

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
LÉKAŘSKÁ FAKULTA

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2021

Bc. Lukáš Kolařík

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Ústav veřejného zdravotnictví

Bc. Lukáš Kolařík

**Význam spolupráce hematologické
laboratoře s urgentním příjmem v
diagnostice infekčních onemocnění**

Diplomová práce

Vedoucí práce: doc. RNDr. Ivanka Matoušková, Ph.D.

Olomouc 2021

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně, s využitím pouze citovaných zdrojů v souladu se zákonem č. 121/200 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

Datum

.....

podpis

Rád bych touto cestou vyjádřil poděkování vážené paní doc. RNDr. Ivance Matouškové, Ph.D., za její cenné rady a trpělivost při vedení mé diplomové práce. Rovněž bych chtěl poděkovat vážené paní primářce MUDr. Jitce Segethové za vstřícnost a pomoc při získání potřebných informací a podkladů. Moje poděkování patří i vážené paní Mgr. K. Langové, Ph.D., za pomoc při statistickém hodnocení dat. V neposlední řadě bych chtěl poděkovat své rodině, která mě po celou dobu podporovala.

OBSAH

ÚVOD	8
CÍL PRÁCE A ŘEŠERŽNÍ STRATEGIE.....	9
1 GEOGRAFICKÉ VYMEZENÍ VYBRANÝCH INFEKČNÍCH NEMOCÍ.....	11
1.1 Viroví původci	11
1.1.1 Spalničky.....	12
1.1.2 Horečka dengue.....	14
1.1.3 Virové hemoragické horečky	16
1.1.3.1 Horečka Lassa	17
1.1.3.2 Horečka Ebola.....	18
1.1.3.3 Marburgská horečka.....	19
1.1.3.4 Krymsko-konžská horečka.....	21
1.1.4 Infekční mononukleóza.....	21
1.2 Bakteriální původci	23
1.2.1 Dávivý kašel.....	24
1.3 Parazitární původci.....	26
1.3.1 Malárie	26
2 KVANTITATIVNÍ A KVALITATIVNÍ ZMĚNY V KREVNÍM OBRAZE A HEMOKOAGULACI U INFEKČNÍCH NEMOCÍ	30
2.1 Změny v krevním obraze a hemokoagulačním vyšetření při virové infekci	30
2.2 Změny v krevním obraze a hemokoagulačním vyšetření při bakteriální infekci.....	31
2.3 Změny v krevním obraze a hemokoagulačním vyšetření při parazitární infekci.....	32
2.3.1 Změny v krevním obraze a morfologii erytrocytů u infekce vyvolané prvokem Plasmodium falciparum	33
2.3.2 Změny v krevním obraze a morfologii erytrocytů u infekce vyvolané prvokem Plasmodium vivax.....	33
2.3.3 Změny v krevním obraze a morfologii erytrocytů u infekce vyvolané prvokem Plasmodium ovale a Plasmodium malariae	33
3 HEMATOLOGICKÁ LABORATOŘ VE FAKULTNÍ NEMOCNICI V MOTOLE	35
3.1 Přístrojové vybavení hematologické laboratoře.....	35
3.1.1 Hematologické analyzátoři a schopnost detekce plasmodií.....	36
3.1.1.1RET postup pro detekci plasmodií.....	36
3.1.1.2WDF metoda pro detekci plasmodií.....	37
3.2 Přístrojové vybavení pro hemokultivaci	40
3.2.1 Zásady odběru pro hematologické vyšetření.....	41
3.2.2 Zásady odběru pro hemokultivaci	42
3.2.3 Sumarizace přijatých hemokultur na OKH za období 2018-2020	43
3.3 Zásady správné laboratorní praxe	46
3.4 Jednotlivé úseky hematologické laboratoře	46

3.4.1	Příjem materiálu	47
3.4.2	Krevní obrazy a diferenciální rozpočet	47
3.4.3	Hodnocení morfologie buněk	48
3.4.4	Hemokoagulační vyšetření	48
4	BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ	50
4.1	C - reaktivní protein	50
4.2	Stanovení C - reaktivního proteinu v séru/plazmě	51
5	SPOLUPRÁCE HEMATOLOGICKÉ LABORATOŘE S URGENTNÍM PŘÍJMEM	52
6	NOVÝ INDIKÁTOR V DIAGNOSTICE INFEKČNÍ NEMOCI.....	55
6.1	Intensive Care Infection Score parameter	55
6.2	Vlastní šetření parametru ICIS	57
6.2.1	Metodika.....	57
6.2.1.1	Administrativní postupy	57
6.2.1.2	ROC analýza	58
6.2.2	Výsledky.....	61
6.2.2.1	Pacienti s infekcí močových cest	61
6.2.2.2	Pacienti s infekcí dýchacích cest.....	62
6.2.2.3	Pacienti v septickém stavu	63
7	ZAJÍMAVÉ KAZUISTIKY VE FN MOTOL	64
7.1	Kazuistika I - Infekční mononukleóza	64
7.2	Kazuistika II - Bordetella pertussis	66
7.3	Kazuistika III - Malárie	67
8	EPIDEMIOLOGICKÁ ANAMNÉZA.....	69
9	POVINNÉ HLÁŠENÍ, EVIDENCE A ANALÝZA VÝSKYTU INFEKČNÍCH NEMOCÍ V ČESKÉ REPUBLICE, INFORMAČNÍ SYSTEM INFEKČNÍCH NEMOCÍ (ISIN).....	70
10	LEGISLATIVA.....	72
	DISKUZE	74
	ZÁVĚR.....	77
	SOUPIS BIBLIOGRAFICKÝCH CITACÍ	79
	SEZNAM ZKRATEK.....	85
	SEZNAM TABULEK.....	88
	SEZNAM OBRÁZKŮ	89
	SEZNAM GRAFŮ.....	91

SEZNAM PŘÍLOH.....	92
1. Žádost zmocnění GDPR ve FN Motol pro použití citlivých dat pacientů	93
2. Stanovisko etické komise ve FN Motol k výzkumnému projektu diplomové práce	94
3. Standardní operační postup OKH FN Motol na vyšetření malárie	95
4. Anotace diplomové práce.....	105

ÚVOD

Infekční nemoci a s nimi spojené septické stavy představují významné riziko ohrožení života pacienta. Při těžkých septických stavech hraje významnou roli čas. Včasná diagnostika těchto stavů a odhalení etiologického agens vede ke správnému nastavení a zahájení léčby. Lékař provádí diagnostiku onemocnění na základě klinického vyšetření pacienta a na základě výsledků laboratorních vyšetření. Diplomová práce se zabývá významem standardního laboratorního vyšetření v hematologické laboratoři oddělení klinické hematologie ve Fakultní nemocnici v Motole pro diagnostiku infekčních nemocí.

V diplomové práci jsou stanoveny dva cíle:

Prvním cílem je navržení optimální spolupráce mezi urgentním příjmem pro děti a dorost a urgentním příjmem pro dospělé s hematologickou laboratoří v oblasti diagnostiky infekčních nemocí.

Druhým cílem je ověření vhodnosti implementace parametru Intensive Care Infection Score (ICIS) do laboratorního provozu hematologické laboratoře

Teoretická část diplomové práce je rozdělena do dvou částí. V první je uvedeno geografické vymezení některých infekčních nemocí, ve druhé části jsou pak sumarizovány hematologické změny u těchto infekcí.

Výběr infekčních nemocí, o kterých bude pojednáno, vychází z mého pracovního působení v hematologické laboratoři ve Fakultní nemocnici v Motole.

CÍL PRÁCE A ŘEŠERŠNÍ STRATEGIE

V diplomové práci jsou stanoveny dva cíle:

Prvním cílem je navržení optimální spolupráce mezi urgentním příjmem pro děti a dorost a urgentním příjmem pro dospělé s hematologickou laboratoří v oblasti diagnostiky infekčních nemocí pomocí telefonického hlášení morfologických nálezů při vyšetření periferní krve.

Výzkumná otázka: „je efektivně nastavena spolupráce hematologické laboratoře a urgentního příjmu pro děti a dorost a urgentního příjmu pro dospělé při dodržování doporučení stanovených Českou hematologickou společností Jana Evangelisty Purkyně (ČHS JEP) pro diagnostiku infekčních nemocí? “

Druhým cílem je ověření vhodnosti implementace parametru Intensive Care Infection Score (ICIS) do laboratorního provozu hematologické laboratoře. Parametr ICIS slouží k odlišení systémové zánětlivé reakce infekční povahy od neinfekční povahy.

Výzkumná otázka: „je parametr ICIS statisticky významný pro stanovení bakteriálního původu infekční nemoci pacienta?“

Klíčová slova ČJ: virocyty, hematologické analyzátoři, Sysmex, iRBC, detekce malárie, plasmodium, ICIS, bakteriální infekce

Klíčová slova v anglickém jazyce: virocytes, hematology analyzers, Sysmex, iRBC, malaria detection, plasmodium, ICIS, bacterial infection

Jazyk: angličtina

Období: x – 2020

Databáze: Google scholar, EBSCO, Web of Science

Google scholar x – 2020

- Pro klíčová slova „hematology analyzers AND malaria detection“ 6680 článků
- Pro klíčová slova „Sysmex AND malaria detection“ 3020 článků
- Pro klíčová slova „plasmodium AND Sysmex“ 1620 článků
- Pro klíčová slova „iRBC AND Sysmex“ 50 článků
- Pro klíčová slova „ICIS AND Sysmex“ 66 článků
- Pro klíčová slova „ICIS AND Sysmex AND bacterial infection“ 149 článků

EBSCO x – 2020

- Pro klíčová slova „iRBC AND Sysmex“ 0 článků
- Pro klíčová slova „hematology analyzers AND malaria detection“ 0 článků
- Pro klíčová slova „Sysmex AND malaria detection“ 0 článků
- Pro klíčová slova „plasmodium AND Sysmex“ 0 článků
- Pro klíčová slova „ICIS AND Sysmex“ 0 článků
- Pro klíčová slova „ICIS AND Sysmex AND bacterial infection“ 0 článků

Web of Science x – 2020

- Pro klíčová slova „iRBC AND Sysmex“ 0 článků
- Pro klíčová slova „hematology analyzers AND malaria detection“ 32 článků
- Pro klíčová slova „Sysmex AND malaria detection“ 13 článků
- Pro klíčová slova „plasmodium AND Sysmex“ 5 článků
- Pro klíčová slova „ICIS AND Sysmex“ 0 článků
- Pro klíčová slova „ICIS AND Sysmex AND bacterial infection“ 0 článků

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 GEOGRAFICKÉ VYMEZENÍ VYBRANÝCH INFEKČNÍCH NEMOCÍ

Níže uvedené infekční nemoci jsou rozděleny podle původce na tři skupiny – virové, bakteriální a parazitární nemoci.

1.1 Viroví původci

Viry patří mezi nejmenší organismy. Velikost virové částice se pohybuje v rozmezí 10–300 nm v závislosti na druhu viru (Beneš, 2011). Mohou tvořit jednoduché malé struktury, například parvovirus nebo velké složité komplexy-herpetické viry. Viry jsou přímo závislé na hostitelských buňkách, protože nemají vlastní metabolismus. Stavba virové částice je jednoduchá. Základem je nukleová kyselina. Viry mohou obsahovat deoxyribonukleovou kyselinu (DNA) nebo ribonukleovou kyselinu (RNA). Podle přítomnosti nukleové kyseliny lze je dělit na DNA či RNA viry. Nukleová kyselina je kryta proteinovým pláštěm. Viry obsahující DNA jsou spojovány s lidským onemocněním. DNA viry zahrnují šest virových rodin, RNA viry třináct skupin. Většina virů disponuje kapsidou, která se skládá z proteinů nazývaných kapsomery (Murray, 1990). Počet kapsomer se liší podle různých virových rodin. Prostor uvnitř kapsidy je označován jako dřev (Beneš, 2011). Na kapsidu může nasedat obal, který pochází z membrány hostitelské buňky, například u myxovirů, z jaderné membrány u herpetických virů či vzácně z membrány cytoplazmatického retikula u arenavirů (Beneš, 2011). Mezi kapsidou a obalem se nacházejí M-proteiny, které umožňují virové částici ukotvení na hostitelské buňce s následným proniknutím do buňky. Citlivost napadení buňky virem je spojena s pojmy vnímavost a permisivita. Vnímavost je vlastnost viru, kdy je schopný hostitelskou buňku napadnout. Tato schopnost je determinována přítomností specifických receptorů na povrchu hostitelské buňky, kde se virus naváže a následně dojde k průniku do buňky. Permisivita označuje schopnost viru využít hostitelskou

buňku pro svůj replikační cyklus. Pokud je buňka k viru vnímavá, avšak není permissivní, dojde k napadení buňky, ale virus není schopný replikace. V případě latentních infekcí dojde k napadení vnímavé nepermissivní buňky, virus může v buňce dlouhou dobu přetrvávat. Následně dochází ke změně buňky z nepermissivní na permissivní a virus je schopný replikace, například u herpetických virů (Beneš, 2011). Názvosloví virů je odvozováno na základě jejich základních charakteristik, struktury, cílové tkáně nebo oblastí, kde byli poprvé identifikovány (Murray, 1990).

1.1.1 Spalničky

Původce spalniček je RNA virus rodu *Morbillivirus* z čeledi *Paramyxoviridae*. Vyvolává vysoce nakažlivé infekční exantémové onemocnění, které patří k nejnakažlivějším přenosným infekčním onemocněním.

Nemoc probíhá ve dvou stádiích. První je prodromální stádium, za kterým následuje stádium exantémové. Prodromální stádium trvá přibližně 4 dny, je provázené vzestupem teploty, rýmou, kašlem a zánětem spojivek. V exantémovém stádiu vzniká exantém v oblasti uší a zátylku, následně dochází k šíření do obličejové části, nakonec postihne trup a končetiny. Pacient má charakteristický vzhled „uplakaného dítěte“ nazývaného facies morbilosa (Provazník, 1996). Před objevením exantému jsou patrné na buňkách sliznic Koplikovy skvrny (Beneš, 2011). V krevním obraze pacienta je leukopenie, později provázená lymfocytózou (Provazník, 1996).

Mezi možné komplikace onemocnění patří sekundární bakteriální infekce, například bronchopneumonie, otitidy aj. Primární komplikace vyvolané přímo virem zahrnují například intersticiální pneumonie, laryngitidu a encefalitidy (Beneš, 2011), záněty spojivek a drobných cév (Murray, 1990). Nejčastěji se vyskytují u dětí do 3 let a u dospělých (Provazník, 1996).

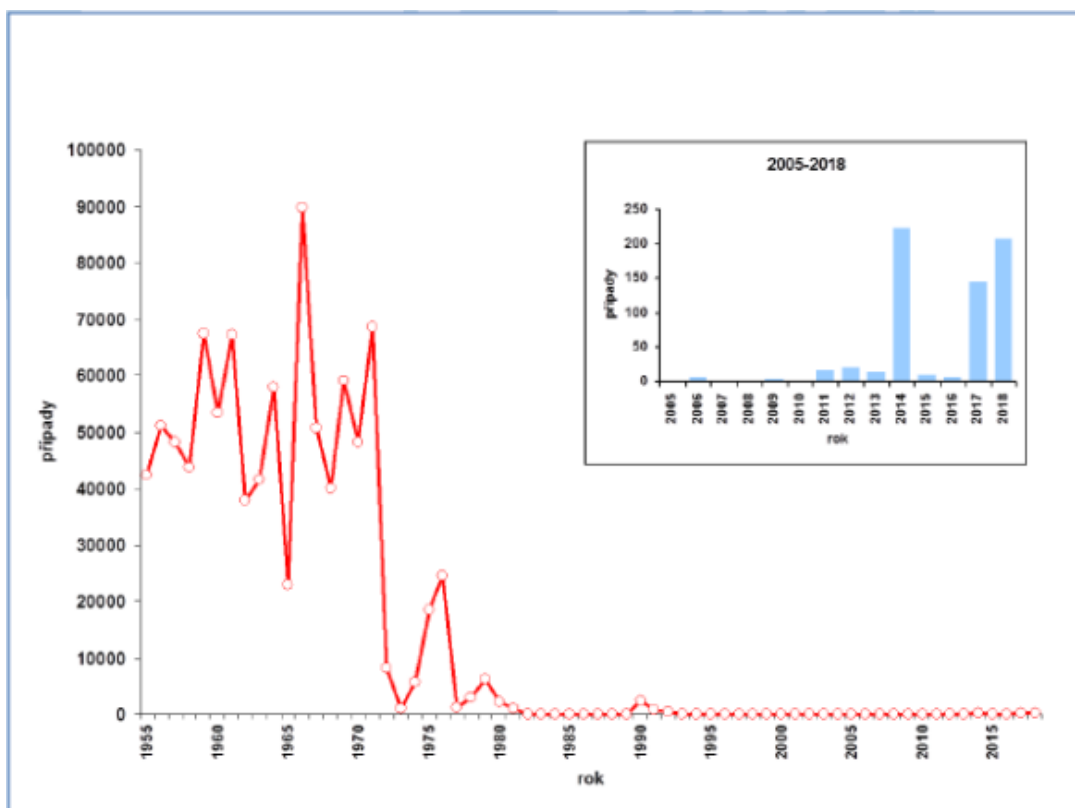
Diagnostika onemocnění je založena na klinickém obraze onemocnění a epidemiologické anamnéze. Laboratorně můžeme stanovit specifické spalničkové IgM protilátky nebo signifikantní vzestup IgG protilátek mezi akutním a rekonvalescentním sérem. Virus lze izolovat z krve, spojivek, nosohltanu a moče s následnou kultivací na tkáňových kulturách (Provazník, 1996).

Před začátkem pravidelného očkování bylo na území Československé republiky hlášeno okolo 50 000 případů ročně, které byly provázené z 15 % komplikacemi, a

smrtnost se pohybovala mezi 0,1-0,2 %. Promořenost populace ve skupině dětí do 15. roku věku byla 90 %. V souvislosti se zavedením pravidelného očkování docházelo ke vzestupu kolektivní imunity, v roce 1994 bylo hlášeno v České republice (ČR) 9 případů, v roce 1995 již jen 5 případů (Provazník, 1996). V roce 2014 došlo ke vzplanutí epidemie spalniček, ČR přišla o status země bez výskytu tohoto onemocnění. Trend onemocnění spalničkami v ČR je uveden v grafu 1 (SZÚ, Praha, 2019).

Zdrojem nákazy je nemocný člověk. Období nakažlivosti začíná před prodromálním stádiem onemocnění, ve kterém dosahuje svého vrcholu a trvá 4-5 dní po výsevu exantému. K přenosu viru dochází přímou cestou, pomocí kapénkového přenosu přes sliznici spojivek nebo sliznici respiračního traktu. Vzácně může dojít k přenosu nepřímou cestou pomocí předmětů potřísněnými sekrety (Provazník, 1996). Virus napadá makrofágy, kterými se šíří do lymfatických tkání. V lymfatické tkáni vlivem působení viru dochází ke vzniku Warthinových-Finkledeyových polynukleárních buněk (Beneš, 2011). Inkubační doba do výsevu exantému se pohybuje okolo 14 dní. Po prodělání infekce je navozena doživotní imunita.

Epidemiologická opatření preventivní. Nejlepší prevencí proti onemocnění je očkování. Na území Československé republiky začalo očkování v roce 1969 oslabenou vakcínou. Již v roce 1982 byla v Československé republice infekce eliminována. Dnes probíhá očkování dle vyhlášky č. 537/2006 Sb., ve znění pozdějších předpisů (verze 6). K očkování se využívá živé atenuované vakcíny. Očkování probíhá ve dvou dávkách. První dávka se aplikuje od 13. měsíce do 18. měsíce. Druhá dávka se aplikuje od 5. do 6. roku věku dítěte (vyhláška č. 537/2006 Sb., ve znění pozdějších předpisů (verze 6). Mezi represivní opatření se řadí hlášení onemocnění, domácí karanténní opatření u pacientů bez klinických obtíží 7 dní od výsevu exantému, lékařský dohled v předškolních zařízení po dobu 18 dní od vyřazení nemocného dítěte a imunizace kontaktů (Provazník, 1996).



Graf 1: Trend onemocnění spalničkami v ČSR a ČR v letech 1955–2018 (zdroj: SZÚ)

1.1.2 Horečka dengue

Původcem horečky dengue jsou čtyři sérotypy viru dengue, který patří do rodu *Flavivirus*. Jedná se o celosvětově nejvíce rozšířenou arbovirózu. Ročně onemocní až 100 milionů lidí a 10-20 tisíc lidí nemoci podlehnou.

V ČR bylo v letech 2012-2019 diagnostikováno 37 onemocnění importovaných nejčastěji z Thajska, Indonésie a Nepálu (Infekce v ČR – ISIN). Zdrojem nákazy je člověk ve stadiu virémie, která vzniká krátce před začátkem onemocnění a trvá 4-6 dnů. Nákazu přenášejí komáři rodu *Aedes*. Množí se v nádobách na vodu, vodních stokách atd. Sají opakovaně především ve dne. Onemocnění se vyskytuje v oblastech tropů a subtropů všech kontinentů s výjimkou Evropy, některých oblastí Afriky a Madagaskaru. V hyperendemických oblastech se mezi obyvatelstvem šíří současně více sérotypů viru. Po nákaze vzniká typově specifická imunita – onemocnění jedním sérotypem nechrání před nákazou jiným typem viru.

Inkubační doba má rozmezí 3-14 dnů, kolísá mezi 4-7 dny. Až 80 % nálezů proběhne inaparentně.

Onemocnění má dvě formy:

1. *Benigní forma* – nekomplikovaná horečka dengue. Začíná náhle horečkou, bolestmi hlavy, kloubů a svalů. Průběh často dvoufázový. První fáze trvá 1-3 dny, po jednodenní remisi se horečka objeví znovu a trvá 3-6 dnů. V druhé fázi se objevuje makulopapulózní vyrážka postihující 50–60 % nemocných. Vyrážka je nejvíce lokalizovaná v oblasti trupu, dlaně a plosky nohou nejsou zasaženy. V laboratorních nálezech bývá nápadná leukopenie s relativní lymfocytózou, trombocytopenie a asi v 50 % zvýšení aktivity sérových aminotrasferáz. Prognóza je dobrá.
2. *Maligní forma* – hemoragická horečka dengue – začíná jako benigní forma, ale mezi 3. až 7. dnem nemoci dochází náhle k poklesu teploty, k neklidu až somnolenci, zvracení, bolestem břicha a prudkému poklesu trombocytů. Objevují se krvácivé projevy – petechie, krvácení do trávicího ústrojí, z rodidel a hypovolemický šok, způsobený zvýšeným únikem tekutiny z cévního řečiště. Krevní tlak klesá, snižuje se rozdíl mezi systolickým a diastolickým tlakem a dochází k hemokoncentraci se vzestupem hematokritu o více než 20 %. Podle převažující symptomatologie se maligní forma označuje jako **horečka hemoragická** – přítomny výrazné krvácivé projevy. Smrtnost u neléčených osob je 5-10 %. Ve druhém případě označujeme onemocnění jako **šokový syndrom** – v klinickém obraze dominuje rychlý rozvoj šoku, smrtnost dosahuje 40 % (Beran, 2006).

Člověk je obvykle rezervoárem i konečným hostitelem. V některých částech tropů mohou být rezervoárem i opice. V souvislosti s horečkou dengue se můžeme setkat i s nákazou mimo tropické oblasti ve formě „letištní formy“, tento výskyt byl popsán i v ČR (Beneš, 2011).

Vnímavost k onemocnění je všeobecná. U dětí onemocnění probíhá mírněji nežli u dospělého. Po prodělání onemocnění je navozena dlouhodobá imunita, avšak jen sérotypově specifická, může dojít k onemocnění po infikování jiným sérotypem (Provazník, 1996).

Preventivní epidemiologická opatření se zaměřují na hubení komárů schopných přenášet původce onemocnění a na ochranu před komáry. Represivní epidemiologická

opatření zahrnují izolaci nemocného, aby nemohl být zdrojem pro komáry, kteří by onemocnění přenášeli dále. Je nezbytné provést vyšetření osob, které přišly s nemocným do kontaktu. Onemocnění podléhá povinnému hlášení (Provazník, 1996).

V našich podmínkách je v klinické praxi důležité na toto onemocnění myslet, pokud se pacient vrátil z tropické či subtropické oblasti, trpí horečnatými příznaky a byla u něj vyloučena malárie.

1.1.3 Virové hemoragické horečky

Virové hemoragické horečky jsou způsobené obalenými RNA viry, které jsou řazeny do čtyř čeledí *Arenaviridae*, *Filoviridae*, *Flaviridae* a *Bunyaviridae*. Představují velký zdravotnický problém, především v tropických oblastech, kde jsou přítomna enzootická ohniska (Provazník, 1996). Zdravotní riziko virových hemoragických horeček spočívá v tom, že určité druhy virů jsou schopné adaptace ze svých zvířecích rezervoárů na interhumánní přenos. Může pak dojít k zavlečení do oblastí, kde se původní zvířecí hostitel nevyskytuje. Tyto adaptační schopnosti mají původci horečky Lassa, Ebola a Marburg. V případě této adaptace je nutné zavedení karanténních opatření v mezinárodním měřítku. (Provazník, 1996).

Klinicky se onemocnění projevuje rychlým začátkem provázeným teplotou, nevolností, slabostí, bolestí hlavy a končetin. U většiny hemoragických horeček symptomy vychází z hemoragické diatézy způsobené zánětlivými změnami kapilárního systému, trombocytopenií, koagulopatií a hepatopatií. Smrtnost u hemoragických horeček je vysoká, nejvyšší u horečky Ebola a Marburg, kde se smrtnost pohybuje v rozmezí 50-90 % (Provazník, 1996).

Diagnostika hemoragické horečky může být provedena na základě klinických příznaků, pro přesnou specifikaci vyvolávajícího agens je zapotřebí virologické vyšetření. Původce lze přímo prokázat elektronovým mikroskopem (nákladné na přístrojové vybavení) nebo izolací ze vzorku krve či tkáně jater nebo ledvin. Nepřímá diagnostika je založena na detekci specifických protilátek třídy IgM (Provazník, 1996).

1.1.3.1 Horečka Lassa

Původce onemocnění je virus Lassa, patřící od skupiny Arenavirů, čeleď *Arenaviridae*. Velikost virové částice je 120 nm, obsahuje dvě molekuly RNA s cirkulárním a lineárním uspořádáním (Murray, 1990).

Onemocnění může probíhat asymptomaticky či jako lehká nebo závažná infekce. Asymptomatický průběh probíhá u zhruba 80 % pacientů. Klinicky začíná onemocnění náhlými bolestmi hlavy, horečkou, zimnicí, nevolností, zvracením a průjmami. Horečka dosahuje hodnoty až 40 °C a může být přítomna jeden až dva týdny (Beneš, 2011). Dále se může objevit bolest v krku způsobená zánětem tonzil, kašel, bolesti břicha, hepatosplenomegalie, často je pozorována konjunktivitida. Onemocnění může vyústit až v šokový stav provázený vznikem kožní hemoragie (Provazník, 1996). Smrtnost onemocnění se pohybuje okolo 1 %, v případě hospitalizovaných pacientů se pohybuje okolo 15 %, u těhotných dosahuje až 50 %. Smrtnost je ovlivněna virovou náloží, výškou horečky a množstvím aminotransferázy v séru nemocného. Diagnostika onemocnění je založena na laboratorním vyšetření. V rané fázi onemocnění pozorujeme v krevním obraze leukopenii s relativní neutrofilii, hematokrit a počet trombocytů jsou v referenčních rozmezích (Beneš, 2011). S postupným rozvojem onemocnění dochází ke změně v hematologických parametrech podle fáze rozvoje diseminované intravaskulární koagulopatie (DIC) (Beneš, 2011). V biochemickém vyšetření se může objevit proteinurie, hodnota aminotransferáz bývá až desetinásobně zvýšena. Diagnóza je potvrzena pomocí imunologického vyšetření, kde se prokáže až čtyřnásobný vzestup titru specifických protilátek (Beneš, 2011).

Onemocnění se vyskytuje endemicky v západní Africe (Sierra Leone, Libérii, Beninu, Ghaně, Mali, Guinei a Nigérii). Přírozený zvířecí vektor viru Lassa (krysa mnohobradavková, *lat. Mastomys natalensis*) se vyskytuje běžně v celé oblasti. Snadno kolonizují lidská obydlí, zejména oblasti, kde jsou skladovány potraviny. Onemocnění u krys probíhá bezpříznakově a je pravděpodobné, že infikovaná krysa mnohobradavková může vylučovat virus močí po zbytek svého života. Přenos viru Lassa na člověka je možný po požití stravy kontaminované močí těchto hlodavců, vdechnutím kontaminovaného aerosolu či prachu (např. při úklidu), přímým kontaktem s otevřenými ranami nemocných jedinců, krví, slinami a sexuálním kontaktem a také kontaminovanými zdravotnickými pomůckami (např. jehlami při

jejich opakovaném použití). Kontakt kůže s pokožkou bez výměny tělesných tekutin není pro přenos viru Lassa rizikový. Roční počet infekcí vyvolaných virem Lassa je v západní Africe odhadován na 100 000 až 300 000 (z toho přibližně 5 000 úmrtí). Surveillance onemocnění však není prováděna jednotně a skutečný počet případů může být podhodnocen. Horečka Lassa je v některých oblastech Sierra Leone a Libérie ročně diagnostikována u 10 až 16 % všech hospitalizovaných jedinců. (Špačková, 2018)

Při vstupu viru do organismu dochází k napadení buněk sliznice v místě vstupu. Následně se virus krevní cestou šíří do celého organismu, kde dochází k napadení makrofágů a endoteliálních buněk s následným rozvojem DIC. Napadené makrofágy uvolňují prozánětlivé mediátory, které zřejmě vedou k rozvoji systémové zánětlivé reakce a rozvoji šoku (Beneš, 2011). Inkubační doba onemocnění se pohybuje v rozmezí 6-21 dní. Přenos z člověka na člověka je možný během akutní horečnaté fáze, virus je přítomen v hrdle. Vnímavost je všeobecná. (Provazník, 1996).

Epidemiologická opatření preventivní spočívají v důsledné ochraně osob před hlodavci. Onemocnění podléhá hlášení v mezinárodním měřítku, pacienta je nutné izolovat – ošetřující zdravotnický personál musí používat předepsané osobní ochranné pracovní pomůcky (Provazník, 1996).

1.1.3.2 Horečka Ebola

Původcem onemocnění je virus Ebola patřící mezi *Filoviry* (Provazník, 1996). Obsahuje jednu molekulu RNA (Murray, 1990). Virus může mít filamentózní či cirkulární uspořádání (Murray, 1990). Virus Ebola byl poprvé zjištěn během propuknutí krvácivé horečky v Zairu (dnešní Demokratická republika Kongo) v roce 1976. První případy byly popsány jako onemocnění spojené s poskytováním zdravotní péče, které se následně rozšířily do okolí zdravotnických zařízení. Celkový počet nemocných přesáhl 300 osob se smrtností téměř 90 %. V Súdánu onemocnělo několik desítek osob a smrtnost se pohybovala okolo 60 %. (Beneš, 2011). Existuje pět kmenů viru Ebola pojmenovaných podle míst, ze kterých pocházejí: Ebola-Zaire (EBOV), Ebola-Sudan (SUDV), Ebola-Reston (RESTV), Ebola-Pobřeží slonoviny (TAFV) a Ebola-Bundibugyo (BDBV) (Beneš, 2011).

Klinicky se onemocnění projevuje náhlým začátkem, horečkou, bolestí hlavy, svalů, hrudníku, břicha, únavou, schváceností, faryngitidou, zvracením a průjmem. S odstupem několika dní dochází k rozvoji makulopapulozního enantému, bolestivé faryngitidě s ulceracemi, myalgie, artritidy a rozvoji hemoragické diatézy. Přibližně u 70 % pacientů dochází kolem sedmého dne ke krvácení z dásní, nosu a vaginy. Úmrtí pacienta nastává v druhém týdnu onemocnění následkem velké krevní ztráty a šoku (Beneš, 2011). Onemocnění je provázeno vysokou smrtností, pohybující se v rozmezí 50-90 % (Provazník, 1996).

V rámci diagnostického procesu je významná cestovatelská anamnéza, údaj o kontaktu s importovanými opicemi či práce s infekčním materiálem v průběhu tří týdnů. V krevním obraze pacienta se může objevit leukopenie s trombocytopenií a zvýšené aminotransferázy. Samotný virus lze prokázat na tkáňových kulturách nebo PCR metodou. Nepřímý průkaz viru je možné uskutečnit sérologickým vyšetřením protilátek třídy IgM ELISA testem (Enzyme-Linked-ImmunoSorbent-Assay) (Beneš, 2011).

Primární zvířecí rezervoár není doposud zcela znám a také cesta přenosu ze zvířecího rezervoáru nebyla doposud objasněna. Interhumánní přenos je popisován v souvislosti s pobytem osob ve zdravotnickém zařízení po kontaktu s biologickým materiálem (krev, moč, sekrety a tkáně), rovněž při sexuálním styku nebo kontaktem osob při pohřbívacích rituálech. Inkubační doba se pohybuje v rozmezí 2-21 dní. Období nakažlivosti je závislé na náloži viru v krvi a v sekretech (Provazník, 1996).

Epidemiologická opatření preventivní spočívají v dodržování správné laboratorní praxe a používání osobních ochranných pracovních pomůcek. V případě represivních opatření nastupuje izolace nemocného, dodržování bariérových ošetřovacích postupů, při práci s biologickým materiálem zajištění dezinfekce. Onemocnění podléhá povinnému hlášení na mezinárodní úrovni včetně podrobné epidemiologické anamnézy (Provazník, 1996).

1.1.3.3 Marburgská horečka

Původcem onemocnění je virus Marburg, patřící mezi *Filoviry* (Provazník, 1996). Obsahuje jednu molekulu RNA (Murray, 1990).

Klinicky se onemocnění projevuje náhlým začátkem, horečkou, bolestí hlavy, svalů, schváceností, faryngitidou, zvracením a průjmem. S odstupem několika dní dochází k rozvoji makulopapulozního enantému a rozvoji hemoragické diatézy – hematemézy, petechií, epistaxe, melény a krvácení do spojivek. Na konci prvního týdne onemocnění postihuje přibližně 30 % pacientů kóma následkem vysoké krevní ztráty, smrt nastává kolem 9. dne (Beneš, 2011). Onemocnění je provázeno vysokou smrtností, pohybující se okolo 25 % (Provazník, 1996).

Pro diagnostiku je důležitá cestovatelská a epidemiologická anamnéza. Na Marburgskou horečku je zapotřebí myslet, pokud pacient přijel z endemických oblastí, kde přišel do kontaktu s opicemi, hlodavci či netopýry. V krevním obraze je leukopenie a trombocytopenie. Biochemické vyšetření odhalí zvýšenou hladinu aminotransferáz (hlavně AST) a proteinurii (Beneš, 2011). Přímá diagnostika viru je založena na metodě PCR, nepřímý průkaz se provede stanovením specifických protilátek třídy IgM metodou ELISA (Beneš, 2011).

Horečka Marburg byla poprvé diagnostikována v roce 1967 v Německu ve městě Marburg u pracovníků laboratoře a v Bělehradě (Provazník, 1996). Zdrojem infekce byli kočkodani zelení pocházející z Ugandy. Celkem onemocnělo 25 laboratorních pracovníků, z toho 7 nákaze podlehl (Beneš, 2011).

Primární zvířecí rezervoár není doposud znám, interhumánní přenos je popisován obvykle v souvislosti s nemocničním prostředím. K přenosu onemocnění dochází v laboratorních podmínkách (krví, močí, slinami a stolicí). Je prokázán přenos po kontaktu s biologickým materiálem infikovaných opic. Inkubační doba se pohybuje v rozmezí 3-9 dnů. Období nakažlivosti je závislé na náloži viru v krvi a sekretech (Provazník, 1996).

Epidemiologická opatření preventivní spočívají v dodržování správné laboratorní praxe a používání osobních ochranných pracovních pomůcek. Epidemiologická opatření represivní nařizují izolaci nemocného, dodržování bariérové ošetrovací techniky, při práci s biologickým materiálem zajistit účinnou dezinfekci včetně dezinfekce použitého laboratorního vybavení. Onemocnění podléhá povinnému hlášení na mezinárodní úrovni (Provazník, 1996).

1.1.3.4 Krymsko-konžská horečka

Původcem onemocnění je virus krymsko-konžské hemoragické horečky, patřící do čeledi *Bunyaviridae*, rod *Nairovirus* (Provazník, 1996).

Klinicky je onemocnění charakterizováno náhlým nástupem provázeným horečkou, bolestmi hlavy, zad, končetin, překrvením faryngu a zvracením (Provazník, 1996). Při těžké formě onemocnění může docházet ke krvácení z dásní, nosu, plic, močového měchýře a střeva. V laboratorním vyšetření je leukopenie, trombocytopenie a albuminurie. Diagnostika je založena na průkazu virového antigenu metodou ELISA nebo virové RNA pomocí PCR (Beneš, 2011). Smrtnost onemocnění je variabilní, pohybuje se v rozmezí 2-50 % (Provazník, 1996).

Onemocnění se vyskytuje v Rusku, Albánii, Bosně, Iráku, Pákistánu a v tropické a jižní Africe. Rezervoárem jsou divoce žijící zvířata: ptáci, zajíci a drobní hlodavci (Provazník, 1996). Vektorem přenosu jsou klíšťata rodu *Hyalomimia*. Po přisátí infikovaného klíštěte dochází k migraci viru do nejbližších lymfatických uzlin, kde dochází k primární replikaci, následně je virus uvolněn do krevního oběhu (Beneš, 2011). Interhumánní přenos je popisován v souvislosti s poskytováním zdravotních služeb krví infikovaného jedince – krevní transfúze. Inkubační doba se pohybuje v rozmezí 3-12 dnů (Provazník, 1996).

Epidemiologická opatření preventivní – je doporučeno používání repelentů a insekticidů. V současné době není k dispozici očkovací vakcína (Beneš, 2011).

1.1.4 Infekční mononukleóza

Původce onemocnění je obalený DNA virus, nazvaný virus Epstein-Barrové (EBV), patřící do čeledi *Herpesviridae*.

Infekční mononukleóza je provázena bolestmi v krku, horečkou a lymfadenopatií, splenomegalie je přítomna u 75 % nemocných a hepatomegalie přibližně u 50 % nemocných, krční mandle bývají zvětšené, pokryté bělavými pláňkami. Onemocnění může být provázeno komplikacemi, např. myokarditida, meningoencefalitida, může se vyskytnout přechodná anémie a trombocytopenie až dřeňový útlum (Beneš, 2011). U dětí probíhá onemocnění obvykle mírně až inaparnantně, často nemusí dojít k jeho diagnostice. U mladých dospělých dochází

k postižení jaterního parenchymu, což má za následek hepatomegalii (u 50 % pacientů) s elevací jaterních enzymů u 95 % případů, žloutenku pozorujeme u 4 % pacientů (Provazník, 1996).

Při expozici EBV dochází v první řadě k napadení orálních a faryngeálních epitelových buněk. Následně virus napadá B lymfocyty, cílové buňky. Napadené B lymfocyty jsou detekovány T lymfocyty. V periferní krvi (PK) jsou zvýšené aktivované cytotoxické T lymfocyty (CD8+), pomahačské T lymfocyty (CD4+) a NK buňky (Beneš, 2011).

Diagnostika onemocnění je založena na laboratorním vyšetření. V krevním obraze pacienta je lymfocytóza přesahující 50 % a přítomnost více než 10 % atypických buněk – virocytů (Downey cells) v nátěru PK. Z biochemického vyšetření je patrná elevace jaterních enzymů a zvýšený titr protilátek (Provazník, 1996). Lze provést imunologické vyšetření specifických protilátek třídy IgM a IgG proti virovému kapsidovému antigenu.

Zdrojem nákazy mohou být nemocní lidé, i s inaparentním průběhem onemocnění a zdraví nosiči viru (Beneš, 2011). K přenosu dochází kapénkovou cestou či přímým kontaktem, např. líbáním. Výskyt infekce je vázaný na socio-ekonomický status nemocného (Dunmire, 2015). Inkubační doba onemocnění se pohybuje v rozmezí 2-7 týdnů (Beneš, 2011).

Období nakažlivosti je dlouhé, virus může být vylučován faryngeálními sekrety až po dobu jednoho roku i více. Vnímavost k onemocnění je všeobecná. Po prodělání infekce je vytvořena dlouhodobá imunita. Může dojít k reaktivaci onemocnění při imunodeficitních stavech pacienta (Provazník, 1996).

Epidemiologická opatření jsou pouze represivního charakteru, zahrnují hlášení onemocnění a dezinfekci předmětů potřísněných sekrety nemocného (Provazník, 1996).

Virus Epstein-Barrové hraje důležitou roli v hemato-onkologii. U pacientů, kteří prodělali infekci vyvolanou tímto virem se mohou objevit maligní onemocnění asociovaná s EBV. Mezi tato onemocnění patří: Burkyttův lymfom (Penka, 2011), difúzní velkobuněčný lymfom (Penka, 2011), Hodgkinův lymfom (Hjalgrim, 2000), hemofagující lymfocytóza a vzácně proliferace NK buněk (Kolařík, 2019).

1.2 Bakteriální původci

Bakterie patří mezi nejjednodušší organismy. Bakteriální buňka obsahuje jednu molekulu DNA, která je volně uložena v cytoplazmě. Může obsahovat i další molekuly DNA ve formě fragmentů zvaných plazmidy, které se mohou uplatnit při vzniku rezistence na antibiotika. Cytoplazma obsahuje velké množství ribozomů a může obsahovat také zásobní granula. Od okolí je oddělena cytoplazmatickou membránou, na kterou nasedá buněčná stěna, která určuje tvar bakterií. Podle složení buněčné stěny dělíme bakterie na gram pozitivní – obsahují silnou vrstvu peptidoglykanu a gram negativní – obsahují minimální vrstvu peptidoglykanu. U acidorezistentních bakterií buněčná stěna obsahuje množství lipidů a vosků. Některé druhy bakterií mohou obsahovat bakteriální pouzdro, které dává bakteriím opět selekční výhodu. Chrání bakterie před účinky vnějších vlivů. Na rozdíl od virů jsou bakterie schopny nezávislého metabolismu. Ve vztahu ke kyslíku můžeme bakterie rozdělit do čtyř skupin. První skupinu tvoří striktně aerobní bakterie, které pro své přežití vyžadují kyslík, například *Mycobacterium tuberculosis* (Beneš, 2011). Druhou skupinu tvoří mikroaerofilní bakterie, které vyžadují k přežití kyslík, ale již v menší koncentraci, např. *Helicobacter pylori*. Třetí skupinu tvoří bakterie striktně anaerobní, vyžadující prostředí bez kyslíku, např. *Bacteroides fragilis* (Beneš, 2011). Poslední skupinu tvoří bakterie fakultativně anaerobní, které jsou schopné přežít v prostředí s i bez kyslíku. Jedná se o většinu lékařsky významných bakterií.

Mezi významnou schopnost bakterií patří sporulace, během níž vznikne spora. Jedná se o klidovou formu bakterie, která je schopna přežít v klidovém režimu i desítky let. Sporulaci může navodit nedostatek živin v prostředí, či nepříznivé fyzikální a chemické podmínky. Při změně podmínek se může bakterie vrátit do vegetativní formy. Proces sporulace může trvat až 10 hodin, avšak fáze aktivace probíhá v řádech minut. Z lékařsky významných bakterií mají schopnost sporulace klostridia a *Bacillus anthracis*, gram negativní bakterie tuto schopnost nemají (Beneš, 2011).

1.2.1 Dávivý kašel

Bordetella pertussis je gram negativní opouzdřený kokobacil, který způsobuje onemocnění známé jako černý či dávivý kašel.

Onemocnění probíhá ve třech stádiích: katarální, paroxysmální a rekonvalescenční stádium. Katarální stádium je provázené rýmou, kýchaním, zánětem spojivek, subfebriliemi a mírným kašlem. V paroxysmálním stádiu dochází ke stupňování kašle, který je výraznější s vyšší frekvencí. Během krátkého časového úseku se může vyskytnout 5-20 epizod kašle, následují dlouhé nádechy, u kterých můžeme pozorovat zvukové projevy způsobené průchodem vzduchu přes zúžené hlasivky. Tento stav může vyústit až v hypoxii a cyanózu. Na konci ataky kašle může dojít k vykašlání hlenové zátky, pacient je vyčerpaný. U dětí mohou být ataky kašle provázené zvracením, z tohoto důvodu se onemocnění nazývá dávivý kašel. Denně může pacient prodělat průměrně 5-20 epizod kašle, počet se může ale vyšplhat až na 40 záchvatů za den. Paroxysmální období trvá v průměru 30 dní. V rekonvalescenčním stádiu se snižuje četnost a intenzita záchvatů kašle. K ústupu kašle dochází během tří týdnů, ale může trvat i měsíce. Vzácně se může vyskytnout i toxická forma onemocnění. Tento stav je provázen vysokými horečkami, křečemi, bezvědomím a může docházet ke krvácení do kůže, spojivek či mozku. Toxická forma onemocnění je závažným klinickým stavem končící úmrtím pacienta (Beneš, 2011).

Diagnostika onemocnění se opírá o klinický stav nemocného, mikrobiologické a imunologické vyšetření. V diferenciální diagnostice je potřeba vyloučit další agens, způsobující syndrom dávivého kašle. Mezi ně patří: *Bordetella parapertussis*, *Haemophilus influenzae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma pneumoniae*, viry chřipky, parainfluenzy a adenoviry. Pro mikrobiologické vyšetření se provádí výtěr z laryngu a faryngu. Imunologické vyšetření je zaměřeno na detekci specifických protilátek (Provazník, 1996).

Česká republika byla první země na světě, která zavedla očkování proti tomuto onemocnění trivakcínou DTP v roce 1958. Pomocí surveillance a vysoké proočkovanosti populace došlo ke snížení incidence pertusse na konci 70. let na minimum (Provazník, 1996). V roce 1993 nebyl diagnostikován žádný případ u dítěte mladšího tří let. V poslední době se objevovaly importované případy na území ČR.

V současné době z důvodu poklesu proočkovanosti populace dochází k nárůstu počtu hlášených onemocnění.

Zdrojem nákazy je nemocný člověk. K přenosu dochází kapénkovým přenosem. Jedná se o vysoce nakažlivé onemocnění, attack rate u školních dětí je 50 %, u osob žijící ve společné domácnosti se pohybuje v rozmezí 80–90 % (Beneš, 2011). Virulence je zvyšována schopností produkce toxinů a obsahu adhezivních molekul. Mezi produkované toxiny patří adenylátcyklázový toxin (ACT), tracheální toxin (TCT) a dermonekrotický toxin (DNT). Adhezivní molekuly zahrnují vláknitý hemaglutinin (FHA), který umožňuje vazbu na cílové buňky a vstup do epitelových buněk. Pertaktin (PRN), zajišťující vazbu na dýchací epitel. Faktor resistance (BrkA), který má schopnost inaktivovat komplementový systém. Ohroženou skupinou jsou kojenci do 3 měsíců a děti. Inkubační doba se pohybuje v rozmezí 7-21 dnů (Beneš, 2011).

Postinfekční imunita není trvalá, po letech klesá. Proti černému kašli existuje očkování, avšak po 5 letech dochází k poklesu protilátek, ochranná hladina protilátek se udrží maximálně 12 let (Beneš, 2011). Dětský očkovací kalendář hrazeného očkování v ČR platný k 1. 5. 2020 uvádí očkování proti černému kašli očkovací látkou „Hexavakcína“ ve 3 dávkách do 13. měsíce a přeočkování mezi 5. – 6. rokem a 10. - 11. rokem věku dítěte (vyhláška č. 537/2006 Sb., verze 6).

Epidemiologické opatření preventivní zahrnuje povinné očkování. Mezi represivní opatření patří: hlášení onemocnění, izolace nemocného doma či na infekčním oddělení v závislosti na zdravotním stavu, vyšetření kontaktních osob a sledování jejich zdravotního stavu, zákaz vstupu neočkovaných dětí do kolektivu kde byl hlášen výskyt onemocnění po dobu 21 dní, zvýšený zdravotnický dozor v kolektivu, ve kterém bylo hlášeno onemocnění po dobu 21 dní, karanténa neočkovaných dětí, které přišly do styku s nemocným rodinným příslušníkem po dobu 21 dní a dezinfekce hraček, prostředí a důkladné vyprání osobního prádla (Provazník, 1996).

Hematologickým obrazem tohoto onemocnění je leukocytóza dosahující hodnot až $15,0-30,0 \times 10^9/l$. V diferenciálním rozpočtu leukocytů je lymfocytóza až 70-90 %, zastoupená malými lymfocyty. Část lymfocytů vykazuje atypický tvar jádra, kdy v jádře pozorujeme hluboký a výrazný zářez. Jádro připomíná písmeno U (Beneš, 2011).

1.3 Parazitární původci

Parazitární infekce patří k nejčastějším onemocněním v lidské populaci. Přibližně jedna třetina světové populace je infikována parazitem *Toxoplasma gondii*. Malárie postihne ročně odhadem 400-800 miliónů jedinců. Významné množství parazitárních nálezů tvoří střevní paraziti, kteří postihují několik miliard jedinců. Parazitární infekce mohou mít lokalizovaný geografický výskyt (trypanozóma), nebo mohou být rozšířeny celosvětově (toxoplazmóza) (Beneš, 2011). Geografický výskyt je obvykle vázán na přítomnost vektorů nebo mezihostitelů. Četný výskyt parazitárních infekcí můžeme pozorovat v tropických oblastech. Existuje zde souvislost s vhodnými klimatickými podmínkami, dostupností vodních zdrojů a sníženými hygienickými podmínkami. Parazitární infekce mají často asymptomatický průběh, komplikace se objevují až po opakovaných infekcích například jaterní fibróza či karcinom močového měchýře. Inkubační doba parazitárních infekcí je dlouhá, v některých případech může dosahovat i několika let. V souvislosti s parazitární infekcí je důležitá prepatentní a patentní doba. Prepatentní doba vyjadřuje časový úsek od infikování jedince parazitem až po dobu možnosti laboratorní diagnostiky. Patentní doba je časový úsek, po který lze parazita v organismu prokázat.

1.3.1 Malárie

Původcem onemocnění je prvok, *Plasmodium* spp., které se rozděluje do pěti druhů *P. vivax*, *P. malariae*, *P. falciparum*, *P. ovale* a *P. knowlesi*. Malárie je nejzávažnější parazitární nákaza ve světě. Patří mezi transmisivní nákazy, tj. nákazy, které jsou přenášeny vektorem. Jejich přenašečem na člověka je komár rodu *Anopheles*, přenos uskutečňují pouze samice (Beneš, 2011).

Nejzávažnější je infekce vyvolaná *P. falciparum* (maligní terciána). Klinický obraz často napodobuje příznaky jiných onemocnění. Pacient trpí horečkou, zimnicí, pocením, kašlem, průjmem, bolestí hlavy, ledvinným selháním, plicním a mozkovým edémem a šokem (Provazník, 1996). K poškození mozku a ledvin dochází vlivem změny vlastností infikovaných erytrocytů. U napadených erytrocytů dochází ke změně povrchových vlastností, což způsobí vyšší adhezivitu k endoteliálním buňkám.

Následkem vyšší adhezivity vznikají především v mozkových či ledvinných kapilárách cévní okluze. *P. falciparum* napadá různě staré erythrocyty, což má za následek výskyt těžké anémie (Rowe, 2009). Z důvodu postižení jater a rozvoje hepatopatie, může být pacient postižený ikterem a koagulopatií. Horečnaté záchvaty se opakují každý třetí den (Provazník, 1996).

Klinický průběh onemocnění vyvolaných zbývajících plasmodii je mírnější, nemocný není bezprostředně ohrožen na životě. *P. vivax* (benigní terciána), *P. malariae* (kvartána) a *P. ovale* vyvolává onemocnění podobné benigní terciáně (Provazník, 1996). V počáteční fázi onemocnění se vyskytují nespecifické příznaky. Pacient cítí nevolnost, objevuje se pomalu stoupající teplota trvající několik dní s následným vystřídáním zimnicí, třesavkou a výrazným zvýšením teploty až na 40 °C. Záchvaty se opakují v závislosti na druhu plasmodia každé 3-4 dny.

Diagnostika onemocnění je založena na přímém průkazu parazita v nátěru periferní krve. Provádí se nátěr tlusté kapky bez fixace alkoholem a tenký nátěr, které se barví dle Giemsy. V rámci diagnostického procesu je nezbytná cestovatelská anamnéza i několik měsíců zpětně. V krevním obraze je trombocytopenie s možnou přítomností anémie.

Onemocnění se vyskytuje v tropických a subtropických oblastech. Mezi nejvíce zasažené oblasti patří Jižní Amerika, Jihovýchodní Asie a některé části subsaharské Afriky. Na území subsaharské Afriky je hlášeno 93 % všech případů onemocnění a 94 % všech úmrtí na toto onemocnění. *P. falciparum* je odpovědné za 99,7 % případů v subsaharské Africe a 50 % případů v Asii. V oblasti Jižní Ameriky se v 75 % případů uplatňuje *P. vivax* (WHO, 2020). V roce 2018 bylo na celém světě hlášeno 228 miliónů nemocných lidí malárií a z toho 405 000 úmrtí na toto onemocnění (World malaria report, 2019).

Na území Československé republiky se malárie vyskytovala v oblasti Polabí a jižní Moravy, poslední případ byl hlášen roku 1958 a v roce 1963 bylo území Československé republiky prohlášeno WHO za nemalarickou oblast (Beneš, 2011). Existují případy „letištní malárie“ či „tranzitní malárie“. K nákaze „letištní malárií“ dochází v blízkosti mezinárodních letišť, komáři byli přivezeni na palubě letadel. „Tranzitní nákaza“ je způsobena několikahodinovým pobytem v malarické oblasti, například při přestupu na další tranzit (Beneš, 2011).

Zdrojem nákazy je infikovaný člověk, kdy se v jeho krvi vyskytují gametocyty. Zdrojem nákazy mohou být také opice, které jsou infikovány jinými druhy plasmodií než člověk, avšak vzácně mohou vyvolat onemocnění (Provazník, 1996). Přenos je zajištěn samičkami komárů rodu *Anopheles*. Při sání krve infikovaného člověka se do samičky komára dostávají samčí a samičí gametocyty, které následně prodělávají v trávicím traktu komára sexuální vývoj za vzniku sporozoitů. Ty přecházejí do slinných žláz komára, odkud se při sání krve dostávají do krevního oběhu člověka. Sporozoiti se pomocí krevního oběhu dostávají do jater hostitele – hepatocytů, kde se množí a vyvíjí v schizonty, obsahující množství merozoitů. Tato fáze je označována jako preerytrocytární fáze a probíhá bez klinických příznaků. Za 1-3 týdny merozoiti opouští hepatocyty a infikují erythrocyty. Proces infikování erythrocytů se označuje jako erythrocytární fáze. Množení parazitů v erythrocytech probíhá různou dobu v závislosti na druhu plasmodia. Doba trvání ovlivňuje periodicitu horečnatých záchvatů (Beneš, 2011). Během intraerythrocytárního vývoje se plasmodium živí hemoglobinem. Pro potřeby je využívána globinová komponenta hemoglobinu, která je rozložena na jednotlivé aminokyseliny, zatímco hem je pro plasmodium toxický a dochází k jeho agregaci do krystalů zvaných hemozoin (Coronado, 2014). Infikované erythrocyty následně podléhají hemolýze, dojde k uvolnění merozoitů, které napadají další erythrocyty. Část merozoitů se vyvíjí v gametocyty, které následně prodělávají další vývoj v trávicím traktu komára po jejich nasátí. Při hemolýze erythrocytů dochází také k uvolnění metabolických produktů – hemozinu, které jsou podobné endotoxinu gram negativních bakterií. Metabolické produkty stimulují makrofágy, které odpovídají produkcí protizánětlivých cytokinů způsobující horečky. V případě, že onemocnění je vyvoláno *P. vivax* a *P. ovale*, dochází v hepatocytech k vývoji schizontů v hypnozoity, které mohou v játrech asymptomaticky přetrvávat i po dobu několika let. Tato schopnost je příčinou relapsů onemocnění (Beneš, 2011).

K přenosu onemocnění může též dojít v souvislosti s poskytováním zdravotní péče – aplikace kontaminovaných krevních derivátů, zdravotnické prostředky kontaminované biologickým materiálem a transplacentárním přenosem z matky na plod (Beneš, 2011).

Inkubační doba onemocnění je rozdílná v závislosti na druhu plasmodia, které onemocnění vyvolalo. U *P. falciparum* se pohybuje v rozmezí 7-14 dní, *P. vivax* a *P. ovale* 8-14 dní a *P. malarie* 7-30 dní. Nedostatečná prevence antimalariky může vést k prodloužení inkubační doby. Inkubační doba v případě nákazy způsobené podáním

transfúzních přípravků je obvykle kratší. Infikovaný komár je infekční po celou dobu jeho života. Člověk je infekční po dobu přítomnosti parazitů v krevním oběhu. V případě špatné léčby nebo pacient je bez léčby, může být zdrojem nákazy i několik let. Je-li onemocnění způsobené *P. malarie* je doba infekčnosti delší nežli tři roky, v případě *P. vivax* 1-2 roky a u *P. falciparum* méně než jeden rok (Provazník, 1996).

Vnímavost k onemocnění je všeobecná. Existují však osoby s určitými genetickými rysy, které vykazují toleranci k této infekci. Nevnímavost k nákaze je důsledkem genetické informace, přítomné u osob žijících v endemických oblastech. Většina černých Afričanů má přirozenou rezistenci k *P. vivax*. Ta pravděpodobně vznikla chyběním Duffy faktoru na jejich erytrocytech (Provazník, 1996), (Penka, 2012). Rizikovou skupinu tvoří děti mladších pěti let, kdy v roce 2018 zemřelo 67 % nemocných dětí, což představuje 272 000 úmrtí (World malaria report, 2019).

Epidemiologická opatření preventivní zahrnují chemoprofylaxi, která by měla být zahájena týden před cestováním do endemické oblasti, pokračující 4-6 týdnů po návratu z endemické oblasti. K dalším preventivním opatřením patří postupy zabraňující přisátí komára – dlouhé rukávy a kalhoty, používání repelentů, moskytiéry a ochrana obytných prostor. Represivní opatření zahrnují povinné hlášení onemocnění (Provazník, 1996).

2 KVANTITATIVNÍ A KVALITATIVNÍ ZMĚNY V KREVNÍM OBRAZE A HEMOKOAGULACI U INFEKČNÍCH NEMOCÍ

Infekční agens v lidském organismu vyvolá změny, které jsou patrné také v krevním obraze s diferenciatním rozpočtem a hemokoagulačním vyšetřením. Výsledky tohoto vyšetření mohou pomoci lékaři v diagnostickém procesu s následným zaměřením mikrobiologického anebo imunologického vyšetření. Mezi nejčastější projevy infekce v krevním obraze patří početní změna leukocytů a z ní vyplývající zastoupení jejich jednotlivých populací. Změny jsou odvislé od charakteru vyvolávajícího infekčního agens (virus, bakterie, parazit). Z důvodu provázanosti imunitních a hemostatických procesů jsou infekční nemoci, a především septické stavy provázeny poruchami hemokoagulace. Mezi nejzávažnější a život ohrožující stavy patří mikroangiopatická hemolytická anémie (MAHA), trombotická mikroangiopatická anémie (TMA) a diseminovaná intravaskulární koagulace (Penka, 2011).

2.1 Změny v krevním obraze a hemokoagulačním vyšetření při virové infekci

Nejčastějším projevem virové infekce je leukopenie, méně častěji leukocytóza. Dochází ke zmožení lymfocytů a monocytů, u pacienta vzniká neutropenie, kterou můžeme pozorovat u pacientů s virovou hepatitidou A i B, chřipkou, spalničkami, zarděnkami, planými neštovicemi a infekční mononukleózou (Penka, 2011). V nátěru periferní krve jsou přítomné reaktivní lymfocyty (T i B lymfocyty) s plazmatickou reakcí. Reaktivní T lymfocyty jsou velké buňky, jádro může obsahovat jadérko a mají bohatou cytoplazmu s bazofilním lemem. Aktivované B lymfocyty mohou přecházet do plazmatických buněk. Přítomnost plazmatických buněk u pacienta, též značí přítomnost virové infekce (infekční mononukleóza, horečka dengue, aj.). Mohou se vyskytovat i mladší formy lymfocytů. Monocyty jsou reaktivní s plazmatickou reakcí. Při určitých infekcích, především u infekční mononukleózy se v periferní krvi vyskytují

velké buňky tzv. „virocyty“. U pacientů trpící virem lidské imunodeficiency (HIV) je možné pozorovat v granulocytech absenci sekundární neutrofilní granulace tzv. hypogranulaci (Penka, 2011).

Virové infekce způsobené virem zarděnek, spalniček, infekční mononukleózy, cytomegalové infekce, chřipky a HIV mohou u pacienta způsobovat imunitně navozenou trombocytopenii, především u dětí (Haferlach, 2014), (Penka, 2011). Virus HIV může i přímo působit na trombocyty, kdy může dojít k „pohlčení“ viru HIV trombocytem nebo se může virus HIV v kostní dřeni penetrovat do megakaryocytu a tím způsobit sníženou produkci trombocytů (Penka, 2011). Poruchy hemokoagulace v souvislosti s virovou infekcí jsou nejzřetelnější u pacientů s HIV či hemoragickou horečkou dengue (Penka, 2011). Mezi nejčastější příčiny koagulopatie patří poruchy endotelu cév či další postižení cévního systému. Postižení endotelu může být výsledkem přímé interakce viru s endotelovými buňkami. Tyto patologické změny mohou vyvolat následující viry: simplex virus, adenoviry, parainfluenza virus, poliovirus, echoviry, rubeola virus, varicella virus, HIV, cytomegalovirus (CMV) či viry hemoragických horeček (Penka, 2011). Postižení cévního systému je možné pozorovat u cytomegalové nebo HIV infekce, kdy původci – viry váží na svůj povrch „protrombinázový komplex“ (faktor aX, Va a Ca^{2+}) s následným rozvojem krvácení do gastrointestinálního traktu a centrálního nervového systému. Schopnost vyvolávat vaskulitidy mají i další virová agens, např. virus hepatitidy B a C či parvovirus B19 (Penka, 2011).

2.2 Změny v krevním obraze a hemokoagulačním vyšetření při bakteriální infekci

Nejčastějším projevem bakteriální infekce je leukocytóza, méně častěji leukopenie. Dochází ke zmnožení granulocytární populace, především neutrofilní řady (nesegmentované neutrofilní granulocyty, segmentované neutrofilní granulocyty). Při závažnější infekci jsou přítomny nezralé neutrofilní granulocyty (metamyelocyty, myelocyty a promyelocyty) – tzv. posun doleva. Tyto mladší vývojové formy se za fyziologických podmínek v periferní krvi nevyskytují. Leukopenii u bakteriálních infekcí způsobuje snížený počet neutrofilních granulocytů tzv. neutropenie (pod 1,5

x 10⁹/l u dospělého). Neutropenii mohou způsobit např. salmonely, mykobakterie, brucely, tularémie a riketsiózy (Penka, 2011). V nátěru periferní krve u bakteriální infekce jsou patrné změny morfologie leukocytů. Nejčastějšími morfologickými projevy jsou např. hypersegmentace a vakuolizace segmentovaných neutrofilních granulocytů, hrubší až toxická granulace segmentovaných a nesegmentovaných neutrofilních granulocytů a v granulocytech se vyskytují Döhleho inkluze. Nezralé granulocyty mohou vykazovat plazmojadernou asynchronii označovanou jako „zrcí poruchy“, kdy jádro buňky vyzářává jinou rychlostí nežli cytoplazma. Může se vyskytovat zvýšený počet monocytů se známkami reaktivity: reaktivní formy monocytů, plazmatická reakce monocytů a nadměrná vakuolizace monocytů. Při infekci vyvolané bakterií *Bordetella pertussis* se vyskytují morfologické změny v lymfocytech, které mohou vznést vážné podezření na černý/dávivý kašel. U bakteriálních infekcí jsou pozorovány změny také v červené řadě. Anémie je způsobena intravaskulární hemolýzou. Mezi významná infekční agens způsobující značnou anémii patří klostridia (Penka, 2011). Poruchy hemokoagulace jsou způsobené systémovou odpovědí organismu na infekci. Při systémové odpovědi dochází k poškození endotelových buněk cév, aktivaci koagulačního procesu, konzumpci koagulačních faktorů, inhibici fibrinolytického systému, snížení aktivity přirozených inhibitorů hemokoagulace (antitrombin, protein C) a k poruše počtu a funkce trombocytů. Důležitým markerem je vyšetření protrombinového času (PT), který bývá prodloužen u více než 90 % nemocných (Penka, 2011).

2.3 Změny v krevním obraze a hemokoagulačním vyšetření při parazitární infekci

Projevy parazitární infekce jsou v krevním obraze pacienta nespecifické. Může se vyskytovat leukocytóza, leukopenie, anémie a trombocytopenie. Za významné vodítko je považováno zvýšení hladiny eozinofilních granulocytů. Zvýšení jejich počtu je popisováno u infekcí vyvolaných plasmodii, amébami a lamblie (Haferlach, 2014). Nejdůležitějším úkonem v laboratoři klinické hematologie je přímý průkaz parazitárního agens v krevním nátěru.

2.3.1 Změny v krevním obraze a morfologii erytrocytů u infekce vyvolané prvokem *Plasmodium falciparum*

V krevním obraze pacienta je výrazná anémie s postupným snižováním hladiny hemoglobinu. Dále je přítomna trombocytopenie, leukopenie a monocytóza. Leukopenie se objevuje v počátečních fázích onemocnění, v pozdějším stádiu přechází do leukocytózy. Infikované erytrocyty prvokem *P. falciparum* mají normální velikost, tj. parametr objemu erytrocytu (mean corpuscular volume – MCV) se pohybuje ve fyziologickém rozmezí. V infikovaných erytrocytech je obsažena nukleová kyselina parazita, kterou lze detekovat. V nátěru periferní krve pozorujeme v erytrocytech kruhové formy parazita, které obsahují dvě chromatinové tečky. Infikovaný erytrocyt může obsahovat i více kruhových forem (Pecka, 2006).

2.3.2 Změny v krevním obraze a morfologii erytrocytů u infekce prvokem *Plasmodium vivax*

Z důvodu napadání mladších forem erytrocytů dochází po hemolýze k stimulaci tvorby retikulocytů. Erytrocyty mají větší objem, dojde ke zvýšení hodnoty MCV a může být přítomna červená granulace, tzv. *Schüffnerovo tečkování* (Murray, 1990). Infikované erytrocyty mohou obsahovat hemozoin, který je patrný ve formě krystalů uvnitř erytrocytů (Pecka, 2006).

2.3.3 Změny v krevním obraze a morfologii erytrocytů u infekce prvokem *Plasmodium ovale* a *Plasmodium malariae*

Plasmodium ovale stejně jako *P. vivax* napadá mladší formy erytrocytů. Infikovaný erytrocyt je větší a může mít oválný tvar a nepravidelnou konturu cytoplazmy (Murray, 1990). Může se vyskytovat *Schüffnerovo tečkování*, ale barva granul je do růžova, oproti červené barvě u *P. vivax*. *Plasmodium malariae* napadá pouze mladé erytrocyty s pevnou buněčnou membránou. Z důvodu pevnosti membrány erytrocytu nedochází ke změně velikosti ani tvaru buňky, ale dochází

k přizpůsobení parazita, plasmodia mají tyčkovitý tvar. Infikovaný erytrocyt může obsahovat načervenalá granula, tzv. *Ziemannova granulace* (Murray, 1990).

3 HEMATOLOGICKÁ LABORATOŘ VE FAKULTNÍ NEMOCNICI V MOTOLE

Oddělení klinické hematologie (OKH) je součástí komplementu ve Fakultní nemocnici v Motole (FN Motol). Patří mezi „společné vyšetřovací a léčebné složky“ (SVLS). Má dvě části: laboratorní a klinickou. Laboratoř provádí rutinní a speciální hematologická vyšetření (cca 70 metod) pro fakultní nemocnici, konziliárně i s nadregionální působností. Morfologická laboratoř je referenčním pracovištěm pro všechny hematologické malignity dětského věku v ČR.

V roce 2019 provedla laboratoř 913 002 výkonů, v roce 2020 to bylo 862 732 výkonů. Provoz laboratoře je zajišťován v nepřetržitém režimu po dobu 24 hodin. Laboratoř je rozdělena do následujících úseků: příjem materiálu, úsek analyzátorů, úsek hemokoagulační, úsek rutinní a speciální morfologie a úsek cytochemie.

3.1 Přístrojové vybavení hematologické laboratoře

Vyšetření krevního obrazu, diferenciálního rozpočtu leukocytů a retikulocytů probíhá na hematologických analyzátoch XN 3000 (Obr. 1) a XN 1000 od firmy Sysmex (Japonsko). Z kapacitních důvodů je během denního provozu na většinu vzorků využíván analyzátor XN 3000. V době pohotovostního provozu je na vyšetření krevních obrazů využíván analyzátor XN 1000. Laboratoř disponuje starším modelem Sysmex XE-5000, který slouží jako záloha při poruše hlavních analyzátorů.

V rámci rutinní morfologie laboratoř využívá analyzátory pro digitální morfologii DM96 (Obr. 2) a DI firmy Sysmex.

Hemokoagulační vyšetření jsou prováděna na analyzátoch ACL TOP 750 CTS a ACL TOP 700 CTS (Obr. 3) firmy Werfen (Španělsko) založených na fotometrickém principu detekce vzniku koagula a STAR Evolution firmy Stago (Francie) založeného na kombinaci elektromechanického a fotometrického principu detekce vzniku koagula. Funkce trombocytů je vyšetřována analyzátoem Siemens, innovance PFA-200 (Německo) a agregometru TA-4V (Francie).

3.1.1 Hematologické analyzátoři a schopnost detekce plasmodií

Hematologické analyzátoři firmy Sysmex jsou schopné detekovat přítomnost čtyř druhů plasmodií v periferní krvi pacienta. Jedná se o *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* a *P. malariae* (Dubreuil, 2014). Detekční postup je založen na dvou metodách měření. První metodou je „Retikulocytární metoda“ (tzv. RET postup), druhá metoda je založena na optickém měření diferenciálního rozpočtu leukocytů (tzv. WDF metoda). Obě metody pracují na principu fluorescenční analýzy. Při měření vzorku jsou použity specifické fluorescenční markery sloužící k označení nukleových kyselin. Detekovaný fluorescenční signál je přímo úměrný množství nukleových kyselin v buňce (Sysmex, 2015). Analyzátoři třídy XN-30 jsou schopny nejen detekovat přítomnost plasmodií v erytrocytech pacienta, ale za použití modifikovaných reagensů (LyserCell M a Fluorecell M) i provést kvantifikaci infikovaných erytrocytů (MI-RBC) (Pillay, 2019).

3.1.1.1 RET postup pro detekci plasmodií

Obsah nukleových kyselin v retikulocytech je využíván pro jejich diferenciaci na zralé erytrocyty a retikulocyty. Tento princip je použit při hodnocení počtu erytrocytů a retikulocytů u pacienta analyzátořem. Nukleové kyseliny jsou značeny specifickými fluorescenčními markery. Hodnota fluorescenčního signálu je přímo úměrná množství nukleových kyselin a tím i stáří buňky. Zralé erytrocyty mají nízkou hodnotu fluorescenčního signálu, zatímco retikulocyty vysokou. Retikulocyty můžeme dále na základě hodnoty fluorescenčního signálu dělit na nezralé retikulocyty (HFR), středně zralé retikulocyty (MFR) a zralé retikulocyty (LFR) (Sysmex, 2015). Plasmodia obsahují nukleové kyseliny, na které se váží fluorescenční markery a tím vyvolávají detekovatelnou fluorescenční odezvu. Hodnocení fluorescence je převedeno do grafického znázornění ve formě scattergramů, které obsluhující laborant vyhodnocuje. V případě pozitivní detekce analyzátoř upozorní na přítomnost infikovaných erytrocytů plasmodii pomocí upozornění „iRBC“. Z důvodu různých biologických vlastností *P. falciparum*, *P. vivax* a *P. ovale* je jejich grafické znázornění na scettgramech odlišené. *P. vivax* a *P. ovale* napadají pouze mladé erytrocyty, proto je množství infikovaných erytrocytů nižší nežli u *P. falciparum*. Z toho důvodu nelze

provést detekci *P. vivax* a *P. ovale* pouze metodou RET analýzy, ale potřeba doplnit i o WDF analýzu. Oproti tomu *P. falciparum* infikuje všechna stádia zralosti erytrocytů, proto je jeho koncentrace v krvi vyšší, též se mohou vyskytovat i kruhové formy s chromatinovými tečkami, což vede ke zvýšení množství detekovatelných nukleových kyselin (Sysmex, 2015).

3.1.1.2 WDF metoda pro detekci plasmodií

Měřicí kanál WDF je určen k rozlišování jednotlivých populací leukocytů na základě obsahu nukleové kyseliny a vnitřní struktury (Sysmex, 2015). Pomocí této metody je možné analyzovat počty lymfocytů, monocytů, eozinofilů, bazofilů, neutrofilů a nezralých granulocytů. Výstupem WDF kanálu jsou jak počty zmíněných druhů leukocytů, tak scattegramy, na kterých lze poznat přítomnost infikovaných erytrocytů, především *P. vivax*, *P. ovale* a *P. malariae* (Dubreuil, 2014). I přes obsah parazitární nukleové kyseliny budou infikované erytrocyty vykazovat vždy menší fluorescenční signál než jakýkoliv leukocyt (obsah nukleové kyseliny u plasmodia činí 1/100 obsahu nukleové kyseliny u leukocytu) (Pillay, 2019). Vzhledem k této vlastnosti je možné pozorovat přítomnost infikovaných erytrocytů ve spodní tmavomodré oblasti pod lymfocyty (Sysmex, 2015) a zároveň i kvantifikovat počet infikovaných erytrocytů plazmodii (Pillay, 2019). V případě, že jsou ve vzorku přítomny schizonty a gametocyty, které nebyly zničeny lyzačním roztokem, dochází ke zvýšení signálů vedlejšího rozptylu světla a vedlejšího fluorescenčního světla a na scattegramu je možné sledovat plasmodia nejčastěji v oblasti neutrofilů anebo eozinofilů (Sysmex, 2015). V takovém případě se v měřeném vzorku nachází pseudo-eozinofilie, analyzátor na tuto situaci reaguje generováním chybné informace (flag message): podezřelý počet eozinofilů či WBC abnormal scattergram (Huh, 2008), (Dumas, 2018). Méně časté nálezy, které lze pozorovat na scattegramech jsou: dvě populace neutrofilů, dvě populace lymfocytů, chybné vyhodnocení monocytů a lymfocytů, přítomnost buněčného odpadu (Sharma, 2013).

Z důvodu zpřesnění diagnostiky malárie pomocí analyzátorového měření firma Sysmex vyvíjí hematologický analyzátor XN-10 (M), který je modifikován na záchyt plasmodií v krvi pacienta. Výsledky získané z experimentálního analyzátoru XN-10 (M) poskytovaly softwarové algoritmy pro nový analyzátor XN-30 (Pillay, 2019).

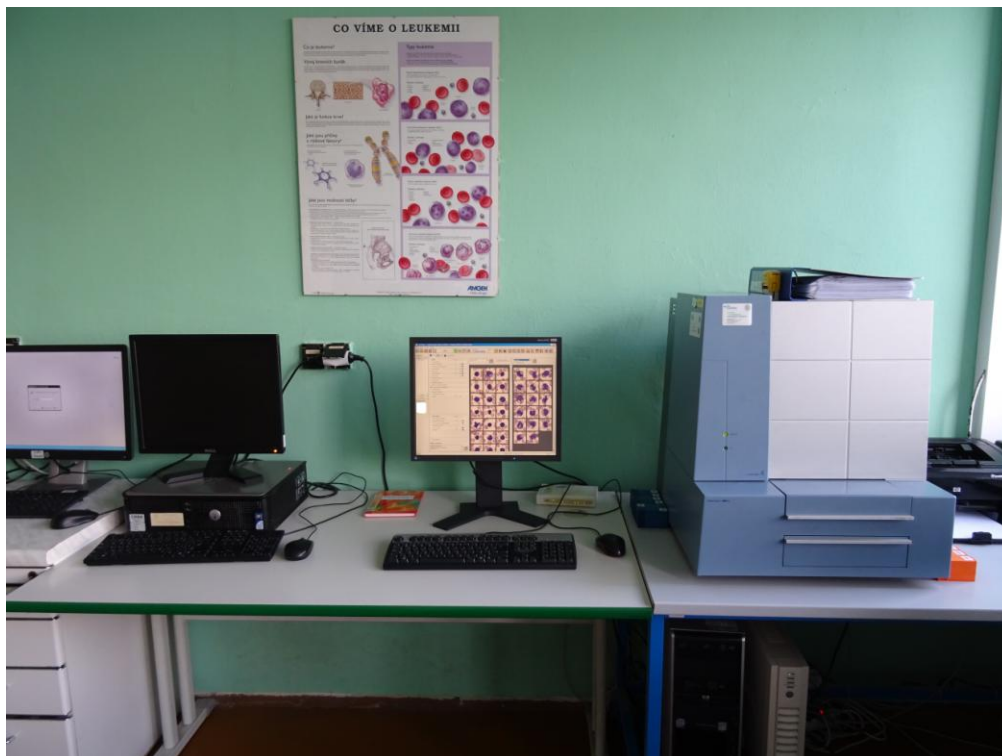
Modifikované analyzátoři XN-31 jsou schopné identifikovat určitá vývojová stádia plasmodií. Princip identifikace je založen na zvyšujícím se obsahu nukleových kyselin u jednotlivých vývojových stádií plasmodia (Pillay, 2019). Rozlišením mezi trofozoity a schizonty je méně jasné, jelikož se shodují jak velikostí, tak obsahem nukleových kyselin (Pillay, 2019).

Výhoda stanovení plasmodií pomocí analyzátoři Sysmex XN-31 spočívá v citlivosti detekce, kdy jsou analyzátoři schopné zachytit pozitivní výsledek při obsahu 20 plasmodií v μl krve. Pro srovnání, rutinní mikroskopie je schopna detekovat pozitivní výsledek od přítomnosti 100-500 plasmodií v μl krve, expert na mikroskopické hodnocení malárie dokáže detekovat malárii při přítomnosti 5-50 plasmodií v μl krve (Sysmex, 2019).

Všechny hematologické analyzátoři dostupné na trhu jsou schopné stanovit anomálie v rámci krevního obrazu. Limitací je, že již ne všechny disponují možností detekce změn nacházející se uvnitř erytrocytů. I přes neustálý pokrok v automatizaci laboratorních vyšetření existuje řada interferencí. V rámci analyzátoři Sysmex je využito specifických fluorescenčních markerů, které ale nejsou schopné rozlišit nukleové kyseliny retikulocytů/erytrocytů od parazitárních nukleových kyselin. Při výskytu zvýšeného množství nukleových kyselin v erytrocytech např. u Howel-Jollyho tělísek (talasemie, hemoglobinopatie, aj.) dochází k falešně pozitivní detekci (Sysmex, 2015). Z tohoto důvodu zůstává provedení tenkého a tlustého nátěru zlatým standardem v diagnostice malárie v ČR. Výhodou metod detekce plasmodií za pomoci hematologického analyzátoři v našich podmínkách je, že v případě náhodného zachycení malárie u pacienta, u kterého nebylo indikováno vyšetření na malárii. Za rok 2019 se povedlo na oddělení klinické hematologie ve FN Motol zachytit takto dva pacienty z oddělení urgentního příjmu pro dospělé a jednoho pacienta z urgentního příjmu pro děti a dorost. Zaslouhou primárního zachytu je pacientovi stanovena správná diagnóza a podána příslušná léčba.



Obr. 1 - Sysmex XN 3000. Foto Lukáš Kolařík



Obr. 2 - Sysmex DM 96. Foto Lukáš Kolařík



Obr. 3 - ACL TOP 700. Foto Lukáš Kolařík

3.2 Přístrojové vybavení pro hemokultivaci

Hemokultivace je na OKH zajištěna satelitním hemokultivátorem BD BACTEC™ FX40 (Obr. 4), jeho kapacita je 40 vzorků. Výhodou BD BACTEC™ FX 40 je modulární uspořádání, kdy je možné pro navýšení kapacity spojit až 4 jednotky tohoto zařízení v jeden systém a tím rozšířit kapacitu na 160 vzorků.



Obr. 4 - BD BACTEC™ FX40 (USA) na OKH. Foto Lukáš Kolařík

3.2.1 Zásady odběru pro hematologické vyšetření

Proces správného odběru vzorku pro hematologické vyšetření začíná již přípravou pacienta. Pro hematologická vyšetření není nutné, aby byl pacient nalačno. V rámci dietního omezení je vhodné, aby se vyvaroval tučným jídlům z důvodu možné chylozity krve ovlivňující hodnoty hemoglobinu a chylozity plazmy, ovlivňující hemokoagulační vyšetření. Je-li to možné (stabilní hospitalizovaní pacienti), odběr se doporučuje provádět mezi 7. až 8. hodinou ranní z důvodu fyziologického kolísání parametrů během dne. Před odběrem je nutné provést kontrolu jména pacienta na žádance a štítku na odběrové zkumavce. Vlastní odběr probíhá zatažením paže turniketem (ne delší než 1 minutu a bez „pumpování“ paže) a poté se provede dezinfekce místa vpichu dezinfekčním přípravkem Softasept N (Braun). Po zaschnutí dezinfekčního přípravku je proveden odběr vaukovým uzavřeným odběrovým systémem. Na vyšetření krevního obrazu, diferenciálního rozpočtu leukocytů a retikulocytů se provádí odběr do zkumavky obsahující antikoagulační činidlo K_3EDTA , pro koagulační vyšetření se používají zkumavky obsahující citrát sodný.

Vzniku sraženin v odebrané krvi se zamezí kýváním zkumavek. Pokud odebíráme více zkumavek dodržujeme vždy zásadu, že zkumavka odebíraná na hemokoagulační vyšetření je vždy druhá, z důvodu vyloučení příměsí tkáňového faktoru (Kopáč, 2004).

Vždy je nutné dbát na správné provedení odběru biologického materiálu, stejně jako na jeho analýzu, jelikož laboratorní výsledky poskytují 60–80 % informací o stavu pacienta a 80 % chyb vzniká v rámci preanalytické fáze laboratorního vyšetření (Nikolac, 2013). Metodické pokyny pro provedení odběru biologického materiálu k laboratornímu vyšetření vycházejí z dokumentu Clinical and Laboratory Standards Institute (Ústav pro klinické a laboratorní standardy) - CLSI H3-A6 a CLSI GP41-A6.

3.2.2 Zásady odběru pro hemokultivaci

Oddělení klinické hematologie ve FN Motol zajišťuje příjem a začátek kultivace hemokultur. Příjem hemokultur je prováděn vždy po pracovní době Ústavu lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol. Pro účely hemokultivace je na OKH umístěn satelitní hemokultivátor BD BACTECTM FX40 (USA).

Odběr krve na hemokultivaci je doporučován při podezření na přítomnost mikroorganismů v krevním řečišti. Provedení odběru není vázáno na vzestup teploty nebo teplotní špičku. Je vhodné provést odběr před podáním antibiotické léčby. Minimální doporučené množství krve pro hemokultivační vyšetření je 40 ml, za vhodné je považováno 60 ml krve. Jedna lahvička na hemokultivaci pojme 10 ml krve, proto je nezbytné odebrat více lahviček (4 na 40 ml krve, 6 na 60 ml krve). Anaerobní a aerobní lahvičky by měli být odebírány v poměru 1:1, v případě podezření na mykotickou infekci je nutno přidat ještě lahvičku na kultivační průkaz původce mykózy. Je doporučován jednorázový odběr (vyjma podezření na infekční endokarditidu) z důvodu zvyšování rizika kontaminace. Důležitým aspektem je pořadí odběru. Jelikož je na začátku v odběrovém setu přítomen vzduch začínáme odběrem aerobních lahviček a následně anaerobních lahviček. Vzorky určené ke kultivaci jsou na OKH dopravovány pomocí potrubní pošty, eventuálně žurnální službou (Laboratorní příručka Ústavu lékařské mikrobiologie FN Motol, 2007).

Při příjmu materiálu je provedena identifikace materiálu se žádankou s následným zapsáním do Laboratorního informačního systému (LIS). Poté je odběrová souprava vložena do BD BACTECTM, kde probíhá kultivace. V případě

pozitivního záchytu je obsluha upozorněna barevným (červená barva u příslušné lahvičky) a zvukovým upozorněním. Pro rychlejší zpracování je pozitivní vzorek označen přímo na lahvičku. Následující den jsou vzorky vyzvednuty žurnální službou a urychleně dopraveny k dalšímu zpracování na Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol (www.bd.com, cit. 8. 8. 2020), (Laboratorní příručka Ústavu lékařské mikrobiologie FN Motol, 2007).

Nejčastěji jsou u dospělého pacienta odebírány dvě anaerobní, dvě aerobní a dvě mykotické lahvičky. Pro pediatrické pacienty jsou určeny pediatrické lahvičky. Celkem existuje 16 druhů hemokultur s různými kultivačními médii. Anaerobní kultivace trvá 10 dní, aerobní kultivace trvá 5 dní, mykotická a pediatrická kultivace trvá až 14 dní (www.bd.com, cit. 8. 8. 2020), (Laboratorní příručka Ústavu lékařské mikrobiologie FN Motol, 2007).

Výhodou spolupráce hematologické laboratoře a Ústavu lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol je dřívější zahájení kultivace vedoucí k rychlejší identifikaci bakteriálního či mykotického agens a zahájením příslušné léčby a minimalizace chyb při nesprávném skladování odebraných hemokultur.

3.2.3 Sumarizace přijatých hemokultur na OKH za období 2018-2020

Celkový počet přijatých hemokultur na OKH za období 2018-2020 a jejich výsledek kultivace je uveden v tabulce 1-3. Příjem hemokultur na OKH se datuje od července roku 2018.

Tab. 1: Přehled přijatých hemokultur na OKH v roce 2018

Výsledek kultivace na OKH				
Rok 2018				
Měsíc	Pozitivní	Negativní	Mimo	Počet celkem
Červenec	8	286	0	294
Srpen	15	307	0	322
Září	26	495	0	521
Říjen	31	531	0	562
Listopad	34	727	0	761
Prosinec	46	785	0	831
Celkem	160	3131	0	3291

Tab. 2: Přehled přijatých hemokultur na OKH v roce 2019

Výsledek kultivace na OKH				
Rok 2019				
Měsíc	Pozitivní	Negativní	Mimo	Počet celkem
Leden	40	778	0	818
Únor	37	822	0	859
Březen	37	752	0	789
Duben	26	726	0	752
Květen	39	656	0	695
Červen	38	694	0	732
Červenec	27	789	0	816
Srpen	40	662	0	702
Září	47	794	0	841
Říjen	35	615	0	650
Listopad	52	602	30	684
Prosinec	22	610	93	725
Celkem	440	8500	123	9063

Tab. 3: Přehled přijatých hemokultur na OKH v roce 2020

Výsledek kultivace na OKH				
Rok 2020				
Měsíc	Pozitivní	Negativní	Mimo	Počet celkem
Leden	36	600	22	658
Únor	25	682	70	777
Březen	29	585	9	623
Duben	42	524	7	573
Květen	36	548	6	590
Červen	45	683	35	763
Červenec	44	596	17	657
Srpen	29	570	24	623
Září	35	662	25	722
Říjen	36	722	9	767
Listopad	25	674	78	777
Prosinec	33	793	53	879
Celkem	415	7639	355	8409

Tab. 4: Výsledky hemokultivace na OKH v období 2018-2020

Výsledky hemokultivace na OKH	
Období 2018-2020	
Výsledek kultivace	Počet celkem
Pozitivní	1015
Negativní	19270
Mimo	478
Celkem	20763

Hemokultury s označením „MIMO“ byly přijaty na OKH po naplnění kapacity BD BACTEC™. Z tohoto důvodu nemohly být dány ke kultivaci na OKH. Kultivace těchto hemokultur začínala až na Ústavu lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol.

Tab. 5: Přehled pozitivních výsledků kultivace na OKH v období 2018-2020

Pozitivní kultivace na OKH			
Období 2018–2020			
Rok	Celkem přijato	Pozitivní kultivace	
		Absolutní čísla	Procenta
2018	3291	160	4,9
2019	9063	440	4,9
2020	8409	415	4,9

Výsledky z tabulky č. 4 nám ukazují zastoupení pozitivních hemokultur zjištěných během kultivace na OKH. Hemokultury byly následně předány na Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FN Motol k dalšímu zpracování. U pozitivních hemokultur byly provedeny další kroky vedoucí k identifikaci infekčního agens. Negativní hemokultury byly postoupeny k další hemokultivaci dle typu odběrového setu. Ve sledovaném období červenec 2018 až prosinec 2020 bylo v každém roce detekováno cca 5 % pozitivních hemokultur.

3.3 Zásady správné laboratorní praxe

Vyhláška č. 163/2012 Sb., o zásadách správné laboratorní praxe zpracovává příslušné předpisy Evropské unie (EU), zároveň navazuje na přímo použitelné předpisy EU a upravuje zásady správné laboratorní praxe (vyhláška č. 163/2012 Sb.). V „Příloze č. 2 k vyhlášce č. 163/2012 Sb.“ pod bodem “3.10. Standardní operační postupy“ (SOP) je uvedeno, které informace musí být zpracovány v tomto dokumentu. Jedná se o soubory pokynů, které mají pomoci zaměstnancům ve vykonávání rutinních operací v laboratoři. Mezi hlavní úkoly SOP patří standardizace práce v laboratoři a její zefektivnění. Všechna pracoviště laboratoře jsou povinna poskytnout zaměstnancům aktuální verzi SOP (vyhláška č. 163/2012 Sb.).

Na OKH ve FN Motol jsou SOP rozděleny na *SOP technické* a *SOP metodické*. *Technické* i *metodické SOP* mají vazbu na akreditační standardy ČSN ISO 15189:2013. *Technické SOP* upravují oblast technického vybavení (analyzátory a další přístrojové vybavení) laboratoře. Poskytují informace o práci na jednotlivých analyzátořech, včetně jejich údržby a pravidelného servisu. *Metodické SOP* tvoří soubor postupů k provedení jednotlivých vyšetření, včetně možných interferencí a provedení interní kontroly kvality. Vzorová *metodická SOP* je součástí příloh.

3.4 Jednotlivé úseky hematologické laboratoře

Oddělení klinické hematologie je součástí komplementu FN Motol. Má dvě části: laboratorní a klinickou. Laboratoř provádí rutinní a speciální hematologická vyšetření pro FN, konziliárně i s nadregionální působností. Morfologická laboratoř je referenčním pracovištěm pro všechny hematologické malignity dětského věku v ČR. Klinická část je rozdělená na ambulanci a stacionář. V roce 2013 získalo pracoviště statut hematologického oddělení s rozšířenou péčí.

3.4.1 Příjem materiálu

Pracovní postupy příjmu materiálu na OKH ve FN Motol jsou řízeny pomocí interní směrnice „*Příjem biologického materiálu*“ s vazbou na akreditační standardy ČSN ISO 15189:2013. Hlavním obsahem jsou pokyny upravující příjem biologického materiálu na OKH a postupy při řešení neshodné práce. Nezbytnou součástí jsou související směrnice FN Motol např. laboratorní příručka a provozní řád OKH, směrnice o nakládání s nebezpečnými chemickými látkami ve FN Motol, směrnice o nakládání s dezinfekčními přípravky a hořlavinami ve FN Motol atd. (směrnice lab. ISL_1OKH_07/2011-6).

Pracovník zajišťuje příjem všech vzorků doručených do hematologické laboratoře. Vzorky jsou doručovány nejčastěji potrubní poštou, dále osobním doručením pacientem či žurnální službou. Probíhá zde třídění vzorků podle žádaného vyšetření s následnou evidencí do LIS. Příjem materiálu je prvním stanovištěm, kde probíhá kontrola dodržení preanalytických podmínek vyšetření, dostatečné množství materiálu, přítomnost sraženiny ve vzorku atd. Denně je do laboratoře doručeno přibližně 1500 vzorků.

3.4.2 Krevní obrazy a diferenciální rozpočet

Technické SOP na úseku laboratoře krevních obrazů upravují oblast práce na hematologických analyzátoch určených pro stanovení hodnot krevního obrazu a analýzy tělních tekutin. Také se zde připravují nátěry periferní krve pro následné mikroskopické vyšetření. *Metodické SOP* jsou děleny dle „vyšetřovacích profilů“ (krevní obraz, diferenciální rozpočet leukocytů, retikulocyty a tělní tekutiny) zahrnující jednotlivá dílčí stanovení vyšetřovacího profilu.

Prvním krokem při vyšetření krevního obrazu je kontrola kompatibility (identifikace) jména pacienta na odběrové soupravě a jména pacienta na žádance. Následně probíhá druhá kontrola preanalytických podmínek a po těchto dvou kontrolách je přistoupeno k samotnému vyšetření vzorku. Analýza probíhá na plně automatizovaných analyzátoch, kdy je vzorek obsluhou vložen do pořadového stojánku na zkumavky. Z laboratorního informačního systému si analyzátor stahuje

požadavky na vyšetření a po dokončení analýzy je výsledek odeslán do LIS ke kontrole a následnému uvolnění do nemocničního informačního systému.

3.4.3 Hodnocení morfologie buněk

Technické SOP na úseku morfologie upravují práci na analyzátoch pro digitální morfologii, na jednotlivých mikroskopech a hematologických sumátorech. *Metodické SOP* zahrnují činnosti: přípravu nátěru periferní krve, mikroskopické hodnocení trombocytů, erytrocytů a mikroskopického stanovení počtu retikulocytů, schistocytů a leukocytů. Součástí je i vyšetření na malárii (viz kap. 3.1.1).

Úsek *rutinní morfologie* zajišťuje mikroskopické hodnocení nátěrů periferní krve. Nejčastěji se využívá digitální morfologie, méně často odečet ve světelném mikroskopu. Hodnocení nátěrů kostní dřeně, mozkomíšního moku (likvoru) a dalších biologických materiálů (ascity, punktáty, broncho-alveolární laváže atd.) se provádí na úseku *speciální morfologie*. Morfologická laboratoř je akreditované referenční pracoviště pro dětská hemato-onkologická onemocnění v rámci ČR.

Laboratoř cytochemická – provádí cytochemická barvení. V buňce se provádí detekce určitých struktur nebo enzymů např. polysacharidy, železo či enzymy (myeloperoxidáza, kyselá fosfatáza atd.). Přítomnost těchto složek významně pomáhá v určení příslušnosti buněk k jednotlivým vývojovým liniím a ke stanovení diagnózy.

3.4.4 Hemokoagulační vyšetření

Technické SOP pro hemokoagulační vyšetření řeší pracovní postupy na hemokoagulačních analyzátoch a analyzátoch pro testování funkce trombocytů včetně přídatných zařízení (centrifugy). *Metodické SOP* se zaměřují na jednotlivé koagulační vyšetřovací testy.

Úsek koagulační laboratoře provádí vyšetření celého systému hemokoagulace, od primární hemostázy (kontrola funkce trombocytů – agregace trombocytů), po vlastní systém hemokoagulace a včetně systému inhibice koagulace. Provádí vyšetření širokého spektra rutinních koagulačních testů a také metody speciální (vyšetření koagulačních faktorů, lupus antikoagulans atd.). Pokud je pacient léčen

antikoaglačními preparáty, např. Pradaxa, Xarelto, Apixaban atd., tak se provádí stanovení jejich koncentrace v plazmě pacienta. Koagulační laboratoř působí jako referenční laboratoř pro poruchy hemostázy (koagulace) u dětí v rámci ČR.

4 BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ

4.1 C – reaktivní protein

C-reaktivní protein (CRP) je protein, skládající se z pěti lobulárních polypeptidových jednotek. Každá polypeptidová jednotka obsahuje dva atomy Ca^{2+} . Molekulová hmotnost je 120 kDa. Jedná se o bílkovinu akutní fáze, podporuje fagocytózu bakterií, parazitů a imunokomplexů, působí jako opsonizační faktor. Pomocí metabolismu prostaglandinů může ovlivňovat funkci trombocytů. Za patologických stavů např. u infekce vyvolané cytomegalovirem může docházet vlivem vysoké hladiny CRP k poškození organismu. Může docházet k vytvoření komplexu C-reaktivního proteinu a lipoproteinu o nízké hustotě (CRP-LDL) nebo C-reaktivního proteinu a lipoproteinem s velmi nízkou hustotou (CRP-VLDL) a tím k urychlení rozvoje aterosklerózy (Kopáč, 2004). U Alzheimerovy choroby dochází k jeho nadměrné tvorbě v pyramidových buňkách (mozková kůra), které jsou jím následně poškozovány. K syntéze dochází v játrech a je podporována interleukinem 6 (IL-6). Vyšetření CRP je využíváno v medicíně k odlišení bakteriální infekce od infekcí vyvolané virem. Při bakteriální infekci dosahuje hodnota CRP 100-300 mg/l i více. U virové infekce dochází ke zvýšení hodnoty do 50 mg/l (Kopáč, 2004). Ke zvýšení hladiny CRP dochází v rozmezí 6–9 hodin a svého maxima dosahuje za 1-3 dny (Racek, 1999). CRP lze využít i při predikci ischemické choroby srdeční, při použití postupu vysoce senzitivního CRP testu (CRP-hs). Hladinu CRP můžeme stanovit v krvi – sérum/plazma či v mozkomíšním moku. Stabilita v séru je deklarovaná při pokojové teplotě maximálně 4 hodiny, 1 týden při teplotě 4 °C.

Hodnoty CRP mohou být sníženy: abstinencí alkoholu po dobu delší než 3 týdny, mírnou konzumací alkoholu, léky – aspirin, statiny, glukokortikoidy, při léčbě Wobenzymem či po porodu císařským řezem (Kopáč, 2004).

Hodnoty CRP může zvyšovat: tělesné cvičení (běh nad 20 km, normalizace hladiny do 6 dní), kouření – u mužů až jedenáctinásobné zvýšení, u žen až šestinásobné zvýšení, obezita, léčba IL-2 a IL-6 či tumor necrosis factor- α

(TNF- α), těhotenství, perorální antikoncepce, estrogeny či vyšší nadmořská výška, hodnota triacylglycerolů do 5,65 mmol/l (Kopáč, 2004).

Fyziologické rozmezí u novorozenců do 3 dnů věku se udává do 10 mg/l, pro ostatní jednice platí hodnota v rozmezí 0-5 mg/l.

4.2 Stanovení C-reaktivního proteinu v séru/plazmě

Stanovení CRP ve FN Motol probíhá nejčastěji analyzátozem SIEMENS ADVIA 1800 (Německo) na Ústavu lékařské chemie a klinické biochemie 2. LF UK a FN Motol. Pracovní kapacita analyzátozu je až 1800 testů za hodinu, či 200 základních metabolických panelů za hodinu. Analyzátozu disponuje kontrolou integrity vzorku, rychlou detekcí hladiny a sraženin, a je schopný analyzovat mikroobjemové vzorky (www.diagnostika.seimens.cz, cit. 21. 9. 2020).

II. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5 SPOLUPRÁCE HEMATOLOGICKÉ LABORATOŘE S URGENTNÍM PŘÍJMEM

Po přijetí vzorku krve (jiného biologického materiálu) na „příjmu materiálu“ je provedena kontrola dodržení podmínek preanalytické fáze laboratorního vyšetření a vzorek je následně zapsán do LIS. Poté je vzorek předán na příslušný úsek hematologické laboratoře dle druhu požadovaného vyšetření. Před samotou analytickou fází opět proběhne kontrola dodržení preanalytické fáze laboratorního vyšetření. Po provedení požadovaného vyšetření je výsledek kontrolován pracovníkem laboratoře ve vztahu na pohlaví, věk, diagnózu a předešlé výsledky pacienta. Pokud jsou získané hodnoty v souladu s tabelárními hodnotami, výsledek je propuštěn z LIS do nemocničního informačního systému (NIS). V případě pochybnosti o správnosti výsledku, provede pracovník laboratoře opakovanou analýzu vzorku (zaneseno do výsledku – opakovaně zpracováno), eventuálně výsledek telefonicky konzultuje s ošetřujícím lékařem nebo se zdravotní sestrou, která byla odpovědná za provedení odběru. Výsledek je po propuštění do NIS kontrolován druhým zdravotním laborantem a následně je provedena kontrola odborným pracovníkem v laboratorních metodách nebo lékařem laboratoře.

V případě, že výsledek obsahoval hodnoty indikující mikroskopické vyšetření (trombocyty pod $100 \times 10^9/l$, leukocyty nad $30 \times 10^9/l$, nebo nevyhovující zastoupení jednotlivých populací leukocytů atd.) je vytvořen nátěr periferní krve, který je následně předán na úsek rutinní morfologie. Zde je provedeno mikroskopické vyhodnocení zahrnující identifikaci jednotlivých populací leukocytů a popsání jejich morfologie. Současně je vyhodnocena morfologie erytrocytů a trombocytů.

Pokud výsledek pacienta obsahuje atypickou hodnotu proti tabelárním údajům stanovených ČHS JEP, pak je postup následující. Je provedeno telefonické nahlášení výsledku na oddělení, které vyšetření požadovalo. Současně je proveden záznam o hlášení do programu pro elektronické sdílení dokumentů a hlášení výsledků (LotusLab). Záznam v programu LotusLab obsahuje tyto informace: přesnou

identifikaci pacienta, požadující oddělení, důvod telefonického hlášení, jméno pracovníka laboratoře, který provedl hlášení a jméno osoby, která informaci přijala a v poslední části dotazníku je uvedena atypická hodnota. Tabulka 6 uvádí záznam v programu LotusLab.

Tab. 6: Hlášení atypických hodnot v programu LotusLab

Hlášení výsledků a chybných odběrů	
Úsek:	Analyzátory krevních obrazů
Číslo žádanky:	Důvod:
418	Neočekávaná hodnota
Oddělení:	EXPA-Odd.urg. příjmu dět.amb.cent.
Jméno pacienta:	Rok narození:
	2017
Datum+čas:	Hlásil:
31.07.2020 10:37	DiS. Lukáš Kolařík
Sestra/Lékař:	Tel.číslo:
MUDr.	3661
Poznámka:	Přítomnost virocytů
Zapsal:	Datum a čas:
DiS. Lukáš Kolařík	31.07.2020 10:37

Při spolupráci s urgentním příjmem pro děti a dorost a urgentním příjmem pro dospělé jsou do telefonického hlášení zahrnuty i morfologické nálezy směřující k identifikaci infekčního agens. Nejčastěji se jedná o nález „virocytů“ značící možné virové agens jako původce klinických příznaků (EBV, Morbillivirus, virus horečky dengue), méně často „lymfocyty s hlubokými zářezy v jádře“, které lze detekovat v případě pertuse. Pokud jsou prokázány „virocyty“, je důležité myslet na provedení virologického vyšetření vedoucího k identifikaci vyvolávajícího agens.

V programu LotusLab ve sledovaném období (30. 03. 2019 – 20. 11. 2020) bylo na OKH FN Motol zachyceno celkem 100 pacientů s přítomností virocytů. Následné virologické vyšetření nebylo provedeno u 31 z nich (tj. 31 %). V souboru zůstalo 69 pacientů. Nejčastěji prokázaným infekčním agens u této skupiny pacientů byl původce infekční mononukleózy – EBV. Celkem se vyskytoval u 55 pacientů, tj. v 80 % případů. Druhým nejčastěji prokázaným agens byl CMV, byl detekován u 5 pacientů, tj. v 7 % případů. Lidský herpesvirus 6 byl prokázán u 3 pacientů, zbývající tři viroví původci se vyskytli u tří různých pacientů. Ve dvou případech byl prokázán bakteriální původce a u jednoho pacienta střevní parazit. Průměrný věk pacientů byl 17 let se směrodatnou odchylkou 13,8 let. Mikrobiologické vyšetření bylo provedeno na Ústavu lékařské mikrobiologie 2. LF UK FN Motol.

6 NOVÝ INDIKÁTOR V DIAGNOSTICE INFEKČNÍ NEMOCI

6.1 Intensive Care Infection Score parameter

Sledovaný parametr „Intensive Care Infection Score parameter“ (ICIS) odráží sílu imunitní reakce na bakteriální infekci a pomáhá v rozlišení mezi infekčním a neinfekčním stavem (Svobodová, 2019). Parametr ICIS není parametrem v pravém slova smyslu, ale představuje skóre. Jednotlivé hodnoty pěti parametrů: absolutní počet neutrofilních segmentů (sN#), stupeň aktivace neutrofilních segmentů (sNFL), absolutní počet nezralých neutrofilů (alG#), absolutní počet lymfocytů produkující protilátky (ASL#) a delta hemoglobin (dCHC) dají vznik konečné hodnotě parametru ICIS. Hodnota delta hemoglobin je rozdíl v koncentraci hemoglobinu v retikulocytech a erytrocytech (Geest, 2016). Každý dílčí parametr může nabývat hodnot 0 až 4, tedy rozmezí parametru ICIS se pohybuje od 0 do 20. Hodnota parametru ICIS pod 5 je považována za negativní výsledek, hodnota 5 za hraniční výsledek a hodnoty vyšší než 5 za pozitivní (Svobodová, 2019).

Absolutní počet neutrofilních segmentů (sN#) – zvýšený počet neutrofilních segmentů je charakteristický indikátor bakteriální infekce a zánětu obecně. Jednotky parametru sN# jsou cells/ μ l (Nierhaus, 2012).

Aktivace neutrofilních segmentů (sNFL) – vyjadřuje metabolickou aktivaci neutrofilních segmentů. Ta se zvyšuje při aktivaci časné vrozené imunitní odpovědi. První příznaky metabolické aktivity neutrofilních segmentů jsou viditelné již v prvních minutách procesu. Jednotkou parametru sNFL je intezita fluorescence v kanále (FI-ch) (Nierhaus, 2012).

Absolutní počet nezralých neutrofilů (alG#) – vyjadřuje potřebu organismu po neutrofilních granulocytech v periferní krvi. Při jejich zvýšeném vyplavování z kostní dřeně dochází k vyplavení méně zralých forem (neutrofilní metamyelocyty, neutrofilní myelocyty a promyelocyty). Tento proces indikuje závažnost časné vrozené imunitní odpovědi. Jednotky parametru alG# jsou cells/ μ l (Nierhaus, 2012).

Absolutní počet lymfocytů produkující protilátky (ASL#) – k produkci protilátek dochází v průběhu několika hodin patologického procesu. Protilátky produkují aktivované B lymfocyty. Jednotky parametru ASL# jsou cells/ μ l (Nierhaus, 2012).

Delta hemoglobin (dCHC) – vlivem spotřeby železa bakteriálními agens dochází k jeho nedostatku pro hematopoézu, což vyvolá sníženou syntézu hemoglobinu, kterou lze následně pozorovat v nižším obsahu hemoglobinu v retikulocytech. Jednotky parametru dCHC jsou pg (Nierhaus, 2012).

Parametr ICIS nelze použít u pacientů mladších 18 let z důvodu jiných referenčních rozmezí, dále u pacientů s hematologickým onemocněním, onkologickým onemocněním, po transplantaci či u pacientů léčených imunomodulační léčbou (Svobodová, 2019).

Mezi hlavní přednosti parametru ICIS patří jednoduchá metodika vyšetření. Parametr ICIS je měřen v rámci standardních hematologických vyšetření (krevní obraz, diferenciální rozpočet leukocytů a retikulocyty), která jsou obvykle součástí vyšetření u pacientů přijatých na urgentní příjem. Mezi další výhody patří časová dostupnost výsledku, který je znám do 10-15 minut od doručení vzorku do hematologické laboratoře. Cena vyšetření ICIS + vyšetření krevního obrazu, diferenciálního rozpočtu leukocytů a retikulocytů je cca 163. - Kč. Cena vyšetření hladiny CRP činí 150. - Kč.

Nevýhodou parametru je však jeho omezení pro použití. Při jeho indikaci je zapotřebí znát podrobně pacientovu anamnézu, zda se neléčí na hematologické nebo onkologické onemocnění, nebo zda neužívá imunomodulační léčbu (např. pacienti po transplantaci).

6.2 Vlastní šetření parametru ICIS

6.2.1 Metodika

6.2.1.1 Administrativní postupy

Ověřování validity parametru ICIS jako vhodného indikátoru k odlišení zánětlivé systémové reakce od nezápětlivé systémové reakce proběhlo na oddělení klinické hematologie ve FN Motol ve spolupráci s oddělením urgentního příjmu pro dospělé ve FN Motol. Před začátkem studie bylo nutné získat legislativní informace od pracovníka zmocněného pro obecné nařízení o ochraně osobních údajů (GDPR) a podat žádost na etickou komisi FN Motol (viz příloha č. 1 a 2).

Do studie byli zařazeni pacienti přijati k ošetření na urgentním příjmu pro dospělé v období od 3. 11. 2018 do 3. 6. 2019. Do souboru pacientů byly zařazeny osoby s hodnotou ICIS 4 a více a minimální věk činil 18 let. Celkový počet tvořilo 833 pacientů. Ze souboru byli vyloučeni následující pacienti – onkologickým či hematologickým onemocněním, po prodělané transplantaci orgánů a pacienti, u kterých nebylo provedeno současné stanovení parametru ICIS a CRP. Absolutní počty celkově vybraných a vyřazených osob z důvodu nežádoucí diagnózy jsou uvedeny v tabulce 7.

Tab. 7: Absolutní počty celkově vybraných a vyřazených osob

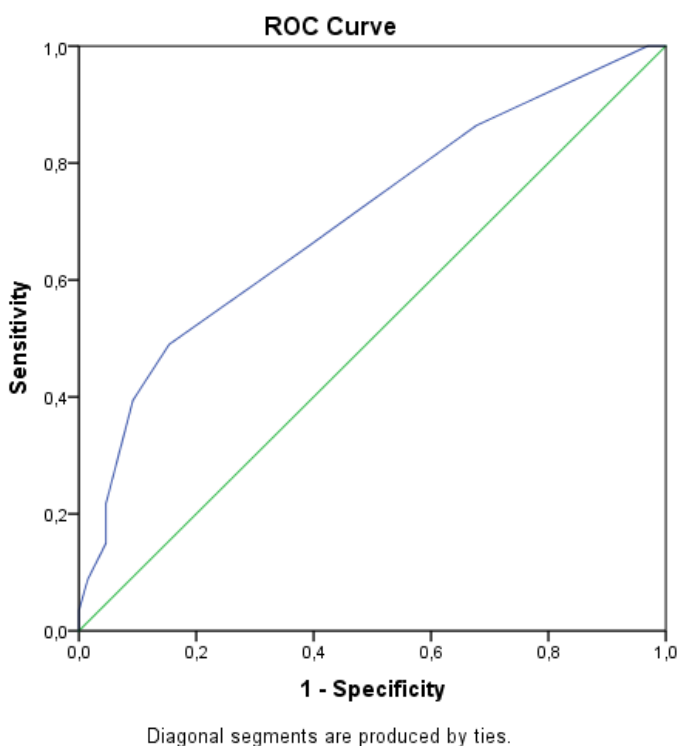
Absolutní počty celkově vybraných a vyřazených osob z důvodu nežádoucí diagnózy	
Vyřazení pacienti	Počet
Onkologická diagnóza	131
Hematologická diagnóza	71
Pacienti po transplantaci	41
Pacienti bez CRP a ICIS	23
Počet vybraných pacientů pro studii	564

V programu Microsoft Office Excel 2007 byla vytvořena tabulka pro ukládání dat následujících indikátorů: WBC, ICIS, CRP. Tabulka dále obsahovala vstupní a výstupní diagnózu a záznam o provedení a výsledku mikrobiologického vyšetření. Po

získání potřebných výsledků vyšetření proběhla anonymizace údajů dle pokynů pracovníka pro GDPR.

6.2.1.2 ROC analýza

Pro statistické hodnocení bylo nezbytné stanovit hodnotu (cut-off value) ICIS parametru a CRP vyjadřující přítomnost bakteriálního agens jako původce infekce. Pro ICIS parametr byla zvolena hodnota 6 na základě doporučení výrobce hematologických analyzátorů (Sysmex, 2015) a tato hodnota byla ověřena pomocí ROC analýzy při statistickém hodnocení. ROC analýza (z angl. Receiver operating characteristic) je statistická metoda, využívaná v laboratorní medicíně k posouzení správné a falešné pozitivitu a správné a falešné negativitu. Metoda využívá analýzu ROC křivek, kdy je popisován vztah mezi senzitivitou a 1-specifitou (falešnou pozitivitou) laboratorního testu s různými hodnotami cut-off. Nejvhodnější hodnota cut-off vykazuje nejvyšší správnou pozitivitu s nejnižší mírou falešně pozitivních výsledků (Graf 2, Tabulka 8 a 9).



Graf 2: ROC křivka

AUC (Area Under the Curve) = 0,703, p < 0,001, 95 % CI = 0,630-0,776

Interval spolehlivosti hodnot Area Under the Curve (plochy pod křivkou) je 0,630 – 0,776.

Z ROC analýzy vyplývá, že při cut-off hodnotě ICIS parametru 5,5 je senzitivita testu 65,3 % a specifita testu 61,5 %. Data potvrzují, že hranice ICIS cut-off ICIS parametru 6 je zvolena správně.

Tab. 8 - Test Result Variable(s): ICIS

Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95 % Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
,703	,037	,000	,630	,776

The test result variable(s): ICIS has at least one tie between the positive actual state group and the negative actual state group. Statistics may be biased.

a. Under the nonparametric assumption

b. Null hypothesis: true area = 0.5

Tab. 9 - Coordinates of the Curve

Coordinates of the Curve	Sensitivity	1 - Specificity
Coordinates of the Curve	1,000	1,000
Coordinates of the Curve	1,000	,985
Coordinates of the Curve	1,000	,969
Coordinates of the Curve	,864	,677
Coordinates of the Curve	,653	,385
Coordinates of the Curve	,490	,154
Coordinates of the Curve	,395	,092
Coordinates of the Curve	,218	,046
Coordinates of the Curve	,150	,046
Coordinates of the Curve	,088	,015
Coordinates of the Curve	,034	,000
Coordinates of the Curve	,014	,000
Coordinates of the Curve	,000	,000

Pro CRP parametr byla použita tabelární hodnota 100 mg/l (Kopáč, 2004). Statistické hodnocení bylo provedeno s hodnotami výsledků ze vstupního vyšetření pacienta při příjmu na urgentní příjem pro dospělé FN Motol.

6.2.2 Výsledky

Vlastní ověření vhodnosti použití parametru ICIS proběhlo pomocí statistického hodnocení mezi ICIS a CRP se stanovením: senzitivity, specifity, pozitivní prediktivní hodnoty, negativní prediktivní hodnoty a shody. Hodnocení bylo provedeno u pacientů s infekcí močových cest, dýchacích cest a septickým stavem.

Tab. 10: Absolutní počty pacientů pro infekce vybraných systémů

Absolutní počty pacientů pro infekce vybraných systému	
System	Počet
Infekce močových cest	62
Infekce dýchacích cest	115
Septické stavy	35

6.2.2.1 Pacienti s infekcí močových cest

Tab. 11: Hodnocení parametru ICIS u močových infekcí

	CRP		Celkem
	nad 100 mg/l	100 mg/l a méně	
ICIS 6-20	21	8	29
do 6	22	11	33
Celkem	43	19	62

Tab. 12: Hodnocení parametru ICIS u močových infekcí

Hodnocení parametru ICIS u močových infekcích				
	Odhadovaná hodnota	%	95 % CI	
Senzitivita	0,488	48,8	33,3	64,5
Specifická	0,579	57,9	33,5	79,8
Pozitivní prediktivní hodnota	0,724	72,4	58,8	82,8
Negativní prediktivní hodnota	0,333	33,3	23,6	44,7
Přesnost (shoda)	0,516	51,6	38,6	64,5

Pro hodnocení parametru ICIS u močových infekcí bylo použito 62 pacientů. Statistickým hodnocením bylo zjištěno, že u močových infekcích jsou hodnoty senzitivity a specifity nízké.

6.2.2.2 Pacienti s infekcí dýchacích cest

Tab. 13: Hodnocení parametru ICIS u infekcí dýchacích cest

	CRP		Celkem
	nad 100 mg/l	100 mg/l a méně	
ICIS 6-20	51	12	63
do 6	26	26	52
Celkem	77	38	115

Tab. 14 - Hodnocení parametru ICIS u infekcí dýchacích cest

Hodnocení parametru ICIS u infekcí dýchacích cest				
	Odhadovaná hodnota	%	95% CI	
Senzitivita	0,662	66,2	54,6	76,6
Specifická	0,684	68,4	51,4	82,5
Pozitivní prediktivní hodnota	0,810	81,0	72,2	87,5
Negativní prediktivní hodnota	0,500	50,0	50,6	59,4
Přesnost (shoda)	0,670	67,0	57,6	75,4

Pro hodnocení parametru ICIS u infekcí dýchacích cest bylo využito 115 pacientů. Statistickým zhodnocením bylo zjištěno, že test u infekcí dýchacích cest dosahoval ve všech parametrech lepších výsledků, nežli u infekcí močových cest. Intervaly spolehlivosti se překrývají, to znamená, že v populaci může být senzitivita a specifita stejná.

6.2.2.3 Pacienti v septickém stavu

Tab. 15: Hodnocení parametru ICIS u septického stavu

	CRP		Celkem
	nad 100 mg/l	100 mg/l a méně	
ICIS 6-20	24	5	29
do 6	3	3	6
Celkem	27	8	35

Tab. 16: Hodnocení parametru ICIS u septického stavu

Hodnocení parametru ICIS u septických stavů				
	Odhadovaná hodnota	%	95% CI	
Senzitivita	0,889	88,9	70,8	97,7
Specifita	0,375	37,5	8,5	75,5
Pozitivní prediktivní hodnota	0,828	82,8	73,4	89,3
Negativní prediktivní hodnota	0,500	50,0	19,9	80,1
Přesnost (shoda)	0,771	77,1	59,9	89,6

Pro hodnocení parametru ICIS u septických stavů bylo využito 35 pacientů. U septických stavů byl test více senzitivní nežli specifický. Specifita testu dosahovala nejvíce ze všech systémů (88,9 %).

7 ZAJÍMAVÉ KAZUISTIKY VE FN MOTOL

7.1 Kazuistika I – infekční mononukleóza

Pacient XX, ročník 2011

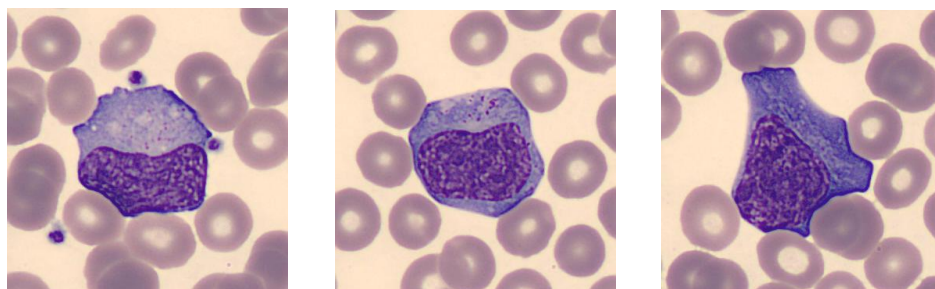
Přijat na oddělení urgentního příjmu pro děti a dorost s diagnózou horečka.

CELLAVISION DM96, SYSMEX 3000						
Krevní obraz (plná krev):			Diferenciál - mikroskopicky:			
WBC	5.4	x10 ⁹ /l	[*]	4.5-14.5	Lymfocyty * 0.638 -- []*	0.290-0.520
RBC	4.75	x10 ¹² /l	[*]	4.00-5.20	Monocyty * 0.091 -- []*	0.000-0.090
HGB	133	g/l	[*]	115-155	Segmenty * 0.138 -- * []	0.410-0.630
HCT	0.367	l/l	[*]	0.350-0.450	Tyče * 0.123 -- []*	0.000-0.040
MCV	77.3	fl	[*]	77.0-95.0	Bazofily 0.005 -- []*	0.000-0.020
MCH	28.0	pg	[*]	25.0-33.0	Plasm.buňky * 0.005 -- []*	0.000-0.000
MCHC	362.4	g/l	[*]	310.0-370.0	NRBC 0 /100WBC []*	0-0
RDW	12.0	%	[*]	11.5-14.5	Lymfocyty# 3.445 x10 ⁹ /l []*	1.300-7.500
PLT	* 136	x10 ⁹ /l	* []	150-450	Monocyty# 0.491 x10 ⁹ /l []*	0.000-1.300
MPV	* 13.3	fl	[]*	7.8-11.0	Bazofily# 0.027 x10 ⁹ /l []*	0.000-0.300
PCT	0.180	%		0.120-0.350	Neutr(Se+Ty)# 1.409 x10 ⁹ /l []*	1.900-9.700
PDW	* 18.3	fl	[]*	9.0-17.0	Abs.poč.plas.b * 0.030 x10 ⁹ /l []*	0.000-0.000
P-LCR	* 51.7	%	[]*	15.0-35.0		
NRBC	viz mikr					

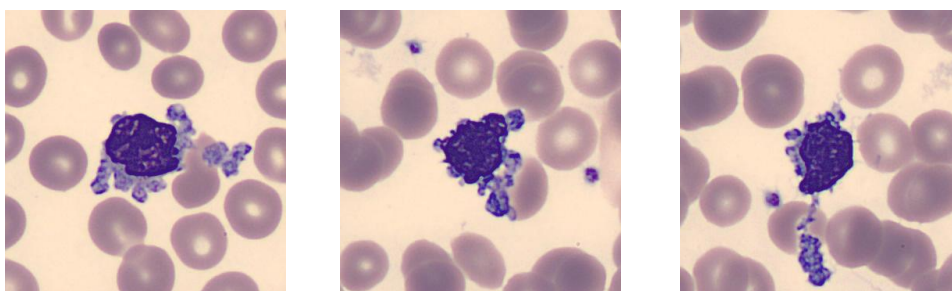
Komentář:
Opakovane zpracovano
Morfologie leukocytů:
elementy charakteru LYMO;polymorfni lymfocyty;plasmaticka reakce lymfocyty;reaktivni formy lymfocyty;LGL
lymfocyty;polymorfni monocyty;reaktivni formy monocytu;hrubsi granulace neutrofilu;vakuolizace plasmy neutrofilu;pelgeroidni
formy neutrofilu;jaderne stiny;nekrobiozy+
Morfologie trombocytů:
anizocytoza trombocytu;makrotrombocytu;Pocet PLT mikroskopicky overen

Obr. 5 Vstupní krevní obraz I. Foto Lukáš Kolařík

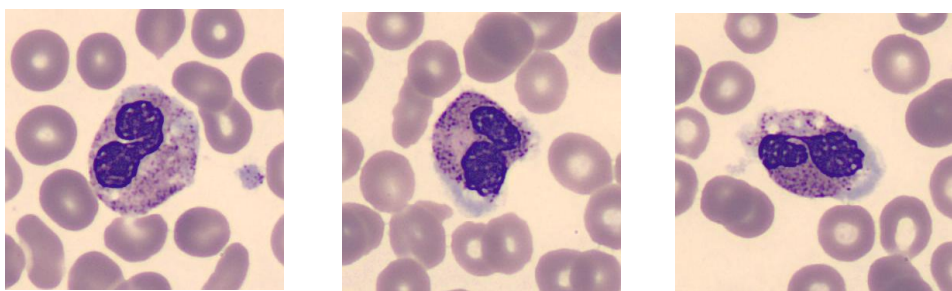
Znaky vedoucí k podezření na infekci způsobenou virem Epstein-Barrove: přítomnost virocytů, polymorfní lymfocyty, plazmatická reakce lymfocytů, reaktivní lymfocyty, nekrobiózy a pelgeroidní formy neutrofilů.



Obr. 6-8 Virocyty. Foto Lukáš Kolařík



Obr. 9-11 Nekrobiózy. Foto Lukáš Kolařík



Obr. 12-14 Pelgeroidní formy neutrofilních granulocytů. Foto Lukáš Kolařík

Primoinfekce infekční mononukleózy následně potvrzena na základě imunologického vyšetření:

anti VCA IgG: 67,6 U/ml

anti VCA IgM: nad 160 U/ml

anti EA-D IgG: 86,4 U/ml

EBNA I IgG: negativní

7.2 Kazuistika II – *Bordetella pertussis*

Pacient XX, ročník 2018

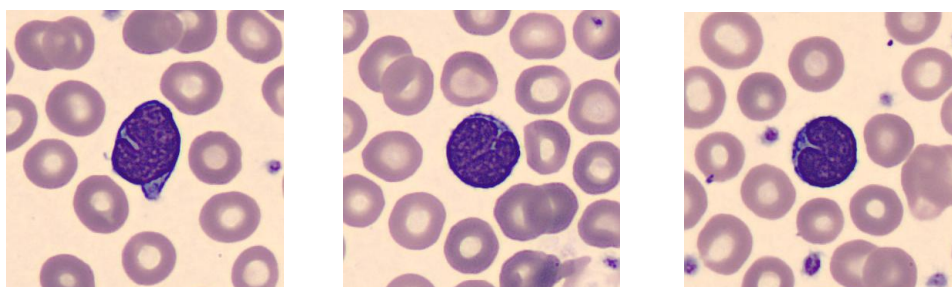
Přijat na dětské oddělení s diagnózou kašel

CELLAVISION DM96, SYSMEX XE 5000							
Krevní obraz (plná krev):			Diferenciál - mikroskopicky:				
WBC	! 41.8	$\times 10^9/l$	[]!	6.0-17.5	Lymfocyty * 0.768 -- []*	0.510-0.710	
RBC	4.84	$\times 10^{12}/l$	[*]	3.70-5.30	Monocyty 0.036 -- [*]	0.010-0.090	
HGB	119	g/l	[*]	105-135	Segmenty * 0.175 -- []	0.210-0.420	
HCT	0.345	l/l	[*]	0.330-0.390	Eozinofily 0.011 -- [*]	0.000-0.070	
MCV	71.3	fl	[*]	70.0-86.0	Bazofily 0.005 -- [*]	0.000-0.020	
MCH	24.6	pg	[*]	23.0-31.0	Plasm.buňky * 0.005 -- []*	0.000-0.000	
MCHC	344.9	g/l	[*]	300.0-360.0	NRBC 0 /100WBC [*]	0-0	
RDW	* 15.9	%	[]*	11.5-14.5	Lymfocyty# * 32.102 $\times 10^9/l$	[]*	3.100-12.400
PLT	* 836	$\times 10^9/l$	[]*	150-450	Monocyty# 1.505 $\times 10^9/l$	[*]	0.100-1.600
MPV	8.7	fl		7.8-11.0	Eosinofily# 0.460 $\times 10^9/l$	[*]	0.000-1.200
PCT	* 0.730	%	[]*	0.120-0.350	Bazofily# 0.209 $\times 10^9/l$	[*]	0.000-0.300
PDW	9.1	fl		9.0-17.0	Neutr(Se+Ty)# 7.315 $\times 10^9/l$	[*]	1.300-8.100
P-LCR	* 14.1	%	[]*	15.0-35.0	Abs.poč.plas.b * 0.210 $\times 10^9/l$	[]*	0.000-0.000
NRBC	viz mikr						

Komentář:
 Oddělení upozorněno
Morfologie leukocytů:
 lymfocyty s jádry se zářezy; polymorfni lymfocyty; reaktivni formy lymfocytu; hrubsi granulace neutrofilu; vakuolizace plasmy neutrofilu; jaderne stiny
Morfologie erytrocytů:
 stomatocyty; anizochromie
Morfologie trombocytů:
 Počet PLT mikroskopicky ověřen.

Obr. 15 Vstupní krevní obraz II. Foto Lukáš Kolařík

Znaky vedoucí k podezření na infekci způsobenou bakterií *Bordetella pertussis* - lymfocyty se zářezy v jádře



Obr. 16-18 Lymfocyty s hlubokými zářezy v jádře. Foto Lukáš Kolařík

Diagnóza dávivého kašle následně stanovena pomocí mikrobiologického vyšetření, PCR prokázala bakterii *Bordetella pertussis*.

7.3 Kazuistika III – Malárie

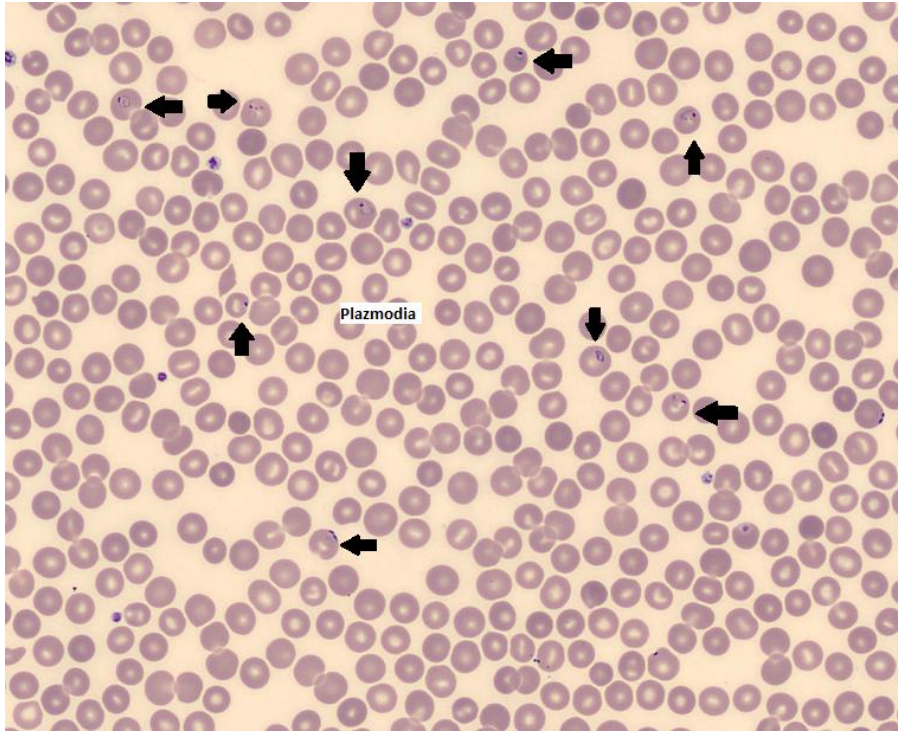
Pacient XY, ročník 1989

Přijat na oddělení urgentního příjmu pro děti a dorost s diagnózou trombocytopenie.

Krevní obraz (plná krev):				Diferenciál - mikroskopicky:			
WBC	8.5	$\times 10^9/l$	4.0-10.0	Lymfocyty	* 0.045	--	*[] 0.200-0.450
RBC	4.70	$\times 10^{12/l}$	[*] 4.00-5.80	Monocyty	0.035	--	[*] 0.020-0.100
HGB	139	g/l	[*] 135-175	Segmenty	* 0.753	--	[]* 0.470-0.700
HCT	* 0.380	l/l	*[] 0.400-0.500	Tyče	* 0.167	--	[]* 0.000-0.040
MCV	* 80.9	fl	*[] 82.0-98.0	NRBC	0	/100WBC	[*] 0-0
MCH	29.6	pg	[*] 28.0-34.0	Lymfocyty#	* 0.383	$\times 10^9/l$	*[] 0.800-4.000
MCHC	* 365.8	g/l	[]* 320.0-360.0	Monocyty#	0.298	$\times 10^9/l$	0.080-1.000
RDW	13.6	%	[*] 10.0-15.2	Neutr(Se+Ty)#	* 7.820	$\times 10^9/l$	[]* 2.000-7.000
PLT	* 36	$\times 10^9/l$	*[] 150-400				
MPV	11.0	fl	7.8-11.0				
PCT	* 0.040	%	*[] 0.120-0.350				
PDW	14.9	fl	9.0-17.0				
IPF	* 9.7	%	[]* 1.1-6.1				
P-LCR	34.9	%	15.0-35.0				
NRBC	viz mikr						
RET	1.17	%	[*] 0.50-2.50				
RET#	55.0	$\times 10^9/l$	[*] 25.0-100.0				
RET-IRF	10.90	%	[*] 2.10-13.80				
RET-LFR	89.1	%	[*] 87.8-98.6				
RET-MFR	8.9	%	[*] 2.4-12.5				
RET-HFR	2.0	%	[*] 0.0-2.0				
RET-HGB	30.6	pg	28.0-36.0				
Wyš. na malárii	pozit.						
Morfologie leukocytů:							
hrubší granulace neutrofilu; vakuolizace plasmy neutrofilu							
Morfologie erytrocytů:							
sférocyty; mikrocyty; anizochromie							
Morfologie trombocytů:							
Počet PLT mikroskopicky overen							

Obr. 19 Vstupní krevní obraz III. Foto Lukáš Kolařík

Na základě aktivace flaggové hlášky iRBC a přítomnosti trombocytopenie byl proveden nátěr periferní krve, v erytrocytech nalezeny plasmodia.



Obr. 20 Erythrocyty infikované plasmodii (šipky). Foto Lukáš Kolařík

8 EPIDEMIOLOGICKÁ ANAMNÉZA

Epidemiologická anamnéza poskytuje lékaři důležité informace, vedoucí ke správnému stanovení diagnózy, umožňuje identifikovat zdroj infekce, eventuálně druh přenosu infekce. Uplatňuje se jak u běžných pacientů, tak u pacientů, kteří se vrátili ze zahraničí. U pacientů, kteří se vrátili ze zahraničí poskytuje důležité informace o navštívených zemích s údajem, zda pacient pobýval v městské či venkovské oblasti. Součástí jsou informace o prováděných aktivitách (koupání v přírodním zdroji, pobyt v deštném pralese atd.), kontakt s infekčními osobami, kontakt se zvířaty či výrobky ze zvířat (kůže, srst) a pokousání zvířaty.

Součástí epidemiologické anamnézy jsou informace o výskytu epidemiologicky závažných onemocnění v rodinách, povolání pacienta, povaha pracovních činností, kontakt s infekční osobou, konzumace potravin a tekutin, informace o přísátém klíštěti a pobytu v přírodě či pobodání hmyzem, očkování a zraněních (Kliščiková, 2012), (www.medicalency.com, cit. 10.8.2020), (www.bigmed.com, cit. 10.8.2020).

9 Povinné hlášení, evidence a analýza výskytu infekčních nemocí v České republice, Informační systém infekčních nemocí (ISIN)

Povinné hlášení výskytu infekčních nemocí, jejich evidence a analýza jsou základem pro místní, regionální a národní kontrolu v šíření nemocí. Shromážděné informace tvoří podklady pro vyhodnocování epidemiologické situace v ČR.

Povinné hlášení o výskytu infekční nemoci je zakotveno v legislativě ČR (vyhláška 473/2008 Sb., verze 3, ve znění pozdějších předpisů, vyhláška 306/2012 Sb., verze 2).

Hlášení se provádí u život ohrožujících infekčních nemocí nebo u rychle se šířících infekčních nemocí. Předmětem hlášení jsou potvrzené infekční nemoci, podezření na infekční nemoci, nosičství či úmrtí na infekční nemoci. Hlášení provádí poskytovatel zdravotní služeb včetně poskytovatele laboratorních služeb, kde bylo onemocnění diagnostikováno. Hlášení je adresováno orgánu ochrany veřejného zdraví, dle oblastní působnosti (vyhláška 473/2008 Sb., verze 3).

K zajištění povinného hlášení, evidence a analýzy výskytu infekčních nemocí v ČR se používal do konce roku 2017 program EpiDat.

Nový informační systém ISIN (Informační systém infekční nemoci) byl vytvořen ve formě webové aplikace a slouží od začátku roku 2018. Hlášení infekčních nemocí do tohoto systému je základem pro místní, regionální, národní a nadnárodní kontrolu šíření infekčních nemocí, posouzení vývoje epidemiologické situace i pro hlášení infekcí z ČR do Evropské unie a Světové zdravotnické organizace. Hlášení probíhá pomocí systému ISIN. Informační systém funguje na základě webové aplikace, do které se mohou přihlásit poskytovatelé zdravotních služeb. Data z programu ISIN jsou každoročně vyhodnocena a zveřejněna v časopise „Zprávy Centra epidemiologie a mikrobiologie“ Hlášení probíhá na základě mezinárodní klasifikace nemocí, aktuálního vydání MKN-10. Do systému nejsou hlášeny závažné infekční nemoci, které jsou předmětem sledování v jiných národních registrech orgánu ochrany veřejného zdraví, například: tuberkulóza, sexuálně přenosné infekce, virus lidského

imunodeficitu či respirační infekce (ARI) a chřipce podobná onemocnění (ILI).
Správcem programu ISIN je Ústav zdravotnických informací a statistiky (UZIS)

10 LEGISLATIVA

V souvislosti s tématem diplomové práce jsou uvedené odkazy na aktuálně platnou legislativu v ČR.

ČESKO. Zákon č. 258 ze dne 14. července 2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o ochraně veřejného zdraví). Dostupný také z <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2000-258>

ČESKO. Vyhláška č. 473 ze dne 17. prosince 2008 Sb., o systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce (vyhláška o systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce). Dostupná z <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2008-473>

ČESKO. Vyhláška č. 306 ze dne 12. září 2012 Sb., o podmínkách předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a o hygienických požadavcích na provoz zdravotnických zařízení a ústavů sociální péče (vyhláška o hygienických požadavcích na provoz zdravotnických zařízení a ústavů sociální péče). Dostupná z <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2012-306/zneni-20170830>

ČESKO. Vyhláška č. 537 ze dne 29. listopadu 2006 Sb., o očkování proti infekčním nemocem (vyhláška o očkování proti infekčním nemocem). Dostupná z <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2006-537>

ČESKO. Vyhláška č. 163 ze dne 4. května 2012 Sb., o zásadách správné laboratorní praxe (vyhláška o zásadách správné laboratorní praxe). Dostupná z <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2012-163>

ČESKO. Zákon č. 309 ze dne 23. května 2006 Sb., o upravující požadavky bezpečnosti a ochrany zdraví při práci v pracovněprávních vztazích a o zajištění bezpečnosti a ochrany zdraví při činnosti nebo poskytování služeb mimo pracovněprávní vztahy a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o zajištění dalších

podmínek bezpečnosti a ochrany zdraví při práci). Dostupný z <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2006-309>

ČESKO. Zákon č. 95 ze dne 29. ledna 2004 Sb., o podmínkách získávání a uznávání odborné způsobilosti a specializované způsobilosti k výkonu zdravotnického povolání lékaře, zubního lékaře a farmaceuta (zákon o podmínkách získávání a uznávání odborné způsobilosti a specializované způsobilosti k výkonu zdravotnického povolání lékaře, zubního lékaře a farmaceuta). Dostupný z <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-95>

ČESKO. Zákon č. 96 ze dne 4. února 2004 Sb., o podmínkách získávání a uznávání způsobilosti k výkonu nelékařského zdravotnického povolání a k výkonu činnosti souvisejících s poskytováním zdravotní péče a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o nelékařských zdravotnických povolání). Dostupný z <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-96>

KRATOCHVÍL, Josef, Zbyněk PLZÁK a Andrea PEKOVÁ. *ČSN EN ISO 15189 - Zdravotnické laboratoře - Požadavky na kvalitu a způsobilost*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, [2013], 77 s.

DISKUZE

Prvním cílem diplomové práce bylo navržení optimální spolupráce mezi urgentním příjmem pro děti a dorost a urgentním příjmem pro dospělé s hematologickou laboratoří pomocí telefonického hlášení atypického morfologického nálezu při vyšetření nátěru periferní krve. Ve Fakultní nemocnici v Motole byly doplněny výsledky podléhající telefonickému hlášení o nález virocytů a lymfocytů se zářezy v jádře. Výzkum naplnil své cíle, spolupráce mezi hematologickou laboratoří a urgentními příjmy ve FN Motol je nastavena efektivně dle zásad ČHS JEP, která v doporučení zmiňuje, že telefonická hlášení mohou být doplněna o nálezy dle zvyklostí jednotlivých zdravotnických zařízení.

Z dat získaných z programu LotusLab při hlášení virocytů a přiložených kazuistik vyplývá, že morfologické vyšetření krevního nátěru může poskytnout důležité informace vedoucí k identifikaci infekčního agens. Morfologické vyšetření může vést k přímému průkazu infekčního agens v případě přítomnosti plasmodií či leishmanie aj. Dalším přínosem morfologického vyšetření je vznesení podezření na dané infekční agens. V případě virocytů bylo následným virologickým vyšetřením prokázána přítomnost virového původce u 96 % pacientů. Vždy je nutné mít na paměti, že nález virocytů není specifickým nálezem pro jeden patogen. Z tohoto důvodu je nález virocytů ve FN Motol hlášen ošetřujícímu lékaři s doporučením na provedení virologického vyšetření. Problematika hlášení nálezu virocytů se liší napříč jednotlivými zdravotními zařízeními. Kolegové z Fakultní nemocnice Královské Vinohrady při výskytu virocytů vyčleňují jednotlivé virocyty do zvláštní populace „atypických lymfocytů“. Výhodou tohoto postupu je, že lékař na klinickém oddělení získá informaci i o počtu virocytů. Do komentáře k morfologickému nálezu píšou upozornění „*buňky připomínající infekční mononukleózu*“. Opačným způsobem k nálezu virocytů přistupují kolegové z Fakultní nemocnice v Hradci Králové, kteří hlášení neprovádí. Do výsledku pacienta tyto buňky popisují jako „reaktivní lymfocyty“. Důvodem tohoto postupu byly obtíže při interpretaci nálezu. Kolegové ze soukromého sektoru (Praha), kteří poskytují laboratorní služby pro praktické lékaře nález virocytů taktéž nehlásí z důvodu obtíží při interpretaci nálezu. Z tohoto důvodu

ve Fakultní nemocnici v Motole probíhají v rámci každoročního kongresu přednášky se zaměřením na interpretaci laboratorních nálezů s ukázkou jednotlivých kauzistik z pohledu laboratoře. Kromě virocytů je ve FN Motol hlášena přítomnost lymfocytů s hlubokými zářeny v jádře. Přítomnost takovýchto lymfocytů byla pozorována u pacientů s infekcí vyvolanou bakterií *Bordetella pertusis*.

Druhý cíl diplomové práce ověřoval vhodnost implementace parametru ICIS sloužícího pro odlišení systémové zánětlivé reakce od nezápětlivé reakce do laboratorního provozu hematologické laboratoře. Výsledky hodnocení parametru ICIS potvrzují význam pro stanovení bakteriálního původu infekce, výzkum naplnil své cíle, parametr je vhodný pro další hodnocení s budoucí implementací do laboratorního provozu hematologické laboratoře.

Zkoumání parametru ICIS jako indikátoru bakteriálního původu infekce bylo provedeno u infekcí močového a respiračního systému a u septických stavů. Parametr ICIS je nejvíce senzitivní v prvních 48 hodinách zánětlivého procesu (Nierhaus, 2012). Z důvodu této vlastnosti probíhalo vyšetření u pacientů přijatých na urgentní příjem pro dospělé ve FN Motol. Principem statistického hodnocení bylo porovnání parametru ICIS s hodnotami C-reaktivního proteinu se stanovením: senzitivity, specifity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty a shody.

Hodnocení infekcí močového systému bylo provedeno u 62 pacientů. Hodnoty senzitivity a specifity jsou u tohoto systému nízké.

Hodnocení infekcí respiračního systému bylo provedeno u 115 pacientů. Intervaly senzitivity a specifity se překrývají, což znamená, že v populaci může být senzitivita a specifita stejná.

Hodnocení u septických stavů bylo provedeno u 35 pacientů. Test je pro septické stavy spíše senzitivní nežli specifický. Parametr ICIS dosáhl nejvyšší senzitivity u septických stavů.

Studii zabývající se parametrem ICIS bylo v současné době provedeno jen velmi málo. Z toho důvodu bylo provedeno šetření parametru ICIS z pohledu laboratoře, ne z pohledu klinického přístupu, při zkoumání dynamiky parametru.

Zahraniční autoři (Nierhaus a Geest) hodnotili parametr ICIS u souboru pacientů s různými infekčními nemocemi. V diplomové práci bylo šetření provedeno u

jednotlivých systémů (infekce respiračního a močového systému a sepse), aby získané výsledky mohly být použity i v dalším studiu.

Výsledky dosažené v diplomové práci ukazují horší senzitivitu, specifitu a pozitivní a negativní prediktivní hodnotu nežli u zahraničních studií. Diskrepance by mohly být vysvětleny použitím rozdílných cutt-off hodnot pro označení pozitivní hodnoty ICIS u jednotlivých studií a komparací ICIS s hodnotami CRP, ne proti výsledku mikrobiologického kultivačního vyšetření. Nierhaus a Kaeslin využili jako cut-off hodnotu ICIS 5, Weimann využil jako cut-off hodnotu ICIS 3, v diplomové práci byla použita cut-off hodnota ICIS 6.

V rámci České republiky probíhá testování parametru ICIS firmou Sysmex ve spolupráci s dalšími zdravotnickými pracovišti (Ústí nad Labem, Praha). Prvotní výsledky šetření ukazují na dobrý potenciál tohoto parametru. Ze získaných zkušeností během šetření by bylo vhodné otestovat parametr ICIS nejen mezi laboratořemi, ale také v úzké spolupráci s klinickým oddělením. Rovněž komparace výsledků mikrobiologického kultivačního vyšetření s hodnotami ICIS by byla přínosem. Spolupráce by umožnila testovat dynamiku parametru ICIS v průběhu infekce a následné léčby.

Závěr

V diplomové práci byla hodnocena možnost spolupráce hematologické laboratoře s urgentním příjmem pro děti a dorost a urgentním příjmem pro dospělé v oblasti diagnostiky infekčních onemocnění a možnosti navržení bližší spolupráce vedoucí k rychlejší identifikaci vyvolávajícího agens. Jako modelový příklad bylo využito spolupráce oddělení klinické hematologie a urgentního příjmu pro děti a dorost a urgentního příjmu pro dospělé ve Fakultní nemocnici v Motole.

V diplomové práci byly vytyčeny dva hlavní cíle. Prvním cílem bylo ověření, zda hlášení kritických/neočekávaných hodnot stanovených ČHS JEP je dostačující pro diagnostiku infekčních onemocnění. Druhým cílem byla validace a implementace parametru ICIS do laboratorního provozu.

První cíl diplomové práce byl ověřován pomocí jednotlivých kazuistik a telefonického hlášení výskytu virocytů. Jednotlivé kazuistiky a hlášení výskytu virocytů ukázalo, že lze rozšířit a doplnit hlášení laboratorních výsledků vedoucí k rychlejší identifikaci vyvolávajícího infekčního agens. Mezi doplněné hlášení patří nález virocytů a lymfocytů s atypickým tvarem jádra. Důležitým aspektem této spolupráce je komunikace na úrovni laboratoř a klinické oddělení, kdy by měl být ošetřující lékař seznámen s morfologickými popisy laboratoře a mohl na jejich základě provést interpretaci nálezu.

Druhý cíl diplomové práce se zaměřil na ověření nového parametru pro průkaz bakteriálního agens jako vyvolavatele onemocnění. Ověření parametru ICIS bylo provedeno pomocí porovnání s hodnotami C-reaktivního proteinu s následným stanovením senzitivity, specifity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty a shody. Ze statistického šetření a s přihlédnutím na náročnost anamnézy pacienta bylo prokázáno, že parametr ICIS je vhodným parametrem pro další šetření, eventuálně budoucí implementaci do laboratorních metod. Vhodnost parametru byla ověřena na infekcích močových cest, dýchacích cest a u sepse. Mezi další možnosti ověření významu parametru ICIS by bylo hodnocení jeho dynamiky v rámci hospitalizace a léčby.

V tomto případě by byla nutná úzká spolupráce laboratoře s klinickým oddělením a lékaři.

SOUPIS BIBLIOGRAFICKÝCH CITACÍ

BD, *BD BACTEC™ FX Blood Culture System* [online]. BD United Kingdom [cit. 2020-08-08]. Dostupné z: <https://www.bd.com/en-uk/products/diagnostics-systems/blood-culture-systems/bactec-fx-system>.

BENEŠ, Jiří. *Infekční lékařství*. Praha: Galén, 2011. ISBN 978-80-7262-644-1
CORONADO, Lorena M., Christopher T. NADOVICH a Carmenza SPADAFORA. Malarial hemozoin: From target to tool. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* [online]. 2014, **1840**(6), 2032-2041 [cit. 2021-02-02]. ISSN 03044165. Dostupné z: doi: 10.1016/j.bbagen.2014.02.009.

BERAN, Jiří a Jiří VANIŠTA. *Základy cestovního lékařství*. Praha: Galén, c2006. ISBN 80-7262-435-0.

ČESKO. Vyhláška č. 473 ze dne 17. prosince 2008 Sb., o systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce (vyhláška o systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce). Dostupná z <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2008-473>.

ČESKO. Vyhláška č. 537 ze dne 29. listopadu 2006 Sb., o očkování proti infekčním nemocem (vyhláška o očkování proti infekčním nemocem). Dostupná z <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2006-537>.

Dubreuil, P. et al. (2014), Use of Sysmex XE-2100 and XE-5000 hematology analyzers for the diagnosis of malaria in a nonendemic country (France). *Int. Jnl. Lab. Hem.*, 36: 124-134. Dostupné z: doi: 10.1111/ijlh.12145.

DUMAS, Cécile, Anne-Lise BIENVENU, Sandrine GIRARD, Stéphane PICOT, Gisèle DEBIZE a Brigitte DURAND. Automated Plasmodium detection by the Sysmex XN hematology analyzer. *Journal of Clinical Pathology* [online]. 2018, **71**(7),

594-599 [cit. 2020-04-09]. Dostupné z: doi: 10.1136/jclinpath-2017-204878. ISSN 0021-9746.

DUNMIRE, Samantha K., Kristin A. HOGQUIST a Henry H. BALFOUR. Infectious Mononucleosis. MÜNZ, Christian, ed. *Epstein Barr Virus Volume 1* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2015, 2015-10-1, s. 211-240 [cit. 2020-02-29]. Current Topics in Microbiology and Immunology. Dostupné z: doi: 10.1007/978-3-319-22822-8_9. ISBN 978-3-319-22821-1.

HAFERLACH, Torsten. *Kapesní atlas hematologie: překlad 6., přepracovaného vydání*. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-4787-3.

HJALGRIM, H. Risk of Hodgkin's Disease and Other Cancers After Infectious Mononucleosis. *Journal of the National Cancer Institute* [online]. **92**(18), 1522-1528 [cit. 2020-02-29]. Dostupné z: doi: 10.1093/jnci/92.18.1522. ISSN 14602105.

HUH, Hee Jin, Gwi Young OH, Jung Won HUH a Seok Lae CHAE. Malaria detection with the Sysmex XE-2100 hematology analyzer using pseudo eosinophilia and abnormal WBC scattergram. *Annals of Hematology* [online]. 2008, **87**(9), 755-759 [cit. 2021-03-08]. ISSN 0939-5555. Dostupné z: doi:10.1007/s00277-008-0486-8.

JABOR, Antonín. *ROC analýza* [online]. [cit. 2020-12-15]. Dostupné z: <http://www.demo4.smitka.eu/encyklopedie/A/AJDLQ.htm>.

KAESLIN, Martha, Saskia BRUNNER, Janine RATHS a Andreas HUBER. Improvement in detecting bacterial infection in lower respiratory tract infections using the Intensive Care Infection Score (ICIS). *LaboratoriumsMedizin* [online]. 2016, **40**(3) [cit. 2021-03-09]. ISSN 1439-0477. Dostupné z: doi:10.1515/labmed-2016-0021.

KIMURA, Hiroshi, Yoshinori ITO, Shinji KAWABE, et al. EBV-associated T/NK-cell lymphoproliferative diseases in nonimmunocompromised hosts: prospective analysis of 108 cases. *Blood* [online]. 2012, **119**(3), 673-686 [cit. 2021-03-08]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood-2011-10-381921.

KLIEŠČIKOVÁ, Jarmila a František STEJSKAL. *Základní otázky a důležité anamnestické údaje* [online]. 2012 [cit. 2020-08-10]. Dostupné z: https://www.ipvz.cz/ekurzy/2015/vyznamne_klinicke_syndromy_v_tropech/24108.html.

KŘÍŽ, Bohumír, Kamil PROVAZNÍK a Lumír KOMÁREK, ed. *Manuál prevence v lékařské praxi*. Praha: Fortuna, 1996. ISBN 80-7168-400-7.

Laboratorní příručka Ústavu lékařské mikrobiologie: Návod k odběru krve na hemokultivaci a zdůvodnění jeho principů. Fakultní nemocnice v Motole, 2007.

Medical encyclopedia: *An epidemiological anamnesis* [online]. [cit. 2020-08-10]. Dostupné z: <http://medicalency.com/epidemiologicheskiy-anamnez.htm>.

MURRAY, Patrick R. *Medical microbiology*. St. Louis: Mosby, 1990. ISBN 9780801635861.

MURRAY, Robert K. *Harperova ilustrovaná biochemie*. 5. české vyd., 1. v nakl. Galén. Přeložil Bohuslav MATOUŠ. Praha: Galén, c2012. ISBN 978-80-7262-907-7.

NARKHEDE, Sarang. Understanding AUC - ROC Curve. <https://towardsdatascience.com> [online]. 26. 4. 2018 [cit. 2020-12-15]. Dostupné z: <https://towardsdatascience.com/understanding-auc-roc-curve-68b2303cc9c5>.

NAZARULLAH, Alia, Michelle DON, Yuliya LINHARES, Serhan ALKAN a Qin HUANG. Aggressive NK-cell leukemia: A rare entity with diagnostic and therapeutic challenge. *Human Pathology: Case Reports* [online]. 2016, **4**, 32-37 [cit. 2020-02-29]. Dostupné z: doi: 10.1016/j.ehpc.2015.08.001. ISSN 22143300.

NIERHAUS, Axel, Jo LINSSEN, Dominic WICHMANN, Stephan BRAUNE a Stefan KLUGE. Use of a Weighted, Automated Analysis of the Differential Blood Count to Differentiate Sepsis from Non-Infectious Systemic Inflammation: The Intensive Care

Infection Score (ICIS). *Inflammation & Allergy-Drug Targets* [online]. 2012, **11**(2), 109-115 [cit. 2020-04-06]. Dostupné z: doi: 10.2174/187152812800392841. ISSN 18715281.

NIKOLAC, Nora, Vesna ŠUPAK SMOLČIĆ, Ana-Maria ŠIMUNDIĆ a Ivana ČELAP. Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine: national recommendations for venous blood sampling. *Biochemia Medica* [online]. 2013, 242-254 [cit. 2020-08-19]. Dostupné z: doi: 10.11613/BM.2013.031. ISSN 18467482.

NK leukémie – morfologická kazuistika OHD 2019, Lukáš Kolařík a kol., Praha FN Motol.

PECKA, Miroslav. *Laboratorní hematologie v přehledu*. Český Těšín: Finidr, 2006. ISBN 80-86682-01-3.

PENKA, Miroslav a Eva SLAVÍČKOVÁ. *Hematologie a transfuzní lékařství*. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-3459-0.

PENKA, Miroslav a Eva SLAVÍČKOVÁ. *Hematologie a transfuzní lékařství*. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-3460-6.

PILLAY, Evashin, Shanaz KHODAJI, Belinda C. BEZUIDENHOUT, Monwabisi LITSHIE a Thérèsa L. COETZER. Evaluation of automated malaria diagnosis using the Sysmex XN-30 analyser in a clinical setting. *Malaria Journal* [online]. 2019, **18**(1) [cit. 2021-03-08]. ISSN 1475-2875. Dostupné z: doi:10.1186/s12936-019-2655-8.

POSLÍŠILOVÁ, Dana. *Strana 1(celkem 5)Referenční meze krevního obrazu (KO), retikulocytů (RET), normoblastů (NRBC) a diferenciálního rozpočtu leukocytů (DIF) u dětí* [online]. In: . 13.4.2018, 1 - 5 [cit. 2020-03-26]. Dostupné z: http://www.hematology.cz/doporuceni/laboratorni_sekce/files/referencni_meze/Doporuceni_LS_CHS_CLS_JEP-Ref_meze_deti-KO_Diff_Ret_NRBC_v03.pdf.

RACEK, Jaroslav. *Klinická biochemie*. Praha: Galén, c1999. ISBN 80-7262-023-1.

Referenční meze krevního obrazu, retikulocytů, normoblastů a diferenciálního rozpočtu leukocytů dospělých [online]. In: . 1.3.2015, 1 - 4 [cit. 2020-03-26]. Dostupné z: http://www.hematology.cz/doporuceni/laboratorni_sekce/files/referencni_meze/Doporuceni_LS_CHS_CLS_JEP-Ref_meze_dospeli-KO_Diff_Ret_NRBC_v02.pdf.

ROWE, J. Alexandra, Antoine CLAESSENS, Ruth A. CORRIGAN a Mònica ARMAN. Adhesion of Plasmodium falciparum - infected erythrocytes to human cells: molecular mechanisms and therapeutic implications. *Expert Reviews in Molecular Medicine* [online]. 2009, **11** [cit. 2021-02-02]. ISSN 1462-3994. Dostupné z: doi: 10.1017/S1462399409001082.

SHARMA, S. et al.. Abnormal WBC scattergram: a clue to the diagnosis of malaria. *Hematology* [online]. 2013, **18**(2), 101-105 [cit. 2020-03-24]. Dostupné z doi: 10.1179/1607845412Y.0000000029. ISSN 1607-8454.

SIEMENS, *ADVIA® 1800*. [online]. Siemens: Praha [cit.2020-09-21]. Dostupné z: <http://diagnostika.siemens.cz/diagnostika/shop/Cataloguemachine?cat=a2435&id=a76&mode=INFO>.

Směrnice laboratoře OKH FN Motol *ISL_1OKH_07/2011-6*.

Spalničky – základní informace. Oddělení epidemiologie infekčních nemocí, CEM, SZÚ, Praha; srpen 2019.

SVOBODOVÁ, Diana. *ICIS skóre: koncept pro nový diagnostický parametr sepse*. Praha: Sysmex, 2019.

Sysmex educational enhancement and development: Malárie - globální břemeno. Brno: Sysmex, 2015.

SZÚ, *Infekce v ČR - ISIN (dříve EPIDAT)* [online]. Praha: SZÚ ČR [cit. 2020-08-23]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/publikace/data/infekce-v-cr>.

ŠPAČKOVÁ, Michaela. *Horečka Lassa – obecné informace* [online]. Praha: SZÚ ČR [cit. 2021-03-08]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/prevence/horecka-lassa-obecne-informace>.

The Big Medical Encyclopedia: *The epidemiological anamnesis* [online]. [cit. 2020-08-10]. Dostupné z: http://bigmed.info/index.php/Main_page.

ÚZIS, *Informační systém infekční nemoci (ISIN)* [online]. Praha: ÚZIS ČR [cit. 2020-08-23]. Dostupné z: <https://www.uzis.cz/index.php?pg=registry-sber-dat--ochrana-verejneho-zdravi--informacni-system-infekcni-nemoci>.

VAN DER GEEST, Patrick J., Mostafa MOHSENI, Jo LINSSEN, Servet DURAN, Robert DE JONGE a A. B. Johan GROENEVELD. The intensive care infection score – a novel marker for the prediction of infection and its severity. *Critical Care* [online]. 2016, **20**(1) [cit. 2020-04-06]. Dostupné z doi: 10.1186/s13054-016-1366-6. ISSN 1364-8535.

WEIMANN, Karin, Mathias ZIMMERMANN, Claudia D SPIES, Klaus-Dieter WERNECKE, Oldrich VICHEREK, Irit NACHTIGALL, Sascha TAFELSKI a Andreas WEIMANN. Intensive Care Infection Score – A new approach to distinguish between infectious and noninfectious processes in intensive care and medicosurgical patients. *Journal of International Medical Research* [online]. 2015, **43**(3), 435-451 [cit. 2021-03-09]. ISSN 0300-0605. Dostupné z: doi:10.1177/0300060514557711.

WHO. 2019, *WORLD MALARIA REPORT 2019* [online]. WHO: Geneva [cit. 2020-12-18]. ISBN 978-92-4-156572-1. Dostupné z: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/330011/9789241565721-eng.pdf>.

WHO. 2020, *Malaria: Key facts* [online]. WHO: Geneva, datum aktualizace 30. 9. 2020 [cit. 2020-03-21]. Dostupné z: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malaria>.

SEZNAM ZKRATEK

ACT	adenylátcyklázový toxin
aIG#	accurate immature granulocytes count (absolutní počet nezralých neutrofilů)
ASL#	antibody secreting lymphocytes (absolutní počet lymfocytů produkující protilátky)
anti EA-D IgG	IgG antibodies againsts early antigen ebstein-barr virus (IgG protilátky proti brzkému antigenu viru Esbtein-Barrové)
anti VCA IgG	IgG antibodies againsts viral capsid antigen ebstein-barr virus (IgG protilátky proti kapsidovému antigenu viru Ebstein- Barrové)
anti VCA IgM	IgM antibodies againsts viral capsid antigen ebstein-barr virus (IgM protilátky proti kapsidovému antigenu viru Ebstein- Barrové)
ARI	registr pro respirační infekce
ATS	aspartátaminotransferáza
AUC	area under the curve (plocha pod křivkou)
BDBV	Ebola-Bundibugyo
BrkA	Bordetella resistance to killing (faktor resistance)
CD4+	pomocné lymfocyty
CD8+	cytotoxické lymfocyty
CMV	cytomegalovirus
CRP	C-reaktivní protein
CRP-hs	highly sensitive CRP test (vysoce senzitivní CRP test)
CRP-LDL	komplex C-reaktivního proteinu a lipoproteinů o nízké hustotě
CRP-VLDL	komplex C-reaktivního proteinu a lipoproteinů o velmi nízké hustotě
ČHS JEP	Česká hematologická společnost Jana Evangelisty Purkyně
ČR	Česká republika

ČSR	Československá republika
dCHC	difference in cellular hemoglobin concentration (delta hemoglobin)
DIC	disseminated intravascular coagulopathy (diseminovaná intravaskulární koagulopatie)
DNA	deoxyribonucleic acid (deoxyribonukleová kyselina)
DNT	dermonekrotický toxin
EBNA I IgG	Antibodies IgG against nuclear antigen Epstein-Barr virus (protilátky IgG proti nukleárnímu antigenu EBV)
EBOV	Ebola-Zaire
EBV	virus Epstein-Barrové
ELISA	Enzyme-Linked-ImmunoSorbent-Assay
EU	Evropská unie
FHA	filamentous haemagglutinin adhesin (vláknitý hemagglutinin)
FN Motol	Fakultní nemocnice v Motole
HFR	high fluorescence reticulocytes (nezralé retikulocyty)
HIV	human immunodeficiency virus (virus lidské imunodeficiency)
ICIS	Intensive Care Infection Score
ILI	registr pro chřipce podobné infekce
IL-2	interleukin 2
IL-6	interleukin 6
ISIN	informační systém infekčních nemocí
LDL	low density lipoprotein (lipoprotein o nízké hustotě)
LIS	laboratorní informační systém
LRF	low fluorescence reticulocytes (zralé retikulocyty)
MAHA	mikroangiopatická hemolytická anémie
MCV	mean corpuscular volume (střední objem erytrocytu)
MFR	medium fluorescence reticulocytes (středně zralé retikulocyty)
MI-RBC	kvantifikace infikovaných erytrocytů plasmodii
MKN-10	mezinárodní klasifikace nemocí desátá revidace
NIS	nemocniční informační systém
OKH	oddělení klinické hematologie
PCR	polymerase chain reaction (polymerázová řetězová reakce)

PK	periferní krev
PRN	pertaktin
PT	protrombin time (protrombinový čas)
RESTV	Ebola-Reston
RNA	ribonucleic acid (ribonukleová kyselina)
ROC	receiver operating characteristic (ROC analýza)
sN#	absolute number of neutrofil segments (absolutní počet neutrofilních segmentů)
sNFL	fluorescence intensity of neutrofilis (aktivace neutrofilních segmentů)
SOP	standardní operační postupy
SUDV	Ebola-Sudan
SVLS	společné vyšetřovací a léčebné složky
TAFV	Ebola-Pobřeží slonoviny
TCT	tracheální toxin
TMA	trombotická mikroangiopatická anémie
TNF- α	tumor necrosis factor- α
UK	Univerzita Karlova
UZIS	Ústav zdravotních studií a statistik
VLDL	very low density lipoprotein
WBC	white blood cells

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Přehled přijatých hemokultur na OKH v roce 2018	43
Tabulka 2: Přehled přijatých hemokultur na OKH v roce 2019	44
Tabulka 3: Přehled přijatých hemokultur na OKH v roce 2020	44
Tabulka 4: Výsledky hemokultivace na OKH 2018-2020.....	45
Tabulka 5: Přehled pozitivních výsledků na OKH 2018-2020.....	45
Tabulka 6: Hlášení atypických hodnot v programu LotusLab	53
Tabulka 7: Absolutní počty celkově vybraných a vyřazených osob	57
Tabulka 8: Test result variable(s): ICIS.....	59
Tabulka 9: Coordinates of the curve.....	60
Tabulka 10: Absolutní počty pacientů pro infekce vybraných systémů.....	61
Tabulka 11: Hodnocení parametru ICIS u močových infekcí	61
Tabulka 12: Hodnocení parametru ICIS u močových infekcí	62
Tabulka 13: Hodnocení parametru ICIS u infekcí dýchacích cest	62
Tabulka 14: Hodnocení parametru ICIS u infekcí dýchacích cest	62
Tabulka 15: Hodnocení parametru ICIS u septického stavu	63
Tabulka 16: Hodnocení parametru ICIS u septického stavu	63

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: SYSMEX XN 3000.....	39
Obrázek 2: SYSMEX DM 96.....	39
Obrázek 3: ACL TOP 700.....	40
Obrázek 4: BD BACTEC™ FX40.....	41
Obrázek 5: Vstupní krevní obraz I.....	64
Obrázek 6: Virocyty.....	64
Obrázek 7: Virocyty.....	64
Obrázek 8: Virocyty.....	64
Obrázek 9: Nekrobiózy.....	65
Obrázek 10: Nekrobiózy.....	65
Obrázek 11: Nekrobiózy.....	65
Obrázek 12: Pelgeroidní formy neutrofilních granulocytů.....	65
Obrázek 13: Pelgeroidní formy neutrofilních granulocytů.....	65
Obrázek 14: Pelgeroidní formy neutrofilních granulocytů.....	65
Obrázek 15: Vstupní krevní obraz II.....	66
Obrázek 16: Lymfocyty s hlubokými zářezy v jádře.....	66
Obrázek 17: Lymfocyty s hlubokými zářezy v jádře.....	66
Obrázek 18: Lymfocyty s hlubokými zářezy v jádře.....	66

Obrázek 19: Vstupní krevní obraz III	67
Obrázek 20: Erytrocyty infikované plasmodii	68

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Trend onemocnění spalničkami v ČSR a ČR v letech 1955-2018 14

Graf 2: 2: ROC křivka 58

SEZNAM PŘÍLOH

1. Žádost k zmocnění pro GDPR ve FN Motol pro použití citlivých dat pacientů
2. Stanovisko etické komise ve FN Motol k výzkumnému projektu diplomové práce
3. Standartní operační postup OKH FN Motol na vyšetření malárie
4. Anotace diplomové práce

1. Žádost zmocněnci GDPR ve FN Motol pro použití citlivých dat pacientů

Příloha č. 1

IOS_4/2018-1

Ohlašování změn pověřenci pro ochranu osobních údajů

Oznamovatel (útvár)	Oddělení klinické hematologie	NS	9910/01
Kontaktní osoba	Bc. Lukáš Kolařík, DiS.	Odp. osoba	Bc. Lukáš Kolařík, DiS.
Účel evidence: sběr dat pro verifikaci nové vyšetřovací metody na OKH + diplomová práce			
Rozsah zpracovávaných osobních údajů			
<input type="checkbox"/> Jméno <input type="checkbox"/> Datum narození <input type="checkbox"/> Rodné číslo <input type="checkbox"/> Bydliště Jiné osobní údaje: hodnoty leukocytů, ICIS parametru, C-reaktivního proteinu, prokalcitoninu, Mikrobiologické vyšetření a vstupní Dg.			
Rozsah zpracovávaných citlivých údajů			
<input type="checkbox"/> Národnost, rasový nebo etnický původ <input checked="" type="checkbox"/> Zdravotní stav <input type="checkbox"/> Sexuální život <input type="checkbox"/> Náboženství a filozofické přesvědčení <input type="checkbox"/> Politické postoje <input type="checkbox"/> Trestná činnost <input type="checkbox"/> Členství v polit. stranách, hnutích, odborových nebo zaměstnaneckých organizacích			
Údaje jsou zpracovávány se souhlasem subjektů			
<input type="checkbox"/> Ano <input checked="" type="checkbox"/> Ne			
Údaje budou získávány			
<input type="checkbox"/> Od subjektů <input type="checkbox"/> Z jiných zdrojů, uveďte: z laboratorního vyšetření na OKH, ÚLM			
Způsob zpracování			
<input type="checkbox"/> Zaměstnanci FN Motol <input checked="" type="checkbox"/> Externí zpracovatel, uveďte: + anonymizovaná data budou zpracována statistikem Lékařské fakulty v Olomouci, Univerzity Palackého <input type="checkbox"/> Manuální (papírová) evidence <input type="checkbox"/> Automatizovaná (elektronická) evidence <input type="checkbox"/> Lokální PC nebo server*, uveďte použitý SW*: <input type="checkbox"/> HW a SW spravovaný Úsekem informatiky*			
Popište umístění a způsob zabezpečení (např. použití hesla, šifrování, bezpečnostní zálohy nebo prostorové zabezpečení): získaná data budou anonymizována před předání statistikovy. Statistik nebude mít možnost nikterak spojit výsledky pacienta s příslušným pacientem			
Údaje budou zpřístupněny			
<input type="checkbox"/> Pouze v rámci FN Motol <input checked="" type="checkbox"/> I jiným subjektům, uveďte: v rámci diplomové práce na Thesis.cz + archiv LF UPOH <input type="checkbox"/> I do jiných států EU <input type="checkbox"/> I do jiných států mimo EU, uveďte:			
V Praze dne	11.3.2020	Vyplnil	Bc. Lukáš Kolařík, DiS. 147

Strana 1 z 1

2. Stanovisko etické komise v FN Motol k výzkumnému projektu diplomové práce



FN MOTOL

ETICKÁ KOMISE PRO MULTICENTRICKÁ KLINICKÁ HODNOCENÍ
FAKULTNÍ NEMOCNICE V MOTOLE
Ethics Committee for Multi-Centric Clinical Trials of the University Hospital Motol
✉ V úvalu 84, 150 06 Praha 5 ☎ 224 431 195 📠 224 431 196 🌐
etickakomise@fnmotol.cz
www.fnmotol.cz

STANOVISKO ETICKÉ KOMISE K VÝZKUMNÉMU PROJEKTU *OPINION OF THE ETHICS COMMITTEE ON RESEARCH PROJECT*

Název projektu / Full Title of the Project :

**Význam spolupráce hematologické laboratoře s urgentním příjmem v diagnostice
infekčních onemocnění**
- absolventská práce

Žadatel a řešitel / Applicant and Investigator :

**Bc. Lukáš Kolařík, DIS, Oddělení klinické hematologie Fakultní nemocnice v Motole,
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5**

Vedoucí práce / Supervisor:

**Doc. RNDr. Ivanka Matoušková, Ph.D., Ústav veřejného zdravotnictví. Lékařská fakulta
Univerzity Palackého, Olomouc**

EK vydává / EC issues: souhlasné stanovisko / favourable opinion

Datum přijetí / Date of Submission: **19. 3. 2020**

Jednací č. / Reference No.: **EK- 336/20**

Datum jednání EK / Date of EC Session: **20. 3. 2020**

Etická komise prohlašuje, že byla ustavena a pracuje podle jednacího řádu v souladu se správnou klinickou praxí (GCP) a platnými předpisy / *The Ethics committee hereby declares that it was established and operates in accordance with its Rules of Procedure in compliance with Good Clinical Practice and valid legal regulations.*

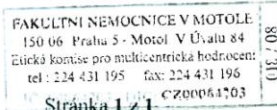
20. 3. 2020

MUDr. Vratislav Šmelhaus

Datum / Date

předseda/ Chairman

podpis předsedy EK / Signature of Chairman



3. **Standartní operační postup OKH FN Motol na vyšetření malárie**

Fakultní nemocnice v Motole

V Úvalu 84, 150 06 Praha 5



Standardní operační postup – metodický č. IISOPM_1OKH_M03/2014-4

Mikroskopické vyšetření na malárii

Určení: Oddělení klinické hematologie Fakultní nemocnice v Motole

	Zpracoval:	Garant:	Schválil:
Organizační celek	Oddělení klinické hematologie	Oddělení klinické hematologie	Oddělení klinické hematologie
Funkce	Úseková laborantka	Odborný pracovník – lékař	Vedoucí laboratoře
Jméno			

Účinnost VSOPM od: 4.9.2015
Účinnost této verze od: **3. 6. 2020**
Doba platnosti: bez omezení, revize 1x ročně
Verze: **4**
Počet stran: 11
Počet příloh: 0
Vazba na akreditační standardy: ČSN ISO 15189:2013, SAK
Umístění originálu: LotusLab

FN Motol	Oddělení klinické hematologie	
Mikroskopické vyšetření na malárii		
IISOPM 1OKH M03/2015		
Datum vydání: 17. 6. 2020	Verze: 4	Strana 3 (celkem 11)

Obsah

1	Abstrakt	4
2	Kódy názvy, definice a použité zkratky	4
3	Princip metody	4
4	Místo provádění metody	5
5	Bezpečnostní aspekty	5
6	Přeanalytická fáze	5
6.1	Odběr primárního vzorku a transport	5
6.2	Manipulace se vzorky	6
6.3	Omezení	6
7	Přístroje a pomůcky	6
8	Reagencie	7
9	Spotřební materiál	8
10	Příprava k činnosti	8
11	Pracovní postup	8
12	Charakteristika spolehlivosti	8
12.1	Kalibrace a návaznost	8
12.2	Validace metod	8
12.3	Interference a zkřížené reakce	9
12.4	Analytické znaky	9
13	Referenční rozmezí a kritické hodnoty	9
14	Postanalytická fáze	9
15	Řízení kvality	10
16	Jiné	10
17	Související předpisy, literatura	10
18	Závěrečná ustanovení	11

Přílohy:

-

Klíčová slova:

malárie, mikroskopický nátěr, mikroskop

FN Motol	Oddělení klinické hematologie	
Mikroskopické vyšetření na malárii		
IISOPM_1OKH_M03/2015		
Datum vydání: 17. 6. 2020	Verze: 4	Strana 5 (celkem 11)

4 Místo provádění metody

OKH – 1. patro, budova G

Laboratoř speciální morfologie, laboratoř č. dveří 10713, 10712

Hematologická laboratoř – úsek analyzátorů č. dveří 10749

5 Bezpečnostní aspekty

Nebezpečné složky:

May – Grünwald – hořlavé, toxické

Giemsa – Romanowski – hořlavé, toxické

Diethylether – hořlavé, nebezpečné při vděchnutí, nebezpečné při kontaktu s kůží

S každým vzorkem je třeba nakládat jako s potenciálně infekčním materiálem a je třeba se řídit obecně platnými bezpečnostními předpisy, které jsou v plné kompetenci FN Motol, dále pak provozním řádem OKH.

Bezpečnou likvidaci odpadů provádí laboratoř v souladu s místními předpisy a postupy pro řízení odpadů (*směrnice č. 23/2005 o nakládání s odpady, směrnice o práci s hořlavinami č. 14/2002 a ostatní směrnice související s environmentálními aspekty*).

6 Preanalytická fáze

6.1 Odběr primárního vzorku a transport

Pacient: rutinní odběr, vpich plynulý, krátkodobé zatažení paže. Odebere se žilní krev po rysku (popř. kapilární krev) do speciálních odběrových nádobek z umělé hmoty s chelatonátem trojdraselným (1,5 g K₂EDTA / 1 l vzorku, zkumavky typ Vacuette s fialovým uzávěrem, mikrovette s fialovým uzávěrem).

Vzorek se jemně promísí opakovaným převrácením nádoby (netřepat!).

Doporučení: pro venózní náběry používat uzavřený odběrový systém určený pro krevní obraz, pozor na expiraci odběrových nádobek!

Do laboratoři analýz krevních obrazů je vyšetřovaný materiál dodán z úseku příjmu spolu se žádankami s laboratorním číslem dne, zkumavky jsou polepeny čárovým kódem s laboratorním číslem dne, tak, aby zůstalo čitelné příjmení a jméno pacienta, seřazen ve stojánkách.

Před vlastní analýzou je provedena druhá kontrola shody materiálu se žádankou, kontrola kvality

Strana 5 z 11

FN Motol	Oddělení klinické hematologie	
Mikroskopické vyšetření na malárii		
IISOPM 1OKH M03/2015		
Datum vydání: 17. 6. 2020	Verze: 4	Strana 6 (celkem 11)

odběru (resp. označení zkumavky čárovým kódem).

Následuje řádné promíchání. Při ručním vkládání vzorků nutná minimálně 20x převrátit zkumavku v ruce, u kapilárních odběrů „procvrkat“. V uzavřeném automatickém systému je toto zajištěno funkcemi analyzátoru. Dále jsou vzorky dle požadovaného vyšetření zpracovávány.

6.2 Manipulace se vzorky

Vzorky se uchovávají při laboratorní teplotě, stabilita mimo krevních destiček 8 hodin.

Je nezbytné dopravit odebraný materiál do laboratoře co nejdříve, nejpozději do 3 hodin po odběru (vzhledem ke stabilitě krevních destiček).

Vzorky je třeba analyzovat nejdříve 30 minut po odběru - nezbytné pro vyrovnání koncentračních gradientů mezi vnějším a vnitřním prostředím krevních buněk po přidání antikoagulačního reagensu.

Po zpracování jsou změřené vzorky skladovány při laboratorní teplotě ve stojánku v pořadí měření.

Na konci pracovní doby jsou zlikvidovány v sanitární místnosti.

6.3 Omezení

Ze zpracování se vyřadí :

1. sražený vzorek
2. chybně uzavřená zkumavka
3. množství materiálu u venosního odběru pod 0,5ml, u kapilárních odběrů pod 250 μ l
4. odběr a transport v nevhodném médiu (led, voda)
5. není-li dodržena směrnice Příjem biologického materiálu

7 Přístroje a pomůcky

- **Mikroskop**
Laboratoř speciální morfologie, laboratoř č. dveří 10712, laboratoř č. dveří 10713

FN Motol	Oddělení klinické hematologie	
Mikroskopické vyšetření na malárii		
IISOPM IOKH M03/2015		
Datum vydání: 17. 6. 2020	Verze: 4	Strana 7 (celkem 11)

8 Reagencie

Reagencie	Množství v l balení	Výrobce	Dodavatel	Skladování
Imerzní olej pro mikroskopii	500 ml	Merck	Merck	Při pokojové teplotě laboratoř č. 10712, vedle barvicího pultru
Diethylether	900 ml	Penta, ČR	Penta, ČR	Pracovní balení laboratoř č. 10712 lednice Calex 4°C, zásobní balení - sklad chemikálií vedle příjmu
RAL-barvicí roztok May-Grünwald	2,5l	Sysmex corporation	Sysmex corporation	Sucho, temno teplota +15 - +25°C
RAL- barvicí roztok Giemsa	1l	Sysmex corporation	Sysmex corporation	Sucho, temno teplota +15 - +25°C
RAL-Buffer pH=7.0	5l	Sysmex corporation	Sysmex corporation	Zadná zvláštní opatření
Čistící roztok pro SP	5l	Sysmex corporation	Sysmex corporation	Zadná zvláštní opatření
Cellpack	20l	Sysmex corporation	Sysmex corporation	Zadná zvláštní opatření
Destilovaná H ₂ O	Výroba na destilačním přístroji v místnosti 103 S-barcode 10757			

Reagencie jsou uloženy v místnosti č. 02-10406/01 , hořlavé reagencie jsou uskladněny v kovové skříni.

FN Motol	Oddělení klinické hematologie	
Mikroskopické vyšetření na malárii		
IISOPM IOKH M03/2015		
Datum vydání: 17. 6. 2020	Verze: 4	Strana 8 (celkem 11)

9 Spotřební materiál

- Podložní, rozčtřerová sklička, popisovací materiál
- Gázové čtverce
- Buničité čtverce
- Lipová špejle

10 Příprava k činnosti

Zapojit do zásuvky transformátor mikroskopu.

11 Pracovní postup

Příprava nátěru nativní krve viz příslušná pracovní instrukce. Zhotovit také tlustou kapku a nabarvit dle příslušné pracovní instrukce.

- Žádanky s výsledky a obarvenými preparáty odebrat úsek rutinní morfologie.
- Provést kontrolu shody materiálu se žádankou.
- Zapnout mikroskop páčkou na transformátoru, nasvícený mikroskop je připraven k použití.
- Na obarvený nátěr lipovou špejli kápnout kapku imerzního oleje a vložit do mikroskopu.
- Nátěr hodnotit při 600-1000 násobném zvětšení. Meandrovitě prohlížet obarvený nátěr.
- Zjistit přítomnost plasmodií v erytrocytech.
- Výsledek zapsat do příslušné žádanky a výsledek uvolnit do laboratorního informačního systému.

12 Charakteristika spolehlivosti

12.1 Kalibrace a návaznost

U této metody nelze stanovit

12.2 Validace metod

U této metody nelze stanovit

FN Motol	Oddělení klinické hematologie	
Mikroskopické vyšetření na malárii		
IISOPM 1OKH M03/2015		
Datum vydání: 17. 6. 2020	Verze: 4	Strana 9 (celkem 11)

12.3 Interference a zkřížené reakce

Nedostatečně promíchaná krev
Nekvalitně provedený nátěr
Nekvalitně obarvený nátěr
Odběr krve mimo febrilní špičku

12.4 Analytické znaky

Nátěr se vyšetřuje pod mikroskopem nejprve v tlusté kapce a pak v zeslabené části nátěru z automatu SP.

13 Referenční rozmezí a kritické hodnoty

Fyziologické hodnoty: negativní nález

14 Postanalytická fáze

Dokumentace, zpracování a hodnocení dat

Nátěr se hodnotí pod mikroskopem při 600 - 1000 násobném zvětšení. Zjišťujeme přítomnost plasmodií v erytrocytech.

Nátěry jsou uchovávány minimálně 14 dní na pracovním stole v laboratořích: Laboratoř speciální morfologie, č. dveří 10712, 10713 pro případnou zpětnou kontrolu.

Po přihlášení osobním heslem do počítače je výsledek je zapsán do laboratorního informačního systému zvolením „F5“, identifikační číslo vzorku.

Do výsledku v počítači zadáme na matici mikroskopické hodnocení přítomnosti plasmodií a napíšeme kód „-16“pro negativní nález

„ -15“pro pozitivní nález

Uložení „Alt – X“ .

Každý výsledek obsahuje :

- 1) Základní údaje o pacientovi (příjmení, jméno, rodné číslo, diagnózu, zkratku oddělení žadatele, datum, laboratorní číslo dne, čas příjmu vzorku)
- 2) Název metody
- 3) Negativní nebo pozitivní nález plasmodia (KO, KO+dif nebo KO+dif+ret)
- 4) Jména pracovníků, kteří vyšetření prováděli
- 5) Jména pracovníků, kteří vyšetření kontrolovali

Strana 9 z 11

FN Motol	Oddělení klinické hematologie	
Mikroskopické vyšetření na malárii		
SOPM IOKH M03/2015		
Datum vydání: 17. 6. 2020	Verze: 4	Strana 10 (celkem 11)

6) Jméno lékaře, který provedl lékařskou kontrolu . Číslo metody podle sazebníku

8) Cenu vyšetření v bodech a korunách

Způsob vydávání výsledků

Výsledek je po odsouhlasení v laboratoři přístupný oddělení, které si vyšetření vyžádalo v nemocniční síti. Všechny výsledky se po vyúčtování pojišťovně uloží do tzv. historické databáze informačního systému UNIS.

Žádanky jsou uchovávány podle čísel a dnů po dobu, kterou vyžaduje pojišťovna pro zpětnou kontrolu, po té jsou skartovány.

Dokumentace

Denně je zobrazena a uložena Hlavní kniha (dle jmen pacientů podle abecedy), všechna vyšetření a výsledky. Žádanky jsou dle skartačního řádu skladovány v archivu.

Všechna data jsou denně zálohována v historické databázi LISu.

15 Řízení kvality

Vzhledem k tomu, že je to vyšetření speciální a velmi řídké (hodnotí ho lékař nebo úsekový laborant), interní kontrola kvality se neprovádí.

16 Jiné

Toto vyšetření není významné pro diagnózu malárie, nutno doplnit vyšetřením na parazitologii.

17 Související předpisy, literatura

- 1) Havlík et al.: Infekční nemoci, Galén, Praha 2002, s.149
- 2) Hrubíško M. a kol.: Hematologie a krevní transfúze, Hematologie, 1980, s.48
- 3) Friedmann B.: Hematologie v praxi, 1994, s.117
- 4) Penka M., Krahulcová E., Matýšková M. : Hematologie, Brno 1994

FN Motol	Oddělení klinické hematologie	
Mikroskopické vyšetření na malárii		
IISOPM IOKH M03/2015		
Datum vydání: 17. 6. 2020	Verze: 4	Strana 11 (celkem 11)

18 Závěrečná ustanovení

Tento postup nabývá účinnosti dne 17. 6. 2020

Zpracoval:

V Praze dne 17. 6. 2020

Garant:

V Praze dne 17. 6. 2020

Schválil:

V Praze dne 17. 6. 2020

4. Anotace diplomové práce

ANOTACE

Jméno a přímení:	Lukáš Kolařík
Pracoviště:	Katedra veřejného zdravotnictví
Vedoucí práce:	doc. RNDr. Ivanka Matoušková, Ph.D.
Rok obhajoby:	2021

Název diplomové práce:	Význam spolupráce hematologické laboratoře s urgentním příjmem v diagnostice infekčních onemocnění
Název diplomové práce v anglickém jazyce:	Importance of cooperation of hematology laboratory with an Emergency department in diagnostics of infectious diseases
Anotace diplomové práce:	<p>Diplomová práce navrhuje spolupráci hematologické laboratoře a urgentního příjmu v oblasti rychlejší diagnostiky infekčního agens. Práce obsahuje dva cíle: první cíl se zaměřuje na telefonické hlášení atypického morfologického nálezu při vyšetření periferní krve vedoucího k možnému stanovení vyvolávajícího infekčního agens. Demonstrace výsledků byla provedena pomocí dat z hlášení atypických morfologických nálezů a výsledků mikrobiologického kultivačního vyšetření. Druhý cíl diplomové práce se zaměřuje na implementaci nového parametru (ICIS) ukazujícího na bakteriální původ infekce. Hodnocení nového parametru bylo provedeno statistickým porovnáním s hodnotami C-reaktivního proteinu u pacientů přijatých na urgentní příjem dospělých ve Fakultní nemocnici v Motole.</p>
Klíčová slova:	Virocyty, hematologické analyzátoři, Sysmex, iRBC, detekce malárie, plasmodium, ICIS, bakteriální infekce
Přílohy vázané v práci:	<ol style="list-style-type: none">1) Žádost zmocněnci pro GDPR ve FN Motol pro použití citlivých dat pacientů2) Souhlas etické komise FN Motol3) Standardní operační postup pro vyšetření malárie OKH FN Motol
Rozsah práce:	105 stran
Jazyk práce:	Český