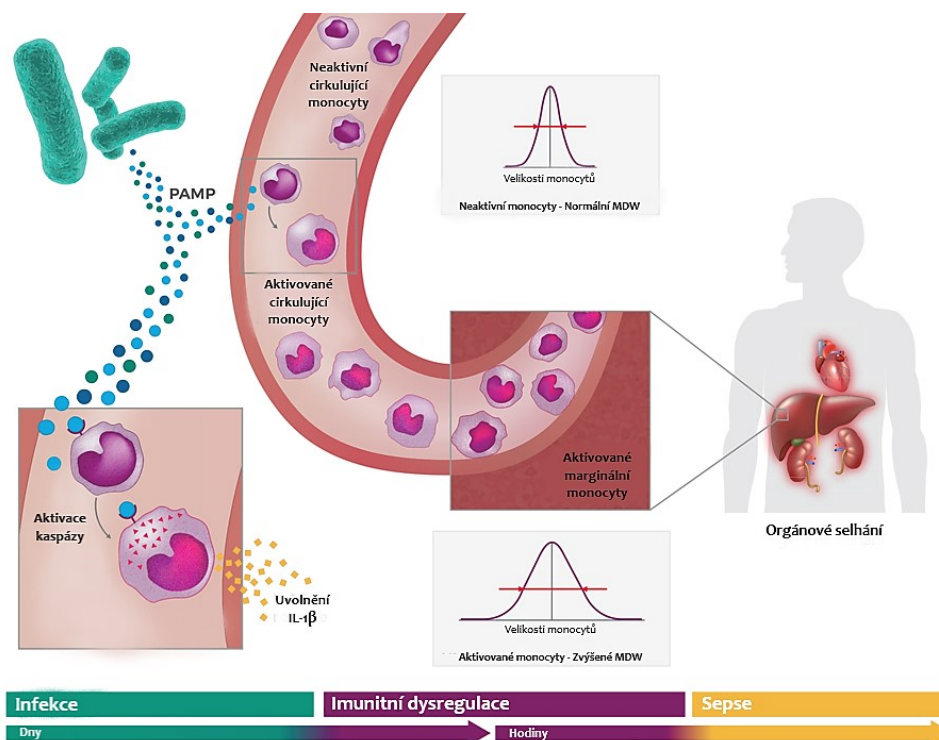
Distribuční šíře monocytů je kvantitativní parametr aktivace monocytů v periferní krvi. Používá se jako jeden z pomocných parametrů v rámci včasné diagnostiky sepse. Velkou výhodou tohoto parametru je, že se stanovuje rutinně v rámci krevního obrazu společně s diferenciálním rozpočtem leukocytů na hematologickém analyzátoru DxH (výrobce Beckman Coulter Diagnostics, USA). Jeho fyziologická hodnota je  $\leq 21,5$ . V současných studiích se ukazuje jako přínosný, levný, velmi snadno a rychle dostupný parametr sepse. [12] [43] [63] [64] [65]

Tento krevní morfologický parametr reflektuje zvýšenou variabilitu a heterogenitu tvarových a objemových změn cirkulujících monocytů v odpověď na infekci. Změna objemu monocytů je považována za indikátor reflektující stav aktivace vrozené

imunity, představující primární obranný mechanismus hostitele. V předchozích studiích se ukázalo, že inkorporace parametrů reflektujících objemové změny v imunitních buňkách (neutrofilů, monocytů) zvyšuje diagnostickou přesnost sepse. [39] [59] [64]

Parametr MDW je určen výhradně dospělým pacientům s podezřením na sepsi. Při porovnání hodnot MDW mezi neseptickými a septickými pacienty byly detekovány významné rozdíly v hladinách. Parametr MDW je považován za prediktor sepse, který je nezávislý na její etiologii. Nebyly zjištěny významné rozdíly v hladinách MDW na základě jiné etiologie: neznámý původce, gram-negativní, gram-pozitivní, virové, SARS-CoV-2, fungoidní. [39] [65]

MDW je první buněčný hematologický biomarker označovaný jako časný indikátor sepse (ESId – Early sepsis indicator), který je schválený úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA – Food and drug administration). Pro svoji vysokou diagnostickou přesnost predikce sepse je MDW doporučován jako screeningový nástroj pro včasnou identifikaci pacientů na odděleních urgentního příjmu, kteří mají vysoké riziko sepse. V porovnání s konvenčními biomarkery jako CRP a PCT vykazuje parametr MDW relativně vyšší citlivost, negativní prediktivní hodnotu a lepší diagnostický výkon. [39] [66] [67]



**Obrázek 8 – Distribuční šíře monocytů u sepse (upraveno z: Beckman Coulter – Bentahar, 2022) [68]**

### **Role MDW u pacientů na Jedinotkách intenzivní péče (JIP)**

V předchozích studiích byly hodnoty MDW významně vyšší u pacientů se sepsí oproti pacientům bez sepse během hospitalizace. Navíc, zvýšení MDW je nezávislé na typu patogenu způsobujícího sepsi. Proto může být parametr MDW použit jako diagnostický indikátor časně sepse. MDW je také dobrý prediktor progresu choroby a asociované prognózy. Na základě výsledků předchozích studií se ukazuje, že kombinace MDW s dalšími zánětlivými markery (PCT, CRP, interleukin-6, ...) má velký potenciál pro časnou diagnostiku a predikci prognózy sepse. [59]

### **Role MDW u pediatrických pacientů**

Neonatální seps je syndrom s nespecifickými symptomy, obtížnou diagnózou, vysokou morbiditou a mortalitou. Nicméně, prodloužená anebo nepotřebná antibiotická léčba zvyšuje riziko dalších chorob u novorozenců. [59]

### **Role MDW u pacientů s onemocněním Covid-19**

Periferní cirkulující monocyty se podílejí na zánětlivé cytokinové bouři produkcí cytokinů a mediátorů. U pacientů s onemocněním Covid-19 byly zjištěny významné změny ve funkci a morfologii monocytů, které by mohly predikovat jejich klinický stav. [59]

#### 5.7.1.4 ICIS Skóre

ICIS skóre (ICIS – Intensive care infection score) je biomarker používaný pro predikci infekce. Skóre se skládá z pěti parametrů získaných z krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu leukocytů, které reflektují časnou vrozenou imunitní odpověď hostitele na původce infekce. Fyziologické rozmezí ICIS skóre je <5 bodů. Parametr vyhodnocuje middleware E-IPU firmy Sysmex a jedná se o výzkumný parametr (RUO – Research use only).[46] [69] [70]

**Tabulka 8 – Parametry ICIS skóre (Nierhaus, 2012) [46]**

Intensive Care Infection Score (ICIS) skóre	
<b>aIG#</b>	Absolutní počet nezralých granulocytů
<b>ASL#</b>	Lymfocyty sekretující protilátky
<b>sN#</b>	Absolutní počet neutrofilních segmentů
<b>sNFL</b>	Intenzita fluorescence neutrofilních segmentů
<b>dCHC</b>	Rozdíl v množství hemoglobinu u nezralých a zralých erytrocytů

**Tabulka 9 – ICIS skóre (Nierhaus, 2012) [46]**

ICIS skóre (0–20 bodů)	body		
	1	2	4
<b>aIG# (buněk/μL)</b>	>80	>200	>1000
<b>ASL# (buněk/μL)</b>	>40	>100	>150
<b>sN# (buněk/μL)</b>	>9000	>12000	>20000
<b>sNFL (intenzita fluorescence)</b>	>480	>500	>550
<b>dCHC (pg)</b>	<0,9	<-0,5	<-3,0

### **5.7.1.5 Další vybrané parametry krevního obrazu a morfologie**

#### **Posun doleva (Left shift)**

Infekce stimuluje produkci cytokinů, které spouštějí uvolnění nezralých granulocytů z kostní dřeně do periferního krevního oběhu. Nejběžnějšími nezralými formami v periferní krvi jsou neutrofilní tyče. Čím vyšší je hladina cytokinů, tím nezralejší vývojové formy se mohou uvolňovat do periferní krve, včetně promyelocytů, myelocytů a metamyelocytů. Velkou nevýhodou posunu doleva však je, že uvolňování buněk z kostní dřeně je často opožděné a mnohdy k němu začne docházet přibližně jeden den od počínajících projevů klinické infekce u pacienta. To může způsobit, že posun doleva není zjištěn, když pacienti začnou jevit první známky septického šoku. [44]

#### **Celkový počet trombocytů (PLT)**

Celkový počet trombocytů (PLT – Platelet count) je také ovlivňován infekcí. Parametr má fyziologické rozmezí  $150\text{--}400 \times 10^9/\text{L}$ . Patří mezi reaktanty akutní fáze. Během chronických infekcí jsou počty krevních destiček často zvýšené. V průběhu sepse a septického šoku dochází k jejich spotřebě (konzumpci), postupnému snížení počtu krevních destiček a rozvoji trombocytopenie. Navíc je pozorována změna produkce trombocytů s velkým uvolňováním prekurzorových buněk. S mírou závažnosti sepse tedy koreluje dobře také parametr frakce nezralých trombocytů (IPF – Immature platelet fraction). [44] [45] [51]

Trombocytopenie může být užitečným znakem při diagnostice sepse. Rozvíjí se u většiny septických pacientů. Její závažnost je rovněž silným prognostickým faktorem mortality. Trombocytopenie je ovšem znakem relativně nespecifickým, jelikož se běžně vyskytuje u kriticky nemocných pacientů. [44] [45]

#### **Rozdíl v množství hemoglobinu u nezralých a zralých erytrocytárních buněk (dCHC)**

Parametr rozdíl v množství hemoglobinu mezi zralými (vzniklými dříve před infekcí) a nezralými erytrocyty (vznikajícími po propuknutí infekce) lze použít jako nepřímý časný indikátor aktivace monocytů. V průběhu sepse dochází vlivem zánětlivé reakce k rozvoji anémie. Na ději se podílejí především makrofágy. Příčinou vzniku anémie je zadržování železa, které způsobuje snížení syntézy hemoglobinu a erytrocytů a současně pokles množství hemoglobinu v nově produkovaných retikulocytech, tj. Ret-He. [46]

## **5.7.2 Hematologické markery – Koagulace/Fibrinolýza**

Koagulace je přirozeným obranným mechanismem hostitelského organismu při počáteční fázi infekce. Sepse a infekce vyvolávají četné poruchy v mnoha systémech včetně koagulační kaskády. U většiny septických pacientů dochází k rozvoji hemostatických abnormalit od subklinických koagulopatií až po diseminovanou intravaskulární koagulaci (DIC). Sepsí indukovaná koagulopatie (SIC) je závažnou komplikací sepse, vedoucí k rozvoji orgánové dysfunkce. Dle předchozích studií byla sledována až dvakrát vyšší mortalita septických pacientů s přítomností SIC oproti septickým pacientům bez SIC. Proto je nezbytné SIC u septických pacientů včasné diagnostikovat. K tomuto účelu se používá několik markerů hemostázy a koagulačního systému. [31] [71] [72]

Koagulační markery se u septických pacientů používají k vyšetření poruch hemostázy, zejména k identifikaci sepsí indukované koagulopatie (SIC) a sledování jejího průběhu. Laboratorní vyšetření je založeno na konvenčních testech, vyšetřujících protrombinový test (PT), fibrin/fibrinogen degradační produkty (FDP, D-dimery) a koncentraci fibrinogenu. Dále se používají nekonvenční vyšetření, např. měření antikoagulačních proteinů (antitrombin, protein C, trombomodulin), měření hladin jaderného materiálu (např. NF- $\kappa$ B) nebo měření viskoelasticity. [73] [74]

### **5.7.2.1 Fibrinogen (FBG)**

Fibrinogen (FBG) patří mezi reaktanty akutní fáze. Jeho fyziologické rozmezí je 1,8–4,2 g/L u dospělých jedinců. Tvorba fibrinogenu se během zánětu zvyšuje. Současně však dochází k aktivaci koagulace, k jeho neustálému spotřebovávání, a tím jeho hladiny mohou zůstat po dlouhou dobu v rámci fyziologických hodnot. Později dochází ke snížení plazmatických hladin fibrinogenu, což poukazuje na přítomnost koagulačních poruch u sepse. [45] [75]

### **5.7.2.2 Antitrombin (AT)**

Antitrombin (AT) patří mezi významné přirozené antikoagulanty. Fyziologické rozmezí aktivity antitrombinu u dospělé populace je 80–120 %. Jeho hlavním účinkem je inhibice faktoru Xa, faktoru XIa a faktoru IIa. Hladiny aktivity AT jsou při sepsi a DIC sniženy kvůli

jeho snížené syntéze, zvýšené spotřebě (vlivem nadprodukce trombinu) a zvýšené degradaci neutrofilní elastázou. U septických pacientů bez multiorgánové dysfunkce je hodnota aktivity antitrombinu přibližně 80 %. U septických pacientů s multiorgánovou dysfunkcí je aktivita AT snížena na 60 % a v případě rozvoje DIC se snižuje aktivita AT až na 40 %. Snížená hladina antitrombinu je spojována se zvýšenou mortalitou septických pacientů a také se závažností sepsí indukované DIC. [45] [75] [76]

### **5.7.2.3 Fibrin/Fibrinogen degradační produkty (FDP, D-dimery)**

Fibrin/Fibrinogen degradační produkty vznikají degradací fibrinu. Jejich fyziologické rozmezí je 0,1–5 mg/L. Vyskytují se u většiny septických pacientů. Parametr FDP ovšem postrádá specifitu, jelikož nedokáže rozlišit, zda štěpné produkty pocházejí z konečného zesíťovaného fibrinu, středně rozpustného fibrinu nebo z počátečního fibrinogenu. [45] [75]

D-dimery patří také mezi fibrin/fibrinogen degradační produkty. Jejich fyziologické rozmezí je 0–0,5 mg/L FEU (fibrinogen ekvivalentní jednotky). Oproti FDP vznikají pouze proteolýzou konečného zesíťovaného fibrinu. Přítomnost D-dimerů v krvi svědčí o tom, že trombin indukuje přeměnu fibrinogenu na fibrinové monomery, poté dochází k zesíťování fibrinu aktivovaným faktorem XIII a následné degradaci plazminem. [45] [75] [77]

Ačkoli jsou FDP a D-dimery spojovány zejména s fibrinolýzou, jejich zvýšené hodnoty současně reflektují aktivaci koagulace. Hladina D-dimerů se zvyšuje během časně fáze infekce. V případě rozvinuté sepse již nejsou hladiny D-dimerů zvýšené. Dochází totiž ke značnému potlačení fibrinolýzy, a tím nedojde k tvorbě D-dimerů. Jako biomarker mají D-dimery prognostický význam při diagnostice DIC a při hodnocení míry závažnosti sepse, kdy jsou zvýšené hodnoty D-dimerů asociovány s nižším rizikem mortality a naopak. [45] [77] [78]

#### 5.7.2.4 SIC skóre

SIC skóre se používá k identifikaci sepsí indukované koagulopatie (SIC). Skóre zahrnuje vyšetření PLT, protrombinového testu (PT) a SOFA skóre. Sepsí indukovaná koagulopatie je charakterizována protrombotickým stavem. Laboratorně je zjištěna trombocytopenie a prodloužení protrombinového testu. U SIC rovněž dochází k potlačení fibrinolýzy oproti neseptické DIC, u které je potlačení fibrinolýzy vzácné, a naopak je velmi časté systémové krvácení. Proto u SIC nejsou snížené koncentrace fibrinogenu běžné. Produkty fibrinolýzy (FDP spolu s D-dimery) nejsou v SIC skóre zahrnuty. Fyziologické rozmezí SIC skóre je <4. [74] [75] [79] [80] [81]

**Tabulka 10 – Skóre pro SIC vs. ISTH Zjevný (Overt) DIC (Iba, 2020) [82]**

SIC vs. ISTH Zjevný (Overt) DIC	SIC	ISTH Zjevný (Overt) DIC	Body
PLT (x10 <sup>9</sup> /L)	<100	<50	<b>2</b>
	≥100, <150	≥50, <100	<b>1</b>
FDP/D-dimery	-	Zvýšený nárůst	<b>3</b>
	-	Střední nárůst	<b>2</b>
Protrombinový test (PT)	>1,4	≥6 s	<b>2</b>
	>1,2, ≤1,4	≥3, <6 s	<b>1</b>
Fibrinogen (g/L)	-	<1	<b>1</b>
SOFA skóre	≥2	-	<b>2</b>
	1	-	<b>1</b>
<b>Celkové skóre pro SIC/DIC</b>	<b>≥4</b>	<b>≥5</b>	

ISTH – Mezinárodní společnost pro trombózu a hemostázu



### **5.7.2.5 Další vybrané parametry koagulace/fibrinolýzy**

#### **Skupinové koagulační testy (PT, aPTT)**

Skupinové koagulační testy (PT, aPTT) se používají pro hodnocení systému koagulace. Fyziologické rozmezí protrombinového testu (PT) je pro poměr R (Ratio) = 0,8–1,2. Fyziologické rozmezí aktivovaného parciálního tromboplastinového testu (aPTT) je R = 0,8–1,2. Testy ovšem zcela nereflektují poruchy koagulace vyvolané sepsí. Abnormální hodnoty jsou detekovány až později v průběhu sepse při rozvoji hypokoagulačního stavu. [45] [75]

#### **Inhibitor aktivátoru plazminogenu (PAI-1)**

Inhibitor aktivátoru plazminogenu (PAI-1) je marker inhibice fibrinolýzy. Jeho fyziologické rozmezí je 1–25 µg/L. Během sepse dochází k potlačení fibrinolýzy, které nelze detekovat pomocí koagulačních markerů. PAI-1 je zkoumán jako potenciální marker hypofibrinolýzy u septických pacientů. [75] [83]

#### **Protein C a Trombomodulin**

Protein C je antikoagulační protein, který inhibuje tvorbu trombinu. Fyziologické rozmezí jeho aktivity je 60–130 % (koagulační metoda) nebo 70–130 % (chromogenní metoda). Hladiny proteinu C jsou při sepsi snižené. [45] [75]

Trombomodulin je další antikoagulační protein, který je přítomný v endoteliálních buňkách. Váže se na trombin a vyvolá přeměnu proteinu C na jeho aktivovanou formu. Má důležitou protizánětlivou, antikoagulační a antifibrinolytickou úlohu. Jeho zvýšená hladina je spojována s vyšší mortalitou u sepse a DIC. [45] [75]

#### **Trombin-antitrombin (TAT) komplex**

Trombin-antitrombin (TAT) komplex je markerem produkce trombinu. Jeho fyziologické rozmezí je 1–4,1 µg/L. Vyšší hladiny byly zjištěny u DIC, která je charakteristická nadměrnou produkcí trombinu. Byla také zjištěna korelace mezi vysokými hladinami TAT komplexu a zvýšenou mortalitou u septických pacientů. [75] [83] [84]

### **5.7.3 Povrchové buněčné markery**

Metoda průtokové cytometrie má také svůj význam v rámci diagnostiky sepse. Je používána ke stanovení intenzity exprese povrchových buněčných markerů na neutrofilech a monocytech. [43]

#### **5.7.3.1 CD64**

CD64 je integrální transmembránový glykoprotein z rodiny imunoglobulinů o molekulární hmotnosti 72 kDa. Tvoří vazbu s Fc fragmentem imunoglobulinu IgG. CD64 je významným markerem aktivace neutrofilů. V klidovém stavu dochází k jeho expresi na monocytech, makrofázích, dendritických buňkách a v malé míře na neutrofilech. Vlivem působení prozánětlivých cytokinů, tj. interferonem- $\gamma$  a granulocytárním kolonie stimulujícím faktorem (G-CSF), jeho exprese na neutrofilech stoupá. Kvantifikace exprese CD64 na granulocytech pomocí metody průtokové cytometrie představuje v současnosti senzitivní, specifickou, rychlou a spolehlivou metodiku při diagnostice sepse. [7] [43] [85]

#### **5.7.3.2 CD11b**

CD11b je transmembránový glykoprotein typu I z rodiny integrinů o molekulární hmotnosti 170/165 kDa, který je součástí komplexu Mac-1 (CD11b/CD18) spolu s  $\beta$ -2 integrinem (CD18). CD11b je exprimován na povrchu monocytů, granulocytů a NK buněk. Během zánětlivé reakce hraje důležitou roli při migraci monocytů a neutrofilů do místa zánětu. Jeho exprese na povrchu neutrofilů se velmi zvyšuje při setkání s bakteriálním agens. [43] [85]

## **5.7.4 Biochemické markery**

### **5.7.4.1 Cytokiny**

#### **Prozánětlivé cytokiny**

Mezi prozánětlivé cytokiny patří cytokiny IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IFN- $\gamma$  a TNF- $\alpha$ . Významně zvyšují svoji hladinu v krvi během reakce akutní fáze a signalizují v hepatocytu stimulaci tvorby proteinů akutní fáze se specifickými funkcemi. Samotné stanovení hladin cytokinů vyjadřuje spíše intenzitu zánětlivé odpovědi než přítomnost infekce. Jejich hodnoty jsou zvýšeny také u SIRS neinfekčního původu. [6] [86]

TNF- $\alpha$  a IL-1 podporují adhezi leukocytů na endotel cév a indukují aktivaci koagulace. Oba cytokiny patří mezi endogenní pyrogeny a jsou stěžejní pro rozvoj horečky. Při vniknutí patogenu do organismus se zvýší produkce TNF- $\alpha$  a IL-1, které se následně uvolní do krevního oběhu. Vrcholu koncentrací dosahují po 60–90 minutách od rozpoznání endotoxinu lipopolysacharidu (LPS) u bakterií. TNF- $\alpha$  vyvolává zvýšenou produkci makrofágů z progenitorových buněk, podporuje jejich aktivaci a diferenciaci. [86]

IL-6 funguje jako aktivační faktor pro B- a T-lymfocyty. Podílí se na aktivaci koagulace a modulaci hematopoézy. Jeho klíčovou funkcí je vyvolání horečky a zprostředkování reakce akutní fáze, systémové reakce na zánětlivý stimul, charakterizované leukocytózou a uvolněním proteinů akutní fáze (např. CRP, složky komplementu, fibrinogen, feritin). [86]

IL-8 je hlavní chemokin produkovaný makrofágy a také endoteliálními buňkami. Jeho funkcí je směrování imunitních buněk k místu invaze. [6] [7]

#### **Protizánětlivé cytokiny**

Mezi protizánětlivé cytokiny patří zejména cytokiny IL-4 a IL-10. Vznikají v důsledku autoregulace působení prozánětlivých cytokinů během reakce akutní fáze a jejich působení vede k potlačení zánětlivé reakce. [6]

IL-10 představuje hlavní protizánětlivý cytokin, který je produkován makrofágy, neutrofily, mezangiálními buňkami, T a B lymfocyty. Podílí se významně na snížení intenzity zánětlivé odpovědi vyvolané podáním LPS, kdy následně dochází k inhibici

prozánětlivých mediátorů TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , inhibici produkce IL-6, IL-8, oxidu dusnatého (NO), interferonu- $\gamma$  a metabolitů prostaglandinů. [7] [21]

#### **5.7.4.2 C-reaktivní protein (CRP)**

C-reaktivní protein (CRP) je protein akutní fáze, který se působením cytokinů produkuje v játrech. Název CRP byl odvozený na základě schopnosti proteinu vyvolat precipitaci C-polysacharidu u pneumokoka. Jeho hladina se v séru zvyšuje během zánětlivé reakce, významněji při bakteriální infekci. Působí jako opsonin se schopností klasické aktivace komplementového systému. Váže se na cizorodé struktury, a tím spouští obranné mechanismy v těle. Systém komplementu je aktivován a stimuluje se opsonizace s fagocytózou. [6] [7] [87]

Koncentrace CRP v séru je u zdravého jedince velmi nízká, s referenčním rozmezím 0–10 mg/L. Jeho hladina se zvyšuje během 6–9 hodin od rozvoje zánětlivé reakce a nejvyšších hodnot dosáhne za 35–50 hodin. CRP je velmi senzitivním, avšak nespecifickým zánětlivým markerem. Ke zvýšení jeho koncentrací dochází u jakékoli zánětlivé reakce, infekcí, traumat, popálenin, autoimunitních onemocnění a nádorových onemocnění. [6] [7] [36] [87] [88]

#### **5.7.4.3 Prokalcitonin (PCT)**

Prokalcitonin (PCT) je polypeptidový prohormon kalcitoninu. Je produkován monocyty a makrofágy v různých orgánech, především v játrech. Jeho koncentrace se významně zvyšuje při bakteriální a fungální infekci. U virové infekce a zánětu neinfekční etiologie se hladiny PCT naopak nemění. [6] [7] [87]

Fyziologicky je hladina PCT v séru neměřitelná. Jeho referenční rozmezí je 0–0,5  $\mu$ g/L. Při sepsi dochází k významnému 100–5000násobnému zvýšení jeho hladiny, detekovanému již v průběhu 2–4 hodin. Jeho zpětný pokles nastává během 25–30 hodin. Tím je více dynamický než CRP, který má delší biologický poločas. [6] [21] [36] [87] [89]

U PCT byla zjištěna senzitivita 77 % a specifita 79 %. PCT má vyšší senzitivitu oproti CRP, IL-6, lipopolysacharid vázajícímu proteinu (LBP) a dalším biochemickým markerům.

Ani procalcitonin však není jako marker spolehlivý pro rozlišení mezi systémovou zánětlivou reakcí neinfekčního původu a sepsí. Ke zvýšení hladiny procalcitoninu dochází také u jiných stavů, např. u autoimunitních onemocnění, rhabdomyolýzy, úrazů, těžkých operací, popálenin, aj. [36] [87]

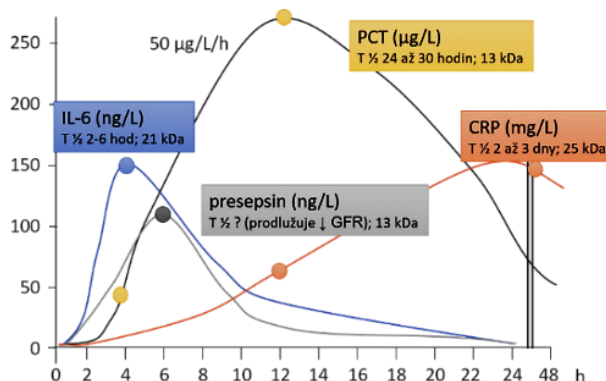
#### 5.7.4.4 Presepsin (sCD14-ST)

Presepsin (sCD14-ST) je malý solubilní N-terminální fragment membránového proteinu CD14, který se exprimuje na povrchu monocytů a makrofágů. Patří mezi nejnovější markery časného záchytu sepse. Jeho fyziologické rozmezí je 92–320 ng/L. Protein CD14 má nenahraditelnou funkci při rozeznávání infekčního patogenu (PAMP) pomocí buněk vrozené imunity (monocyty, makrofágy). Účinkuje jako koreceptor pro vytvoření vazby s komplexem LBP a lipopolysacharidu. Jakmile jsou monocyty/makrofágy aktivovány, v proteinu CD14 dochází účinkem proteáz k odštěpení 13 kDa dusíkatého konce, tzv. solubilní CD14 (sCD14), a následnou modifikací v plazmě pomocí proteáz vzniká sCD14-ST, zvaný jako presepsin. [36] [90] [91] [92]

Presepsin se ve studiích ukázal jako velmi spolehlivý marker pro diagnostiku bakteriální sepse. Pomocí presepsinu lze také hodnotit účinek antibiotické léčby. Ke zvýšení hladiny presepsinu ovšem dochází v případě onemocnění systémový lupus erythematosus (SLE) a výše hladiny odpovídá aktivitě onemocnění. [36] [91]

#### 5.7.4.5 Další biochemické markery

Mezi další biochemické markery patří IL-1 $\beta$ , lipopolysacharid vázající protein (LBP), laktát, ferritin, sérový kalprotektin, cell-free DNA (cf-DNA), aj. [42] [36]



**Obrázek 9 – Kinetika zánětlivých biomarkerů (Rajdl, 2018) [93]**

## **5.7.5 Mikrobiologický průkaz infekce**

V rámci diagnostiky sepse je důležité rychle identifikovat infekčního původce a včasné nasadit adekvátní antibiotickou terapii. Při diagnostikování septického stavu se nejprve odebírá plná krev pro hemokultivaci a současně také materiál z pravděpodobného infekčního ložiska. Poté je nasazena vhodná antibiotická terapie. [2] [15]

### **5.7.5.1 Odběr hemokultury**

Za zlatý standard diagnostiky infekcí krevního řečiště je považována hemokultivace, která je nezbytná k rozlišení primárních a sekundárních infekcí krevního řečiště. Odběry vzorků plné krve jsou pacientovi s podezřením na septický stav provedeny do speciálních hemokultivačních lahvíček v následujících 24 hodinách. Před provedením odběru je nutné místo vpichu nebo katétr důkladně vydezinfikovat. Nyní se na základě nového postupu od roku 2019 prosazuje tzv. strategie jediného odběru („single sample strategy“) oproti párovým hemokulturám. V případě podezření na sekundární infekci krevního řečiště je nutné doplnit hemokultivační vyšetření o vyšetření vzorků z pravděpodobných primárních zdrojů infekce. [2] [19]

### **5.7.5.2 Metody přímého průkazu**

Identifikace infekčního patogenu v hemokultuře je prováděna pomocí automatických kultivačních systémů, které detekují rostoucí agens. Pokud vyjde hemokultivace jako pozitivní, tak se následně provádějí konfirmační metody pro potvrzení detekce/průkazu a testuje se citlivost mikroba na antibiotika. [2]

### **Konfirmační metody detekce infekčního mikroba**

Z hemokultivační lahvičky se připraví preparát pro mikroskopické hodnocení. Výsledek se oznamuje neprodleně lékaři, který podle toho upravuje již nasazenou antibiotickou terapii. Poté je provedena hemokultivace a testuje se citlivost na antibiotika pro větší specifikaci léčby antibiotiky. V případě nutnosti rychlého průkazu infekčního patogenu se používá metoda PCR a MALDI TOF. [2] [5]

## **5.8 Terapie sepse**

Terapie septických pacientů se zaměřuje na kontrolu tří hlavních aspektů: kontrola probíhající infekce, hemodynamická stabilizace a modulace odpovědi hostitele. Jednotlivé aspekty by měly být u pacientů zvažovány a ovlivňovány současně, pokud je to možné. U některých pacientů je potřebná také orgánová podpora. [94]

Vzhledem k vysoké heterogenitě septických pacientů je potřeba přistupovat k terapii a stanovení prognózy individuálně. Pro zlepšení efektu léčby se doporučuje profilování nemocných (subfenotypy sepse), tj. rozdělení pacientů do podskupin s menší heterogenitou, což může být nápomocné při volbě terapeutického přístupu. [95]

Terapie v podobě používání antibiotik, tekutinové resuscitace a orgánové podpory postupně snížila během posledních desetiletí mortalitu septických pacientů. Stále má však omezený dopad na zlepšení prognózy pacientů se sepsí. [33]

### **5.8.1 Kontrola probíhající infekce**

Terapeutická kontrola probíhající infekce je aplikována všem pacientům se sepsí. Terapie zahrnuje především antibiotickou léčbu, případně také chirurgické vyjmutí infekčního ložiska. Antibiotika by měla být pacientovi podána ve všech případech, dokonce i když infekce nebyla definitivně prokázána a nebyly izolovány žádné specifické mikroorganismy. K tomuto dochází u více než 30 % septických pacientů. [94]

#### **Antibiotická léčba**

Antibiotická léčba musí být indikována velmi brzy, obzvláště u závažných septických stavů. Podle konceptu je potřeba podat antibiotika do 1 hodiny od diagnostiky sepse, přičemž do časového limitu je zahrnuta časová prodleva mezi předepsáním a podáním antibiotika pacientovi a před zahájením terapie je pacientovi odebrán vzorek materiálu na hemokultivaci a další mikrobiologická vyšetření. [9] [94]

Septickému pacientovi je nejprve indikována empirická léčba širokospektrými antibiotiky k dočasnému zastavení progresu sepse do případného septického šoku. Při empirické léčbě se používá např. kombinace  $\beta$ -laktamového antibiotika a aminoglykosidu, karbapenemy nebo monoterapie cefalosporiny III. nebo IV. generace. Jakmile je na základě výsledků mikrobiologických vyšetření zjištěn infekční původce,

přistoupí se k cílené deeskalační léčbě, kdy se na základě zjištěného infekčního agens zužuje spektrum antibiotik. [2] [22]

Antibiotickou léčbu je nutné striktně individualizovat a brát ohled jak na infekční patogen, tak na další faktory ze strany hostitele, např. orgánové dysfunkce, alergie, lékové interakce, aj. Problematikou léčby však stále zůstává narůstající rezistence patogenů. Jednou ze současných možností, jak obejít mechanismy rezistence patogenů, je podávání vysokodávkované kombinace stávajících antibiotik (např. kolistin a tigecyklin, karbapenem a tigecyklin, kolistin a karbapenem, aj.). [95]

### **5.8.2 Hemodynamická stabilizace**

Se sepsí spojená vazodilatace způsobuje zvětšení krevního objemu v cévách. U septických pacientů dochází často ke ztrátám tekutin, jak k vnějším (včetně pocení), tak k vnitřním (únik tekutiny z cév do intersticia v důsledku zhoršení mikrovaskulární permeability). Dochází ke snižování objemu krve v cévách, tzv. hypovolemii. Terapie na podporu hemodynamiky proto zahrnuje podávání intravenózních tekutin, tzv. tekutinovou resuscitaci. V případě přítomnosti cirkulačního šoku jsou navíc podávány vazoaktivní látky. [22] [94] [96]

#### **Tekutinová resuscitace (krystaloidy, albumin)**

Při tekutinové resuscitaci se typ tekutiny a její množství nastavují individuálně, jelikož v dnešní době nelze stanovit konkrétní doporučení přesného optimálního objemu. Jako tekutiny volby se dříve používaly koloidy (hydroxyethylškroby, dextransy). V současnosti jsou obvykle doporučovány krystaloidy. Rozlišují se dva typy krystaloidních roztoků: vyvážené krystaloidy a roztoky bohaté na chlorid. Upřednostňují se vyvážené krystaloidy kvůli svému složení elektrolytů blízkému plazmě a oproti roztokům bohatým na chlorid nejsou spojeny s vysokým rizikem rozvoje hyperchloremické acidózy. Při použití velkého množství krystaloidů se přidává albumin. Samotné tekutiny však nemusí být dostačující pro zachování adekvátního středního arteriálního tlaku (MAP), a proto je v některých případech nutné přidat látku působící vazoaktivně, tzv. vazopresor. [9] [94] [95]



### **Podání vazopresoru**

Vazopresor se používá pro zachování adekvátního středního arteriálního tlaku. Vazopresorem první volby je noradrenalin (norepinefrin), který díky svým  $\alpha$ - a  $\beta$ -adrenergním vlastnostem finálně vyvolá vazokonstrikci s nízkým efektem na srdeční frekvenci. Noradrenalin umožňuje podání menšího množství krystaloidů, čímž snižuje riziko přetížení tekutinami. Léčbu noradrenalinem je vhodné indikovat časně pro zabránění rozvoje hluboké hypotenze, která má vždy negativní efekt na orgány. Je ovšem nutné věnovat pozornost klinické odpovědi pacienta na zvýšení dávky vazopresoru při současném zjišťování zachování krevního průtoku kvůli riziku nadměrné vazokonstrikce a následného snížení prokrvení tkání a orgánů. [9] [94]

Vazopresin je vazopresor druhé volby pro léčbu septického šoku. Adrenalin (epinefrin) je zvažován jako vazopresor třetí volby a jeho použití by mělo být limitováno na případy s neadekvátními úrovněmi středního arteriálního tlaku. Díky jeho významnému  $\beta$ -adrenergnímu efektu je adrenalin indikován ve větší míře u pacientů se srdeční dysfunkcí. Podání adrenalinu ovšem vede oproti noradrenalinu k většímu množství vedlejších účinků, např. k tachykardii, tachyarytmii, zvýšené koncentraci laktátu v krvi. [9]

### **5.8.3 Modulační odpovědi hostitele**

Modulační odpovědi hostitele při sepsi je aplikovatelná především u pacientů se septickým šokem. Žádné strategie popsané v předchozích klinických studiích, které byly namířené individuálně na jednotlivé složky imunitní odpovědi hostitele při sepsi, však dosud neprokázaly trvalé zlepšení prognózy pacientů. Terapie tedy zahrnují strategie, které ovlivňují více hlavních složek imunitní odpovědi. V současnosti se k terapeutickým účelům používají glukokortikoidy a vazopresin. Další možností terapie je mimotělní (extrakorporální) purifikace krve. [94]

### **Podání glukokortikoidů a vazopresinu**

Glukokortikoidy a vazopresin mají obrovský vliv na imunitní odpověď hostitele. Nejvíce používané jsou glukokortikoidy, které mají různé efekty na zánět včetně cesty NF- $\kappa$ B. Podání kortikosteroidů je vyhrazené pro pacienty se septickým šokem. Vazopresin může být také použit v kontextu modulační odpovědi. Jako hormon

ovlivňuje funkčnost ledvin a metabolismus vody. Dle studií může časně podání vazopresinu pacientům se septickým šokem podpořit funkčnost ledvin, zvýšit výdej moči, snížit potřebu tekutin a tvorbu otoků. [94]

#### **Extrakorporální purifikace krve**

Extrakorporální purifikace krve se využívá pro odstranění nadbytku zánětlivých mediátorů a bakteriálních toxinů. Časným snížením molekulárních vzorů PAMP a DAMP brání další aktivaci pro- a protizánětlivých reakcí. Extrakorporální hemadsorpční techniky používají různé přístupy a metody. U žádné z dostupných metod však nebylo trvale prokázáno, že by snižovaly mortalitu. [22] [94] [95]

#### **5.8.4 Možnosti podání dalších terapeutik**

Mezi další možnosti terapie patří oxygenace a ventilační podpora septických pacientů s respirační nedostatečností (insuficiencí). Při léčbě lze použít další terapeutika, avšak jejich účinnost je zatím ve značné míře diskutována a použití by mělo být posouzeno individuálně, případ od případu. Mezi další terapeutika patří např. heparin (prevence žilního tromboembolismu), inzulin (terapie stresové hyperglykémie), inhibitory protonové pumpy (profylaxe stresových vředů), renální výměnná terapie – RRT (při akutním poškození ledvin), steroidy (podání hydrokortizonu pacientům s vazopresor-rezistentním neadekvátním MAP), aj. [9]

## 6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 6.1 Charakteristika vyšetřovaného souboru

V rámci diplomové práce byli vyšetřeni pacienti, kteří byli přijati ve Fakultní nemocnici v Ostravě (FNO) na Klinice anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny (KARIM). Vzorky byly měřeny v období 10/2023–06/2024.

Pacientům byla na základě klinického hodnocení diagnostikována přítomnost sepse. U septických pacientů byl kritériem věk >18 let. U zdravých kontrolních dárců patřila mezi hlavní kritéria věk >18 let, fyziologický krevní obraz a fyziologický zdravotní stav bez přítomnosti infekce, zánětu a jiných onemocnění.

Celkově bylo statisticky vyhodnoceno 38 zdravých kontrolních dárců a 35 septických pacientů sledovaných v průběhu sepse, z nichž 22 septických pacientů mělo vyhodnocenou první hodnotu parametru MDW již v době záchytu sepse. Skupina všech 35 septických pacientů (162 výsledků) byla používána pro prvotní statistiku závislosti hodnot parametrů na přítomnosti sepse s vyhodnocením v kapitole 6.4.4.1. Skupina 22 septických pacientů (22 výsledků) byla používána pro veškerou statistiku dat při záchytu sepse.

Vzorky byly měřeny nejprve ve Fakultní nemocnici v Ostravě. Na Oddělení klinické hematologie (OKH FNO) byl ze vzorků nesrážlivé krve s K<sub>3</sub>EDTA vyšetřen krevní obraz a diferenciální rozpočet leukocytů na hematologickém analyzátoru XN-9000 (výrobce Sysmex, Japonsko). Dále byl vypočten poměr NLR a ICIS skóre. Na Oddělení klinické biochemie (OKB FNO) byly ze vzorků krevní plazmy vyšetřeny biochemické zánětlivé biomarkery C-reaktivní protein (CRP), prokalcitonin (PCT) a interleukin 6 (IL-6) na biochemickém analyzátoru Atellica CH 930/IM 1300 Analyzer (výrobce Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Německo) a dále biomarker presepsin byl změřen z alikvoty vytvořené biochemickou linkou na přístroji Pathfast (výrobce PHC Europe, Nizozemsko). Následně byly vzorky nesrážlivé krve s K<sub>3</sub>EDTA odvezeny svozem do Městské nemocnice Ostrava (MNO) na oddělení Klinická hematologie (KH), kde byl vyšetřen krevní obraz s diferenciálním rozpočtem včetně parametru MDW na analyzátoru DxH 900 (výrobce Beckman Coulter Diagnostics, USA).

**Tabulka 11 – Charakteristika celkového vyšetřovaného souboru 35 septických pacientů  
(vlastní data)**

	Kontrola	Sepse
<b>N (N<sub>c</sub> = 73)</b>	38	35
<b>Počet mužů</b>	19	21
<b>Počet žen</b>	19	14
<b>Věkové rozmezí [roky]</b>	22–81	30–84
<b>Věk (medián) [roky]</b>	60	56

**Tabulka 12 – Charakteristika vyšetřovaného souboru 22 septických pacientů při záchytu  
(vlastní data)**

	Kontrola	Sepse
<b>N (N<sub>c</sub> = 60)</b>	38	22
<b>Počet mužů</b>	19	12
<b>Počet žen</b>	19	10
<b>Věkové rozmezí [roky]</b>	22–81	30–80
<b>Věk (medián) [roky]</b>	60	57

## **6.2 Materiál a metody**

### **6.2.1 Materiál**

Na obou odděleních Klinické hematologie (OKH FNO, OKH MNO) se pro vyšetření krevního obrazu používaly vzorky nesrážlivé krve zhotovené odebráním plné žilní krve do zkumavek značky Sarstedt S-Monovette s antikoagulačním činidlem K<sub>3</sub>EDTA pro objem krve 2,7 mL (červený uzávěr). Stabilita parametrů krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu je 5 hodin při teplotě 20–25 °C. Rutinní odezva laboratoře je pro parametry krevního obrazu do 2 hodin a statimová odezva je do 1 hodiny. Parametr MDW je nutné vyšetřit do 2 hodin od odběru dle doporučení výrobce Beckman Coulter Diagnostics. [97] [98]

Na oddělení klinické biochemie (OKB FNO) se pro vyšetření zánětlivých parametrů CRP, PCT, IL-6 a presepsinu používaly vzorky krevní plazmy zhotovené odebráním plné žilní krve do zkumavek značky Sarstedt S-Monovette s antikoagulačním činidlem heparinem lithným (oranžový uzávěr). Stabilita při teplotě 2–8 °C je u CRP 7 dnů, u PCT jsou 2 dny, u IL-6 je 7 dnů a u presepsinu jsou 3 dny. Rutinní odezva laboratoře pro tyto biomarkery je do 4 hodin (presepsin již do 1 hodiny) a statimová odezva laboratoře je do 1 hodiny (PCT až do 2 hodin). [88] [89] [90] [99]

### **6.2.2 Přístrojové vybavení a vyšetřovací metody**

#### **6.2.2.1 Hematologický analyzátor DxH 900**

Celkový krevní obraz s diferenciálním rozpočtem leukocytů a retikulocyty včetně parametru distribuční šíře monocytů (MDW) byl vyšetřen ze vzorků nesrážlivé krve s antikoagulačním činidlem K<sub>3</sub>EDTA, které se nejprve homogenizovaly 10 minut a následně byly změřeny na hematologickém analyzátoru DxH 900 (výrobce Beckman Coulter Diagnostics, USA) na oddělení Klinická hematologie v Městské nemocnici Ostrava (KH MNO). Následně byl vypočten poměr NLR.

Analyzátor DxH 900 (výrobce Beckman Coulter Diagnostics, USA) je kvantitativní automatický hematologický analyzátor používaný pro in vitro diagnostiku v klinických laboratořích. Přístroj poskytuje automatizované měření kompletního krevního obrazu (CBC), diferenciálního rozpočtu leukocytů (DIF), počtu jaderných buněk

erytrocytární linie, analýzu retikulocytů a celkový rozpočet všech jaderných buněk v tělních tekutinách. [66]



**Obrázek 10 – Analyzátor DxH 900  
(vlastní fotografie, 2024)**

Analyzátor DxH 900 dokáže vyšetřit až 100 vzorků za hodinu. Aspirovaný objem vzorku je 165  $\mu\text{L}$ . DxH 900 v MNO sestává ze samostatného přístroje DxH 900. Skládá se z pracovní buňky (workcell), systémového manažeru (standardní počítač s operačním systémem Microsoft Windows 7 a DxH solutions softwarem) a ploché obrazovky LCD s dotykového displejem. [66]

### **Analýza CBC (Kompletní krevní obraz)**

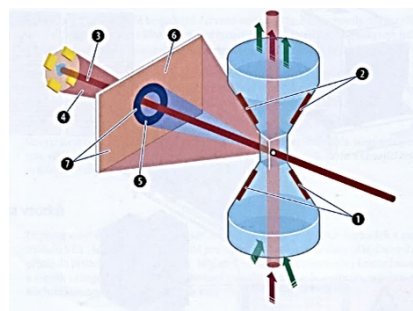
Analýza CBC se používá pro vyšetření celkového krevního obrazu. Dle Coulterova principu lze pomocí měření změn elektrického odporu při průchodu částice (buňky) ve vodivém prostředí malým otvorem (aperturou) přesně vypočítat počet buněk a zjistit jejich velikost. Při průchodu buňky aperturou se zvyšuje elektrický odpor a vznikne elektrický impulz, který lze měřit. Počet impulzů se rovná počtu částic. Velikost elektrického impulzu je úměrná velikosti buňky (objem). Systém umožňuje tvorbu histogramů na základě změřených distribucí objemů (velikosti) buněk pro jednotlivé kategorie buněk. [66]

### **Analýza VCS 360 (Volume, Conductivity, Scatter – Objem, Vodivost, Rozptyl světla)**

Technologie VCS (V – Objem, C – Vodivost, S – Rozptyl světla) se používá pro určení diferenciálního rozpočtu leukocytů, normoblastů a retikulocytů. Analýza zjišťuje hodně informací o buňkách. Zahrnuje měření objemu jednotlivých buněk pomocí nízkofrekvenčního stejnosměrného proudu, měření vodivosti (konduktivity) pomocí vysokofrekvenčního proudu a měření rozptylu laserového světla. Rozdíly ve vodivosti

buněk (izolační vlastnosti komponent buňky) poskytují informace o přítomnosti jaderných a granulárních složek a chemickém složení komponent uvnitř buňky. Měření rozptylu laserového světla z laserového paprsku zjišťuje vztah velikosti částic a lomivosti vzhledem k úhlu. [66]

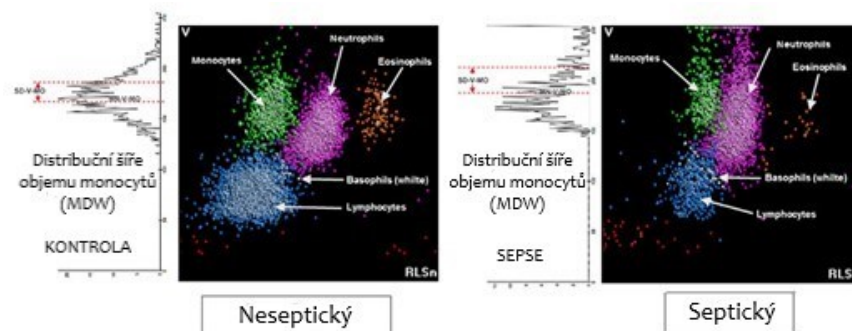
System DxH 900 obsahuje modul s více snímači, tzv. MTM (multiple transducer module). Modul MTM zlepšil měření díky možnosti měření několika úhlů rozptýleného světla. Částice jsou při průchodu průtokovou kvyetou ozářeny laserovou diodou a rozptýlené paprsky jsou detekovány několika snímači umístěnými v různých úhlech, a navíc snímačem umístěným v cestě laseru pro měření světla ztraceného kvůli rozptylu a absorpci světla (axiální ztráta světla). Řídicí modul umožňuje sestavovat diagramy pro vizuální zobrazení hustot jednotlivých populací leukocytů, normoblastů a retikulocytů, tzv. Scattergramy. [66]



**Obrázek 11 – Měření rozptylu světla na DxH 900**  
(Instructions for use – DxH 900, 2023) [100]

### Distribuční šíře monocyty (MDW)

Parametr MDW je vypočítán jako standardní odchylka (SD) ze sady hodnot objemu monocytů, který koreluje s velikostí buňky. Populace monocytů se detekuje použitím analýzy VCS a následně se identifikuje v dataplotu objemu (V) versus rotovanému rozptylu světla. [97]



**Obrázek 12 – Scattergram a MDW při sepsi**  
(upraveno z: Beckman Coulter – Bentahar, 2022) [68]

Kontrola parametru MDW je provedena pomocí 2 typů kontrol, které kontrolují parametr na třech hladinách. Druhá kontrola sleduje nastavení modulu měřicího objemu, vodivost a úhly rozptylu světla. [97]

Vzorky jsou zhotoveny odebráním plné žilní krve do zkumavek k antikoagulantem K<sub>2</sub>EDTA anebo K<sub>3</sub>EDTA (antikoagulační činidlo volby). Vzorek je výrobcem doporučeno vyšetřit do 2 hodin od odběru. Jestliže jsou výsledky měření o hodnotě vyšší než cut-off hodnota, pacient má riziko rozvoje sepse během 12 hodin. [97]

Cut-off hodnota pro MDW je stanovena podle typu antikoagulačního činidla. Pro K<sub>2</sub>EDTA je stanovená cut-off hodnota MDW >20 a pro K<sub>3</sub>EDTA je stanovená cut-off hodnota MDW >21,5. Rozsah měření parametru MDW je 0–255,5. Parametr MDW je limitován počtem monocytů (MO#). Při nízkém počtu monocytů ve vzorku periferní krve není hodnota MDW poskytnuta. [97] [101]

Parametr MDW slouží jako časný indikátor sepse. Prediktivní hodnota MDW nebyla vytvořena pro identifikaci sepse u pacientů s hematologickými abnormalitami (přítomnost blastů). [97]

### Opakovatelnost MO a MDW

Opakovatelnost parametru MO (počet monocytů) a parametru MDW je provedena 10 měřeními stejného vzorku. Limitní hodnota variačního koeficientu (CV) pro MO a MDW je CV <10 %. Výrobce BC uvádí u MO jen limitní hodnoty pro relativní počty. Pro měření opakovatelnosti se používají vzorky s různými hodnotami MDW okolo cut-off hodnoty >21,5. [66]

Parameter	Range	Limit CV
MDW	0.0 - 255.0	≤ 10.00%

**Obrázek 13 – Opakovatelnost MDW**  
(Addendum DxH 900, 2019) [66]

MO	%	5.00–10.00	≤ 10.0% CV @WBC > 4.0x10 <sup>3</sup> cells/μL

**Obrázek 14 – Opakovatelnost MO<sub>rel</sub>**  
(Addendum DxH 900, 2019) [66]



### **6.2.2.2 Hematologický analyzátor XN-9000**

Celkový krevní obraz s diferenciálním rozpočtem leukocytů byl vyšetřen ze vzorků nesrážlivé krve s antikoagulačním činidlem K<sub>3</sub>EDTA, které se daly nejprve homogenizovat po dobu 10 minut a následně byly změřeny na hematologické lince XN-9000 (výrobce Sysmex, Japonsko). Následně bylo vypočteno ICIS skóre a poměr NLR.

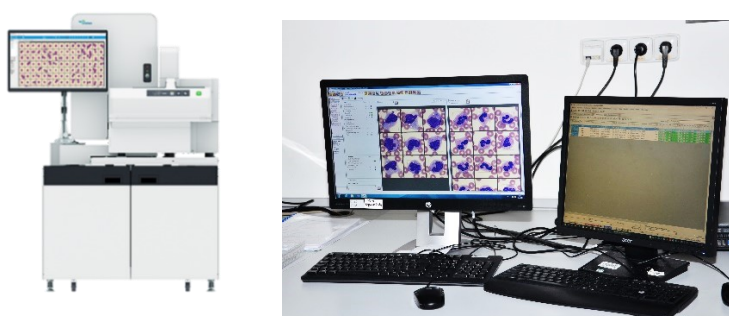
Hematologická linka XN-9000 ve FNO obsahuje tři měřicí věže (2x XN-10, 1x XN-20), nátěrový automat a analyzátor DI-60 pro digitální morfologii. XN-9000 používá pro měření metodu spektrofotometrie (optický princip), detekci průtoku pláštěm (impedanční princip) a fluorescenční průtokovou cytometrii. Linka umožňuje vyšetřit až 300 vzorků za hodinu. Aspirovaný objem vzorku je 70 µL. [102]



**Obrázek 15 – Sysmex XN-9000  
(FNO, 2024)**

### **6.2.2.3 Analyzátor DI-60**

Diferenciální rozpočet leukocytů ze zhotovených obarvených nátěrů periferní krve byl proveden pomocí digitální morfologie na analyzátoru DI-60, který je součástí hematologické linky XN-9000 (výrobce Sysmex, Japonsko) ve FNO. [102]



**Obrázek 16 – Analyzátor DI-60 pro digitální morfologii  
(FNO, 2024)**

#### **6.2.2.4 Biochemické analyzátory**

Biochemické markery CRP, PCT, IL-6 a presepsin byly vyšetřeny ze vzorků krevní plazmy (zkumavky s heparinem lithným), které se nejprve v biochemické lince centrifugovaly při 3800 otáček/minutu (RPM) po dobu 6 minut a následně byly změřeny v biochemické lince obsahující automatický analyzátor Atellica CH 930 Analyzer a analyzátor Atellica IM1300 Analyzer (výrobce Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Německo). Dále byla biochemickou linkou vytvořena alikvota pro vyšetření biomarkeru presepsinu, která byla následně změřena na přístroji Pathfast (výrobce PHC Europe, Nizozemsko).



**Obrázek 17 – Atellica CH 930 Analyzer, Atellica IM 1300 Analyzer (FNO, 2024)**

C-reaktivní protein (CRP) se kvantitativně stanovuje na analyzátoru Atellica CH 930 Analyzer pomocí latexově zesílené imunoturbidimetrické metody. Principem metody je aglutinace CRP ve vzorku s latexovými částicemi potaženými protilátkami proti CRP. Tím vzniká zákal, který je měřen turbidimetricky při vlnové délce 571 nm. Koncentrace CRP je přímo úměrná intenzitě rozptýleného světla a odečítá se z kalibrační křivky. [103]

Prokalcitonin (PCT) se kvantitativně stanovuje na analyzátoru Atellica CH 930 Analyzer pomocí 2místného sendvičového imunoanalytického testu s použitím přímé chemiluminiscenční technologie. Principem metody je použití 3 myších monoklonálních specifických protilátek proti PCT, značených akridium esterem (první) a fluoresceinem (druhá a třetí). Vzniklý imunokomplex je zachycen prostřednictvím vazby fluoresceinu na paramagnetické částice v pevné fázi a detekován. Koncentrace PCT je přímo úměrná hodnotám relativních světelných jednotek (RLU). [104]

Interleukin 6 (IL-6) se kvantitativně stanovuje na analyzátoru Atellica IM 1300 Analyzer pomocí jednostupňového přímého imunoanalytického testu s použitím chemiluminiscenční technologie. Principem je použití myší monoklonální protilátky namířené proti IL-6, která je značená esterem akridina. Paramagnetické mikročástice jsou potaženy protilátkami. Koncentrace IL-6 je přímo úměrná hodnotám relativních světelných jednotek (RLU). [105]

Presepsin (sCD14-ST) se kvantitativně stanovuje na analyzátoru Pathfast. Analyzátor pracuje na principu metody chemiluminiscenční enzymové imunoanalýzy (CLEIA). Pro vyšetření se používají magnetické částice a alkalickou fosfatázou (ALP) značená protilátka. Principem je vznik komplexu – pevná fáze protilátky-presepsin-ALP značená protilátka. Přidá se luminiscenční substrát, který je katalyzovaný ALP a dojde k uvolnění emitovaných fotonů světla, které jsou spočítány pomocí fotonásobiče. Koncentrace je přímo úměrná množství emitovaných fotonů a odečítá se z kalibrační křivky. [106]



**Obrázek 18 – Příklad přístroje Pathfast  
(FNO, 2024)**

## **6.3 Statistické zpracování výsledků měření**

Data byla statisticky vyhodnocena a graficky zpracována pomocí programu Microsoft Office Excel 365 a statistických programů GraphPad Prism (verze 10.2.3), MedCalc (verze 20.032) a JMP (verze 18.0.1). Pro přiřazení určité míry nejistoty byly výsledky vyhodnoceny s přidruženým 95% intervalem spolehlivosti (95% CI).

### **6.3.1 GraphPad Prism 10.2.3**

#### **Deskriptivní statistika**

V rámci deskriptivní statistiky byly zjišťovány minimální a maximální hodnoty, průměry společně se směrodatnou odchylkou (SD) a jejími násobky (2SD), mediány společně s interkvartilním rozsahem (IQR) a dále variační koeficienty (CV). [107]

#### **Statistická významnost testu (P hodnota)**

Statistická významnost testu se hodnotí na základě vypočtené P hodnoty. P hodnota je statistický ukazatel udávající, jaká je pravděpodobnost pozorovaného jevu vzhledem k platnosti nulové hypotézy. Rozmezí P hodnoty je 0–1. Pokud je P hodnota nižší než hladina významnosti  $\alpha = 0,05$ , nulová hypotéza se zamítá a platí hypotéza alternativní, tj. došlo ke změně. [107]

#### **Testy normality dat**

Testy normality dat posuzují, zda hodnoty pocházejí z normálního (Gaussova) rozdělení. Pokud testy potvrdí, že data pocházejí z normálního (Gaussova) rozdělení, tak lze použít pro statistické zpracování dat parametrické testy. V opačném případě se používají neparametrické testy. Jelikož existuje mnoho způsobů, jak se rozdělení může odchýlit od normality, existují různé testy normality dat. [107]

D'Agostino-Pearsonův test je všestranný a nejvíce výkonný test normality, který se obecně doporučuje. Shapiro-Wilkův test je další často používaný test o nižší diagnostické síle. Anderson-Darlingův test a Kolmogorov-Smirnovův test používají k určení normality kumulativní rozdělení a liší se pouze způsobem provedení porovnání. [107]

### **Oboustranný párový t-test**

Oboustranný párový t-test je parametrický test, který porovnává průměrný rozdíl mezi páry. Základní podmínkou pro použití testu je, že data pocházejí z normálního (Gaussova) rozdělení. [107]

### **Mann-Whitneyův U test**

Mann-Whitneyův U test je neparametrickým analogem t-testu, který se používá v případě, že data nepocházejí z normálního (Gaussova) rozdělení. [107]

### **Jednofaktorová bloková ANOVA (One-way matched ANOVA)**

Jednofaktorová bloková ANOVA je parametrický test analýzy rozptylu středních hodnot mezi 3 a více skupinami. Základní podmínkou pro použití testu je, že data pocházejí z normálního (Gaussova) rozdělení. [107]

### **Blandův-Altmanův diagram**

Blandův-Altmanův diagram porovnává 2 měřicí metody. Zobrazuje diferenci mezi 2 měřeními na ose y a průměr 2 měření na ose x. [107]

### **Fisherův exaktní test**

Fisherův exaktní test je neparametrickým analogem Pearsonova Chi-kvadrát testu, který se používá v případě, že data nepocházejí z normálního (Gaussova) rozdělení. Test zjišťuje míru závislosti mezi hodnotou a přítomností jevu. Používají se kvalitativní vstupní a výstupní hodnoty. [107]

### **Test odlehlých hodnot (Outliers)**

Test odlehlých hodnot napomáhá vyloučit ze statistiky velmi odlehlé hodnoty. Grubbs' test je nejpoužívanější metoda pro identifikaci odlehlých hodnot. [107]

### **Kontingenční tabulka**

Kontingenční tabulka umožňuje analyzovat a znázorňovat data na základě kvalitativních znaků. Vizualizuje se vzájemný vztah 2 kvalitativních znaků na základě absolutních/relativních četností. [107]

### 6.3.2 MedCalc 20.032

#### Jednoduchá lineární regresní analýza

Jednoduchá lineární regresní analýza graficky zpracovává závislost mezi proměnnými  $x$  a  $y$ . Výstupem závislosti je graf s lineární funkcí (přímkou)  $y = ax + b$  s přidruženým korelačním koeficientem  $R$  a koeficientem determinace  $R^2$ . Používají se kvantitativní vstupní a výstupní hodnoty. [108]

#### Jednoduchá logistická regresní analýza (ROC křivka)

Jednoduchá logistická regresní analýza graficky zpracovává závislost mezi proměnnou a přítomností jevu. Používají se kvantitativní vstupní hodnoty a kvalitativní výstupní hodnoty. Výstupem je ROC křivka závislosti senzitivity (osa  $y$ ) a 100-specificity (osa  $x$ ) s vyhodnocenou plochou pod křivkou (AUC). Hodnota AUC udává, jak dobře je schopna hodnota proměnné rozlišit mezi ne/přítomností jevu, tj. diagnostickou přesností. Hodnoty AUC se nacházejí v rozmezí 0–1, přičemž ideální hodnoty jsou nejbližší 1. [108]

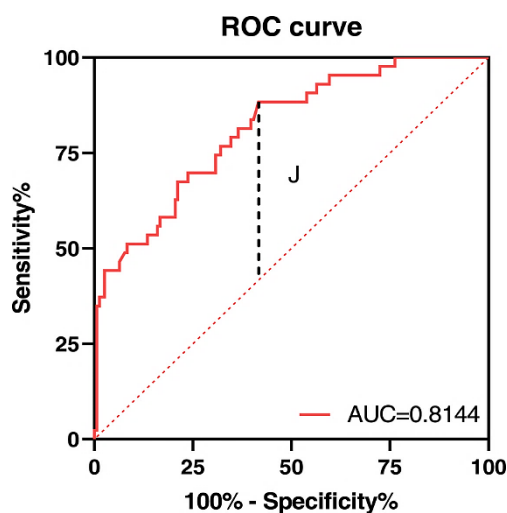
V rámci analýzy je poskytnut výčet jednotlivých hodnot proměnné s přiřazenou senzitivitou, specificitou, negativní a pozitivní prediktivní hodnotou (NPV, PPV) a pravděpodobnostní poměry (+LR, –LR). [108]

Senzitivita je schopnost testu správně diagnostikovat nemocného jedince. Specificita je schopnost testu negativně vyhodnotit zdravé jedince. Pozitivní prediktivní hodnota je podíl správně pozitivních výsledků (TP) ze všech pozitivních výsledků (TP + FP). Negativní prediktivní hodnota je podíl správně negativních výsledků (TN) ze všech negativních výsledků (TN + FN). Pravděpodobnostní poměr pro pozitivní test (+LR) značí schopnost výsledku odlišit nemocného od zdravého jedince. Pravděpodobnostní poměr pro negativní test (–LR) značí míru pravděpodobnosti, kdy test mylně označí nemocného jedince za zdravého. [108]

Pozitivní výsledek testu	Správně pozitivní (TP)	Falešně pozitivní (FP)	PPV: TP/ (TP + FP)
Negativní výsledek testu	Falešně negativní (FN)	Správně negativní (TN)	NPV: TN/ (TN + FN)
	Senzitivita: TP/ (TP + FN)	Specifická: TN/ (FP + TN)	

**Obrázek 19 – Senzitivita, Specifická, Negativní a pozitivní prediktivní hodnota (NPV/PPV)  
(upraveno z: Sil, 2021) [109]**

Z ROC křivky je vyhodnocen nejvyšší Youdenův index J, který asociuje hodnotu kritéria proměnné pro rozlišení pozitivních a negativních výsledků při pozorování ne/přítomnosti daného jevu. Youdenův index J je zjištěn jako nejdelší svislá vzdálenost ROC křivky od diagonály vedoucí od bodu [0,0] k bodu [100,100]. Protínající bod na ROC křivce je hledané asociované kritérium proměnné. Asociované kritérium lze použít jako cut-off hodnotu. Standardně se Youdenův index vypočítává ze vzorce  $J = \text{senzitivita} + \text{specifická} - 1$ . [108]



**Obrázek 20 – ROC křivka s odvozeným Youdenovým indexem  
(Yan, 2017) [110]**

### 6.3.3 JMP 18.0.1

#### Mozaikový graf

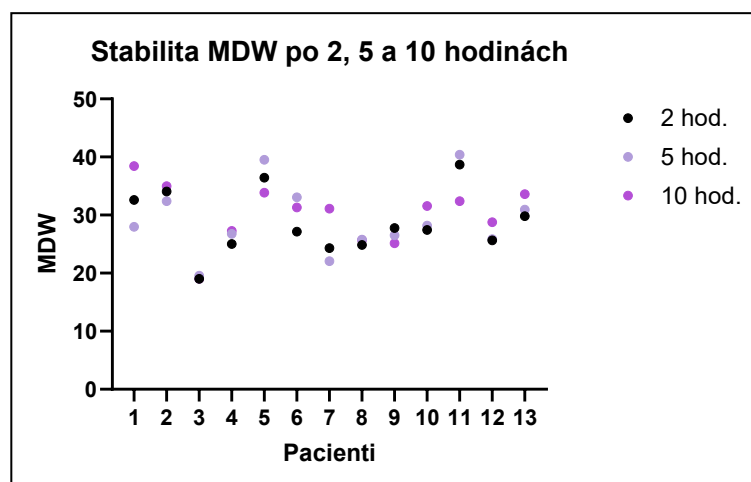
Jednotlivé četnosti obsažené v kontingenčních tabulkách lze graficky znázornit pomocí mozaikových grafů. Graf umožňuje vizualizovat rozdělení dat na základě závislosti 2 kvalitativních znaků s uvedením absolutních/relativních četností.

## 6.4 VÝSLEDKY

### 6.4.1 Stabilita parametru MDW v čase

Měření stability parametru MDW bylo provedeno celkově u 13 septických pacientů v jednotlivých časových intervalech od okamžiku odběru. Výsledné hodnoty parametru MDW změřeného v čase 2 hodin byly stanoveny jako referenční, jelikož výrobce Beckman Coulter Diagnostics v limitacích pro parametr MDW v rámci dodatku k aplikaci časného markeru sepse (ESId) uvádí, že je nutno MDW vyšetřit do 2 hodin od okamžiku odběru vzorku. [97]

Pacientům byl odebrán vzorek plné žilní krve do jedné zkumavky s K<sub>3</sub>EDTA. Vzorek byl transportován svozem do Městské nemocnice Ostrava (MNO). Před vlastním laboratorním vyšetřením vzorku byly dodrženy požadavky preanalytické fáze (příprava pacienta před odběrem, odběr krve, transport z místa odběru do laboratoře a příprava vzorku před vyšetřením). Vzorek nesrážlivé krve s K<sub>3</sub>EDTA byl vyšetřen na hematologickém analyzátoru DxH 900. Parametr MDW byl měřen v jednotlivých časových intervalech od okamžiku odběru: 2 hodiny (doporučení výrobce), 5 hodin (doporučení laboratorní sekce ČHS) a 10 hodin. Výsledky byly zaznamenány do grafu, proloženy funkcí a statisticky vyhodnoceny ve statistickém programu GraphPad. Data byla nejprve testována na normalitu pomocí D'Agostino-Pearsonova testu, Anderson-Darlingova testu, Shapiro-Wilkova testu a Kolmogorov-Smirnova testu. Normalita byla pro všechny skupiny potvrzena většinou testů (P hodnota <0,05). Pro statistické vyhodnocování byly proto používány parametrické testy. [51] [97]

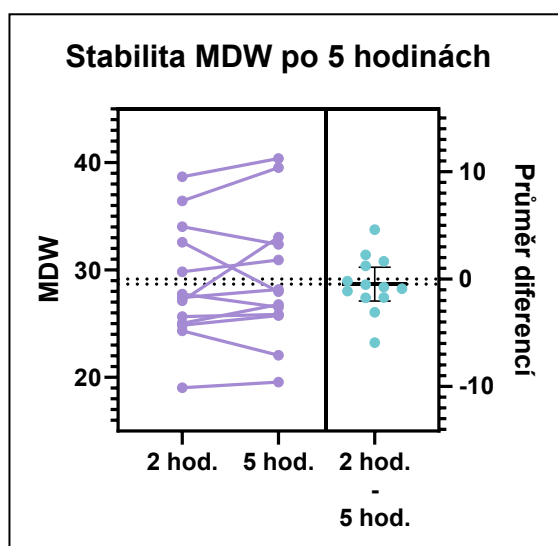


**Graf 1 – Stabilita parametru MDW po 2, 5 a 10 hodinách  
(GraphPad, vlastní data)**

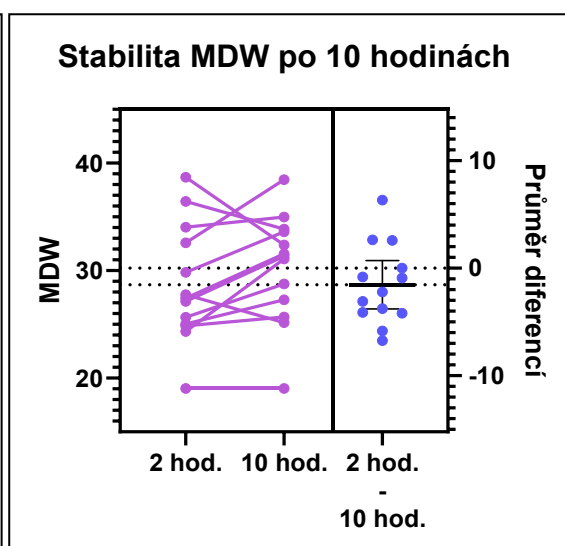


**Tabulka 13 – Stabilita parametru MDW po 2 hod., 5 hod. a 10 hod. (vlastní data)**

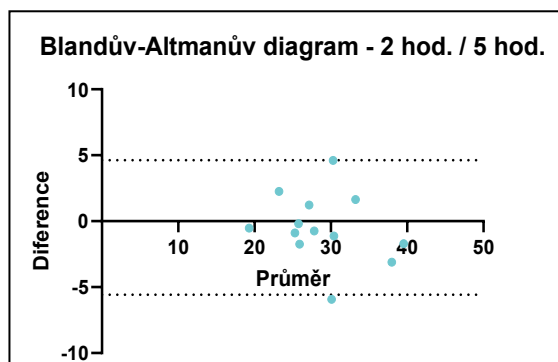
Vzorek	2 hodiny (referenční)	5 hodin	10 hodin	Trend	Změna interpretace výsledku
1	32,59	27,99	38,45	-/+	ne
2	34,05	32,4	34,99	-/+	ne
3	19,03	19,56	19,04	+	ne
4	25,04	26,79	27,28	+	ne
5	36,43	39,53	33,87	+/-	ne
6	27,13	33,06	31,33	+	ne
7	24,33	22,07	31,09	-/+	ne
8	24,86	25,75	25,69	+	ne
9	27,77	26,54	25,16	-	ne
10	27,44	28,18	31,57	+	ne
11	38,69	40,4	32,38	+/-	ne
12	25,66	25,85	28,77	+	ne
13	29,83	30,95	33,61	+	ne



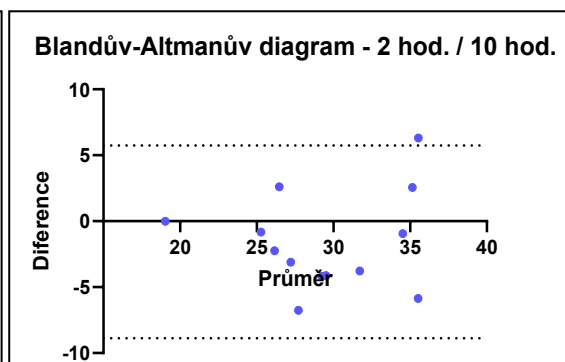
**Graf 2 – Stabilita MDW po 5 hodinách (GraphPad, vlastní data)**



**Graf 3 – Stabilita MDW po 10 hodinách (GraphPad, vlastní data)**



**Graf 4 – Blandův-Altmanův diagram MDW po 5 hodinách (GraphPad, vlastní data)**



**Graf 5 – Blandův-Altmanův diagram MDW po 10 hodinách (GraphPad, vlastní data)**

**Tabulka 14 – Oboustranný párový t-test pro porovnání MDW 2 hodin vs. 5 hodin (GraphPad, vlastní data)**

Oboustranný párový t-test	MDW (2 hod. vs. 5 hod.)
P hodnota	<b>0,520</b>
Souhrn P hodnoty	<b>nesignifikantní (ns)</b>
Je signifikantní rozdíl (P <0,05)?	<b>Ne</b>
Počet párů	13

**Tabulka 15 – Oboustranný párový t-test pro porovnání MDW 2 hodin vs. 10 hodin (GraphPad, vlastní data)**

Oboustranný párový t-test	MDW (2 hod. vs. 10 hod.)
P hodnota	<b>0,155</b>
Souhrn P hodnoty	<b>nesignifikantní (ns)</b>
Je signifikantní rozdíl (P <0,05)?	<b>Ne</b>
Počet párů	13

**Tabulka 16 – Jednofaktorová bloková ANOVA (GraphPad, vlastní data)**

Parametrická bloková jednofaktorová ANOVA	MDW (2 hod. vs. 5 hod. vs. 10 hod.)
P hodnota	<b>0,335</b>
Souhrn P hodnoty	<b>nesignifikantní (ns)</b>
Je signifikantní rozdíl (P <0,05)?	<b>Ne</b>
P hodnota efektu blokování	<b>&lt;0,0001</b>
Je blokování signifikantní (efektivní)?	<b>Ano</b>
Počet skupin	3

**Tabulka 17 – Blandův-Altmanův diagram (GraphPad, vlastní data)**

Blandův-Altmanův diagram	Bias	95% CI Biasu	SD biasu
<b>2 hod. vs. 5 hod.</b>	-0,479	-5,577 až 4,620	2,601
<b>2 hod. vs. 10 hod.</b>	-1,568	-8,869 až 5,734	3,725

CI – Interval spolehlivosti

SD – Směrodatná odchylka

### Stabilita po 5 hodinách

Výsledné hodnoty MDW měřené po 5 hodinách od okamžiku odběru byly statisticky vyhodnoceny v porovnání s referenčními výsledky MDW měřenými po 2 hodinách od okamžiku odběru. Pro zjištění statistické významnosti rozdílu hodnot (absolutní difference) MDW u pacienta po 5 hodinách od odběru byl použit oboustranný párový

t-test. Výsledná P hodnota vyšla 0,520, čímž byla vyšší než hladina významnosti  $\alpha = 0,05$ . Na základě toho nebyla zamítnuta nulová hypotéza a platí, že nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi hodnotami MDW po 2 a 5 hodinách. Současně nedošlo ke změně interpretace výsledku MDW (pozitivita vs. negativita) po 5 hodinách na základě cut-off hodnoty MDW  $>21,5$ . (viz tabulka 14) (viz graf 2)

### **Stabilita po 10 hodinách**

Výsledné hodnoty MDW měřené po 10 hodinách od okamžiku odběru byly statisticky vyhodnoceny v porovnání s referenčními výsledky MDW měřenými po 2 hodinách od okamžiku odběru. Pro zjištění statistické významnosti rozdílu hodnot (absolutní difference) MDW u pacienta po 10 hodinách od odběru byl použit oboustranný párový t-test. Výsledná P hodnota vyšla 0,155, čímž byla vyšší než hladina významnosti  $\alpha = 0,05$ . Na základě toho nebyla zamítnuta nulová hypotéza a platí, že nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi hodnotami MDW po 2 a 10 hodinách. Současně nedošlo ke změně interpretace výsledku MDW (pozitivita vs. negativita) po 10 hodinách na základě cut-off hodnoty MDW  $>21,5$ . (viz tabulka 15) (viz graf 3)

### **Jednofaktorová bloková ANOVA (One-way matched ANOVA)**

Pro porovnání rozdílů hodnot parametru MDW v časech 2 hodin, 5 hodin a 10 hodin u jednotlivých pacientů byla pro statistiku použita parametrická bloková (matched) jednofaktorová (one-way) ANOVA. Výsledná P hodnota parametru MDW vyšla 0,335. P hodnota byla vyšší než hladina významnosti  $\alpha = 0,05$ . Na základě toho nebyla zamítnuta nulová hypotéza a platí, že nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi hodnotami MDW v časech 2 hodin, 5 hodin a 10 hodin. Současně nedošlo ke změně interpretace výsledku MDW (pozitivita vs. negativita) v jednotlivých časech na základě cut-off hodnoty MDW  $>21,5$ . (viz tabulka 16) (viz graf 1)

### **Blandův-Altmanův diagram**

Blandův-Altmanův diagram vyhodnotil difference vzhledem k průměrům hodnot MDW mezi 2 hodinami (referenční) vs. 5 hodinami a 2 hodinami vs. 10 hodinami. Výsledný bias při porovnání 2 hod. vs. 5 hod. vyšel -0,479. Při porovnání 2 hod. vs. 10 hod. vyšel výsledný bias -1,568. (viz tabulka 17) (viz graf 4) (viz graf 5)

## 6.4.2 Opakovatelnost MDW a $MO_{rel}$ v sérii

Pro parametry MDW a  $MO_{rel}$  byla provedena opakovatelnost v sérii na hematologickém analyzátoru DxH 900 u 1 zdravého dárce s fyziologickou hodnotou MDW a 2 pacientů s patologickou hodnotou MDW.

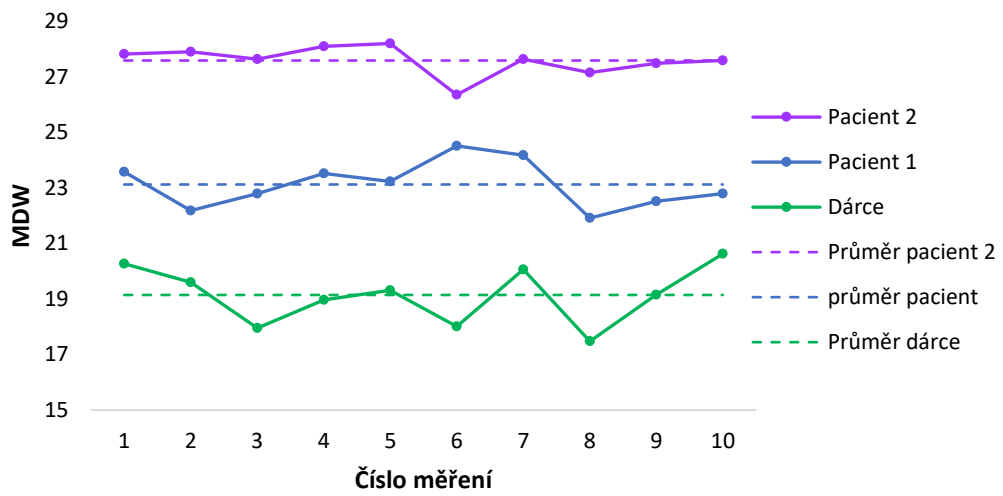
Vzorek plné krve byl odebrán do zkumavky s antikoagulačním činidlem  $K_3EDTA$  a následně byl transportován do laboratoře MNO. Před vlastním vyšetřením byly dodrženy požadavky preanalytické fáze (příprava zdravého dárce/pacienta před odběrem, strategie odběru, transport vzorku z místa odběru do laboratoře a příprava vzorku před vyšetřením). Parametry MDW a  $MO_{rel}$  byly měřeny celkem 10krát ve stejném vzorku. Výsledky byly vyhodnoceny pomocí deskriptivní statistiky ve statistickém programu GraphPad, variační koeficienty (CV) byly porovnány s limity  $CV \leq 10\%$  a byly zaznamenány do grafů. (viz graf 6) (viz graf 7) [66]

**Tabulka 18 – Opakovatelnost MDW a  $MO_{rel}$  v sérii u dárců a pacientů (GraphPad, vlastní data)**

Dárce/Pacient		Min	Max	Průměr	95% CI		2 SD	CV [%]	CV limit [%]
					Spodní	Horní			
Dárce	$MO_{rel}$	0,106	0,119	0,111	0,106	0,116	0,10	6,02	$\leq 10$
	MDW	17,48	20,63	19,15	18,39	19,91	2,12	5,53	$\leq 10$
Pacient 1	$MO_{rel}$	0,068	0,082	0,075	0,072	0,078	0,01	5,00	$\leq 10$
	MDW	21,92	24,5	23,13	22,53	23,73	1,68	3,64	$\leq 10$
Pacient 2	$MO_{rel}$	0,158	0,171	0,166	0,163	0,169	0,01	2,58	$\leq 10$
	MDW	26,36	28,21	27,60	27,16	28,03	1,12	2,04	$\leq 10$

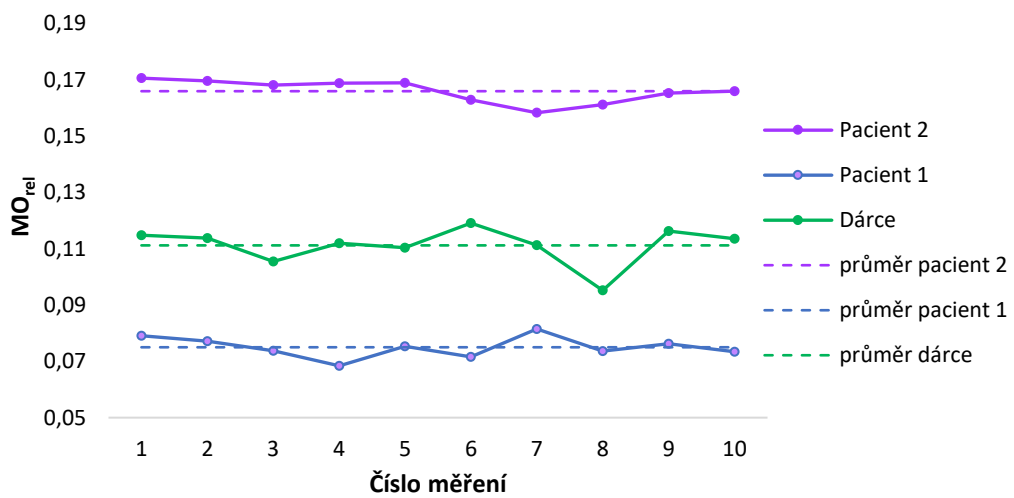
Min – Minimální hodnota  
 Max – Maximální hodnota  
 CI – Interval spolehlivosti  
 SD – Směrodatná odchylka  
 CV – Variační koeficient

### Opakovatelnost v sérii – MDW



Graf 6 – Opakovatelnost MDW v sérii  
(MS Excel, vlastní data)

### Opakovatelnost v sérii – $MO_{rel}$



Graf 7 – Opakovatelnost  $MO_{rel}$  v sérii  
(MS Excel, vlastní data)

### **Dárce s fyziologickým MDW**

Výsledná průměrná hodnota parametru  $MO_{rel}$  všech měření vyšla 0,111 (95% CI 0,106–0,116). Hodnota se nacházela v rámci referenčního rozmezí (0,02–0,12). Hodnota dvojnásobku směrodatné odchylky (2SD) vyšla 0,01. Variační koeficient vyšel 6,02 %, čímž splňoval kritérium opakovatelnosti v sérii pro  $MO_{rel}$  ( $\leq 10$  %). Výsledná průměrná hodnota parametru  $MDW_p$  všech měření vyšla 19,15 (95% CI 18,39–19,91). Hodnota se nacházela v rámci referenčního rozmezí (cut-off  $>21,5$ ). Hodnota dvojnásobku směrodatné odchylky (2SD) vyšla 2,12. Variační koeficient vyšel 5,53 %, čímž splňoval kritérium opakovatelnosti v sérii pro MDW ( $\leq 10$  %). (viz tabulka 18)

### **Pacient 1 s patologickým MDW**

Výsledná průměrná hodnota parametru  $MO_{rel}$  všech měření vyšla 0,075 (95% CI 0,072–0,078). Hodnota se nacházela v rámci referenčního rozmezí (0,02–0,12). Hodnota dvojnásobku směrodatné odchylky (2SD) vyšla 0,008. Variační koeficient vyšel 5,00 %, čímž splňoval kritérium opakovatelnosti v sérii pro  $MO_{rel}$  ( $\leq 10$  %). Výsledná průměrná hodnota parametru  $MDW_p$  všech měření vyšla 23,13 (95% CI 22,53–23,73). Hodnota se nacházela mimo referenční rozmezí (cut-off  $>21,5$ ). Hodnota dvojnásobku směrodatné odchylky (2SD) vyšla 1,68. Variační koeficient vyšel 3,64 %, čímž splňoval kritérium opakovatelnosti v sérii pro MDW ( $\leq 10$  %). (viz tabulka 18)

### **Pacient 2 s patologickým MDW**

Výsledná průměrná hodnota parametru  $MO_{rel}$  všech měření vyšla 0,166 (95% CI 0,163–0,169). Hodnota se nacházela mimo referenční rozmezí (0,02–0,12). Hodnota dvojnásobku směrodatné odchylky (2SD) vyšla 0,004. Variační koeficient vyšel 2,58 %, čímž splňoval kritérium opakovatelnosti v sérii pro  $MO_{rel}$  ( $\leq 10$  %). Výsledná průměrná hodnota parametru  $MDW_p$  všech měření vyšla 27,60 (95% CI 27,16–28,03). Hodnota se nacházela mimo referenční rozmezí (cut-off  $>21,5$ ). Hodnota dvojnásobku směrodatné odchylky (2SD) vyšla 1,12. Variační koeficient vyšel 2,04 %, čímž splňoval kritérium opakovatelnosti v sérii pro MDW (10 %). (viz tabulka 18)

### **6.4.3 Porovnání vybraných laboratorních markerů pro časný záchyt sepsě**

Vybrané parametry byly vyšetřeny u 22 septických pacientů v den záchytu sepsě v porovnání se 38 zdravými kontrolními dárči.

Pacientům byly odebrány vzorky plné žilní krve do zkumavky s K<sub>3</sub>EDTA a do zkumavky s heparinem lithným. Vzorky byly vyšetřeny nejprve ve Fakultní nemocnici v Ostravě (FNO). Na Oddělení klinické hematologie (OKH FNO) byl ze vzorků nesrážlivé krve vyšetřen krevní obraz spolu s diferenciálním rozpočtem leukocytů a počtem retikulocytů na hematologickém analyzátoru XN-9000 a následně byl vypočten poměr NLR a ICIS skóre. Na Oddělení klinické biochemie (OKB FNO) byly ze vzorků krevní plazmy pro porovnání vyšetřeny zánětlivé biomarkery C-reaktivní protein (CRP), prokalcitonin (PCT) a interleukin 6 (IL-6) na biochemickém analyzátoru Atellica CH 930 Analyzer. Biomarker presepsin byl vyšetřen z alikvoty vytvořené biochemickou linkou na přístroji Pathfast.

Následně byly vzorky nesrážlivé krve s K<sub>3</sub>EDTA transportovány do Městské nemocnice Ostrava na oddělení Klinické hematologie (KH MNO). Před vlastním laboratorním vyšetřením vzorků byly dodrženy požadavky preanalytické fáze (příprava dárce/pacienta před odběrem, odběr krve, transport z místa odběru do laboratoře a příprava vzorku před vyšetřením). Vzorky byly měřeny na analyzátoru DxH 900. Kontrolní skupina dárců byla měřena v Městské nemocnici Ostrava (MNO) na analyzátoru DxH 900. Výsledky byly vyhodnoceny pomocí statistických programů MedCalc a GraphPad.

### 6.4.3.1 Parametr MDW při záchytu sepse

Parametr MDW byl vyhodnocen z výsledků 22 pacientů (N = 22) a 38 zdravých dárců (N = 38) pomocí ROC analýzy s odhadovanou váhou výsledků (FP: 1, FN: 2, TP: 0, TN: 0) ve statistickém programu MedCalc. Z grafu byla statisticky vyhodnocena plocha pod křivkou (AUC), Youdenův index J s asociovaným kritériem a optimální kritérium. Současně byl uveden výčet jednotlivých kritérií pro MDW s vypočteným Youdenovým indexem J, senzitivitou, specificitou, negativní a pozitivní prediktivní hodnotou a pravděpodobnostními poměry s přidruženými 95% intervaly spolehlivosti. Kritéria byla porovnána se stanovenou cut-off MDW >21,5 danou výrobcem Beckman Coulter.

**Tabulka 19 – ROC analýza MDW k rozlišení mezi sepsí a nepřítomností sepse (MedCalc, vlastní data)**

Plocha pod ROC křivkou (AUC)	<b>0,971</b>
95% CI AUC	(0,892–0,997)
<b>Youdenův index J</b>	<b>0,8684</b>
<b>Asociované kritérium k Youdenovu indexu J</b>	<b>&gt;20,43</b>
Senzitivita / Specificita asociovaného kritéria [%]	100,00 / 86,84
<b>Optimální kritérium</b>	<b>&gt;21,41</b>
Senzitivita / Specificita optimálního kritéria [%]	86,36 / 94,74

CI – Interval spolehlivosti

**Tabulka 20 – Jednotlivá kritéria MDW poblíž kritéria asociovaného Youdenovým indexem J (MedCalc, vlastní data)**

Kritéria MDW	Senzitivita [%]	95% CI (Senzitivita)	Specificita [%]	95% CI (Specificita)	Youdenův index J
>19,94	100,00	84,6–100,0	84,21	68,7–94,0	0,8421
<b>&gt;20,43</b>	<b>100,00</b>	<b>84,6–100,0</b>	<b>86,84</b>	<b>71,9–95,6</b>	<b>0,8684</b>
>20,93	95,45	77,2–99,9	86,84	71,9–95,6	0,8229
>21,17	90,91	70,8–98,9	86,84	71,9–95,6	0,7775
>21,19	90,91	70,8–98,9	89,47	75,2–97,1	0,8038
>21,32	86,36	65,1–97,1	89,47	75,2–97,1	0,7583
>21,35	86,36	65,1–97,1	92,11	78,6–98,3	0,7847
<b>&gt;21,41</b>	<b>86,36</b>	<b>65,1–97,1</b>	<b>94,74</b>	<b>82,3–99,4</b>	<b>0,8110</b>
>21,91	81,82	59,7–94,8	94,74	82,3–99,4	0,7656

CI – Interval spolehlivosti



**Tabulka 21 – Kritérium MDW >20,55 asociované Youdenovým indexem J z ROC křivky (MedCalc, vlastní data)**

MDW >20,43	Senzitivita [%]	Specifická [%]	Prediktivní hodnoty (PPV/NPV) [%]		Likelihood ratios (LR+/-)	
			Positivní	Negativní	Positivní	Negativní
			Průměr	100	86,84	45,8
Spodní 95% CI	84,6	71,9	27,2	-	3,36	-
Horní 95% CI	100	95,6	65,7	-	17,20	-

CI – Interval spolehlivosti

PPV – Pozitivní prediktivní hodnota

NPV – Negativní prediktivní hodnota

Likelihood ratios – Míry pravděpodobnosti (Pravděpodobnostní poměry)

**Tabulka 22 – Optimální kritérium MDW >21,41 z ROC křivky (MedCalc, vlastní data)**

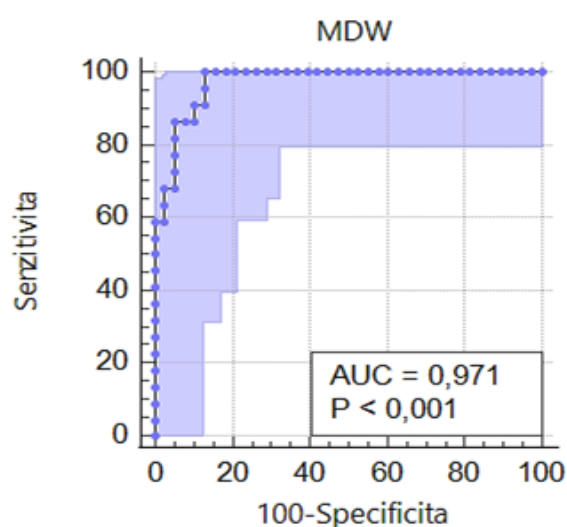
MDW >21,41	Senzitivita [%]	Specifická [%]	Prediktivní hodnoty (PPV/NPV) [%]		Likelihood ratios (LR+/-)	
			Positivní	Negativní	Positivní	Negativní
			Průměr	86,36	94,74	64,6
Spodní 95% CI	65,1	82,3	31,9	95,6	4,22	0,05
Horní 95% CI	97,1	99,4	87,7	99,4	63,88	0,41

CI – Interval spolehlivosti

PPV – Pozitivní prediktivní hodnota

NPV – Negativní prediktivní hodnota

Likelihood ratios – Míry pravděpodobnosti (Pravděpodobnostní poměry)



**Graf 8 – ROC analýza parametru MDW při zachytu sepse (MedCalc, vlastní data)**

Výsledná hodnota AUC pro parametr MDW vyšla 0,971 (95% CI 0,892–0,997). Youdenův index J vyšel 0,8684. (viz tabulka 19) (viz graf 8)

Kritériem asociovaným s Youdenovým indexem J bylo vyhodnoceno MDW >20,43 o senzitivě 100 % (95% CI 84,6–100) a specifitě 86,84 % (95% CI 71,9–95,6). Pozitivní prediktivní hodnota kritéria vyšla 45,8 % (95% CI 27,2–65,7). Negativní prediktivní hodnota vyšla 100 %. Praviděpodobnostní poměr pro pozitivní výsledek (LR+) vyšel 7,6 (95% CI 3,36–17,20). Praviděpodobnostní poměr pro negativní výsledek (LR-) vyšel 0. (viz tabulka 19) (viz tabulka 21)

Z nabídnutých kritérií MDW bylo vyhodnoceno optimální kritérium MDW >21,41 o senzitivě 86,36 % (95% CI 65,1–97,1) a specifitě 94,74 % (95% CI 82,3–99,4). Pozitivní prediktivní hodnota kritéria vyšla 64,6 % (95% CI 31,9–87,7). Negativní prediktivní hodnota vyšla 98,4 % (95% CI 95,6–99,4). Praviděpodobnostní poměr pro pozitivní výsledek (LR+) vyšel 16,41 (95% CI 4,22–63,88). Praviděpodobnostní poměr pro negativní výsledek (LR-) vyšel 0,14 (95% CI 0,05–0,41). (viz tabulka 19) (viz tabulka 20) (viz tabulka 22)

### 6.4.3.2 Parametr NLR při záchytu sepse

Parametr NLR byl vyhodnocen z výsledků 22 pacientů (N = 22) a 38 zdravých dárců (N = 38) pomocí ROC analýzy s odhadovanou váhou výsledků (FP: 1, FN: 2, TP: 0, TN: 0) ve statistickém programu MedCalc. Z grafu byla statisticky vyhodnocena plocha pod křivkou (AUC), Youdenův index J s asociovaným kritériem a optimální kritérium. Současně byl u kritérií pro NLR uveden vypočtený Youdenův index, senzitivita, specifická, negativní a pozitivní prediktivní hodnota a pravděpodobnostní poměry s přidruženými 95% intervaly spolehlivosti.

**Tabulka 23 – ROC analýza NLR k rozlišení mezi sepsí a nepřítomností sepse (MedCalc, vlastní data)**

<b>Plocha pod ROC křivkou (AUC)</b>	<b>0,955</b>
95% CI AUC	(0,867–0,992)
<b>Youdenův index J</b>	<b>0,9545</b>
<b>Asociované kritérium k Youdenovu indexu J</b>	<b>&gt;3,16</b>
Senzitivita / Specifická asociovaného kritéria [%]	95,45 / 100,00
<b>Optimální kritérium</b>	<b>&gt;3,16</b>
Senzitivita / Specifická optimálního kritéria [%]	95,45 / 100,00

CI – Interval spolehlivosti

**Tabulka 24 – Kritérium NLR >3,16 asociované s Youdenovým indexem J z ROC křivky (MedCalc, vlastní data)**

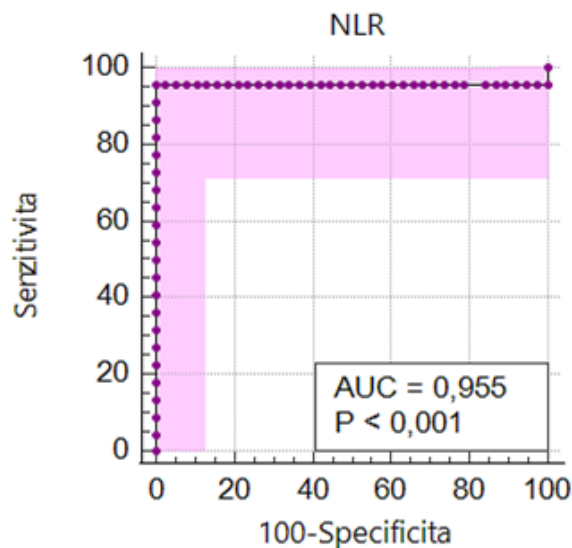
NLR >3,16	Senzitivita [%]	Specifická [%]	Prediktivní hodnoty (PPV/NPV) [%]		Likelihood ratios (LR+/-)	
			Pozitivní	Negativní	Pozitivní	Negativní
<b>Průměr</b>	95,45	100	100	99,5	0	0,045
<b>Spodní 95% CI</b>	77,2	90,7	-	96,7	-	0,0067
<b>Horní 95% CI</b>	99,9	100	-	99,9	-	0,31

CI – Interval spolehlivosti

PPV – Pozitivní prediktivní hodnota

NPV – Negativní prediktivní hodnota

Likelihood ratios – Míry pravděpodobnosti (Pravděpodobnostní poměry)



**Graf 9 – ROC analýza parametru NLR při záchytu sepse  
(MedCalc, vlastní data)**

Výsledná hodnota AUC pro parametr NLR vyšla 0,955 (95% CI 0,867–0,992). Youdenův index J vyšel 0,9545. (viz tabulka 23) (viz graf 9)

Kritériem asociovaným s Youdenovým indexem J a zároveň optimálním kritériem bylo vyhodnoceno NLR >3,16 o senzitivě 95,45 % (95% CI 77,2–99,9) a specificitě 100 % (95% CI 90,7–100). Pozitivní prediktivní hodnota kritéria vyšla 100 %. Negativní prediktivní hodnota vyšla 99,5 % ((95% CI 96,7–99,9). Pravděpodobnostní poměr pro pozitivní výsledek (LR+) vyšel 0. Pravděpodobnostní poměr pro negativní výsledek (LR-) vyšel 0,045 (95% CI 0,0067–0,31). (viz tabulka 23) (viz tabulka 24)

### 6.4.3.3 Parametr WBC při záchytu sepse

Parametr WBC byl vyhodnocen z výsledků 22 pacientů (N = 22) a 38 zdravých dárců (N = 38) pomocí ROC analýzy s odhadovanou váhou výsledků (FP: 1, FN: 2, TP: 0, TN: 0) ve statistickém programu MedCalc. Z grafu byla statisticky vyhodnocena plocha pod křivkou (AUC), Youdenův index J s asociovaným kritériem a optimální kritérium. Současně byl u kritérií pro WBC uveden vypočtený Youdenův index, senzitivita, specifická, negativní a pozitivní prediktivní hodnota a pravděpodobnostní poměry s přidruženými 95% intervaly spolehlivosti.

**Tabulka 25 – ROC analýza WBC k rozlišení mezi sepsí a nepřítomností sepse (MedCalc, vlastní data)**

<b>Plocha pod ROC křivkou (AUC)</b>	<b>0,867</b>
95% CI AUC	(0,755–0,941)
<b>Youdenův index J</b>	<b>0,7919</b>
<b>Asociované kritérium k Youdenovu indexu J</b>	<b>&gt;9,6</b>
Senzitivita / Specifická asociovaného kritéria [%]	81,82 / 97,37
<b>Optimální kritérium</b>	<b>&gt;9,7</b>
Senzitivita / Specifická optimálního kritéria [%]	77,27 / 100,00

CI – Interval spolehlivosti

**Tabulka 26 – Kritérium WBC >9,6 asociované s Youdenovým indexem J z ROC křivky (MedCalc, vlastní data)**

WBC >9,6	Senzitivita [%]	Specifická [%]	Prediktivní hodnoty (PPV/NPV) [%]		Likelihood ratios (LR+/-)	
			Pozitivní	Negativní	Pozitivní	Negativní
<b>Průměr</b>	81,82	97,37	77,6	98,0	31,09	0,19
<b>Spodní 95% CI</b>	59,7	86,2	33,1	95,2	4,45	0,077
<b>Horní 95% CI</b>	94,8	99,9	96,0	99,2	217,23	0,45

CI – Interval spolehlivosti

PPV – Pozitivní prediktivní hodnota

NPV – Negativní prediktivní hodnota

Likelihood ratios – Míry pravděpodobnosti (Pravděpodobnostní poměry)

**Tabulka 27 – Optimální kritérium WBC >9,7 z ROC křivky (MedCalc, vlastní data)**

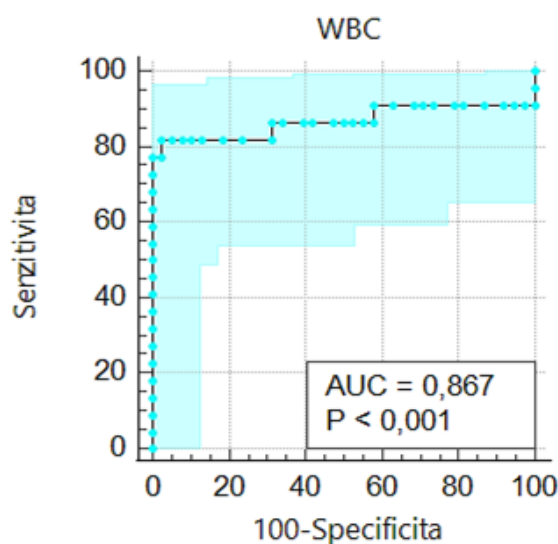
WBC >9,7	Senzitivita [%]	Specifická [%]	Prediktivní hodnoty (PPV/NPV) [%]		Likelihood ratios (LR+/-)	
			Positivní	Negativní	Positivní	Negativní
			Průměr	77,27	100	100
Spodní 95% CI	54,6	90,7	-	94,8	-	0,11
Horní 95% CI	92,2	100	-	98,8	-	0,49

CI – Interval spolehlivosti

PPV – Pozitivní prediktivní hodnota

NPV – Negativní prediktivní hodnota

Likelihood ratios – Míry pravděpodobnosti (Pravděpodobnostní poměry)



**Graf 10 – ROC analýza parametru WBC při zachytu sepse (MedCalc, vlastní data)**

Výsledná hodnota AUC pro parametr WBC vyšla 0,867 (95% CI 0,755–0,941). Youdenův index J vyšel 0,7919. (viz tabulka 25) (viz graf 10)

Kritériem asociovaným s Youdenovým indexem J bylo vyhodnoceno WBC >9,6 o senzitivě 81,82 % (95% CI 59,7–94,8) a specifitě 97,37 % (95% CI 86,2–99,9). Pozitivní prediktivní hodnota kritéria vyšla 77,6 % (95% CI 33,1–96,0). Negativní prediktivní hodnota vyšla 98,0 % (95% CI 95,2–99,2). Pravděpodobnostní poměr pro pozitivní výsledek (LR+) vyšel 31,09 (95% CI 4,45–217,23). Pravděpodobnostní poměr pro negativní výsledek (LR-) vyšel 0,19 (95% CI 0,077–0,45). (viz tabulka 25) (viz tabulka 26)

Z nabídnutých kritérií WBC bylo vyhodnoceno optimální kritérium WBC >9,7 o senzitivitě 77,27 % (95% CI 54,6–92,2) a specificitě 100 % (95% CI 90,7–100). Pozitivní prediktivní hodnota kritéria vyšla 100 %. Negativní prediktivní hodnota kritéria vyšla 97,5 % (95% CI 94,8–98,8). Pravděpodobnostní poměr pro negativní výsledek (LR-) vyšel 0,23 (95% CI 0,11–0,49). (viz tabulka 25) (viz tabulka 27)

#### 6.4.3.4 Parametr MO<sub>#</sub> při záchytu sepsy

Parametr MO<sub>#</sub> byl vyhodnocen z výsledků 22 pacientů (N = 22) a 38 zdravých dárců (N = 38) pomocí ROC analýzy s odhadovanou váhou výsledků (FP: 1, FN: 2, TP: 0, TN: 0) ve statistickém programu MedCalc. Z grafu byla statisticky vyhodnocena plocha pod křivkou (AUC), Youdenův index J s asociovaným kritériem a optimální kritérium. Současně byl u kritérií pro MO<sub>#</sub> uveden vypočtený Youdenův index, senzitivita, specifická, negativní a pozitivní prediktivní hodnota a pravděpodobnostní poměry s přidruženými 95% intervaly spolehlivosti.

**Tabulka 28 – ROC analýza MO<sub>#</sub> k rozlišení mezi sepsí a nepřítomností sepsy (MedCalc, vlastní data)**

<b>Plocha pod ROC křivkou (AUC)</b>	<b>0,709</b>
95% CI AUC	(0,578–0,819)
<b>Youdenův index J</b>	<b>0,5239</b>
<b>Asociované kritérium k Youdenovu indexu J</b>	<b>&gt;0,7</b>
Senzitivita / Specifická asociovaného kritéria [%]	68,18 / 84,21
<b>Optimální kritérium</b>	<b>&gt;1</b>
Senzitivita / Specifická optimálního kritéria [%]	27,27 / 100

CI – Interval spolehlivosti

**Tabulka 29 – Kritérium MO<sub>#</sub>>0,7 asociované s Youdenovým indexem J z ROC křivky (MedCalc, vlastní data)**

MO <sub>#</sub> >0,7	Senzitivita [%]	Specifická [%]	Prediktivní hodnoty (PPV/NPV) [%]		Likelihood ratios (LR+/-)	
			Pozitivní	Negativní	Pozitivní	Negativní
<b>Průměr</b>	68,18	84,21	32,4	96,0	4,32	0,38
<b>Spodní 95% CI</b>	45,1	68,7	17,9	92,7	1,96	0,20
<b>Horní 95% CI</b>	86,1	94,0	51,3	97,8	9,49	0,71

CI – Interval spolehlivosti

PPV – Pozitivní prediktivní hodnota

NPV – Negativní prediktivní hodnota

Likelihood ratios – Míry pravděpodobnosti (Pravděpodobnostní poměry)



**Tabulka 30 – Optimální kritérium  $MO_{\#} > 1$  z ROC křivky (MedCalc, vlastní data)**

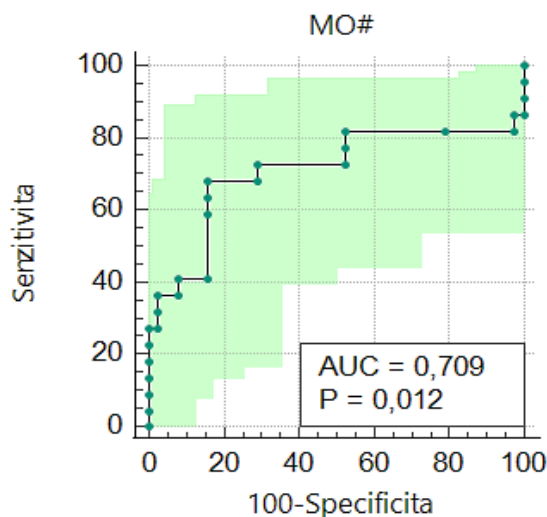
$MO_{\#} > 1$	Senzitivita [%]	Specifická [%]	Prediktivní hodnoty (PPV/NPV) [%]		Likelihood ratios (LR+/-)	
			Pozitivní	Negativní	Pozitivní	Negativní
Spodní 95% CI	10,7	90,7	-	90,5	-	0,56
Horní 95% CI	50,2	100	-	94,1	-	0,94

CI – Interval spolehlivosti

PPV – Pozitivní prediktivní hodnota

NPV – Negativní prediktivní hodnota

Likelihood ratios – Míry pravděpodobnosti (Pravděpodobnostní poměry)



**Graf 11 – ROC analýza parametru  $MO_{\#}$  při zachytu sepse (MedCalc, vlastní data)**

Výsledná hodnota AUC pro parametr  $MO_{\#}$  vyšla 0,709 (95% CI 0,578–0,819). Youdenův index J vyšel 0,5239. (viz tabulka 28) (viz graf 11)

Kritériem asociovaným s Youdenovým indexem J bylo vyhodnoceno  $MO_{\#} > 0,7$  o senzitivě 68,18 % (95% CI 45,1–86,1) a specifitě 84,21 % (95% CI 68,7–94,0) (viz tabulka 19). Pozitivní prediktivní hodnota kritéria vyšla 32,4 % (95% CI 17,9–51,3). Negativní prediktivní hodnota vyšla 96,0 % (95% CI 92,7–97,8). Pravděpodobnostní poměr pro pozitivní výsledek (LR+) vyšel 4,32 (95% CI 1,96–9,49). Pravděpodobnostní poměr pro negativní výsledek (LR-) vyšel 0,38 (95% CI 0,20–0,71). (viz tabulka 28) (viz tabulka 29)

Z nabídnutých kritérií  $MO_{\#}$  bylo vyhodnoceno optimální kritérium  $MO_{\#} >1$  o senzitivě 27,27 % (95% CI 10,7–50,2) a specificitě 100 % (95% CI 90,7–100). Pozitivní prediktivní hodnota kritéria vyšla 100 %. Negativní prediktivní hodnota kritéria vyšla 92,5 % (95% CI 90,5–94,1). Pravděpodobnostní poměr pro negativní výsledek (LR-) vyšel 0,73 (95% CI 0,56–0,94). (viz tabulka 28) (viz tabulka 30)

### 6.4.3.5 ICIS skóre při záchytu sepse

ICIS skóre bylo vyhodnoceno z výsledků 22 pacientů (N = 22) a 38 zdravých dárců (N = 38) pomocí ROC analýzy s odhadovanou váhou výsledků (FP: 1, FN: 2, TP: 0, TN: 0) ve statistickém programu MedCalc. Z grafu byla statisticky vyhodnocena plocha pod křivkou (AUC), Youdenův index J s asociovaným kritériem a optimální kritérium. Současně byl u kritérií pro ICIS skóre uveden vypočtený Youdenův index, senzitivita, specifická, negativní a pozitivní prediktivní hodnota a pravděpodobnostní poměry s přidruženými 95% intervaly spolehlivosti.

**Tabulka 31 – ROC analýza ICIS skóre k rozlišení mezi sepsí a nepřítomností sepse (MedCalc, vlastní data)**

Plocha pod ROC křivkou (AUC)	<b>0,953</b>
95% CI AUC	(0,865–0,991)
<b>Youdenův index J</b>	<b>0,8565</b>
<b>Asociované kritérium k Youdenovu indexu J</b>	<b>&gt;2</b>
Senzitivita / Specifická asociovaného kritéria [%]	90,91 / 94,74
<b>Optimální kritérium</b>	<b>&gt;3</b>
Senzitivita / Specifická optimálního kritéria [%]	86,36 / 97,37

CI – Interval spolehlivosti

**Tabulka 32 – Kritérium ICIS skóre >2 asociované s Youdenovým indexem J z ROC křivky (MedCalc, vlastní data)**

ICIS skóre >2	Senzitivita [%]	Specifická [%]	Prediktivní hodnoty (PPV/NPV) [%]		Likelihood ratios (LR+/-)	
			Pozitivní	Negativní	Pozitivní	Negativní
<b>Průměr</b>	90,91	94,74	65,7	98,9	17,27	0,096
<b>Spodní 95% CI</b>	70,8	82,3	33,1	96,1	4,45	0,026
<b>Horní 95% CI</b>	98,9	99,	88,2	99,7	66,99	0,36

CI – Interval spolehlivosti

PPV – Pozitivní prediktivní hodnota

NPV – Negativní prediktivní hodnota

Likelihood ratios – Míry pravděpodobnosti (Pravděpodobnostní poměry)

**Tabulka 33 – Optimální kritérium ICIS skóre >3 z ROC křivky (MedCalc, vlastní data)**

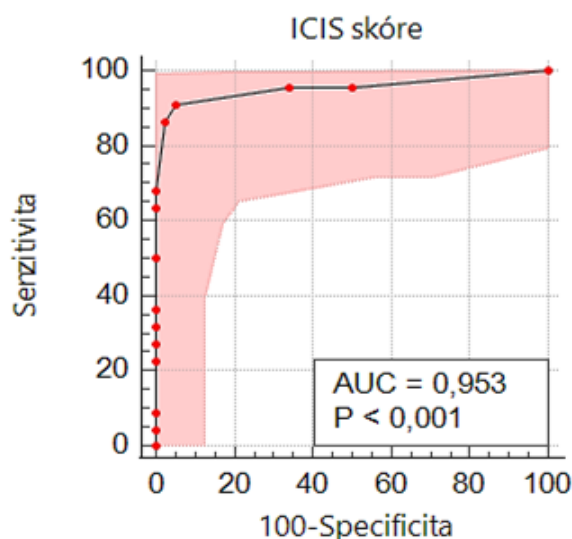
ICIS skóre >3	Senzitivita [%]	Specifická [%]	Prediktivní hodnoty (PPV/NPV) [%]		Likelihood ratios (LR+/-)	
			Pozitivní	Negativní	Pozitivní	Negativní
			Průměr	86,36	97,37	78,5
Spodní 95% CI	65,1	86,2	34,4	95,7	4,71	0,049
Horní 95% CI	97,1	99,9	96,2	99,5	228,64	0,41

CI – Interval spolehlivosti

PPV – Pozitivní prediktivní hodnota

NPV – Negativní prediktivní hodnota

Likelihood ratios – Míry pravděpodobnosti (Pravděpodobnostní poměry)



**Graf 12 – ROC analýza ICIS skóre při zachytu sepse (MedCalc, vlastní data)**

Výsledná hodnota AUC pro ICIS skóre vyšla 0,953 (95% CI 0,865–0,991). Youdenův index J vyšel 0,8565. (viz tabulka 31) (viz graf 12)

Kritériem asociovaným s Youdenovým indexem J bylo vyhodnoceno ICIS skóre >2 o senzitivě 90,91 % (95% CI 70,8–98,9). a specifitě 94,74 % (95% CI 82,3–99,4). Pozitivní prediktivní hodnota kritéria vyšla 65,7 % (95% CI 33,1–88,2). Negativní prediktivní hodnota vyšla 98,9 % (95% CI 96,1–99,7). Pravděpodobnostní poměr pro pozitivní výsledek (LR+) vyšel 17,27 (95% CI 4,45–66,99). Pravděpodobnostní poměr pro negativní výsledek (LR-) vyšel 0,096 (95% CI 0,026–0,36). (viz tabulka 31) (viz tabulka 32)

Z nabídnutých kritérií MO# bylo vyhodnoceno optimální kritérium ICIS skóre >3 o senzitivě 86,36 % (95% CI 65,1–97,1). a specificitě 97,37 % (95% CI 86,2–99,9). Pozitivní prediktivní hodnota kritéria vyšla 32,82 % (95% CI 34,4–96,2). Negativní prediktivní hodnota vyšla 98,5 % (95% CI 95,7–99,5). Pravděpodobnostní poměr pro pozitivní výsledek (LR+) vyšel 32,82 (95% CI 4,71–228,64). Pravděpodobnostní poměr pro negativní výsledek (LR-) vyšel 0,14 (95% CI 0,049–0,41). (viz tabulka 31) (viz tabulka 33)

### 6.4.3.6 Porovnání parametru MDW s vybranými hematologickými markery při záchytu sepse

Výsledky vybraných parametrů MDW, NLR, WBC, MO# a ICIS skóre byly vyhodnoceny z výsledků 22 pacientů (N = 22) a 38 zdravých dárců (N = 38) pomocí ROC analýzy ve statistickém programu MedCalc. Jednotlivé parametry byly porovnány na základě vyhodnocených ploch pod křivkou (AUC) s přidruženými 95% intervaly spolehlivosti.

**Tabulka 34 – ROC analýza parametrů MDW, NLR, WBC, MO# a ICIS skóre (MedCalc, vlastní data)**

Proměnná	Plocha pod křivkou (AUC)	95% CI	Standardní chyba (SE)
MDW	<b>0,971</b>	0,892–0,997	0,017
NLR	<b>0,955</b>	0,867–0,992	0,046
WBC	<b>0,867</b>	0,755–0,941	0,067
MO#	<b>0,709</b>	0,578–0,819	0,083
ICIS skóre	<b>0,953</b>	0,865–0,991	0,035

CI – Interval spolehlivosti

**Tabulka 35 – ROC analýza pro porovnání vybraných parametrů při záchytu sepse (MedCalc, vlastní data)**

Porovnání MDW	MDW ~ NLR	MDW ~ WBC	MDW ~ MO#	MDW ~ ICIS skóre
Rozdíl mezi AUC	<b>0,017</b>	<b>0,104</b>	<b>0,262</b>	<b>0,019</b>
Standardní chyba	0,050	0,070	0,086	0,040
95% CI	-0,081–0,114	-0,034–0,242	0,094–0,430	-0,060–0,097
P hodnota	<b>P = 0,737</b>	<b>P = 0,139</b>	<b>P = 0,002</b>	<b>P = 0,642</b>
Je signifikantní rozdíl (<0,05)?	Ne (ns)	Ne (ns)	Ano (sg)	Ne (ns)

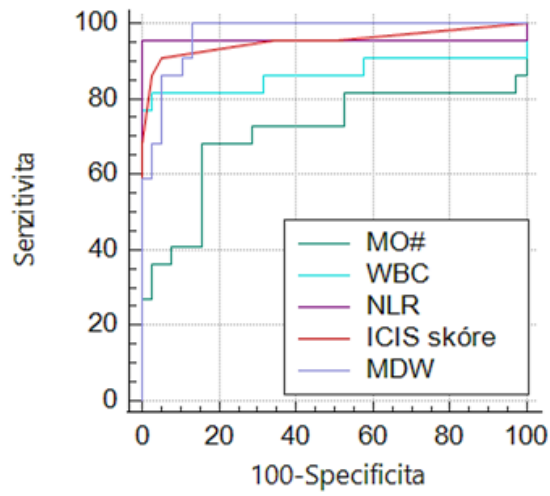
CI – Interval spolehlivosti

ns – Nesignifikantní

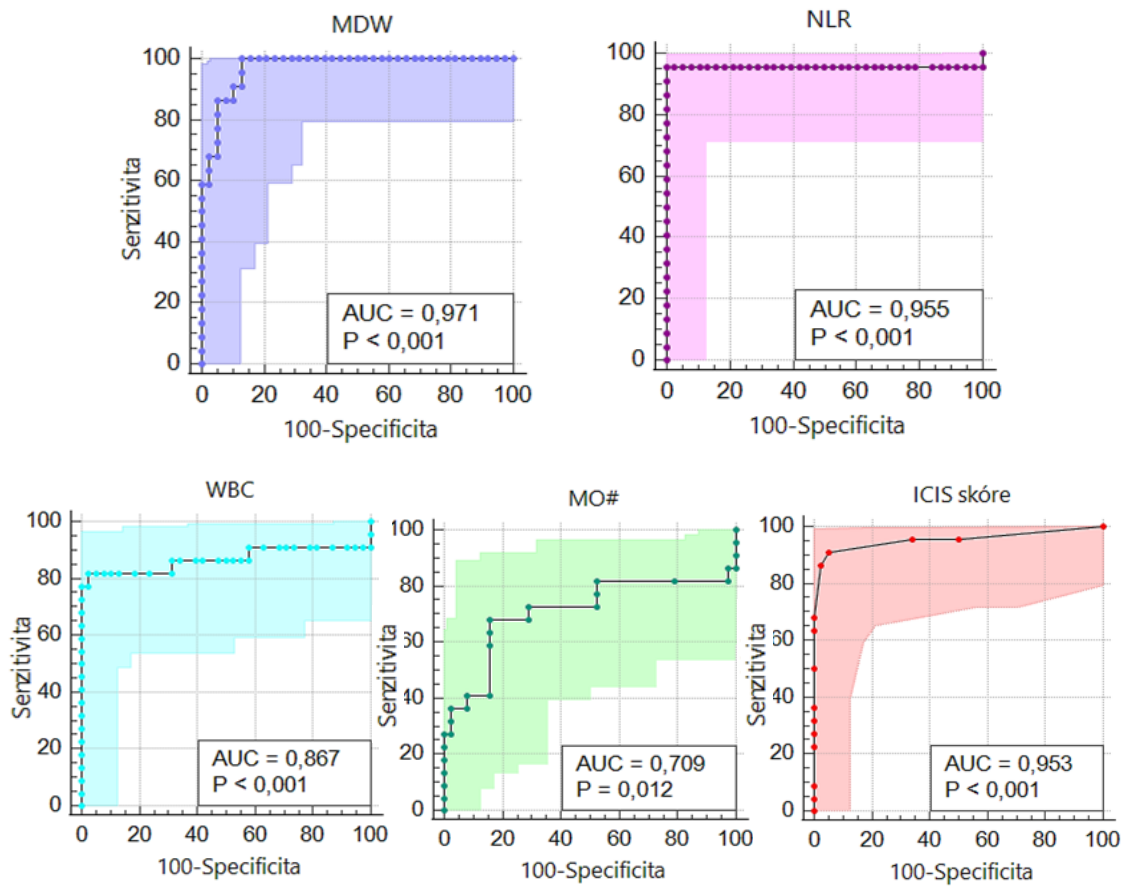
sg - Signifikantní

Jednotlivé plochy pod křivkou (AUC) s 95% intervaly spolehlivosti pro parametry MDW, NLR, WBC, MO# a ICIS skóre jsou přehledně uvedeny v tabulce 34. Nejvyšší AUC hodnotu měl parametr MDW (0,971; 95% CI 0,892–0,997). Rozdíly AUC mezi MDW a vybranými parametry jsou přehledně uvedeny v tabulce 35. Parametr MDW měl nejmenší rozdíly AUC hodnot s NLR ( $\Delta$ AUC = 0,017; 95% CI -0,081–0,114, P = 0,737) a skórem ICIS ( $\Delta$ AUC = 0,019; 95% CI -0,060–0,097, P = 0,642). Největší jediný

statisticky významný rozdíl AUC hodnot měl parametr MDW s parametrem MO# ( $\Delta AUC = 0,262$ ; 95% CI  $-0,094-0,430$ ,  $P = 0,002$ ). (viz graf 13)



**Graf 13 – ROC analýza pro porovnání parametrů při záchytu sepse (MedCalc, vlastní data)**



**Graf 14 – ROC analýza vybraných parametrů při záchytu sepse (MedCalc, vlastní data)**

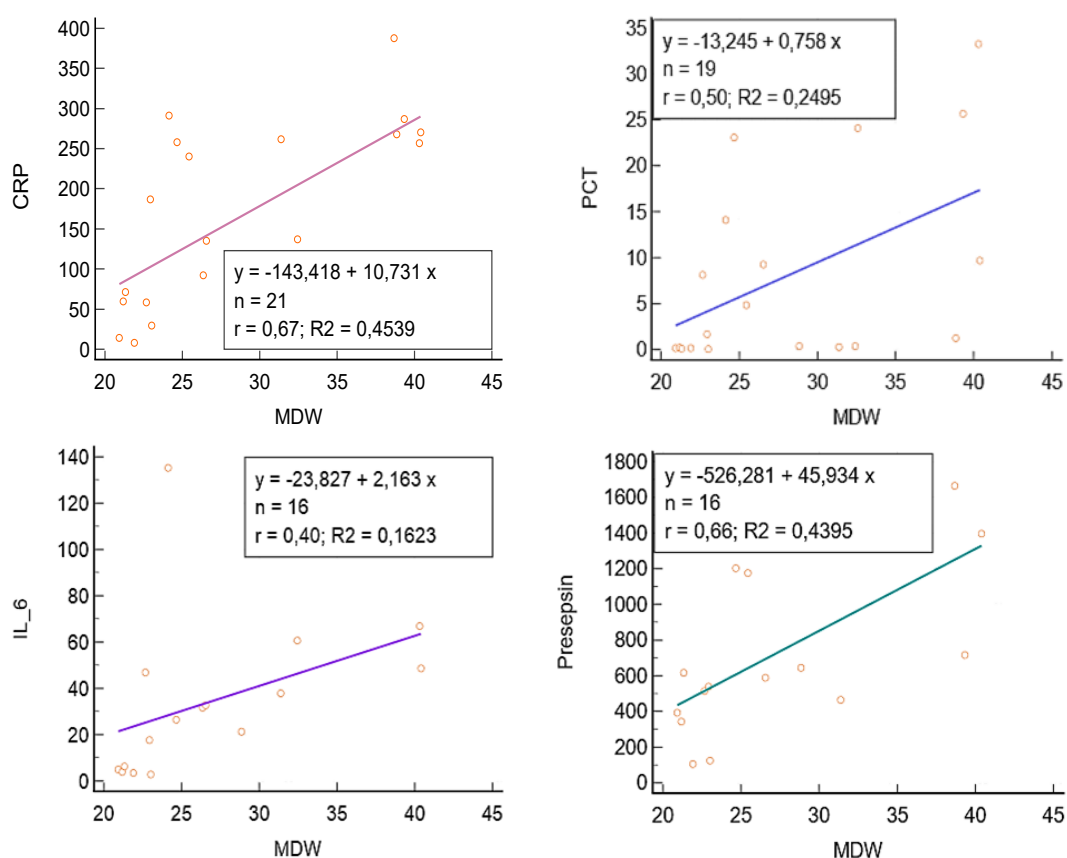
### 6.4.3.7 Korelace parametru MDW s vybranými zánětlivými markery

#### při záchytu sepse

Parametry MDW, CRP, PCT, IL-6 a Presepsin byly vyhodnoceny z výsledků 21 pacientů (N =21) při záchytu sepse pomocí jednoduché lineární regrese ve statistickém programu MedCalc. Byla sledována korelace parametru MDW se zánětlivými parametry na základě korelačních koeficientů a koeficientů determinace. Nejprve byla testována možnost výskytu odlehlých bodů pomocí testu odlehlých hodnot ve statistickém programu GraphPad, které dále nebyly použity pro jednoduchou lineární regresi.

**Tabulka 36 – Míra korelace MDW se zánětlivými parametry (MedCalc, vlastní data)**

Míra korelace MDW s markery	Korelační koeficient (R)	Koeficient determinace (R <sup>2</sup> )
<b>CRP/MDW (N = 21)</b>	<b>0,67</b>	<b>0,454</b>
PCT/MDW (N = 19)	0,50	0,250
IL-6/MDW (N = 16)	0,40	0,162
Presepsin/MDW (N = 16)	0,66	0,440



**Graf 15 – Korelace parametru MDW se zánětlivými parametry (MedCalc, vlastní data)**



Jednotlivé korelační koeficienty ( $R$ ) a koeficienty determinace ( $R^2$ ) pro porovnání korelace parametru MDW se zánětlivými markery (CRP, PCT, IL-6 a Presepsin) jsou přehledně uvedené v tabulce 36. Nejvyšší korelační koeficient a koeficient determinace byl zjištěn u lineární regrese závislosti CRP/MDW ( $R = 0,67$ ;  $R^2 = 0,454$ ). Nejnižší korelační koeficient a koeficient determinace byl zjištěn u lineární regrese závislosti IL-6/MDW ( $R = 0,40$ ;  $R^2 = 0,162$ ). (viz graf 15)

#### **6.4.4 Vyhodnocení vybraných laboratorních markerů v závislosti na klinickém stavu pacientů**

Parametr MDW a další laboratorní markery byly vyhodnoceny v závislosti na klinickém stavu pacientů. Celkově byly vyhodnoceny výsledky 38 zdravých kontrolních dárců a 35 septických pacientů. Podrobný metodický postup je popsán v kapitole 6.3. Data byla nejprve testována na normalitu, která byla pro všechny parametry zamítnuta většinou testů (P hodnota  $<0,05$ ). Pro další statistické vyhodnocování byly tudíž používány neparametrické testy. Data byla statisticky vyhodnocena a graficky znázorněna ve statistických programech GraphPad, MedCalc a JMP.

V kapitole 6.4.4.7 je popsána kazuistika vybraného septického pacienta, u kterého byly vyhodnoceny vybrané laboratorní markery v závislosti na klinickém stavu v čase.

##### **Analýza vybraných markerů v závislosti na přítomnosti sepse (viz kapitola 6.4.4.1)**

Data byla vyhodnocena z výsledků od 38 zdravých kontrolních dárců ( $N = 38$ ) a od 35 septických pacientů ( $N_{MAX} = 162$ ) vyšetřovaných v průběhu septického stavu.

U vybraných laboratorních parametrů byla nejprve zjišťována statistická významnost rozdílu hodnot mediánů v závislosti na přítomnosti sepse pomocí kvantitativní analýzy porovnáním mediánů všech výsledků (Mann-Whitneyův U test) zdravých kontrolních dárců vs. septických pacientů.

##### **Analýza vybraných markerů v závislosti na přítomnosti sepse při jejím záchytu (viz kapitoly 6.4.4.2, 6.4.4.3, 6.4.4.4, 6.4.4.5, 6.4.4.6)**

Data byla vyhodnocena z výsledků od 38 zdravých kontrolních dárců ( $N = 38$ ) a od 22 septických pacientů ( $N = 22$ ) při záchytu sepse.

Pro vybrané parametry byla sledována statistická závislost hodnot parametrů na přítomnosti sepse při jejím záchytu pomocí kvalitativní analýzy. Nejprve byly zvoleny vhodné cut-off hodnoty pro rozlišení výsledků na negativní/pozitivní, popř. nízké/vysoké. Dále byla ověřena závislost hodnot jednotlivých parametrů na přítomnosti sepse při dané cut-off hodnotě pomocí Fisherova exaktního testu s vyhodnocením P hodnoty. Závislost hodnot parametru (nízké/vysoké, popř. negativní/pozitivní) na přítomnosti sepse (ne/ano) při zvolené cut-off hodnotě byla dále vyhodnocena pomocí kontingenčních tabulek a graficky znázorněna.

#### 6.4.4.1 Analýza vybraných markerů v závislosti na přítomnosti sepse

Parametry MDW, NLR, WBC, MO<sub>#</sub> a ICIS skóre byly vyhodnoceny celkově u 38 zdravých kontrolních dárců a u všech 35 septických pacientů. Jednotlivé parametry byly vyhodnoceny v závislosti na přítomnosti sepse pomocí kvantitativní statistiky všech výsledků od septických pacientů (N<sub>MAX</sub> = 162) a kontrolních dárců (N = 38).

Závislost jednotlivých parametrů na přítomnosti sepse vs. nepřítomnosti sepse byla nejprve analyzována kvantitativně na základě provedení deskriptivní statistiky a statistického porovnání vypočtených mediánů hodnot pro skupinu septických pacientů a skupinu zdravých kontrolních dárců, kdy se zjišťovala statistická významnost rozdílu mediánů mezi skupinami s použitím neparametrického skupinového Mann-Whitneyova U testu s vyhodnocením P hodnot. Výsledky byly graficky znázorněny pomocí krabicových grafů s vyznačením mediánů s přidruženými interkvartilními rozsahy (IQR). Jednotlivé výsledné mediány, 95% intervaly spolehlivosti a P hodnoty parametrů MDW, NLR, WBC, MO<sub>#</sub> a ICIS skóre pro porovnání obou skupin (přítomnost vs. nepřítomnost sepse) jsou přehledně uvedené v tabulce 37.

**Tabulka 37 – Parametry v závislosti na přítomnosti sepse, Mann-Whitneyův U test (P) (GraphPad, vlastní data)**

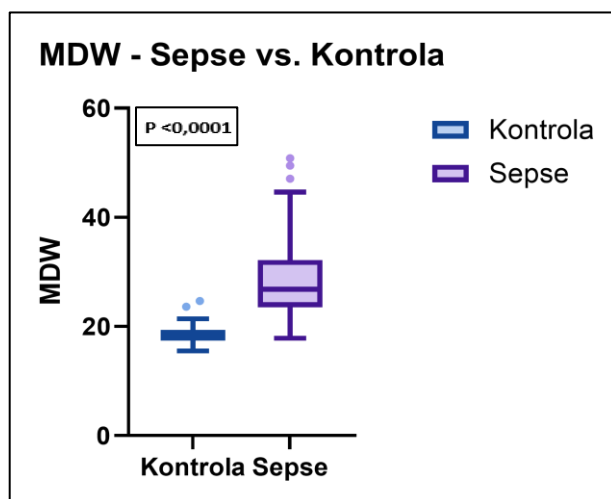
Přítomnost vs. Nepřítomnost sepse		Medián (IQR)	95% CI		P hodnota
			Spodní	Horní	
MDW	Kontrola (N = 38)	18,27 (17,42–19,39)	17,59	18,69	<0,0001 (sg)
	Sepse (N = 129)	26,82 (23,53–32,16)	25,20	28,12	
NLR	Kontrola (N = 38)	1,87 (1,60–2,28)	1,73	2,10	<0,0001 (sg)
	Sepse (N = 153)	8,16 (4–17,63)	6,02	10,11	
WBC [x10 <sup>9</sup> /L]	Kontrola (N = 38)	7,45 (6,00–8,93)	6,70	8,30	<0,0001 (sg)
	Sepse (N = 162)	11,43 (6,86–18,13)	9,85	13,49	
MO <sub>#</sub> [x10 <sup>9</sup> /L]	Kontrola (N = 38)	0,6 (0,5–0,7)	0,50	0,60	0,5651 (ns)
	Sepse (N = 158)	0,66 (0,22–0,99)	0,52	0,78	
ICIS skóre	Kontrola (N = 38)	0,5 (0,00–2,00)	0,00	2,00	<0,0001 (sg)
	Sepse (N = 159)	6 (4–10)	6,00	7,00	

IQR – Interkvartilní rozsah

CI – Interval spolehlivosti

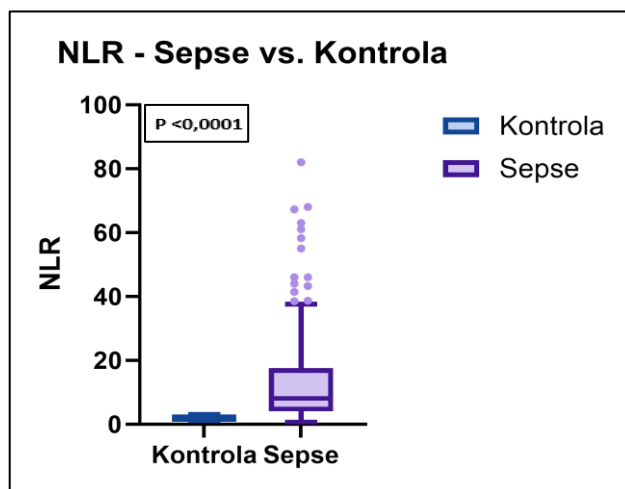
sg – Signifikantní rozdíl

ns – Nesignifikantní rozdíl



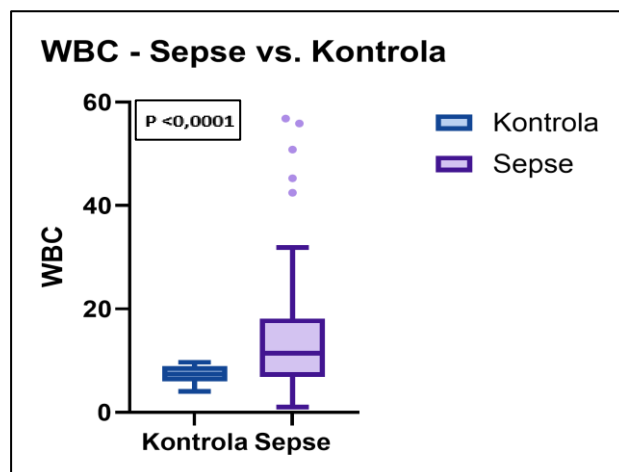
**Graf 16 – Parametr MDW v přítomnosti sepse vs. kontrola (GraphPad, vlastní data)**

Pro parametr MDW vyšly výsledné mediány 18,27 (IQR: 17,42–19,39) u kontrolní skupiny a 26,82 (IQR: 23,53–32,16) pro skupinu se sepsí. Mezi mediány obou skupin byl zjištěn statisticky významný rozdíl ( $P < 0,0001$ ). (viz tabulka 37) (viz graf 16)



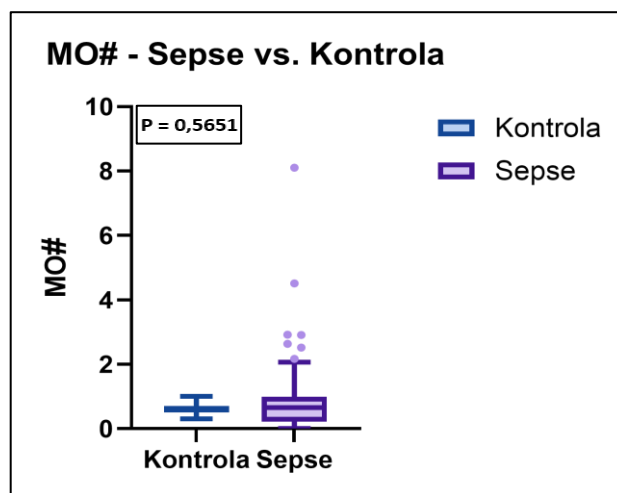
**Graf 17 – Parametr NLR v přítomnosti sepse vs. kontrola (GraphPad, vlastní data)**

Pro parametr NLR vyšly výsledné mediány 1,87 (IQR: 1,60–2,28) u kontrolní skupiny a 8,16 (IQR: 4–17,63) pro skupinu se sepsí. Mezi mediány obou skupin byl zjištěn statisticky významný rozdíl ( $P < 0,0001$ ). (viz tabulka 37) (viz graf 17)



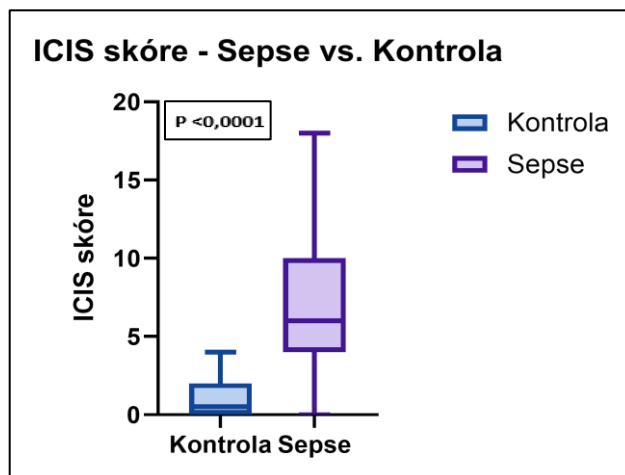
**Graf 18 – Parametr WBC v přítomnosti sepse vs. kontrola  
(GraphPad, vlastní data)**

Pro parametr WBC vyšly výsledné mediány 7,45 (IQR: 6,00–8,93) u kontrolní skupiny a 11,43 (IQR: 6,86–18,13) pro skupinu se sepsí. Mezi mediány obou skupin byl zjištěn statisticky významný rozdíl ( $P < 0,0001$ ). (viz tabulka 37) (viz graf 18)



**Graf 19 – Parametr MO# v přítomnosti sepse vs. kontrola  
(GraphPad, vlastní data)**

Pro parametr MO# vyšly výsledné mediány 0,6 (IQR: 0,5–0,7) u kontrolní skupiny a 0,66 (IQR: 0,22–0,99) pro skupinu se sepsí. Mezi mediány obou skupin nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl ( $P = 0,5651$ ). (viz tabulka 37) (viz graf 19)



**Graf 20 – ICIS skóre v přítomnosti sepse vs. kontrola  
(GraphPad, vlastní data)**

Pro ICIS skóre vyšly výsledné mediány 0,5 (IQR: 0,00–2,00) u kontrolní skupiny a 6 (IQR: 4–10) pro skupinu se sepsí. Mezi mediány obou skupin byl zjištěn statisticky významný rozdíl ( $P < 0,0001$ ). (viz tabulka 37) (viz graf 20)

#### 6.4.4.2 Analýza MDW v závislosti na přítomnosti sepse při jejím záchytu

Pro analýzu závislosti parametru MDW na přítomnosti sepse bylo nejprve potřeba zvolit vhodnou cut-off hodnotu. Cut-off hodnoty >20,5; >21,0 a >21,5 byly vybrány dle stanovené cut-off hodnoty MDW >21,5 dané výrobcem a dle vyhodnocených kritérií (MDW >20,43; MDW >21,41) v rámci ROC analýzy. Následně byla pro každou cut-off hodnotu vypočtena senzitivita, specifická, pozitivní a negativní prediktivní hodnota a Youdenův index J. Zároveň byla pomocí Fisherova exaktního testu ověřena závislost hodnoty MDW na přítomnosti sepse na základě vyhodnocených P hodnot ve statistickém programu MedCalc. (viz tabulka 38)

**Tabulka 38 – Cut-off hodnota pro parametr MDW pro záchyt sepse, Fisherův exaktní test (P) (MS Excel a MedCalc, vlastní data)**

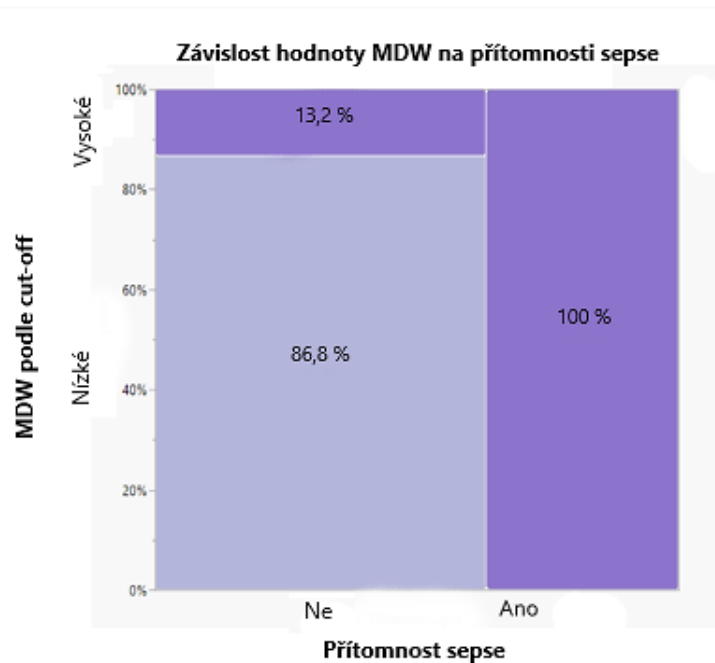
MDW Cut-off	Senzitivita [%]	Specifická [%]	Prediktivní hodnoty (PPV/NPV) [%]		Youdenův index J	P hodnota
			Pozitivní	Negativní		
			>20,5	100		
>21,0	95,45	86,84	80,77	97,06	0,8230	<0,0001 (sg)
>21,5	86,36	94,74	90,48	92,31	0,8110	<0,0001 (sg)

sg – Signifikantní rozdíl

Na základě výsledných hodnot byla pro MDW zvolena cut-off hodnota >20,5. Následně byla provedena kvalitativní analýza parametru MDW v závislosti na přítomnosti sepse se znázorněním pomocí kontingenční tabulky, kdy hodnoty parametru MDW pod/nad cut-off hodnotu byly označeny jako nízké/vysoké.

**Tabulka 39 – Kontingenční tabulka závislosti MDW a sepse při cut-off >20,5 (MS Excel, vlastní data)**

MDW >20,5		Přítomnost sepse		
		Ne	Ano	Celkem
Cut-off	Nízké	33 (86,84 %)	0 (0 %)	33 (55 %)
	Vysoké	5 (13,16 %)	22 (100 %)	27 (45 %)
	<b>Celkem</b>	<b>38</b>	<b>22</b>	<b>60</b>



**Graf 21 – Mozaikový graf parametru MDW  
(upraveno z: JMP, vlastní data)**

Mezi hodnotami parametru MDW a přítomností sepse byla pomocí Fisherova exaktního testu ověřena statisticky významná závislost ( $P < 0,0001$ ) (viz tabulka 38). U skupiny kontrolní (bez přítomnosti sepse) ( $N = 48$ ) vyšlo 33 (86,84 %) hodnot MDW nízkých a 5 (13,16 %) hodnot MDW vyšlo vysokých. U skupiny s přítomností sepse ( $N = 22$ ) vyšlo všech 22 (100 %) hodnot MDW vysokých. (viz tabulka 39) (viz graf 21)



### 6.4.4.3 Analýza NLR v závislosti na přítomnosti sepse při jejím záchytu

Pro analýzu závislosti parametru NLR na přítomnosti sepse bylo nejprve potřeba zvolit vhodnou cut-off hodnotu. Jelikož jsou literaturou uváděny různé cut-off hodnoty pro NLR v přítomnosti sepse, byly vybrány cut-off hodnoty >3, >4 a >5 dle kritéria NLR >3,16 asociovaného Youdenovým indexem J v rámci ROC analýzy. Následně byla pro každou cut-off hodnotu vypočtena senzitivita, specificita, pozitivní a negativní prediktivní hodnota a Youdenův index J. Zároveň byla pomocí Fisherova exaktního testu ověřena závislost hodnoty NLR na přítomnosti sepse na základě vyhodnocených P hodnot ve statistickém programu MedCalc.

**Tabulka 40 – Cut-off hodnota pro parametr NLR pro záchyt sepse, Fisherův exaktní test (P) (MS Excel a MedCalc, vlastní data)**

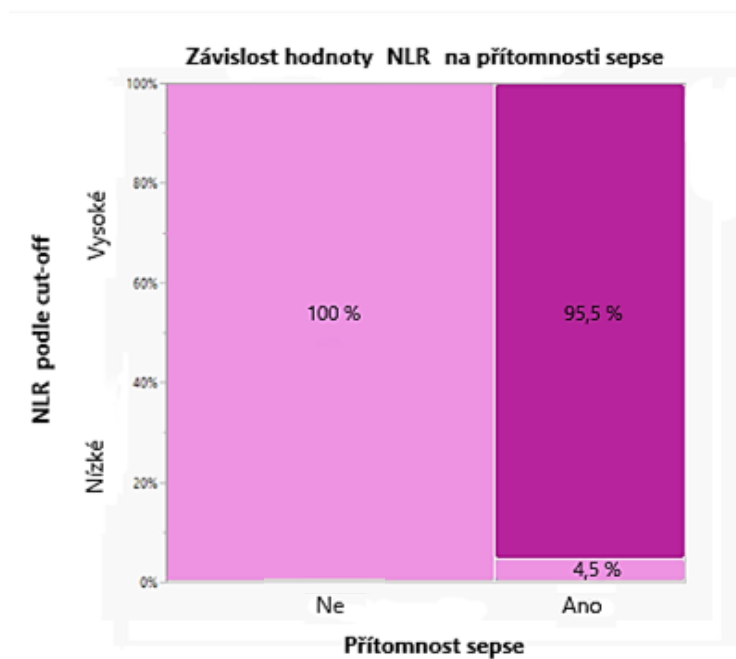
NLR Cut-off	Senzitivita [%]	Specificita [%]	Prediktivní hodnoty (PPV/NPV) [%]		Youdenův index J	P hodnota
			Pozitivní	Negativní		
			>3	95,45		
>4	95,45	100	100	97,44	0,9545	<0,0001 (sg)
>5	90,91	100	100	95,00	0,9091	<0,0001 (sg)

sg – Signifikantní rozdíl

Na základě výsledných hodnot byla pro parametr NLR zvolena cut-off hodnota NLR >4. Následně byla provedena kvalitativní analýza parametru NLR v závislosti na přítomnosti sepse se znázorněním pomocí kontingenční tabulky, kdy hodnoty parametru NLR pod/nad cut-off hodnotu byly označeny jako nízké/vysoké.

**Tabulka 41 – Kontingenční tabulka závislosti NLR a sepse při cut-off >4 (MS Excel, vlastní data)**

NLR >4		Přítomnost sepse		
		Ne	Ano	Celkem
Cut-off	Nízké	38 (100 %)	1 (4,55 %)	39 (65 %)
	Vysoké	0 (0 %)	21 (95,45 %)	21 (35 %)
	Celkem	38	22	60



**Graf 22 – Mozaikový graf parametru NLR  
(upraveno z: JMP, vlastní data)**

Mezi hodnotami parametru NLR a přítomností sepse byla pomocí Fisherova exaktního testu ověřena statisticky významná závislost ( $P < 0,0001$ ) (viz tabulka 40). U skupiny bez přítomnosti sepse (kontrolní) ( $N = 38$ ) vyšlo všech 38 (100 %) hodnot NLR nízkých. U skupiny s přítomností sepse ( $N = 22$ ) vyšlo 21 (95,45 %) hodnot NLR vysokých a 1 (4,55 %) hodnota NLR vyšla nízká. (viz tabulka 41) (viz graf 22)

#### 6.4.4.4 Analýza WBC v závislosti na přítomnosti sepse při jejím záchytu

Pro analýzu závislosti parametru WBC na přítomnosti sepse byly vybrány cut-off rozmezí  $<4/>10 \times 10^9/L$  a  $<4/>12 \times 10^9/L$  dle referenčních rozmezí uváděných ČHS a literatuře. Následně byla pro rozmezí cut-off hodnot vypočtena senzitivita, specificita, pozitivní a negativní prediktivní hodnota a Youdenův index J. Zároveň byla pomocí Fisherova exaktního testu ověřena závislost hodnoty WBC na přítomnosti sepse na základě vyhodnocené P hodnoty ve statistickém programu MedCalc.

**Tabulka 42 – Cut-off rozmezí pro parametr WBC pro záchyt sepse, Fisherův exaktní test (P) (MS Excel a MedCalc, vlastní data)**

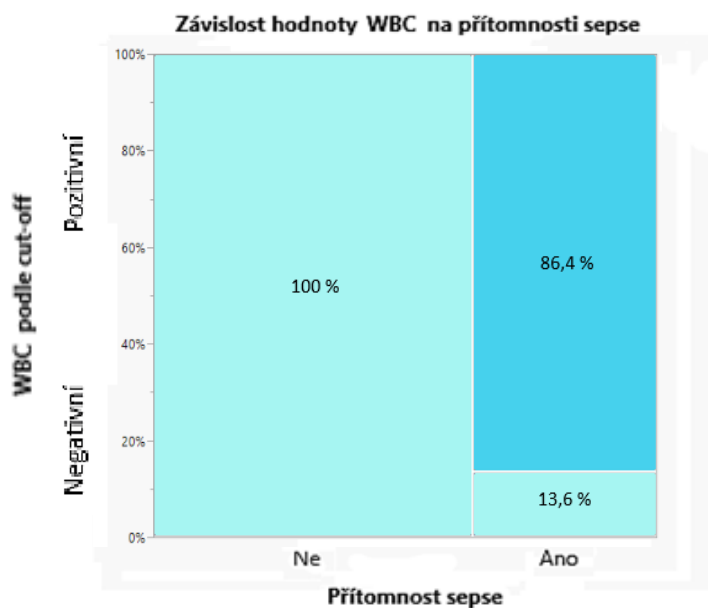
WBC Cut-off [ $\times 10^9/L$ ]	Senzitivita [%]	Specificita [%]	Prediktivní hodnoty (PPV/NPV) [%]		Youdenův index J	P hodnota
			Pozitivní	Negativní		
			$<4/>10$	86,36		
$<4/>12$	77,27	100	100	88,37	0,7727	<b>&lt;0,0001 (sg)</b>

sg – Signifikantní rozdíl

Pro parametr WBC bylo zvoleno cut-off rozmezí WBC  $<4/>10 \times 10^9/L$ . Následně byla provedena kvalitativní analýza parametru WBC v závislosti na přítomnosti sepse se znázorněním pomocí kontingenční tabulky, kdy hodnoty parametru WBC v rámci/mimo cut-off rozmezí byly označeny jako negativní/pozitivní.

**Tabulka 43 – Kontingenční tabulka závislosti WBC a sepse při cut-off  $>4/>10 \times 10^9/L$  (MS Excel, vlastní data)**

WBC $<4/>10$ [ $\times 10^9/L$ ]		Přítomnost sepse		
		Ne	Ano	Celkem
Cut-off	Negativní	38 (100 %)	3 (13,64 %)	<b>41 (68,33 %)</b>
	Pozitivní	0 (0 %)	19 (86,36 %)	<b>19 (31,67 %)</b>
	<b>Celkem</b>	<b>38</b>	<b>22</b>	<b>60</b>



**Graf 23 – Mozaikový graf parametru WBC  
(upraveno z: JMP, vlastní data)**

Mezi hodnotami parametru WBC a přítomností sepse byla pomocí Fisherova exaktního testu ověřena statisticky významná závislost ( $P < 0,0001$ ) (viz tabulka 42). U skupiny bez přítomnosti sepse (kontrolní) ( $N = 38$ ) vyšlo všech 38 (100 %) hodnot WBC negativních. U skupiny s přítomností sepse ( $N = 22$ ) vyšlo 19 (86,36 %) hodnot WBC pozitivních a 3 (13,64 %) hodnoty WBC vyšly negativní. (viz tabulka 43) (viz graf 23)

#### 6.4.4.5 Analýza MO<sub>#</sub> v závislosti na přítomnosti sepse při jejím záchytu

Pro analýzu závislosti parametru MO<sub>#</sub> na přítomnosti sepse byly vybrány cut-off rozmezí <0,8/>1,2 x10<sup>9</sup>/L dle referenčních rozmezí uváděných ČHS. Následně byla pro rozmezí cut-off hodnot vypočtena senzitivita, specifická, pozitivní a negativní prediktivní hodnota a Youdenův index J. Zároveň byla pomocí Fisherova exaktního testu ověřena statistická nezávislost hodnoty MO<sub>#</sub> na přítomnosti sepse na základě vyhodnocené P hodnoty ve statistickém programu MedCalc.

**Tabulka 44 – Cut-off rozmezí pro parametr MO<sub>#</sub> pro záchyt sepse, Fisherův exaktní test (P) (MS Excel a MedCalc, vlastní data)**

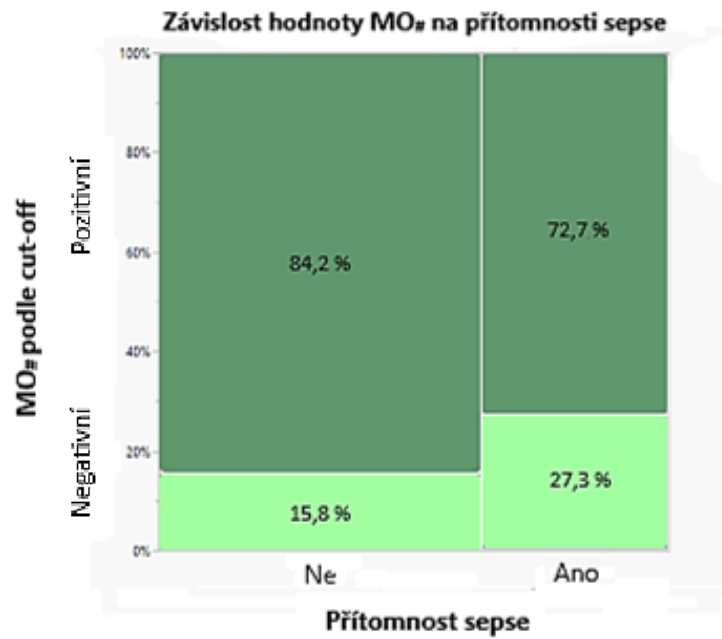
MO <sub>#</sub> Cut-off [x10 <sup>9</sup> /L]	Senzitivita [%]	Specifická [%]	Prediktivní hodnoty (PPV/NPV) [%]		Youdenův index J	P hodnota
			Pozitivní	Negativní		
<0,8/>1,2	72,73	15,79	33,33	50	-0,1148	<b>0,3275 (ns)</b>

sg – Signifikantní rozdíl

Pro parametr MO<sub>#</sub> byla následně provedena kvalitativní analýza v závislosti na přítomnosti sepse se znázorněním pomocí kontingenční tabulky, kdy hodnoty parametru MO<sub>#</sub> v rámci/mimo cut-off rozmezí byly označeny jako negativní/pozitivní.

**Tabulka 45 – Kontingenční tabulka závislosti MO<sub>#</sub> a sepse při cut-off >0,8/>1,2 x 10<sup>9</sup>/L (MS Excel, vlastní data)**

MO <sub>#</sub> <0,8/>1,2 [x10 <sup>9</sup> /L]	Přítomnost sepse			
	Ne	Ano	Celkem	
Cut-off	Negativní	6 (15,79 %)	6 (27,27 %)	<b>12 (20 %)</b>
	Pozitivní	32 (84,21 %)	16 (72,73 %)	<b>48 (80 %)</b>
	<b>Celkem</b>	<b>38</b>	<b>22</b>	<b>60</b>



**Graf 24 – Mozaikový graf parametru MO#  
(upraveno z: JMP, vlastní data)**

Mezi hodnotami parametru MO# a přítomností sepse byla pomocí Fisherova exaktního testu a pomocí znázornění kontingenční tabulky ověřena statistická nezávislost ( $P = 0,3275$ ). (viz tabulka 44) (viz tabulka 45) (viz graf 24)

#### 6.4.4.6 Analýza ICIS skóre v závislosti na přítomnosti sepse při jejím záchytu

Pro analýzu závislosti ICIS skóre na přítomnosti sepse bylo nejprve potřeba zvolit vhodnou cut-off hodnotu. Cut-off hodnoty  $\geq 4$  a  $\geq 5$  byly vybrány dle hodnot uváděných v literatuře. Následně byla pro každou cut-off hodnotu vypočtena senzitivita, specifická, pozitivní a negativní prediktivní hodnota a Youdenův index J. Zároveň byla pomocí Fisherova exaktního testu ověřena závislost hodnoty ICIS skóre na přítomnosti sepse na základě vyhodnocených P hodnot ve statistickém programu MedCalc.

**Tabulka 46 – Cut-off hodnota pro ICIS skóre pro záchyt sepse, Fisherův exaktní test (P) (MS Excel a MedCalc, vlastní data)**

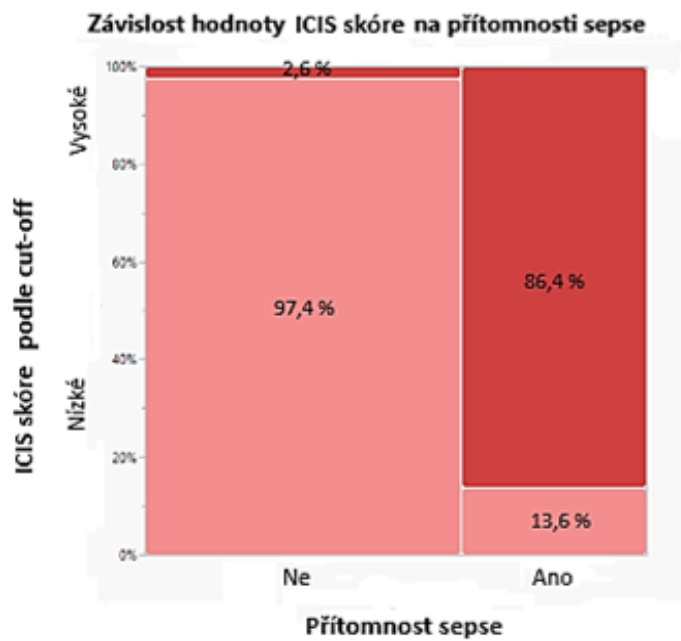
ICIS skóre Cut-off	Senzitivita [%]	Specifická [%]	Prediktivní hodnoty (PPV/NPV) [%]		Youdenův index J	P hodnota
			Pozitivní	Negativní		
			$\geq 4$	86,36		
$\geq 5$	77,27	97,92	94,44	90,38	0,75	<0,0001 (sg)

sg – Signifikantní rozdíl

Na základě výsledných hodnot byla pro ICIS skóre zvolena cut-off hodnota  $\geq 4$ . Následně byla provedena kvalitativní analýza ICIS skóre v závislosti na přítomnosti sepse se znázorněním pomocí kontingenční tabulky kdy hodnoty ICIS skóre pod/nad cut-off hodnotu byly označeny jako nízké/vysoké.

**Tabulka 47 – Kontingenční tabulka závislosti ICIS skóre a sepse při cut-off  $\geq 4$  (MS Excel, vlastní data)**

ICIS skóre $\geq 4$		Přítomnost sepse		
		Ne	Ano	Celkem
Cut-off	Nízké	37 (97,37 %)	3 (13,64 %)	38 (66,67 %)
	Vysoké	1 (2,63 %)	19 (86,36 %)	22 (33,33 %)
	<b>Celkem</b>	<b>38</b>	<b>22</b>	<b>60</b>



**Graf 25 – Mozaikový graf ICIS skóre  
(upraveno z: JMP, vlastní data)**

Mezi hodnotami ICIS skóre a přítomností sepse byla pomocí Fisherova exaktního testu ověřena statisticky významná závislost ( $P < 0,0001$ ) (viz tabulka 46). U skupiny bez přítomnosti sepse (kontrolní) ( $N = 38$ ) vyšlo 37 (97,37 %) hodnot ICIS skóre nízkých a 1 (2,63 %) hodnota ICIS skóre vyšla vysoká. U skupiny s přítomností sepse ( $N = 22$ ) vyšlo 19 (86,36 %) hodnot ICIS skóre vysokých a 3 (13,64 %) hodnoty ICIS skóre vyšly nízké. (viz tabulka 47) (viz graf 25)



#### **6.4.4.7 Kazuistika – Vyhodnocení vybraných markerů v závislosti na klinickém stavu pacienta**

Parametr MDW a další laboratorní markery byly vyhodnoceny v závislosti na klinickém stavu pacienta v následující kazuistice septického pacienta.

##### **Epikríza**

Byl sledován 51 letý pacient s Marfanovým syndromem, středně těžkou parézou levé horní končetiny, po stentgraftu hrudní aorty pro disekci hrudní aorty. Aneurysma břišní aorty bylo dále indikováno po přípravě k operačnímu řešení.

Dne 4.3.2024 byl proveden aortobifemorální bypass, distální debranching aorty s našitím viscerálních tepen, implantace stentgraftu, rekonstrukce AFC vpravo. Byla ověřena těsnost aorty a plnění všech bypassů. Výkon byl proveden v celkové anestezii v celkové délce 525 minut s krevní ztrátou cca 4500 mL, peroperačně hrazenou 5000 mL krystaloidů, 1000 mL koloidů, transfuzními přípravky 8 ERD (ERD – Erythrocyty resuspendované deleukotizované), 4 TU FFP (TU – Transfuzní jednotka) (FFP – Čerstvě mražená plazma) a 4 g fibrinogenu. Po výkonu byl pacient pokračující v analgosedaci, na umělé plicní ventilaci (UPV) a vazopresivní podpoře přijat na oddělení ORIM 1.

##### **Průběh hospitalizace**

U pacienta se rozvinul pooperačně progredující septický šokový stav s narůstající dávkou noradrenalinu, metabolickou acidózou a anurií (vysoký PCT 33, febrilie, sinus tachykardie 127/min). Pacient byl napojen na kontinuální renální substituční terapii (CRRT Cica), byly aplikovány transfuzní přípravky ERD a PA (PA – Plazma z aferézy) a eskalována antibiotika. Byla aplikována postupně klesající dávka noradrenalinu. Byla obnovena spontánní diuréza. Pulzace na dolních končetinách byly dobré. Dne 6.3.2024 pokračovala oběhová stabilizace a korekce anémie. Bylo zahájeno odtlumování s dobrou tolerancí. Dne 8.3.2024 byl pacient po přípravě extubován. Byla ukončena kontinuální renální substituční terapie a pacient byl převeden na intermitentní dialýzu. Při večerní vizitě se pacient cítil vyčerpaně, ale dobře. Odpoledne měl pacient sklon k hyposaturaci <90 %, což bylo suplementováno maskou. Pacient měl tachykardii 125/min a krevní tlak 160/70 mmHg. Pozdě večer byla u pacienta provedena intubační pohotovost a bylo aplikováno analgetikum. Dne 9.3.2024 byl pacient při vědomí

s bradykardií. Dne 10.3.2024 byla u pacienta přítomna hypertenze a otoky. Pacient byl ponechán na UPV. Byla provedena revize třísla. Dne 11.3.2024 byl klinický obraz pacienta beze změny. Pacient byl afebrilní.

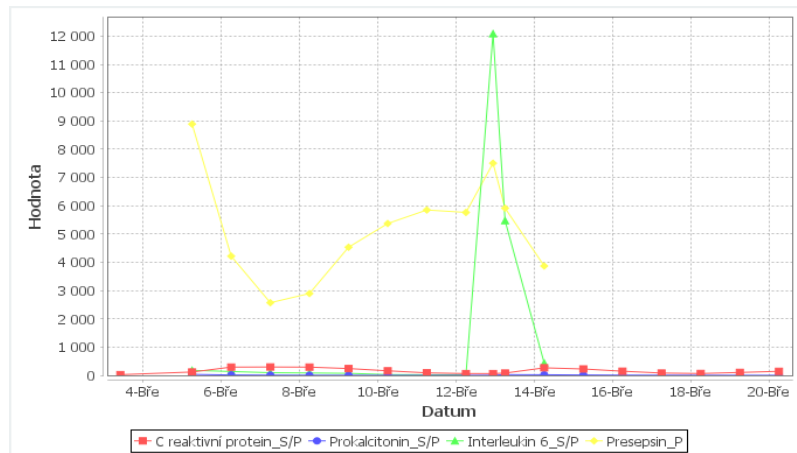
Dne 12.3.2024 (13:53) pacient se spontánně extuboval. Bylo však nutné zahájit vysokoprútokovou oxygenační terapii (HFO) a vyšší podpory  $FiO_2$ . Byl domluven překlad pacienta na Anesteziologicko-resuscitační oddělení (ARO) do jiné krajské nemocnice další den. Avšak ještě tentýž den večer v 21:37 hodin u pacienta nastal bez zjevné příčiny náhlý propad vědomí, bradykardie, hypotenze, afebrilie. Pacient byl intubován a napojen na UPV. Byla nutná podpora oběhu noradrenalinem ve vysoké dávce 1,5 mg/h. Laboratorně byl zjištěn prudký vzestup IL-6 a PCT. K vyloučení krvácení do břišní dutiny a známek plicní embolie byl proveden bed-side test ultrazvukový (UZ), v okolí jater nenalezena tekutina. Pokračovala snaha o objemovou stabilizaci.

Dne 13.3.2024 (01:42) se při pátrání po zdroji šoku v krátkém časovém intervalu objevovala sterkonální odpad z břišního drénu. Byla domluvena operační revize jako poslední možnost záchrany (ultimum refugium) pacienta v septickém šoku. Na operačním sále byla nalezena gangréna colon descendens a sigmoideum. Byla provedena levostranná hemikolektomie, resekce sigmoidea, vyšita terminální stomie, laváž, drenáž. Pro snahu o tekutinovou resuscitaci byly podány 2 TU ERD a FFP. Byla zahájena eskalace antibiotik. Pro vyžadování hemodynamické podpory byla nadále podávána vysoká dávka noradrenalinu. Pacient byl napojen na kontinuální renální substituční terapii, UPV a analgosedován. Stav pacienta byl kritický.

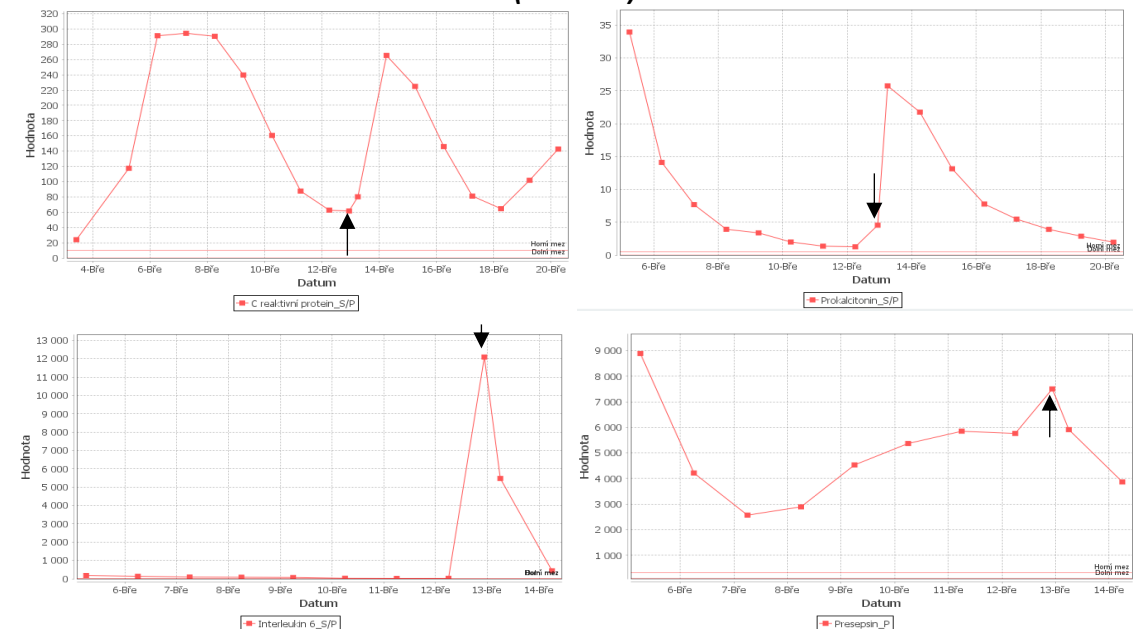
Dne 14.3.2024 byl stav beze změn s nepříznivou prognózou. U pacienta byl přítomna normotenze bez tachykardie. Dne 15.3.2024 oběhová stabilizace, snížení sedace toleruje, afebrilní. Dne 17.3.2024 přechod na intermitentní dialýzu, NA vysazen, nutná vyšší dávka sedace k toleranci rychlosti přenosu kyslíku (OTR). Dne 18.3.2024 byla provedena punkční hrudní thorakotomie (TCHST) a korekce anémie. Dne 20.3.2024 byl pacient při základním vědomí. Byl domluven překlad do krajské nemocnice.

Kinetika laboratorních zánětlivých a hematologických markerů pacienta bude znázorněna na následujících grafech.

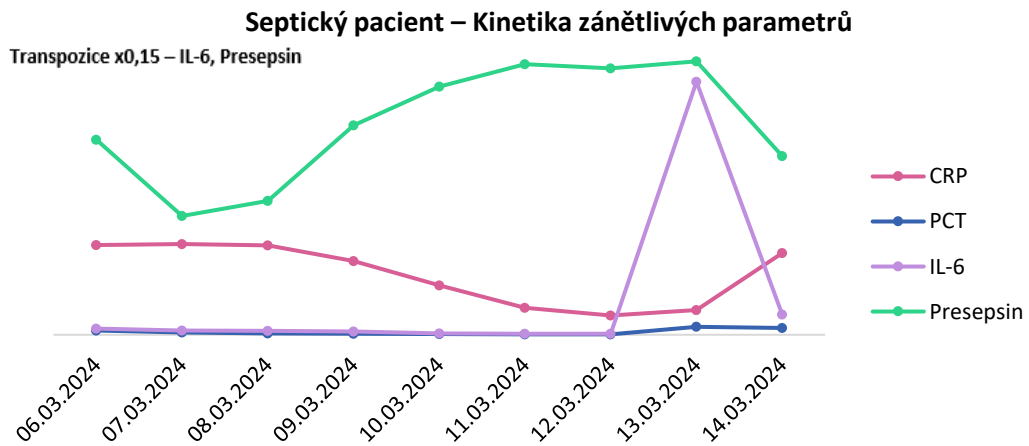
## Kinetika zánětlivých parametrů



**Graf 26 – Souhrnná kinetika zánětlivých parametrů u septického pacienta (IKIS FNO)**

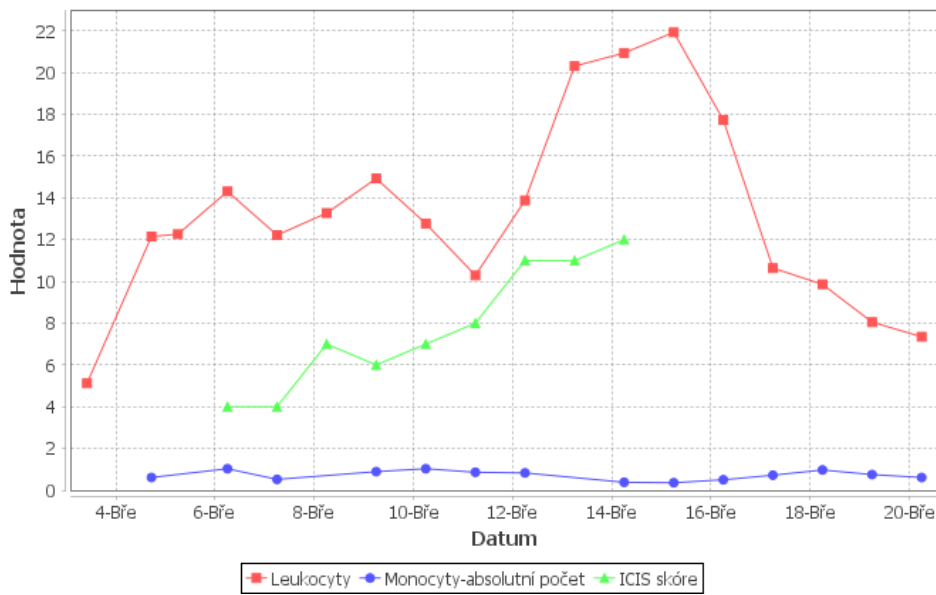


**Graf 27 – Kinetika parametrů CRP, PCT, IL-6 a presepsinu u septického pacienta (IKIS FNO)**

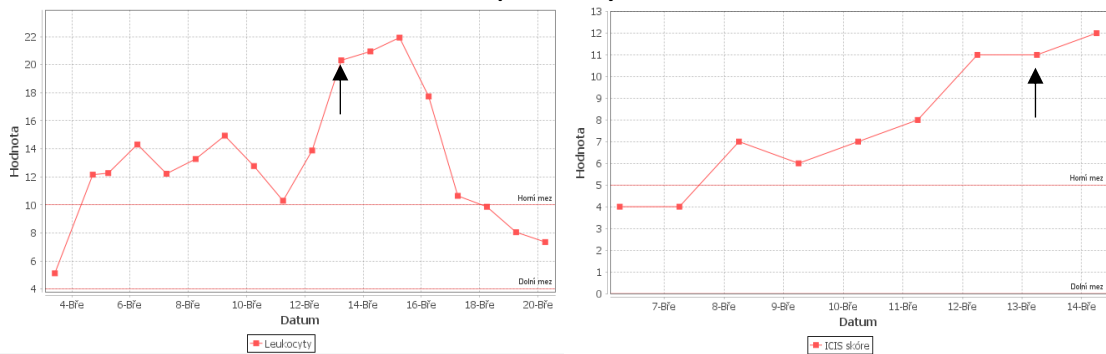


**Graf 28 – Souhrnná kinetika zánětlivých parametrů u septického pacienta (MS excel, vlastní data)**

## Kinetika hematologických parametrů

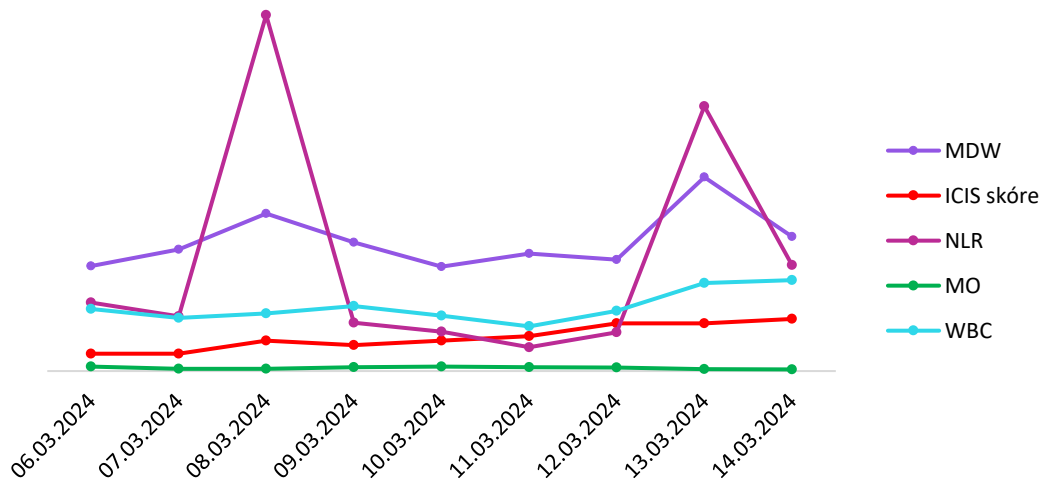


**Graf 29 – Souhrnná kinetika hematologických parametrů u septického pacienta (IKIS FNO)**



**Graf 30 – Kinetika parametru WBC a ICIS skóre u septického pacienta (IKIS FNO)**

## Septický pacient – Kinetika hematologických parametrů



**Graf 31 – Souhrnná kinetika hematologických parametrů u septického pacienta (MS Excel, vlastní data)**

### **Kinetika parametrů u septického pacienta**

Během zhoršení klinického stavu septického pacienta (12.3.2024–13.3.2024) reagovaly ze zánětlivých parametrů časně interleukin 6 a presepsin zvýšením svých hodnot. U interleukinu 6 byla pozorována rychlá kinetika s následným rychlým zpětným poklesem hodnot. Oproti tomu parametry C-reaktivní protein a prokalcitonin reagovaly o pár hodin později zvýšením svých hodnot. (viz graf 26) (viz graf 27) (viz graf 28)

V rámci hematologických parametrů došlo během zhoršení klinického stavu septického pacienta (13.3.2024) ke zvýšení hodnot parametrů MDW, NLR, WBC a ICIS skóre. Současně, u ICIS skóre bylo již v rámci předchozích dnů pozorováno postupné zvyšování hodnot. (viz graf 29) (viz graf 30) (viz graf 31)

Dne 8.3.2024 došlo pravděpodobně ke změně klinického stavu (reakce organismu na infekci), na což reagovaly určité hematologické parametry (NLR, MDW). Ke zvýšení hodnot došlo především u poměru NLR, který je vypočítaný parametr, a tedy ovlivněný vzájemným poměrem absolutního počtu neutrofilů a lymfocytů. U zánětlivých parametrů nedošlo ke zvýšení hodnot ten den. (viz graf 28) (viz graf 31)

### 6.4.5 Sledování morfologických a početních odchylek v nátěru periferní krve při sepsi

Septickým pacientům a kontrolnímu dárci byl odebrán vzorek nesrážlivé krve s K<sub>3</sub>EDTA, ze kterého byl nejprve vyšetřen krevní obraz. Dále byly ze vzorků zhotoveny nátěry periferní krve, které byly natřeny na sklíčko a obarveny v nátěrovém automatu. Poté byly nátěry vyšetřeny pomocí digitální morfologie na analyzátoru DI-60, kdy byly nafoceny jednotlivé krevní elementy, které byly zařazeny do kategorií. U vyšetřeného nátěru bylo zkontrolováno zařazení jednotlivých buněk a byly doplněny pozorované anomálie jednotlivých krevních řad. Nátěry byly současně vyšetřeny mikroskopicky, kdy byla nejprve při menším zvětšení zkontrolována buněčnost a obarvení nátěru a poté byl při větším zvětšení proveden diferenciální rozpočet leukocytů a vyhodnocení krevních řad. Nátěry septických pacientů byly vyhodnoceny v porovnání s nátěrem kontrolního dárce a byly zaznamenány morfologické a početní změny jednotlivých krevních řad při sepsi. V práci jsou uvedeny výsledky od 2 septických pacientů.

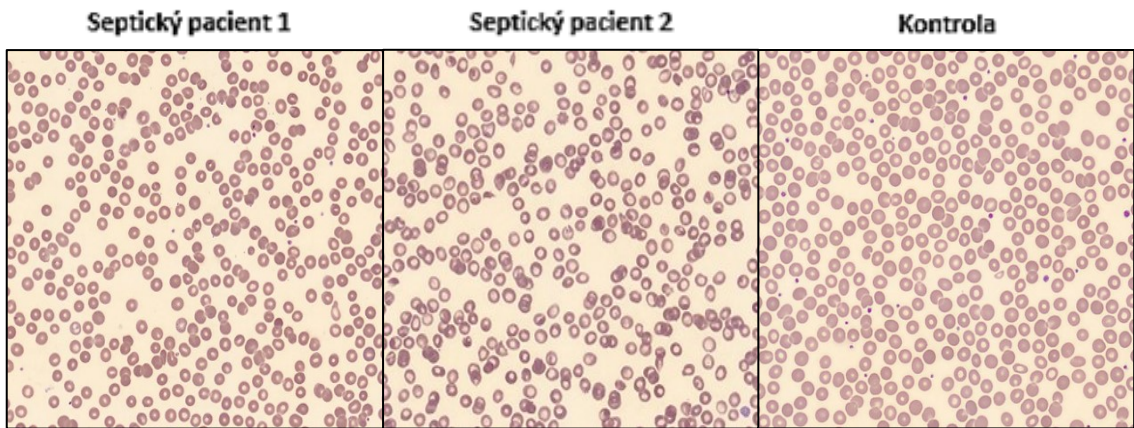
**Tabulka 48 – Krevní obraz – primární vzorek: krev (septický pacient vs. kontrola) [51]**

Krevní obraz – PK	Sepse 1 (muž)	Sepse 2 (žena)	Kontrola (žena)	Jednotky	Ref. interval
Leukocyty	<b>17,79</b>	4,19	5,88	10 <sup>9</sup> /L	4,00–10,00
Erytrocyty	<b>3,1</b>	<b>2,9</b>	4,91	10 <sup>12</sup> /L	Muži 4,00–5,8 Ženy 3,8–5,2
Hemoglobin	<b>107</b>	<b>82</b>	135	g/L	Muži 135–175 Ženy 120–160
Hematokrit	<b>0,312</b>	<b>0,237</b>	0,403	-	Muži 0,4–0,5 Ženy 0,35–0,47
MCV	<b>101</b>	82	82,1	fL	82–98
MCH	<b>35</b>	28	<b>27,5</b>	pg	28–34
MCHC	343	346	335	g/L	320–360
RDW	14,0	<b>15,6</b>	13,6	%	10,0–15,2
Trombocyty	<b>71</b>	<b>8</b>	271	10 <sup>9</sup> /L	150–400
MPV	10,7	- *	10,7	fL	7,8–12,8
Nezralá frakce PLT	<b>4,9</b>	<b>27,1</b>	0	%	0–0
ICIS skóre	<b>13</b>	<b>10</b>	0	-	0–5
MDW	<b>47,09</b>	<b>49,45</b>	18,08	-	0–21,5

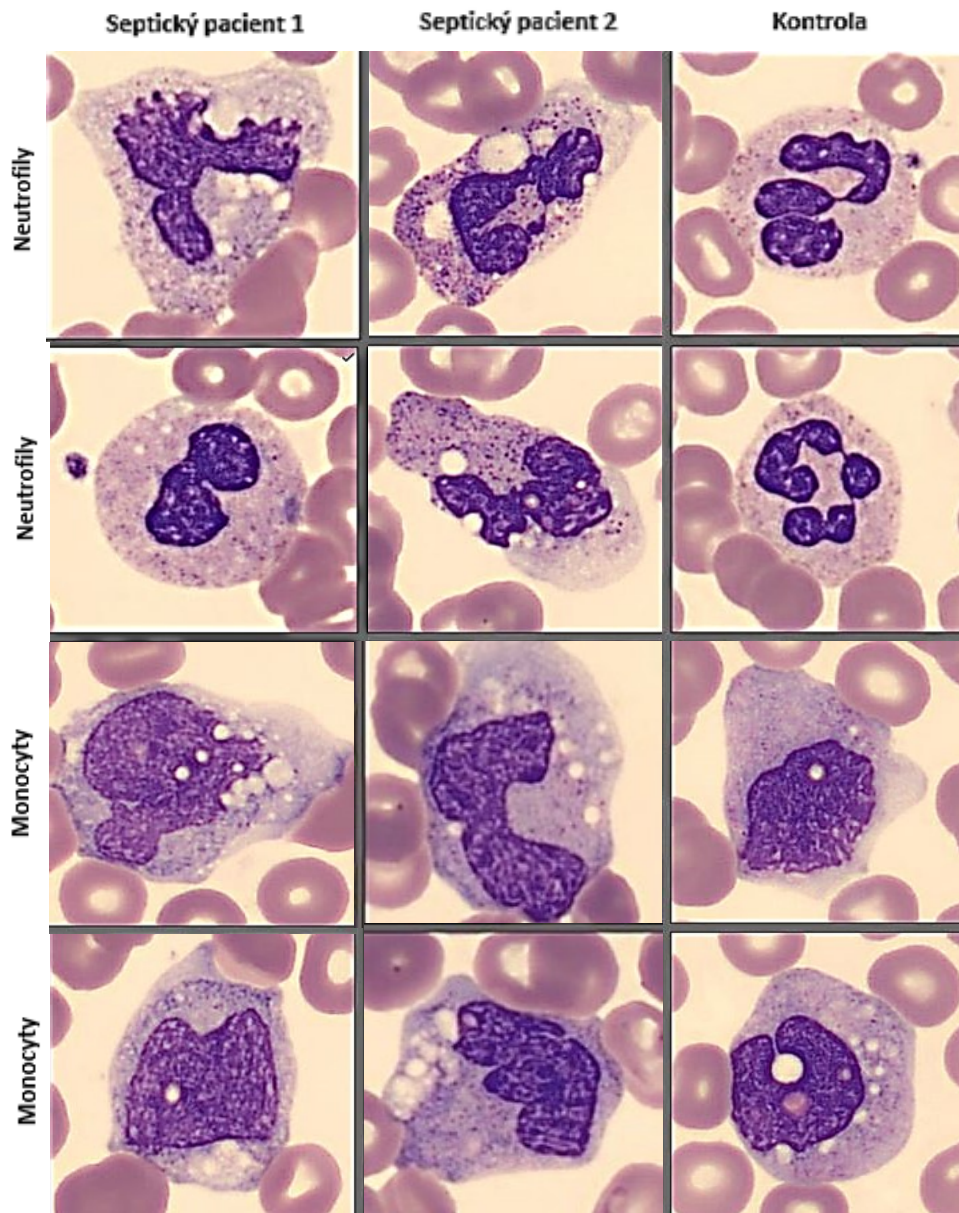
\* – Z důvodu vlastnosti vzorku nelze vydat výsledek

**Tabulka 49 – Diferenciál mikroskopicky – primární vzorek: krev (seps vs. kontrola) [51]**

Diferenciál mikroskopicky – PK	Seps 1	Seps 2	Kontrola	Jednotky	Ref. interval
Neutrofilní segmenty_mikr.	38	23	50	%	47–70
Neutrofilní tyče_mikr.	53	3	0	%	0–4
Lymfocyty_mikr.	2	70	41	%	20–45
Monocyty_mikr.	3	2	5	%	2–10
Eozinofily_mikr.	0	0	3	%	0–5
Bazofily_mikr.	0	0	1	%	0–1
Metamyelocyty	3	0	0	%	0–0
Myelocyty	0	1	0	%	0–0
Promyelocyty	0	0	0	%	0–0
Blastické elementy	0	0	0	%	0–0
Lymfocyty reaktivní	0	0	0	%	0–0
Lymfocyty atypické	0	0	0	%	0–0
Plazmatické buňky	1	0	0	%	0–0
Normoblasty (NRBC)	1	1	0	%	0–0
<b>Komentář DIF_mikroskop (seps 1):</b> Döhleho inkluze, toxická granulace neutrofilu, vakuolizace cytoplazmy neutrofilu, makrocyty, makrotrombocyty.					
<b>Komentář DIF_mikroskop (seps 2):</b> toxická granulace neutrofilu, vakuolizace cytoplazmy neutrofilu, hypochromní ery, anizocytóza, terčovitě ery, makrotrombocyty.					
<b>Komentář DIF_mikroskop (kontrola):</b> –					

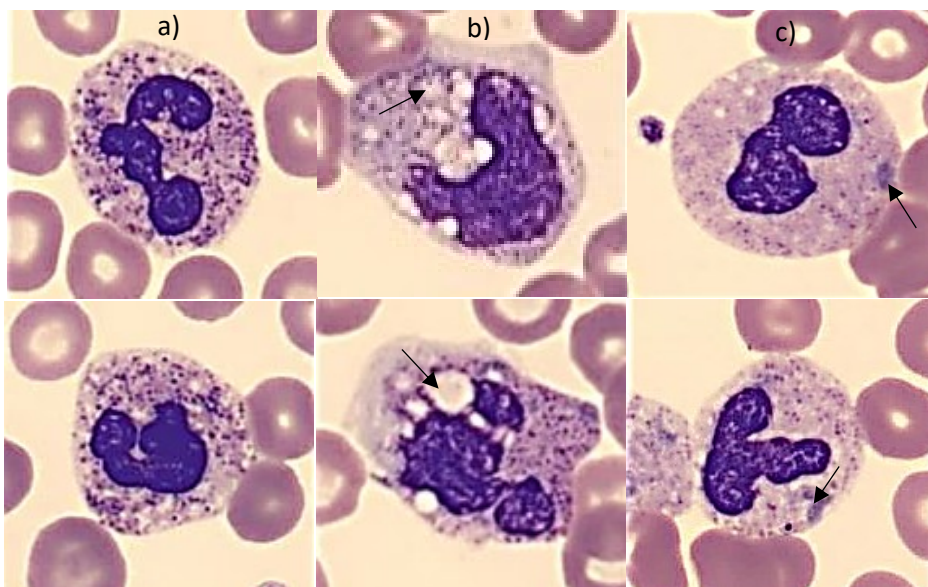


**Obrázek 21 – Erytrocytární a trombocytární řada**  
(vlastní fotografie z digitální morfologie, 2024)



**Obrázek 22 – Leukocytární řada**  
(vlastní fotografie z digitální morfologie, 2024)





**Obrázek 23 – Morfologické odchylky v neutrofilech při septickém stavu: toxická granulace (a), cytoplazmatická vakuolizace (b), Döhleho inkluze (c). (vlastní fotografie z digitální morfologie, 2024)**

Ve fyziologickém nátěru periferní krve od kontrolního dárce nebyly zjištěny žádné významné anomálie v jednotlivých krevních řadách.

V nátěru periferní krve od septického pacienta 1 byla z vyšetření krevního obrazu zjištěna leukocytóza, anémie a trombocytopenie. V rámci diferenciálního rozpočtu byla z početních odchylek zjištěna neutrofilie a lymfopenie. Z morfologických odchylek byl v leukocytární řadě pozorován posun doleva, vakuolizace neutrofilů, toxická granulace neutrofilů, Döhleho inkluze a přítomnost plazmatických buněk. V erytrocytární řadě byla pozorována polychromazie, makrocytóza a přítomnost normoblastů (NRBC). V trombocytární řadě byly pozorovány makrotrombocyty.

V nátěru periferní krve od septického pacienta 2 byla z vyšetření krevního obrazu zjištěna anémie, snížený počet erytrocytů a trombocytopenie a zvýšená přítomnost nezralé frakce trombocytů. V rámci diferenciálního rozpočtu byla z početních odchylek zjištěna neutropenie a lymfocytóza. Z morfologických odchylek byl v leukocytární řadě pozorován posun doleva, vakuolizace neutrofilů, toxická granulace neutrofilů a přítomnost plazmatických buněk. V erytrocytární řadě byla pozorována anizocytóza, makrocytóza, hypochromní ery, poikilocytóza (terčovitě ery a ovalocyty) a přítomnost normoblastů. V trombocytární řadě byly pozorovány makrotrombocyty.

## 7 DISKUZE

Cílem této práce bylo porovnání vybraných laboratorních markerů pro časný záchyt sepse a vyhodnocení parametru distribuční šíře monocytů (MDW) a dalších laboratorních markerů v závislosti na klinickém stavu pacientů. Parametr MDW byl dále vyšetřen v rámci různých problematik. Celkově bylo analyzováno 35 septických pacientů a 38 kontrolních jedinců.

V rámci vyšetření parametru MDW je jedním z požadavků pro zajištění validních výsledků dodržení doporučené doby stability vzorku krve. Při překročení doby stability nejsou výsledky validní vlivem kvantitativních a kvalitativních změn krevních složek ve vzorku v průběhu času. Výrobce Beckman Coulter Diagnostics uvádí v limitacích pro parametr MDW v rámci dodatku k aplikaci časného markeru sepse (ESId) nutnost vyšetřit MDW do 2 hodin od okamžiku odběru vzorku [97]. Dle doporučení laboratorní sekce ČHS je doporučená doba pro vyšetření parametrů krevního obrazu do 5 hodin od okamžiku odběru vzorku [51]. Na základě toho byla sledována stabilita parametru MDW u septických pacientů (N = 13) po 2 (referenční), 5 a 10 hodinách od okamžiku odběru. Z výsledků měření nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl hodnot výsledků po 5 hodinách (P = 0,520) a rovněž ani po 10 hodinách (P = 0,155) v porovnání s výsledky po 2 hodinách. Nicméně po 10 hodinách se ovšem výrazně navýšila diference (bias = -1,568) oproti výsledkům po 5 hodinách (bias = -0,479). Současně nedošlo ke statisticky významnému odchýlení hodnoty MDW v průběhu 2, 5 a 10 hodin (P = 0,335) a ke změně v interpretaci výsledků MDW na základě cut-off hodnoty (MDW >21,5). Výsledky korespondovaly s předchozími studiemi (Agnello, 2022), kdy při sledování stability MDW po dobu 8 hodin nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl výsledků MDW [111]. Na základě výše uvedeného by vyšetření parametru MDW mohlo být provedeno do 5 hodin od okamžiku odběru pro výzkumné účely.

V rámci vyšetření parametrů MDW a  $MO_{rel}$  je dalším z požadavků pro zajištění validních výsledků sledování opakovatelnosti v sérii. Výrobce Beckman Coulter Diagnostics uvádí v limitacích pro oba parametry variační koeficienty CV  $\leq 10\%$  při 10násobném měření totožného vzorku [66]. Opakovatelnost MDW a  $MO_{rel}$  v sérii byla měřena u 1 dárce a 2 septických pacientů. Potvrdilo se, že výsledné vypočítané variační koeficienty (CV)

pro parametry MDW a  $MO_{rel}$  splňovaly limit CV daný výrobcem ( $CV \leq 10\%$ ). U většiny výsledků nebyly výrazné rozdíly ve směrodatných odchylkách.

V rámci porovnání vybraných laboratorních markerů pro časný záchyt sepse byl nejprve vyhodnocen parametr MDW, který ukázal vysokou diagnostickou přesnost pro časný záchyt septických pacientů ( $AUC = 0,971$ ; 95% CI 0,892–0,997) v porovnání s kontrolní skupinou. Vyhodnocený Youdenův index J z ROC křivky asocioval kritérium  $MDW > 20,43$  ( $J = 0,8684$ ) o senzitivitě 100 % a specificitě 86,84 %. Z nabídnutých kritérií pro MDW bylo vyhodnoceno optimální kritérium  $MDW > 21,41$  ( $J = 0,8110$ ) o senzitivitě 86,36 % a specificitě 94,74 %, které tímto mělo vyšší diagnostickou hodnotu oproti dalším kritériím. Výsledná ROC analýza ukazovala významnou závislost mezi MDW a sepsí a byla zjištěna vysoká diagnostická přesnost parametru MDW. Vysoká senzitivita současně potvrdila možnost použití MDW jako diagnostického markeru sepse u pacientů na JIP. Zjištění korelovala s tvrzeními v předchozích studiích [112] [113] [114] [115] [116].

Důvodem vysoké senzitivity MDW je také fakt, že diferenciace monocytů v cirkulaci začíná relativně časně v kaskádě sepse [112]. Možným návrhem do budoucna pro zlepšení specificity je kombinování MDW s jinými markery [116]. Výsledek by měl být ovšem interpretován v kontextu všech dostupných klinických dat [113].

Pokud bychom od cut-off hodnoty pro MDW očekávali kombinaci vysoké senzitivity a zároveň vysoké specificity s přijatelnou negativní a pozitivní prediktivní hodnotou v rámci výběru z kritérií, bylo by vhodným optimálním kritériem  $MDW > 21,41$ . Hodnota kritéria  $MDW > 21,41$  se nachází poblíž cut-off hodnoty  $MDW > 21,5$  dané výrobcem (Beckman Coulter Diagnostics) a v tomto případě má výrobce dobře nastavenou cut-off hodnotu. Pokud bychom ovšem chtěli využít přednosti parametru MDW, tj. velmi vysoké senzitivity (pravděpodobnost vysokého záchytu sepse u pacienta se sepsí) spolu s vyšší negativní prediktivní hodnotou (pokles falešně negativních výsledků), a to i za cenu mírného poklesu specificity a pozitivní prediktivní hodnoty (nárůst falešně pozitivních výsledků), vhodným kritériem by bylo  $MDW > 20,43$ . Hodnota kritéria  $MDW > 20,43$  je nižší oproti cut-off  $MDW > 21,5$  dané výrobcem, a v tomto případě by bylo vhodné pro diagnostiku sepse snížit cut-off hodnotu doporučovanou výrobcem na hodnotu kritéria, popř. při vyšetřené hodnotě MDW

v rozmezí 20,4–21,5 nevylučovat možné riziko přítomnosti sepse [97]. Zjištěné kritérium MDW >20,43 je nižší než cut-off hodnota MDW >21,5; což korelovalo se studii, která doporučuje zvážit jako cut-off hodnotu MDW >20 pro diagnostiku sepse. [112]

Následně byl parametr MDW porovnán s vybranými hematologickými parametry (NLR, WBC, MO<sub>#</sub> a ICIS skóre). Nejvyšší výslednou hodnotu plochy pod ROC křivkou měl parametr MDW (AUC = 0,971; 95% CI 0,892–0,997) v porovnání s ROC křivkami parametrů NLR (AUC = 0,955; 95% CI 0,867–0,992), WBC (AUC = 0,867; 95% CI 0,755–0,941), MO<sub>#</sub> (AUC = 0,709; 95% CI 0,578–0,819) a ICIS skóre (AUC = 0,953; 95% CI 0,865–0,991), čímž parametr MDW ukázal nejvyšší diagnostickou přesnost při záchytu sepse z vybraných parametrů. Parametr MDW měl nejmenší rozdíly AUC hodnot s parametrem NLR ( $\Delta$ AUC = 0,017; 95% CI -0,081–0,114; P = 0,737) a se skórem ICIS ( $\Delta$ AUC = 0,019; 95% CI -0,060–0,097; P = 0,642). Statisticky významný rozdíl AUC hodnot ukázal parametr MDW v porovnání s parametrem MO<sub>#</sub> ( $\Delta$ AUC = 0,262; 95% CI -0,094–0,430; P = 0,002).

Parametr MDW je morfologický parametr odrážející míru aktivace a diferenciaci monocytů, která se projevuje objemovými a tvarovými změnami monocytů v periferní krvi. K aktivaci dochází časně během rozvoje zánětlivé reakce organismu při odpovědi na infekci a jedná se o důležitou složku vrozeného imunitního systému organismu. Parametr MDW je dostupný v rámci krevního obrazu měřeného na analyzátoru DxH 900 firmy Beckman Coulter jakémukoliv klinikovi v jakýkoli moment cesty terapie pacienta. Navíc, krevní obraz je ordinován, i když není u pacienta suspektní sepse. Standardně používanými biomarkery sepse jsou zánětlivé markery (CRP, PCT, IL-6 a presepsin), které jsou ovšem ordinovány až na základě klinického podezření na sepsi, což limituje jejich použitelnost pro časnou detekci sepse [115] [117]. Dalším aspektem zánětlivých markerů je jejich proměnlivá kinetika v průběhu 24 hodin od rozvoje sepse. Pacient je zachycen v různém stádiu rozvoje sepse, což se projevuje současně na hladinách zánětlivých parametrů. U parametru MDW byla proto dále sledována korelace se zánětlivými markery CRP, PCT, IL-6 a presepsinem při záchytu sepse pomocí lineární regresní analýzy. Z výsledných lineárních regresních analýz byla zjištěna nejvyšší korelace u závislosti CRP/MDW ( $R = 0,67$ ;  $R^2 = 0,454$ ). Následovala závislost Presepsin/MDW ( $R = 0,66$ ;  $R^2 = 0,440$ ) a závislost PCT/MDW ( $R = 0,50$ ;  $R^2 = 0,250$ ).

Nejnižší korelace byla zjištěna u závislosti IL-6/MDW ( $R = 0,40$ ;  $R^2 = 0,162$ ). C-reaktivní protein je pozdním markerem zánětu a má dlouho zvýšené hladiny. Proto byla u CRP zjištěna nejvyšší korelace s MDW. Parametr presepsin rovněž ukázal dobrou korelaci s MDW. Interleukin 6 je oproti tomu časným markerem s krátkodobě zvýšenými hladinami v čase, a proto byla u něj zjištěna nejnižší korelace. U parametru prokalcitoninu vyšla překvapivě nižší korelace, než se předpokládalo. Zjištění korelovalo s kinetikou zánětlivých markerů. Při výsledcích vycházejí relativně nižší korelační koeficienty  $R$  a koeficienty determinace  $R^2$ . To je dáno i tím, že není možné zachytit všechny pacienty v totožném časovém okamžiku v průběhu hodin od rozvoje sepse.

V rámci vyhodnocení parametru MDW a dalších parametrů v závislosti na klinickém stavu byla zjištěna statisticky významná závislost mezi přítomností sepse a vysokými hodnotami parametru MDW ( $P < 0,0001$ ) o mediánu 26,82 (IQR: 23,53–32,16) v porovnání s kontrolní skupinou o mediánu 18,27 (IQR: 17,42–19,39), což asociovalo s tvrzením v předchozích studiích [112] [114]. Statisticky významná závislost mezi přítomností sepse a hodnotou parametru ( $P < 0,0001$ ) byla zjištěna rovněž u parametrů NLR, WBC a skóre ICIS. Statisticky nevýznamný rozdíl byl zjištěn pouze u parametru MO# (Mann-Whitneyův  $U$  test:  $P = 0,5651$ ; Fisherův exaktní test:  $P = 0,3275$ ).

Při sledování kinetiky parametrů v závislosti na klinickém stavu septického pacienta byly pozorovány změny hodnot při zhoršení klinického stavu pacienta. Z vybraných zánětlivých markerů reagovaly časně interleukin 6 a presepsin. Oproti tomu prokalcitonin a C-reaktivní protein reagovaly se zpožděním v rámci hodin. Z vybraných hematologických markerů reagovaly časně MDW, WBC, NLR a ICIS skóre. U ICIS skóre bylo několik dní předem pozorováno postupné zvyšování hodnot, což v tomto případě mělo určitou prediktivní hodnotu průběhu klinického stavu pacienta.

Morfologické odchylky leukocytů jsou vedle krevního obrazu a změn v diferenciálním rozpočtu leukocytů další snadno dostupnou a rychlou metodou pro doplnění laboratorních vyšetření s podezřením na septický stav [49]. Při sledování morfologických a početních odchylek v nátěru periferní krve septických pacientů byla

u většiny nátěrů z vyšetření krevního obrazu zjištěna leukocytóza/leukopenie, anémie, trombocytopenie a zvýšená přítomnost nezralé frakce trombocytů (IPF). V diferenciálním rozpočtu byla z početních odchylek zjištěna častá neutrofilie a lymfopenie. Z morfologických odchylek leukocytární řady byl zjištěn posun doleva, vakuolizace neutrofilů, toxická granulace neutrofilů, Döhleho inkluze a výskyt plazmatických buněk. Z morfologických odchylek erytrocytární řady byla zjištěna častá hypochromie, anizocytóza, poikilocytóza a výskyt normoblastů (NRBC). V rámci trombocytární řady byla přítomnost makrotrombocytů. Pozorované početní a morfologické odchylky komplexně poukazovaly na septický stav pacientů (přítomnost infekce a zánětu) a současně potvrdily zjištěné anomálie v nátěru periferní krve při sepsi, uvedené v předchozích studiích [47] [49]. Je ovšem nutné zmínit, že v nátěrech nebyly vždy přítomny všechny zmíněné pozorované odchylky a je dobré počítat vždy s určitou mírou individuality. Mezi velmi časté odchylky pozorované ve všech nátěrech septických pacientů patřily posun doleva, toxická granulace a vakuolizace v neutrofilech.

## 8 ZÁVĚR

Sepse je život ohrožující orgánová dysfunkce způsobená dysregulovanou zánětlivou odpovědí hostitele na infekci. Vzhledem k riziku rychlého rozvoje a závažnosti stavu je sepsa celosvětově stále jednou z hlavních příčin úmrtí na jednotkách intenzivní péče. Jelikož je potřeba sepsi rychle diagnostikovat a časně nasadit adekvátní terapii, avšak klinické projevy bývají velmi heterogenní a standardně používané kultivační metody jsou zdlouhavé, narůstá zájem o další pomocné laboratorní markery s vysokou diagnostickou přesností a rychlou odezvou.

Vedle zavedených používaných biochemických parametrů se v poslední době objevují také parametry hematologické. Jejich předností je rutinnost metody (krevní obraz), nízká cena, dostupnost v jakýkoli okamžik ve většině zdravotnických zařízení a rychlá odezva. To je velká výhoda oproti biochemickým zánětlivým parametrům, které jsou cenově náročnější s omezenou dostupností na pracovištích a s delší odezvou. Hlavní nevýhodou biochemických markerů ovšem je, že jsou ordinovány až při podezření na sepsi.

Parametr MDW vykazoval nejvyšší diagnostickou přesnost v porovnání s hematologickými parametry WBC, MO#, NLR a ICIS skórem při zachytu sepsa oproti fyziologické kontrolní skupině. Poměr NLR a ICIS skóre rovněž prokázaly při zachytu sepsa svoji vysokou diagnostickou přesnost. Parametr WBC i přes svoji nízkou specifitu hraje velkou roli jako doplňující parametr při identifikaci a byla u něj také zjištěna statisticky významná závislost jeho hodnot na přítomnosti sepsa. U parametru MO# se zjištěnou nejnižší diagnostickou přesností nebyla jako u jediného z vybraných sledovaných parametrů zjištěna statisticky významná závislost jeho hodnot na přítomnosti sepsa.

Parametr MDW se osvědčuje jako diagnosticky velmi přesný marker při zachytu sepsa. Jeho předností je oproti ostatním markerům jeho rychlost vyšetření, vysoká senzitivita a nízká cena stanovení. S výhodou se používá jako diagnostický indikátor sepsa (ESId). Získává se měřením KO na analyzátoru Beckman Coulter DxH 900. MDW je schválen FDA a ukázal potenciál pro zlepšení časné identifikace sepsa. Určitou nevýhodou je omezení metody, kdy se MDW vyšetřuje pouze na přístrojích DxH 900, kterých není v České

republice mnoho. Další menší limitací je počet monocytů, kdy pro jejich nízkou hodnotu nemusí být MDW vyhodnoceno analyzátozem. Budoucím směrem pro zvýšení specifcity a dosáhnutí lepší diagnostické schopnosti MDW se ukazuje kombinování parametru MDW s jinými parametry krevního obrazu.

ICIS skóre se na základě výsledků ukazuje rovněž jako velmi slibný skórovací systém pro diagnostiku a predikci prognózy sepse. Skóre je dostupné pouze u přístrojů XN firmy Sysmex za poplatek a jedná se zatím o výzkumný parametr (RUO – Research Use Only).

Určitou limitací této práce je relativně nižší počet pacientů a porovnávání septických pacientů pouze s čistě fyziologickou kontrolní skupinou, což se projevuje také na výsledcích. Jednalo se pouze o pacienty na klinice KARIM ve Fakultní nemocnici v Ostravě. Bylo by vhodné dále provést analýzu na větší skupině pacientů s rozmanitějšími kontrolními skupinami se samotnou přítomností zánětu, SIRS anebo přítomností infekce. Další otázkou je možnost využití MDW u dětských pacientů se sepsí.

Kombinace parametru MDW a ICIS skóre s dalšími hematologickými a zejména biochemickými markery má velký potenciál pro časnou diagnostiku a predikci prognózy sepse.



## 9 POUŽITÉ ZKRATKY

#	absolutní počet
a	aktivovaná forma
ADP	adenosindifosfát
IG	nezralé granulocyty (immature granulocytes)
AKI	akutní poškození ledvin (sepsis-associated acute kidney injury)
ALP	alkalická fosfatáza
aPTT	aktivovaný parciální tromboplastinový čas
APC	antigen-prezentující buňka
APS	antifosfolipidový syndrom
ARDS	syndrom akutní dechové tísně (adult respiratory response syndrome)
ARO	anesteziologicko-resuscitační oddělení
ASL	lymfocyty syntetizující protilátky
AT	antitrombin
AUC	plocha pod křivkou (area under curve)
BAND	neutrofilní tyče
CBC	celkový krevní obraz (cell blood count)
CD	povrchový znak
cfDNA	volně cirkulující fragmenty DNA (cell-free DNA)
CFU-GM	progenitorová buňka granulomonocytární řady (colony forming unit – granulocyte macrophage)
CFU-M	progenitorová buňka monocytární řady (colony forming unit – macrophage)
CI	interval spolehlivosti (confidence interval)
CLEIA	chemiluminiscenční enzymová imunoanalýza
CM	klasické monocyty
CRP	C-reaktivní protein
Cut-off	hraniční hodnota negativity/pozitivity
CV	variační koeficient
DAMP	molekulární vzory asociované s poškozením (damage associated molecular patterns)
dCHC	Rozdíl v množství hemoglobinu u nezralých a zralých erytrocytů

DIC	diseminovaná intravaskulární koagulace
DIF	diferenciální rozpočet leukocytů
DM	diabetes mellitus
<i>E. Coli</i>	<i>Escherichia Coli</i>
ERD	erytrocyty resuspendované deleukotizované
ESId	časný indikátor sepse (Early Sepsis Indicator)
FBG	fibrinogen
Fc	krystalizovaný fragment (fragment crystallizable)
FDA	úřad pro kontrolu potravin a léčiv (Food and drug administration)
FDP	fibrin/fibrinogen degradační produkty
FEU	fibrinogen ekvivalentní jednotky
FFP	čerstvě mražená plazma (fresh frozen plasma)
FiO <sub>2</sub>	inspirační koncentrace kyslíku
FN	falešně negativní (false negative)
FNO	fakultní nemocnice Ostrava
FP	falešně pozitivní (false positive)
G-CSF	granulocytární kolonie stimulující faktor (granulocyte colony stimulating factor)
GCS	stav vědomí (glasgow coma scale)
HUS	hemolyticko-uremický syndrom
ICAM	intracelulární adhezivní molekuly 1
ICIS skóre	intensive care infection score
IFN	interferon
Ig	imunoglobulin
IKŘ	infekce krevního řečiště
IL	interleukin
ISTH	mezinárodní společnost pro trombózu a hemostázu
IM	„intermediate“ monocyty
IPF	nezralá frakce trombocytů (immature platelet fraction)
IQR	interkvartilní rozsah (interquartile range)
JAMA	časopis americké lékařské asociace
JIP	jednotka intenzivní péče

K <sub>2</sub> EDTA	di-draselná sůl kyseliny ethylen-diamin-tetraoctové
K <sub>3</sub> EDTA	tri-draselná sůl kyseliny ethylen-diamin-tetraoctové
KARIM	klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny
LBP	lipopolysacharid vázající protein
LCD	displej z tekutých krystalů (liquid crystal display)
LD	laktátdehydrogenáza
LDW	distribuční šíře lymfocytů (Lymphocytes distribution width)
LPS	lipopolysacharid
LR	Pravděpodobnostní poměr, míra pravděpodobnosti (Likelyhood ratio)
LY	počet lymfocytů
MALDI	matricí asistovaná laserová desorpce/ionizace, (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization)
MAP	střední arteriální tlak (Mean arterial pressure)
MDW	distribuční šíře monocytů
MFS	mononukleární-fagocytární systém
miRNA	mikroRNA
MNO	městská nemocnice Ostrava
MO	počet monocytů
MODS	syndrom multiorgánové dysfunkce (multiple organ dysfunction syndrome)
MTM	modul s více snímači (multiple transducer module)
NA	noradrenalin
NaF	fluorid sodný
NCM	neklasické monocyty
NE	počet neutrofilů
NET	neutrofilní extracelulární pastl (neutrophil extracellular trap)
NF-κB	nukleární faktor kappa-light-chain-enhancer aktivovaných B buněk
NLR	NOD-like receptor / poměr neutrofilů a lymfocytů
NO	oxid dusnatý
NOD	nukleotid-vázající-oligomerační doména (nucleotide-binding oligomerization domain)
NPV	negativní prediktivní hodnota (negative predictive value)

ns	nesignifikantní (non-significant)
OKB	oddělení klinické biochemie
OKH	oddělení klinické hematologie
P	P hodnota
PA	plazma z aferézy
PAI-1	inhibitor aktivátoru plasminogenu
PaO <sub>2</sub>	parciální tlak kyslíku
PAMP	molekulární vzory asociované s patogeny (pathogen associated molecular patterns)
PCR	polymerázová řetězová reakce
PCT	prokalcitonin
PLT	počet trombocytů
PPV	pozitivní prediktivní hodnota (positive predictive value)
PRR	receptor rozpoznávající vzory (pattern recognition receptor)
PT	protrombinový test
qSOFA	quick sequential/sepsis-related organ failure score
R	poměr (ratio)
rel	relativní
RLS	rotovaný rozptyl světla (rotated light scatter)
RNA	ribonukleová kyselina
ROS	reaktivní formy kyslíku
RPM	počet otáček za minutu
RRT	renální výměnná terapie
RUO	výhradně k výzkumnému použití (research use only)
SARS-CoV-2	syndrom akutní dechové tísně-Covid (severe acute respiratory syndrome-Covid)
sCD14	solubilní CD14
sCD14-ST	solubilní N-terminální fragment CD14
SD	směrodatná odchylka
sg	signifikantní (significant)
SIC	sepsí indukovaná koagulopatie

SIRS	syndrom systémové zánětlivé odpovědi (systemic inflammatory response syndrome)
SLE	systémový lupus erythematosus
sN	neutrofilní segmenty
sNFL	fluorescence neutrofilních segmentů
SOFA	sequential/sepsis-related organ failure score
<i>Sp.</i>	druh (species)
SpO <sub>2</sub>	odhad saturace arteriální krve kyslíkem
SvO <sub>2</sub>	saturace venózní krve kyslíkem
STK	systolický krevní tlak
T buňky	T-lymfocyty
TAT	trombin-antitrombin komplex
TF	tkáňový faktor
TFPI	inhibitor dráhy tkáňového faktoru (tissue factor pathway inhibitor)
TLR	toll-like receptor
TN	správně negativní (true negative)
TNF	tumor nekrotizující faktor
TOF	hmotnostní spektrometrie doby letu (Time Of Flight)
TP	správně pozitivní (true positive)
tPA	tkáňový aktivátor plasminogenu
TTP	trombotická trombocytopenická purpura
TU	transfuzní jednotka
UPV	umělá plicní ventilace
USA	spojené státy americké
VCAM1	vaskulární adhezivní molekuly 1
VCS	objem, vodivost, rozptyl světla (volume, conductivity, scatter)
WBC	počet leukocytů

## 10 SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 – Infekce krevního řečiště (Hurych, 2020) [2] .....	10
Tabulka 2 – Bakteriální agens sepse (Hurych, 2020) (Kolářová, 2020) [2] [19] .....	15
Tabulka 3 – SOFA skóre (Li, 2020) [37].....	24
Tabulka 4 – qSOFA skóre (Horák, 2016) [11] .....	24
Tabulka 5 – Klasifikace biomarkerů (Póvoa, 2022) [40].....	25
Tabulka 6 – Příklad laboratorních markerů sepse [36] [42] [43] [44] [45] [46] .....	26
Tabulka 7 – Rozdělení monocytů dle exprese CD16 a CD14 (Slavík, 2023) [38].....	32
Tabulka 8 – Parametry ICIS skóre (Nierhaus, 2012) [46] .....	35
Tabulka 9 – ICIS skóre (Nierhaus, 2012) [46] .....	35
Tabulka 10 – Skóre pro SIC vs. ISTH Zjevný (Overt) DIC (Iba, 2020) [82] .....	39
Tabulka 11 – Charakteristika celkového vyšetřovaného souboru 35 septických pacientů .....	51
Tabulka 12 – Charakteristika vyšetřovaného souboru 22 septických pacientů při zachytu .....	51
Tabulka 13 – Stabilita parametru MDW po 2 hod., 5 hod. a 10 hod. (vlastní data) .....	64
Tabulka 14 – Oboustranný párový t-test pro porovnání MDW 2 hodin vs. 5 hodin.....	65
Tabulka 15 – Oboustranný párový t-test pro porovnání MDW 2 hodin vs. 10 hodin.....	65
Tabulka 16 – Jednofaktorová bloková ANOVA (GraphPad, vlastní data) .....	65
Tabulka 17 – Blandův-Altmanův diagram (GraphPad, vlastní data) .....	65
Tabulka 18 – Opakovatelnost MDW a $MO_{rel}$ v sérii u dárců a pacientů.....	67
Tabulka 19 – ROC analýza MDW k rozlišení mezi sepsí a nepřítomností sepse .....	71
Tabulka 20 – Jednotlivá kritéria MDW poblíž kritéria asociovaného Youdenovým indexem J ..	71
Tabulka 21 – Kritérium MDW >20,55 asociované Youdenovým indexem J z ROC křivky.....	72
Tabulka 22 – Optimální kritérium MDW >21,41 z ROC křivky .....	72
Tabulka 23 – ROC analýza NLR k rozlišení mezi sepsí a nepřítomností sepse .....	74
Tabulka 24 – Kritérium NLR >3,16 asociované s Youdenovým indexem J z ROC křivky .....	74
Tabulka 25 – ROC analýza WBC k rozlišení mezi sepsí a nepřítomností sepse .....	76
Tabulka 26 – Kritérium WBC >9,6 asociované s Youdenovým indexem J z ROC křivky .....	76
Tabulka 27 – Optimální kritérium WBC >9,7 z ROC křivky .....	77
Tabulka 28 – ROC analýza $MO_{\#}$ k rozlišení mezi sepsí a nepřítomností sepse.....	79
Tabulka 29 – Kritérium $MO_{\#}$ >0,7 asociované s Youdenovým indexem J z ROC křivky .....	79
Tabulka 30 – Optimální kritérium $MO_{\#}$ >1 z ROC křivky .....	80
Tabulka 31 – ROC analýza ICIS skóre k rozlišení mezi sepsí a nepřítomností sepse .....	82
Tabulka 32 – Kritérium ICIS skóre >2 asociované s Youdenovým indexem J z ROC křivky .....	82
Tabulka 33 – Optimální kritérium ICIS skóre >3 z ROC křivky .....	83

Tabulka 34 – ROC analýza parametrů MDW, NLR, WBC, MO <sub>#</sub> a ICIS skóre .....	85
Tabulka 35 – ROC analýza pro porovnání vybraných parametrů při záchytu sepse.....	85
Tabulka 36 – Míra korelace MDW se zánětlivými parametry (MedCalc, vlastní data) .....	87
Tabulka 37 – Parametry v závislosti na přítomnosti sepse, Mann-Whitneyův U test (P).....	90
Tabulka 38 – Cut-off hodnota pro parametr MDW pro záchyt sepse, Fisherův exaktní test (P) 94	
Tabulka 39 – Kontingenční tabulka závislosti MDW a sepse při cut-off >20,5 .....	94
Tabulka 40 – Cut-off hodnota pro parametr NLR pro záchyt sepse, Fisherův exaktní test (P)...	96
Tabulka 41 – Kontingenční tabulka závislosti NLR a sepse při cut-off >4 .....	96
Tabulka 42 – Cut-off rozmezí pro parametr WBC pro záchyt sepse, Fisherův exaktní test (P) ..	98
Tabulka 43 – Kontingenční tabulka závislosti WBC a sepse při cut-off >4/>10 x 10 <sup>9</sup> /L .....	98
Tabulka 44 – Cut-off rozmezí pro parametr MO <sub>#</sub> pro záchyt sepse, Fisherův exaktní test (P) .	100
Tabulka 45 – Kontingenční tabulka závislosti MO <sub>#</sub> a sepse při cut-off >0,8/>1,2 x 10 <sup>9</sup> /L .....	100
Tabulka 46 – Cut-off hodnota pro ICIS skóre pro záchyt sepse, Fisherův exaktní test (P).....	102
Tabulka 47 – Kontingenční tabulka závislosti ICIS skóre a sepse při cut-off ≥4 .....	102
Tabulka 48 – Krevní obraz – primární vzorek: krev (septický pacient vs. kontrola) [51] .....	109
Tabulka 49 – Diferenciál mikroskopicky – primární vzorek: krev (sepse vs. kontrola) [51].....	110

## 11 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 – Infekce vs Sepse .....	11
Obrázek 2 – Kritéria sepse v průběhu vývoje definice sepse.....	14
Obrázek 3 – Patofyziologie časně sepse .....	21
Obrázek 4 – Morfologické odchylky v neutrofilech .....	28
Obrázek 5 – Monoblast.....	30
Obrázek 6 – Promonocyt.....	30
Obrázek 7 – Monocyt.....	31
Obrázek 8 – Distribuční šíře monocytů u sepse .....	33
Obrázek 9 – Kinetika zánětlivých biomarkerů.....	44
Obrázek 10 – Analyzátor DxH 900.....	53
Obrázek 11 – Měření rozptylu světla na DxH 900.....	54
Obrázek 12 – Scattergram a MDW při sepsi .....	54
Obrázek 13 – Opakovatelnost MDW.....	55
Obrázek 14 – Opakovatelnost $MO_{rel}$ .....	55
Obrázek 15 – Sysmex XN-9000.....	56
Obrázek 16 – Analyzátor DI-60 pro digitální morfologii.....	56
Obrázek 17 – Atellica CH 930 Analyzer, Atellica IM 1300 Analyzer .....	57
Obrázek 18 – Přístroj Pathfast .....	58
Obrázek 19 – Senzitivita, Specificita, Negativní a pozitivní prediktivní hodnota (NPV/PPV).....	62
Obrázek 20 – ROC křivka s odvozeným Youdenovým indexem .....	62
Obrázek 21 – Erytrocytární a trombocytární řada .....	111
Obrázek 22 – Leukocytární řada .....	111
Obrázek 23 – Morfologické odchylky v neutrofilech při septickém stavu:.....	112



## 12 SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 – Stabilita parametru MDW po 2, 5 a 10 hodinách.....	63
Graf 2 – Stabilita MDW po 5 hodinách .....	64
Graf 3 – Stabilita MDW po 10 hodinách .....	64
Graf 4 – Blandův-Altmanův diagram MDW .....	64
Graf 5 – Blandův-Altmanův diagram MDW .....	64
Graf 6 – Opakovatelnost MDW v sérii.....	68
Graf 7 – Opakovatelnost $MO_{rel}$ v sérii .....	68
Graf 8 – ROC analýza parametru MDW při záchytu sepse.....	72
Graf 9 – ROC analýza parametru NLR při záchytu sepse.....	75
Graf 10 – ROC analýza parametru WBC při záchytu sepse .....	77
Graf 11 – ROC analýza parametru $MO_{\#}$ při záchytu sepse .....	80
Graf 12 – ROC analýza ICIS skóre při záchytu sepse .....	83
Graf 13 – ROC analýza pro porovnání parametrů při záchytu sepse .....	86
Graf 14 – ROC analýza vybraných parametrů při záchytu sepse .....	86
Graf 15 – Korelace parametru MDW se zánětlivými parametry.....	87
Graf 16 – Parametr MDW v přítomnosti sepse vs. kontrola.....	91
Graf 17 – Parametr NLR v přítomnosti sepse vs. kontrola.....	91
Graf 18 – Parametr WBC v přítomnosti sepse vs. kontrola .....	92
Graf 19 – Parametr $MO_{\#}$ v přítomnosti sepse vs. kontrola.....	92
Graf 20 – ICIS skóre v přítomnosti sepse vs. kontrola.....	93
Graf 21 – Mozaikový graf parametru MDW.....	95
Graf 22 – Mozaikový graf parametru NLR.....	97
Graf 23 – Mozaikový graf parametru WBC .....	99
Graf 24 – Mozaikový graf parametru $MO_{\#}$ .....	101
Graf 25 – Mozaikový graf ICIS skóre .....	103
Graf 26 – Souhrnná kinetika zánětlivých parametrů u septického pacienta .....	106
Graf 27 – Kinetika parametrů CRP, PCT, IL-6 a presepsinu u septického pacienta.....	106
Graf 28 – Souhrnná kinetika zánětlivých parametrů u septického pacienta .....	106
Graf 29 – Souhrnná kinetika hematologických parametrů u septického pacienta.....	107
Graf 30 – Kinetika parametru WBC a ICIS skóre u septického pacienta .....	107
Graf 31 – Souhrnná kinetika hematologických parametrů u septického pacienta.....	107

## 13 CITOVANÁ LITERATURA

- [1] ČERMÁK, Pavel. *Mikrobiologická diagnostika infekcí krevního řečiště*. Praha: Maxdorf, 2008. Jessenius. ISBN 978-80-7345-142-4.
- [2] HURYCH, Jakub a Roman ŠTÍCHA. *Lékařská mikrobiologie: repetitorium*. Praha: Stanislav Juhaňák - Triton, 2020. ISBN 978-80-7553-844-4.
- [3] SINGER, Mervyn, Clifford S. DEUTSCHMAN, Manu SHANKAR-HARI a kolektiv. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* [online]. 2016, 2016-02-23, **315**(8), 801-810 [cit. 2024-04-05]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2016.0287
- [4] SRZÍČ, Ivana. Sepsis definition: What's new in the Treatment Guidelines. *Acta clinica croatica* [online]. 2022 [cit. 2023-09-26]. ISSN 03539474. Dostupné z: doi:10.20471/acc.2022.61.s1.11
- [5] VINCENT, Jean-Louis. Sepsis and infection: Two words that should not be confused. *Frontiers in Medicine* [online]. 2023, 2023-3-9, **10** [cit. 2023-09-26]. ISSN 2296-858X. Dostupné z: doi:10.3389/fmed.2023.1156732
- [6] ZIMA, Tomáš. *Laboratorní diagnostika*. třetí. Praha: Galén, 2013. ISBN 978-80-7492-062-2.
- [7] PRŮCHA, Miroslav, Michal FEDORA, Eva KIESLICOVÁ a Vladimír ŠRÁMEK. *Sepse*. Praha: Maxdorf, 2015. ISBN 978-80-7345-448-7.
- [8] BONE, Roger C., Robert A. BALK, Frank B. CERRA a kolektiv. Definitions for Sepsis and Organ Failure and Guidelines for the Use of Innovative Therapies in Sepsis. *Chest* [online]. 1992, **101**(6), 1644-1655 [cit. 2024-04-05]. ISSN 00123692. Dostupné z: doi:10.1378/chest.101.6.1644
- [9] GUARINO, Matteo, Benedetta PERNA, Alice Eleonora CESARO a kolektiv. 2023 Update on Sepsis and Septic Shock in Adult Patients: Management in the Emergency Department. *Journal of Clinical Medicine* [online]. 2023, **12**(9) [cit. 2023-09-26]. ISSN 2077-0383. Dostupné z: doi:10.3390/jcm12093188
- [10] ARMSTRONG, Bracken A., Richard D. BETZOLD a Addison K. MAY. Sepsis and Septic Shock Strategies. *Surgical Clinics of North America* [online]. 2017, **97**(6), 1339-1379 [cit. 2024-07-10]. ISSN 00396109. Dostupné z: doi:10.1016/j.suc.2017.07.003
- [11] HORÁK, Jan, Martin HARAŽIM, Thomas KARVUNIDIS, Jaroslav RADĚJ, Ivan NOVÁK a Martin MATĚJOVIČ. Sepse - jak ji poznat, na co se zaměřit aneb zpět k základům ve světle nové definice. *Vnitřní lékařství* [online]. 2016, **62**(7-8), 568-574 [cit. 2023-10-13]. ISSN 0042-773X.

- [12] MATĚJOVIČ, Martin. Sepsis a její nová definice. *Postgraduální nefrologie* [online]. Praha: MEDICAL TRIBUNE CZ, 2017, **15**(1), 4-8 [cit. 2024-04-05]. ISSN 1214-178X. Dostupné z: <https://www.postgradualninefrologie.cz/cislo-xv-1/sepsis-a-jeji-nova-definice/>
- [13] FARKAS, Josh. Top ten problems with the new sepsis definition. In: PULMCRIIT. *Emcrit.org* [online]. 2016 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: <https://emcrit.org/pulmcrit/problems-sepsis-3-definition/>
- [14] LI, Jianping, Yigi LUO, Hao LI a kolektiv. Research progress of viral sepsis: etiology, pathophysiology, diagnosis and treatment. *Emergency and Critical Care Medicine* [online]. 2024, **4**(2), 74-81 [cit. 2024-07-05]. ISSN 2693-860X. Dostupné z: doi:10.1097/EC9.000000000000086
- [15] KOLÁŘ, Milan. Sepsis z pohledu klinické mikrobiologie. *Klinická farmakologie a farmacie* [online]. Olomouc: Solen, 2016, **30**(3), 29-32 [cit. 2024-07-03]. ISSN 1803-5353. Dostupné z: doi:10.36290/far.2016.027
- [16] BLADON, Siân, Diane ASHIRU-OREDOPE, Neil CUNNINGHAM a kolektiv. Rapid systematic review on risks and outcomes of sepsis: the influence of risk factors associated with health inequalities. *International Journal for Equity in Health* [online]. 2024, **23**(1) [cit. 2024-05-10]. ISSN 1475-9276. Dostupné z: doi:10.1186/s12939-024-02114-6
- [17] HENRIKSEN, Daniel Pilsgaard, Anton POTTEGÅRD, Christian B. LAURSEN a kolektiv. Risk Factors for Hospitalization Due to Community-Acquired Sepsis – A Population-Based Case-Control Study. *PLOS ONE* [online]. 2015, **10**(4) [cit. 2024-05-10]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0124838
- [18] WANG, Henry E., Nathan I. SHAPIRO, Russell GRIFFIN a kolektiv. Chronic Medical Conditions and Risk of Sepsis. *PLoS ONE* [online]. 2012, **7**(10) [cit. 2024-05-10]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0048307
- [19] KOLÁŘOVÁ, Libuše. *Obecná a klinická mikrobiologie*. Praha: Galén, 2020. ISBN 9788074924774.
- [20] ARORA, Jaskirat, Mendelson ASHER a Fox-Robichaud ALISON. Sepsis: network pathophysiology and implications for early diagnosis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* [online]. 2023, **324**(5), 613-624 [cit. 2024-04-05]. Dostupné z: doi:10.1152/ajpregu.00003.2023
- [21] STREITOVÁ, Dana a Renáta ZOUBKOVÁ. *Septické stavy v intenzivní péči: ošetrovatelská péče*. Praha: GRADA Publishing, 2015. Sestra. ISBN 978-80-247-5215-0.

- [22] JARCZAK, Dominik, Stefan KLUGE a Axel NIERHAUS. Sepsis—Pathophysiology and Therapeutic Concepts. *Frontiers in Medicine* [online]. 2021, **8**(628302) [cit. 2024-04-05]. ISSN 2296-858X. Dostupné z: doi:10.3389/fmed.2021.628302
- [23] FERENČÍK, Miroslav, Josef ROVENSKÝ, Yehuda SHOENFELD a kolektiv. *Imunitní systém: Informace pro každého*. Praha: Grada Publishing, 2005. ISBN 978-80-247-6740-6.
- [24] KREJSEK, Jan, Ctirad ANDRÝS a Irena KRČMOVÁ. *Imunologie člověka*. Hradec Králové: Garamon, 2016. ISBN 978-80-86472-74-4.
- [25] JACOBI, Judith. The pathophysiology of sepsis-2021 update: Part 1, immunology and coagulopathy leading to endothelial injury. *American Journal of Health-System Pharmacy* [online]. 2022, **79**(5), 329-337 [cit. 2024-04-05]. ISSN 1079-2082. Dostupné z: doi:10.1093/ajhp/zxab380. PMID: 34605875; PMCID: PMC8500113.
- [26] VOKURKA, Martin a kolektiv. *Patofyziologie pro nelékařské směry*. 4., uprav. vyd. Praha: Univerzita Karlova - Nakladatelství Karolinum, 2018. Učební texty Univerzity Karlovy. ISBN 978-80-246-3563-7.
- [27] BENEŠ, Jiří. Vývoj názorů na patofyziologii sepse. *Vnitřní lékařství* [online]. Olomouc: Solen, 2017, **63**(7-8), 481-487 [cit. 2024-04-05]. ISSN 1801-7592. Dostupné z: doi:10.36290/vnl.2017.100
- [28] JACOBI, Judith. The pathophysiology of sepsis - 2021 update: Part 2, organ dysfunction and assessment. *American Journal of Health-System Pharmacy* [online]. 2022, **79**(6), 424-436 [cit. 2024-04-05]. ISSN 1079-2082. PMID: 34651652. Dostupné z: doi:10.1093/ajhp/zxab393
- [29] BASAVARAJA, GV a SUDAY SHANKAR. Multiple Organ Dysfunction (MODS) in Sepsis. *Journal of Pediatric Critical Care* [online]. 2018, **5**(5), 45-53 [cit. 2024-04-05]. ISSN 2349-6592. Dostupné z: doi:10.21304/2018.0505.00425
- [30] LEVI, Marcel a Tom VAN DER POLL. Coagulation and sepsis. *Thrombosis Research* [online]. 2017, **149**, 38-44 [cit. 2024-04-05]. ISSN 1879-2472. Dostupné z: doi:10.1016/j.thromres.2016.11.007
- [31] CECCONI, Maurizio, Laura EVANS, Mitchell LEVY a Andrew RHODES. Sepsis and septic shock. *The Lancet* [online]. 2018, **392**(10141), 75-87 [cit. 2024-07-07]. ISSN 0140-6736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(18)30696-2
- [32] HOTCHKISS, Richard S., Lyle L. MOLDAWER, Steven M. OPAL a kolektiv. Sepsis and septic shock. *Nature Reviews Disease Primers* [online]. 2016, **2**(16045) [cit. 2024-04-05]. ISSN 2056-676X. Dostupné z: doi:10.1038/nrdp.2016.45

- [33] LIU, Di, Si-Yuan HUANG, Jian-Hui SUN a kolektiv. Sepsis-induced immunosuppression: mechanisms, diagnosis and current treatment options. *PubMed* [online]. 2022 [cit. 2023-10-25]. Dostupné z: doi:10.1186/s40779-022-00422-y
- [34] MATĚJOVIČ, Martin a Petr LEHNERT. Rozhovor s prof. Martinem Matějovičem: Sepse je náš koncept; hledání univerzálního biomarkeru je zřejmě slepá cesta. *In Vitro Diagnostika*. 2022, **2022**(40).
- [35] NAIR, Muralitharan a Ian PEATE. *Patofyziologie pro zdravotnické obory*. Přeložil Hana POSPÍŠILOVÁ. Praha: Grada Publishing, 2017. ISBN 978-80-271-0229-7.
- [36] KARVUNIDIS, Thomas a Martin MATĚJOVIČ. Sepsis mimics. *Vnitřní lékařství* [online]. 2019, **65**(6), 440-448 [cit. 2023-09-26]. ISSN 0042-773X. Dostupné z: doi:10.36290/vnl.2019.078
- [37] LI, Yonglin, Chunjiang YAN, Ziyang GAN a kolektiv. Prognostic values of SOFA score, qSOFA score, and LODS score for patients with sepsis. *Annals of Palliative Medicine* [online]. 2020, **9**(3), 1037-1044 [cit. 2024-04-05]. ISSN 2224-5820. Dostupné z: doi:10.21037/apm-20-984
- [38] SLAVÍK, Luděk, ed. *Moderní technologie v hematologické diagnostice*. Olomouc: Solen, 2023. ISBN 978-80-7471-456-6.
- [39] LEHNERT, P., M. ŠRÁMKOVÁ a R. PRŮŠA. Distribuční šíře monocytů a její význam pro včasnou diagnostiku sepse. *Klinická biochemie a metabolismus* [online]. 2022, **2022**(30(51)), 5-11 [cit. 2023-09-26]. ISSN 2570-9402. Dostupné z: <https://www.cskb.cz/casopisy/kbm-archiv/kbm-2022/>
- [40] PÓVOA, Pedro, Luís COELHO, Felipe DAL-PIZZOL a kolektiv. How to use biomarkers of infection or sepsis at the bedside: guide to clinicians. *Intensive Care Medicine* [online]. 2023, **49**(2), 142-153 [cit. 2024-04-05]. ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-022-06956-y
- [41] BARICHELLO, Tatiana, Jaqueline S. GENEROSO, Mervyn SINGER a kolektiv. Biomarkers for sepsis: more than just fever and leukocytosis—a narrative review. *Critical Care* [online]. 2022, **26**(1) [cit. 2024-04-05]. ISSN 1364-8535. Dostupné z: doi:10.1186/s13054-021-03862-5
- [42] PIERRAKOS, Charalampos, Dimitrios VELISSARIS, Max BISDORFF a kolektiv. Biomarkers of sepsis: time for a reappraisal. *Critical Care* [online]. 2020, **24**(1) [cit. 2024-04-05]. ISSN 1364-8535. Dostupné z: doi:10.1186/s13054-020-02993-5

- [43] FRANCOVÁ, Irena, Veronika VÁŠOVÁ a Helena LAHODA BRODSKÁ. Novinky v laboratorní diagnostice časně sepse. BECKMAN COULTER. *In Vitro Diagnostika* [online]. 2021, (39), 34-36 [cit. 2023-04-05]. ISSN 1751-5521. Dostupné z: <https://beckmancoulter.cz/ivd-33-3333/>
- [44] FARKAS, Joshua David. The complete blood count to diagnose septic shock. *Journal of Thoracic Disease* [online]. 2020, **12**(1), S16-S21 [cit. 2024-04-05]. ISSN 2072-1439. Dostupné z: doi:10.21037/jtd.2019.12.63
- [45] TSANTES, Andreas G., Stavroula PARASTATIDOU, Emmanuel A. TSANTES a kolektiv. Sepsis-Induced Coagulopathy: An Update on Pathophysiology, Biomarkers, and Current Guidelines. *Life* [online]. 2023, **13**(2) [cit. 2024-04-05]. ISSN 2075-1729. Dostupné z: doi:10.3390/life13020350
- [46] NIERHAUS, Axel, Jo LINSSEN, Dominic WICHMANN a kolektiv. 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. 2024-04-05]. ISSN 1871-5281. Dostupné z: doi:10.2174/187152812800392841
- [47] AGNELLO, Luisa, Rosaria Vincenza GIGLIO, Giulia BIVONA a kolektiv. The Value of a Complete Blood Count (CBC) for Sepsis Diagnosis and Prognosis. *Diagnostics* [online]. 2021, **11**(10) [cit. 2024-04-05]. ISSN 2075-4418. Dostupné z: doi:10.3390/diagnostics11101881
- [48] HARAZIM, Martin a J. CHVOJKA. Co vše skrývá krevní obraz. *Anesteziologie a intenzivní medicína* [online]. Olomouc: Solen, 2021, **32**(2), 109-110 [cit. 2024-04-05]. ISSN 1214-2158. Dostupné z: [https://www.aimjournal.cz/artkey/aim-202102-0008\\_co-vse-skryva-krevni-obraz.php](https://www.aimjournal.cz/artkey/aim-202102-0008_co-vse-skryva-krevni-obraz.php)
- [49] SHARMA, Siddharth, Kumari PRATIMA, Shivlok Narayan AMBEDKAR a kolektiv. Morphological changes in white blood cells in systemic inflammatory response syndrome (SIRS) with and without sepsis: An observational study. *Journal of Family Medicine and Primary Care* [online]. 2023, **12**(6), 1179-1184 [cit. 2024-07-10]. ISSN 2249-4863. Dostupné z: doi:10.4103/jfmpc.jfmpc\_2512\_22
- [50] Neutrophil Morphology. In: MEDSCHOOL. *Medschool.co* [online]. 2021 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: <https://medschool.co/tests/blood-film/neutrophil-morphology>

- [51] Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP: Referenční meze krevního obrazu, retikulocytů, normoblastů a diferenciálního počtu leukocytů dospělých. In: ČHS ČLS JEP. *Labsekce.hematology.cz* [online]. 2021 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: [https://labsekce.hematology.cz/wp-content/uploads/2021/08/Doporuceni\\_LS\\_CHS\\_CLS\\_JEP-Ref\\_meze\\_dospeli-KO\\_Diff\\_Ret\\_NRBC\\_v02\\_rev02.pdf](https://labsekce.hematology.cz/wp-content/uploads/2021/08/Doporuceni_LS_CHS_CLS_JEP-Ref_meze_dospeli-KO_Diff_Ret_NRBC_v02_rev02.pdf)
- [52] ZAHOREC, R. Neutrophil-to-lymphocyte ratio, past, present and future perspectives. *Bratislava Medical Journal* [online]. 2021, **122**(7), 474-488 [cit. 2024-04-05]. ISSN 1336-0345. Dostupné z: doi:10.4149/BLL\_2021\_078
- [53] DRĂGOESCU, Alice Nicoleta, Vlad PĂDUREANU, Andreea Doriană STĂNCULESCU a kolektiv. Neutrophil to Lymphocyte Ratio (NLR)—A Useful Tool for the Prognosis of Sepsis in the ICU. *Biomedicines* [online]. 2022, **10**(1) [cit. 2024-04-05]. ISSN 2227-9059. Dostupné z: doi:10.3390/biomedicines10010075
- [54] PECKA, Miroslav. *Laboratorní hematologie v přehledu: Buňka a krvetvorba*. Český Těšín: Finidr, 2002. ISBN 80-86682-01-3.
- [55] PENKA, Miroslav, Eva TESAŘOVÁ a kolektiv. *Hematologie a transfuzní lékařství I*. Praha: GRADA, 2011. ISBN 9788024734590.
- [56] PULCER, Martin, Jana ZUCHNICKÁ, Soňa KOLÁŘOVÁ, Markéta RYZÍ a David STEJSKAL. *Hematologie pro zdravotní laboranty I*. Ostrava: Ostravská univerzita, Lékařská fakulta, 2022. ISBN 978-80-7599-322-9.
- [57] PECKA, Miroslav. *Laboratorní hematologie v přehledu: Fyziologie a patofyziologie krevní buňky*. Český Těšín: FINIDR, 2006. ISBN 80-86682-02-1.
- [58] Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP: Referenční meze myelogramu dospělých. In: ČHS ČLS JEP. *Labsekce.hematology.cz* [online]. 2022 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: [https://labsekce.hematology.cz/wp-content/uploads/2021/08/Doporuceni\\_LS\\_CHS\\_CLS\\_JEP-Ref\\_meze\\_dospeli-KO\\_Diff\\_Ret\\_NRBC\\_v02\\_rev02.pdf](https://labsekce.hematology.cz/wp-content/uploads/2021/08/Doporuceni_LS_CHS_CLS_JEP-Ref_meze_dospeli-KO_Diff_Ret_NRBC_v02_rev02.pdf)
- [59] WU, Juehui, Laisheng LI a Jinmei LUO. Diagnostic and Prognostic Value of Monocyte Distribution Width in Sepsis. *Journal of Inflammation Research* [online]. 2022, **15**, 4107-4117 [cit. 2023-09-26]. ISSN 1178-7031. Dostupné z: doi:10.2147/JIR.S372666
- [60] ZIEGLER-HEITBROCK, Loems, Petronela ANCUTA, Suzanne CROWE a kolektiv. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. *Blood* [online]. 2010, **116**(16), e74-e80 [cit. 2024-04-05]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood-2010-02-258558

- [61] CHUNG, Hyunwoo, Jae Hyuk LEE, You Hwan JO a kolektiv. Circulating Monocyte Counts and its Impact on Outcomes in Patients With Severe Sepsis Including Septic Shock. *Shock* [online]. 2019, **51**(4), 423-429 [cit. 2024-04-05]. ISSN 1073-2322. Dostupné z: doi:10.1097/SHK.0000000000001193
- [62] GOASGUEN, J. E., J. M. BENNETT, B. J. BAIN a kolektiv. Morphological evaluation of monocytes and their precursors. *Haematologica* [online]. 2009, **94**(7), 994-997 [cit. 2024-04-05]. ISSN 0390-6078. Dostupné z: doi:10.3324/haematol.2008.005421
- [63] KOMÁRKOVÁ, Helena. Renovace laboratoří OKH. *In Vitro Diagnostika* [online]. 2023, **2023**(41), 42 [cit. 2023-10-13]. Dostupné z: <https://beckmancoulter.cz/r/ivd/>
- [64] CUSINATO, Martina, Narani SIVAYOHAM a Timothy PLANCHE. Sensitivity and specificity of monocyte distribution width (MDW) in detecting patients with infection and sepsis in patients on sepsis pathway in the emergency department. *Infection* [online]. 2023, **51**(3), 715-727 [cit. 2024-04-05]. ISSN 0300-8126. Dostupné z: doi:10.1007/s15010-022-01956-y
- [65] LAÍNEZ MARTÍNEZ, Sara a Juan GONZÁLEZ DEL CASTILLO. Usefulness of monocyte distribution width (MDW) as a sepsis biomarker. *Revista Española de Quimioterapia* [online]. 2022, **35**(Suppl1), 2-5 [cit. 2024-04-05]. ISSN 0214-3429. Dostupné z: doi:10.37201/req/s01.01.2022
- [66] RUO Addendum: UniCel DxH 900 Series with System Manager Software Coulter Cellular Analysis System. In: BECKMAN COULTER. *Beckmancoulter.com* [online]. 2019 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: <https://www.beckmancoulter.com/en/search#q=DxH%20900%20addendum&t=allresults&sort=relevancy>
- [67] LEHNERT, Petr. Nový hematologický biomarker. *In Vitro Diagnostika* [online]. **37/2019**, 18-19 [cit. 2024-04-05]. ISSN 1751-5521. Dostupné z: <https://beckmancoulter.cz/ivd-xxxx/>
- [68] BENTAHAR, Ahmed. What is Monocyte Distribution Width (MDW) and What Role Does It Play in the Early Detection of Sepsis? In: BECKMAN COULTER. *Beckmancoulter.com* [online]. 2022 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: <https://www.beckmancoulter.com/en/blog/diagnostics/monocyte-distribution-width>
- [69] VAN DER GEEST, Patrick J., Mostafa MOHSENI, Jo LINSSEN a kolektiv. The intensive care infection score – a novel marker for the prediction of infection and its severity. *Critical Care* [online]. 2016, **20**(1) [cit. 2024-04-05]. ISSN 1364-8535. Dostupné z: doi:10.1186/s13054-016-1366-6



- [70] A patient with erysipelas – Delta-He reflecting changes in iron availability due to an infection. In: SYSMEX. *Sysmex.cz* [online]. 2023 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: <https://www.sysmex.cz/vzdelavani/odborne-clanky-a-studie/odborna-literatura/detail/a-patient-with-erysipelas-delta-he-reflecting-changes-in-iron-availability-due-to-an-infection/>
- [71] IBA, Toshiaki a Jerrold H. LEVY. Sepsis-induced Coagulopathy and Disseminated Intravascular Coagulation. *Anesthesiology* [online]. 2020, **132**(5), 1238-1245 [cit. 2024-04-05]. ISSN 0003-3022. Dostupné z: doi:10.1097/ALN.0000000000003122
- [72] YAMAKAWA, Kazuma, Hiroyuki OHBE, Ryo HISAMUNE a kolektiv. Current Clinical Practice of Laboratory Testing of the Hemostasis and Coagulation System in Patients with Sepsis: A Nationwide Observational Study in Japan. *JMA Journal* [online]. 2024, **7**(2), 224-231 [cit. 2024-04-05]. ISSN 2433-3298. Dostupné z: doi:10.31662/jmaj.2023-0151
- [73] GIUSTOZZI, Michela, Hanne EHRLINDER, Dario BONGIOVANNI a kolektiv. Coagulopathy and sepsis: Pathophysiology, clinical manifestations and treatment. *Blood Reviews* [online]. 2021, **50** [cit. 2024-04-05]. ISSN 0268-960X. Dostupné z: doi:10.1016/j.blre.2021.100864
- [74] IBA, Toshiaki, Marcello Di NISIO, Jerrold H LEVY a kolektiv. New criteria for sepsis-induced coagulopathy (SIC) following the revised sepsis definition: a retrospective analysis of a nationwide survey. *BMJ Open* [online]. 2017, **7**(9) [cit. 2024-04-05]. ISSN 2044-6055. Dostupné z: doi:10.1136/bmjopen-2017-017046
- [75] Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP: Doporučená referenční rozmezí pro koagulační stanovení - děti + dospělí. In: ČHS ČLS JEP. *Labsekce.hematology.cz* [online]. 2024 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: [https://labsekce.hematology.cz/wp-content/uploads/2021/08/Doporuceni\\_LS\\_CHS\\_CLS\\_JEP-Ref\\_meze\\_dospeli-KO\\_Diff\\_Ret\\_NRBC\\_v02\\_rev02.pdf](https://labsekce.hematology.cz/wp-content/uploads/2021/08/Doporuceni_LS_CHS_CLS_JEP-Ref_meze_dospeli-KO_Diff_Ret_NRBC_v02_rev02.pdf)
- [76] NIEDERWANGER, Christian, Tobias HELL, Sophie HOFER a kolektiv. Antithrombin deficiency is associated with mortality and impaired organ function in septic pediatric patients: a retrospective study. *PeerJ* [online]. 2018, **6** [cit. 2024-04-05]. ISSN 2167-8359. Dostupné z: doi:10.7717/peerj.5538
- [77] SEMERARO, Fabrizio, Concetta T. AMMOLLO, Pietro CAIRONI a kolektiv. Low D-dimer levels in sepsis: Good or bad? *Thrombosis Research* [online]. 2019, **174**, 13-15 [cit. 2024-04-05]. ISSN 0049-3848. Dostupné z: doi:10.1016/j.thromres.2018.12.003

- [78] FAVRESSE, Julien, Giuseppe LIPPI, Pierre-Marie ROY a kolektiv. D-dimer: Preanalytical, analytical, postanalytical variables, and clinical applications: Preanalytical, analytical, postanalytical variables, and clinical applications. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* [online]. 2019, **55**(8), 548-577 [cit. 2024-04-05]. ISSN 1040-8363. Dostupné z: doi:10.1080/10408363.2018.1529734
- [79] IBA, Toshiaki, Julie HELMS, Jean Marie CONNORS a kolektiv. The pathophysiology, diagnosis, and management of sepsis-associated disseminated intravascular coagulation. *Journal of Intensive Care* [online]. 2023, **11**(1) [cit. 2024-04-05]. ISSN 2052-0492. Dostupné z: doi:10.1186/s40560-023-00672-5
- [80] ASAKURA, Hidesaku. Classifying types of disseminated intravascular coagulation: clinical and animal models. *Journal of Intensive Care* [online]. 2014, **2**(1) [cit. 2024-04-05]. ISSN 2052-0492. Dostupné z: doi:10.1186/2052-0492-2-20
- [81] IBA, Toshiaki, Marcello DI NISIO, Jecko THACHIL a kolektiv. A Proposal of the Modification of Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis (JSTH) Disseminated Intravascular Coagulation (DIC) Diagnostic Criteria for Sepsis-Associated DIC. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* [online]. 2018, **24**(3), 439-445 [cit. 2024-04-05]. ISSN 1076-0296. Dostupné z: doi:10.1177/1076029617720069
- [82] IBA, Toshiaki a Jerrold H. LEVY. Sepsis-induced Coagulopathy and Disseminated Intravascular Coagulation. *Anesthesiology* [online]. 2020, **132**(5), 1238-1245 [cit. 2024-04-05]. ISSN 0003-3022. Dostupné z: doi:10.1097/ALN.0000000000003122
- [83] ADELBORG, Kasper, Julie B. LARSEN a Anne-Mette HVAS. Disseminated intravascular coagulation: epidemiology, biomarkers, and management. *British Journal of Haematology* [online]. 2021, **192**(5), 803-818 [cit. 2024-04-05]. ISSN 0007-1048. Dostupné z: doi:10.1111/bjh.17172
- [84] KOYAMA, Kansuke, Seiji MADOIWA, Shin NUNOMIYA a kolektiv. Combination of thrombin-antithrombin complex, plasminogen activator inhibitor-1, and protein C activity for early identification of severe coagulopathy in initial phase of sepsis: a prospective observational study. *Critical Care* [online]. 2014, **18**(1) [cit. 2024-04-05]. ISSN 1364-8535. Dostupné z: doi:10.1186/cc13190
- [85] MARINOV, Iuri. *Průtoková cytometrie v klinické hematologii*. 2. vydání. Praha: Triton, 2008. ISBN 978-80-7387-1437.
- [86] SCHULTE, Wibke, Jürgen BERNHAGEN a Richard BUCALA. Cytokines in Sepsis: Potent Immunoregulators and Potential Therapeutic Targets—An Updated View. *Mediators of Inflammation* [online]. 2013, **2013**(165974), 1-16 [cit. 2024-04-05]. ISSN 0962-9351. Dostupné z: doi:10.1155/2013/165974

- [87] RACEK, Jaroslav a Daniel RAJDL. *Klinická biochemie*. Třetí, přepracované a rozšířené vydání. Praha: Galén, [2021]. ISBN 978-80-7492-545-0.
- [88] CRP\_S/P: Laboratorní příručka. In: FAKULTNÍ NEMOCNICE OSTRAVA. *Fno.cz* [online]. 2024 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: [https://www.fno.cz/lp/ulm/\\_LP\\_01522-L0000042.htm](https://www.fno.cz/lp/ulm/_LP_01522-L0000042.htm)
- [89] Prokalcitonin: Laboratorní příručka. In: FAKULTNÍ NEMOCNICE OSTRAVA. *Fno.cz* [online]. 2024 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: [https://www.fno.cz/lp/ulm/\\_LP\\_12233-L0000042.htm](https://www.fno.cz/lp/ulm/_LP_12233-L0000042.htm)
- [90] Presepsin\_P: Laboratorní příručka. In: FAKULTNÍ NEMOCNICE OSTRAVA. *Fno.cz* [online]. 2024 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: [https://www.fno.cz/lp/ulm/\\_LP\\_18011-L0000042.htm](https://www.fno.cz/lp/ulm/_LP_18011-L0000042.htm)
- [91] PICCIONI, Andrea, Michele Cosimo SANTORO, Tommaso DE CUNZO a kolektiv. Presepsin as Early Marker of Sepsis in Emergency Department: A Narrative Review. *Medicina* [online]. 2021, **57**(8) [cit. 2024-04-05]. ISSN 1648-9144. Dostupné z: doi:10.3390/medicina57080770
- [92] KÁŇOVÁ, Marcela, Radim DOBIÁŠ, Kateřina LISZKOVÁ a kolektiv. Presepsin v diagnostice sepse: Presepsin in the diagnostics of sepsis. *Vnitřní lékařství*. Brno: Facta Medica, 2019, **65**(7-8), 497-505. ISSN 0042-773X.
- [93] RAJDL, Daniel. Markery zánětu - indikce, interpretace a současná doporučení. In: *Postudium.cz* [online]. 2018 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: <https://postudium.cz/mod/book/view.php?id=5779&chapterid=2412>
- [94] VINCENT, Jean-Louis. Current sepsis therapeutics. *EBioMedicine* [online]. 2022, **86**(104318) [cit. 2024-04-05]. ISSN 2352-3964. Dostupné z: doi:10.1016/j.ebiom.2022.104318
- [95] KARVUNIDIS, Thomas a M. MATĚJOVIČ. Rok 2022 v přehledu – Sepse. *Anesteziologie a intenzivní medicína* [online]. 2022, **33**(6), 256-259 [cit. 2024-04-05]. ISSN 1214-2158. Dostupné z: doi:10.36290/aim.2022.040
- [96] KARVUNIDIS, Thomas. Rok 2023 v přehledu – Sepse. *Anesteziologie a intenzivní medicína* [online]. 2023, **34**(5), 204-207 [cit. 2024-04-05]. ISSN 1214-2158. Dostupné z: doi:10.36290/aim.2023.048
- [97] Early Sepsis Indicator (ESId) Application Addendum: UniCel DxH 900 Series with System Manager Software Coulter Cellular Analysis System. In: BECKMAN COULTER. *Beckmancoulter.com* [online]. 2023 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: <https://www.beckmancoulter.com/en/search#q=ESID&t=allresults&sort=relevancy>

- [98] Krevní obraz základní: Laboratorní příručka. In: FAKULTNÍ NEMOCNICE OSTRAVA. *Fno.cz* [online]. 2024 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: <https://www.fno.cz/lp/ulm/ZAVINACLKO.htm>
- [99] Interleukin\_6 S/P: Laboratorní příručka. In: FAKULTNÍ NEMOCNICE OSTRAVA. *Fno.cz* [online]. 2024 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: [https://www.fno.cz/lp/ulm/\\_LP\\_19649-L0000042.htm](https://www.fno.cz/lp/ulm/_LP_19649-L0000042.htm)
- [100] Instructions for Use - UniCel DxH 900 Series with System Manager Software: Instruction for Use. In: BECKMAN COULTER. *Beckmancoulter.com* [online]. 2023 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: <https://www.beckmancoulter.com/en/products/hematology/dxh-900#/documents>
- [101] LI, Chih-Huang, Chen-June SEAK, Chung-Hsien CHAOU a kolektiv. Comparison of the diagnostic accuracy of monocyte distribution width and procalcitonin in sepsis cases in the emergency department: a prospective cohort study. *BMC Infectious Diseases* [online]. 2022, **22**(1) [cit. 2024-07-30]. ISSN 1471-2334. PMID: 34983430; PMCID: PMC8725440. Dostupné z: [doi:10.1186/s12879-021-06999-4](https://doi.org/10.1186/s12879-021-06999-4)
- [102] SYSMEX CZ S.R.O. Technologie měření. SYSMEX. *Sysmex.cz* [online]. [cit. 2024-07-30]. Dostupné z: <https://www.sysmex.cz/vzdelavani/technologie/technologie-mereni/>
- [103] Atellica CI Analyzer: C-Reactive Protein\_2 - Atellica CI - Rev 02. In: SIEMENS HEALTHINEERS. *Doclib.siemens-healthineers.com* [online]. 2023, 2023-04-03 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: <https://doclib.siemens-healthineers.com/documents?search=crp&countries=56&sortingby=modified-at&direction=desc&languages=2,181>
- [104] Atellica CI Analyzer: BRAHMS Procalcitonin (PCT)(OUS) - Atellica CI - Rev 04. In: SIEMENS HEALTHINEERS. *Doclib.siemens-healthineers.com* [online]. 2023, 2023-10-04 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: <https://doclib.siemens-healthineers.com/documents?search=PCT&countries=56&sortingby=modified-at&direction=desc&languages=2,181>
- [105] Atellica IM Analyzer: Interleukin-6 (IL6) - Atellica IM - Rev 03. In: SIEMENS HEALTHINEERS. *Content.doclib.siemens-healthineers.com* [online]. 2022, 2022-09-13 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: <https://doclib.siemens-healthineers.com/documents?search=interleukin-6&productgroups=1&countries=56&sortingby=modified-at&direction=desc&languages=2,181>
- [106] PathFast Presepsin: rev. 2. In: PHC EUROPE. *Phchd.com* [online]. 2022 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: <https://www.phchd.com/eu/ivd/pathfast/sepsis-marker/presepsin>

- [107] GRAPHPAD. Principles of statistics. GRAPHPAD PRISM 10. *Graphpad.com* [online]. 2024 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: [https://www.graphpad.com/guides/prism/latest/statistics/stat\\_---\\_principles\\_of\\_statistics\\_.htm](https://www.graphpad.com/guides/prism/latest/statistics/stat_---_principles_of_statistics_.htm)
- [108] MEDCALC. MedCalc's statistical procedures, tests and graphs. MEDCALC. *Medcalc.org* [online]. 2024 [cit. 2024-07-10]. Dostupné z: <https://www.medcalc.org/features/statistics.php>
- [109] SIL, Bijon Kumar, Mohd Raed JAMIRUDDIN, Md Ahsanul HAQ a kolektiv. AuNP Coupled Rapid Flow-Through Dot-Blot Immuno-Assay for Enhanced Detection of SARS-CoV-2 Specific Nucleocapsid and Receptor Binding Domain IgG. *International Journal of Nanomedicine* [online]. 2021, **16**, 4739-4753 [cit. 2024-07-10]. ISSN 1178-2013. Dostupné z: doi:10.2147/IJN.S313140
- [110] YAN, Xiaoyun, Jiaqi YE, Haixiao CHEN a kolektiv. Correlation between serum laminin level and prognosis of acute heart failure. *Clinical Cardiology* [online]. 2023, **46**(7), 818-822 [cit. 2024-07-10]. ISSN 0160-9289. Dostupné z: doi:10.1002/clc.24056
- [111] AGNELLO, Luisa, Rosaria Vincenza GIGLIO, Caterina Maria GAMBINO a kolektiv. Time-dependent stability of monocyte distribution width (MDW). *Clinica Chimica Acta* [online]. 2022, **533**, 40-41 [cit. 2024-07-10]. ISSN 00098981. Dostupné z: doi:10.1016/j.cca.2022.06.013
- [112] MOTAWEA, Karam R., Samah S. ROZAN, Nesreen ELSAYED TALAT a kolektiv. Comparison of monocyte distribution width and Procalcitonin as diagnostic markers for sepsis: Meta-analysis of diagnostic test accuracy studies. *PLOS ONE* [online]. 2023, **18**(8) [cit. 2024-07-10]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0288203
- [113] MALINOVSKA, Alexandra, Benjamin HERNRIED, Andrew LIN a kolektiv. Monocyte Distribution Width as a Diagnostic Marker for Infection. *CHEST* [online]. 2023, **164**(1), 101-113 [cit. 2024-07-10]. ISSN 00123692. Dostupné z: doi:10.1016/j.chest.2022.12.049
- [114] AGNELLO, Luisa, Bruna Lo SASSO, Rosaria Vincenza GIGLIO a kolektiv. Monocyte distribution width as a biomarker of sepsis in the intensive care unit: A pilot study. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine* [online]. 2021, **58**(1), 70-72 [cit. 2024-07-10]. ISSN 0004-5632. Dostupné z: doi:10.1177/0004563220970447
- [115] AGNELLO, Luisa, Matteo VIDALI, Bruna LO SASSO a kolektiv. Monocyte distribution width (MDW) as a screening tool for early detecting sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* [online]. 2022, **60**(5), 786-792 [cit. 2024-07-10]. ISSN 1434-6621. Dostupné z: doi:10.1515/cclm-2021-1331

- [116] HUANG, Yu-Hsuan, Ching-Jung CHEN, Shih-Chieh SHAO a kolektiv. Comparison of the Diagnostic Accuracies of Monocyte Distribution Width, Procalcitonin, and C-Reactive Protein for Sepsis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Critical Care Medicine* [online]. 2023, **51**(5), e106-e114 [cit. 2024-07-10]. ISSN 0090-3493. Dostupné z: doi:10.1097/CCM.0000000000005820
- [117] HORTON, Susan, Kenneth A FLEMING, Modupe KUTI a kolektiv. The Top 25 Laboratory Tests by Volume and Revenue in Five Different Countries. *American Journal of Clinical Pathology* [online]. 2019, **151**(5), 446-451 [cit. 2024-07-10]. ISSN 0002-9173. Dostupné z: doi:10.1093/ajcp/aqy165

## 14 PŘÍLOHY

*Příloha 1 – Skupina septických pacientů při záchytu sepse  
(viz kapitoly 6.4.3.1, 6.4.3.2, 6.4.3.3, 6.4.3.4, 6.4.3.5, 6.4.3.6)  
(viz kapitoly 6.4.4.2, 6.4.4.3, 6.4.4.4, 6.4.4.5, 6.4.4.6)*

N	Věk	Pohlaví	Sepse [1 = ano, 0 = ne]	MDW [j]	NLR [j]	WBC [10 <sup>9</sup> /L]	MO# [10 <sup>9</sup> /L]	ICIS skóre [j]
1	71	Muž	1	40,31	72	31,05	2,17	18
2	56	Muž	1	21,17	16,56	17,03	0,68	4
3	62	Muž	1	22,66	6,08	6,86	0,79	4
4	80	Muž	1	40,39	67,26	31,86	2,92	11
5	52	Muž	1	24,15	15,78	14,31	1,03	4
6	30	Muž	1	26,55	5,73	8,38	0,78	6
7	41	Žena	1	25,44	11,08	21,56	1,57	16
8	77	Muž	1	24,66	17,69	19,77	1,75	11
9	45	Muž	1	32,43	6,07	13,65	0,85	11
10	46	Žena	1	22,93	5,14	10,29	0,56	3
11	67	Muž	1	38,84	12,68	10,1	0,23	7
12	62	Muž	1	28,84	16,27	16,64	1,08	5
13	65	Žena	1	20,93	6,6	15,28	0,97	7
14	32	Žena	1	39,33	18,33	2,57	0,03	8
15	75	Žena	1	31,39	17,36	21,95	0,79	9
16	77	Žena	1	21,91	43,25	16,94	0,99	4
17	42	Žena	1	23,01	8,92	12,95	0,73	2
18	33	Muž	1	32,59	4,72	9,68	0,31	0
19	57	Žena	1	38,68	1,02	3,96	0,2	6
20	73	Žena	1	21,32	15,8	16,96	0,79	7
21	43	Muž	1	26,36	8,07	22,49	0,55	10
22	37	Žena	1	50,84	20,99	19,95	0,79	6

**Příloha 2 – Kontrolní zdravá skupina**

<b>N</b>	<b>Věk</b>	<b>Pohlaví</b>	<b>Sepse [1 = ano, 0 = ne]</b>	<b>MDW [j]</b>	<b>NLR [j]</b>	<b>WBC [10<sup>9</sup>/L]</b>	<b>MO# [10<sup>9</sup>/L]</b>	<b>ICIS skóre [j]</b>
1	73	Žena	0	21,19	1,72	7,6	0,6	1
2	30	Žena	0	15,84	1,85	8,2	0,4	0
3	49	Žena	0	19,3	1,46	6,8	0,6	2
4	57	Muž	0	17,7	1,81	8,1	0,5	0
5	60	Žena	0	18,38	1,57	6,7	0,6	2
6	69	Muž	0	17,42	2,86	9,1	0,8	1
7	60	Žena	0	17,24	2,00	5,3	0,4	0
8	68	Žena	0	18,69	3,16	8,9	0,7	0
9	60	Žena	0	17,11	1,75	5,1	0,4	2
10	22	Muž	0	23,64	2,23	9,7	0,9	1
11	31	Žena	0	17,59	1,76	5,3	0,4	0
12	72	Žena	0	17,51	1,86	7,3	0,8	0
13	69	Muž	0	17,69	2,26	8,3	0,5	0
14	62	Muž	0	17,73	1,15	6,1	0,3	0
15	26	Muž	0	21,35	1,71	5,4	0,6	2
16	41	Muž	0	18,99	1,55	9,2	0,8	0
17	67	Žena	0	15,5	1,61	5,5	0,6	0
18	75	Žena	0	17,4	2,8	9,1	0,9	0
19	39	Žena	0	18,19	2,35	6,5	0,5	1
20	78	Žena	0	18,6	1,55	6	0,4	1
21	70	Muž	0	18,64	1,87	5,4	0,7	0
22	54	Žena	0	18,61	2,82	9,3	0,5	0
23	47	Muž	0	16,83	2,46	9	0,5	0
24	60	Žena	0	17,43	1,83	7,8	0,5	0
25	59	Muž	0	17,96	1,89	8,9	0,7	0
26	42	Muž	0	24,67	1,97	9,5	0,7	1
27	68	Muž	0	19,94	2,69	6,9	0,7	2
28	81	Žena	0	18,25	2,38	8,2	1	0
29	76	Žena	0	19,66	1,36	4	0,5	0
30	53	Žena	0	21,41	1,95	6,7	0,6	0
31	62	Muž	0	18,28	2,05	7,1	0,5	2
32	51	Žena	0	16,8	1,45	8,9	0,6	2
33	59	Muž	0	16,26	1,31	9	0,6	2
34	46	Muž	0	19,89	1,17	9,6	0,4	3
35	47	Muž	0	18,36	2,75	5,2	0,5	2
36	47	Muž	0	20,43	2,12	6	0,5	2
37	48	Muž	0	15,98	1,73	7,8	0,6	2
38	76	Muž	0	19	2,10	6,8	0,4	4



**Příloha 3 – Skupina septických pacientů při záchytu sepse  
(viz Korelace MDW se zánětlivými markery – kapitola 6.4.3.7)**

<b>N</b>	<b>Sepse [1 = ano, 0 = ne]</b>	<b>MDW [j]</b>	<b>CRP [mg/L]</b>	<b>PCT [µg/L]</b>	<b>IL-6 [ng/L]</b>	<b>Presepsin [ng/L]</b>
1	1	40,31	257	33,25	66,8	8584
2	1	21,17	59,8	0,19	3,8	343
3	1	22,66	58,3	8,12	46,8	513
4	1	40,39	270,2	9,66	48,6	1397
5	1	24,15	291,1	14,11	135,3	4218
6	1	26,55	135,3	9,24	32,6	589
7	1	25,44	240	4,83	176,3	1175
8	1	24,66	258,2	23,06	26,4	1202
9	1	32,43	137	0,38	60,6	1381
10	1	22,93	186,7	1,69	17,6	540
11	1	38,84	267,8	1,25	646,5	9054
12	1	28,84	70,8	0,4	21,3	643
13	1	20,93	14,3	0,15	5	393
14	1	39,33	286,9	25,63	2056,9	715
15	1	31,39	261,8	0,29	37,9	464
16	1	21,91	8	0,15	3,5	106
17	1	23,01	29,8	0,03	2,7	125
18	1	32,59	84,4	24,1	-	-
19	1	38,68	387,9	97,52	802,5	1664
20	1	21,32	71,3	0,1	6,2	616
21	1	26,36	92,2	176,39	31,6	4012

**Příloha 4 – Žádost o sběr dat pro studijní účely (1)**

Fakultní nemocnice Ostrava  
17. listopadu 1790/5, 708 52 Ostrava-Poruba

**Žádost o sběr dat pro studijní účely**

Jméno a příjmení, titul:	Bc. Veronika Štveráková
Kontaktní údaje:	stverakv@faf.cuni.cz Lískovec 447, Frýdek-Místek, 738 01
Jste zaměstnancem FNO?	<input type="checkbox"/> ANO <input checked="" type="checkbox"/> NE Pokud ano, na jakém pracovišti ve FNO pracujete: _____
Pokud jste zaměstnancem jiné organizace než FNO, uveďte jaké?	_____
Název vysoké / vyšší odborné školy	<input type="checkbox"/> Ostravská univerzita <input checked="" type="checkbox"/> Jiná vysoká / vyšší odborná škola Adresa jiné vysoké / vyšší odborné školy: _____ Akademika Heyrovského 1203, 500 03 Hradec Králové
Název fakulty:	Farmaceutická fakulta
Název studovaného oboru:	Bioanalytická laboratorní diagnostika ve zdravotnictví
Ročník studia:	II.
Sběr dat je za účelem	<input type="checkbox"/> bakalářské práce <input type="checkbox"/> absolventské práce <input checked="" type="checkbox"/> diplomové práce <input type="checkbox"/> rigorózní práce <input type="checkbox"/> dizertační práce <input type="checkbox"/> jiný typ práce: upřesnění jiného typu práce: _____
Název práce:	Možnosti laboratorní diagnostiky závažnosti infekce na analyzátoch krevních buněk
Jméno a příjmení vedoucího odborné práce:	Školitel: RNDr. Petr Sadílek, Ph.D. Konzultant: Ing. Martin Pulcer, Ph.D., MBA
Název pracoviště FNO, kde má být sběr dat proveden:	Ústav laboratorní medicíny, Oddělení klinické hematologie, FNO
Termín zahájení a ukončení sběru dat:	1.9.2023 - 30.6.2024

Datum: 30.8.2023

podpis žadatele

Ing. Martin Pulcer, Ph.D., MBA

podpis vedoucího odborné práce nebo ved. katedry

Vyjádření FNO:  souhlasím  nesouhlasím

Datum: 5.9.2023

UNIVERZITA KARLOVA  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA

FAKULTNÍ NEMOCNICE OSTRAVA  
PhDr. Andrea Polanská, MBA  
náměstkyňe ředitelky pro ošetrovatelskou péči  
17. listopadu 1790/5, 708 52 Ostrava-Poruba

podpis a razítko

Povinné přílohy žádosti:

1. Potvrzení o studiu

18.7.2023

datum, razítko a podpis studijního oddělení

2. Stručná anotace odborné práce

3. V případě dotazníkového šetření vzor dotazníku, v případě rozhovoru návrh otázek

Žádost potvrzenou studentem i vedoucím odborné práce zašlete ve 2 originálech pro nelékařské obory na sekretariát náměstkyňe pro ošetrovatelskou péči, nebo pro lékařské obory na sekretariát náměstka pro léčebnou péči, Fakultní nemocnice Ostrava (Domov sester), 17. listopadu 1790/5, 708 52 Ostrava-Poruba.

**Příloha 4 – Žádost o sběr dat pro studijní účely (2)**

Žádost o sběr dat pro studijní účely

**Prohlášení o mlčenlivosti**

Já (jméno, příjmení) **Bc. Veronika Štveráková**

datum narození **21.7.1998**

se zavazuji zachovávat úplnou mlčenlivost o všech informacích, které jsem získal v souvislosti se sběrem dat ve Fakultní nemocnici Ostrava za účelem popsáním na str. 1 tohoto tiskopisu. Jedná se zejména o tyto informace:

1. Všechny informace týkající se osobních údajů pacientů:
  - a. jméno pacienta,
  - b. zdravotní stav pacienta,
  - c. hospitalizace/ambulantní péče ve FNO,
  - d. jiné.
2. Informace o zdravotnickém zařízení, klinice, ústavu, centru, odděleních, na kterých sběr dat probíhal.

Dále se zavazuji neposkytovat žádné informace o Fakultní nemocnici Ostrava sdělovacím prostředkům, prostřednictvím sociálních sítí, apod..


Jsem si vědom(a), že patientská data mohou čerpat pouze z dat pacientů, kteří k tomu udělili souhlas (viz záznam v „Prohlášení pacienta/zákonného zástupce – zdravotní služby: hospitalizace/ambulantní péče“).

Jsem si vědom(a), že získána data mohou ve své práci použít pouze v anonymní podobě, tzn. konkrétní pacient nesmí být žádným způsobem identifikovatelný.

Jsem si vědom(a), že povinnost mlčenlivosti nezaniká ukončením mé činnosti ve FNO.

Porušení výše uvedených zásad může být důvodem odebrání souhlasu ke sběru dat, rovněž může mít za následek důsledky plynoucí z porušení platné legislativy jak v rovině trestněprávní, tak v rovině občanskoprávní.

V Ostravě dne: 30.8.2023

  
\_\_\_\_\_ podpis

UNIVERSITA KARLOVA  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA  
Alžbětina Hřbitovní 1503  
200 02 I. územní část  
IČO 00218728 DIČ CZ00218728

## Příloha 5 – Žádost o povolení spolupráce s Městskou nemocnicí Ostrava

Městská nemocnice Ostrava  
příspěvková organizace

IDENTIFIKACE ŠKOLY  
Farmaceutická fakulta  
Univerzita Karlova  
Akademika Heyrovského 1203  
500 05 Hradec Králové

Městská nemocnice Ostrava  
příspěvková organizace  
Náměstkyňe pro ošetrovatelskou péči  
Nemocniční 898/20A  
728 80 Ostrava – Moravská Ostrava

### Žádost o povolení spolupráce/dotazníkového šetření/výzkumného šetření

Vážená paní náměstkyně,

obracím se na Vás s žádostí o povolení spolupráce s vaší nemocnicí, konkrétně:

PRACOVÍŠTĚ *Klinická hematologie*

ZA ÚČELEM sběru dat a provedení měření MDW na analyzátoru Beckman Coulter DxH 900

PRO diplomovou práci

STUDENTA *Bc. Veroniku Štverákovou*

POSLUCHAČ II. ročníku *prezenčního* studia magisterského typu.

Jmenovaný student zpracuje pod vedením konzultanta Ing. Martina Pulcera, Ph.D., MBA a školitele RNDr. Petra Sadílka, Ph.D. diplomovou práci pod názvem Možnosti laboratorní diagnostiky závažnosti infekce na analyzátoch krevních buněk. Diplomovou práci podpoří firma Beckman Coulter dodáním reagentů pro daná měření.

Žádáme o povolení spolupráce v termínu od 15.10.2023 do 31.05.2024

Prosíme o sdělení vašeho rozhodnutí.

S pozdravem

Podpis vedoucího práce/garanta oboru  
**NO**  
MĚSTSKÁ NEMOCNICE OSTRAVA  
17. listopadu 1790, 708 52 Ostrava-Poruba  
ODDĚLENÍ KLINICKÉ HEMATOLOGIE  
Ing. Martin Pulcer, Ph.D., MBA +420 597 371 111 1  
Fax: +420 596 917 340

Podpis studenta

Vyjádření nemocnice:

- souhlasím  
 nesouhlasím

13.10.2023

Městská nemocnice Ostrava,  
příspěvková organizace  
Nemocniční 898/20A, 728 80 Ostrava  
NÁMĚSTKYŇE PRO OŠETŘOVATELSKOU PÉČI  
Mgr. Marcela Murasová  
T +420 596 194 806

Nemocniční 898/20A, 728 80 Ostrava – Moravská Ostrava  
Registrace odborem zdravotnictví KÚ MSK  
IČO: 00635162 DIČ: CZ00635162  
T 596 191 111 F 596 618 781  
Datová schránka ID: r45ztzu  
[www.mnof.cz](http://www.mnof.cz)

Číslo účtu 374027793/0300  
Darovací účet 374028083/0300

**NEMOCNICE!!!**