

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Ústav veřejného zdravotnictví



**Epidemiologie akutních leukémií, surveillance rezistentních mikroorganismů
u pacientů s akutními leukémiemi**

**Epidemiology of Acute Leukemias, Surveillance of Resistant Microorganisms
among Patients with Acute Leukemias**

Disertační práce

Mgr. Simona Zatloukalová

Olomouc 2021

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Ústav veřejného zdravotnictví



**Epidemiologie akutních leukémií, surveillance rezistentních mikroorganismů
u pacientů s akutními leukémiemi**

Disertační práce

Vypracovala:

Mgr. Simona Zatloukalová

Školitel:

Doc. RNDr. Ondřej Holý, Ph.D.

Studijní obor:

Hygiena, preventivní lékařství a epidemiologie

Datum odevzdání práce:

Prohlášení

Prohlašuji, že tato předložená práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerou literaturu a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, v práci řádně cituji a uvádím v seznamu použité literatury.

V Olomouci dne

.....

Mgr. Simona Zatloukalová

Poděkování

Na tomto místě velice děkuji svému školiteli doc. RNDr. Ondřeji Holému, Ph.D. za příkladné vedení, cenné rady, vstřícný přístup a velkou podporu po dobu celého mého studia i při psaní disertační práce. Velký dík za velkou podporu patří rovněž celému kolektivu dřívějšího Ústavu preventivního lékařství, nyní Ústavu veřejného zdravotnictví Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci. Za pomoc s výzkumem v rámci disertační práce velice děkuji také pracovníkům Ústavu mikrobiologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci, dále Ing. Kamile Fačevicové, Ph.D. a MUDr. Martinu Čerňanovi.

Studie byla podpořena *Research Support Foundation Vaduz – Comprehensive Study at the Issue of Oncological Diseases a IGA_LF_UP_2016_022.*

Bibliografická identifikace

Autor:	Mgr. Simona Zatloukalová
Název práce:	Epidemiologie akutních leukémií, surveillance rezistentních mikroorganismů u pacientů s akutními leukémiemi
Typ práce:	Disertační práce
Ústav:	Ústav veřejného zdravotnictví
Školitel:	Doc. RNDr. Ondřej Holý, Ph.D.
Rok obhajoby:	2021

Abstrakt

Akutní leukémie jsou závažná maligní onemocnění hematopoézy. Dle postižené buněčné linie se rozdělují na akutní leukémie myeloidní, lymfoblastické a nejasného původu. Příčiny jejich vzniku jsou pouze málo známé. Prokázanými rizikovými faktory jsou věk, ionizující záření nebo Downův syndrom. Kromě nich byla popsána celá řada dalších vlivů či expozic, které se pravděpodobně uplatňují při rozvoji AL a až několikanásobně zvyšují riziko vzniku těchto hematologických malignit. Jedná se např. o fyzikální nebo chemické faktory, genetické a familiární predispozice či další onemocnění.

Pacienti s diagnózou akutní leukémie jsou vysoce imunosuprimovaní, což je dáno podstatou jejich onemocnění i náročnou komplexní léčbou, dále jsou často hospitalizovaní a jsou jim zaváděny četné nefyziologické vstupy. Je tak u nich vysoké riziko vzniku závažných infekcí. Tyto infekce často způsobují rezistentní enterobakterie schopné produkce enzymů β -laktamáz. Selhání antibiotické léčby tak vede ke zvýšené morbiditě i mortalitě pacientů s akutními leukémiemi v důsledku infekčních komplikací.

Cílem práce bylo provedení surveillance enterobakterií a jejich epidemiologických charakteristik u pacientů hospitalizovaných na Hemato-onkologické klinice Fakultní nemocnice Olomouc.

Do studie bylo zapojeno 46 pacientů s akutní leukémií, z toho 9 pacientů mělo diagnózu akutní lymfoblastické leukémie, 36 pacientů mělo diagnózu akutní myeloidní leukémie a 1 pacient měl diagnózu akutní leukémie nejasného původu. V průběhu 12 měsíců (od září 2015 do srpna 2016) byly od těchto pacientů získávány vzorky klinického materiálu, u nichž byla provedena základní mikrobiologická a molekulárně-biologická diagnostika.

Celkově bylo od pacientů s akutními leukémiemi získáno 143 izolátů enterobakterií pocházejících z 9 typů klinického materiálu. Nejvíce prevalujícími enterobakteriemi byly *Escherichia coli* (41x), *Klebsiella pneumoniae* (33x), *Enterobacter cloacae* (19x) a *Klebsiella oxytoca* (12x), dále pak bylo identifikováno dalších 15 druhů enterobakterií. Mnohé izoláty vykazovaly rezistenci na testovaná antibiotika a byly fenotypově i genotypově identifikovány jako producenti různých typů β -laktamáz. Tyto kmeny vyskytovaly se v různých časových intervalech u vícero pacientů a na všech odděleních kliniky.

Pacienti s akutní leukémií jsou kolonizováni rezistentními enterobakteriemi, často schopnými produkce různých typů β -laktamáz. To pro ně představuje potenciální nebezpečí vzniku závažných infekcí. Výskyt těchto rezistentních zástupců z čeledi *Enterobacteriaceae* je v dnešní době závažným globálním problémem veřejného zdraví se zvyšujícím se výskytem. Tato fakta a vysoká imunosuprese jsou faktory, které hematologické pacienty řadí do zvlášť ohrožené skupiny, v níž jsou aktivní surveillance a zavedení a efektivní management preventivních opatření naprosto klíčové.

Klíčová slova

akutní leukémie – *Enterobacterales* – antibiotická rezistence – β -laktamázy – infekce spojené se zdravotní péčí – prevence

Abstract

Acute leukaemias (AL) are malignant diseases of haematopoiesis, traditionally classified according to the affected cell line as acute lymphoblastic (ALL) and acute myelogenous leukaemia. The causes of AL are partly unknown. Established risk factors are age, ionizing radiation or Down's syndrome, and a number of potential risk factors have been described

that increase the risk of these haematological malignancies even several times, such as physical factors, chemicals, genetic and familial predispositions or other diseases.

Due to the disease it self and intensive complex therapy patients with acute leukemia are highly immunosupressed, they are often institutionalized and they have many non-physiological inputs. Therefore, they are in high risk of severe infections. These infections are often caused by resistant enterobacteria, which are able to produce enzymes β -lactamases. Failure of antibiotic treatment leads to increased morbidity and mortality of these patients due to infectious complications.

The aim of this study was to carry out active surveillance of enterobacteria, causal agents of these infections, and their epidemiological characteristics in patients with acute leukemia staying in the Department of Hemato-Oncology, University Hospital Olomouc.

The study comprised 46 patients with acute leukemia, of whom 36 had acute myeloid leukemia, nine had acute lymphoblastic leukemia and one had mixed-phenotype acute leukemia. Over a period of 12 months (from September 2015 to August 2016), clinical samples were collected from these patients and analyzed using standard microbiological and molecular biological tests.

Total 143 isolates obtained from 9 types of clinical samples were included in the study. The most prevalent species were *Escherichia coli* (41 isolates), *Klebsiella pneumoniae* (33), *Enterobacter cloacae* (19) and *Klebsiella oxytoca* (12), another 15 species were identified. Many strains were resistant to tested antibiotics and were both phenotypically and genotypically identified as producers of different types of β -lactamases. These strains were identified over longer period of time in different patients.

Patients with acute leukemia are colonized with resistant enterobacteria often able to produce different types of β -lactamases and carbapenemases and thus posing a risk of severe infections. Today, these resistant members of the family Enterobacteriaceae are an increasingly important global public health issue. These facts and high immunosuppression are factors that make hemato-oncological patients particularly vulnerable. Therefore, active surveillance and effective management of preventive measures are of crucial importance.

Key words

Acute leukemia – Enterobacterales – antibiotic resistance – β -lactamases – hospital-acquired infections – prevention

Obsah:

1	ÚVOD.....	13
1.1	Charakteristika akutních leukémií	13
1.2	Epidemiologie leukémií	15
1.2.1	Výskyt leukemických onemocnění v Asii a Oceánii	18
1.2.2	Výskyt leukemických onemocnění v Austrálii	18
1.2.3	Výskyt leukemických onemocnění v Africe.....	19
1.2.4	Výskyt leukemických onemocnění v Americe.....	20
1.2.5	Výskyt leukemických onemocnění v Evropě.....	23
1.2.6	Výskyt leukemických onemocnění v České republice	24
1.3	Etiologické a rizikové faktory akutních leukémií.....	29
1.3.1	Rizikové faktory akutní myeloidní leukémie	32
1.3.2	Rizikové faktory akutních lymfoblastických leukémií	38
1.4	Problematika infekčních komplikací léčby akutní leukémie	45
1.4.1	Enterobakterie jako původci infekcí u pacientů s akutními leukémiemi	48
1.5	Problematika antibiotické rezistence enterobakterií	49
2	CÍLE PRÁCE.....	54
3	MATERIÁL A METODIKA	55
3.1	Kultivace a identifikace mikroorganismů	55
3.2	Identifikace pomocí MALDI-TOF a typizace.....	56
3.2.1	Příprava vzorku	56
3.2.2	Analýza dat	57
3.3	Stanovení citlivosti k vybraným antibiotikům pomocí mikrodiluční metody	58
3.4	Fenotypová identifikace kmenů produkujících širokospektré, AmpC β-laktamázy a karbapenamázy	58
3.5	Genetická detekce vybraných typů β-laktamáz u izolátů enterobakterií	59
3.6	Selekce vzorků a statistická analýza	60
4	VÝSLEDKY.....	61
4.1	Vyšetřovaný soubor.....	61
4.2	Bakteriální nález	62
4.3	Stanovení citlivosti na antibiotika metodou minimální inhibiční koncentrace	65
4.4	Fenotypová identifikace kmenů produkujících širokospektré, AmpC β-laktamázy a karbapenamázy	65
4.5	Výskyt genů kódujících produkci vybraných typů β-laktamáz	67
4.6	Statistická analýza	69
4.7	Charakteristika enterobakterií z jednotlivých typů klinického materiálu.....	70
4.7.1	Fekální kolonizace	73
4.8	MALDI-TOF.....	74

5	DISKUZE	75
5.1	Klinický význam enterobakterií u pacientů s akutní leukémií	76
5.2	Klinický význam nalezených zástupců Enterobacteriaceae	77
5.2.1	<i>Klebsiella spp.</i>	77
5.2.2	<i>Escherichia spp.</i>	78
5.2.3	<i>Enterobacter spp.</i>	79
5.2.4	Další zástupci čeledi Enterobacteriaceae s minoritním záchytem	80
5.3	Fekální kolonizace pacientů s akutní leukémií rezistentními enterobakteriemi	83
5.4	Vliv léčby	84
5.5	Šíření enterobakterií mezi pacienty s akutní leukémií	86
5.5.1	Pacient jako zdroj	86
5.5.2	Další osoby na oddělení jako zdroje	87
5.5.3	Prostředí jako zdroj	88
6	PREVENCE	90
6.1	Prevence rozvoje akutní leukémie	90
6.2	Prevence rozvoje infekční komplikace způsobené multirezistentním agens u hematoonkologických pacientů	93
6.2.1	Uvážlivé užívání antibiotik, opatření v antibiotické politice	94
6.2.2	Správná klinická praxe omezující riziko vzniku endogenních infekcí	95
6.2.3	Standardní opatření a hygiena	95
6.2.4	Vyhledávání případů a screening	100
6.2.5	Izolační opatření	101
6.2.6	Dekolonizace nosičů	102
6.2.7	Strategie při sporadickém, endemickém a epidemickém výskytu	103
6.2.8	Psychologické a etické aspekty	104
7	ZÁVĚR	105
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	107
	SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	127
	SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK A GRAFŮ	130
	SEZNAM PUBLIKACÍ	132
	PŘÍLOHY	133

1 Úvod

Akutní leukémie (AL) jsou heterogenní skupina maligních hematologických onemocnění, které se liší biologickými vlastnostmi, klinickým i laboratorním nálezem, prognózou i odpovědí na terapeutický zásah. Jejich podkladem je maligní transformace hematopoetické kmenové buňky a jsou charakterizovány nekontrolovatelnou proliferací nezralých leukemických elementů, tzv. blastů v kostní dřeni, ztrátou jejich schopnosti vyžrávat a útlakem normální hematopoézy [1, 2].

První kazuistiky pacientů s leukémií se v medicínské literatuře začínají objevovat v polovině 20. let 19. století. Ve svých pracích je popsali např. A. Velpeau (1825), A. Donne (1844) nebo J. H. Bennet a D. Craigie (1845), kteří u pacientů pozorovali kromě jiných klinických příznaků změny barvy a konzistence krve. Tuto leukocytózu, která byla permanentní a nebyla provázená infekcí či zánětlivým stavem, označili jako leukocytémie. Samotný termín leukémie pak zavádí Virchow v roce 1847 [3]. Původ normální krvinečky, a tedy i leukémie v kostní dřeni je odhalen v první polovině 19. století, s rozvojem dalšího poznání těchto onemocnění i s pokrokem medicíny je postupně nastoleno i jejich tradiční dělení na akutní a chronickou, lymfoblastickou a myeloidní [4].

1.1 Charakteristika akutních leukémií

AL vzniká v důsledku maligní transformace hematopoetické kmenové buňky – dle postižené buněčné linie se onemocnění dělí na akutní myeloidní leukémii a akutní lymfoblastickou leukémii.

Akutní myeloidní leukémie (AML) vychází z myeloidní buňky, která za normálních okolností dává vzniknout erytrocytům, trombocytům, monocytům, neutrofilům, eoziofilům a bazofilům.

Jednotlivé typy AML jsou široce heterogenní a k jejich rozlišení se využívají klasifikační systémy, např. konsenzus francouzských, amerických a britských odborníků (FAB) z roku 1976, který je založen na morfologickém a cytochemickém hodnocení blastů, nebo aktuálně nová klasifikace Světové zdravotnické organizace (*World Health Organization = WHO*) z roku 2016, která rozlišuje jednotlivé podtypy AL dle jejich cytogenetických a molekulárně genetických specifikací [2, 5].

Oproti tomu **akutní lymfoblastická leukémie** (ALL) vychází z progenitoru pro lymfatickou linii nebo z již vyvráležších lymfatických buněk. Dle toho, jaké lymfoidní buňky jsou postiženy, se ALL rozděluje na leukémii B lymfoblastickou (B-ALL, postižena je B buněčná vývojová linie) a T lymfoblastickou (T-ALL, postižena je T buněčná vývojová linie) [1, 2].

Klinické projevy AML i ALL jsou zpočátku nespecifické a odvíjejí se od cytopenie v periferní krvi. Erytrocytopenie a anemický syndrom se projevují únavou, sníženým fyzickým výkonem, dušností či závratěmi. Trombocytopenie vyvolává krvácivé projevy, jako jsou petechie, epistaxe, snadná tvorba modřin nebo krvácení z dásní. Neutropenie vede k horečkám a častějšímu výskytu infekcí, jejichž původci bývají i oportunní mikroorganismy a mohou být rekurentní. Další příznaky se odvíjejí od leukemické infiltrace extramedulárních orgánů, např. kůže, jater a sleziny, centrálního nervového systému, mediastina (především u ALL), varlat apod. [1, 2, 6].

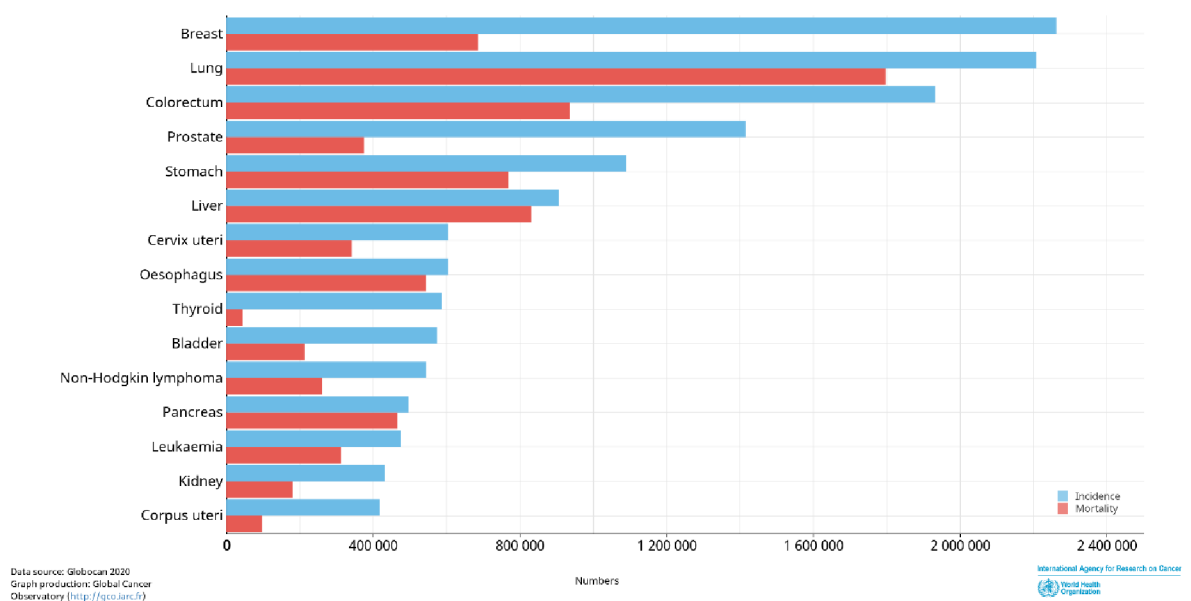
AML i ALL mají řadu podtypů, které se liší klinicky, morfologicky, geneticky i prognosticky. Podrobnější klasifikace jednotlivých typů je založena na hodnocení imunofenotypu, cytogenetických změn a molekulárně genetického profilu blastů. Jejich diagnostika se opírá o vyšetření krevního obrazu a aspirátu kostní dřeně. Cytologické vyšetření odhalí zpravidla hypercelulární kostní dřeň, v níž alespoň 20 % jaderných buněk tvoří uniformní populace

leukemických blastů. Jejich příslušnost k lymfoblastické nebo myeloidní linii a fenotyp se dále určuje pomocí cytochemických a imunofenotypizačních metod. Diagnostiku doplňují vyšetření cytogenetická a molekulárně genetická [2].

Vzácným typem AL je **akutní leukémie nejasného původu**, u níž není možné přesně odlišit, zda je její původ v lymfoblastické nebo myeloidní buněčné linii. Klinicky se tato onemocnění nijak specificky neodlišují od jiných typů AL. Patří zde akutní leukémie smíšeného fenotypu (*mixed-phenotype acute leukemia = MPAL*) nebo akutní leukémie nediferencovaná (*acute undifferentiated leukemia = AUL*) [1].

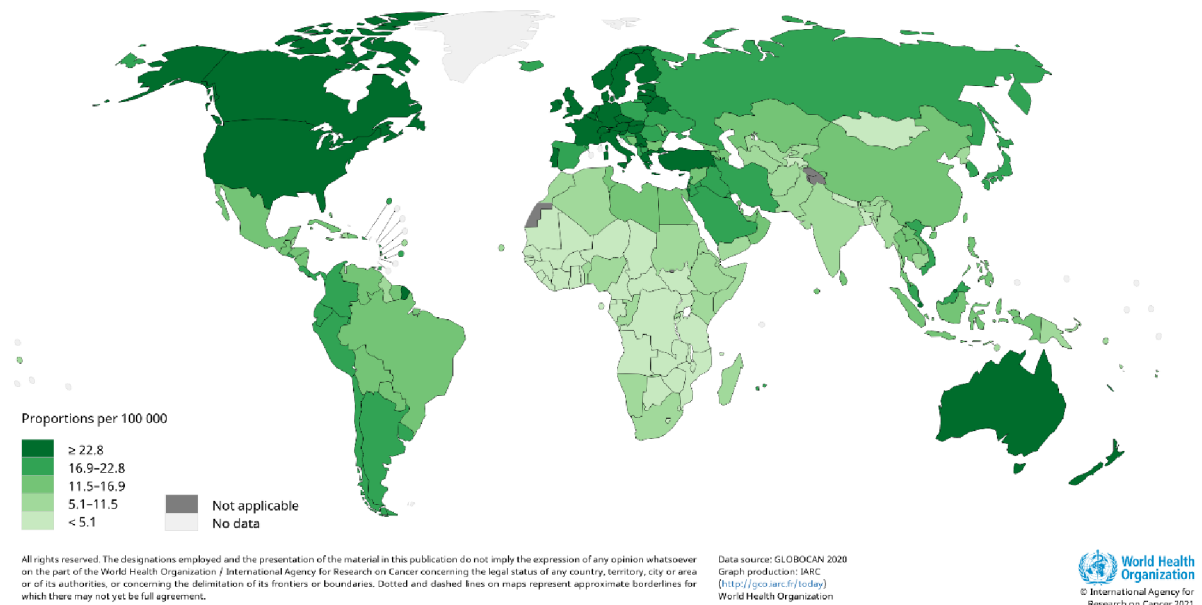
1.2 Epidemiologie leukémií

Leukémie (akutní i chronické) patří mezi 15 nejčastějších onkologických onemocnění u mužů i žen. Dle odhadů Global Cancer Observatory (GCO) bylo za rok 2020 celosvětově diagnostikováno 474 519 nových případů leukémií [7], což z nich činí 13. nejčastější nádorové onemocnění v tomto roce (graf 1).



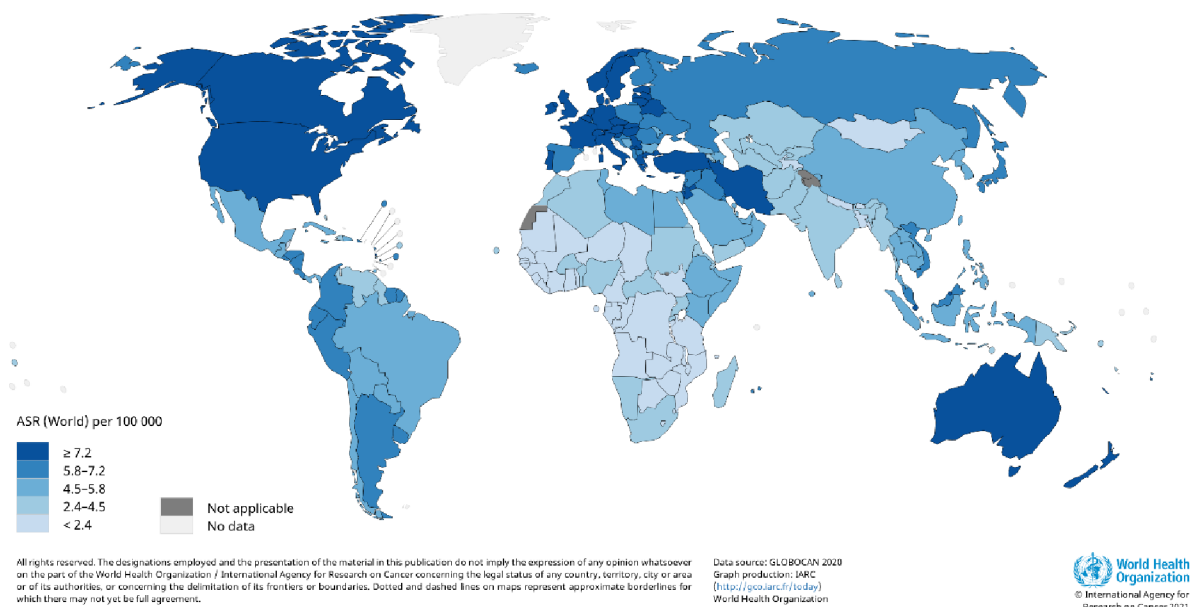
Graf 1 Odhadovaná Incidence a mortalita leukémií ve světě v roce 2020, obě pohlaví (zdroj: [8])

Z pohledu prevalence za 5 let je celková zátěž leukemickými onemocněními ve světě odhadována na 1,34 milionu nemocných. Nejvíce je těmito onemocněními zatížena Asie (více než 641 tis. osob; 48,6 %) a Evropa (více než 292 tis. osob; 21,8 %), následuje oblast Severní Ameriky (více než 207 tis. osob; 15,5 %), Latinská Amerika a oblast Karibiku (více než 108 tis. osob; 8,1 %), Afrika (více než 73 tis. osob; 5,5 %) a Oceánie (více než 17 tis. osob; 0,5 %) [7]. Při zhodnocení relativních údajů věkově standardizované (*age standardized = AS*) prevalence za 5 let jsou leukemickými onemocněními postiženy především země Severní Ameriky, Evropy a Austrálie (obrázek 1).



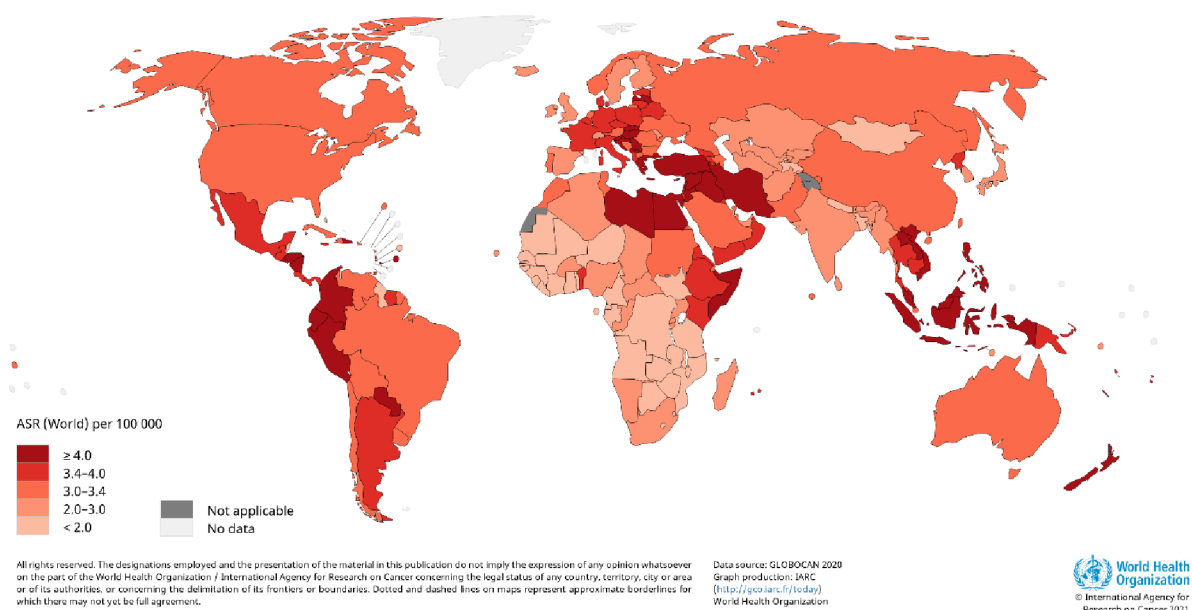
Obrázek 1 AS prevalence leukémií (na 100 tis. obyvatel) za 5 let ve světě v roce 2020, obě pohlaví (zdroj: [8])

Odhadovaná AS incidence leukemií ve světě byla ve stejném roce 5,4/100 tis. obyvatel [8]. Mezi lokality s nejvyšší incidencí se v roce 2020 zařadily země Severní Ameriky, Austrálie a Nového Zélandu, Evropy a Blízkého Východu (obrázek 2).



Obrázek 2 AS incidence leukémií (na 100 tis. obyvatel) ve světě v roce 2020, obě pohlaví (zdroj: [8])

Z pohledu mortality na leukemická onemocnění (obrázek 3) je zvýšená úmrtnost v některých státech Afriky (Lýbie, Egypt, Somálsko, Etiopie nebo Keňa), v Oceánii, na Novém Zélandu, na Blízkém Východě, v jižní Evropě (především v některých státech na Balkáně), ve Střední Americe (Honduras, Nikaragua) a Jižní Americe (Kolumbie, Ekvádor, Peru, Paraguay).



Obrázek 3 AS mortalita leukémií (na 100 tis. obyvatel) ve světě v roce 2020, obě pohlaví (zdroj: [8])

1.2.1 Výskyt leukemických onemocnění v Asii a Oceánii

V asijských zemích se dle odhadů GCO AS incidence leukemií pohybovala v roce 2020 v rozmezí 1,6–8,9/100 tis. Nejméně je leukémiemi zatížena populace Tadžikistánu, Bangladéše či Nepálu (1,6–2,0/100 tis.), naopak nejvíce obyvatelstvo Singapuru a Izraele (8,6–8,9/100 tis.) či Turecka, Bruneje, Iránu nebo Jordánska (7,4–7,7/100 tis.). AS mortalita v asijských státech ve stejném roce dosahovala rozmezí 1,63–5,6/100 tis. Nejvyšších hodnot dosahuje především ve státech Blízkého Východu, např. v Turecku, Sýrii, Jordánu, Izraeli či Iránu (5,6–4,8/100 tis.) a ve státech jihovýchodní Asie Laosu, Vietnamu a Malajsie (4,4–4,7/100 tis.) [8].

Výskyt AL v Asii vykazuje významné rozdíly – v rámci věkově standardizované incidence dětské ALL (0–19 let věku) pozorujeme nejvyšší i nejnižší píky. Těch nejvyšších dosahuje stát Singapur v jihovýchodní Asii s incidencí 3,8/100 tis. obyvatel ročně, naopak nejnižší incidenci 2,2/100 tis. obyvatel reportuje Čínská lidová republika. Věkově standardizovaná incidence ALL u dospělých starších 20 let je výrazně nižší, např. 0,6/100 tis. obyvatel ročně v Jižní Koreji nebo v Číně, kolem 0,7/100 tis. obyvatel ročně v Singapuru nebo Japonsku [9].

Roční AS incidenci AML udává Miranda-Filho et al. (2018) např. v Kuvajtu na 1,7/100 tis., v Singapuru na 1,9/100 tis., v Jižní Koreji na 1,6/100 tis., na Filipínách 1,8/100 tis., v Malajsii na 1,5/100 tis., v Íránu na 1,3/100 tis. či v Indii na 1,0/100 tis. Oproti celosvětovému trendu je v Malajsii a v Íránu vyšší incidence AML u žen než u mužů [10].

1.2.2 Výskyt leukemických onemocnění v Austrálii

Dle údajů Australian Institute of Health and Welfare (AIHW) bylo na území Austrálie v roce 2019 diagnostikováno celkem 4 251 nových případů leukemických onemocnění (AS incidence 14,4/100 tis.) a celkem 2 039 osob leukémiím podlehl (AS mortalita 6,5/100 tis.) [11].

AIHW dále vyčísluje, že v roce 2015 bylo nově diagnostikováno 389 případů ALL (AS incidence 1,6/100 tis.) a 97 osob nemoci podlehl (AS mortalita 0,4/100 tis.). U dětí a osob do 19 let věku Katz et al. (2015) udává AS incidenci ALL 3,5/100 tis., což se řadí ke celosvětově nejvyšším hodnotám. Dle AIHW v období 2009–2013 mezi dětmi ve věku 0–14 let bylo diagnostikováno 922 nových případů ALL a incidence je z dlouhodobého hlediska stabilní [11]. U osob starších 20 let dochází k více než 4násobnému poklesu incidence na hodnotu 0,75/100 tis. [9]

V roce 2015 bylo v Austrálii nově diagnostikováno celkem 1 042 případů AML (AS incidence 3,9/100 tis.) a 971 osob AML podlehl (AS mortalita 3,5/100 tis.) [11]. Studie Gangatharan et al. (2013) pak upozorňuje na mírně zvyšující se trend ve výskytu AML, především na území spolkového státu Západní Austrálie [12].

1.2.3 Výskyt leukemických onemocnění v Africe

Výskyt chronických neinfekčních onemocnění v afrických zemích se dlouhodobě významně zvyšuje. V roce 2008 byla odhadovaná incidence nádorových onemocnění v subsaharské Africe kolem 681 tis. případů, přičemž dle predikcí by se toto číslo mohlo do roku 2030 až dvojnásobit [13]. Přibližně 10 % z těchto nádorových onemocnění přitom tvoří hematologické malignity, jako jsou právě akutní i chronické leukémie, Hodgkinův a non-Hodgkinův lymfom nebo mnohočetný myelom. K tomuto nárůstu přispívá počet hematoonkologických onemocnění vznikajících na infekčním podkladu, např. kvůli infekci virem lidské imunitní nedostatečnosti (*Human Immunodeficiency Virus = HIV*), Epstein-Barrové virus (EBV), malárie [14].

Dle odhadů GCO nejvyšší AS incidenci mezi africkými zeměmi vykazovaly v roce 2019 ostrovní státy Réunion a Mauricius (více než 6/100 tis.), následovaly Egypt a Líbie (5,7/100 tis.). Právě v těchto dvou státech severní Afriky byla také nejvyšší AS mortalita (4,4/100 tis.) [8].

Data o výskytu akutních leukémií v jednotlivých částech či státech Afriky jsou pouze kusé či se zaměřují především na dětskou populaci [15, 16]. Zhodnocení dat významně ztěžuje také úplná absence registrů v některých oblastech, jejich nekompletnost nebo nerozlišování jednotlivých podtypů leukémií (především akutní/chronická). Všechny tyto aspekty jsou důvodem, proč je skutečný výskyt AL v těchto zemích víceméně neznámý.

Incidence ALL u dětí žijících v afrických zemích se pohybuje v rozmezí 0,1–1/100 tis. a představují 50–80 % dětských nádorových onemocnění na tomto kontinentu. Nižší výskyt je pozorován v subsaharských tropických oblastech s nízkým socio-ekonomickým standardem [16], naopak nejvyšší v severní, jižní a východní části kontinentu [16, 17].

Kusé studie popisující výskyt AL v zemích Afriky poskytují dílčí data. Např. studie Oelofse et al. (2018) popisuje výskyt AL v Jihoafrické republice v provincii Východní Kapsko. V letech 2004–2013 zde bylo nově diagnostikováno 374 případů AML a 220 případů ALL, celkově tak AL činily 16,5 % nově diagnostikovaných hematoonkologických onemocnění [18].

V Egyptě bylo ve dvou egyptských hematoonkologických centrech v letech 2007–2016 nově diagnostikováno celkem 486 pacientů s myeloidní malignitou, z toho 242 byly AML. Medián věku pacientů v době diagnostiky byl 43 let, muži tvořili 54 % (130) souboru. Téměř 60 % pacientů pocházelo z gubernorátu Assiut, 56 % žilo ve venkovském prostředí [19]. Nabízí se zde tedy hypotézy vlivu environmentálních expozičních či chemikálií využívaných v zemědělství na rozvoj AL.

1.2.4 Výskyt leukemických onemocnění v Americe

Dle GCO byla odhadovaná AS incidence leukemických onemocnění v severní Americe průměrně 10,45/100 tis. obyvatel, incidence je vyšší v USA (11,1/100 tis.) než v Kanadě (9,8/100 tis.). Odhadovaná AS mortalita se v obou oblastech pohybuje kolem 3,3/100 tis.

obyvatel. Odhadovaná prevalence za 5 let je 53,1/100 tis. obyvatel v Kanadě a 56,7/100 tis. obyvatel v USA. V Latinské Americe¹ nejvyšší AS incidence dle odhadů GCO dosahuje Martinik (7,8/100 tis.), rovněž prevalence za pět let je zde dle odhadů nejvyšší (50,1/100 tis.). Podobně vysoká je incidence (6–7/100 tis.) např. v Peru, El Salvadoru, Francouzské Guianě, na Barbadosu nebo v Nikaragui; naopak nejnižší incidence je odhadována na ostrovech Haiti a Svatá Lucie nebo v Guyaně (3–3,5/100 tis.) [8].

Dle Surveillance, Epidemiology, and End Results Program (SEER) je incidence AML v USA 4,3/100 tis. obyvatel za rok. Incidence se konstantně zvyšovala od začátku 2. tisíciletí do roku 2012, kdy došlo k jejímu poklesu a tento trend je pozorován doposud. Smrtnost dosahuje 2,8/100 tis. obyvatel, je konstantní od roku 2000. V roce 2017 v USA žilo 64 512 osob s diagnózou AML [20].

Dle SEER je roční incidence ALL v USA 1,7/100 tis. obyvatel, dlouhodobě se mírně zvyšuje. Mortalita dosahuje 0,4/100 tis. obyvatel za rok, oproti incidenci je dlouhodobě konstantní [21]. V USA ALL postihuje převážně bělošskou dětskou populaci a hispánské etnikum [22]. Ve srovnání s bělošskou populací (3,6/100 tis. obyvatel) je incidence ALL u černošských dětí méně než poloviční (1,5/100 tis. obyvatel). U ras se liší nejenom incidence, ale také zastoupení subtypů ALL [23]. T-ALL postihuje především černošské děti, oproti bělošským je u nich 1,7násobně častější [24]. Důvody, proč tomu tak je, jsou zatím neznámé; diskutuje se o vlivu rasově specifických genetických predispozic. Ty ovlivňují nejen incidenci, ale zároveň také účinnost a výsledky léčby, které jsou u hispánských a černošských dětí výrazně horší a jsou často doprovázeny relapsy [23]. Bylo dokumentováno, že u hispánských dětí se častěji vyskytuje nová forma ALL, tzv. Ph (Philadelphia) -like ALL, jejíž transkripční profil je podobný

¹ Pojem Latinská Amerika v rámci práce odkazuje na země Střední a Jižní Ameriky ležící jižně od USA, bez ohledu na běžně vymezovanou jazykovou specifika.

jako u ALL s pozitivním Ph chromozomem. U tohoto typu je až v 50 % případů exprimován gen CRLF2, přičemž u této kombinace, která je významně častěji hlášena u dětí hispánského původu (35,3 %; ve srovnání s 7,1 % u nehispanických) byla pozorována asociace s výrazně horší prognózou [25]. Stejně tak byly u Ph-like ALL dokumentovány varianty GATA3 genu, které jsou spojené s častým výskytem relapsů [26].

Trend zvýšené incidence ALL u hispánského etnika se kromě USA promítá i do oblasti Latinské Ameriky [27], kde má tato etnolingvistická skupina převahu v místních obyvatelstvech. Údaje ze studie *Cancer Incidence in Five Continents (CI5)* z roku 2007 hodnotily data z 290 registrů 68 zemí. Nejvyšší incidence ALL byla pozorována právě u hispánského etnika (3,5/100 tis.) [28]. U hispánských dětí žijících na území Mexiko City je AS incidence ALL udávána několika studiemi v rozmezí 4,9–5,8/100 tis. a její trend je rostoucí [29, 30]. U osob ve věku 15–24 let žijících na území Latinské Ameriky je právě ALL nejčastější onkologická příčina úmrtí [31].

Poslední data Canadian Cancer Society z roku 2016 udávají v Kanadě celkem 1 090 nově diagnostikovaných onemocnění AML (z toho 610 u mužů a 480 u žen) a 385 nově diagnostikovaných onemocnění ALL (z toho 220 u mužů a 165 u žen). Mortalita dosahovala v roce 2017 u AML 1 184 osob a u ALL 144 osob [32].

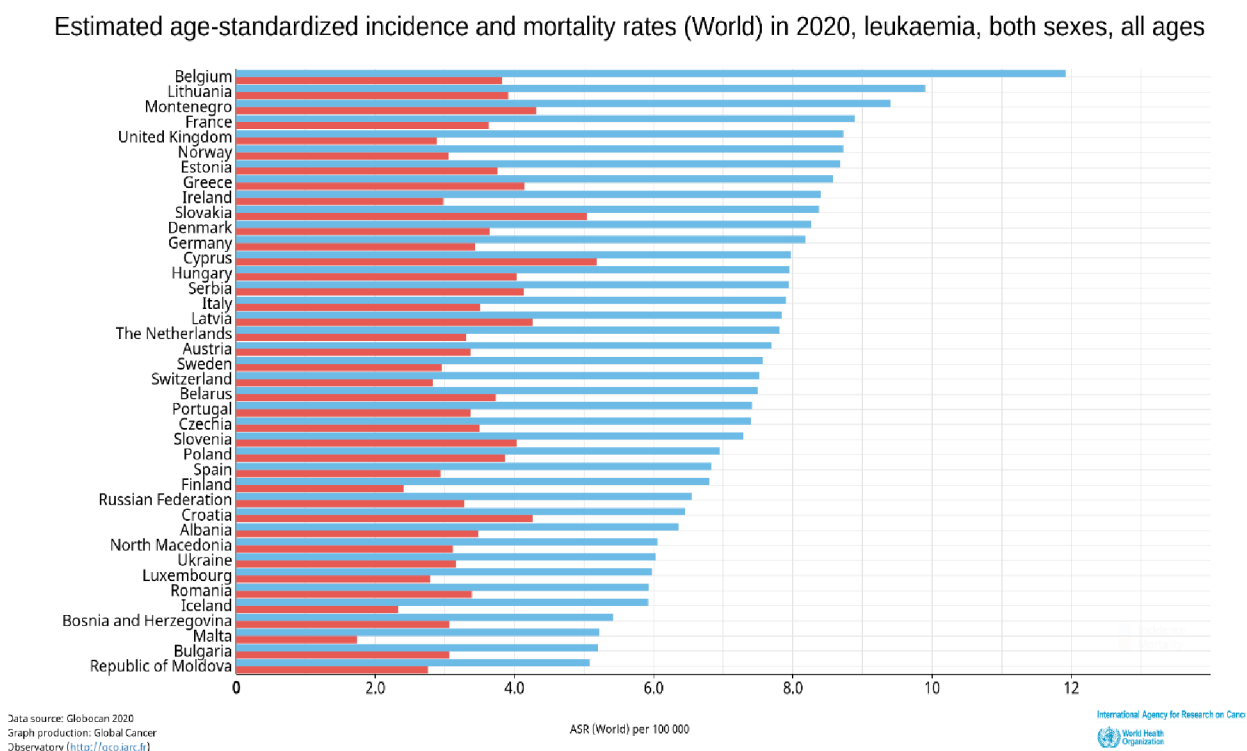
Ghazawi et al. (2020) pozorovali významné rozdíly ve AS incidenci AML v rámci kanadských měst, a to v rozmezí od 4,2/100 tis. obyvatel (Sarnia) do 1,4/100 tis. (Scarborough). Další analýza ukázala zvýšenou incidenci především v regionech městských (1,19x vyšší incidence v městech oproti venkovským oblastem, $p < 0,001$) a v městech země s výrazně starší populací, např. Sarnia, Hamilton, Saul Ste Marie, St. Catherines nebo Thunder Bay [33].

1.2.5 Výskyt leukemických onemocnění v Evropě

Dle odhadů GCO bylo v evropských zemích v roce 2020 nově diagnostikováno přes 100 tis. leukemických onemocnění – leukémie se tak stala 13. nejčastějším onkologickým onemocněním. Prevalence za 5 let byla 292 006 osob. V důsledku leukémie zemřelo celkem 62 262 osob, což ji v rámci nádorových onemocnění v Evropě řadí jako 10. nejčastější onkologickou příčinu úmrtí.

Z hlediska AS incidence postihovala dle odhadů GCO leukemická onemocnění v roce 2020 nejčastěji populaci Belgie (11,9/100 tis. obyvatel), Litvy (9,9/100 tis.), Černé Hory (9,4/100 tis.) a Francie (8,9/100 tis. obyvatel). Nejnižší AS incidence ve stejném roce dle odhadů GCO byla zaznamenána v Moldavsku, Bulharsku a na Maltě (5,1–5,2/100 tis.) [8].

Srovnání incidence a mortality v evropských zemích v roce 2020 ukazuje graf 2.



Graf 2 AS incidence a mortalita na leukemická onemocnění v Evropě v roce 2020, obě pohlaví (zdroj: [8])

Z myeloidních malignit je v Evropě nejčastěji diagnostikovaná právě AML, a to s incidencí 3,7/100 tis. obyvatel (více než 18 tis. případů ročně) [34]. Incidence ALL a lymfoblastického lymfomu odhadována na 1,28/100 tis. ročně [35].

V tabulce 1 jsou uvedeny hodnoty AS incidence AML a ALL u mužů a žen v některých evropských zemích v roce 2012.

Tabulka 1 Přehled AS incidence ALL a AML u mužů a žen v některých evropských zemích (2012)

Země	ALL – AS incidence na 100 tis.		AML – AS incidence na 100 tis.	
	Muži	Ženy	Muži	Ženy
Belgie	2,0	1,6	2,4	1,9
Bělorusko	1,8	1,4	1,6	1,3
Bulharsko	2,1	1,5	1,3	1,0
Česká republika	1,3	1,2	1,7	1,3
Dánsko	1,8	1,6	2,5	2,0
Estonsko	1,0	1,0	2,4	1,9
Finsko	2,1	1,8	1,8	1,6
Francie	1,8	1,6	2,2	1,5
Chorvatsko	2,1	1,6	2,2	1,7
Irsko	1,9	1,3	2,5	1,7
Itálie	2,2	1,7	2,5	1,9
Kypr	2,3	2,4	2,3	2,0
Litva	1,5	1,6	1,7	1,4
Lotyšsko	1,2	1,3	1,2	0,6
Německo	2,1	1,7	2,4	2,0
Nizozemí	1,8	1,6	2,1	1,8
Norsko	2,0	1,7	2,0	1,5
Polsko	1,4	1,0	1,8	1,3
Rakousko	1,8	1,5	2,7	2,2
Rusko	1,8	1,3	1,2	1,2
Slovensko	1,9	1,2	2,3	1,6
Slovinsko	1,7	1,3	1,9	1,5
Srbsko	0,6	0,6	1,3	0,8
Španělsko	2,0	1,5	2,0	1,4
Švédsko	1,8	1,4	1,9	1,7
Švýcarsko	1,6	1,3	2,3	1,4
Ukrajina	1,9	1,4	1,3	1,0
Velká Británie	1,8	1,4	2,7	2,0

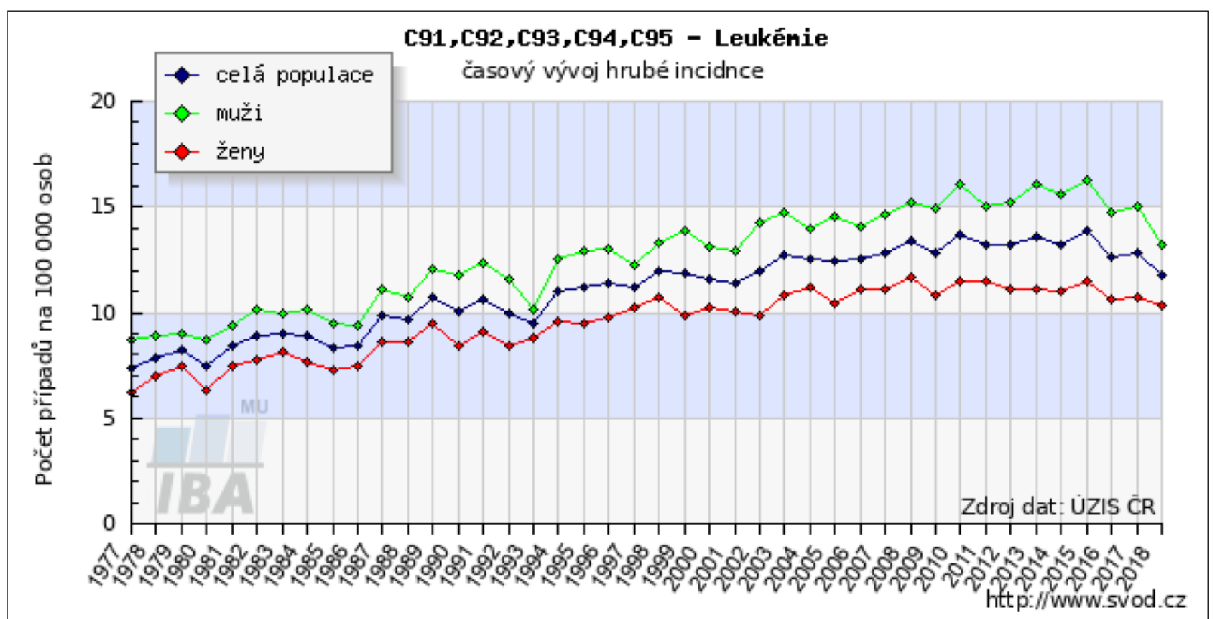
(upraveno dle [10])

1.2.6 Výskyt leukemických onemocnění v České republice

V České republice (ČR) bylo dle Ústavu zdravotnických informací a statistiky (ÚZIS) v roce 2018 nahlášeno celkem **1 250 případů leukémií** (incidence 11,8/100 tis.), z toho 692 (13,2/100 tis.)

u mužů a 560 (10,3/100 tis.) u žen. Leukémie tvořily 2,2 % nádorových onemocnění mužů a 2,7 % nádorových onemocnění žen. Ve stejném roce byla prevalence 9 519 případů (89,9/100 tis.), z toho 5 343 mužů a 4 176 žen [36–38].

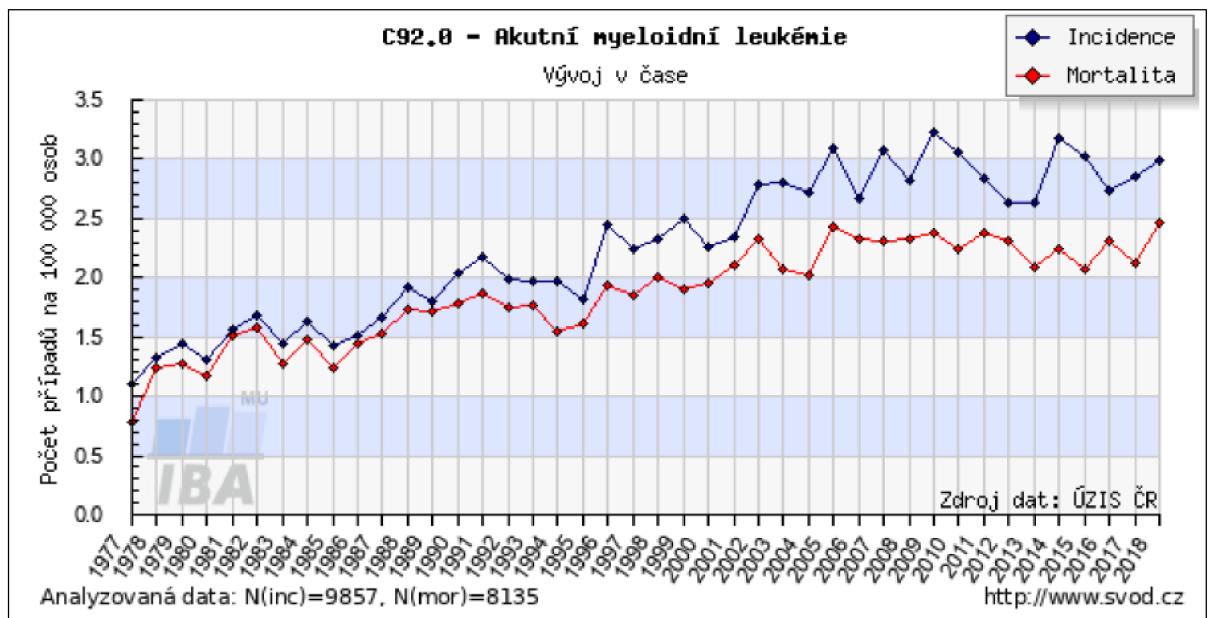
U mužů jsou leukémie pravidelně diagnostikovány častěji než u žen – v roce 2018 byly u mužů leukémie 8. nejčastějším nádorovým onemocněním a představovaly 2,2 % všech u mužů hlášených novotvarů. U žen byla leukemická onemocnění na 13. příčce a tvořily 2,1 % všech u žen hlášených onkologických diagnóz [38, 39]. Trend výskytu z dlouhodobého hlediska vykazoval vzestupný trend pro obě pohlaví, nicméně v posledních letech je stabilní, spíše klesající (graf 3).



Graf 3 Incidence leukémie v ČR, absolutní čísla
(zdroj: [37])

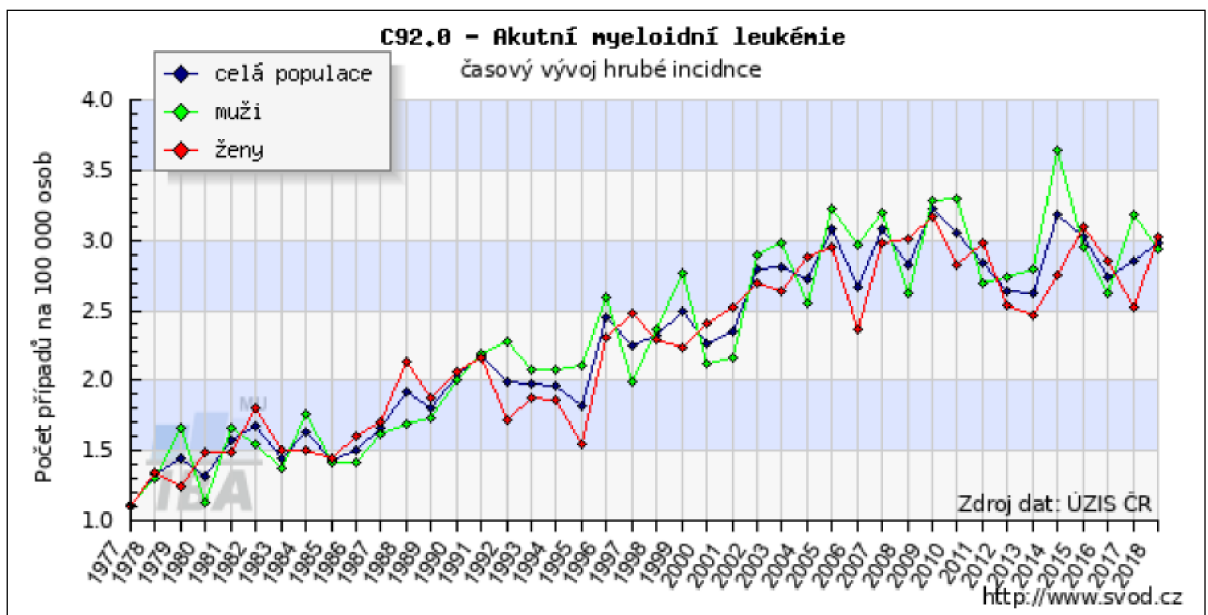
Mortalita na leukemická onemocnění se v ČR dlouhodobě pohybuje mezi **8–10/100 tis. mužů** (10. nejčastější onkologická příčina úmrtí) a 7–7,9/100 tis. žen (11. nejčastější onkologická příčina úmrtí). V roce 2018 na leukemická onemocnění zemřelo 949 osob, z toho 525 mužů a 424 žen [38, 39].

Výskyt AML v ČR dlouhodobě stoupá – za rok 2017 to bylo 2,7/100 tis. obyvatel. Od roku 1977, kdy byl založen Národní onkologický registr (NOR), se incidence AML v ČR zdvojnásobila až ztrojnásobila [37]. Mortalita vykazuje rovněž vzestupný trend, ale méně prudký (graf 4).



Graf 4 Vývoj incidence a mortality AML v ČR (zdroj: [37])

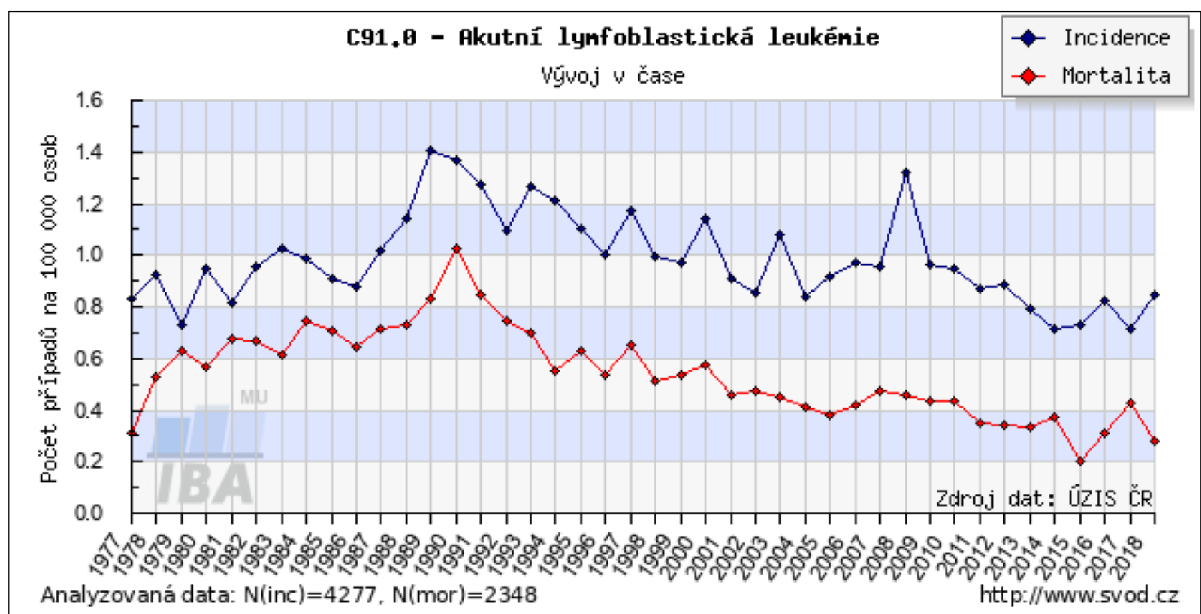
Zpravidla jsou AML více postižení muži (graf 5).



Graf 5 Vývoj hrubé incidence AML v ČR, obě pohlaví (zdroj: [37])

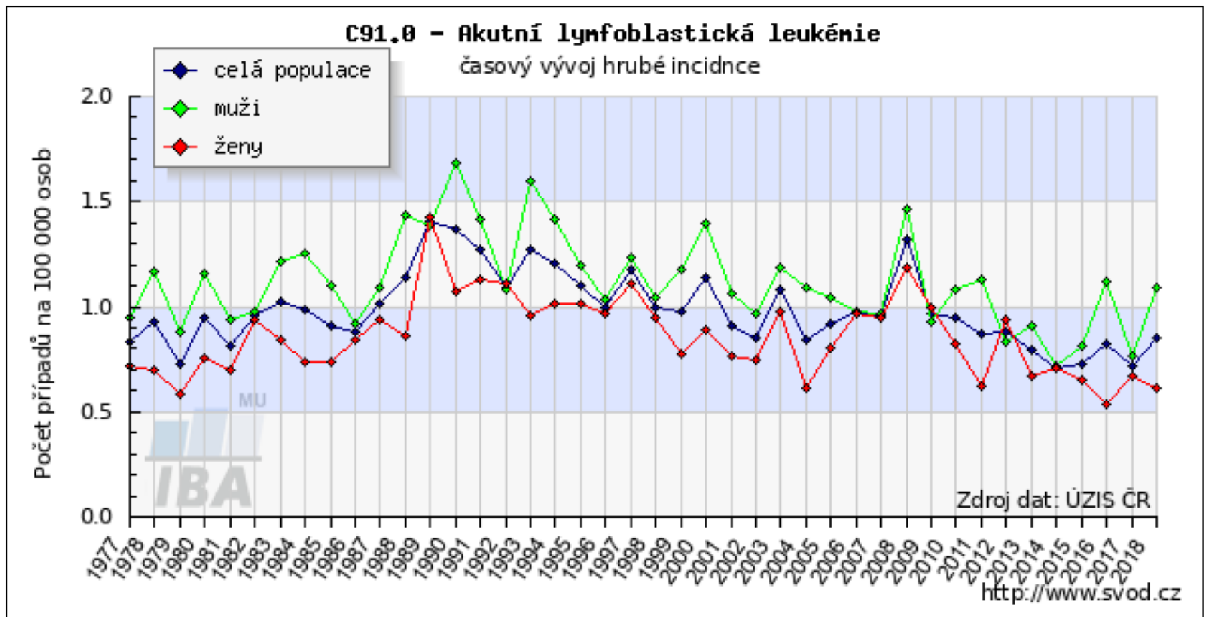
Dle výsledků z databáze DATOOL AML České leukemické skupiny – pro život bylo během let 2007–2017 v šesti českých hematologických centrech zaregistrováno 2 171 nemocných s AML, z toho 1 008 (46,4 %) bylo starších 60 let. U těchto pacientů se v 68 % jednalo o *de novo* onemocnění, zbytek byly sekundární AML, z nichž 63 % vzniklo progresí z myelodysplastického syndromu (MDS) nebo myeloproliferativního onemocnění a 29 % jako AML po předchozí protinádorové léčbě (therapy related AML, t-AML) [40].

U ALL je naopak pozorován dlouhodobě setrvalý, za posledních 20 let mírně klesající trend v incidenci i mortalitě. Dle NOR byla v roce 2017 v ČR incidence ALL 0,7/100 tis. obyvatel a mortalita 0,41/100 tis. obyvatel [41]. Pokles mortality je z dlouhodobého hlediska (od roku 1977) citelnější než pokles incidence (graf 6).



Graf 6 Vývoj incidence a mortality ALL v ČR
(zdroj: [41])

Stejně jako u AML i ALL postihuje dlouhodobě více muže než ženy (graf 7).



Graf 7 Vývoj hrubé incidence ALL v ČR, obě pohlaví
(zdroj: [41])

Leukemická onemocnění všeobecně se v rámci krajů ČR nejčastěji vyskytovala v Plzeňském kraji, v kraji Vysočina, v Králověhradeckém a Jihočeském kraji. Mortalita byla nejvyšší v okolí Plzně, v jižních Čechách a v Jihomoravském kraji. Incidence a mortalita AML tyto trendy kopíruje. U ALL je nejvyšší incidence v Moravskoslezském a Olomouckém kraji, mortalita pak v Plzeňském a Olomouckém kraji [37, 39, 41]. Celkový přehled incidence a mortality na leukemická onemocnění uvádí tabulka 2.

Tabulka 2 Hrubá incidence a hrubá mortalita na leukemická onemocnění v jednotlivých krajích České republiky v roce 2017

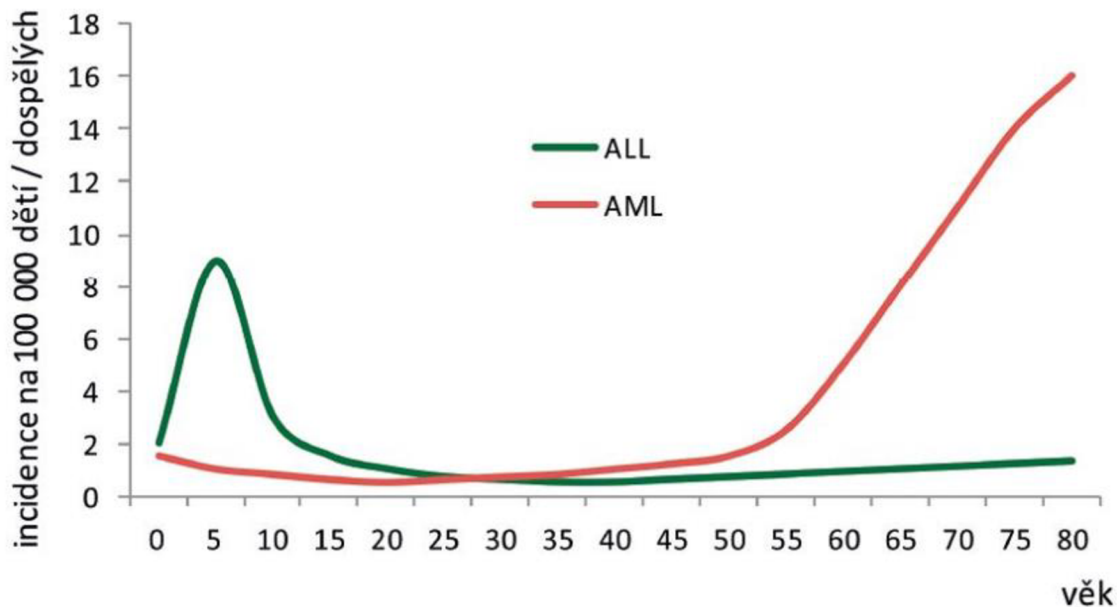
kraj	Všechny leukémie		AML		ALL	
	Incidence na 100 tis. obyvatel	Mortalita na 100 tis. obyvatel	Incidence na 100 tis. obyvatel	Mortalita na 100 tis. obyvatel	Incidence na 100 tis. obyvatel	Mortalita na 100 tis. obyvatel
Hl. město Praha	10,60	7,20	2,10	1,80	0,78	0,49
Středočeský	9,20	6,10	1,70	1,40	0,77	0,42
Jihočeský	12,10	7,90	2,70	2,20	0,95	0,60
Plzeňský	13,00	8,70	2,90	2,40	1,09	0,63
Karlovarský	10,40	7,30	2,20	1,80	0,87	0,50
Ústecký	9,00	5,60	1,80	1,40	0,87	0,46
Liberecký	9,40	6,30	2,10	1,90	0,95	0,55
Královéhradecký	12,50	7,30	2,50	2,00	1,09	0,56
Pardubický	11,60	6,80	2,00	1,70	0,98	0,49
Olomoucký	11,80	7,00	2,30	2,00	1,17	0,62
Moravskoslezský	10,80	5,80	2,00	1,50	1,14	0,57
Jihomoravský	12,30	7,70	2,90	2,40	1,09	0,59
Zlínský	11,40	7,00	2,50	2,10	1,09	0,57
Kraj Vysočina	12,50	6,80	2,50	2,00	1,06	0,59

(upraveno dle [37, 39, 41])

1.3 Etiologické a rizikové faktory akutních leukémií

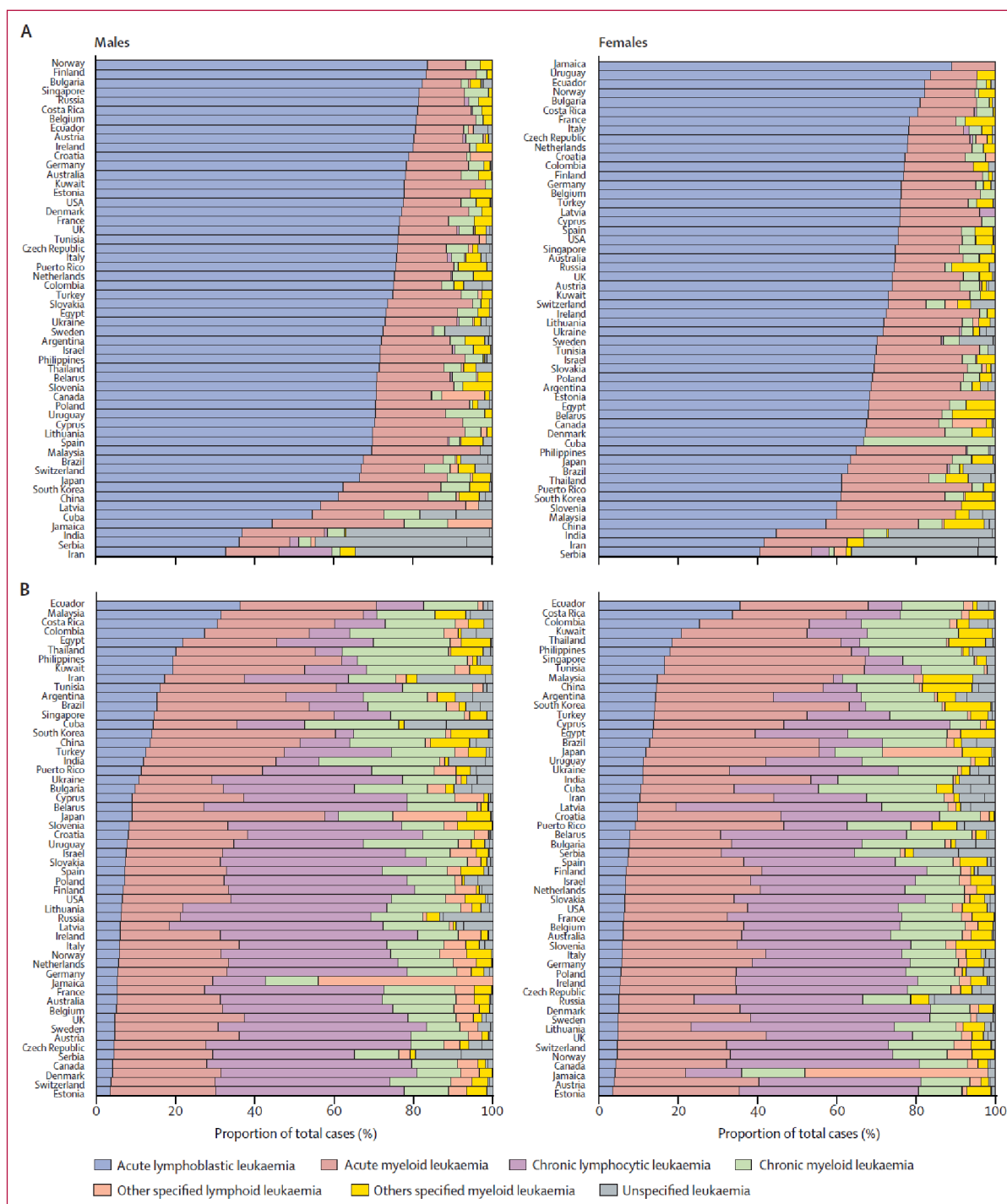
Přesná příčina vzniku akutních leukémií prozatím není známa. Epidemiologické studie odhalily několik rizikových faktorů, které se na jejich vzniku podílejí – jedná se především o familiární a genetické predispozice, faktory životního stylu a životního prostředí, infekční agens a přítomnost jiných diagnóz [42, 43].

Jednoznačným rizikovým faktorem pro vznik AL je především **věk** [44]. Vývoj incidence ALL i AML dle věku ukazuje graf 8.



Graf 8 Vývoj incidence akutní myeloidní a akutní lymfoblastické leukémie na 100 tis. obyvatel
 (Legenda: AML = akutní myeloidní leukémie, ALL = akutní lymfoblastická leukémie)
 (zdroj: [44])

Detailně výskyt AL v jednotlivých věkových kategoriích popisují kapitoly 1.3.1.1 a 1.3.2.1. Z pohledu incidence se s rostoucím věkem významně mění zastoupení nejvýznamnějších typů akutních leukémií i dalších hematologických onemocnění. Procentuální podíl typů AL se liší nejen v rámci pohlaví, ale také v různých geografických lokalitách. U ALL u dětí (do 14 let) i dospělých rozdíly dosahují i několik desítek procent. U AML jsou u dětí méně výrazné, větší variabilita je pozorována u starších 15 let a dospělých (graf 9).



Graf 9 Distribuce jednotlivých typů leukémií (akutních i chronických) v populacích vybraných světových zemí v letech 2003–2007 dle pohlaví, u A) dětí (0–14 let) a B) dospělých (starší 15 let) (zdroj: [10])

Spolu s věkem souvisejí i další etiologické a rizikové faktory vzniku AL. U dětí jsou AL (hlavně ALL) v naprosté většině případů *de novo* onemocnění způsobená novými, nedědičnými aberacemi deoxyribonukleové kyseliny (DNA) v nezralých hematopoetických buňkách [44].

Oproti tomu u AL vznikajících v pozdějším věku (především AML) se uplatňují především nejrůznější expozice působící na jednotlivce během jeho života a popisují je následující kapitoly.

1.3.1 Rizikové faktory akutní myeloidní leukémie

1.3.1.1 Pohlaví a věk

Leukémie obecně postihují **více mužů než ženy** a u AML je tento trend rovněž pozorován. Poměr poměr mužů ku ženám je 5:3 [45]. Tento fenomén je pozorován i v České republice, jak ilustruje graf 5 v kapitole 1.2.6.

AML je primárně onemocnění **starších věkových skupin**. Incidence AML u dětí se pohybuje mezi 2–3/100 tis. obyvatel, u dětí do 15 let věku AML tvoří jen 15–20 % případů a ročně je v ČR diagnostikováno 10–15 případů [46]. U starších dospělých je průměrná incidence 15/100 tis. obyvatel za rok. Šálek et al. (2012) uvádí rostoucí incidenci spolu s věkem, a to v 50 letech 3,5/100 tis. obyvatel, v 70 letech již 15/100 tis. obyvatel a v 80 letech 22/100 tis. obyvatel [2]. Medián věku pacientů v době diagnózy AML uvádějí studie mezi 65 a 67 lety, např. ve Velké Británii je necelá polovina pacientů starší 65 let. Výskyt AML před 40. rokem života je spíše vzácností. Nárůst počtu pacientů s AML, který pozorujeme v ČR, je odrazem stárnutí české populace [2, 6, 46].

1.3.1.2 Genetické a familiární predispozice

Pouze malá část z celkového počtu případů AML vzniká dle současných znalostí na podkladu genetické či familiární predispozice. Jedny z nejvýznamnějších postižených genů jsou např. CEBPA, RUNX1 nebo GATA2, které jsou zodpovědné za regulaci myeloidní diferenciace. Kromě nich se ale uplatňuje celá řada dalších (tabulka 3).

Tabulka 3 Genetický podklad AML

Postižené geny	Fyziologická funkce	Reference
<i>CEBPA</i> <i>RUNX1</i> <i>GATA2</i>	Regulují myeloidní diferenciaci	[47–51]
Duplikace <i>ATG2B/GSKIP</i> na 14q32.2	Kóduje ATG2B protein nezbytný pro autofágii	[52]
<i>ANKRD26</i>	Kóduje GSK3-beta protein zapojený do procesu proliferace a diferenciaci buněk	[53]
<i>DDX4</i>	Kóduje ANKRD26 protein zprostředkávající proteinové interakce	[54]
<i>ETV6</i>	Kóduje DDX4 protein fungující jako RNA helikáza	[55]
<i>DNMT3A</i>	Kóduje ETS transkripční faktor	[56]

1.3.1.3 Reprodukční faktory

Výskyt AML je asociován s **porodní hmotností dítěte**. Vyšší riziko AML bylo pozorováno u dětí s porodní hmotností vyšší než 4 000 g (odds ratio = OR 1,40; 95% interval spolehlivosti = IS 1,11–1,76) a zároveň nižší než 2 500 g (OR 1,50; 95% IS 1,05–2,13), což naznačuje, že křivka vzájemného vztahu je tvaru “U” [57]. Zvýšené riziko vyplývající z vyšší porodní hmotnosti, respektive velikosti plodu bylo dokumentováno i u jiných dětských nádorových onemocnění, např. lymfomů nebo některých nádorů centrální nervové soustavy [58], mechanismus tohoto vztahu zatím nebyl objasněn.

Studie, které analyzovaly vliv **věku matky** při porodu, ukázaly na až 7násobně zvýšené riziko rozvoje AML u dětí mladších jednoho roku, které se narodily matkám po 40. roku věku (OR 6,87; 95% IS 2,12–22,25). Podobná asociace nebyla prokázána u starších dětí (1–14 let) a pro zvýšený věk otců. Možná vysvětlení zahrnují vyšší expozici inhibitorům topoizomerázy II ve výživě během těhotenství, *de novo* mutace spojené s vyšším věkem (např. v *MML* genu) nebo možné působení léčiv na podporu plodnosti [59].

1.3.1.4 Expozice rodičů

Expozice **pesticidům** u matky během těhotenství byla spojena s téměř 2násobně vyšším rizikem rozvoje AML u dítěte (OR 1,94; 95% IS 1,19–3,18) [60]. Bailey et al. (2015) udávají až

1,5x vyšší riziko vzniku AML při expozici 1–3 měsíce před početím (OR 1,49; 95% IS 1,02–2,16) či během těhotenství (OR 1,55; 95% IS 1,21–1,99) [61].

Vliv konzumace **alkoholu** u matky během těhotenství vykazuje statisticky významnou asociaci v rozmezí OR 1,64–2,36 v závislosti na dávce vypitého alkoholu/den [62].

Expozice matky **antibiotikům** před a během těhotenství zvyšuje riziko vzniku AML u dítěte více než 3krát (OR 3,20; 95% IS 1,83–5,62), což bylo dokumentováno u 18 exponovaných žen [63]. Studie nicméně pracovala s velmi malým počtem subjektů a neobjasnila, zdali na rozvoj AML měla vliv expozice antibiotikům nebo léčená infekce. K prokázání této asociace je tedy zapotřebí dalšího výzkumu.

1.3.1.5 Fyzikální faktory

Z fyzikálních faktorů se na vzniku AML podílí **ionizující záření**, jehož účinek byl popsán již v 90. letech minulého století a které se uplatňuje také při vzniku solidních tumorů. Záření má akutní i dlouhodobé účinky na hematopoézu a leukémie obecně se po ozáření objevují dříve než jakékoli jiné malignity [64, 65]. Např. při expozici rentgenovému záření dávkou 1 Gy bylo pozorováno vyšší riziko vzniku AL v horizontu do 10 let po této expozici [65]. Kumulativní dávka ionizujícího záření nižší než <100 mSv v dětství nebo v období dospívání zvyšuje riziko vzniku AML 2,5násobně (relativní riziko = RR 2,56; 95% IS 1,09–5,06) [64].

Specifická je postterapeutická nebo také **sekundární AML** (t-AML), jejíž vznik je pozorován u pacientů, kteří podstupují celotělové ozáření v rámci přípravy na transplantaci nebo radioterapii (dávka 1–15 Gy) rakoviny prsu, non-Hodgkinova lymfomu, rakoviny varlat, děložního čípku aj. Rozvoj t-AML je pozorován 5–15 let od expozice, riziko je v těchto případech dvojnásobné oproti neexponovaným nemocným [42, 66]. Jelikož primární malignitou bývá nejčastěji rakovina prsu následovaná non-Hodgkinovým lymfomem, t-AML

bývá dokumentována častěji u žen. Až u 35 % případů t-AML jsou pozorovány mutace *TP53*, tumor-supresorového genu kódujícího protein a transkripční faktor p53. Léčba těchto t-AML je náročná a většinou nepřináší dobrou odpověď na užitou terapii [67].

1.3.1.6 Chemické faktory

Důkazy o asociaci vzniku AML a expozici **radonu** jsou stále nedostatečné. Radon je přirozeně se vyskytující radioaktivní plyn, který vzniká v půdách a horninách při rozpadu uranu a thoria. V roce 1988 jej IARC zařadila na seznam lidských karcinogenů poté, co byla prokázána mnoha studii jeho role v rozvoji rakoviny plic. K tomu přispěly i studie provedené v České republice, potažmo bývalém Československu, které sledovaly výskyt tohoto onemocnění v souvislosti s expozicí radonu u pracovníků v uranových dolech na Jáchymovsku [68–70]. V souvislosti s AML prokázala francouzská studie v roce 2006 zvýšení rizika vzniku AML u dětí po zvýšené expozici radonu v obytných prostorách, kdy v departmentech (francouzských správních celcích) s nejvyšší expozicí bylo toto riziko vyšší až o 20 % [71], při opakování studie toto zvýšené riziko již pozorováno nebylo [72]. Podobná studie provedená na území Spojeného království a Severního Irska (UK) neprokázala vliv radonu na vzniku AML ani jiných dětských malignit [73].

Další studie z Francie hodnotila ekologickou asociaci mezi venkovní koncentrací **radonu** a rozvojem akutních leukémií u dětí ve věku do 15 let žijících v jednotlivých geografických oblastech Francie (tzv. zone d'emploi). Autoři dokumentovali slabou asociaci – aritmetický průměr koncentrace radonu 85 Bq/m³ (15–387 85 Bq/m³) a geometrický průměr 59 Bq/m³ (13–228 85 Bq/m³), přičemž zvýšení koncentrace radonu o 100 Bq/m³ vedlo k nárůstu standardizované incidence všech AL u dětí o 7 % a pouze AML o 24 % [74].

Řada studií potvrdila vztah mezi expozicí chemickým noxám a rozvojem AML. Jedná například o **pesticidy**, především u farmářů nebo pracovníků v zemědělství [42]. Dle klasifikace Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny (IARC) je prozatím známo více než 20 pravděpodobných nebo podezřelých humánních karcinogenů z řad pesticidů [75]. Zemědělské expozice jsou častěji dokumentovány u osob s nižším vzděláním nebo nižšími příjmy [76].

Mezi pracovními expozicemi významně zvyšujícími riziko AML vynikají **benzen** (OR 2,10; 95% IS 1,35–3,28), **hnojiva** (OR 2,77; 95% IS 1,30–5,93), **saze** či **mour** (OR 2,68; 95% IS 1,57–4,57), **kreosot** (OR 2,83; 95% IS 1,46–5,47), **vinylchlorid** (OR 2,81; 95% IS 1,14–6,92) nebo **uhelný prach** (OR 4,03; 95% IS 1,79–9,06) [76]. Většina těchto látek patří mezi prokázané nebo pravděpodobné lidské karcinogeny. Dále bylo až 4násobně vyšší riziko vzniku AML dlouhodobě i po dobu až 15 let od expozice pozorováno u osob, které byly vystaveny **dioxinům** (konkrétně 2,3,7,8-tetrachlordibenzodioxinu = TCDD, což je vedlejší produkt výroby herbicidů), a to při havárii v italském městě Serveso (RR 3,8; 95% IS 1,2–12,5) [77].

U dospělých je podíl **benzenu** na vzniku AML prokázán, a to nejčastěji jako profesní expozice u dělníků v nejrůznějších odvětvích průmyslu [42]. Příkladem mohou být retrospektivní kohortové studie u čínských pracovníků v provozech zpracujících suroviny a produkty obsahující benzen (guma, barvy, laky atp.). Studie zahrnovala více než 110 tis. účastníků, přičemž u 44 z nich se v průběhu 2 až 10 let rozvinul MDS/AML. Relativní riziko (RR) vzniku těchto onemocnění autoři udávají 2,7 (95% IS 1,2–6,6) [78, 79].

U dětí není role **benzenu** v leukomogenezi prozatím zcela jasná. Francouzská studie zaznamenala zvýšený výskyt AML u dětí ve spojitosti s vyšší expozicí benzenu pocházejícího z koncentrované dopravy v blízkosti bydliště dítěte. Při lokalizaci tohoto zdroje ve vzdálenosti

do 150 m od místa bydliště je OR 1,2 (95% IS 1,0–1,4) a tato zjištění ukazují na potenciální roli benzenu ve vzniku AML u dětí [80]. Podobná zjištění přinesla i studie v Oklahomě, kdy bylo vyšší riziko vzniku AML pozorováno u dětí, které byly brzy po narození exponovány benzenu z dopravy v koncentracích 0,67–0,91 mg/m³ (OR 3,15; 95% IS 1,22–8,13), respektive vyšším než 0,91–2,03 mg/m³ (OR 3,53; 95% IS 1,35–9,27). Autoři sice připouštějí, že koncentrovaná doprava je zdrojem velkého množství nejrůznějších látek se škodlivými účinky a že benzen může být pouze jednou z nich (jako další jsou uvažovány např. prachové částice o velikosti 10 µm (*particulate matter 10 µm* = PM10) [81]) či pouze jejich markerem [82], na druhou stranu je pravděpodobné, že benzen v prostředí přispívá ke vzniku mnoha *de novo* AML, které nevznikají na základě genetických predispozic [77].

Některé publikace naznačovaly vliv **formaldehydu** na vznik AML [83]. V roce 2010 byl formaldehyd IARC zařazen mezi lidské karcinogeny skupiny 1, neboť byla prokázána kauzalita v případě rakoviny nosohltanů nebo lymfomů. IARC udává, že případě AL existují silné, nicméně prozatím stále nedostatečné důkazy o tom, že expozice formaldehydu jednoznačně AL způsobuje [84]. Např. dle review Allegra et al. (2019) expozice formaldehydu nepředstavuje vyšší riziko pro vznik AML [85]. Důkazy jsou v tomto ohledu ale stále nedostatečné. U expozice **aromatickým rozpouštědlům** bylo pozorováno více než 2,5násobné riziko vzniku AML (OR 2,54; 95% IS 1,19–5,42), kauzální vztah prozatím nebyl přesně objasněn [86].

U t-AML je její vznik asociován (kromě záření) s dalšími látkami používanými v rámci **cytotoxické terapie**, např. alkylujícími látkami, inhibitory topoizomerázy či antimetabolity. Po expozici alkylujícími látkami dochází k poškození 5. a/nebo 7. chromozomu. Leukémii předchází rozvoj MDS, období latence je průměrně 5 let a prognóza nepříznivá (medián přežití je pouhých 8 měsíců). Tato forma postihuje kolem 70 % pacientů s t-AML [87]. Expozice

inhibitorům topoizomerázy II vede k rozvoji t-AML, u níž jsou často pozorovány translokace genů *KMT2A* (11q23.3) nebo *RUNX1* (21q22.1), které jsou klíčové pro hematopoézu. Období latence je v těchto případech kratší, v rozmezí 1–2 let, a prognóza výrazně lepší, protože onemocnění velice dobře reaguje na intenzivní indukční cyklus léčby [87].

1.3.2 Rizikové faktory akutních lymfoblastických leukémií

1.3.2.1 Pohlaví a věk

ALL jsou rovněž častěji diagnostikovány u **mužů než u žen**, poměr je nicméně nižší než u AML, a to 1,5–1,9:1 [88]. Tento fenomén je pozorován i v České republice, jak ilustruje graf 7 v kapitole 1.2.6.

ALL je nejčastější onkologickou diagnózou u **dětí do 15 let věku**. ALL je u těchto dětí asi 5x častější než AML a tvoří kolem tři čtvrtin všech leukémií u dětské populace [46]. Incidence je 7,7/100 tis. obyvatel ve věkové skupině 1–5 let (s maximem mezi 2. a 5. rokem). U adolescentů a mladých dospělých její výskyt prudce klesá a exponenciální nárůst u starších věkových kategorií jako u AML pozorován není (graf 8). U dospělé populace se roční incidence dlouhodobě pohybuje mezi 1,2–1,6/100 tis. obyvatel a představuje tak jen 1 % nádorových onemocnění dospělých a cca 20 % všech akutních leukémií [2, 6].

Prognosticky se ALL dětského a dospělého věku zásadně liší: zatímco u pediatrických pacientů docílí remise >95 % a celkově přežívá 90 % pacientů, v dospělosti je míra remise jen 60–85 % a celkové přežití nedosahuje 50 %. Podílí se na tom častější výskyt vysoce rizikových ALL u dospělých pacientů, zejména B-ALL s pozitivitou filadelfského (Ph) chromozomu, která je u dětí vzácná [2, 6].

1.3.2.2 Rasa, etnikum

U ras se liší nejenom incidence, ale také zastoupení subtypů ALL [23]. Jak už bylo popsáno v kapitole 1.1.2.4, je pozorována vyšší zátěž ALL u **hispánského etnika** obývajícího území amerického kontinentu. Kromě incidence je u Hispánců významně horší i prognóza, účinek léčby a její výsledky.

1.3.2.3 Genetické a familiární predispozice

V naprosté většině případů vznikají ALL, a to hlavně u dětí, *de novo*. Jejich podkladem jsou nedědičné aberace DNA v nezralých hematopoetických buňkách (tabulka 4).

Tabulka 4 Genetický podklad ALL

Postižené geny	Fyziologická funkce	Reference
<i>PAX5</i>	Kóduje specifický aktivátor B-buněčné linie	[89]
<i>TCF (E2A)</i>	Kóduje transkripční faktory E proteiny	[90]
<i>EBF1</i>	Kóduje transkripční faktor odpovědný za diferenciaci B-buněk	[91]
<i>LEF1</i>	Kóduje protein vážící se na enhancer receptoru T-buněk	[92]
<i>IKZF1 (IKAROS)</i>	Kóduje protein regulující diferenciaci lymfocytů	[93]

1.3.2.4 Reprodukční faktory

V rozvoji ALL u dětí se významně uplatňuje celá škála reprodukčních faktorů rodičů.

Z pohledu matky je důležitý **věk a průběh předchozích těhotenství**.

U dětí **matek starších 35 let** bylo pozorováno zvýšené riziko vzniku ALL (RR 1,10; 95% IS 1,00–1,21). S narůstajícím věkem matky roste i riziko vzniku ALL u dítěte (RR 1,05; 95% IS 1,01–1,10 za každých 5 let), tento přírůstek byl dokumentován především v Evropě (RR 1,09; 95% IS 1,03–1,14). V zemích Severní a Latinské Ameriky bylo pozorováno zvýšené riziko u matek starších 35 let, a to až 1,5x (RR 1,43; 95% IS 1,19–1,73), respektive téměř 4x (RR 3,72; 95% IS 1,13–12,27) [94]. Vysoké riziko ze zemí latinské Ameriky může souviset s převahou hispánského etnika v těchto zemích (viz kap. 1.2.4).

U dětí matek, které prodělaly **potrat**, nebo se jim narodilo **mrtvé dítě**, bylo dokumentováno souhrnné OR 1,12 (95% IS 1,05–1,18), u prodělaného potratu pak OR 2,34 (95% IS 1,19–4,60) a OR 1,33 (95% IS 1,02–1,74) u narozeného mrtvého dítěte [95].

Z pohledu otce je rizikovým faktorem jeho **věk**. Metaanalýza prokázala, že riziko vzniku ALL se zvyšuje o 4 % za každých 5 let odloženého rodičovství [96].

Vyšší riziko ALL bylo asociováno se **způsobem porodu**. Zvýšené riziko vzniku ALL bylo dokumentováno u dětí, které se narodily císařským řezem (OR 1,23; 95% IS 1,04–1,47). Možným vysvětlením by mohla být nepřítomnost stresové reakce u těchto dětí a následná maladaptivní imunitní aktivace [97, 98]. Kromě způsobu porodu je zvýšené riziko spojeno i s vyšší porodní hmotností dítěte. Řecká studie případů a kontrol z roku 2018 uvádí více než dvojnásobné OR vzniku AL bez ohledu na typ (OR 2,27; 95% IS 1,27–4,04) u dětí, jejichž porodní hmotnost převyšovala 3 500 g [99]. V metaanalýze Caughey et al. (2009) autoři pozorovali nárůst rizika o 23 % u dětí, jejichž porodní hmotnost převyšovala 4 000 g (OR 1,23; 95% IS 1,15–1,32 pro vznik pouze ALL) [57]. Oba faktory spolu vzájemně souvisejí, neboť právě vysoká porodní hmotnost dítěte je významnou a častou indikací k provedení císařského řezu [100].

1.3.2.5 Faktory rodičů

Samostatné studie, které měly za cíl objasnit vliv kouření **tabáku** rodičů (především otců) na vznik ALL u dětí, většinou asociaci neprokázaly, popř. zahrnovaly pouze málo subjektů. Metaanalýza těchto studií prokázala, pozitivní asociaci mezi kouřením otce v době početí s OR 1,15 (95% IS 1,06–1,68), respektive 1,44 (95% IS 1,2–1,68) při kouření 20 a více cigaret denně [101]. Kouř vznikající spalováním tabáku obsahuje několik desítek karcinogenních látek,

z nichž např. benzen je u kuřáků prokazatelně leukemogenní [102] a biologická plauzibilita byla dokumentována mnoha studii [101, 103].

Expozice **pesticidům** u otce v době početí byla prokázána jako riziková pro vznik ALL u potomka (OR 1,20; 95% IS 1,06–1,38). ALL byla v těchto případech diagnostikována nejdříve v 5. roce věku dítěte a nejčastěji se jednalo o ALL vycházející z T buněk [60]. Bailey et al. (2015) dokumentuje škodlivý vliv expozice otce v rozmezí 1–3 měsíce před početím (OR 1,39; 95% IS 1,25–1,55) a rovněž zvýšené riziko vzniku ALL při expozici matky. Při používání pesticidů v rámci domácnosti během těhotenství je OR 1,43 (95% IS 1,32–1,54) a v období krátce po narození je OR 1,36 (95% IS 1,23–1,51). Nejzávažnější jsou dle studie insekticidy a fungicidy užívané pro postřik rostlin a stromů, především působí-li na organismus otce krátce před početím (OR 1,49; 95% IS 1,14–1,95) [61].

Vystavení se **barvám**, hlavně olejovým, které obsahují velké množství substancí (i potenciálně karcinogenních), zvyšuje riziko vzniku ALL (OR v rozmezí 1,14–1,54, v závislosti na typu a složení použité barvy). Studie Bailey et al. (2015) zjistila nejvyšší riziko při expozici otce v době 1–3 měsíce před početím (OR 1,54; 95% IS 1,28–1,85), a to především pro vznik typu B-ALL (OR 1,52; 95% IS 1,25–1,86) [104]. Sceló et al. (2009) zjistili OR 1,65 (95% IS 1,26–2,15) a také udávají závažnější expozici po narození (OR 1,39; 95% IS 1,07–1,81) než v době početí. S podivem ale studie nenalezla negativní dopad expozice aromatickým rozpouštědly na vznik AML [86].

Významným faktorem je **cytomegalovirová (CMV) infekce matky**, která během těhotenství může vyústit do *in utero* infekce plodu. Studie v Kalifornii dokumentovala u dětí, u nichž se rozvinula ALL, 3,7x vyšší pravděpodobnost *in utero* cytomegalovirové infekce. Autoři rovněž

uvádějí významně vyšší riziko rozvoje ALL pro hispánské děti (OR 5,9; 95% IS 1,9–26,0) [105]. Není nezajímavé, že seroprevalence antiCMV IgG u hispánské populace je více než 80 % [106], čímž se nabízí (kromě genetických a geografických dispozic) další možné vysvětlení vysoké zátěže hispánské populace ALL. U bělošských dětí bylo dokumentováno vyšší riziko rozvoje ALL (OR 2,10; 95% IS 0,69–7,31), výsledky nicméně nebyly statisticky významné. Teratogenní efekt CMV je vysvětlován jednak chromozomální nestabilitou u pacientů s vrozenou CMV infekcí a jednak pravděpodobnou schopností viru negativně ovlivnit imunitní systém hostitele. Tomu nasvědčuje i rozsáhlost genomu CMV a prozatím nevysvětlené funkce mnoha jeho genů [105]. Přesný mechanismus však zůstává neznámý.

Vlivem **výživy** matky během těhotenství na vznik ALL se zabývaly především retrospektivní studie, které poukázaly na riziko zvýšené konzumace cukrů (OR 1,32; 95% IS 1,05–1,67), masa či masných výrobků (OR 1,25; 95% IS 1,0–1,57) [107] nebo denní příjem vitamínu B6 vyšší než 1,85 mg (OR 1,6; 95% IS 1,02–2,51). Naopak nedostatečný příjem vitamínu B6 v rozmezí 1,39–1,85 mg vedl k OR v rozsahu hodnot 1,04–1,28, výsledky ale nebyly statisticky významné [108].

Důkazy o riziku vyplývajícího z pití **kávy** zatím přinášejí smíšené výsledky. Studie Karalexi et al. (2019) dokumentovala OR 1,40 (95% IS 1,03–1,92) při konzumaci více než jednoho šálku denně [109], naopak Alicandro et al. (2017) riziko ve spojitosti s konzumací kávy neudává [110]. Autoři obou studií připouštějí možný vliv kouření jako známého confounding faktoru a jeho častého zatajování. Vztah mezi konzumací alkoholu u matky během těhotenství a vznikem ALL nebyl nalezen [22].

Vliv užívání **antibiotik** před a během těhotenství je stejně jako u AML prozatím nejasný. V německé studii zahrnující 59 exponovaných žen bylo zjištěno OR 1,47 (95% IS 1,06–2,04) [63], naopak dánská studie podobný vztah neprokázala [111]. Stejně jako u AML i tyto studie narážely na malý počet studovaných subjektů a nemožnost rozlišit vliv antibiotik od vlivu léčené infekce.

1.3.2.6 Fyzikální faktory

Vliv **rentgenového záření** využívaného ve výpočetní tomografii (CT) je prozatím nejasný. Finská studie Nikillä et al. (2018) uvádí téměř 3násobně vyšší riziko vzniku ALL po 1 a více CT vyšetření v dětství (OR 2,82; 95% IS 1,05–7,56) a navýšení OR o 0,13 (95% IS 0,02–0,26) s každým navýšením dávky o 1 mGy. Autoři sami upozorňují na limitace studie, především na nekompletnost starších dat, zahrnutí údajů pouze z omezeného počtu zdravotnických zařízení, možnost náhodné chyby aj. [112]

Působení **elektromagnetického pole** na rozvoj leukémie u dětí je předmětem diskuzí, zejména v souvislosti s významným rozšířením bezdrátových sítí, telefonních antén či televizního i rozhlasového vysílání. Důkazy jsou prozatím nejednoznačné – ačkoliv bylo neionizující elektromagnetické pole zařazeno IARC v roce 2002 mezi možné karcinogeny (skupina 2B), výsledky jednotlivých studií provedené poté v Severní Americe a Evropě a následné metaanalýzy [113–116] poskytují pouze slabé důkazy a biologická plauzibilita zůstává neobjasněna.

1.3.2.7 Chemické faktory

Studie případů a kontrol z Dánska našla statisticky významný vztah mezi kumulativní expozicí **radonu** a vznikem ALL u dětí, kdy při expozici radonu vyšší než 0,89x10³ Bq/m³/rok

je OR 1,63 (95% IS 1,05–2,53) [117]. Bez zajímavosti není ani fakt, že právě Dánsko patří mezi země významně radonem zatížené. Více než polovina obcí na území Dánska podle měření radonu v obytných prostorách spadá do kategorie 3, kdy byla ve 3–10 % obytných prostor naměřena hodnota přes 200 Bq/m³, a zhruba 10 % obcí spadá do kategorie 4, kdy jsou tyto hodnoty naměřeny v 10–30 % obytných prostor [118]. Také incidence ALL v Dánsku se dlouhodobě zvyšuje [119]. Stejnou asociaci ale neprokázaly jiné evropské studie, např. ve Švýcarsku [120] nebo v Norsku [121]. V ČR, kde je výskyt radonu v obytných prostorech velice častý, podobná studie prozatím nebyla provedena.

Ke zvýšení rizika rozvoje ALL může rovněž přispět expozice dětského organismu **látkám v usazeném prachu v domácnosti**. Studie ze Severní a Střední Kalifornie hodnotily účinky v prachu přítomných polycyklických aromatických uhlovodíků (PAU) a polychlorovaných bifenyliů (PCB), které jsou známé svými významnými karcinogenními účinky, schopností perzistence v prostředí a akumulací v lidském organismu.

Studie Deziel et al. (2014) pozorovala vyšší obsah **PAU** v prachu v domácnostech, které obývaly děti, u nichž se ALL objevila. Jednalo se především o indeno[1,2,3-cd]pyren (OR 1,81; 95% IS 1,04–3,16) a dibenzo[a,h]antracen (OR 1,98; 95% IS 1,04–3,16). Vyšší koncentrace byly pozorovány i u dalších PAU, jak jsou benzo[a]pyren (OR 1,42; 95% IS 0,96–2,12) a benzo[k]fluoranten (OR 1,71; 95% IS 0,91–3,22), výsledky nicméně nebyly statisticky významné. Studie navíc nehodnotila možnou expozice PAU z jiných zdrojů, např. z potravin či ovzduší [122].

Ward et al. (2009) pak udává až 2násobné riziko vzniku ALL při vystavení dítěte prachu s obsahem jakéhokoli **PCB** (OR 1,97; 95% IS 1,22–3,17). Zdrojem PCB je nejčastěji vnitřní

prostředí, především pak koberce nebo rohože, kde se tyto látky kumulují a mohou zde perzistovat i po velmi dlouhou dobu [123].

1.3.2.8 Infekční agens

V současnosti je hojně diskutována **Greavesova teorie** opožděné expozice, která byla publikovaná již v 80. letech minulého století. Greaves tvrdí, že časná vystavení se běžným dětským infekčním agens může vést ke snížení rizika vzniku ALL, především z prekursorových B lymfocytů, která má vrchol incidence ve věku mezi druhým a šestým rokem života [88, 124].

Vystavení se těmto agens v pozdějším věku vyvolává intenzivnější odpověď imunitního systému, během níž mohou proliferativní buňky získat mutaci vedoucí ke vzniku AL [124].

Platnost této teorie nebyla dostatečně spolehlivě prokázána. Jsou publikovány studie, které ji podporují – uvádějí např. nákazu parvovirem B19 [125], chřipkou [126] či enteroviry [127] nebo pravidelný kontakt se zvířaty a jejich mikroflórou v raném dětském věku [128]. Stejně tak jsou publikovány i studie, které tuto teorii spíše vyvracejí a diskutují např. infekci *Helicobacter pylori* [129], běžné známky infekce a alergie v raném dětství [130–132]. Pro jednoznačné potvrzení či vyvrácení Greavesovy teorie je tedy zapotřebí dalšího výzkumu vlivu infekcí na rozvíjející se imunitní systém a jejich možného dopadu.

1.4 Problematika infekčních komplikací léčby akutní leukémie

Se získáváním nových poznatků o leukémiích přicházejí i první pokusy o jejich léčbu, kdy bylo využíváno např. arzeniku nebo radioterapie (od 10. let 20. století). Od 60. let se vyvíjí kombinovaná chemoterapie [3, 4]. Na konci 70. let zaznamenala slibné výsledky studie, v níž byla jako léčebná metoda u pacientů s AL využita **alogenní transplantace kostní dřene** v kombinaci s chemoterapií a celotělovým ozářením, a také studie, v níž pacienti poprvé

podstoupili autologní transplantaci kostní dřeně [4, 133]. S vývojem dalších přípravků a optimalizací terapeutických protokolů dochází k velkému pokroku v léčbě. Rozvoj medicíny za posledních 50 let a moderní postupy v terapii hematologických malignit se odrážejí v příznivém vývoji přežívání pacientů i ve vývoji jejich mortality, jak ukazuje tabulka 5.

Tabulka 5 Vývoj přežívání pacientů s akutní leukémií

Onemocnění		Rok	
		1964	2014
Akutní lymfoblastická leukémie – děti	Medián doby přežití	2 měsíce	>10 let
	Dlouhodobé přežívání	5 %	>90 %
Akutní lymfoblastická leukémie – dospělí	Medián doby přežití	2 měsíce	>3 roky
	Dlouhodobé přežívání	5 %	40–50 %
Akutní myeloidní leukémie	Medián doby přežití	2 měsíce	1–2 roky
	Dlouhodobé přežívání	<5 %	30–40 %

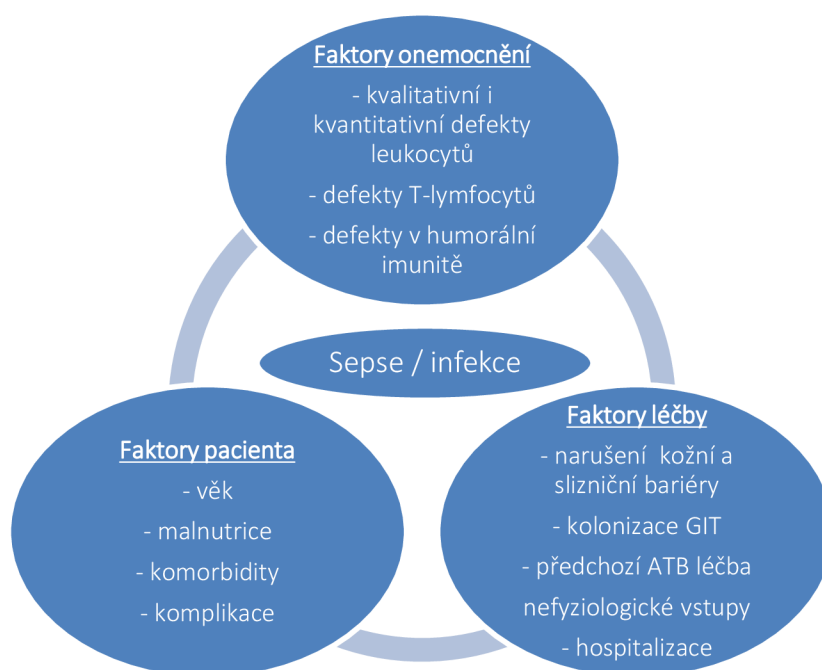
(upraveno dle [3])

Limitujícím faktorem úspěšné léčby začínají být komplikace spojené s nežádoucími účinky protinádorové terapie [134]. Vzhledem ke krátkému přežívání není u pacientů s akutními leukémiemi zprvu pozorován **vyšší výskyt infekčních komplikací** a antimikrobní profylaxe nebo jiná preventivní opatření nejsou zaváděna. Na souvislost mezi granulocytopenií a infekcí je upozorněno až v 60. letech, na základě toho je následně definován syndrom **febrilní neutropenie** [135]. Infekce se stávají největším problémem v léčbě leukémií – v jejich důsledku umírá v 50. a 60. letech 20. století přes 70 % pacientů [136]. V boji proti tomuto fenoménu je postupně zaváděno užívání antibiotik, režimová opatření, izolace na pokojích s filtrací vzduchu nebo neselektivní dekontaminace gastrointestinálního traktu hospitalizovaných pacientů [137].

V současnosti je léčba AL komplexní, zahrnuje systémovou chemoterapii, radioterapii či transplantaci krevetvorných buněk [2]. Tato nutná terapie v kombinaci se samotnou podstatou onemocnění (nedostatek zralých a funkčních neutrofilů z důvodu útlaku normální krevetvorby blastickými elementy) je podkladem vysoké **imunoprese** pacientů s AL a vyžaduje časté

hospitalizace [138, 139].² Vzhledem k náročné léčbě základního onemocnění, častým hospitalizacím a realizaci četných nefyziologických vstupů se pacienti s AL řadí mezi jedince s vysokým rizikem vzniku **infekčních komplikací**. Často mají proměnlivý a velmi chudý klinický obraz vyznačující se pouze výše zmíněnou **febrilní neutropenií**, dnes charakterizovanou jako výskyt teploty u neutropenického pacienta³. Etiologie těchto infekcí je různorodá a navzdory všem stupňům jejich prevence se tento problém zatím nedaří zcela eliminovat [2, 140, 141].

Riziko rozvoje infekce a její závažnost je určena komplexními vztahy mezi patogenem a hostitelem [142]. Zapojují se zde faktory na straně základního onemocnění (AL), pacienta a probíhající léčby (obrázek 4).



Obrázek 4 Rizikové faktory vzniku infekce u pacientů s akutními leukémiemi (zdroj: upraveno dle [142])

² Data ve Zdravotnické ročence ČR (2019) uvádějí, že za rok 2018 bylo kvůli diagnózám leukémie (C91–C95) v ČR hospitalizováno celkem 2 938 osob, z toho 1 644 mužů a 1 294 žen; za stejný rok tito pacienti strávili ve zdravotnických zařízeních celkem 36 583 dní, z toho muži 20 576 dní a ženy 16 007 dní [279].

³ U febrilní neutropenie je teplota definována jako jednou naměřených 38,5 °C a výše, nebo 38,0 °C a výše trvajících déle než jednu hodinu, nebo 38 °C a výše naměřených dvakrát v odstupu 12 hodin. Neutropenie je definována jako počet neutrofilů při vyšetření krevního obrazu nižší než $1,0 \times 10^9/l$.

Riziko a závažnost se odvíjejí také od stupně a délky trvání neutropenie, např. u dětí je riziko úmrtí na infekční komplikace leukémie nebo její léčby 1–2 % před dosažením remise a 2 % v remisi [143]. Infekce jsou také primárními příčinami úmrtí u pacientů po transplantaci krvetvorných buněk, a to u 8 % pacientů po autologní transplantaci a u 17–20 % pacientů po alogenní transplantaci [144].

1.4.1 Enterobakterie jako původci infekcí u pacientů s akutními leukémiemi

Infekty jsou stále nejdůležitějšími preventabilními příčinami úmrtí hematoonkologických pacientů. Způsobují je bakterie, viry či vláknité mikroskopické houby. V posledních letech převažují mezi hematoonkologickými pacienty infekce způsobené gramnegativními bakteriemi [145, 146], z nichž dominantními jsou enterobakterie [147].

V Evropě i ve Spojených státech amerických (*United States of America = USA*) jsou enterobakterie u imunosuprimovaných pacientů příčinou podstatné části nejrůznějších typů infekcí získaných během hospitalizace, např. infekcí krevního řečiště, urogenitálního traktu, ran, kůže a měkkých tkání, pneumonií, enterokolitid nebo sepsí. Právě infekce krevního řečiště jsou nejčastější infekty u hematoonkologických pacientů – postihují až 40 % pacientů s lymfomy, leukémiemi, mnohočetnými myelomy a febrilními neutropeniemi. Rizikovými faktory pro jejich vznik je předchozí podávání antibiotik – terapeutické (především cefalosporiny) i profylaktické (především fluorochinolony), přítomnost centrálních venózních katétrů, delší hospitalizace, mukositida a kolonizace gastrointestinálního traktu rezistentními enterobakteriemi [148, 149].

Infekce jsou jak exogenního, tak endogenního původu. Jako agens se v těchto případech nezdědka uplatňují i mikroorganismy, které kolonizují gastrointestinální trakt (GIT) pacienta. Souvislost mezi kolonizací a vznikem následných infekcí byla opakovaně prokázána [150–153].

Imunosuprimovaní pacienti s hematologickými onemocněními jsou rezistentními enterobakteriemi kolonizováni GIT častěji než běžná populace – např. Liss et al. (2012) uvádí 17,5 % [153] a Kolář et al. (2015) 21 % [154] hematologických pacientů oproti středoevropskému průměru 3 % [155]. Míra nosičství narůstá během hospitalizací a při zavedení antibiotické léčby či profylaxe, což je právě pro pacienty s AL typické [154]⁴.

Translokací enterobakterií z GIT do jiných systémů pak dochází k infekcím, z nichž nejzávažnější jsou již zmíněné infekce krevního řečiště, které vznikají při průniku kolonizující mikroflóry skrze sliznici střeva během trvající neutropenie. Riziko jejich vzniku je u interstiniálně kolonizovaných pacientů významně vyšší než u nekolonizovaných, např. ve studii Liss et al. (2012) uvádějí OR 4.5 (95% CI 2.89–7.04) [153]. Kolonizace představuje jeden z nejvýznamnějších rizikových faktorů pro vznik infekcí krevního řečiště u pacientů hospitalizovaných na hematologických odděleních [156].

1.5 Problematika antibiotické rezistence enterobakterií

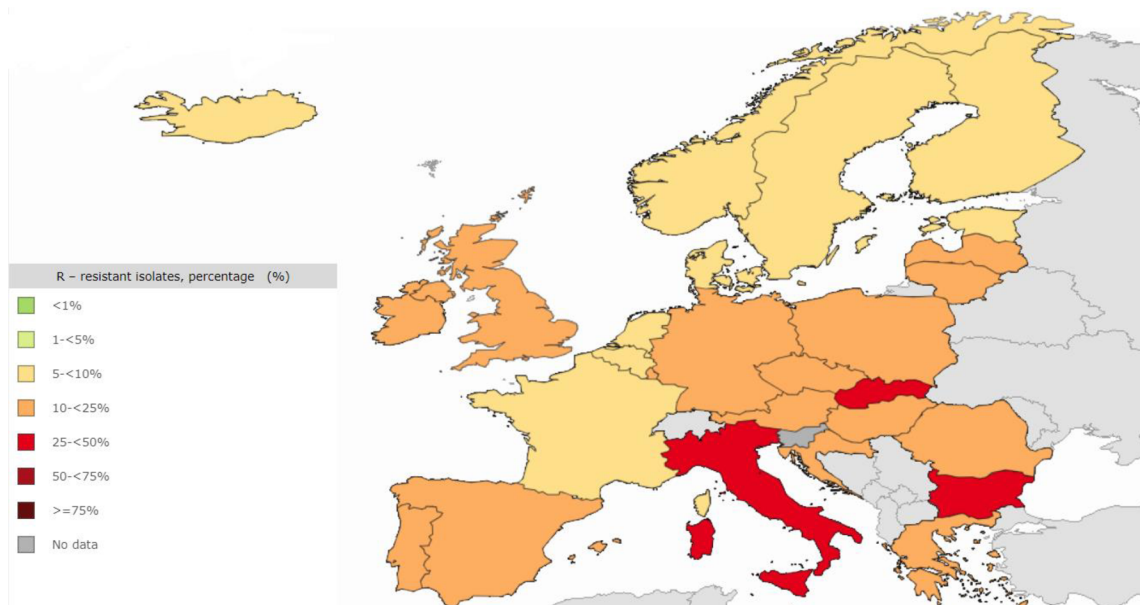
U enterobakterií se za poslední dekády rozvíjejí četné rezistence k antibiotikům, především cefalosporinům 3. a 4. generace a karbapenemům, širokospektrým a značně odolným rezervním antibiotikům, která se užívají jako poslední možnost léčby závažných a život ohrožujících infekcí. Rezistence jako taková je aktuálním a velice důležitým problémem pro medicínu i veřejné zdraví a je řazena mezi jedny z nejzávažnějších globálních rizik [157].

V některých lokalitách výskyt rezistentních kmenů prudce narůstá a ohrožuje stabilitu světového zdravotnického systému [158]. WHO v únoru 2017 zařadila *Enterobacteriaceae*

⁴ Asociace mezi kolonizací a následnou infekcí však není výsadní pouze pro enterobakterie – byla prokázána i u řady dalších původců, např. u vankomycin rezistentních enterokoků (VRE), *Pseudomonas aeruginosa* nebo *Stenotrophomonas maltophilia* [148]

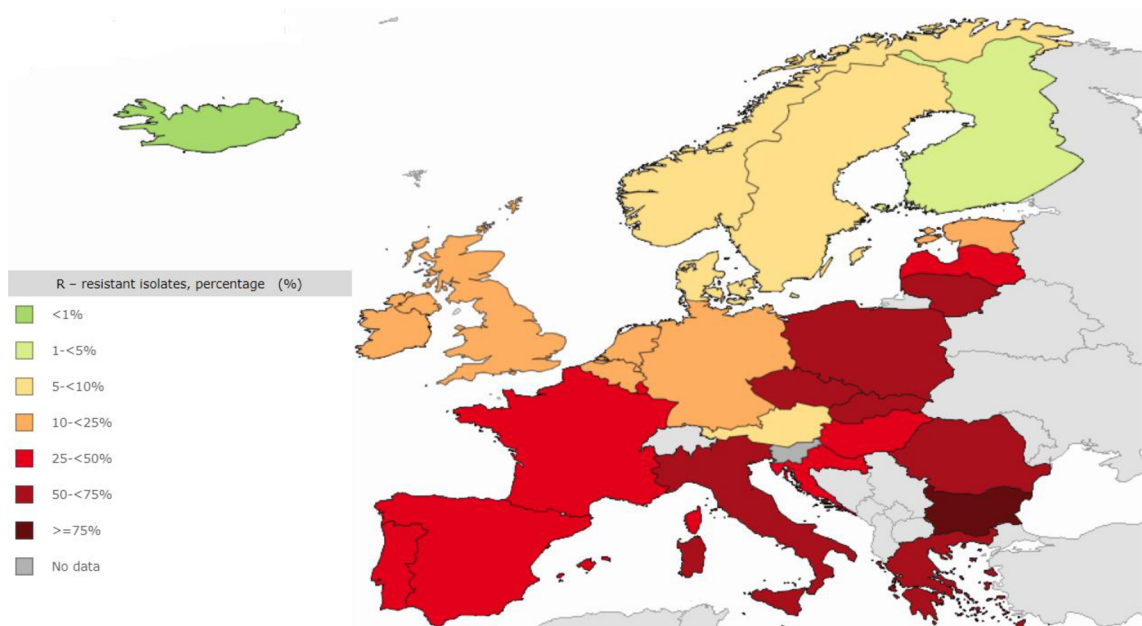
produkující širokospektré β -laktamázy (*extended-spectrum β -lactamases* = ESBL) a rezistentní na karbapenemy do první prioritní skupiny mikroorganismů, u nichž je kritická nutnost výzkumu a vývoje nových účinných antibiotik [159].

Dle systému European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net), který zajišťuje celoevropskou surveillance bakteriální rezistence, se nárůst rezistence týká i evropských zemí. *Escherichia coli*, patogen odpovědný za většinu infekcí močového traktu a infekcí krevního řečiště, vykazoval v roce 2018 rezistenci k cefalosporinům 3. generace u více než 30 % izolátů v Bulharsku, Itálii, na Kypru a Slovensku (obrázek 5), v ČR to bylo 15,2 % [160].



Obrázek 5 Procento izolátů *E. coli* rezistentních k cefalosporinům 3. generace v Evropě v roce 2018 (zdroj: [160])

U izolátů *Klebsiella pneumoniae*, častého původce pneumonií (komunitních i těch spojených se zdravotní péčí) a dalších infekcí hlavně u imunosuprimovaných jedinců, byl v roce 2018 stav rezistence k cefalosporinům 3. generace ještě závažnější. V Řecku a Bulharsku přesahoval 70 % a v dalších 8 zemích 50 %, mimo jiné i v ČR (obrázek 6) [160].



Obrázek 6 Procento izolátů *K. pneumoniae* rezistentních k cefalosporinům 3. generace v Evropě v roce 2018 (zdroj: [160])

U enterobakterií se jako nejčastější mechanismus rezistence k β -laktamovým antibiotikům uplatňuje produkce β -laktamáz (BL), především ESBL, typu AmpC a karbapenemáz (KARBA). Tyto enzymy, jichž bylo dle *Beta Lactamase Database – Structure and Function* (BLDB) doposud identifikováno více než 7 100 typů [161], štěpí β -laktamový kruh β -laktamových antibiotik a tím je inaktivují [162]. V současné době se dělí dle Amblera všechny BL do 4 tříd označených A–D (tabulka 6).

Tabulka 6 Klasifikace BL dle Amblera

Třída: Typ enzymu	Skupiny BL	Inaktivace antibiotik			Příklady BL	Specifika
		peniciliny	cefalosporiny	karbapenemy		
A: Serinové proteázy	Základní	Ano (mimo oxacilin)	1. generace (někdy)	Ne	TEM-1 SHV-1 PC1	Jsou nejčastější BL u lékařsky významných bakterií.
	ESBL	Ano	Ano (mimo cefamyciny)	Ne	CTX-M TEM-24 SHV-12	Často jsou umístěny na plazmidech.
	KARBA	Ano	Ano	Ano	KPC-1 SME-1 NMC-A	Inhibitory BL jsou proti nim účinné.
B: Metallo-β- laktamázy	-	Ano	Ano	Ano	NDM-1 IMP VIM GIM	Inhibitory BL jsou proti nim neúčinné.
C: Serinové proteázy	AmpC	Ano (kromě oxacilinu)	1.–3. generace	Ne	MIR-1	Jsou časté u lékařsky významných bakterií.
	KARBA	Ano	Ano	Ano	CMY-2	Vyskytují se na plazmidech nebo mobilních genetických elementech.
D: Serinové proteázy	Základní	Ano	1. generace	Ne	OXA-1 OXA-2	Je to velmi heterogenní skupina BL.
	ESBL	Ano	Ano (mimo cefamyciny)	Ne	OXA-11 OXA-15	
	KARBA	Ano	Ano	Ano	OXA-23 OXA-48 OXA-54	Jednotná diagnostika této třídy je obtížná.

(upraveno dle [162])

Za produkci těchto enzymů jsou odpovědné *bla* geny. Jedny z nejvýznamnějších jsou *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} a *bla*_{CTX-M}. TEM a SHV subtypy BL jsou u enterobakterií (hlavně klebsiel a enterobakterů) nalézány do konce 90. let, od nového tisíciletí se začínají prosazovat CTX-M [148, 163–165] BL. V rámci AmpC BL je popsáno mnoho nejrůznějších druhů těchto enzymů, od roku 1989 je pak po celém světě popisován výskyt AmpC BL typu CIT, DHA, EBC, AAC, MOX a FOX, které jsou přenášeny prostřednictvím plazmidů [166, 167]. Výskyt KARBA je hlášen od 80. let 20. století. V současnosti jsou klinicky nejvýznamnější KARBA typu KPC, OXA-48, NDM, VIM a IMP, známé jako tzv. big five [168].

Produkce BL není jediným mechanismem vzniku rezistence u enterobakterií, ačkoliv je nejčastěji dokumentovaná. Existují různé mechanismy odolnosti vůči antibiotikům – mikroorganismy mění permeabilitu své bakteriální stěny a cytoplazmatické membrány, modifikují cílová místa antibiotik nebo využívají tzv. bakteriálního efluxu, kterým efektivně vylučují antibiotika z buňky. Tyto mechanismy se vyvíjejí především na základě selekčního tlaku, který se významně uplatňuje právě na hematologických klinikách, odkud je pak hlášen vysoký výskyt mikroorganismů odolných vůči mnohým antibiotikům i onemocnění jimi způsobených [145, 147]. U hematologických pacientů jsou **multirezistentní** (*multi-drug-resistant* = *MDR*)⁵ enterobakterie původci 65–80 % infekcí způsobených gramnegativními mikroorganismy [147]. Stejně tak jsou těmito infekcemi ohroženi další pacienti, kteří jsou imunosuprimováni v rámci své léčby [148, 163–165].

V mnohých evropských i světových hematologických centrech jsou enterobakterie již rezistentní na cefalosporiny, popř. i karbapenemy, což nutí lékaře přistupovat ke kombinované ATB terapii založené na užití často toxických léčiv, např. polymyxinů [148, 163]. Významně omezený výběr antibiotik také často vede k selhání léčby a zvýšené mortalitě v této skupině pacientů [150, 152, 153].

⁵ MDR mikroorganismy jsou definovány jako odolné alespoň k jednomu zástupci minimálně tří kategorií antibiotik (bez ohledu na rezistence primární) [180].

2 Cíle práce

Pacienti s AL jsou vysoce imunosuprimovaní, a to v důsledku povahy vlastního onemocnění i nutné komplexní léčby. Kvůli této léčbě jsou často hospitalizováni a jsou jim zaváděny nefyziologické vstupy. Riziko vzniku infekcí, které mohou být fatální, je u těchto osob velice vysoké. Znalost výskytu rezistentních enterobakterií u pacientů s AL může být klíčová pro případnou léčbu při rozvoji infekce, stejně tak je zásadní při sledování aktuální epidemiologické situace na konkrétním oddělení.

Cílem této prospektivní epidemiologické studie tedy bylo provedení aktivní surveillance a epidemiologická charakteristika enterobakterií a jejich klinické významnosti u pacientů hospitalizovaných na Hemato-onkologické klinice Fakultní nemocnice Olomouc.

Studie byla podpořena *Research Support Foundation Vaduz – Comprehensive Study at the Issue of Oncological Diseases a IGA_LF_UP_2016_022*.

3 Materiál a metodika

Studie byla součástí projektu *Comprehensive Study at the Issue of Oncological Diseases*. Během studie byl vyšetřován klinický materiál, který byl odebrán pacientům s AL hospitalizovaným na Hemato-onkologické klinice (HOK) FNOL. Sběr vzorků probíhal od září 2015 do srpna 2016. Odběr vzorků probíhal v pravidelných intervalech v závislosti na tom, jak se jednotliví pacienti dostavovali na HOK. Odběr vzorků probíhal v pravidelných intervalech, tj. vždy při zahájení hospitalizace a následně minimálně 1x týdně v rámci screeningu byly pacientům prováděny výtěry z krku a odebírány vzorky moče a stolice (formou rektálního výtěru). Další klinický materiál byl odebírán v případě klinických známek infekce. Vzorky byly následně zpracovány klasickými mikrobiologickými a molekulárně-biologickými metodami.

3.1 Kultivace a identifikace mikroorganismů

Výtěry z krku a vzorky močí byly očkované pomocí automatického systému WASP (Copan, Itálie) na pevné kultivační půdy Columbia krevní agar a MacConkey agar (Trios, ČR). Stěry z ran a punktáty byly očkované pomocí automatického systému WASP (Copan, Itálie) na pevné kultivační půdy Columbia krevní agar, MacConkey agar, Sabouradův agar, BHI agar pro anaerobní kultivaci a do pomnožovací půdy (Trios, ČR). Stolice a perianální stěry byly nanášeny pomocí automatického systému WASP (Copan, Itálie) na pevné kultivační půdy Columbia krevní agar, MacConkey agar (Trios, ČR) a selektivní vyhledávací půdy na ESBL enterobakterie (TermoFisher, USA). Dále byly dány do pomnožovacího selenitového bujónu a vyočkovány na MacConkey agar a desoxycholátový citrátový agar (Trios, ČR). Kultivace probíhala při teplotě 35 ± 1 °C po dobu 18–24 h. Anaerobní kultivace probíhala v anaerobní atmosféře po dobu 48 hodin při teplotě 35 ± 1 °C.

Hemokultury byly vloženy do hemokultivačního systému BACTEC (BD, Velká Británie). Kultivace probíhala po dobu 5 dnů při teplotě 35 ± 1 °C. Po vyjmutí lahvičky ze systému se vyhotovil nátěr, který byl obarven dle Grama, a následně byla krev vyočkována na Columbia krevní agar a MacConkey agar (Trios, ČR), anaerobní hemokultury byly očkované na Columbia krevní agar a BHI agar pro anaerobní kultivaci (Trios, ČR).

Při nálezů signifikantního patogenu byla provedena identifikace kmene pomocí metody MALDI (matrix assisted laser desorption/ionization) v kombinaci s detektorem doby letu (TOF, time-of-flight). Byl použit IVD MALDI Biotyper (Bruker Daltonics, Německo) a metodika dle Sauer et al. (2008) [169]. Zachycené patogeny byly následně zamrazeny do kryozkumavek a uloženy při teplotě -80 °C pro další zpracování. Taktéž byl zamražen a uchován odebraný biologický materiál.

3.2 Identifikace pomocí MALDI-TOF a typizace

3.2.1 Příprava vzorku

Pro extrakci proteinů bylo odebráno několik kolonií čerstvé kultury každého mikroorganismu, které vyrostly během 24 hodin na krevním agaru při 35 ± 1 °C za aerobních podmínek. Kolonie byly resuspendovány v 1,5ml zkumavce (Eppendorf, Německo) obsahující 300 µl vody (Sigma-Aldrich, USA), poté bylo přidáno 900 µl absolutního etanolu a celý obsah byl řádně promísen. Zkumavky byly dvakrát centrifugovány (2 min, 13 tis. ot./min) a supernatant odstraněn. Peleta byla inkubována 15 minut při pokojové teplotě a následně rozpuštěna v 50 µl 70% kyseliny mravenčí. Byl přidán stejný objem acetonitrilu, směs byla promísená a centrifugována (2 min, 13 000 ot./min). Následně byl 1 µl získaného supernatantu nanesen osmkrát na MALDI destičku, následovalo přidání 1 µl matrice HCCA (alfa-kyano-4-hydroxy-skořicové kyseliny, vyrobená jako nasycený roztok 30% acetonitrilu/0,1% trifluoroctové kyseliny).

Po vyschnutí destičky při pokojové teplotě bylo provedeno měření MALDI-TOF MS pomocí přístroje Microflex LT (Bruker Daltonics, Brémy, Německo). Každý bod byl analyzován ve třech vyhotoveních (celkem 24 spekter). Každé vygenerované spektrum vyplynulo z 240 laserových pulsů (40 laserových pulzů v šesti různých pozicích v cílovém místě). Všechna měření byla provedena ve třech opakováních [169].

3.2.2 Analýza dat

Výsledná spektra byla analyzována pomocí FLEX Analysis (verze 3.0, Bruker Daltonics, Německo) a podrobena vyhlazování (*smoothing*) a úpravě základní čáry (*baseline subtraction*). Nejméně 24 spekter každého kmene bylo použito na vytvoření jednotného standardního hmotnostního spektra (MSP) s použitím výchozího nastavení v tvůrčí metodě BioTyper MSP. Po vytvoření MSP u jednotlivých kmenů byl identifikován každý MSP. Všechna spektra byla importována do softwaru BioTyper a analyzována proti Bruker knihovně [169].

Přesnost identifikace byla stanovena na základě hodnoty logaritmického skóre: hodnota 2,300–3,000 indikovala velmi pravděpodobnou identifikaci druhu, hodnota 2,000–2,299 indikovala bezpečnou identifikaci rodu, hodnota 1,700–1,999 indikovala pravděpodobnou identifikaci rodu. Identifikační skóre $\geq 2,0$ bylo deklarováno výrobcem jako spolehlivá identifikace na úrovni druhu (zelená) a skóre $\geq 1,7$ a $< 2,0$ na úrovni rodu (žlutá), pokud jsou splněny jednotlivé podmínky shodnosti druhů a rodů. Pro účely studie byl od každého pacienta zařazen pouze první izolát daného species [169].

Pro vizualizaci rozdílů mezi kmeny byl zkonstruován MSP dendrogram s použitím standardních nastavení v softwaru MALDI BioTyper, který vykresluje jednotlivé shlukování. Izoláty se skóre nad 1,7 byly použity při generování dendrogramu pouze v případě, že první tři nejlepší shody ukazovaly stejný druh. Spojovací funkce je normalizovaná podle vzdálenosti mezi 0 (dokonalá

shoda) a 1000 (žádná shoda). Druhy s úrovní vzdálenosti pod 500 byly popsány jako spolehlivě klasifikované druhy [169].

3.3 Stanovení citlivosti k vybraným antibiotikům pomocí mikrodiluční metody

Stanovení kvantitativní citlivosti na antibiotika bylo provedeno mikrodiluční metodou pro stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC). Byly použity mikrotitrační destičky pro gramnegativní bakterie (Trios, ČR) obsahující 18 antibiotik řaděných dvojnásobnou geometrickou řadou: ampicilin, ampicilin/sulbaktam, cefuroxim, gentamycin, kotrimoxazol, kolistin, ofloxacin, aztreonam, piperacilin, piperacilin/tazobaktam, cefotaxim, ceftazidim, cefepim, meropenem, ciprofloxacin, tigecyklin, tobramycin a amikacin. Po naočkování byly destičky kultivovány 18–24 hodin při teplotě 35 ± 1 °C, výsledky byly vyhodnoceny podle metodiky a testovacích kritérií EUCAST 2019 [170].

3.4 Fenotypová identifikace kmenů produkujících širokospektré, AmpC β -laktamázy a karbapenamázy

Všechny kmeny, u nichž byla MIC pro cefalosporiny 3. a 4. generace vyšší než 1 $\mu\text{g/ml}$, byly dále testovány na produkci ESBL a AmpC BL. Produkce ESBL byla ověřována a vyhodnocována pomocí Double-Disc Synergy Test (DDST), který byl modifikován přidáním disků s cefepimem, ceftazidimem a ceftazidimem/kyselinou klavulánovou, dále byla ještě použita antibiotika amoxicilin/kyselina klavulánová, aztreonam a cefotaxim [171, 172].

Produkce AmpC BL byla testována pomocí modifikovaného AmpC testu – byla použita antibiotika ceftazidim, ceftazidim/kyselina boritá, ceftazidim/kyselina klavulánová,

ceftazidim/kyselina klavulánová/kyselina boritá. Hodnotilo se rozšíření zóny inhibice růstu kolem disku nad 20 mm [172].

Kmeny, u nichž byla pozorována MIC u meropenemu > 20 µg/ml, byly dále fenotypově testovány na produkci KARBA pomocí Carba NP testu (Biomérieux, France). Výsledky byly vyhodnoceny dle pokynů výrobce.

3.5 Genetická detekce vybraných typů β-laktamáz u izolátů enterobakterií

Všechny enterobakterie byly z kryozkumavek vyizolovány na krevní agar (Trios, ČR) a kultivovány za účelem získání čisté kultury při 35±1 °C po dobu 24 hodin. Bakteriální DNA byla izolována s využitím komerčního kitu DNA Blood and Tissue kit (QIAGEN, Německo) dle pokynů výrobce.

U všech bakteriálních izolátů byla stanovena přítomnost genů *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} a *bla*_{CTX-M} pomocí polymerázové řetězové reakce (*polymerase-chain reaction* = PCR) s využitím specifických primerů [173–175].

Jako pozitivní kontroly byly použity kmeny *Escherichia coli* NCTC 13351 (*bla*_{TEM-3}), *Klebsiella pneumoniae* NCTC 13368 (*bla*_{SHV-18}) a *Escherichia coli* NCTC 13400 (*bla*_{CTX-M-15}).

U izolátů enterobakterií s fenotypovým potvrzením produkce AmpC BL pomocí modifikovaného AmpC testu byla použita multiplex PCR umožňující stanovení přítomnosti genů *bla*_{CIT}, *bla*_{DHA}, *bla*_{EBC}, *bla*_{AAC}, *bla*_{MOX} a *bla*_{FOX}, které kódují plazmidem kódované AmpC BL [176]. Jako pozitivní kontroly byly použity sbírkové kmeny Ústavu mikrobiologie LF UP v Olomouci *Citrobacter freundii* (*bla*_{CIT-2}), *Klebsiella pneumoniae* (*bla*_{DHA}), *Enterobacter cloacae* (*bla*_{EBC}) a *Hafnia alvei* (*bla*_{ACC}).

U izolátů enterobakterií s fenotypovým potvrzením produkce KARBA pomocí Carba NP testu byla pro stanovení přítomnosti genů *bla*_{NDM}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{KPC}, *bla*_{OXA-23} a *bla*_{OXA-48} kódujících produkci nejvýznamnějších typů KARBA použita PCR [177]. Jako pozitivní kontroly byly užity kmeny *K. pneumoniae* NCTC 13443 (*bla*_{NDM-1}), *E. coli* NCTC13476 (*bla*_{IMP}), *P. aeruginosa* NCTC 13437 (*bla*_{VIM-10}), *Acinetobacter baumannii* NCTC 13301 (*bla*_{OXA-23}), *K. pneumoniae* NCTC 13442 (*bla*_{OXA-48}), *K. pneumoniae* NCTC 13438 (*bla*_{KPC-3}).

3.6 Selekcce vzorků a statistická analýza

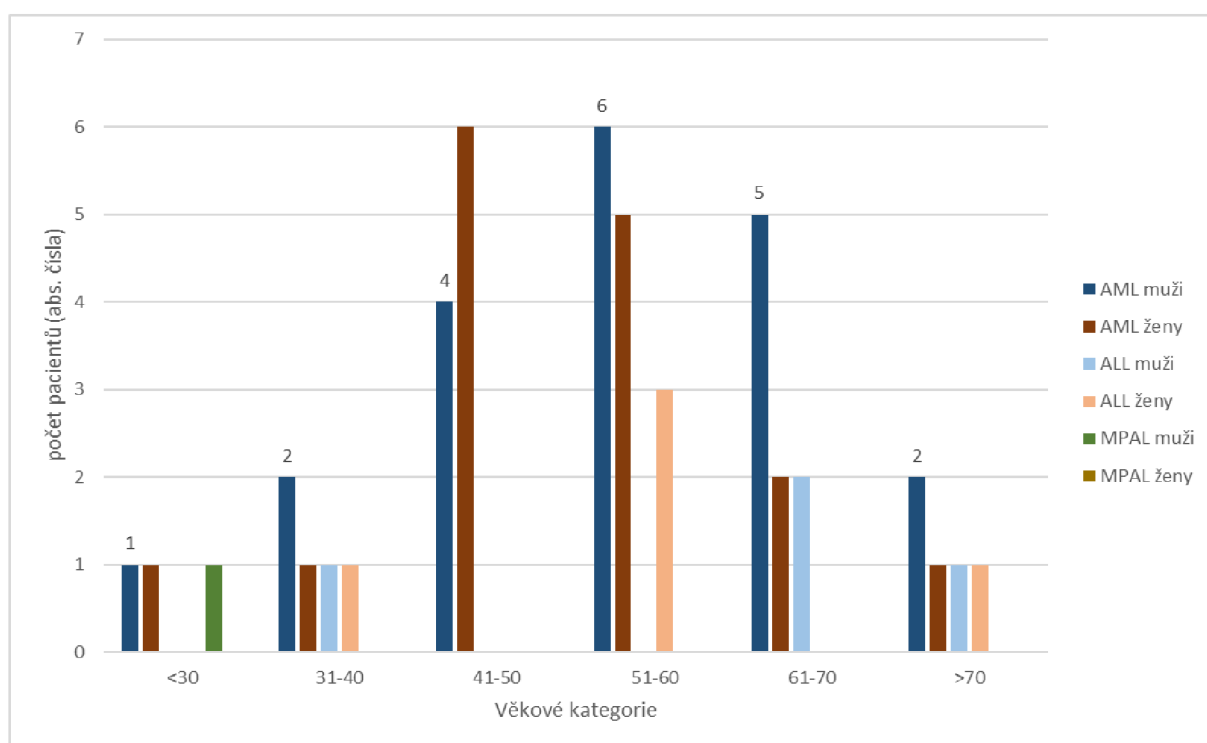
Po vykonání všech analýz byly vzorky dále podrobeny selekci na základě několika kritérií, aby bylo zamezeno zahrnutí identických kmenů získaných od téhož pacienta. Do výběru byl vybrán vždy kmen s prvním záchytem patogenu u jednoho pacienta z jedné anatomické lokality.

Výsledky byly následně statisticky zpracovány – byly testovány hypotézy nezávislosti výskytu jednotlivých a následně nejčastěji se vyskytujících bakteriálních druhů a jejich rezistencí na typu onemocnění pacientů. Tento vztah byl na hladině významnosti 0,05 ověřen standardním chí-kvadrátovým (χ^2) testem. V případě nedostatečného zastoupení jednotlivých původců byla přesná p-hodnota nahrazena hodnotou simulovanou pomocí metody Monte Carlo [178]. Veškeré výpočty byly provedeny v softwaru R [179].

4 Výsledky

4.1 Vyšetřovaný soubor

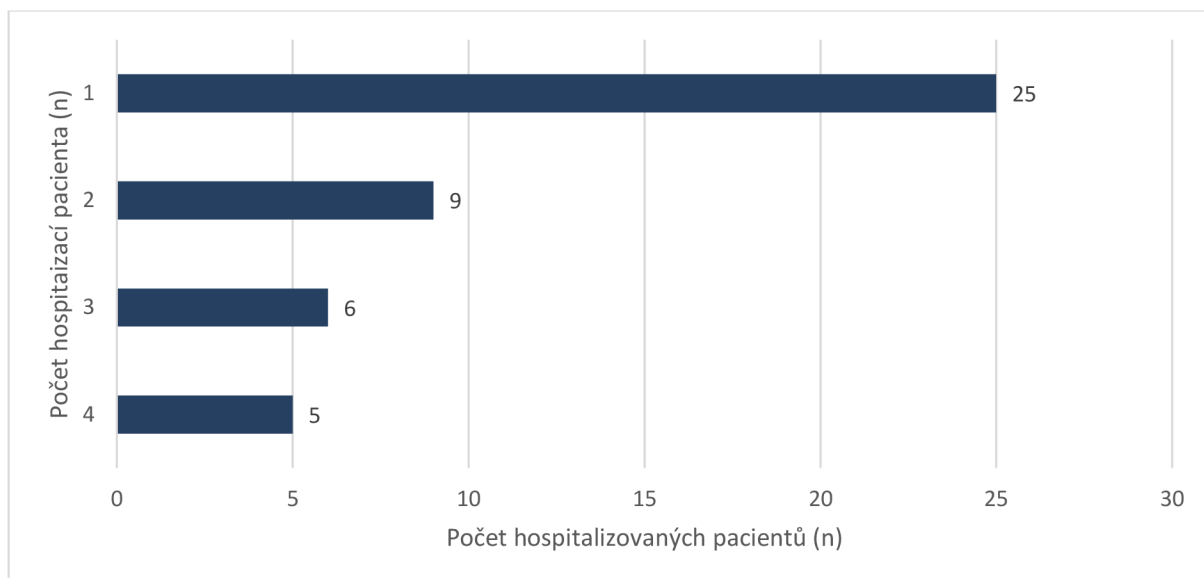
Rozdělení vyšetřovaného souboru dle věku, pohlaví a diagnózy ukazuje graf 10 – jednalo se o celkem 46 pacientů, z toho 9 pacientů mělo diagnózu ALL (19,6 %; z toho 5 žen a 4 muži), 36 pacientů mělo diagnózu AML (76,6 %; z toho 16 žen a 20 mužů) a 1 pacient měl diagnózu vzácné MPAL (2,2 %; 1 muž). Věk pacientů byl 27–75 let, průměrný věk byl 50,5 let (57,3 let u pacientů s ALL a 61,9 let u pacientů s AML a 28 let u pacienta s MPAL).



Graf 10 Distribuce pacientů ve studii dle věku a pohlaví

(Legenda: AML = akutní myeloidní leukémie, ALL = akutní lymfoblastická leukémie, MPAL = akutní leukémie nejasného původu)

V rámci sledovaného období bylo u těchto pacientů evidováno 81 hospitalizací (nejméně 1x, nejvíce 4x – graf 11), v průměru byli pacienti hospitalizováni 37 dní (nejkratší hospitalizace byla po dobu dvou dnů, nejdelší po dobu 166 dnů).



Graf 11 Počty hospitalizací u pacientů s AL

V rámci HOK FNOL jsou pacienti hospitalizováni na lůžkové části na třech odděleních:

- 5A – specializované hematologické oddělení: 8 pacientů, 12 hospitalizací,
- 5B – jednotka intenzivní hematologické péče: 32 pacientů, 52 hospitalizací,
- 5C – transplantační jednotka: 13 pacientů, 17 hospitalizací.

Na dvou různých odděleních bylo během sledovaného období hospitalizováno 7 pacientů.

4.2 Bakteriální nález

Celkem bylo od 46 pacientů získáno 288 vzorků klinického materiálu (průměrně 6 vzorků od jednoho pacienta – nejvíce 22, nejméně 1). Nejčastěji to byly výtěry z krku (103x), stolice (89x), moč (52x), hemokultura (16x) a výtěr z dutiny ústní (12x), minoritně byly zastoupeny další klinické materiály, např. perianální stěr, stěr z rány nebo sputum.

Výsledkem selekce popsané v kapitole 3.6 byl výběr 143 vzorků z 9 typů klinických materiálů (47x výtěr z krku, 39x stolice, 32x moč, 11x hemokultura, 5x výtěr z dutiny ústní, 3x perianální stěr, 3x stěr z rány, 2x sputum, 1x punktát). Mezi 143 získanými izoláty byly nejvíce prevalujícími enterobakteriemi *Escherichia coli* (41x), *Klebsiella pneumoniae* (33x),

Enterobacter cloacae (19x) a *Klebsiella oxytoca* (12x), dále pak bylo identifikováno dalších 15 druhů (Tabulka 7).

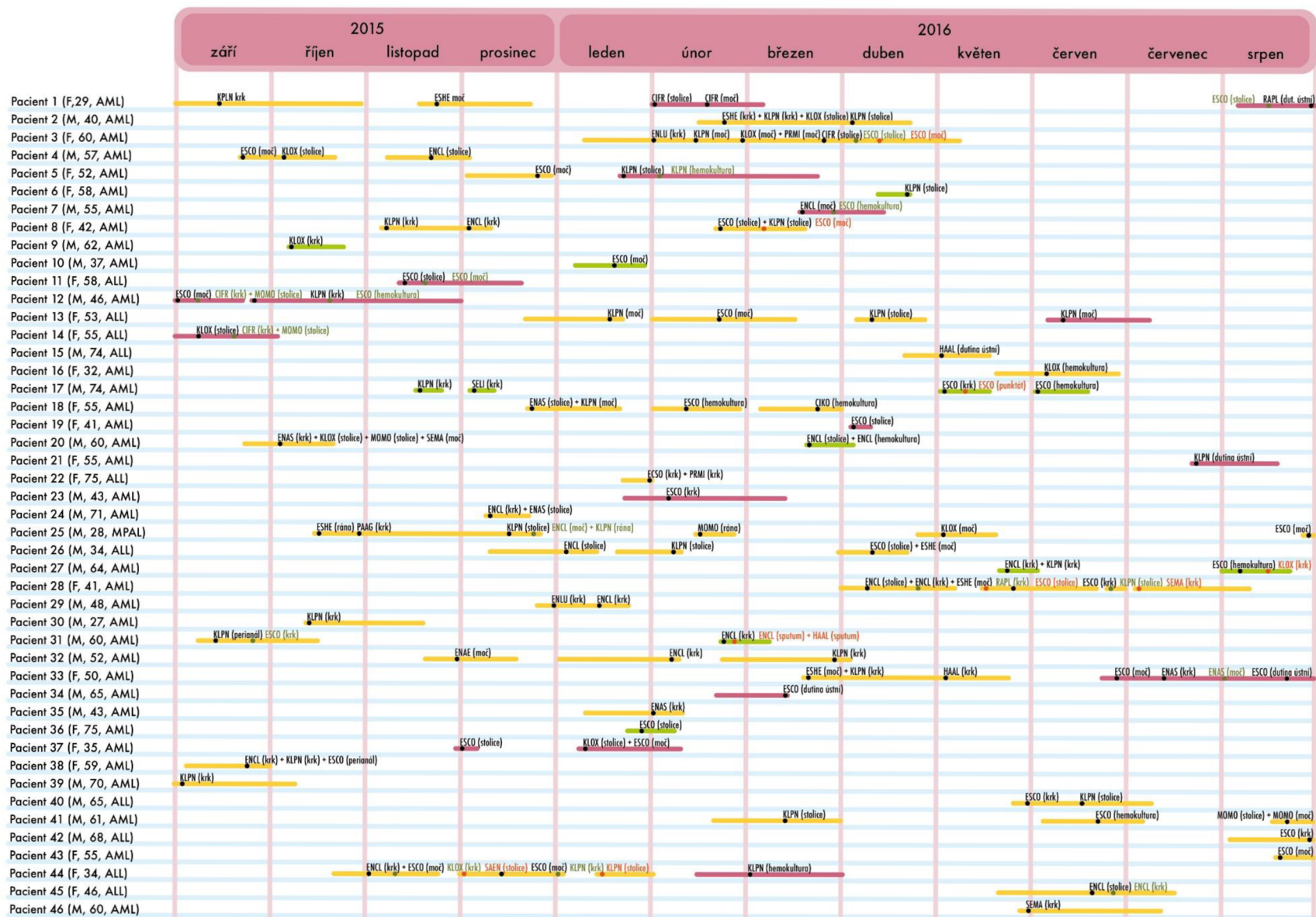
Tabulka 7 Enterobakterie izolované od pacientů s akutními leukémiemi

Nález	Celkem		AML x ALL x MPAL		
	Zkr.	n (%)	AML – n (%)	ALL – n (%)	MPAL – n (%)
<i>Escherichia coli</i>	ESCO	41 (28,7)	31 (29,3)	9 (34,6)	1 (12,5)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KLPN	33 (23,1)	22 (20,2)	9 (34,6)	2 (25)
<i>Enterobacter cloacae</i>	ENCL	19 (13,3)	16 (15,1)	2 (7,7)	1 (12,5)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	KLOX	12 (8,4)	9 (8,5)	2 (7,7)	1 (12,5)
<i>Enterobacter asburiae</i>	ENAS	6 (4,2)	6 (5,5)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Escherichia hermanii</i>	ESHE	6 (4,2)	4 (3,7)	1 (3,8)	1 (12,5)
<i>Morganella morganii</i>	MOMO	5 (3,5)	4 (3,7)	0 (0,0)	1 (12,5)
<i>Citrobacter freundii</i>	CIFR	4 (2,8)	4 (3,7)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Hafnia alvei</i>	HAAL	3 (2,1)	2 (1,8)	1 (3,8)	0 (0,0)
<i>Serratia marcescens</i>	SEMA	3 (2,1)	3 (2,8)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Enterobacter ludwigii</i>	ENLU	2 (1,4)	2 (1,8)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Proteus mirabilis</i>	PRMI	2 (1,4)	1 (0,9)	1 (3,8)	0 (0,0)
<i>Citrobacter koseri</i>	CIKO	1 (0,7)	1 (0,9)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ENAE	1 (0,7)	1 (0,9)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Pantotea agglomerans</i>	PAAG	1 (0,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (12,5)
<i>Raoutella ornithinolytica</i>	RAOR	1 (0,7)	1 (0,9)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Raoutella planticola</i>	RAPL	1 (0,7)	1 (0,9)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Salmonella enterica</i>	SAEN	1 (0,7)	0 (0,0)	1 (3,8)	0 (0,0)
<i>Serratia liquefaciens</i>	SELI	1 (0,7)	1 (0,9)	0 (0,0)	0 (0,0)
TOTAL		143 (100)	109 (100)	26 (100)	8 (100)

(Legenda: AML = akutní myeloidní leukémie, ALL = akutní lymfoidní leukémie, MPAL = akutní leukémie nejasného původu)

E. coli, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* a *K. oxytoca* byly nejčastějšími nálezy u pacientů s AML i u pacientů s ALL. Také distribuce těchto původců dle pohlaví (bez ohledu na diagnózu) byla, co se pořadí týče, totožná. Dále byla sestavena časová osa zaznamenávající u jednotlivých pacientů termíny jejich hospitalizací a data izolací (obrázek 7).

Obrázek 7 Časová osa (Legenda: barva linie → červená – 5C, žlutá – 5B, zelená – 5A)



4.3 Stanovení citlivosti na antibiotika metodou minimální inhibiční koncentrace

U všech čtyř hlavních původců jsou pozorovány významné míry rezistence na mnohá z testovaných skupin antibiotik (viz příloha 1). Bude-li brána v úvahu definice MDR zmíněná výše [180], jako MDR lze klasifikovat celkem 94 (65,7 %) izolovaných kmenů, a to všechny izoláty *M. morganii* (5x), *C. freundii* (4x), *H. alvei* (3x), *P. mirabilis* (2x), *E. aerogenes* (1x) a *S. liquefaciens* (1x). Dále byly jako MDR klasifikovány kmeny *K. pneumoniae* (26x; 78,8 %), *E. coli* (25x; 61,0 %), *E. cloacae* (14x; 73,7 %), *K. oxytoca* (6x; 50,0 %), *E. asburiae* (4x; 66,7 %), *S. marcescens* (2x; 33,3 %) a *E. ludwigii* (1x; 50,0 %).

4.4 Fenotypová identifikace kmenů produkujících širokospektré, AmpC β -laktamázy a karbapenamázy

U 30 pacientů (65,2 %) byly nalezeny kmeny enterobakterií fenotypově identifikované jako ESBL producenti. Kmeny byly izolovány od 6 pacientů s ALL (66,7 %), z toho se jednalo o 4 ženy (80 %) a 2 muže (50 %), a od 23 pacientů s AML (63,9 %), z toho 14 žen (87,5 %) a 9 mužů (45,0 %). Od pacienta s MPAL byly izolovány 3 ESBL kmeny. Celkově se bylo fenotypově identifikováno jako ESBL produkujících 56 izolátů. Nejčastěji to byly opět izoláty *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae* a *K. oxytoca*, dále také *E. asburiae*, *C. freundii*, *E. ludwigii* a *M. morganii* (tabulka 8).

Tabulka 8 Výskyt ESBL producentů u pacientů s AML a ALL

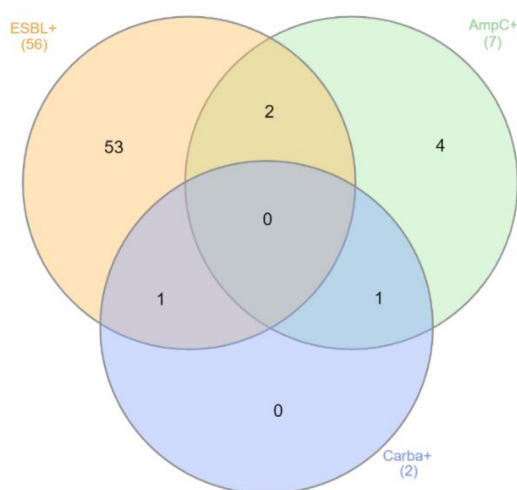
Nález	Tot n (%)	AML X ALL X MPAL		
		AML n (%)	ALL n (%)	MPAL n (%)
KLPN	21 (71,0)	11 (40,7)	8 (38,1)	2 (9,5)
ESCO	15 (36,6)	13 (86,7)	2 (13,3)	0 (0,0)
ENCL	10 (52,6)	8 (80,0)	1 (10,0)	1 (10,0)
KLOX	6 (50,0)	5 (83,3)	1 (12,7)	0 (0,0)
ENAS	1 (16,7)	1 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)
CIFR	1 (25,0)	1 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)
ENLU	1 (50,0)	1 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)
MOMO	1 (20,0)	1 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)

(Legenda: ESCO = *Escherichia coli*, KLPN = *Klebsiella pneumoniae*, ENCL = *Enterobacter cloacae*, KLOX = *Klebsiella oxytoca*, ENAS = *Enterobacter asburiae*, MOMO = *Morganella morganii*, CIFR = *Citrobacter koseri*, ENLU = *Enterobacter ludwigii*; S = senzitivní, R = rezistentní)

Dále bylo pomocí AmpC testu identifikováno sedm producentů BL typu AmpC. Jednalo se o *E. asburiae* (4x), *C. freundii* (1x), *K. pneumoniae* (1x) a *M. morganii* (1x). Kromě *K. pneumoniae* byly všechny izolovány od pacientů s AML. Jednalo se o 6 pacientů, a to 5 s AML (3 ženy a 2 muže) a 1 s ALL (1 žena).

Pomocí Carba NP testu byly rozpoznány 2 kmeny produkující KARBA – jednalo se o *E. coli* (zároveň producent ESBL) a *E. asburiae* (zároveň producent AmpC BL), oba byly izolovány od pacientů s AML (1 žena a 1 muž).

Izoláty vykazovaly schopnost tvořit více druhů enzymů, jak ukazuje graf 12.



Graf 12 Izoláty fenotypově identifikované jako producenti vícero druhů enzymů (vytvořeno v [181])
(Legenda: ESBL = širokospektré β -laktamázy, AmpC = AmpC β -laktamázy, Carba = karbapenemázy)

4.5 Výskyt genů kódujících produkci vybraných typů β-laktamáz

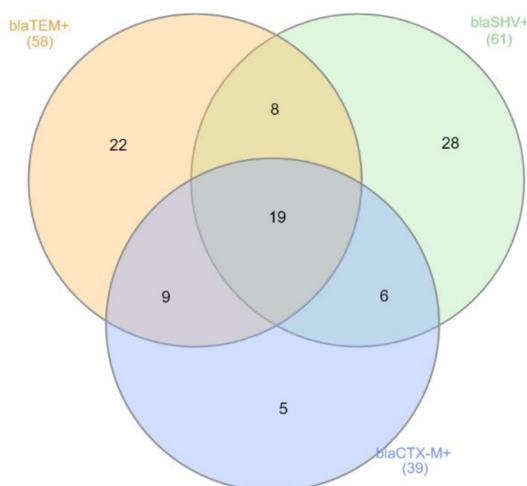
Gen *bla*_{TEM} byl přítomen u 58 kmenů (40,6 %), gen *bla*_{SHV} u 61 kmenů (42,7 %) a gen *bla*_{CTX-M} u 39 kmenů (27,3 %). Výskyt jednotlivých genů i jejich kombinací ukazuje tabulka 9.

Tabulka 9 Výskyt genů kódujících produkci vybraných β-laktamáz

		Nalezené geny								
		<i>bla</i> _{TEM} <i>bla</i> _{SHV} <i>bla</i> _{CTX-M}	<i>bla</i> _{TEM} <i>bla</i> _{SHV}	<i>bla</i> _{TEM} <i>bla</i> _{CTX-M}	<i>bla</i> _{SHV} <i>bla</i> _{CTX-M}	<i>bla</i> _{TEM}	<i>bla</i> _{SHV}	<i>bla</i> _{CTX-M}	Neg.	Tot.
ESCO	n	3	4	2	2	17	2	3	8	41
	%	7,3	9,8	4,9	4,9	41,5	4,9	7,3	19,5	100
KLPN	n	15	2	1	4	0	10	0	1	33
	%	45,5	6,1	3,0	12,1	0,0	30,3	0,0	3,0	100
ENCL	n	1	1	2	0	2	3	0	10	19
	%	5,3	5,3	15,9	0,0	10,6	15,9	0,0	52,6	100
KLOX	n	1	0	3	0	0	4	0	4	12
	%	8,4	0,0	25,0	0,0	0,0	33,3	0,0	33,3	100
ENAS	n	0	0	0	0	1	2	1	2	6
	%	0,0	0,0	0,0	0,0	16,6	33,2	16,6	33,2	100
ESHE	n	0	1	0	0	1	1	0	3	6
	%	0,0	16,7	0,0	0,0	16,7	16,7	0,0	50,0	100
MOMO	n	0	0	0	0	0	1	0	4	5
	%	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	20,0	0,0	80,0	100
CIFR	n	0	0	0	0	1	0	0	3	4
	%	0,0	0,0	0,0	0,0	25,0	0,0	0,0	75,0	100
HAAL	n	0	0	0	0	0	0	0	3	3
	%	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100	100
SEMA	n	0	0	0	0	0	1	0	2	3
	%	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	33,3	0,0	66,7	100
ENLU	n	0	0	0	0	0	0	1	1	2
	%	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	50,0	50,0	100
PRMI	n	0	0	0	0	0	0	0	2	2
	%	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100	100
CIKO	n	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	%	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100	100
ENAE	n	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	%	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100	0,0	0,0	100
PAAG	n	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	%	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100	0,0	0,0	100
RAOR	n	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	%	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100	100
RAPL	n	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	%	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100	100
SAEN	n	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	%	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100	0,0	0,0	100
SELI	n	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	%	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100	0,0	0,0	100
Tot.	n	20	8	8	6	22	28	5	46	143
	%	18,7	6,5	8,4	5,6	17,8	18,7	1,9	21,5	100

(Legenda: ESCO = *Escherichia coli*, KLPN = *Klebsiella pneumoniae*, ENCL = *Enterobacter cloacae*, KLOX = *Klebsiella oxytoca*, ENAS = *Enterobacter asburiae*, ESHE = *Escherichia hermannii*, MOMO = *Morganella morganii*, CIFR = *Citrobacter koseri*, HAAL = *Hafnia alvei*, SEMA = *Serratia marcescens*, ENLU = *Enterobacter ludwigii*; PRMI = *Proteus mirabilis*, CIKO = *Citrobacter koseri*, ENAE = *Enterobacter aerogenes*, PAAG = *Pantotea agglomerans*, RAOR = *Raoutella ornithinolytica*, RAPL = *Raoutella planticola*, SAEN = *Salmonella enterica*; SELI = *Serratia liquefaciens*)

Izoláty často nesly vícero genů, jak ukazuje graf 13.



Graf 13 Izoláty nesoucí geny blaTEM, blaSHV a blaCTX-M (vytvořeno v [181])

V rámci AmpC BL byl identifikován 4x gen *blaEBC*, 2x gen *blaDHA* a 1x gen *blaCIT*. Charakteristiku jednotlivých izolátů produkujících AmpC BL uvádí tabulka 10.

Tabulka 10 Charakteristika izolátů produkujících AmpC β-laktamázy

Pohlaví, věk, dg	nález	Klin. materiál	Fenotyp	Genotyp
F, 29, AML	CIFR	stolice	ESBL – / AmpC + / KARBA –	<i>blaCIT</i>
F, 51, AML	ENAS	moč	ESBL – / AmpC + / KARBA –	<i>blaTEM</i> , <i>blaEBC</i>
	ENAS	výtěr z krku	ESBL – / AmpC + / KARBA +	<i>blaEBC</i> , <i>blaIMP</i>
F, 53, ALL	KLPN	moč	ESBL + / AmpC + / KARBA –	<i>blaTEM</i> , <i>blaSHV</i> , <i>blaDHA</i>
F, 55, AML	ENAS	stolice	ESBL + / AmpC + / KARBA –	<i>blaCTX-M</i> , <i>blaEBC</i>
M, 60, AML	MOMO	stolice	ESBL – / AmpC + / KARBA –	<i>blaTEM</i> , <i>blaSHV</i> , <i>blaDHA</i>
M, 71, AML	ENAS	stolice	ESBL – / AmpC + / KARBA –	<i>blaSHV</i> , <i>blaEBC</i>

(Legenda: KLPN = *Klebsiella pneumoniae*, ENAS = *Enterobacter asburiae*, MOMO = *Morganella morganii*, CIFR = *Citrobacter freundii*, AML = akutní myeloidní leukémie, ALL = akutní lymfoidní leukémie, ESBL = širokospektré β-laktamázy, AmpC = AmpC β-laktamázy, KARBA = karbapenamázy, F = žena, M = muž)

U dvou izolátů byly nalezeny geny kódující produkci KARBA. Jednalo se o izoláty *E. asburiae* a *E. coli*, v obou případech nesly gen *bla_{IMP}*. Jejich další charakteristiky ukazuje tabulka 11.

Tabulka 11 Izoláty nesoucí geny pro produkci karbapenemáz

Pohlaví, věk, dg	nález	Klin. materiál	Fenotyp	Genotyp
F, 51, AML	ENAS	výtěr z krku	ESBL – / AmpC + / KARBA +	<i>bla_{EBC}</i> , <i>bla_{IMP}</i>
M, 64, AML	ESCO	hemokultura	ESBL + / AmpC - / KARBA +	<i>bla_{TEM}</i> , <i>bla_{CIT}</i>

(Legenda: ENAS = *Enterobacter asburiae*, ESCO = *Escherichia coli*, AML = akutní myeloidní leukémie, ESBL = širokospektré β -laktamázy, AmpC = AmpC β -laktamázy, KARBA = karbapenemázy, F = žena, M = muž)

4.6 Statistická analýza

Do statistické analýzy byly zahrnuty pouze vzorky pacientů s ALL a AML – ve studii byl pouze jediný pacient s MPAL, a proto byl ze statistického zpracování vyjmut.

Nebyl prokázán statisticky významný rozdíl ve výskytu všech jednotlivých enterobakterií mezi pacienty s AML a ALL ($p=0,5635$). Taktéž mezi oběma skupinami pacientů nebyly zaznamenány rozdíly ve výskytu všech původců fenotypově identifikovaných jako produkující ESBL a ve výskytu jednotlivých *bla* genů stanovených pomocí PCR.

Při zaměření na *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* a *K. oxytoca* (jakožto čtyři nejčastěji izolované enterobakterie) byly pozorovány podobné vztahy – mezi pacienty s AML a ALL se nijak se nelišil výskyt těchto mikroorganismů ($p=0,7281$), zastoupení fenotypově identifikovaných producentů ESBL ani výskyt *bla* genů. Veškeré rozdíly v celkových počtech sledovaných bakterií tak byly patrně způsobeny pouze různým zastoupením skupin pacientů s AML a ALL.

Komplexní výsledky statistického zpracování dat uvádí tabulka 12.

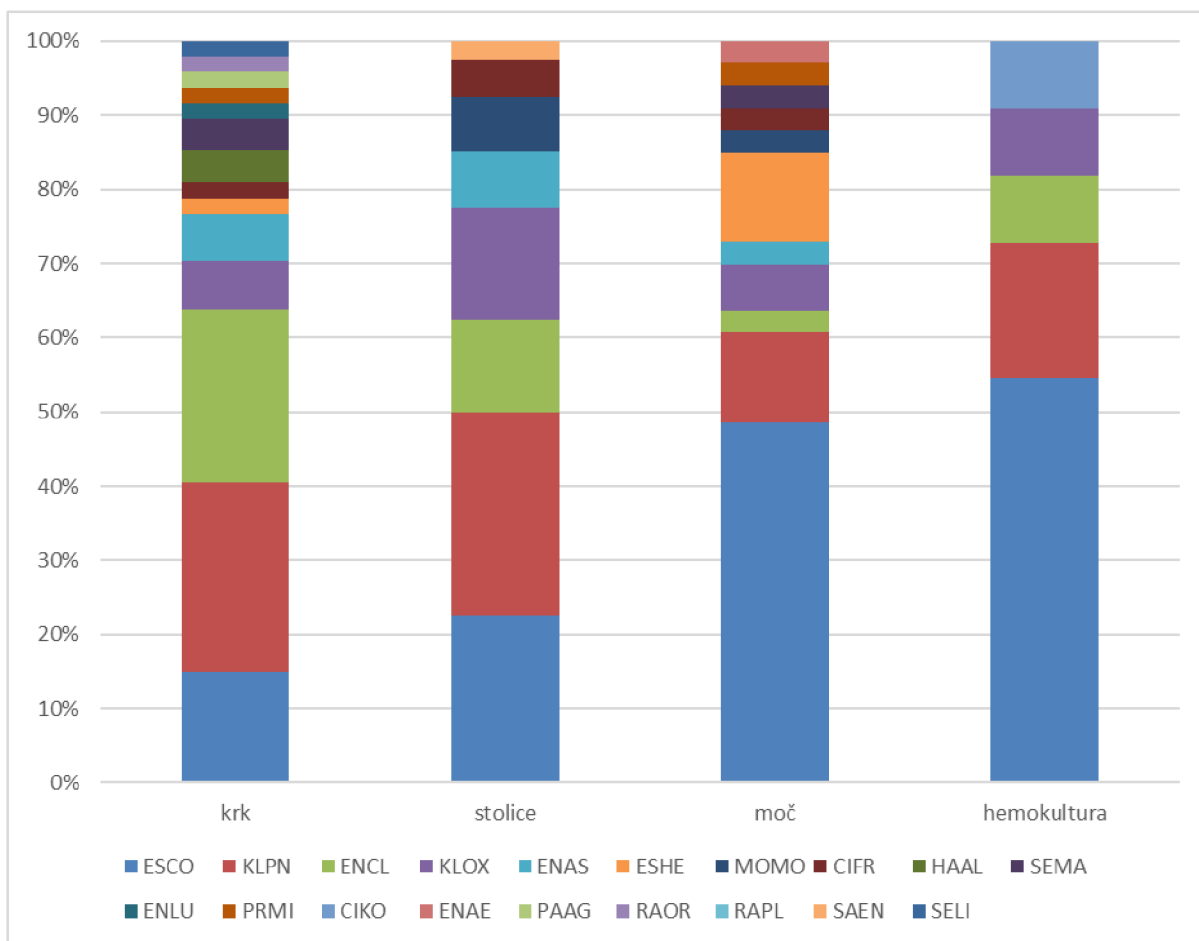
Tabulka 12 Výsledky statistického zpracování dat

	AML n (%)	ALL n (%)	p-value
Všechny <i>Enterobacteriaceae</i>			
ESBL+ fenotypově	41 (77,4)	12 (22,6)	0,5635
BL/ESBL+ genotypově			
<i>bla</i> _{TEM}	43 (78,2)	12 (21,8)	0,687
<i>bla</i> _{SHV}	43 (75,4)	14 (24,6)	0,265
<i>bla</i> _{CTX-M}	27 (67,5)	10 (32,5)	0,2454
ESCO, KLPN, ENCL, KLOX			
ESBL+ fenotypově	37 (75,5)	12 (24,5)	0,7281
BL/ESBL+ genotypově			
<i>bla</i> _{TEM}	40 (76,9)	12 (24,1)	0,9769
<i>bla</i> _{SHV}	36 (73,5)	13 (26,5)	0,4062
<i>bla</i> _{CTX-M}	25 (71,4)	10 (28,6)	0,3623

(Legenda: ESCO = *Escherichia coli*, KLPN = *Klebsiella pneumoniae*, ENCL = *Enterobacter cloacae*, KLOX = *Klebsiella oxytoca*, ESBL = širokospektré β -laktamázy, AML = akutní myeloidní leukémie, ALL = akutní lymfoidní leukémie)

4.7 Charakteristika enterobakterií z jednotlivých typů klinického materiálu

Zastoupení enterobakterií v nejčastěji vyšetřovaném klinickém materiálu – výtěrech z krku, vzorcích stolice, moči a hemokulturách – ukazuje graf 14.



Graf 14 Procentuální zastoupení enterobakterií ve výtěrech z krku, vzorcích stolice, moče a hemokulturách

(Legenda: ESCO = *Escherichia coli*, KLPN = *Klebsiella pneumoniae*, ENCL = *Enterobacter cloacae*, KLOX = *Klebsiella oxytoca*, ENAS = *Enterobacter asburiae*, ESHE = *Escherichia hermannii*, MOMO = *Morganella morganii*, CIFR = *Citrobacter koseri*, HAAL = *Hafnia alvei*, SEMA = *Serratia marcescens*, ENLU = *Enterobacter ludwigii*; PRMI = *Proteus mirabilis*, CIKO = *Citrobacter koseri*, ENAE = *Enterobacter aerogenes*, PAAG = *Pantotea aglomerans*, RAOR = *Raoutella ornithinolytica*, RAPL = *Raoutella planticola*, SAEN = *Salmonella enterica*; SELI = *Serratia liquefaciens*)

Ve vzorcích moče a v hemokulturách převládaly izoláty *E. coli*, tvořily zde zhruba polovinu izolovaných enterobakterií. Ve výtěrech z krku a ve vzorcích stolice bylo toto zastoupení nižší, a to 14,9 % a 23,1 %. Bakterie *Klebsiella* spp. dominovaly ve vzorcích stolice (43,6 %), cca třetinu izolátů pak představovaly ve stěrech z krku a hemokulturách, zhruba pětinu ve vzorcích moče. *Enterobacter* spp. tvořil třetinu izolátů z výtěrů z krku, pětinu izolátů ze vzorků stolice a desetinu izolátů ze vzorků močí.

Izoláty ze vzorků stolic a perianálních stěrů častěji vykazovaly schopnost produkce ESBL, dále pak byly tyto kmeny izolovány z dalších šesti typů klinického materiálu (tabulka 13).

Tabulka 13 Klinický materiál, z něž byly nejčastěji izolovány ESBL produkující enterobakterie

Klinický materiál	n (%)
Stolice	33 (84,6)
Výtěr z krku	7 (14,9)
Perianální stěr	3 (100)
Moč	4 (12,5)
Hemokultura	3 (27,3)
Výtěr z dutiny ústní	3 (60,0)
Sputum	1 (50,0)
Stěr z rány	1 (33,3)

Ve stolici převládaly i AmpC BL produkující kmeny, dále byly izolovány ze vzorků moče a výtěru z krku (viz tabulka 10). Izoláty produkující KARBA byly nalezeny ve výtěru z krku a hemokultuře (viz tabulka 11).

Tabulka 14 ukazuje celkový přehled rezistencí u izolátů získaných z nejčastěji vyšetřovaného klinického materiálu – výtěrů z krku, vzorků stolice, moči a hemokultur.

Tabulka 14 Rezistence u izolátů z nejčastěji vyšetřovaného klinického materiálu

Klinický materiál	Fenotyp ESBL+ n (%)	Fenotyp AmpC+ n (%)	Fenotyp KARBA+ n (%)	Nalezené geny
Výtěry z krku	7 (14,9)	1 (2,1)	1 (2,1)	9x <i>bla</i> _{TEM} , 20x <i>bla</i> _{SHV} , 5x <i>bla</i> _{CTX-M} 1x <i>bla</i> _{EBC} , 1x <i>bla</i> _{IMP}
Stolice	34 (87,2)	4 (7,7)	0 (0,0)	22x <i>bla</i> _{TEM} , 23x <i>bla</i> _{SHV} , 25x <i>bla</i> _{CTX-M} 2x <i>bla</i> _{EBC} , 1x <i>bla</i> _{DHA} , 1x <i>bla</i> _{CIT}
Moč	5 (12,5)	2 (6,3)	0 (0,0)	15x <i>bla</i> _{TEM} , 10x <i>bla</i> _{SHV} , 2x <i>bla</i> _{CTX-M} 1x <i>bla</i> _{EBC} , 1x <i>bla</i> _{DHA}
Hemokultury	3 (27,3)	0 (0,0)	1 (9,1)	5x <i>bla</i> _{TEM} , 3x <i>bla</i> _{SHV} , 2x <i>bla</i> _{CTX-M} 1x <i>bla</i> _{IMP}

(Legenda: ESBL = širokospektré β-laktamázy, AmpC = AmpC β-laktamázy, KARBA = karbapenemázy)

Výskyt izolátů v ostatních typech klinického materiálu (výtěry z dutiny ústní, perianální stěry, stěry z rány, punktáty a sputum) uvádí tabulka 15 – jednalo se o 14 izolátů, z nichž 8 bylo identifikováno fenotypově jako producent ESBL. AmpC BL nebo KARBA neprodukoval žádný.

Tabulka 15 Charakteristika izolátů produkujících AmpC β-laktamázy

Klin. materiál	Pohlaví, věk, dg	Nález	Fenotyp	Genotyp
Výtěr z dutiny ústní	F, 29, AML	RAPL	ESBL – / AmpC – / KARBA –	–
	F, 51, AML	ESCO	ESBL + / AmpC – / KARBA –	<i>bla</i> _{TEM}
	F, 55, AML	KLPN	ESBL + / AmpC – / KARBA –	<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{SHV} , <i>bla</i> _{CTX-M}
	M, 65, AML	ESCO	ESBL + / AmpC – / KARBA –	<i>bla</i> _{TEM}
	M, 74, ALL	HAAL	ESBL – / AmpC – / KARBA –	–
Perianální stěr	F, 55, ALL	KLPN	ESBL + / AmpC – / KARBA –	<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{CTX-M}
	F, 59, AML	ESCO	ESBL + / AmpC – / KARBA –	<i>bla</i> _{SHV} , <i>bla</i> _{CTX-M}
	M, 60, ALL	KLPN	ESBL + / AmpC – / KARBA –	<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{SHV} , <i>bla</i> _{CTX-M}
Stěr z rány	M, 28, ALL	ESHE	ESBL – / AmpC – / KARBA –	<i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{SHV} ,
		KLPN	ESBL + / AmpC – / KARBA –	<i>bla</i> _{SHV} , <i>bla</i> _{CTX-M}
		MOMO	ESBL – / AmpC – / KARBA –	–
Sputum	M, 61, ALL	ENCL	ESBL + / AmpC – / KARBA –	–
		HAAL	ESBL – / AmpC – / KARBA –	–
Punktát	M, 74, AML	ESCO	ESBL – / AmpC – / KARBA –	<i>bla</i> _{TEM}

(Legenda: ESCO = *Escherichia coli*, ENCL = *Enterobacter cloacae*, KLPN = *Klebsiella pneumoniae*, MOMO = *Morganella morganii*, RAPL = *Raultella planticola*, HAAL = *Hafnia alvei*, ESHE = *Escherichia hermanii*, AML = akutní myeloidní leukémie, ALL = akutní lymfoidní leukémie, ESBL = širokospektré β-laktamázy, AmpC = AmpC β-laktamázy, KARBA = karbapenamázy, +/- = pozitivní/negativní, F = žena, M = muž)

4.7.1 Fekální kolonizace

Při zjišťování fekální kolonizace u pacientů s akutní leukémií ve vyšetřovaném souboru figurovalo 24 osob, z toho 17 s AML (70,8 %, z toho 6 mužů a 11 žen), 6 s ALL (25,0 %, z toho 2 muži a 4 ženy) a 1 z MPAL (4,2 %; 1 muž). Celkově se jednalo o 9 mužů a 15 žen ve věkovém rozmezí 28–75 let (průměr 50,5 let). Od těchto pacientů bylo získáno celkem 39 izolátů enterobakterií, mezi nimiž byly nejvíce prevalujícími zástupci *K. pneumoniae* (11x), *E. coli* (9x), *K. oxytoca* (6x) a *E. cloacae* (5x), dále byly identifikovány *E. asburiae* (2x), *M. morganii* (3x), *C. freundii* (2x) a *S. enteritidis* (1x). Charakteristiky všech izolátů ukazuje příloha 2.

Nejvyšší prevalenci rezistence vykazovaly izolované enterobakterie proti penicilinovým, pyrimidinovým a cefalosporinovým antibiotikům, naopak nejnižší proti polypeptidovým

antibiotikům. Rezistence ke karbapenemovému antibiotiku meropenemu pozorována nebyla vůbec. Jako MDR lze klasifikovat 38 (97,4 %) izolátů. Jediný non-multirezistentní izolát byla *S. enteritidis*, která vykazovala rezistenci pouze proti kotrimoxazolu.

Fenotypově bylo 34 izolátů (87,2 %) identifikováno jako ESBL producenti a 4 izoláty (10,3 %) jako AmpC BL producenti. Kromě jediného pacienta (muž, 46 let) byly tyto kmeny přítomné u všech pacientů. Gen *bla*_{TEM} byl přítomen u 22 kmenů (56,4 %), gen *bla*_{SHV} byl přítomen u 23 kmenů (59,0 %) a gen *bla*_{CTX-M} u 25 kmenů (64,1 %). Všechny tři geny neslo 12 izolátů (30,8 %), dalších 12 izolátů (30,8 %) neslo alespoň 2 z nich, dalších 10 izolátů (25,6 %) neslo alespoň 1 gen a zbylých 5 izolátů (12,8 %) neneslo žádný. V rámci producentů AmpC BL byly nalezeny geny *bla*_{CIT} (*C. freundii*), *bla*_{DHA} (*M. morgani*) a *bla*_{EBC} (dva izoláty *E. asburiae*, jeden byl zároveň fenotypově identifikován jako ESBL producent a nesl gen *bla*_{CTX-M}).

4.8 MALDI-TOF

Byly zkonstruovány dendrogramy pro vyselektované izoláty čtyř nejčastějších enterobakterií, jsou uvedeny v přílohách (pro *E. coli* příloha 3, pro *K. pneumoniae* příloha 4, pro *E. cloacae* příloha 5 a pro *K. oxytoca* příloha 6). Pro ostatní původce dendrogramy konstruovány nebyly, a to z důvodu jejich nízkého, i jednotkového zachytu. Následně byly vyhodnoceny na základě klíče: 1000 = úplná odlišnost, 0 = úplná shoda. U izolátů *E. coli* jsou zřetelné čtyři klastry ve vzdálenosti 300/240 a jedno extrémní spektrum (vzorek 16 925). U izolátů *K. pneumoniae* jsou dva klastry ve vzdálenosti 550/630, druhý klastr (630) se dále dělí na dvě větve. U izolátů *E. cloacae* je pozorováno jedno extrémní spektrum (vzorek 22 002), zbylé izoláty tvoří dvě zřetelné skupiny ve vzdálenosti 540/620. U izolátů *K. oxytoca* jsou dvě oddělené skupiny – v první jsou dvě spektra (vzorky 16 692 a 16 022), zbylá se dále dělí ve vzdálenosti 950 na dva klastry.

5 Diskuze

Leukémie obecně představují zhruba 2 % celosvětové zátěže maligními onemocněními. Globálně jsou u akutních leukémií pozorovány rozdílné trendy u různých populací. Např. v USA byla od roku 1973 do roku 2012 incidence AML u černošské i bělošské populace starší 20 let stabilní či mírně rostoucí, od roku 2012 klesá [20]. Naopak zvyšující se výskyt AML je pozorován např. na západě Austrálie (1991–2005) [12], v Dánsku (1943–2003) [119] i v ČR, potažmo bývalém Československu [37]. U ALL je pozorován nárůst případů např. v Dánsku [119] či v USA (1992–2016) [21]; naopak v ČR dlouhodobě klesá [41]. Počty případů jistě jsou zatíženy určitým podhodnocením – mnoho zemí světa nedisponuje funkčním registračním systémem, AL zahrnují mnoho nejrůznějších jednotek a v roce 2016 došlo ke změně klasifikačního systému, který prozatím nemusí být implementován ve všech registrech [182].

Data o zastoupení jednotlivých typů leukémií většinou nejsou dostupná, různé studie operují s rozdílnými časovými intervaly pozorování. V rozvojových zemích také diagnostika leukémií nedosahuje natolik vysoké úrovně a případná onemocnění mohou být (a jistě často jsou) klasifikována jako jiné diagnózy. Všechny tyto aspekty vedou k tomu, že přesné určení trendů ve výskytu jednotlivých typů leukémií (ale i dalších typů nádorových onemocnění) může být poměrně náročné a zatížené chybou. Kromě toho existuje pouze malý počet studií lokalizovaných do rozvojových zemí, které by hodnotily vliv specifických lokálních či geografických expozic [183], neboť v těchto zemích je pozornost výzkumu obrácena na palčivější medicínské problémy, především infekční onemocnění. Vzhledem k tomu, že se ale incidence hematologických malignit v Africe a dalších zemích třetího světa zvyšuje (stejně jako incidence dalších neinfekčních onemocnění), lze očekávat, že tyto studie budou v brzkých letech prováděny.

5.1 Klinický význam enterobakterií u pacientů s akutní leukémií

Byl potvrzen výskyt zástupců čeledi *Enterobacteriaceae*, kteří vykazovali významné fenotypové i genotypové rezistence u hospitalizovaných pacientů s AL. Nejčastějšími izoláty byly *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* a *K. oxytoca* – všechny tyto bakterie spolu se *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* a *Pseudomonas aeruginosa* představují pod akronymem **ESKAPE** největší hrozby dnešní medicíny, a to především kvůli svým rezistencím, závažnostem infekcí, které způsobují, a limitovanými možnostmi řešení [184].

Fenotypově potvrzené ESBL produkující bakterie byly nalezeny u dvou třetin pacientů s AL. Dle Alevizakose et al. (2016) je producenty ESBL kolonizováno průměrně 15 % hematoonkologických pacientů a infekce se u těchto jedinců rozvíjejí 13x častěji než u těch, kteří kolonizováni nejsou [185]. Genotypově byla schopnost produkce BL a ESBL (tzn., že u izolátu byly nalezeny geny *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} a *bla*_{CTX-M} či jejich kombinace) prokázána u dvou třetin všech izolátů, nejčastěji to byly opět *K. pneumoniae* (96,9 %) a *E. coli* (80,5 %), dále pak *E. cloacae* (47,4 %) a *K. oxytoca* (66,7 %). Současné studie zdůrazňují rostoucí výskyt *Enterobacterales* jako agens **infekcí spojených se zdravotní péčí** [186]. Studie taktéž upozorňují na stále rozšiřující se spektrum rezistencí a tím i genů, které rezistenci zajišťují. Celkem 25 izolátů *K. pneumoniae* a jeden izolát *E. cloacae* (vybrán jako fenotypově KARBA+), které byly získány v rámci této studie, bylo využito pro desing primerů pro PCR detekci oxacilináz, enzymů, které patří do skupiny D dle Amblerovy klasifikace (viz tabulka 6) a jsou schopny významně neutralizovat aminopeniciliny a karboxypeniciliny. Tyto geny *bla*_{OXA} neslo celkem 19 izolátů *K. pneumoniae* (76 %) i izolát *E. cloacae* [187].

Nejčastější infekce u hematoonkologických pacientů jsou **infekty krevního řečiště** – postihují až 40 % pacientů s lymfomy, leukémiemi, mnohočetnými myelomy a febrilními

neutropeniemi. Významnými rizikovými faktory pro jejich vznik je předchozí podávání antibiotik – terapeutické (především cefalosporiny) i profylaktické (především fluorochinolony) – dále přítomnost centrálních venózních katétrů, delší hospitalizace, mukosida a kolonizace gastrointestinálního traktu rezistentními enterobakteriemi [148]. Právě enterobakterie způsobují průměrně polovinu z infekcí krevního řečiště (25–74 %), nejčastěji izolovaným patogenem je *E. coli* [146]. *E. coli* byla nejčastějším izolátem z hemokultur i v této studii (6x), následovala *K. pneumoniae* (2x), *K. oxytoca*, *E. cloacae* a *C. koseri* (po jednom izolátu). Jeden z izolátů *E. coli* byl fenotypově identifikován jako producent ESBL a KARBA (nalezeny geny *bla_{TEM}* a *bla_{IMP}*). Rezistentní byl k meropenemu a dalším 12 testovaným antibiotikům, citlivý byl pouze ke kotrimoxazolu, kolistinu, ciprofloxacinu a aminoglykosidům amikacinu a tobramycinu. Právě léčbu infekcí krevního řečiště aminoglykosidy (především amikacinem) doporučuje ke zvážení studie Ma et al. (2017) jako možnost, jak omezit šířící se rezistenci vůči karbapenemům [188].

Také oba izoláty *K. pneumoniae* izolované z hemokultur byly producenty BL, resp. ESBL (u jednoho byly prokázány všechny tři geny *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}* i *bla_{CTX-M}*, u druhého geny *bla_{SHV}* a *bla_{CTX-M}*). Infekce krevního řečiště vyvolané rezistentními enterobakteriemi jsou následně spojeny s vysokou mírou smrtnosti – v případě, že je původce producentem KARBA, dosahuje až 69 % [189].

5.2 Klinický význam nalezených zástupců Enterobacteriaceae

5.2.1 *Klebsiella* spp.

Klebsiella spp. jsou obecně hlavními nozokomiálními patogeny u imunokompromitovaných pacientů, jsou původci cca 8 % všech infekcí získaných během hospitalizace v USA a v Evropě.

Nejčastěji jsou pozorovány právě *K. pneumoniae* a *K. oxytoca* [190], které i v tomto případě patřily mezi nejčastěji nalezené izoláty.

K. pneumoniae běžně způsobuje infekce močového traktu, pneumonie, intraabdominální infekce, bakteriémie, infekce ran apod. u dospělých i dětských pacientů [191]. V rámci studie byla nejčastěji izolována z výtěru z krku (12x), stolice (11x) a moče (4x), dva izoláty byly získány z hemokultury. Oproti tomu *K. oxytoca* je častým původcem bakteriémie [192]. V rámci této studie byla z hemokultury izolována jednou, dalších 6 izolátů pocházelo ze stolice, 3 z výtěrů z krku a 2 z moči.

Ve studii provedené v šestnácti nemocnicích v ČR byl průměrný výskyt ESBL *K. pneumoniae* kolem 24 % [193] – ve studované skupině pacientů s AL však dosahoval 63 %. Tento významný nárůst může být způsoben nízkým počtem pacientů v souboru, svůj podíl jistě mají i opakované hospitalizace a častá antibiotická léčba – jedná se o významné faktory uplatňující se při selekci ESBL produkujících kmenů.

5.2.2 *Escherichia spp.*

E. coli je enterobakterie nejčastěji izolovaná od neutropenických pacientů a způsobuje nejrůznější typy infektů, např. BSI, urogenitálního traktu nebo ran, sepse, pneumonie aj. [194] V rámci této studie byla *E. coli* izolována nejčastěji z moči (14x), stolice (9x) a z výtěrů z krku (6x). Dále tvořila nejčastější izolát z hemokultur (5x), 2 izoláty byly získány z dutiny ústní a po jednom z perianálního stěru a z punktátu.

ESBL produkující *E. coli* má prevalenci kolonizace pacientů s hematologickými malignitami a neutropenií kolem 10–30 % [195], což odpovídalo i našemu zjištění 25 % ESBL pozitivních

E. coli u pacientů s AML a ALL. U pacientů s granulocytopenií (těch s AL) jsou infekce vyvolané ESBL produkující *E. coli* spojené s celkovou mortalitou 37,5 % [145].

Oproti tomu u dalšího zástupce *E. hermannii* nebyl v literatuře prozatím popsán případ infekce u hematoonkologického pacienta. Izoláty *E. hermannii* získané v rámci této studie nicméně nesly geny rezistence, které mohou účinně předávat dalším mikroorganismům. Nejčastěji byly izolovány z moči (4x), dále pak z výtěru z krku a ze stěru z rány (po 1 izolátu).

5.2.3 *Enterobacter spp.*

Rod *Enterobacter* zahrnuje škálu **oportunních patogenů** s ubikvitérním výskytem. V rámci studie byli vyizolováni především 3 zástupci komplexu *E. cloacae* (*E. cloacae*, *E. asburiae* a *E. ludwigii*; dále zde patří *E. hormaechei*, *E. kobei* a *E. nimipressuralis*) a *E. aerogenes*. Enterobaktery se vyznačují vysokými stupni rezistence proti širokospektrým cefalosporinům (díky indukované expresi chromozomálního genu AmpC BL) a zvyšujícím se výskytem kmenů nesoucích geny pro produkci ESBL nebo KARBA na plasmidech [196].

E. cloacae způsobuje např. bakteriémie, infekce dolních cest dýchacích, močového traktu, kůže a měkkých tkání či endokarditidy. Je možný přenos krevními deriváty (ačkoliv je velmi raritní) a různými druhy zdravotnických pomůcek a přístrojů, např. stetoskopy, endoskopy nebo zařízeními pro měření intraarteriálního krevního tlaku [197]. V rámci studie byl izolován především z výtěrů z krku (11x), stolice (5x) a moči (2x), po jednom izolátu bylo získáno z hemokultury a sputa.

Pro pacienty s AL může být *E. cloacae* nebezpečný – je dokumentován např. případ z Francie, kdy na hematoonkologickém oddělení Fakultní nemocnice v Dijonu způsobil tento ESBL mikroorganismus onemocnění u 10 pacientů a u dalších 33 byl izolován [198].

E. asburiae rovněž může být původcem různých typů infekčních komplikací u imunosuprimovaných pacientů, popř. může předávat geny rezistence prostřednictvím mobilních genetických elementů a tím přispívat k jejich rozšíření na další, dosud citlivé enterobakterie [199–201]. V rámci studie byl *E. asburiae* nalezen ve výtěrech z krku (3x), vzorcích stolice (2x) a moče (1x).

E. aerogenes způsobuje v nemocničním prostředí outbreaky už od 90. let, kdy v Evropě došlo k plošnému rozšíření ESBL produkujícího kmene nesoucího gen *bla*_{TEM-24}. V současnosti se vyskytují panrezistentní (PR)⁶ kmeny odolné vůči karbapenemům i kolistinu a výrazně se uplatňují další mechanismy vzniku rezistence, např. eflux [202]. Imunosuprese byla identifikována jako významný rizikový faktor pro vznik bakterémie způsobené *E. aerogenes* [203]. V rámci studie byl izolován pouze jednou, a to z moči.

E. ludwigii je vzácným lidským patogenem a prozatím v literatuře nebyl publikován případ onemocnění hematoonkologického pacienta. Oproti tomu je ale hlášeno hned několik jednotlivých případů či dokonce outbreaků způsobených vysoce rezistentními kmeny *E. ludwigii* na jiných odděleních [196, 204]. V rámci studie byly dva izoláty získány z výtěrů z krku.

5.2.4 Další zástupci čeledi Enterobacteriaceae s minoritním záchytem

Rod *Citrobacter* spp. je kromě imunosuprimovaných jedinců nebezpečný také pro novorozence. V rámci této práce izolovaní *C. freundii* a *C. koseri* jsou i v literatuře popisováni jako nejčastější infekční agens – *C. freundii* často způsobuje především hepatobiliární infekty, *C. koseri* je častým původcem novorozeneckých meningitid a mozkových abscesů s vysokou

⁶ Panrezistentní mikroorganismus je definován jako odolný alespoň jednomu zástupci ze všech skupin ATB [180].

smrtností [205, 206]. V literatuře je popsán případ 8měsíční pacientky s AML, u níž byl *C. freundii* neobvyklým původcem ecthyma gangrenosum [207]⁷. MDR *C. freundii* produkující ESBL i KARBA byly vyizolovány ze vzorků stolice tří pacientů s AL ve Španělsku [208]. V rámci studie byl *C. freundii* izolován 2x ze vzorků stolice a po jednom izolátu bylo získáno z výtěrů z krku a z moči, *C. koseri* byl izolován jednou z hemokultury.

M. morgani je neobvyklý oportunní patogen, často bývá izolována jako původce infekcí spojených se zdravotní péčí (především uroinfekcí a infekcí ran) u dospělých. To koresponduje s izoláty získanými v rámci této studie, kdy byl získán jeden izolát ze stěru z rány a z moči, další tři ze stolice. V současnosti je pozorován výskyt kmenů se zvyšující se virulencí i rezistencí, některé infekce jimi způsobené se vyznačují vysokou smrtností [209]. Byly popsány také případy perikarditidy u pacienta s AML [210] nebo lymfomem [211] či fatální meningitidy a septikémie u pacienta s Hodgkinovým lymfomem [212].

H. alvei je z humánních vzorků izolována pouze vzácně, stejně tak je výjimečným patogenem vyvolávajícím infekce člověka. V rámci studie bylo získáno po jednom izolátu ze sputa, dutiny ústní a z výtěru z krku. V literatuře byl popsán případ pyelonefritidy a urosepsy u imunosuprimovaného pacientů podstupujících transplantaci ledviny [213, 214].

S. marcescens je v rámci čeledi *Enterobacteriaceae* jen sporadickým původcem infekcí u imunosuprimovaných. Způsobuje např. nekrotizující fascitidy, jejichž incidence je velice nízká, ale smrtnost dosahuje až 30 [215, 216] %. Ty serracie, které jsou původci infekcí spojených se zdravotní péčí, jsou často vysoce rezistentní, protože jsou schopné velice účinné horizontální akvizice genů od jiných mikroorganismů. Příkladem může být *S. marcescens*

⁷ Běžným původcem bývá *Pseudomonas aeruginosa*.

zachycená v pražské Fakultní nemocnici v Motole. Izolát produkoval čtyři různé enzymy, a to ESBL typu TEM-6, AmpC BL typu DHA-1, metalo- β -laktamázu typu VIM a inherentní BL, která nebyla blíže identifikována [217]. V rámci studie byla izolována ze vzorku moči a výtěru z krku. Infekce vyvolané *S. liquefaciens* jsou vzácné, zatím v literatuře nebyla popsána infekce u hematoonkologického pacienta. V rámci studie byla izolována jednou z výtěru z krku.

P. mirabilis je původcem především uroinfekcí a totéž platí i u imunosuprimovaných pacientů [218]. V rámci studie bylo po jednom izolátu získáno z moči a výtěru z krku. Literatura popisuje kromě uroinfekcí také zajímavý případ ecthyma gangrenosum u imunosuprimované pacientky s non-Hodgkinovým lymfomem. Spolu s *P. mirabilis* byla u pacientky izolována také *Pseudomonas aeruginosa* [219].

P. agglomerans je popisována jako lidský patogen velice vzácně. U imunosuprimovaných je původcem bakterémií, které vznikají především ve spojitosti se zavedením centrálního venózního katétru. V rámci této studie byl jeden izolát získán ve výtěru z krku. V literatuře jsou dokumentovány 3 případy bakterémie u pacientů s hematoonkologickými onemocněním, a to u dvou pacientů ve věku 61 a 71 let s diagnózou AML [220, 221] a u ročního dítěte s diagnózou ALL [222].

Raoultella spp. je rod oportunních patogenů. Jako infekční agens se uplatňují ***R. ornithinolytica*** a ***R. planticola***, které byly izolovány i od pacientů v rámci této studie, a to z dutiny ústní (*R. planticola*) a výtěru z krku (*R. ornithinolytica*). Raultelly působují infekce žlučových cest, pneumonie a bakterémie u pacientů s malignitami a sníženou funkcí imunitního systému [223, 224]. Bakterémie byly v literatuře popsány u dospělých pacientů s AML nebo MPAL [225] i u dětských pacientů s AML [226], celkově ale je jejich incidence malá.

Také byly popsány případy dvou fatálních sepsí – u pacientů s ALL byly jejími původci *R. ornithinolytica* a *R. planticola* rezistentní na imipenem [227, 228] a taktéž fatální případ pneumonie, kterou při hospitalizaci u pacienta s AML vyvolala *R. planticola* [229].

5.3 Fekální kolonizace pacientů s akutní leukémií rezistentními enterobakteriemi

V této studii bylo kolonizováno ESBL nebo AmpC BL (dle fenotypu) produkujícími enterobakteriemi celkem 23 (95,8 %) pacientů s diagnózou AL, dva pacienti navíc byli kolonizováni kmenem produkujícím oba typy enzymů. Jednalo se o *E. asburiae* s geny *bla_{CTX-M}* a *bla_{EBC}* a *C. freundii*, u něhož byl nalezen gen *bla_{CIT}*. PCR u tohoto kmene neodhalila přítomnost genů *bla_{CTX-M}*, *bla_{SHV}* nebo *bla_{TEM}*, za fenotypovou identifikaci kmene jako ESBL producenta je nejspíš zodpovědná jiná, netestovaná BL – to opět dokumentuje, jak široké spektrum rezistencí a genů, které je podmiňují, mají mikroorganismy k dispozici.

V roce 2014 byla fekální kolonizace zjišťována u všech pacientů léčených na HOK FNOL bez ohledu na diagnózu – zahrnovala tedy i pacienty s dalšími hematologickými malignitami, jako jsou chronické leukémie, mnohočetný myelom nebo různé druhy lymfomů. Kolář et al. (2015) dokumentovali u celkem 71 pacientů incidenci nosičství ESBL a AmpC produkujících kmenů u 15 z nich, z toho u 8 (11,3 %) se jednalo o ESBL a u 7 (9,8 %) se jednalo o AmpC. Téměř z těchto 93 % pacientů bylo hospitalizováno v přechozích 6 měsících na klinice, čímž byl potvrzen **efekt dlouhodobé hospitalizace** na rozvoj nosičství těchto kmenů [154]. Ačkoliv druhy nejčastěji izolovaných enterobakterií i pozorované geny byly totožné, srovnání je obtížné vzhledem k vybrané populaci (pouze s AL vs. se všemi hematologickými diagnózami) i léčebnému režimu (pouze ošetření vs. hospitalizování).

Informace o výskytu infekcí ani o klinickém stavu pacientů z HOK poskytnuty nebyly, nicméně byly zaznamenány případy pozitivních hemokultur poté, co bylo ve stolici prokázáno stejné agens. Jednalo se o 52letou pacientku s AML (obrázek 7 – Pacient 5), která byla v lednu 2016 hospitalizována na oddělení 5C. Ze stolice byla izolována *K. pneumoniae* fenotypově identifikovaná jako ESBL producent, PCR byly potvrzeny geny *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}* i *bla_{CTX-M}* a bakterie byla citlivá pouze ke kolistinu, meropenemu, gentamycinu a amikacinu. Po dvou týdnech byla pacientka hospitalizována na oddělení 5C znovu, z hemokultury byla izolována opět *K. pneumoniae*, jejíž genotypové i fenotypové rezistence byly totožné. Dalším případem je 60letý pacient s AML (obrázek 7 – pacient 20), který byl v březnu 2016 hospitalizovaný na oddělení 5C. Ve stejný den byl u něj ze stolice i hemokultury izolován *E. cloacae*. I v tomto případě byly fenotypové rezistence velice podobné, ani jeden izolát nenesl *bla* geny.

Pro potvrzení by bylo nutné provedení molekulárně-biologických metod, především pulsní gelové elektroforézy (PFGE), což v této práci z provozních a finančních důvodů provedeno nebylo.

5.4 Vliv léčby

Léčba samotná má významný vliv na vznik infekce u pacientů s AL, protože v jejích jednotlivých fázích se riziko těchto komplikací významně liší. Přesné informace o fázích léčby pacientů nebyly z HOK poskytnuty, proto text níže popisuje hypotetický stav.

U AML je léčba zaměřena kurativně nebo paliativně. Pacienti s **kurativním** přístupem jsou obvykle mladší 60–65 let. Postup má dva kroky – léčbu zahajuje intenzivní indukční chemoterapie, následuje konsolidační chemoterapie a/nebo alogenní transplantace krvetvorných buněk v závislosti na přítomných rizikových faktorech [6]. Právě indukční léčba představuje jednu z nejrizikovějších fází terapie AML – pacienti jsou v těžké agranulocytóze

a výskyt infekčních komplikací je velice častý [230]. Totéž platí pro transplantaci krvinek – proto pacienti jsou po těchto terapeutických zásadách umísťováni na **izolační pokoje** (tzv. reverzní izolace), a to po dobu, kdy jsou v závažné neutropenii [231, 232]. U starších pacientů se většinou přistupuje k léčbě **paliativní**, kdy je riziko vzniku infekční komplikace výrazně nižší. Finální rozhodnutí o směru a intenzitě léčby je postaveno na celkovém stavu pacienta, jeho komorbiditách a prognostických znacích, činí jej pacient ve spolupráci s ošetřujícím týmem [6]. Usuzovat směr léčby pouze na základě věku (tj. pod 65 let) může být zavádějící, neboť i mladší nemocný s rezistentním onemocněním při vyčerpání léčebných modalit schopných ovlivnit průběh základního onemocnění může dostávat léčbu paliativní. Uvážíme-li směr léčby dle umístění pacientů na transplantační jednotce, jednalo by se celkem 10 pacientů s AML, kteří na 5C byli hospitalizováni. Od 7 těchto pacientů (21,9 %) byly izolovány ESBL produkující kmeny, u 2 dalších (6,3 %) AmpC BL produkující kmeny a u 1 pacientky kmen produkující AmpC BL i KARBA. Výskyt kmenů u těchto pacientů na oddělení 5C, tedy transplantační jednotce, kde jsou umístěni vysoce suprimovaní pacienti podstupující transplantaci kostní dřeně, je epidemiologicky velice významný, a to vzniku infekce či přenosu na další pacienty na oddělení.

Léčba ALL se skládá z dvou cyklů **indukční** chemoterapie, několika cyklů konsolidační chemoterapie a udržovací léčby. U rizikových skupin ALL je součástí konsolidační léčby autologní či alogenní transplantací krvinek. Vysoké riziko s sebou nese především první indukční cyklus [2, 233, 234]. Infekční komplikace provázejí přibližně 30 % cyklů chemoterapie, zpravidla nebývají život ohrožující a odeznívají po podání širokospektré empirické antibiotické léčby [6], nejsou-li způsobeny MDR kmeny. Pacienti s ALL byli hospitalizováni pouze na oddělení 5B a 5C, na transplantační jednotce 5C to byli 3 pacienti (33,3 %). ESBL produkující

kmeny byly izolovány od 2 (33,3 %) z nich. Kmeny produkující AmpC BL nebo KARBA u pacientů s ALL nebyly nalezeny.

5.5 Šíření enterobakterií mezi pacienty s akutní leukémií

V rámci studie bylo zjištěno, že se mezi pacienty s AL hospitalizovanými na HOK objevovaly kmeny vykazující významnou podobnost z pohledu genotypového i fenotypového, nelze tak vyloučit šíření těchto kmenů mezi pacienty. Zdroje a cesty přenosu těchto kmenů mohou být různé a jejich přesné vysledování by vyžadovalo značně rozšířit studii v rámci HOK FNOL, a to o surveillance personálu i prostředí kliniky.

5.5.1 Pacient jako zdroj

Kolonizace kůže a sliznic pacienta rezistentními enterobakteriemi představuje riziko pro další hospitalizované v rámci stejného centra, kteří osídlení těmito mikroorganismy nejsou. K přenosu může dojít v případě zanedbání hygieny nebo neúčinné prevence, zdrojem může být pacient s manifestním i bezpříznakovým průběhem infekce.

K přenosu enterobakterií na HOK FNOL mohlo jistě dojít mezi pacienty ve sdílených **pokojích**. Hospitalizace bývají dlouhodobé, i po dobu několika měsíců. Hospitalizovaný jedinec během této doby kontaminuje svou mikroflórou prostředí kolem sebe, předměty a povrchy v pokoji, např. lůžko a jeho kolejnice, lůžkoviny, kliky dveří, světelné vypínače, zařízení pro přivolání zdravotního personálu, telefony, dálkové ovladače, noční stolky apod. Na kontaminovaných neživých površích mohou v závislosti na okolních podmínkách a typu povrchu přežívat enterobakterie po velmi dlouhou dobu, např. *E. coli* až 16 měsíců nebo zástupci *Klebsiella* spp. až 30 měsíců [235].

Během hospitalizace jsou navíc pacienti v rámci oddělení v odůvodněných případech **přesouváni** na různé pokoje – během dlouhé hospitalizace tak mohou umístění změnit. Spolu s pacientem se přesouvá i jeho mikrobiom a dochází ke kontaminaci dalších místností. Přesné přesuny nicméně nebylo možné vysledovat, neboť o nich není vedena detailní evidence. Přenos nemusí nastat pouze v pokojích samotných. V rámci HOK FNOL se pacienti (nejsou-li umístěni na izolačních pokojích na oddělení 5C) v pohybu nijak neomezují. Využívají **společných prostor** i chodeb, čímž i přes pravidelný úklid a dezinfekci tak může dojít ke kontaminaci ploch, povrchů či nejrůznějších předmětů na oddělení a následnému přenosu na další jedince.

5.5.2 Další osoby na oddělení jako zdroje

Dalším významným zdrojem těchto mikroorganismů může být **zdravotnický personál**. Přenos enterobakterií na ruce zdravotníka se může uskutečnit během poskytování jakékoli zdravotní péče. Riziko kontaminace rukou se zvyšuje s časem, po níž je péče poskytována, i s počtem provedených výkonů u pacienta. *Puig-Asensio et al. (2019)* jako významně rizikové identifikovali činnosti spojené s rutinní péčí o pacienty, např. asistenci na toaletě (OR 9,34; 95% CI 3,10–28,16), kontakt s vlhkými sekrety (OR 6,93; 95% CI 2,82–17,00) nebo asistenci při koupeli či jiné hygieně (OR 3,8; 95% CI 1,48–9,80) [236].

Zdravotníci sami mohou být kolonizováni na kůži či sliznicích rezistentními mikroorganismy, aniž by se u nich projevovaly známky infekce. Toto nosičství je často v literatuře popisováno např. u methicilin-rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus*, VRE [237, 238] nebo koaguláza negativních stafylokoků (CoNS). Přímo na HOK FNOL proběhla v letech 2011–2012 studie monitorující výskyt mikroorganismů u zdravotnického personálu. Výskyt zmíněných CoNS u zdravotnického personálu byl významně vysoký – tvořily téměř polovinu izolátů [239].

V rámci další části studie byla zjišťována i přítomnost enterobakterií. U zdravotnického personálu byly nalezeny především *E. aerogenes* a *E. coli* – byly izolovány z nosní sliznice, rukou a vlasů [240].

Jsou popsány i případy nosičství enterobakterií a jejich nepříznivých důsledků – outbreaky běžně vyvolávají kmeny *K. pneumoniae*, *E. coli* nebo *S. marcescens*. Zdrojem je často jediný kolonizovaný zdravotník, vyšší riziko nosičství je spojeno s nošením umělých nehtů nebo prstenů a u pracovníků s jiným onemocněním, např. psoriázou nebo onychomykózou [241, 242]. Studie ve Španělsku také uvádějí, že zdravotníci jsou fekálně MDR enterobakteriemi kolonizováni ve vyšší míře než běžná populace [243], i zde tedy může být riziko přenosu.

Problém MDR a PR enterobakterií a dalších mikroorganismů již přesahuje rámec zdravotnictví. Ačkoliv je ve zdravotnických zařízeních jejich výskyt nejvyšší, určitě nelze původ všech přičítat nemocničnímu prostředí a hospitalizaci. Rezistentní kmeny jsou v rámci studií napříč zeměmi světa nalézány u lidí z nejrůznějších komunit, staly se součástí přirozené mikroflóry člověka [244, 245]. Riziko pro hematologické pacienty tak mohou představovat i zástupci běžné populace, kteří oddělení navštíví, především **rodinní příslušníci**. Tito lidé při návštěvě oddělení musejí být instruováni o potenciálních rizicích pro pacienty s AL a o možnostech, jak je eliminovat. Přenos může proběhnout také naopak, z kolonizovaného pacienta na návštěvníka – blízcí příbuzní kolonizovaných pacientů tak mohou být ve vyšším riziku začlenění rezistentního kmene do svého mikrobiomu [246].

5.5.3 Prostředí jako zdroj

Nelze vyloučit, že enterobakterie pocházejí i ze samotného **nemocničního prostředí** – často tento rezervoár bývá přehlížen, ačkoliv je jeho role nezanedbatelná. Delší perzistenci

v prostředí napomáhá zvýšená vlhkost – významnými, a především dlouhodobými rezervoáry tak mohou být sociální zařízení, např. umyvadla, toalety, sprchy, baterie, výpusti, vodovodní potrubí. V literatuře byly outbreaky v důsledku těchto přenosů opakovaně popsány [247–249].

Přímo v rámci transplantační jednotky 5C HOK FNOL byla v letech 2011–2012 provedena studie kontaminace vnitřního vzduchu této jednotky. Většinu izolátů (94,3 %) tvořily CoNS, především *Staphylococcus epidermidis*. Některé z nich jsou řazeny mezi podmíněné patogeny, které u hematologických pacientů mohou vyvolat infekční onemocnění. Sedimentací pak může dojít ke kontaminaci horizontálních povrchů [141]. V rámci studie nebyly ve vnitřním vzduchu nalezeny enterobakterie, byly ovšem izolovány ze stěrů z povrchů a předmětů na klinice. Nejčastěji se jednalo o enterobaktery, klebsiely a *E. coli*, které byly izolovány především ze sociálního zařízení (výpustě sprch, voda v toaletě, umyvadla, dřez v kuchyňce pro personál) i na jiných površích a předmětech, jako jsou vnitřek lednice, žebrování topení, osobní telefon, či v roztoku na zubní kartáček. Kromě toho byli z prostředí kliniky izolováni i zástupci rodu *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*, *P. putida* nebo *P. stutzeri*), *Burkholderia cepacia* aj. [240].

6 Prevence

Závěrečná kapitola diskutuje možná preventivní opatření ve dvou oblastech této práce, a to:

1. rozvoj samotného **onemocnění AL**,
2. rozvoj **infekční komplikace** způsobené MDR agens u pacienta s AL.

6.1 Prevence rozvoje akutní leukémie

Vysoká heterogenita AL, jejich nízká incidence a zároveň současná úroveň poznání etiologie těchto onemocnění nabízí pro prevenci pouze omezené možnosti. Rizikových faktorů, u nichž byl etiologický vztah potvrzen, je známo pouze málo a zahrnují, např. věk, Downův syndrom nebo ionizující záření. Oproti tomu o vztahu podezřelých rizikových faktorů (např. některé expozice z životního a pracovního prostředí, fyzikální nebo chemické faktory či karcinogeny) k rozvoji AL existují pouze omezené důkazy střední či nízké kvality. Jsou ověřovány především v retrospektivních studiích, které jsou významně ovlivněny recall bias nebo pracují s nedostatečnými počty subjektů. Samostatnými studiemi se závislost mezi rizikovými faktory a leukémií často nepodařilo prokázat, popř. výsledky nebyly statisticky významné, a bylo zapotřebí provedení až velkých metaanalýz.

Dle odhadů dosavadní vědomosti o rizikových faktorech AL objasňují vznik pouze cca 15–20 % případů onemocnění [43]. Primárně je tedy nezbytné provádět další **výzkumy a studie**, které budou mít za cíle:

1. identifikovat nové potenciální rizikové faktory pro vznik AL;
2. vysvětlit biologickou plauzibilitu mezi těmito rizikovými faktory a vzniklými onemocněními;
3. na základě objasnění etiologie a patogeneze leukémií přinášet další potenciální možnosti prevence jejich rozvoje.

I přes tato úskalí může být aktuálně výhodné působit alespoň na ty faktory, které ovlivnit lze.

Ke snížení rizika vzniku dětských leukémií mohou přispět sami rodiče např. **neoddalováním těhotenství** do vyššího věku. Odsouvání gravidity do pozdějšího věku je v současné době rozšířený trend. Zásadně se průměrný věk prvorodiček proměnil za posledních 20 let. Zatímco ještě na počátku 90. let to bylo před dosažením 25 let, v již v roce 2018 to bylo 28,4 let [250]. Oddalování zakládání rodiny a těhotenství v pozdním věku (jak u otce, tak u matky) bylo navíc spojeno s výskytem dalších onemocnění, např. poruch autistického spektra [251], chromozomálních abnormalit, především Downova syndromu [252] a dalších onemocnění. Důležité je v tomto ohledu vytvoření podmínek ze strany státu a tím i motivace pro obyvatele k zakládání rodin v nižším věku a podpora těchto mladých rodin (finančně, s ohledem na zaměstnání, bydlení apod.).

Dalším doporučením je důsledně se vyhýbat **expozicím škodlivým fyzikálním nebo chemickým působkům** v domácím či pracovním prostředí. V případech, kdy to není možné (především v rámci pracovních expozičních), je důležité využívat ochranných pomůcek a opatření, aby byl vliv těchto expozičních co nejvíce snížen, ne-li zcela eliminován. S tím souvisí vytváření odpovídajících pracovních podmínek a dalších opatření v oblasti bezpečnosti práce na základě platné legislativy, aby nedošlo k překračování přípustných limitů – organizační opatření, technické řešení pracovišť (vzduchotechnika, hermetizace aj.), adekvátní pracovní oděvy a pomůcky, zásady osobní hygieny, likvidace perzistujících látek a soustavný monitoring expozičního pracovního prostředí. To se týká především zabránění expozice ionizujícímu záření, PCB, PAU, benzenu, formaldehydu, různým typům prachu, vinylchloridu aj. Dalším krokem je pak upuštění od užívání některých škodlivých látek v pracovním prostředí (jak je upouštěno např. u skupiny PCB) a inovace technologií v průmyslu i výrobě. Prevence je v tuto chvíli cílena

na nejen na leukémie u dospělých (ochranou osob samotných), ale i u dětí (zabránění expozice potenciálních či nastávajících rodičů).

Největší možnosti ovlivnění jsou v rámci **faktorů životního stylu**. Pro prevenci rozvoje AL je důležité udržovat zdravý životní styl, tak jak je tento pojem běžně chápán. Kromě vyvarování se kouření tabáku je možné preventivně ovlivnit vznik AL stravou. Pro prevenci ALL je zásadní výživa matky během těhotenství – studie identifikovaly konkrétní faktory, které se mohou uplatnit v prevenci rozvoje onemocnění u dětí. Výživa těhotných žen by měla být bohatá na proteiny, ovoce a zeleninu, vlákninu [22, 253], ryby a rybí výrobky, příp. plody moře [107, 254], a s dostatečným příjmem vitamínu A, respektive provitaminu A [255], kyseliny listové či vitamínu B12 [108]. Nabízí se zde možnosti edukace nastávajících rodičů, párů, které plánují potomky, a těhotných žen o škodlivých a protektivních expozicích, např. od gynekologů, praktických lékařů, specialistů z reprodukčních klinik a poraden či pediatriů.

U AML je v rámci prevence jejího vzniku v pozdějším věku důležité udržování normální tělesné hmotnosti vyváženým energetickým příjmem (stravou) a výdejem (fyzickou aktivitou). Nebylo jednoznačně prokázáno, že by fyzická aktivita byla samostatným preventivním faktorem proti rozvoji AML [256], nicméně její role v udržování tělesné hmotnosti a její celkový pozitivní vliv na zdraví jedince i populace jsou nezpochybnitelné. Za protektivní tak mohou být považovány i v současnosti probíhající **programy podporující zdravý životní styl**, jako jsou podpora zdravé výživy, fyzické aktivity, osvěta a další kroky konané pro prevenci kouření tabáku či konzumace alkoholu v populaci.

Zejména v rámci primordiální prevence by bylo vhodné omezit expozici **polutantům z dopravy**, ať už formou technologických změn (snižování spotřeby, ekologičtější forma

pohonu), prostřednictvím dopravních omezení či celkového snížení dopravní zátěže v okolí bydlišť [257].

Mnohé ze zmíněných expozic jsou prokázány etiologickými faktory nebo zvyšují riziko vzniku jiných onemocnění. Malignity jsou způsobeny nejrůznějšími fyzikálními expozicemi nebo chemickými substancemi (např. benzen, tabákový kouř, radon, ionizující záření, formaldehyd, PAU, PCB). Znečištěné ovzduší, chemické látky v pracovním prostředí nebo kouření (aktivní i pasivní) vedou ke vzniku respiračních onemocnění. Faktory životního stylu se významně uplatňují ve vzniku kardiometabolických i nádorových onemocnění, přičemž často nepůsobí samostatně, ale ve svém účinku se vzájemně potencují. V rámci navržených opatření tak platí, že tyto kroky jsou klíčové nejen v prevenci akutních leukémií, ale i **dalších chronických onemocnění**.

6.2 Prevence rozvoje infekční komplikace způsobené multirezistentním agens u hematoonkologických pacientů

V rámci zdravotnických zařízení je nezbytné zavedení a **správný management efektivních preventivních opatření** proti přenosu rezistentních mikroorganismů. Samozřejmě musí být dodržování těchto opatření personálem, pacienty samotnými i všemi osobami, které dané oddělení navštíví. Zvýšené pozornosti pak musí být věnováno opatřením na odděleních, kde jsou léčeni imunosuprimovaní pacienti.

Klíčová jsou dle Jindráka et al. (2014) tato opatření: *uvážlivé užívání antibiotik a opatření v antibiotické politice, správná klinická praxe omezující riziko vzniku endogenních infekcí a pečlivé dodržování standardních opatření*. U MDR a PR enterobakterií se využívají specifické postupy v těchto oblastech: *vyhledávání případů a screening, izolační opatření, dekolonizace*

nosičů, strategie při sporadickém, endemickém a epidemickém výskytu a psychologické a etické aspekty [258].

6.2.1 Uvážlivé užívání antibiotik, opatření v antibiotické politice

Cílem je zabránit nežádoucím ekologickým změnám ve skladbě přirozeného mikrobiomu sliznic a selekci MDR kmenů. Klíčová je zde spolupráce s klinickým mikrobiologem v otázkách mikrobiologické diagnostiky, diferenciálně diagnostické rozvahy, indikace vyšetření a interpretace výsledků a jejich užití ve prospěch pacienta [258].

Se správným užitím antibiotik souvisí principy **antimicrobial stewardship**. Termín prozatím nemá český ekvivalent, jedná se o soubor opatření vedoucích k racionální antibiotické léčbě vhodným léčivem se správným dávkováním, způsobem podání a odpovídající délkou užívání. Dle principů tohoto programu je profylaktické i terapeutické podávání antibiotik racionální, individuální a založené na relevantní mikrobiologické diagnostice, konzultaci s klinickým mikrobiologem a na celkovém stavu pacienta (hloubka neutropenie, protinádorová léčba a její specifický dopad na infekci, předchozí infekční komplikace, již užitá antibakteriální profylaxe, základní onemocnění, komorbidity apod. [259–261]).

Rovněž je zásadní znalost lokální a celkové epidemiologické situace, především spektrum nejčastějších původců infekcí spojených se zdravotní péčí a vývoj rezistence, a hodnocení spotřeby antibiotik. Data by měla být sdílena na regionální i národní úrovni, a to vzhledem k velkému potenciálu rychlého šíření rezistentních mikroorganismů [262].

Všechna opatření užívaná v rámci programu *antimicrobial stewardship* mají za cíl:

- dosáhnout co nejlepšího léčebného efektu,
- omezovat nesprávné užívání antibiotik a výskyt jejich nežádoucích účinků,
- zvýšit compliance při užívání antibiotik,

- redukovat míru antibiotické rezistence a
- snižovat náklady léčby [162, 261].

Opatření v antibiotické politice jsou jediným spolehlivým způsobem, jak omezit **selekční tlak** a zabránit šíření MDR a PR kmenů. V případě významného vzestupu rezistence ve zdravotnickém zařízení nebo v některých jeho pracovištích je možné plošně omezit nevhodné užívání antibiotik. Tomu předchází analýza terapeutických i profylaktických indikací antibiotik. Cílené změny, např. krátkodobá omezení a náhrada rizikových antibiotik jinou skupinou, bývají většinou problematické či málo efektivní [258].

Tato opatření jsou důležitá taktéž v péči o hematologické pacienty, kteří jsou antibiotikům často exponováni v rámci profylaxe i při léčbě již vzniklé infekce. Rozhodující je zde prevence a racionalita v užívání těchto léčiv postavená na výše popsaných zásadách *antimicrobial stewardship*.

6.2.2 Správná klinická praxe omezující riziko vzniku endogenních infekcí

Jde především o uplatňování šetrného postupu při zákrocích, při nichž by mohlo dojít k ischemii stěvné stěny a přestupu enterobakterií do nekolonizovaných lokalit, nebo důsledné zvážení nutnosti indikace invazivních intervencí (např. močových katetrů [258]).

6.2.3 Standardní opatření a hygiena

Standardní opatření mají za cíl snížení rizika přenosu infekčních agens v nemocničním zařízení. Zaměřují se především na **kontakt mezi pacientem a zdravotníkem**. Musejí mít ověřenou účinnost i nákladovou efektivitu a být volena adekvátně situaci. Základním principem opatření je, že veškerý biologický materiál, intaktní kůže i sliznice jsou považovány za potenciálně infekční a dle toho je k nim také přistupováno [258].

Standardní opatření dle Jindráka et al. (2014) zahrnují široké spektrum intervencí [258].

- *Hygienu rukou a používání rukavic* (viz kap. 6.2.3.1).
- *Ochrana obličeje* – použití ochranných brýlí, ústenek nebo obličejových štítů v případech, kdy hrozí postříkání či potřísnění obličeje nebo vznik infekčního aerosolu.
- *Používání ochranných plášťů (empírů)* – v případech, kdy hrozí potřísnění, postříkání či vznik infekčního aerosolu; pláště jsou jednorázové a svlékají se bezprostředně po ukončení rizikové činnosti či po znečištění.
- *Prevence poranění jehlou a jinými ostrými předměty* – výjimečná opatrnost při manipulaci, čištění či likvidaci užitých nástrojů (jehly, skalpely apod.).
- *Respirační hygiena* – především správná etiketa při kašli a jiných respiračních příznacích a management ze strany zdravotnických zařízení (bezpečnostní zóny, instrukce pro pacienty a návštěvy, dostupné prostředky pro hygienu rukou apod.).
- *Manipulace s lůžkovinami* – snaha o zabránění kontaminace kůže, sliznic a oděvu manipulujícího personálu a o vyloučení přenosu agens na další osoby či do okolí.
- *Manipulace s předměty a pomůckami používanými pro poskytování péče* – bezpečná likvidace jednorázových pomůcek a odpovídající čištění, dezinfekce nebo sterilizace u předmětů či zdravotnických prostředků určených k opakovanému použití.
- *Zacházení s odpadem* – především likvidace odpadu kontaminovaného biologickým materiálem a biologickým materiálem samotným (tkáně, laboratorní vzorky apod.).
- *Úklid* – vhodné postupy pro rutinní úklid a dezinfekci prostředí a povrchů.

V rámci standardních opatření jsou pro přenos enterobakterií a jejich MDR a PR kmenů zcela zásadní účinná opatření v oblasti hygieny rukou, bezpečné manipulace s biologickým materiálem, správné praxe v ošetřování invazivních vstupů a úklidu, proto je jim v dalším textu věnována větší pozornost.

6.2.3.1 Hygiena rukou

Kontaminované ruce zdravotnického personálu mohou hrát v přenosu infekčních agens zásadní roli. Potenciální agens jsou přítomna na kůži a sliznicích pacienta, v jeho tělních tekutinách i na povrchích a předmětech v jeho bezprostředním okolí (tzv. zóna pacienta). Přenos na ruce personálu poskytujícího zdravotní péči se může odehrát přímo i nepřímo. Při nedostatečné hygieně rukou mikroorganismy na kůži zůstávají a může snadno dojít k jejich přenosu na dalšího pacienta. Toto riziko je velké především při manipulaci s invazivními vstupy [258, 263].

Důsledná hygiena rukou vodou, mýdlem a dezinfekčními prostředky na alkoholové bázi je jedním z nejefektivnějších opatření proti přenosu infekčních agens a tím i vzniku infekcí spojených se zdravotní péčí [148, 231, 240, 264]. Alkoholové dezinfekční prostředky jsou spolehlivě účinné i na rezistentní enterobakterie a při dodržení správného postupu účinně zabraňují translokaci mezi různými anatomickými lokalitami téhož jedince i přenosu mezi jednotlivými pacienty [258].

Metodický návod *Hygiena rukou při poskytování zdravotní péče*, který byl vydán ve Věstníku Ministerstva zdravotnictví ČR (MZ ČR) 05/2012, stanovuje provádění hygienické dezinfekce rukou:

- před kontaktem a po kontaktu s pacientem;
- před manipulací s invazivními pomůckami, bez ohledu na užití rukavic či nikoli;
- po náhodném kontaktu s tělesnými tekutinami, exkrekty, sliznicemi, porušenou pokožkou nebo obvazovým materiálem;
- v případě ošetřování kontaminované části těla a následném přechodu na jinou část těla v průběhu péče o jednoho pacienta;

- po kontaktu s neživými povrchy a předměty (včetně zdravotnického vybavení) nacházejícími se v bezprostředním okolí pacienta;
- po sejmutí sterilních nebo nesterilních rukavic;
- při bariérové ošetrovatelské technice [265].

Správný postup stanoví ČSN EN 1500: 3 ml alkoholového dezinfekčního prostředku se vtírá na suchou pokožku rukou po dobu minimálně 20 vteřin, přičemž po celou dobu vtírání musejí být ruce dostatečně vlhké. Prostředek se nechává zcela zaschnout, ruce se neoplachují ani neotírají. Takto provedená hygienická dezinfekce rukou je při běžném ošetrovatelském kontaktu mezi jednotlivými pacienty šetrnější, účinnější a lépe tolerována než mytí rukou [265].

Při dlouhodobě vysoké compliance personálu i pacientů v hygieně rukou je účinnost tohoto opatření vysoká. Např. v nemocnici v Ženevě byl po zvýšení compliance ze 48 % na 66 % během pěti let zaznamenán pokles výskytu infekcí spojených se zdravotní péčí o 40 % [266]. Aktuálně je ale compliance v hygieně rukou na jednotkách intenzivní péče, kde jsou léčeni imunosuprimovaní pacienti, průměrně 59,6 % [267]. Data vykazují vysokou heterogenitu a jsou závislá na konkrétní lokalitě, typu JIP nebo skupině zdravotnických pracovníků. Minimální úroveň compliance, která by byla vnímána a přijata jako dostatečná, pevně stanovená není – např. ve vyspělých zemích jako Austrálie, Kanada, Itálie nebo UK je jako dostatečné vnímáno dosažení 80–90 % a WHO doporučuje alespoň 80 % [268, 269]. Pro zvýšení compliance vznikají nejrůznější programy a postupy, např. *World Health Organization 2005 Campaign*, jejíž efektivitu potvrdila řada studií [270].

Stejně důležité je užívání rukavic. Ty tvoří mechanickou bariéru, která snižuje riziko přenosu infekčních agens mezi pacienty a personálem a zamezuje přímý kontakt s biologickým

materiálem. Používání rukavic se řídí metodickým návodem *Hygiena rukou při poskytování zdravotní péče* [265].

6.2.3.2 Bezpečná manipulace s biologickým materiálem

Jedná se především o stolici a moč, které mohou být masivním zdrojem enterobakterií. Veškerá manipulace s kontaminovanými předměty (lůžkoviny, močové katétry či rezervoáry apod.) musí být precizní a zcela eliminovat riziko kontaktního přenosu. Vyšší pozornost musí být věnována ošetřování pacientů s inkontinencí nebo s průjmovým onemocněním [258].

6.2.3.3 Správná praxe při ošetřování invazivních vstupů

Jedná se především o nejrůznější typy katétrů a jiných nefyziologických vstupů, které jsou pro pacienty s hematologickými onemocněními typické. U těch, které mohou být zdrojem enterobakterií, se při manipulaci s nimi musí zabránit přenosu do jiných lokalit. Vstupy sterilní musí být udržovány v naprosté čistotě, aby nedošlo k zavlečení enterobakterií z jiných systémů a následné infekci [258].

6.2.3.4 Úklid

V rámci vnitřního prostředí zdravotnického zařízení mohou být patogeny kontaminovány nejrůznější povrchy a objekty, např. podlahy, nábytek včetně lůžek, ventilace, sociální zařízení na pokojích apod. V případě, že byl pokoj obýván pacientem kolonizovaným MDR nebo PR kmenem, je vyžadován pečlivý konečný úklid, který kromě dezinfekce podlah a všech ploch zahrnuje bezpečnou likvidaci veškerého jednorázového materiálu a mytí a dezinfekci osvětlení a potrubních systémů. Dále se využívají páry peroxidu vodíku a UV záření [264].

6.2.4 Vyhledávání případů a screening

Dle Jindráka et al. (2014) se obecně mimo vyšetřování epidemických epizod nebo surveillance MDR a PR kmenů aktivní screening běžně neprovádí. V případě sledování výskytu MDR a PR mikroorganismů je prováděn cílený mikrobiologický screening u pacientů splňujících daná kritéria, jehož cílem je posouzení rozsahu kolonizace v různých anatomických lokalitách. Využívá se standardní mikrobiologická diagnostika, popř. molekulárně-biologické metody [258].

Na hematoonkologických pracovištích všeobecně cílená detekce kolonizace nebo nosičství v GIT není standardem ani nemá nastaveny všeobecně platné postupy [156]. HOK FNOL určitou formu screeningu provádí. Screening probíhá při zahájení terapie/hospitalizace a následně probíhá alespoň 1x týdně, další vzorky jsou odebírány v případě objevení se známek infekce (především horečky dle definice febrilní neutropenie) či při výrazném zhoršení zdravotního stavu u intenzivně léčených pacientů s AL.

Vhodná aplikace screeningu nicméně dokáže účinně předcházet šíření rezistentních mikroorganismů, např. Ariza-Heredia et al. (2014) uvádí, že zavedením kontrolních rektálních výtěrů v týdenních intervalech a návaznými preventivními opatřeními bylo významně omezeno klonální šíření VRE [264]. Naopak v případě rozvoje infekce může znalost kolonizace a rezistencí přítomných mikroorganismů pomoci s výběrem a rychlejším nasazením vhodného antibiotika – v kombinaci s individualizovanou antibiotickou léčbou se screening tedy jeví jako velice dobrý prostředek, jak pozitivně ovlivnit úspěšnost léčby, mortalitu a prognózu u leukemických pacientů s infekčními komplikacemi způsobenými enterobakteriemi produkujícími ESBL a AmpC BL [271].

Kromě vyšetřování pacientů je dalším krokem screeningu i vyšetření kontaktů (hospitalizováni na stejném pokoji, ošetřování stejným personálem) a popř. jeho opakování v pravidelných intervalech. Nález MDR nebo PR kmene vyžaduje okamžitou izolaci pacienta a zavedení dalších opatření (viz kapitola 5.5.5). V případě výskytu epidemické epizody je dalším krokem screening u zdravotnického personálu a v rámci prostředí oddělení [145, 258].

6.2.5 Izolační opatření

Izolace je opatření používané v případech, kdy nelze zabránit přenosu infekce nebo jej nelze přerušit skrze opatření standardní. Izolační a standardní opatření nemohou fungovat separátně, navzájem na sebe navazují a doplňují se [258].

Účinná je kontaktní izolace jedinců, u nichž je prokázána kolonizace MDR nebo PR kmene. Pacienti jsou ideálně umístěni na jednolůžkové pokoje, a pokud tyto nejsou k dispozici, řeší se individuálně dle dispozic daného zařízení (izolace v rámci kohort kolonizovaných pacientů, dodržování minimálních vzdáleností pro oddělení lůžek apod.). Izolace je náročná finančně i z pohledu managementu (dostatek proškoleného personálu, lůžek či jednolůžkových pokojů, trvání izolace po celou dobu hospitalizace apod.). Před izolací může být pacient nekontrolovatelným zdrojem agens, proto management screeningu musí být efektivní [258].

Některé pacienty je možné izolovat preventivně ještě předtím, než screening potvrdí či vyvrátí jejich pozitivitu. Jedná se např. o pacienty, kteří byli přeloženi ze zahraničního zdravotního zařízení (z míst či lokalit, kde je výskyt rezistentních kmenů vysoký), nebo ty, kteří byli v minulosti opakovaně identifikováni jako nosiči MDR nebo PR kmenů [258].

U hematoonkologických pacientů s alogenní či autologní transplantací kostní dřeně je důležitá i tzv. reverzní izolace. Pacienti jsou umisťováni na izolační pokoje, kde je výskyt patogenních

i podmíněně patogenních mikroorganismů minimální. Zde setrvávají v době, kdy je u nich kvůli prodloužené neutropenii nejvyšší riziko vzniku infekce [148, 231, 240, 264].

Izolační pokoje musí mít odpovídající kvalitu vzduchu – požadavky na třídy čistoty vzduchu definuje norma ČSN EN ISO 14644-1: *Čisté prostory a příslušná řízená prostředí – Část 1: Klasifikace čistoty vzduchu podle koncentrace částic*. Tuto kvalitu vzduchu zajišťují především HEPA (*high efficiency particulate arrestance*) filtry. Ty alespoň 12x za hodinu vymění vnitřní atmosféru pokoje a eliminují více než 99,97 % částic o velikosti větší než 0,3 µm [272]. Jsou všeobecně doporučovány jako standard v péči o pacienty pro transplantaci kostní dřeně a mnoha studii bylo prokázáno jejich pozitivní vliv na snížení výskytu invazivních plísňových infekcí u těchto pacientů [273]. Paradoxně ale bylo během studie v transplantačních centrech východní Evropy zjištěno, že užití HEPA filtrů nemá vliv na rozvoj pneumonie a její mortalitu u pacientů podstupujících autologní i alogenní transplantaci kostní dřeně [274].

Kromě HEPA filtrů je adekvátní třída čistoty vzduchu zajišťována dalšími technickými a konstrukčními prvky či opatřeními, a to řízeným prouděním vzduchu v pokoji, pozitivním tlakem vzduchu v pokoji (přetlakem) oproti chodbě, dokonalým stavebním utěsněním všech rizikových míst (zdi, podlahy, stropy, okna, elektrické zásuvky) před prouděním vzduchu zvenčí, výměnami vzduchu a omezením tvorby prachu (v místnostech jsou hlavně omyvatelné povrchy, rutinní úklid i hůře dostupných míst, zákaz umístování květin a rostlin apod.). Těžce imunosuprimovaným pacientům se doporučuje v prostorách mimo izolaci nosit respirátory FFP3 s účinností filtrace až 98 % [258].

6.2.6 Dekolonizace nosičů

Pro případnou dekolonizaci nosičů rezistentních *Enterobacteriaceae* univerzální postupy či režimy neexistují – problémy vyplývají ze samotné definice dekolonizace, která není pevně

stanovena, z nastavení metodiky předchozího screeningu (není jednotná či všeobecně platná) či z rozdílných rizik, která vyplývají pro jednotlivé pacienty nebo jejich skupiny [275, 276].

Jako možný postup je v současné době diskutováno užití antibiotik, především aminoglykosidů a polymyxinů. To ale má pouze krátkodobý efekt a účinek je prakticky nerozeznatelný od spontánní dekolonizace dokumentované u pacientů po opuštění zdravotnického zařízení. Nadužívání antibiotik by navíc mohlo vést k nežádoucímu šíření rezistence. Další alternativou je užití probiotik nebo v dnešní době velice diskutovaná transplantace fekálního mikrobiomu, která se u pacientů úspěšně využívá např. k léčbě střevních infekcí způsobených *Clostridium difficile* [275].

6.2.7 Strategie při sporadickém, endemickém a epidemickém výskytu

Sporadický výskyt lze vyřešit kontaktní izolací. U endemického výskytu jsou většinou možnosti izolace kvůli nedostatku izolačních pokojů omezeny, větší důraz je tedy kladen na striktní dodržování standardních opatření, hlavně hygieny rukou [258].

Epidemický výskyt je nutné podrobně vyšetřit dle platné metodiky. Provádí se porovnávání aktuálního trendu s endemickou hladinou výskytu příslušné infekce, analyzuje se příčinná epidemiologická souvislost jednotlivých případů a odlišuje se od náhodné kumulace případů bez přímé epidemiologické souvislosti. Podrobně se formulují hypotézy zaměřené na pravděpodobné příčiny a rizikové faktory, které k epidemickému výskytu vedly, a testují se metodami analytické epidemiologie (studie případů a kontrol). Na základě výsledků analýz se navrhuje preventivní a kontrolní opatření, jejichž účinnost se hodnotí následnou surveillance [258, 263].

6.2.8 Psychologické a etické aspekty

Označení pacienta jako kolonizovaného MDR nebo PR mikroorganismem a následná izolace jsou psychicky velice zatěžující situace – je dokumentováno vyšší riziko vzniku depresí nebo úzkostí [277]. Pacient a jeho příbuzní by měli být adekvátně informováni o problematice a rizicích, zdravotnický personál by neměl významně omezovat kontakt a komunikaci s pacientem a tím přispívat k negativním dopadům izolace na jeho psychiku a lidskou důstojnost [258, 278].

7 Závěr

Akutní myeloidní i akutní lymfoblastická leukémie jsou vzácná hematologická onemocnění. Jejich výskyt není oproti jiným nádorovým onemocněním vysoký, ale vynahrazují jej svou závažností: jedná se o vysoce agresivní malignity postihující především děti do 15 let (hlavně v případě ALL) a osoby starší 65 let (v případě AML). Data o zastoupení jednotlivých typů AL většinou nejsou dostupná či jsou pouze obtížně porovnatelná. Samostatnou kapitolu tvoří rozvojové země, kde vzhledem k nízké úrovni poskytované zdravotní péče případy leukémie mohou být (a často jistě jsou) nediodagnostikovány nebo zaměněny za jiné diagnózy. Přesné určení trendů výskytu jednotlivých typů AL je tedy poměrně náročné.

Etiologie AL je v mnoha případech neznámá, ačkoliv potenciálních rizikových faktorů popisovaných ve studiích je celá řada. Často se ovšem jedná o retrospektivní studie případů a kontrol, které jsou zatíženy chybami a sledují pouze malý počet osob. Důkazy jsou u mnoha těchto faktorů nedostatečné a je nezbytné provádět další výzkumy.

Na základě dosavadních zjištění je možné stanovit některé možnosti prevence AL, které se týkají především faktorů životního stylu, faktorů rodičů osob, u nichž se leukémie v dětském věku vyvinula, nebo expozice některým chemickým substancím či fyzikálním vlivům. U těchto faktorů byla prokázána jejich role v etiopatogenezi jiných onemocnění, proto je preventabilita leukémií významně a neoddělitelně spojena s předcházením vzniku těmto nemocím. Jedná se především o onemocnění kardiovaskulární, respirační, metabolická či onkologická, která jsou zodpovědná za vysokou morbiditu i mortalitu v populacích vyspělých zemí. Vzhledem k vysoké závažnosti leukémií jistě budou tyto, byť omezené možnosti prevence vhodnější než případná složitá, komplexní a vysoce nákladná léčba již vzniklých onemocnění.

V rámci disertační práce byl také prokázán výskyt rezistentních enterobakterií, které jsou schopné produkce různých typů BL, mezi pacienty s akutními leukémiemi na Hemato-onkologické klinice Fakultní nemocnice Olomouc. Nejčastějšími izoláty a zároveň producenty různých druhů BL byly *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* a *K. oxytoca* – všechny tyto enterobakterie jsou diskutovány v odborné literatuře jako velice významní původci infekcí u všech hematoonkologických pacientů. Představují pro ně riziko vzniku závažné, i život ohrožující infekce.

Výskyt rezistentních mikroorganismů, a to nejen z čeledi *Enterobacteriaceae*, je významným globálním problémem současné medicíny, který je umocňován svým stále rostoucím trendem. Je nutné přicházet s opatřeními v antibiotické politice a zaměřit se na výzkum nových antibiotik, aby bylo zabráněno tomu, že tato cenná léčiva přestanou být zcela účinná. Je ale nutné si uvědomit, že rezistence mikroorganismů je velkou daní, kterou moderní medicína platí za svou stále se zvyšující úroveň a prodloužení délky života mnohých pacientů.

Na skutečnost, že většina pacientů s AL je těmito kmeny kolonizována, je nutné adekvátně reagovat a zavádět efektivní preventivní opatření. Cílem těchto opatření je zabránit dalšímu přenosu těchto původců, snížit riziko vzniku infekce i předčasného úmrtí pacienta a zároveň omezit šíření genů rezistence mezi mikroorganismy. Prevence musí mít komplexní charakter a musí být striktně dodržována všemi osobami přicházejícími do kontaktu s pacienty.

Zjištění vycházející z této i dalších podobných studií probíhajících ve světě jen podtrhují nutnost preventivních opatření a zároveň vyzdvihuje význam a důležitost provádění aktivní surveillance u imunosuprimovaných pacientů s akutními leukémiemi hospitalizovaných na klinikách a nemocničních odděleních hematoonkologie.

Seznam použité literatury

- [1] Penka M, Tesařová E, Blatný J et al. *Hematologie a transfuzní lékařství I: Hematologie*. Praha: Grada Publishing, 2011. ISBN 978-80-247-3459-0.
- [2] Šálek C. Diagnostika a léčba akutních leukemií. *Int Med Praxi*, 2012;14(10):366–372.
- [3] Freireich EJ, Wiernik PH, Steensma DP. The leukemias: a half-century of discovery. *J Clin Oncol*, 2014;32(31): 3463–3470.
- [4] Soukup P, Soukupová Maaloufová J, Čermák J. et al. Akutní myeloidní leukemie – historický vývoj a současnost léčby ve světě a v ÚHKT. *Vnitr lek*, 2012;58(Suppl 2):2s16-2s19.
- [5] Arber DA, Orazi A, Hasserjian R. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*, 2016;127(20):2391–2405.
- [6] Doubek M, Mayer J (ed). *Léčebné postupy v hematologii: Doporučení České hematologické společnosti České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně*. 1. vyd. Nové Město nad Metují: ČHS ČLS JEP, 2018. ISBN 978-80-260-9718-1.
- [7] World Health Organization. *Global Cancer Observatory 2020: Leukaemia (Fact Sheet)*. [online]. 2020 [vid. 2021-02-03]. Dostupné na: <<http://gco.iarc.fr/today>>.
- [8] World Health Organization. *Global Cancer Observatory 2020*. [online]. 2020 [vid. 2021-02-03]. Dostupné na: <<http://gco.iarc.fr/today>>.
- [9] Katz A, Chia VM, Schoonen VM et al. Acute lymphoblastic leukemia: An assessment of international incidence, survival, and disease burden. *Cancer Causes Control*, 2015;26(10):1627–1642.
- [10] Miranda-Filho A, Pineros M, Monnereau A et al. Epidemiological patterns of leukemia in 184 countries: A population-based study. *Lancet Haematol*, 2018;5(1):e14–e24.
- [11] Australian Government: Australian Institute of Health. *Cancer in Australia 2019*. [online]. 2020 [vid. 2021-02-03]. Dostupné z: <<https://www.aihw.gov.au/>>.
- [12] Gangatharan S, Grove CS, P'ng S et al. Acute myeloid leukaemia in Western Australia 1991–2005: A retrospective population-based study of 898 patients regarding epidemiology, cytogenetics, treatment and outcome. *Int Med J*, 2013;43(8):903–911.
- [13] Sylla BS, Wild CA. A milion Africans a year dying from cancer by 2030: What can cancer research and kontrol offer to the kontinent. *Int J Cancer*, 2012;130(2):245–250.
- [14] Gopal S, Wood WA, Lee SJ et al. Meeting the challenge of hematologic malignancies in Sub-Saharan Africa. *Blood*, 2012;119(22):5078–5087.
- [15] Stefan CD, Baadjes B, Kruger M. Incidence of childhood cancer in Namibia: The need for registries in Africa. *Pan Afr Med J*, 2014;17:191.

- [16] Molyneux E, Scanlan T, Chagaluka G et al. Haematological cancers in African children: progress and challenges. *Brit J Haematol*, 2017;177(6):971–978.
- [17] Stefan C, Bray F, Ferlay J et al. Cancer of childhood in Sub-Saharan Africa. *Ecancermedicalscience*, 2017;11:755.
- [18] Oelofse D, Truter I. Incidence of haematological malignancies, Eastern Cape Province, South Africa, 2004–2013. *Cancer Epidemiol*, 2018;53:166–171.
- [19] Khaled SAA, Nabih O, Aziz NMA et al. Myeloid leukemias: A glance at Middle Eastern centers. *J Blood Med*, 2019;10:425–433.
- [20] National Cancer Institute: Surveillance, Epidemiology and Result Program. *Cancer Stat Facts: Leukemia — Acute Myeloid Leukemia (AML)* [online]. 2020 [cit. 2020-12-01]. Dostupný na: <<https://seer.cancer.gov/statfacts/html/amyl.html>>.
- [21] National Cancer Institute: Surveillance, Epidemiology and Result Program. *Cancer Stat Facts: Leukemia — Acute Lymphocytic Leukemia (ALL)* [online]. 2020 [cit. 2020-12-01]. Dostupný na: <<https://seer.cancer.gov/statfacts/html/aly.html>>.
- [22] Abiri B, Kelishadi R, Sadeghi H et al. Effects of Maternal Diet During Pregnancy on the Risk of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: A Systematic Review. *Nutr Cancer*, 2016;68(7):1065–1072
- [23] Lim JY, Bhatia S, Robison LL et al. Genomics of racial and ethnic disparities in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer*, 2014;120(7):955–962.
- [24] Bhatia S, Sather HN, Heerema NA et al. Racial and ethnic differences in survival of children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 2002;100(6):1957–1964.
- [25] Harvey RC, Mullighan CG, Chen IM et al. Rearrangement of CRLF2 is associated with mutation of JAK kinases, alteration of IKZF1, Hispanic/Latino ethnicity, and a poor outcome in pediatric B-progenitor acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 2010;115(26):5312–5321.
- [26] Perez-Andreu V, Roberts KG, Harvey RC et al. Inherited GATA3 variants are associated with Ph-like childhood acute lymphoblastic leukemia and risk of relapse. *Nat Genet*, 2013;45(12):1494–1498.
- [27] Quiroz E, Aldoss I, Pullarkat V et al. The emerging story of acute lymphoblastic leukemia among the Latin American population – biological and clinical implications. *Blood Rev*, 2019;33:98–105.
- [28] Stiller CA. International patterns of cancer incidence in adolescents. *Cancer Treat Rev*, 2007;33(7):631–645.
- [29] Pérez-Saldivar MS, Fajardo-Gutiérrez A, Bernáldez-Ríos R et al. Childhood acute leukemias are frequent in Mexico City: descriptive epidemiology. *BMC Cancer*, 2011;11(1):355.

- [30] Mejía-Aranguré JM, Bonilla M, Lorenzana R et al. Incidence of leukemias in children from El Salvador and Mexico City between 1996 and 2000: Population-based data. *BMC Cancer*, 2005;5:33.
- [31] Jain N, Roberts KG, Jabbour E et al. Ph-like acute lymphoblastic leukemia: A high-risk subtype in adults. *Blood*, 2017;129(5):572–581.
- [32] Canadian Cancer Society. *Acute lymphoblastic leukemia statistics* [online]. 2018. [vid. 2021-03-05]. Dostupné z: <<https://www.cancer.ca/>>.
- [33] Ghazawi F, Ramanakumar AV, Alakel A et al. Incidence of acute myeloid leukemia: A regional analysis of Canada. *Cancer*, 2020;126(6):1356–1361.
- [34] Visser O, Trama A, Maynadié M et al. Incidence, survival and prevalence of myeloid malignancies in Europe. *Eur J Cancer*, 2012;48(17):3257–3266.
- [35] Bassan R, Hoelzer D. Modern therapy of acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncology*, 2011;29(5):532–543.
- [36] Dušek L, Mužík J, Kubásek M et al. *SVOD – Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice* [online]. 2005 [cit. 2020-03-20]. Dostupný na: <<https://www.svod.cz/>>.
- [37] SVOD – Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice. *Report diagnózy: C92,0 – Akutní myeloidní leukémie* [online]. 2020 [cit. 2020-02-18]. Dostupný na: <<http://www.svod.cz/>>
- [38] Ústav zdravotnických informací a statistiky České republiky. *Novotvary 2018 ČR*. [online]. 2019 [cit. 2020-02-18]. Dostupné z: <<http://www.uzis.cz/>>
- [39] SVOD – Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice. *Report diagnózy: C91, C92, C93, C94, C95 – Leukémie* [online]. 2020 [cit. 2020-02-18]. Dostupný na: <<http://www.svod.cz/>>
- [40] Šustková Z, Semerád L, Procházková J et al. Charakteristika a výsledky léčby pacientů s akutní myeloidní leukémií ≥ 60 let – data z databáze CELL DATOOL AML. *Transfúze Hematol Dnes*, 2019;25(4):340–348.
- [41] Webový portál epidemiologie zhoubných nádorů v České republice. *Report diagnózy: C91.0 – Akutní lymfoblastická leukémie* [online]. 2020 [cit. 2020-02-18]. Dostupný na: <http://www.svod.cz/>
- [42] Schottenfeld D, Fraumeni J. *Schottenfeld and Fraumeni Cancer Epidemiology and Prevention*. 4. vyd. Oxford: Oxford University Press; 2018.
- [43] Ilhan G, Karakus S, Andic N. Risk Factors and Primary Prevention of Acute Leukemia. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2006;7:515–517.
- [44] Zuna J, Žaliová M. Etiologie dětských ALL a AML, molekulární genetika a minimální reziduální nemoc. *Českoslov Pediatr*, 2015;70(2):70–84.
- [45] Schiffer CA, Gurbuxani S, Larson RA et al. *Clinical manifestations, pathologic features, and diagnosis of acute myeloid leukemia*. UpToDate [online]. 2019 [cit. 2020-03-11]. Dostupný z:

<https://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-pathologicfeatures-and-diagnosis-of-acute-myeloid-leukemia>

- [46] Deschler B, Lübbert M. Acute myeloid leukemia: Epidemiology and etiology. *Cancer*, 2006;107(9):2099–2107.
- [47] Babushok DV, Bessler M. Genetic predisposition syndromes: when should they be considered in the work-up of MDS? *Best Pract Res Clin Haematol*, 2015;28(1):55–68.
- [48] Hahn CN, Chong EC, Carmichael CL et al. Heritable GATA2 mutations associated with familial myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia. *Nat Genet*, 2011;43(10):1012–1019.
- [49] Churpek J, Lorenz R, Nedumgottil S et al. Proposal for the clinical detection and management of patients and their family members with familial myelodysplastic syndrome/acute leukemia predisposition syndromes. *Leuk Lymphoma*, 2013;54(1):28–35.
- [50] Nickels EM, Soodalter J, Churpek J et al. Recognizing familial myeloid leukemia in adults. *Ther Adv Hematol*, 2013;4(4):254–269.
- [51] Pan LL, Huang YM, Wang M et al. Positional cloning and next-generation sequencing identified a TGM6 mutation in a large Chinese pedigree with acute myeloid leukaemia. *Eur J Hum Genet*, 2015;23(2):218–223.
- [52] Saliba J, Saint-Martin C, di Stefano A et al. Germline duplication of ATG2B and GSKIP predisposes to familial myeloid malignancies. *Nat Genet*, 2015;47(10):1131–1140.
- [53] Husnain M, Wang T, Valdes M et al. Multiple Myeloma in a Patient with ANKRD26-Related Thrombocytopenia Successfully Treated with Combination Therapy and Autologous Stem Cell Transplant. *Case Rep Hematol*, 2019;(2):9357572.
- [54] Schudrowitz N, Takagi S, Wessel GM et al. Germline factor DDX4 functions in blood-derived cancer cell phenotypes. *Cancer Sci*, 2017;108(8):1612–1619.
- [55] Hock H, Shimamura A. ETV6 in Hematopoiesis and Leukemia Predisposition [online]. *Semin Hematol*, 2017;54(2):98–104.
- [56] O'Brien G, Zyla J, Manola KN et al. Identification of two novel mutations in human acute myeloid leukemia cases. *Leuk Lymphoma*, 2020;14:1–8.
- [57] Caughey RW, Michels KB. Birth weight and childhood leukemia: a meta-analysis and review of the current evidence. *Int J Cancer*, 2009;124(11):2658–2670.
- [58] O'Neill KA, Murphy MF, Bunch KJ et al. Infant birthweight and risk of childhood cancer: international population-based case control studies of 40 000 cases. *Int J Epidemiol*, 2015;44(1):153–168.
- [59] Panagopoulou P, Skalkidou A, Marcotte E et al. Parental age and the risk of childhood acute myeloid leukemia: results from the Childhood Leukemia International Consortium. *Cancer Epidemiol*, 2019;59:158-165.

- [60] Bailey HD, Fritschi L, Infante-Rivard C et al. Parental occupational pesticide exposure and the risk of childhood leukemia in the offspring: findings from the childhood leukemia international consortium. *Int J Cancer*, 2014;135(9):2157–2172.
- [61] Bailey HD, Infante-Rivard C, Metayer C et al. Home pesticide exposures and risk of childhood leukemia: Findings from the childhood leukemia international consortium. *Int J Cancer*, 2015;137(11):2644–2663.
- [62] Karalexi MA, Dessypris N, Thomopoulos TP et al. Parental alcohol consumption and risk of leukemia in the offspring: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer Prev*, 2017;26(5):433–441.
- [63] Kaatsch P, Scheidemann-Wesp U, Schüz J. Maternal use of antibiotics and cancer in the offspring: results of a case–control study in Germany. *Cancer Causes Control*, 2010;21:1335–1345.
- [64] Little MP, Wakeford R, Borrego D et al. Leukaemia and myeloid malignancy among people exposed to low doses (<100 mSv) of ionising radiation during childhood: a pooled analysis of nine historical cohort studies. *Lancet Haematol*, 2018;5(8):e346–e358.
- [65] Weiss HA, Darby SC, Fearn T et al. Leukemia mortality after X-ray treatment for ankylosing spondylitis. *Radiat Res*, 1995;142(1):1–11.
- [66] Szotkowski T, Čerňan M, Hubáček M et al. Akutní myeloidní leukemie po předchozí protinádorové léčbě. *Onkologie*, 2017;11(3):115–120.
- [67] Heuser M. Therapy-related myeloid neoplasms: does knowing the origin help to guide treatment? *Hematology Am Soc Hematol Educ*, 2016;(1):24–32.
- [68] Tomášek L. Lung cancer mortality among Czech uranium miners – 60 years since exposure. *J Radiol Prot*, 2012;32(3):301.
- [69] Tomášek L. Lung cancer risk from occupational and environmental radon and role of smoking in two Czech nested case-control studies. *Int J Environ Res Public Health*, 2013;10(3):93–979.
- [70] Kang JK, Seo S, Jin YW. Health effects of radon exposure. *Yonsei Med J*, 2019;60(7):597–603.
- [71] Laurent O, Ancelet S, Richardson DB et al. Potential impacts of radon, terrestrial gamma and cosmic rays on childhood leukemia in France: a quantitative risk assessment. *Radiat Environ Biophys*, 2013;52(2):195–209.
- [72] Demoury C, Marquant F, Ielsch G et al. Residential Exposure to Natural Background Radiation and Risk of Childhood Acute Leukemia in France, 1990–2009. *Environ Health Perspect*, 2017;125(4):714–720.
- [73] Cartwright RA, Law G, Roman E et al. The United Kingdom childhood cancer study of exposure to domestic sources of ionising radiation. *Brit J Cancer*, 2002;86(11):1721–1726.

- [74] Evrard AS, Hémon D, Billon S et al. Ecological association between indoor radon concentration and childhood leukaemia incidence in France, 1990–1998. *Eur J Cancer Prevent*, 2005;14(2):147–157.
- [75] Schüz J, Erdmann F. Environmental Exposure and Risk of Childhood Leukemia: An Overview. *Arch Med Res*, 2016;47(8):607–614.
- [76] Poynter JN, Richardson M, Roesler M et al. Chemical exposures and risk of acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes in a population-based study. *Int J Cancer*. 2017;140(1):23–33.
- [77] Shallis RM, Weiss JJ, Deziel NC et al. Challenging the concept of de novo acute myeloid leukemia: Environmental and occupational leukemogens hiding in our midst. *Blood Rev*, 2020;22:100760.
- [78] Linet MS, Yin SN, Gilbert ES et al. A retrospective cohort study of cause-specific mortality and incidence of hematopoietic malignancies in Chinese benzene-exposed workers. *Int J Cancer*, 2015;137(9):2184–2197.
- [79] Linet MS, Gilbert ES, Vermeulen R et al. Benzene exposure response and risk of myeloid neoplasms in Chinese workers: A multicentre Case-Control study. *J Int Cancer Institute*, 2019;111(5):465–474.
- [80] Houot J, Marquant F, Goujon S et al. Residential Proximity to Heavy-Traffic Roads, Benzene Exposure, and Childhood Leukemia – The GEOCAP Study, 2002-2007. *Am J Epidemiol*, 2015;182(8):685–693.
- [81] Vinceti M, Rothman KJ, Crespi CM et al. Leukemia risk in children exposed to benzene and PM10 from vehicular traffic: a case-control study in an Italian population. *Eur J Epidemiol*, 2012;27(10):781–790.
- [82] Janitz AE, Campbell JE, Magzamen S et al. Benzene and childhood acute leukemia in Oklahoma. *Environ Res*, 2017;158:167–173.
- [83] Zhang L, Tang X, Rothman N et al. Occupational exposure to formaldehyde, hematotoxicity, and leukemia-specific chromosome changes in cultured myeloid progenitor cells. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2010;19(1):80–88.
- [84] IARC classifies formaldehyde as carcinogenic. *Oncol Times*, 2004;26(13):72.
- [85] Allegra A, Spatari G, Mattioli S et al. Formaldehyde Exposure and Acute Myeloid Leukemia: A Review of the Literature. *Medicina (Kaunas)*, 2019;55(10):638.
- [86] Scélo G, Metayer C, Zhang L et al. Household exposure to paint and petroleum solvents, chromosomal translocations, and the risk of childhood leukemia. *Environ Health Perspect*, 2009;117(1):133–139.
- [87] McNERNEY ME, Godley LA, Le Beau MM. Therapy-related myeloid neoplasms: when genetics and environment collide. *Nat Rev Cancer*, 2017;17(9):513–527.

- [88] Mihál V. Leukémie. In: Bajčiová V, Tomášek J, Štěřba J et al. *Nádory adolescentů a mladých dospělých*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing; 2011, s. 43–72.
- [89] Shahjahani M, Norozi F, Zadeh A et al. The role of Pax5 in leukemia: diagnosis and prognosis significance. *Med Oncol*, 2015;32(1):360.
- [90] Rowsey RA, Smoley SA, Williamson CM et al. Characterization of TCF3 rearrangements in pediatric B-lymphoblastic leukemia/lymphoma by mate-pair sequencing (MPseq) identifies complex genomic rearrangements and a novel TCF3/TEF gene fusion. *Blood Cancer J*, 2019;9(10):1–8.
- [91] Ramírez-Komo JA, Delaney MA, Strain D et al. Spontaneous loss of B lineage transcription factors leads to pre-B leukemia in Ebf1+/-Bcl-xLTg mice. *Oncogenesis*, 2017;6(7):e355–e355.
- [92] Guo X, Zhang R, Liu J et al. Characterization of LEF1 high expression and novel mutations in adult acute lymphoblastic leukemia. *PLoS ONE*, 2015;10(5).
- [93] Payne KJ, Dovat S. Ikaros and tumor suppression in acute lymphoblastic leukemia. *Crit Rev Oncog*, 2011;16(1–2):3–12.
- [94] Sergentanis TN, Thomopoulos TP, Gialamas SP et al. Risk for childhood leukemia associated with maternal and paternal age. *Eur J Epidemiol*, 2015;30(12):1229–1261.
- [95] Karalexi MA, Dessypris N, Skalkidou A et al. Maternal fetal loss history and increased acute leukemia subtype risk in subsequent offspring: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Causes Control*, 2017;28(6):599–624.
- [96] Nybo Andersen AM, Urhoj SK. Is advanced paternal age a health risk for the offspring? *Fertil Steril*, 2017;107(2):312–318.
- [97] Marcotte EL, Thomopoulos TP, Infante-Rivard C, et al. Caesarean delivery and risk of childhood leukaemia: a pooled analysis from the Childhood Leukemia International Consortium (CLIC). *Lancet Haematol*, 2016;3(4):e176–e185.
- [98] Hjalgrim LL, Westergaard T, Rostgaard K et al. Birth weight as a risk factor for childhood leukemia: A meta-analysis of 18 epidemiologic studies. *Am J Epidemiol*, 2003;158(8):724–735.
- [99] Kyriakopoulou A, Meimeti E, Moisoglou I et al. Parental Occupational Exposures and Risk of Childhood Acute Leukemia. *Mater Sociomed*, 2018;30(3):209–214.
- [100] Walsh JM, Hehir MP, Robson MS et al. Mode of delivery and outcomes by birth weight among spontaneous and induced singleton cephalic nulliparous labors. *Int J Gynaecol Obstet*, 2015;129(1):22–25.
- [101] Milne E, Greenop KR, Scott RJ et al. Parental prenatal smoking and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Am J Epidemiol*, 2012;175(1):43–53.
- [102] Baan R, Grosse Y, Straif K et al. A review of human carcinogens – Part F: chemical agents and related occupations. *Lancet Oncol*, 2009;10(12):1143–1144.

- [103] Frederiksen LE, Erdmann F, Wesseling C et al. Parental tobacco smoking and risk of childhood leukemia in Costa Rica: A population-based case-control study. *Environ Res*, 2020;180:108827.
- [104] Bailey HD, Metayer C, Milne E et al. Home paint exposures and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia: findings from the Childhood Leukemia International Consortium. *Cancer Causes Control*, 2015;26(9):1257–1270.
- [105] Francis SS, Wallace AD, Wendt GA et al. In utero cytomegalovirus infection and development of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 2017;129(12):1680–1684.
- [106] Staras SAS, Dollard SC, Radford KW et al. Seroprevalence of cytomegalovirus infection in the United States, 1988–1994. *Clin Infect Dis*, 2006;43(9):1143–1151.
- [107] Petridou E, Ntouvelis E, Dessypris N et al. Maternal diet and acute lymphoblastic leukemia in young children. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005;14(8):1935–1939.
- [108] Bailey HD, Miller M, Langridge A et al. Maternal dietary intake of folate and vitamins B6 and B12 during pregnancy and the risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Nutr Cancer*, 2012;64(7):1122–1130.
- [109] Karalexi MA, Dessypris N, Clavel J et al. Coffee and tea consumption during pregnancy and risk of childhood acute myeloid leukemia: A Childhood Leukemia International Consortium (CLIC) study. *Cancer Epidemiol*, 2019;62:101581.
- [110] Alicandro G, Tavani A, La Vecchia C. Coffee and cancer risk: a summary overview. *Eur J Cancer Prev*, 2017;26(5):424–432.
- [111] Gradel KO, Kaerlev L. Antibiotic use from conception to diagnosis of child leukaemia as compared to the background population: A nested case-control study. *Pediatr Blood Cancer*, 2015;62(7):1155–1161.
- [112] Nikkilä A, Raitanen J, Lohi O et al. Radiation exposure from computerized tomography and risk of childhood leukemia: Finnish register-based case-control study of childhood leukemia (FRECCLE). *Haematologica*, 2018;103(11):1873–1880.
- [113] Schüz J, Ahlbom A. Exposure to electromagnetic fields and the risk of childhood leukaemia: a review. *Radiat Prot Dosimetry*, 2008;132(2):202–211.
- [114] Kabuto M, Nitta H, Yamamoto S et al. Childhood leukemia and magnetic fields in Japan: a case-control study of childhood leukemia and residential power-frequency magnetic fields in Japan. *Int J Cancer*, 2006;119(3):643–650.
- [115] Draper G, Vincent T, Kroll ME et al. Childhood cancer in relation to distance from high voltage power lines in England and Wales: a case-control study. *BMJ*, 2005;330(7503):1290.
- [116] Schüz J, Svendsen AL, Linet MS et al. Nighttime exposure to electromagnetic fields and childhood leukemia: an extended pooled analysis. *Am J Epidemiol*, 2007;166(3):263–269.
- [117] Raaschou-Nielsen O, Andersen CE, Andersen HP et al. Domestic radon and childhood cancer in Denmark. *Epidemiol*, 2008;19(4):536–543.

- [118] Andersen EC, Ulbak K, Damkjær A et al. *Radon i danske boliger: Kortlægning af lands-, amts- og kommuneværdier*. Herlev: Statens Institut for Strålehygiejne: 2001.
- [119] Thygesen LC, Nielsen OJ, Johansen C. Trends in adult leukemia incidence and survival in Denmark, 1943–2003. *Cancer Causes Control*, 2009;20(9):1671–1680.
- [120] Hauri D, Spycher B, Huss A et al. Domestic radon exposure and risk of childhood cancer: a prospective census-based cohort study. *Environ Health Perspect*, 2013;121(10):1239–1244.
- [121] Del Risco Kollerud R, Blaasaas KG, Claussen B. Risk of leukaemia or cancer in the central nervous system among children living in an area with high indoor radon concentrations: results from a cohort study in Norway. *Br J Cancer*. 2014;111(7):1413–1420.
- [122] Deziel NC, Rull RP, Colt JS et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in residential dust and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Environ Res*, 2014;133:388–395.
- [123] Ward MH, Colt JS, Metayer C et al. Residential exposure to polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides and risk of childhood leukemia. *Environ Health Perspect*, 2009;117(6):1007–1013.
- [124] Greaves MF. Speculations on the cause of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*, 1988;2(2):120–125.
- [125] Kerr JR, Matthey DL. The role of parvovirus B19 and the immune response in the pathogenesis of acute leukemia. *Rev Med Virol*, 2015;25(3):133–155.
- [126] Marcotte EL, Ritz B, Cockburn M et al. Exposure to infections and risk of leukemia in young children. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2014;23(7):1195–1203.
- [127] Lin JN, Lin CL, Lin MC et al. Risk of leukaemia in children infected with enterovirus: a nationwide, retrospective, population-based, Taiwanese-registry, cohort study. *Lancet Oncol*, 2015;16(13):1335–1343.
- [128] Orsi L, Magnani C, Petridou ET et al. Living on a farm, contact with farm animals and pets, and childhood acute lymphoblastic leukemia: pooled and meta-analyses from the Childhood Leukemia International Consortium. *Cancer Med*, 2018;7(6):2665–2681.
- [129] Hishamuddin P. The association between acute lymphoblastic leukemia in children and *Helicobacter pylori* as the marker for sanitation. *BMC Res Notes*, 2012;5:345.
- [130] Cardwell CR, McKinney PA, Patterson CC et al. Infections in early life and childhood leukaemia risk: a UK case-control study of general practitioner records. *Br J Cancer*, 2008;99(9):1529–1533.
- [131] Rosenbaum PF, Buck GM, Brecher ML. Allergy and infectious disease histories and the risk of childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 2005;19(2):152–164.
- [132] Hwee J, Tait C, Sung L et al. A systematic review and meta-analysis of the association between childhood infections and the risk of childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Cancer*, 2018;118(1):127–137.

- [133] Fay JW, Silberman HR, Moore JO et al. Autologous marrow transplantation for patients with acute myelogenous leukemia – a preliminary report. *Exp Hematol*, 1979;7(Suppl 5):302–308.
- [134] Drgoňa L. 25 rokov podpornej antiinfekčnej liečby v hematoonkológii. *Transfuzie Hematol dnes*, 2019;25(1):30–33.
- [135] Bodey GP, Buckley M, Sathe YS et al. Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med*, 1966;64(2):328–340.
- [136] Hersh EM, Bodey GP, Nies BA et al. Causes of Death in Acute Leukemia: A Ten-Year Study of 414 Patients From 1954-1963. *J Am Med Assoc*, 1965;193(2):105–109.
- [137] Kouba M, Lukášová M. Prevence a léčba infekčních komplikací v hematoonkologii. *Vnitr Lek*, 2012;58(Suppl 2):2s56-2s60.
- [138] Malvezzi M, Carioli G, Bertuccio P et al. European cancer mortality predictions for the year 2016 with focus on leukaemias. *Ann Oncol*, 2016;27:725–731.
- [139] Tatarelli P, Mikulska M. Multidrug-resistant bacteria in hematology patients: emerging threats. *Future Microbiol*, 2016;11(6):767–780.
- [140] Cooper JD, Kethireddy S, Kumar A. Infections in the Immunosuppressed and Immunocompromised Patient. *ICU Management J*, 2015;15(3).
- [141] Matoušková I, Holý O. Bakteriální kontaminace vnitřního vzduchu transplantační jednotky. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*, 2013;62(4):153–159.
- [142] Hansen BA, Wendelbo Ø, Bruserud Ø et al. Febrile neutropenia in acute leukemia; epidemiology, etiology, pathophysiology and treatment. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, 2020;12(1):e2020009.
- [143] Starý J. Akutní leukemie u dětí. *Onkologie*, 2010;4(2):120–124.
- [144] Tomblyn M, Chiller T, Einsele H et al. Guidelines for Preventing Infectious Complications among Hematopoietic Cell Transplant Recipients: A Global Perspective Recommendations. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2009;15(10):1143–1238.
- [145] Ruhnke M, Arnold R, Gastmeier P. Infection control issues in patients with haematological malignancies in the era of multidrug-resistant bacteria. *Lancet Oncol*, 2014;15(13):e606–e619.
- [146] Trecarichi EM, Pagano L, Candoni A et al. Current epidemiology and antimicrobial resistance data for bacterial bloodstream infections in patients with hematologic malignancies: an Italian multicentre prospective survey. *Clin Microbiol Infect*, 2015;21(4):337–343.
- [147] Abdollahi A, Hakimi F, Doomanlou M et al. Microbial and Antibiotic Susceptibility Profile among Clinical Samples of Patients with Acute Leukemia. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*, 2016;10(2):61–69.
- [148] Gustinetti G, Mikulska M. Bloodstream infections in neutropenic cancer patients: A practical update. *Virulence*, 2016;7(3):280–297.

- [149] Worth LJ, Slavin MA. Bloodstream infections in haematology: Risks and new challenges for prevention. *Blood Rev*, 2009,23(3),113–122.
- [150] Calatayud L, Arnan M, Liñares J et al. Prospective study of fecal colonization by extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in neutropenic patients with cancer. *Antimicrob Ag Chemother*, 2008;52(11):4187–4190.
- [151] Hrabák J, Študentová V, Jakubů V et al. Prevalence study on carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in Czech hospitals – results from Czech Part of European Survey on Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE). *Epidemiol Mikrobiol Imunol*, 2015;64(2):87–91.
- [152] Biehl LM, Schmidt-Hieber M, Liss B et al. Colonization and infection with extended spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae in high-risk patients – Review of the literature from a clinical perspective. *Crit Rev Microbiol*, 2014;42(1):1–16.
- [153] Liss BJ, Vehreschild JJ, Cornely AO et al. Intestinal colonisation and blood stream infections due to vancomycin-resistant enterococci (VRE) and extended spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae (ESBLE) in patients with haematological and oncological malignancies. *Infection*, 2012;40(6):613–619
- [154] Kolar M, Htoutou Sedlakova M, Pudova V et al. Incidence of fecal Enterobacteriaceae producing broad-spectrum beta-lactamases in patients with hematological malignancies. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2015;159(1):100–103.
- [155] Karanika S, Karantos T, Arvanitis M et al. Fecal Colonization With Extended-spectrum Beta-lactamase-Producing Enterobacteriaceae and Risk Factors Among Healthy Individuals: A Systematic Review and Metaanalysis. *Clin Infect Dis*, 2016;63:310–318.
- [156] Vehreschild MJGT, Hamprecht A, Peterson L et al. A multicentre cohort study on colonization and infection with ESBL-producing Enterobacteriaceae in high-risk patients with haematological malignancies. *J Antimicrob Chemother*, 2014;69(12):3387–3392.
- [157] Cerceo E, Dietelzweig SB, Sherman BM et al. Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections in the Hospital Setting: Overview, Implications for Clinical Practice, and Emerging Treatment Options. *Microb Drug Resist*, 2016;22(5):412–431.
- [158] World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Geneva: WHO Press, 2014. ISBN 978 92 4 156474 8.
- [159] WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. World Health Organization [online]. 2017 [vid. 2017-05-09]. Dostupné z: <<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/en/>>.
- [160] European Antimicrobial Resistance Surveillance Network. *Surveillance Atlas of Infectious Diseases*. European Centre for Disease Control and Prevention [online]. 2019 [vid. 2020-03-20]. Dostupné z: <<https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx>>.

- [161] Naas T, Oueslati S, Bonnin RA et al. Beta-lactamase database (BLDB) – structure and function. *J Enzyme Inhibit Medicin Chem*, 2017;32(1):917–919.
- [162] Beneš J. *Antibiotika: systematika, vlastnosti, použití*. Praha: Grada Publishing; 2018. ISBN 978-80-271-0636-3.
- [163] Schoevaerds D, Bogaerts P, Grimmelprez A et al. Clinical profiles of patients colonized or infected with extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae isolates: a 20 month retrospective study at a Belgian University Hospital. *BMC Infect Dis*, 2011;11(12).
- [164] Jena J, Jayanti, Debata NK, Sahoo RK et al. Molecular characterization of extended spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae strains isolated from a tertiary care hospital. *Microb Pathog*, 2018;115:112–116.
- [165] Rahman US, Ali T, Ali I et al. The Growing Genetic and Functional Diversity of Extended Spectrum Beta-Lactamases. *BioMed Res Int*, 2018;2018:9519718.
- [166] Jacoby GA. AmpC-Lactamases. *Clin Microbiol Rev*, 2009;22(1):161–182.
- [167] Japoni-Nejad A, Ghaznavi-Rad E, van Belkum Alex. Characterization of Plasmid-Mediated AmpC and Carbapenemases among Iranain Nosocomial Isolates of Klebsiella pneumoniae Using Phenotyping and Genotyping Methods. *Osong Public Health Res Perspect*, 2014;5(6):333–338.
- [168] Bonardi S, Pitino R. Carbapenemase-producing bacteria in food-producing animals, wildlife and environment: A challenge for human health. *Ital J Food Saf*, 2019;8(2):77–92.
- [169] Sauer S, Friewald A, Maier T et al. Classification and Identification of Bacteria by Mass Spectrometry and Computational Analysis. *PLoS ONE*, 2008;3(7):e2843.
- [170] The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters* [online]. 2019. Dostupné na: <<http://www.eucast.org>>.
- [171] Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G et al. Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis*, 1988;10(4):867–78.
- [172] Htoutou Sedlakova M, Hanulik V, Chroma M et al. Phenotypic detection of broad-spectrum beta-lactamases in microbiological practice. *Med Sci Monitor*, 2011;17(5):147–152.
- [173] Olesen I, Hasman H, Aarestrup FM. Prevalence of β -lactamases among ampicillin-resistant Escherichia coli and Salmonella isolated from food animals in Denmark. *Microb Drug Res*, 2004;10(4):334–340.
- [174] Chanawong A, M'zali FH, Heritage J et al. Characterisation of extended-spectrum beta-lactamases of the SHV family using a combination of PCR-single strand conformational polymorphism (PCR-SSCP) and PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). *FEMS Microbiol Let*, 2000;184(1):85–89.

- [175] Pagani L, Dell'Amico e, Migliavacca R et al. Multiple CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases in nosocomial isolates of Enterobacteriaceae from a hospital in northern Italy. *J Clin Microbiol*, 2003;41(9):4264–4269.
- [176] Pérez-Pérez FJ, Hanson ND. Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol*, 2002;40(6):2153–2162.
- [177] Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V et al. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2011;70(1):119–123.
- [178] Hope ACA. A Simplified Monte Carlo Significance Test Procedure. *J R Stat Soc B*, 1968;30:582–598.
- [179] R Core Team. *R: A language and environment for statistical computing* [online]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. 2019. Dostupné z: <<https://www.r-project.org/>>.
- [180] Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*, 2012;18(3):268–281.
- [181] Heberle H, Meirelles GV, Da Silva FR et al. InteractiVenn: a web-based tool for the analysis of sets through Venn diagrams. *BMC Bioinformatics* 16:169 [online]. 2015. Dostupné na: <<http://www.interactivenn.net/>>.
- [182] World Health Organization. *World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention*. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2020. ISBN 978-92-832-0448-0.
- [183] Herzog CM, Dey S, Hablas A et al. Geographic distribution of hematopoietic cancers in the Nile delta of Egypt. *Ann Oncol*, 2012;23:2748–2755.
- [184] Santajit S, Indrawattana N. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *BioMed Res Int*, 2016;2016(2475067).
- [185] Alevizakos M, Gaitanidis A, Andreatos N et al. Bloodstream infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae among patient with malignancy: a systematic review and meta-analysis. *Int J Antimicrob Agent*, 2017;50(5):657–663.
- [186] Sangare SA, Maiga AI, Guindo I et al. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae isolated from blood cultures in Africa. *J Infect Dev Ctries*, 2016;10(10):1059–1064.
- [187] Mlynářčík P, Chalachanová A, Vágnerová I et al. PCR detection of Oxacillinases in Bacteria. *Microb Drug Resist*, 2020;26(9):1023–1037.
- [188] Ma J, LI N, Liu YY et al. Antimicrobial resistance patterns, clinical features, and risk factors for septic shock and death of nosocomial E coli bacteremia in adult patients with hematological disease: A monocenter retrospective study in China. *Medicine*, 2017;96(21):e6959.
- [189] Satlin MJ, Cohen N, Ma KC et al. Bacteremia due to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in neutropenic patients with hematologic malignancies. *J Infect*, 2016;73(4):336–345.

- [190] Hansen DS, Aucken HM, Abiola T et al. Recommended Test Panel for Differentiation of *Klebsiella* Species on the Basis of a Trilateral Interlaboratory Evaluation of 18 Biochemical Tests. *J Clin Microbiol*, 2004;42(8):3665–3669.
- [191] Hadžić S, Čustović A, Smajlović J et al. Distribution of nosocomial infections caused by *Klebsiella pneumoniae* ESBL strain. *J Environ Occup Sci*, 2012;1(3):141–146.
- [192] Qutreshi S. *Klebsiella Infections: Background, Pathophysiology, Epidemiology of Klebsiellae* [online]. 2016 [vid. 2016-12-28]. Dostupné na: <<http://emedicine.medscape.com/article/219907-overview>>.
- [193] Kolar M, Latal T, Cermak P et al. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-positive *Klebsiella pneumoniae* isolates in the Czech Republic. *Int J of Antimicrob Agent*, 2006;28:49–53.
- [194] Khan HA, Ahmad A, Mehboob R. Nosocomial infections and their control strategies. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2015;5(7):509–514.
- [195] Arnan M, Gudiol C, Calatayud L. Risk factors for, and clinical relevance of faecal extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* (ESBL-EC) carriage in neutropenic patients with haematological malignancies. *Eur J Clin Microbiol Inf Dis*, 2011;30(3):355–60.
- [196] Flores-Carrero A, Labrador I, Paniz-Mondolfi A et al. Nosocomial outbreak of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacter ludwigii* co-harboring CTX-M-8, SHV-12 and TEM-15 in a neonatal intensive care unit in Venezuela. *J Glob Antimicrob Res*, 2016;7:114–118.
- [197] Fraser SL. *Enterobacter Infections: Practice Essentials, Background, Pathophysiology* [online]. 2016 [vid. 2016-12-31]. Dostupné na: <<http://emedicine.medscape.com/article/216845-overview#a4>>.
- [198] Chapuis A, Amoureux L, Bador J et al. Outbreak of extended-spectrum beta-lactamase Producing *Enterobacter cloacae* with high MICs of quaternary ammonium compounds in a hematology ward associated with contaminated sinks. *Front Microbiol*, 2016;7:1–9.
- [199] Dziri R, Klibi N, Alonso CA et al. Characterization of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) - producing *Klebsiella*, *Enterobacter*, and *Citrobacter* obtained in environmental samples of a Tunisian hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2016;86(2):190–193.
- [200] Nilsen E, Haldorsen BC, Sundsfjord A et al. Large IncHI2-plasmids encode extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in *Enterobacter* spp. bloodstream isolates, and support ESBL-transfer to *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Infect*, 2013;19(11):E516–E518.
- [201] Ferranti M, Cicogna CT, Sattin A et al. *Citrobacter freundii* sepsis in an immunosuppressed patient with pemphigus vulgaris. *BMJ Case Rep*, 2018;11(1):e227091.
- [202] Davin-Regli A, Pages JM. *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*: Versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Front Microbiol*, 2015;6:392
- [203] Harris PN, Peri AM, Pelecanos AM et al. Risk factors for relapse or persistence of bacteraemia caused by *Enterobacter* spp.: A case-control study. *Antimicrob Res Infect Cont*, 2017;6(1).

- [204] Khajuria A, Prahara AK, Grover N et al. First report of an *Enterobacter ludwigii* isolate coharboring NDM-1 and OXA-48 carbapenemases. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013;57(10):5189–5190.
- [205] Lin SY, Ho MW, Yang YF et al. Abscess Caused by *Citrobacter koseri* Infection: Three Case Reports and a Literature Review. *Intern Med J*, 2011;50:1333–1337.
- [206] Hammerum AM, Hansen F et al. Use of WGS data for investigation of a long-term NDM-1-producing *Citrobacter freundii* outbreak and secondary in vivo spread of bla NDM-1 to *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca*. *J Antimicrob Chemother*, 2016;71:3117–3124.
- [207] Reich HL, Fadeyi DW, Naik NS et al. Nonpseudomonal ecthyma gangrenosum. *J Am Acad Dermatol*, 2004;50(5-Suppl.):114–117.
- [208] Lalaoui R, Djukovic A, Bakour S et al. Genomic characterization of *Citrobacter freundii* strains coproducing OXA-48 and VIM-1 carbapenemase enzymes isolated in leukemic patient in Spain. *Antimicrob Res Infect Control*, 2019;8(167).
- [209] Liu H, Zhu J, Hu Q et al. *Morganella morganii*, a non-negligent opportunistic pathogen. *Inter J Infect Dis*, 2016;50:10–17.
- [210] Sica S, di Mario A, Salutari P et al. *Morganella morganii* Pericarditis After Resolvent Splenectomy for Immune Pancytopenia Following Allogeneic Bone Marrow Transplantation for Acute Lymphoblastic Leukemia. *Clin Infect Dis*, 1995;21(4):1052–1053.
- [211] Yang ZT, Lecuit M, Suarez F et al. *Morganella morganii* pericarditis 3 years after allogeneic bone marrow transplantation for mantle cell lymphoma. *J Infect*, 2006;53(5).
- [212] Samonis G, Anatoliotaki M, Apostalidou H et al. Fatal septicemia and meningitis due to *morganella morganii* in a patient with Hodgkin's disease. *Scan J Infect Dis*, 2001;33(7):553–555.
- [213] Stanic M, Meusburger E, Hartmann G et al. Case Report *Hafnia alvei* Urosepsis in a Kidney Transplant Patient. *Case Rep Transplant*, 2015;2015(863131).
- [214] Cardile AP, Forbes D, Cirigliano V et al. *Hafnia alvei* pyelonephritis in a renal transplant recipient: Case report and review of an under-recognized nosocomial pathogen. *Transpl Infect Dis*, 2011;13(4):407–410.
- [215] Vano-Galvan S, Álvarez-Twose I, Moreno-Martín P et al. Fulminant necrotizing fasciitis caused by *Serratia marcescens* in an immunosuppressed host. *Int J Dermatol*, 2014;53(1):e57–e58.
- [216] Heigh EG, Maletta-Bailey A, Haight J et al. Necrotizing fasciitis of the lower extremity caused by *Serratia marcescens*: A case report. *J Am Ped Med Assoc*, 2016;106(2):144–146.
- [217] Hrabák J, Běbrová E, Nyč O et al. Záchyt kmene *Serratia marcescens* současně produkujícího metalo- β -laktamázu (MBL), širokospektrou β -laktamázu (ESBL) a dvě β -laktamázy typu AmpC ve FN Motol. *Zprávy CEM*, 2009;18(4):139–141.

- [218] McGraw IB, Sweeney C, Savasan S. Recurrent urinary tract infections and low secretory IgA following CD19-directed CAR T-cell therapy for relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Ped Blood Cancer*, 2018;65(1):e26739.
- [219] Colović N, Grubor N, Tanasilović S et al. Ecthyma gangrenosum in a patient with non-Hodgkin lymphoma. *Vojnosanit Pregl*, 2007;64(6):413–416.
- [220] Uche A. Pantoea agglomerans bacteremia in a 65-year-old man with acute myeloid leukemia: Case report and review. *South Med J*, 2008;101(1):102–103.
- [221] Schmid H, Weber C, Bogner JR et al. Infection Isolation of a Pantoea dispersa-Like Strain from a 71-Year-Old Woman with Acute Myeloid Leukemia and Multiple Myeloma. *Infection*, 2003;31(1):66–67.
- [222] Fernández-Muñoz H, Lassaletta A, González MJ et al. Pantoea agglomerans Bacteremia in a Child With Acute Lymphoblastic Leukemia During Induction Therapy. *J Ped Hematol Oncol*, 2015;37(4):328.
- [223] Sękowska A. Raoultella spp. – clinical significance, infections and susceptibility to antibiotics. *Folia Microbiol*, 2017;62(3):221–227.
- [224] Seng P, Boushab M, Romain F et al. Emerging role of Raoultella ornithinolytica in human infections: A series of cases and review of the literature. *Int J Inf Dis*, 2016;45:65–71.
- [225] Chun S, Yun JW, Huh HJ et al. Clinical characteristics of Raoultella ornithinolytica bacteremia. *Infect*, 2014;43(1):59–64
- [226] Yamakawa K, Yamagishi Y, Miyata K et al. Bacteremia Caused by Raoultella ornithinolytica in Two Children. *Ped Infect Dis J*, 2016;35(4):452–453.
- [227] Kaya S, Bayramoğlu G, Sönmez M et al. Raoultella ornithinolytica causing fatal sepsis. *Braz J Infect Dis*, 2015;19(2):230–231.
- [228] Castanheira M, Deshpande LM, Dippersio JR. First descriptions of blaKPC in Raoultella spp. (R. planticola and R. ornithinolytica): Report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *J Clin Microbiol*, 2009;47(12):4129–4130.
- [229] Xu M, Xie W, Fu Y et al. Nosocomial pneumonia caused by carbapenem-resistant Raoultella planticola: a case report and literature review. *Infection*, 2015;43(2):245–248.
- [230] Čerňan M, Szotkowski T, Kolář M et al. Infekční komplikace indukční léčby akutní myeloidní leukemie bez použití antibiotické profylaxe: 10 let zkušeností jednoho centra. In: 30. Olomoucké hematologické dny [online]. 2016 [vid. 2020-01-14]. ISSN 1803-6597. Dostupné z: <<https://www.prolekare.cz/casopisy/transfuze-hematologie-dnes/2016-supplementum1/akutni-leukemie-chronicka-myeloidni-leukemie-60066>>.
- [231] Holý O, Matoušková I. The importance of cleanrooms for the treatment of haemato-oncological patients. *Wspolczesna Onkol*, 2012;16(3):266–272.

- [232] Matoušková I, Holý O. Monitoring of the Environment at the Transplant Unit—Hemato-Oncology Clinic. *Int J Environ Res Public Health*, 2014;11(9):9480–9490.
- [233] Folber F, Doubek M. Novinky v léčbě akutní lymfoblastické leukemie dospělých. *Onkologie*, 2013;7(3):113–116.
- [234] Hrabovský Š, Folber F, Doubek F. Léčba relabující/refrakterní akutní lymfoblastické leukemie dnes a zítra. *Klin Onkol*, 2019;32(2):90–96.
- [235] Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infect Dis*, 2006;6(1):130.
- [236] Puig-Asensio M, Diekema DJ, Boyken L et al. Contamination of health-care workers' hands with *Escherichia coli* and *Klebsiella* species after routine patient care: a prospective observational study. *Clin Microbiol Infect*, 2020;26(6):760–766..
- [237] Tajeddin E, Rashidan M, Razaghi M et al. The role of the intensive care unit environment and health-care workers in the transmission of bacteria associated with hospital acquired infections. *J Infect Public Health*, 2016;9(1):13–23.
- [238] Liu H, Fei CN, Zhang Y et al. Presence, distribution and molecular epidemiology of multi-drug-resistant Gram-negative bacilli from medical personnel of intensive care units in Tianjin, China, 2007–2015. *J Hosp Infect*, 2017;96(2):101–110.
- [239] Holý O, Matoušková I, Zatloukalová S et al. Prevalence kmenů *Staphylococcus epidermidis* a dalších koaguláza negativních stafylokoků se schopností tvorby biofilmu na hematoonkologické klinice. *Klin Mikrobiol Inf Léč*, 2018;24(3):68–72.
- [240] Holý O, Matoušková I, Raida L. Výskyt gramnegativních bakterií v prostředí transplantační jednotky Hemato-onkologické kliniky FN Olomouc. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*, 2012;61(4):103–109.
- [241] de Vries JJC, Baas WH, van der Ploeg K et al. Outbreak of *Serratia marcescens* Colonization and Infection Traced to a Healthcare Worker With Long-Term Carriage on the Hand. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2017;27(11):1153–1158.
- [242] Ulrich N, Gastmeier P, Vonberg RP. Effectiveness of healthcare worker screening in hospital outbreaks with gram-negative pathogens: A systematic review. *Antimicrob Res Infect Control*, 2018;7(36).
- [243] Fernández-Verdugo A, Forcelledo L, Rodríguez-Lozano J. et al. Prospective multicentre study of rectal carriage of multidrug-resistant Enterobacteriaceae among health-care workers in Spain. *Clin Microbiol Infect*, 2020;26(5):649.e1–649.e4.
- [244] Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M et al. CTX-M: Changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother*, 2007;59(2):165–174.
- [245] Cantón R, Akóva M, Carmeli Y et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect*, 2012;18(5):413–431.

- [246] Adler A, Baraniak A, Izdebski R. A multinational study of colonization with extended spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in healthcare personnel and family members of carrier patients hospitalized in rehabilitation centres. *Clin Microbiol Infect*, 2014;20(8):O516–O523.
- [247] Muzslay M, Moore G, Alhussaini N et al. ESBL-producing Gram-negative organisms in the healthcare environment as a source of genetic material for resistance in human infections. *J Hosp Infect*, 2017;95(1):59–64.
- [248] Starlander G, Melhus A. Minor outbreak of extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in an intensive care unit due to a contaminated sink. *J Hospit Inf*, 2012;82(2):122–124.
- [249] Leung GHY, Gray TJ, Cheong EYL et al. Persistence of related bla-IMP-4 metallo-beta-lactamase producing Enterobacteriaceae from clinical and environmental specimens within a burns unit in Australia – a six-year retrospective study. *Antimicrob Res Infect Control*, 2013;2(1):1–8.
- [250] Český statistický úřad. *Aktuální populační vývoj v kostce* [online]. 2020 [cit. 2020-12-10]. Dostupný na: <<https://www.czso.cz/csu/czso/aktualni-populacni-vyvoj-v-kostce>>.
- [251] Parner ET, Baron-Cohen S, Lauritsen MB et al. Parental age and autism spectrum disorders. *Ann Epidemiol*, 2012;22(3):143–150.
- [252] Thompson JA. Disentangling the roles of maternal and paternal age on birth prevalence of down syndrome and other chromosomal disorders using a Bayesian modeling approach. *BMC Med Res Methodol*, 2019;19(1):82.
- [253] Kwan ML, Jensen CD, Block G et al. Maternal diet and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Public Health Rep*, 2009;124(4):503–514.
- [254] Ross JA, Potter JD, Reaman GH et al. Maternal exposure to potential inhibitors of DNA topoisomerase II and infant leukemia (United States): a report from the Children's Cancer Group. *Cancer Causes Control*, 1996;7(6):581–590.
- [255] Jensen CD, Block G, Buffler P et al. Maternal dietary risk factors in childhood acute lymphoblastic leukemia (United States). *Cancer Causes Control*, 2004;15(6):559–570.
- [256] Rees-Punia E, Patel AV, Fallon EA et al. Physical Activity, Sitting Time, and Risk of Myelodysplastic Syndromes, Acute Myeloid Leukemia, and Other Myeloid Malignancies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2019;28(9):1489–1494.
- [257] Filippini T, Heck JE, Malagoli C et al. A review and meta-analysis of outdoor air pollution and risk of childhood leukemia. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* 2015;33(1):36–66.
- [258] Jindrák V, Hedlová D, Urbášková P. *Antibiotická politika a prevence infekcí v nemocnici*. Praha: Mladá Fronta, 2014. ISBN 978-80-204-2815-8.
- [259] Mikulska M, Viscoli C, Orasch C et al. Aetiology and resistance in bacteraemias among adult and paediatric haematology and cancer patients. *J Infect*, 2014;68(4):321–331.

- [260] Mikulska M, del Bono V, Viscoli C. Bacterial infections in hematopoietic stem cell transplantation recipients. *Cur Opin Hematol*, 2014;21(6):451–458.
- [261] Karanika S, Paudel S, Grigoras C et al. Systematic Review and Meta-analysis of Clinical and Economic Outcomes from the Implementation of Hospital-Based Antimicrobial Stewardship Programs. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016;60(8):4840–4852.
- [262] Vasoo S, Barreto JN, Tosh PK. Emerging issues in gram-negative bacterial resistance: an update for the practicing clinician. *Mayo Clin Proc*, 2015;90(3):395–403.
- [263] Jindrák V, Pratingerová J, Hedlová D. Současný koncept prevence a kontroly infekcí spojených se zdravotní péčí. *Zprávy CEM*, 2012;21(5):180–186.
- [264] Ariza-Heredia EJ, Chemaly RF. Infection Control Practices in Patients With Hematological Malignancies and Multidrug-Resistant Organisms: Special Considerations and Challenges. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2014;14:S104–S110.
- [265] Metodický návod – hygiena rukou při poskytování zdravotní péče. In: *Věstník Ministerstva zdravotnictví České republiky 05/2012*. 2012, s. 15–21.
- [266] Pittet D. Improving Compliance With Hand Hygiene in Hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2000;21(06),381–386.
- [267] Lambe KA, Lydon S, Maden C et al. Hand Hygiene Compliance in the ICU. *Crit Care Med*, 2019;47(9):1251–1257.
- [268] World Health Organization. *WHO guidelines on hand hygiene in health care: First Global Patient Safety Challenge – Clean Care is Safer Care*. Geneva: WHO Press, 2009. ISBN 978 92 4 159790 6.
- [269] Livadiotti S, Milano GM, Serra A et al. A survey on hematology-oncology pediatric AIEOP centers: Prophylaxis, empirical therapy and nursing prevention procedures of infectious complications. *Haematol*, 2012;97(1):147–150.
- [270] Luangasanatip N, Hongsuwan M, Limmathurotsakul D et al. Comparative efficacy of interventions to promote hand hygiene in hospital: Systematic review and network meta-analysis. *BMJ*, 2015;351(h3782).
- [271] Kang CI, Chung DR, Ko KS et al. Risk factors for infection and treatment outcome of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bacteremia in patients with hematologic malignancy. *Ann Hematol*, 2012;91(1):115–121.
- [272] Styczynski J, Tridello G, Donnelly JP et al. Protective environment for hematopoietic cell transplant (HSCT) recipients: The Infectious Diseases Working Party EBMT analysis of global recommendations on health-care facilities. *Bone Marrow Transplant*, 2018;53(9):1131–1138.
- [273] Meneguetti MG, Ferreira LR, Silva MFI et al. Assessment of microbiological air quality in hemato-oncology units and its relationship with the occurrence of invasive fungal infections: An integrative review. *Rev Soc Bras Med Trop*, 2013;46(4):391–396.

- [274] Vokurka S, Bystricka E, Svoboda T et al. The availability of HEPA-filtered rooms and the incidence of pneumonia in patients after haematopoietic stem cell transplantation (HSCT): Results from a prospective, multicentre, eastern European study. *J Clin Nurs*, 2014;23(11–12):1648–1652.
- [275] Catho G, Huttner BD. Strategies for the eradication of extended-spectrum beta-lactamase or carbapenemase-producing Enterobacteriaceae intestinal carriage. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2019;17(8):557–569.
- [276] Huttner B, Haustein T, Uckay I et al. Decolonization of intestinal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae with oral colistin and neomycin: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Antimicrob Chemother*, 2013;68(10):2375–2382.
- [277] Abad C, Fearday A, Safdar N. Adverse effects of isolation in hospitalised patients: A systematic review. *J Hosp Infect*, 2010;76(2):97–102.
- [278] Landelle C, Pagani L, Harbarth S. Is patient isolation the single most important measure to prevent the spread of multidrug-resistant pathogens? *Virulence*, 2013;4(2):163–171.
- [279] Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR. *Zdravotnická ročenka České republiky 2018* [online]. 2019. Dostupné na: <<http://www.uzis.cz>>.

Seznam zkratek a značek

AIDS	syndrom získaného selhání imunity
AIHW	Australian Institute of Health and Welfare
AMI	amikacin
AML	akutní myeloidní leukémie
AMP	ampicilin
AmpC	β-laktamázy typu AmpC
AMS	ampicilin/sulbaktam
AL	akutní leukémie
ALL	akutní lymfoblastická leukémie
AS	věkově standardizovaný/á
AUL	akutní leukémie nediferencovaná
AZT	aztreonam
B-ALL	akutní lymfoblastická leukémie z B-buněk
BL	β-laktamázy
BMI	body mass index
CIFR	<i>Citrobacter freundii</i>
CIKO	<i>Citrobacter koseri</i>
CIP	ciprofloxacin
CI5-X	Cancer Incidence in Five Continents Volume X
CMV	cytomegalovirus
COL	kolistin
CoNS	koaguláza negativní stafylokoky
COT	kotrimoxazol
CPM	cefepim
CRX	cefuroxim
CTX	cefotaxim
CTZ	ceftazidim
ČR	Česká republika
DDST	double-disc-synergy test
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EARS-Net	European Antimicrobial Resistance Surveillance Network
EBV	Epstein-Barrové virus
ECDC	Evropské centrum pro kontrolu a prevenci nemocí
ENAE	<i>Enterobacter aerogenes</i>
ENAS	<i>Enterobacter asburiae</i>
ENCL	<i>Enterobacter cloacae</i>
ENLU	<i>Enterobacter ludwigii</i>
ESBL	širokospektré β-laktamázy

ESCO	<i>Escherichia coli</i>
ESHE	<i>Escherichia hermanii</i>
ESKAPE	<i>Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter spp.</i>
F	ženy
FAB	francouzsko-americko-britská klasifikace leukémií
FNOL	Fakultní nemocnice Olomouc
GCO	Global Cancer Observatory
GEN	gentamycin
GIT	gastrointestinální trakt
Gy	Gray (jednotka)
HAAL	<i>Hafnia alvei</i>
HCCA	matrice pro MALDI-TOF
HIV	virus lidské imunitní nedostatečnosti
HEPA	high efficiency particulate arrestance filtry
HOK	Hemato-onkologická klinika
KARBA	karbapenemázy
KLOX	<i>Klebsiella oxytoca</i>
KLPN	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
LF UP	Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci
M	muži
MALDI-TOF	matrix assisted laser desorption/ionization s detektorem doby letu time-of-flight
MDR	multirezistentní
MDS	myelodysplastický syndrom
MER	meropenem
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MOMO	<i>Morganella morganii</i>
MPAL	leukémie smíšeného fenotypu
MSP	standardní hmotnostní spektrum
NOR	Národní onkologický registr
OFL	ofloxacin
OR	odds ratio, poměr šancí
PAAG	<i>Pantotea agglomerans</i>
PAU	polyaromatické uhlovodíky

PCB	polychlorované bifenyly
PCR	polymerázová řetězová reakce
PFGE	pulzní gelová elektroforéza
Ph	philadelphský (gen)
PIP	piperacilin
PM10	polétavý prach 10 µm
PPT	piperacilin/tazobaktam
PR	panrezistentní
PRMI	<i>Proteus mirabilis</i>
R	rezistentní
RAOR	<i>Raoutella ornithinolytica</i>
RAPL	<i>Raoutella planticola</i>
RR	relativní riziko
S	sensitivní
SAEN	<i>Salmonella enteritidis</i>
SEMA	<i>Serratia marcescens</i>
SELI	<i>Serratia liquefaciens</i>
TCDD	2,3,7,8-tetrachlordibenzodioxin
TIG	tigecyklin
TOB	tobramycin
t-AML	sekundární akutní myeloidní leukémie
T-ALL	akutní lymfoblastická leukémie z T-buněk
UK	Spojené království Velké Británie a Severního Irska
USA	Spojené státy americké
ÚZIS	Ústav zdravotnických informací a statistiky
VRE	vankomycin-rezistentní enterokoky
WHO	Světová zdravotnická organizace

Seznam obrázků, tabulek a grafů

OBRÁZKY

Obrázek 1 AS prevalence leukémií (na 100 tis. obyvatel) za 5 let ve světě v roce 2020, obě pohlaví	16
Obrázek 2 AS incidence leukémií (na 100 tis. obyvatel) ve světě v roce 2020, obě pohlaví	17
Obrázek 3 AS mortalita leukémií (na 100 tis. obyvatel) ve světě v roce 2020, obě pohlaví	17
Obrázek 4 Rizikové faktory vzniku infekce u pacientů s akutními leukémiemi	47
Obrázek 5 Procento izolátů <i>E. coli</i> rezistentních k cefalosporinům 3. generace v Evropě v roce 2018	50
Obrázek 6 Procento izolátů <i>K. pneumoniae</i> rezistentních k cefalosporinům 3. generace v Evropě v roce 2018 (zdroj: [160])	51
Obrázek 7 Časová osa (<i>Legenda: barva linií → červená – 5C, žlutá – 5B, zelená – 5A</i>)	64

TABULKY

Tabulka 1 Přehled AS incidence ALL a AML u mužů a žen v některých evropských zemích (2012)	24
Tabulka 2 Hrubá incidence a hrubá mortalita na leukemická onemocnění v jednotlivých krajích České republiky v roce 2017	29
Tabulka 3 Genetický podklad AML	33
Tabulka 4 Genetický podklad ALL	39
Tabulka 5 Vývoj přežívání pacientů s akutní leukémií	46
Tabulka 6 Klasifikace BL dle Amblera	52
Tabulka 7 Enterobakterie izolované od pacientů s akutními leukémiemi	63
Tabulka 8 Výskyt ESBL producentů u pacientů s AML a ALL	66
Tabulka 9 Výskyt genů kódujících produkci vybraných β -laktamáz	67
Tabulka 10 Charakteristika izolátů produkujících AmpC β -laktamázy	68

Tabulka 11 Izoláty nesoucí geny pro produkci karbapenemáz	69
Tabulka 12 Výsledky statistického zpracování dat	70
Tabulka 13 Klinický materiál, z něž byly nejčastěji izolovány ESBL produkující enterobakterie	72
Tabulka 14 Rezistence u izolátů z nejčastěji vyšetřovaného klinického materiálu	72
Tabulka 15 Charakteristika izolátů produkujících AmpC β -laktamázy	73

GRAFY

Graf 1 Odhadovaná Incidence a mortalita leukémií ve světě v roce 2020, obě pohlaví	15
Graf 2 AS incidence a mortalita na leukemická onemocnění v Evropě v roce 2020, obě pohlaví	23
Graf 3 Incidence leukémie v ČR, absolutní čísla	25
Graf 4 Vývoj incidence a mortality AML v ČR	26
Graf 5 Vývoj hrubé incidence AML v ČR, obě pohlaví	26
Graf 6 Vývoj incidence a mortality ALL v ČR	27
Graf 7 Vývoj hrubé incidence ALL v ČR, obě pohlaví	28
Graf 8 Vývoj incidence akutní myeloidní a akutní lymfoblastické leukémie na 100 tis. obyvatel	30
Graf 9 Distribuce jednotlivých typů leukémií (akutních i chronických) v populacích vybraných světových zemí v letech 2003–2007 dle pohlaví, u A) dětí (0–14 let) a B) dospělých (starší 15 let)	31
Graf 10 Distribuce pacientů ve studii dle věku a pohlaví	61
Graf 11 Počty hospitalizací u pacientů s AL	62
Graf 12 Izoláty fenotypově identifikované jako producenti vícero druhů enzymů	66
Graf 13 Izoláty nesoucí geny blaTEM, blaSHV a blaCTX-M	68
Graf 14 Procentuální zastoupení enterobakterií ve výtěrech z krku, vzorcích stolice, moče a hemokulturách	71

Seznam publikací

Články v odborných periodících:

Zatloukalová S, Holý O, Petrželová J, Mlynářčik P, Vlčková J, Röderová M, Horáková D, Kollárová H. Výskyt a antibiotická rezistence enterobakterií izolovaných z klinického materiálu od pacientů s akutní leukémií. *Klin Onkol* 2018;31(4):282–288.

Holý O, Matoušková I, **Zatloukalová S**, Dvořáčková M, Petrželová J, Raida L, Růžička F. Prevalence kmenů *Staphylococcus epidermidis* a dalších koaguláza negativních stafylokoků se schopností tvorby biofilmu na hematologické klinice. *Klin Mikrobiol Inf Léč* 2018;24(3):68–72.

Holý O, Alsonosi A, Hochel I, Röderová M, **Zatloukalová S**, Mlynářčik P, Kolář M, Petrželová J, Alazraq A, Chmelař D, Forsythe S. Antibiotic Susceptibility of Cronobacter spp. Isolated from Clinical Samples. *Polish J Microbiol* 2019;68(1):5–14. (IF = 0,776)

Mlynarcik P, Chalachanova A, Vagnerova I, Holy O, **Zatloukalova S**, Kolar M. PCR Detection of Oxacillinases in Bacteria. *Microb Drug Res* 2020;26(9):1023–1037. (IF = 2,397)

Zatloukalová S, Azeem K, Čerňan M, Holý O. Epidemiologie, rizikové faktory a možnosti prevence akutních leukémií. *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2021;70(3). (Přijato do tisku). (IF = 0,379)

Konferenční příspěvky:

Holý O, **Zatloukalová S**, Röderová M, Petrželová J, Vlčková J, Horáková D, Kollárová H. *Molekulární epidemiologie antibiotické rezistence enterobakterií izolovaných od pacientů s akutní leukémií*. XXV. Moravskoslezské mikrobiologické dny, Ostrava 23.–25. 11. 2017.

Přílohy

Příloha 1 Výsledky testování MIC

Příloha 2 Charakterizace enterobakterií izolovaných ze stolice pacientů s akutními leukémiemi

Příloha 3 Dendrogram izolátů *E. coli*

Příloha 4 Dendrogram izolátů *K. pneumoniae*

Příloha 5 Dendrogram izolátů *E. cloacae*

Příloha 6 Dendrogram izolátů *K. oxytoca*

Příloha 1 Výsledky testování MIC

izoláty		Peniciliny				Pyr.	Polyp.	Fluorochinolony		Mon.	Cefalosporiny				Karb.	Glyc.	Aminoglykosidy		
		AMP	AMS	PIP	PPT	COT	COL	CIP	OFL	AZT	CRX	CTX	CTZ	CPM	MER	TIG	GEN	TOB	AMI
ESCO	R – n	35	28	18	25	29	2	18	24	8	17	15	8	13	2	10	12	10	2
	(%)	(85,4)	(68,3)	(43,9)	(60,9)	(70,7)	(4,9)	(43,9)	(58,5)	(19,5)	(41,5)	(36,6)	(19,5)	(31,7)	(4,9)	(24,4)	(29,3)	(24,4)	(4,9)
n = 41	S – n	6	13	23	16	12	39	23	17	16	24	26	33	28	39	31	29	31	39
	(%)	(14,6)	(31,7)	(56,1)	(39,1)	(29,3)	(95,1)	(56,1)	(41,5)	(39,0)	(58,5)	(63,4)	(80,5)	(68,3)	(95,1)	(75,6)	(70,7)	(75,6)	(95,1)
KLPN	R – n	33	26	20	26	6	1	19	21	18	24	21	21	19	0	18	15	18	7
	(%)	(100)	(78,8)	(60,6)	(78,8)	(18,2)	(3,0)	(57,6)	(63,6)	(54,5)	(72,7)	(63,6)	(63,6)	(57,6)	(0,0)	(54,5)	(45,5)	(54,5)	(21,2)
n = 33	S – n	0	7	13	7	27	32	14	12	10	9	12	12	14	33	15	18	15	26
	(%)	(0,0)	(21,2)	(39,4)	(21,2)	(81,8)	(97,0)	(42,4)	(36,4)	(30,3)	(27,3)	(36,4)	(36,4)	(42,4)	(100)	(45,5)	(54,5)	(45,5)	(78,8)
ENCL	R – n	19	19	9	10	8	0	4	4	9	19	10	10	7	0	7	7	6	2
	(%)	(100)	(100)	(47,4)	(52,6)	(42,1)	(0,0)	(21,1)	(21,1)	(47,4)	(100)	(52,6)	(52,6)	(36,8)	(0,0)	(36,8)	(36,8)	(31,7)	(10,5)
n = 19	S – n	0	0	10	9	11	19	15	15	10	0	9	9	12	19	12	12	13	17
	(%)	(0,0)	(0,0)	(52,6)	(47,4)	(57,9)	(100)	(78,9)	(78,9)	(52,6)	(0,0)	(47,4)	(47,4)	(63,2)	(100)	(63,2)	(63,2)	(68,3)	(89,5)
KLOX	R – n	11	6	6	6	5	1	5	5	6	6	6	6	6	0	3	5	4	2
	(%)	(91,7)	(50,0)	(50,0)	(50,0)	(41,7)	(8,3)	(41,7)	(41,7)	(50,0)	(50,0)	(50,0)	(50,0)	(50,0)	(0,0)	(25,0)	(41,7)	(33,4)	(16,7)
n = 12	S – n	1	6	6	6	7	11	7	7	3	6	6	6	6	12	9	7	8	10
	(%)	(8,3)	(50,0)	(50,0)	(50,0)	(58,3)	(91,7)	(58,3)	(58,3)	(25,0)	(50,0)	(50,0)	(50,0)	(50,0)	(100)	(75,0)	(58,3)	(66,6)	(83,3)
ENAS	R – n	6	5	4	4	3	1	0	0	2	5	4	4	2	0	3	2	4	6
	(%)	(100)	(83,3)	(66,6)	(66,6)	(50,0)	(16,7)	(0,0)	(0,0)	(33,4)	(83,3)	(66,6)	(66,6)	(33,4)	(0,0)	(50,0)	(33,4)	(66,6)	(100)
n = 6	S – n	0	1	2	2	3	5	6	6	4	1	2	2	4	6	3	4	2	0
	(%)	(0,0)	(16,7)	(33,4)	(33,4)	(50,0)	(83,3)	(100)	(100)	(66,6)	(16,7)	(33,4)	(33,4)	(66,6)	(100)	(50,0)	(66,6)	(33,4)	(0,0)
ESHE	R – n	3	1	0	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
	(%)	(50,0)	(16,7)	(0,0)	(50,0)	(50,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(33,4)	(0,0)	(0,0)	(0,0)
n = 6	S – n	3	5	6	3	3	6	6	6	3	6	6	6	6	6	4	6	6	6
	(%)	(50,0)	(83,3)	(100)	(50,0)	(50,0)	(100)	(100)	(100)	(50,0)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(66,6)	(100)	(100)	(100)
MOMO	R – n	5	5	2	2	3	5	2	2	0	5	2	1	0	0	5	1	0	1
	(%)	(100)	(100)	(40,0)	(40,0)	(60,0)	(100)	(40,0)	(40,0)	(0,0)	(100)	(40,0)	(16,7)	(0,0)	(0,0)	(100)	(16,7)	(0,0)	(16,7)
n = 5	S – n	0	0	3	3	2	0	3	3	3	0	3	4	5	5	0	4	5	4
	(%)	(0,0)	(0,0)	(60,0)	(60,0)	(40,0)	(0,0)	(60,0)	(60,0)	(60,0)	(0,0)	(60,0)	(83,3)	(100)	(100)	(0,0)	(83,3)	(100)	(83,3)

izoláty		Peniciliny				Pyr.	Polyp.	Fluorochinolony		Mon.	Cefalosporiny				Karb.	Glyc.	Aminoglykosidy		
		AMP	AMS	PIP	PPT	COT	COL	CIP	OFL	AZT	CRX	CTX	CTZ	CPM	MER	TIG	GEN	TOB	AMI
CIFR	R - n	4	4	2	2	2	0	2	1	1	4	2	2	0	0	2	1	0	1
	(%)	(100)	(100)	(50,0)	(50,0)	(50,0)	(0,0)	(50,0)	(25,0)	(25,0)	(100)	(50,0)	(50,0)	(0,0)	(0,0)	(50,0)	(25,0)	(0,0)	(25,0)
n = 4	S - n	0	0	2	2	2	4	2	3	2	0	2	2	4	4	2	3	4	3
	(%)	(0,0)	(0,0)	(50,0)	(50,0)	(50,0)	(100)	(50,0)	(75,0)	(50,0)	(0,0)	(50,0)	(50,0)	(100)	(100)	(50,0)	(75,0)	(100)	(75,0)
HAAL	R - n	3	2	0	0	2	3	0	0	0	2	0	0	0	0	1	0	0	0
	(%)	(100)	(66,7)	(0,0)	(0,0)	(66,7)	(100)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(66,7)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)
n = 3	S - n	0	1	3	3	1	0	3	3	3	1	3	3	3	3	2	3	3	3
	(%)	(0,0)	(33,3)	(100)	(100)	(33,3)	(0,0)	(100)	(100)	(100)	(33,3)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)
SEMA	R - n	2	2	0	0	2	2	1	0	0	2	0	0	0	0	1	0	1	0
	(%)	(66,7)	(66,7)	(0,0)	(0,0)	(66,7)	(66,7)	(33,3)	(0,0)	(0,0)	(66,7)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(33,3)	(0,0)	(33,3)	(0,0)
n = 3	S - n	1	1	3	3	1	1	2	3	2	1	3	3	3	3	2	3	2	3
	(%)	(33,3)	(33,3)	(100)	(100)	(33,3)	(33,3)	(66,7)	(100)	(66,7)	(33,3)	(100)	(100)	(100)	(100)	(66,7)	(100)	(66,7)	(100)
ENLU	R - n	2	2	1	1	0	0	1	1	0	2	1	1	0	0	0	1	0	1
	(%)	(100)	(100)	(50,0)	(50,0)	(0,0)	(0,0)	(50,0)	(50,0)	(0,0)	(100)	(50,0)	(50,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(50,0)	(0,0)	(50,0)
n = 2	S - n	0	0	1	1	2	2	1	1	2	0	1	1	2	2	2	1	2	1
	(%)	(0,0)	(0,0)	(50,0)	(50,0)	(100)	(100)	(50,0)	(50,0)	(100)	(0,0)	(50,0)	(50,0)	(100)	(100)	(100)	(50,0)	(100)	(50,0)
PRMI	R - n	2	1	0	0	1	2	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0
	(%)	(100)	(50,0)	(0,0)	(0,0)	(50,0)	(100)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(50,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(100)	(0,0)	(0,0)	(0,0)
n = 2	S - n	0	1	2	2	1	0	2	2	1	1	2	2	2	2	0	2	2	2
	(%)	(0,0)	(50,0)	(100)	(100)	(50,0)	(0,0)	(100)	(100)	(50,0)	(50,0)	(100)	(100)	(100)	(100)	(0,0)	(100)	(100)	(100)
CIKO	R - n	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(%)	(100)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(100)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)
n = 1	S - n	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	(%)	(0,0)	(100)	(100)	(100)	(0,0)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)
ENAE	R - n	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(%)	(100)	(100)	(0,0)	(100)	(100)	(0,0)	(100)	(100)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)
n = 1	S - n	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	(%)	(0,0)	(0,0)	(100)	(0,0)	(0,0)	(100)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)
PAAG	R - n	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	(%)	(100)	(100)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(100)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)
n = 1	S - n	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
	(%)	(0,0)	(0,0)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(0,0)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)
izoláty		Peniciliny				Pyr.	Polyp.	Fluorochinolony		Mon.	Cefalosporiny				Karb.	Glyc.	Aminoglykosidy		
		AMP	AMS	PIP	PPT	COT	COL	CIP	OFL	AZT	CRX	CTX	CTZ	CPM	MER	TIG	GEN	TOB	AMI

RAOR	R – n	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	(%)	(100)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(100)	(0,0)	(0,0)	(0,0)
n = 1	S – n	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
	(%)	(0,0)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(0,0)	(100)	(100)	(100)
RAPL	R – n	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(%)	(100)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)
n = 1	S – n	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	(%)	(0,0)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)
SAEN	R – n	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(%)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)
n = 1	S – n	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	(%)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)
SELI	R – n	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	(%)	(100)	(100)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(100)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(100)	(100)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)	(0,0)
n = 1	S – n	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1
	(%)	(0,0)	(0,0)	(100)	(100)	(100)	(0,0)	(100)	(100)	(100)	(0,0)	(0,0)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)

Legenda:

Antibiotika: *pyr.* = pyrimidiny, *polyp.* = polypeptidy, *mon.* = monobaktamy, *karb.* = karbapenemy, *glyc.* = glycyglyciny, *AMP* = ampicilin, *AMS* = ampicilin/sulbaktam, *CRX* = cefuroxim, *GEN* = gentamycin, *COT* = kotrimoxazol, *COL* = kolistin, *OFL* = ofloxacin, *AZT* = aztreonam, *PIP* = piperacilin, *PPT* = piperacilin/tazobaktam, *CTX* = cefotaxim, *CTZ* = ceftazidim, *CPM* = cefepim, *MER* = meropenem, *CIP* = ciprofloxacín, *TIG* = tigecyklin, *TOB* = tobramycin, *AMI* = amikacin,

Enterobakterie: *ESCO* = *Escherichia coli*, *KLPN* = *Klebsiella pneumoniae*, *ENCL* = *Enterobacter cloacae*, *KLOX* = *Klebsiella oxytoca*, *ENAS* = *Enterobacter asburiae*, *ESHE* = *Escherichia hermannii*, *MOMO* = *Morganella morganii*, *CIFR* = *Citrobacter koseri*, *HAAL* = *Hafnia alvei*, *SEMA* = *Serratia marcescens*, *ENLU* = *Enterobacter ludwigii*; *PRMI* = *Proteus mirabilis*, *CIKO* = *Citrobacter koseri*, *ENAE* = *Enterobacter aerogenes*, *PAAG* = *Pantotea agglomerans*, *RAOR* = *Raoutella ornithinolytica*; *RAPL* = *Raoutella planticola*, *SAEN* = *Salmonella enterica*; *SELI* = *Serratia liquefaciens*

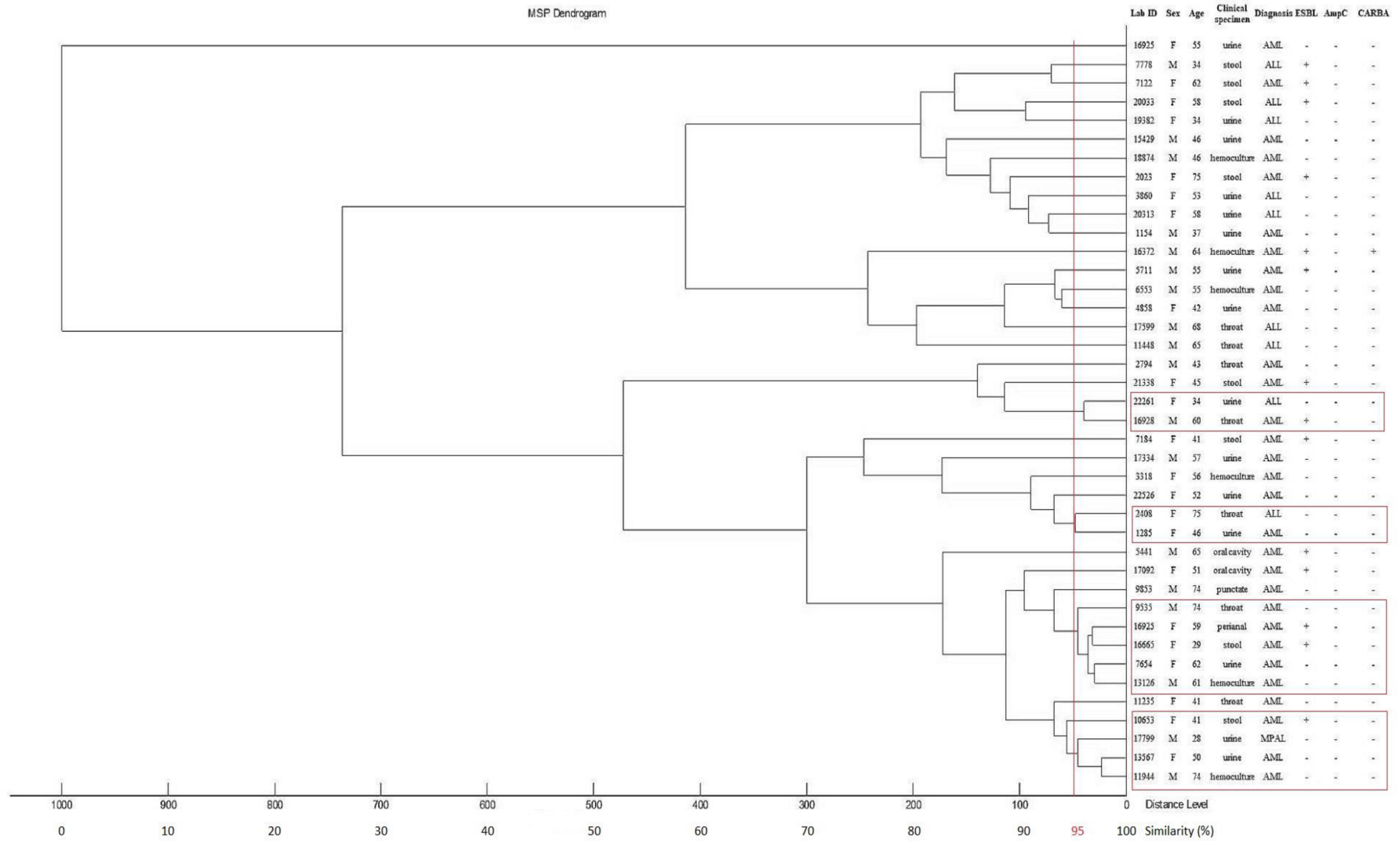
Výsledky: *S* = senzitivní, *R* = rezistentní

Příloha 2 Charakterizace *Enterobacteriaceae* izolovaných ze stolice pacientů s akutními leukémiemi

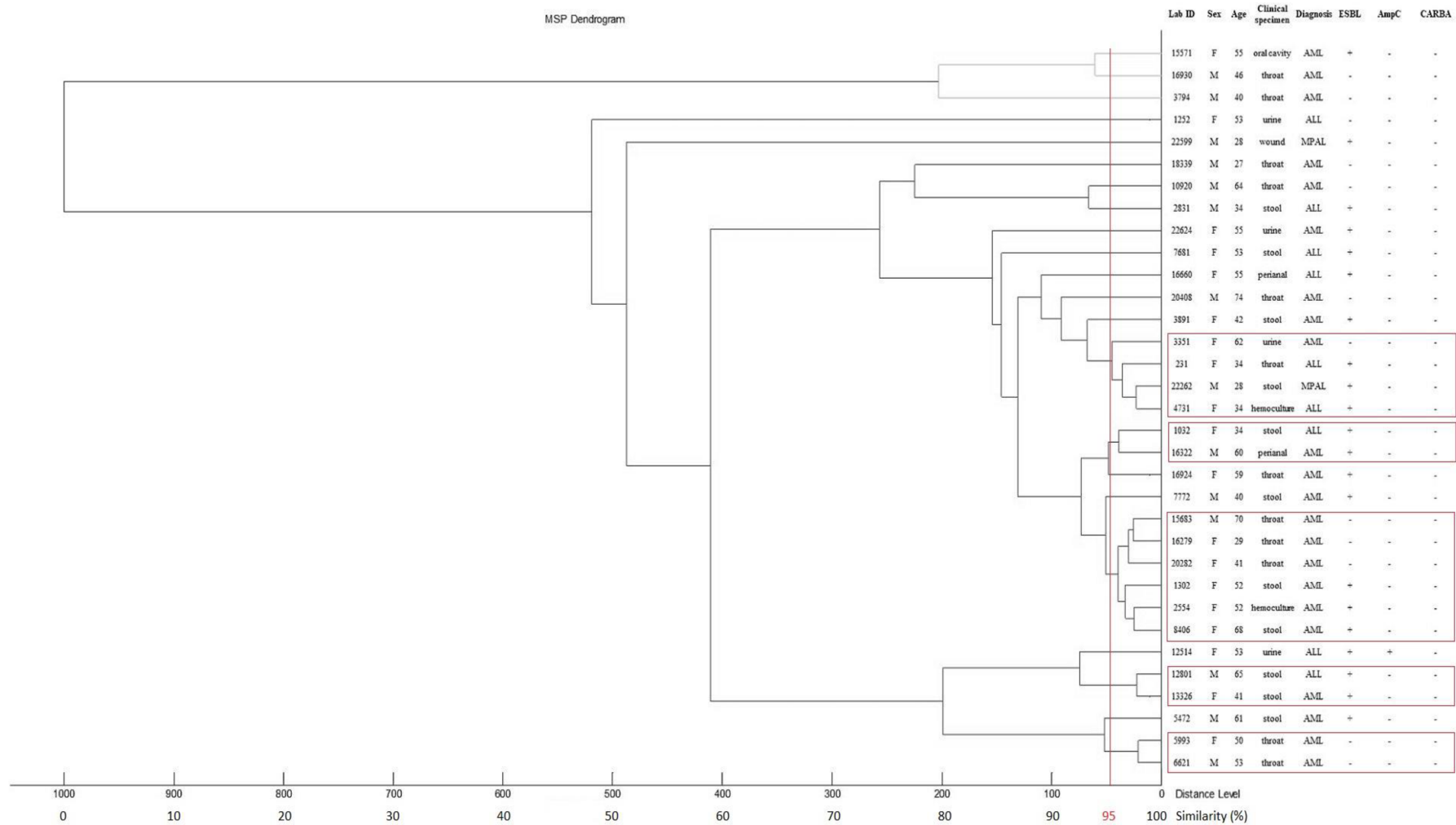
Pacient (pohlaví, věk, dg., odd.)	Nález	Fenotyp		Genotyp				Rezistence dle stanovené MIC
		ESBL	AmpC	<i>bla_{TEM}</i>	<i>bla_{SHV}</i>	<i>bla_{CTX-M}</i>	AmpC	
1 (F, 29, AML)	CIFR	+	+	-	-	-	CIT+	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, COL, AZT, CRX, CTX, CTZ, TIG
	ESCO	+	-	-	-	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, OFL, AZT, CRX, CTX, CPM
2 (M, 40, AML)	KLOX	+	-	+	-	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, TIG, GEN, TOB
	KLPN	+	-	+	+	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, GEN, TOB
3 (F, 62, AML)	CIFR	+	-	+	-	-	-	AMP, AMS, PPT, PIP, CIP, OFL, CRX, CTX, CTZ, GEN, AMI
	ESCO	+	-	+	+	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, TIG, GEN, TOB
4 (M, 57, AML)	ENCL	+	-	+	+	-	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, TIG, GEN, TOB
	KLOX	+	-	-	+	-	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, AZT, CRX, CTX, TIG
5 (F, 52, AML)	KLOX	+	-	+	+	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, COL, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, GEN, TOB
	KLPN	+	-	+	+	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, TIG, TOB
6 (F, 68, AML)	KLPN	+	-	+	+	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, TIG, GEN, TOB
7 (F, 42, AML)	ESCO	+	-	+	+	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, TOB
	KLPN	+	-	+	+	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, TOB
8 (F, 58, ALL)	ESCO	+	-	-	+	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX
9 (M, 46, AML)	MOMO	-	-	-	-	-	-	AMP, AMS, COT, COL, CIP, OFL, CRX, TIG
10 (F, 53, ALL)	KLPN	+	-	+	+	-	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, OFL, AZT, CRX, CTX, CTZ, TIG
11 (F, 55, ALL)	KLOX	+	-	+	-	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, OFL, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, TIG, GEN, TOB
12 (F, 55, AML)	ENAS	+	+	-	-	+	EBC+	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, TIG
13 (F, 41, AML)	ESCO	+	-	-	-	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX, CPM, TIG, GEN, TOB
	KLOX	+	-	-	+	-	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, AZT, CRX, CTX, CPM, GEN
14 (M, 60, AML)	MOMO	-	+	-	+	-	DHA+	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, COL, AZT, CRX, CTX, CTZ, TIG, GEN, AMI
	ENCL	+	-	-	-	-	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM
15 (M, 71, AML)	ENAS	-	+	-	+	-	EBC+	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, TIG
16 (M, 28, ALL)	KLPN	+	-	-	+	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, COL, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, TIG, GEN, TOB
	ENCL	+	-	+	+	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, AZT, CRX, CTX, CTZ, TIG, GEN, TOB
17 (M, 34, ALL)	ESCO	+	-	+	-	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, GEN, TOB
	KLPN	+	-	-	+	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, TIG, GEN, TOB

Pacient (pohlaví, věk, dg., odd.)	Nález	Fenotyp		Genotyp				Rezistence dle stanovené MIC
		ESBL	AmpC	<i>bla_{TEM}</i>	<i>bla_{SHV}</i>	<i>bla_{CTX-M}</i>	AmpC	
18 (F, 41, AML)	ENCL	+	-	-	-	-	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, COL, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, TIG
	ESCO	+	-	+	-	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX, CPM, TIG
	KLPN	+	-	+	+	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, TIG, GEN, TOB
19 (F, 75, AML)	ESCO	+	-	-	-	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX, CPM
	ESCO	+	-	+	+	-	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, AZT, CRX, CTX, CTZ, TIG
20 (F, 45, AML)	KLOX	+	-	+	-	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, GEN, TOB
	KLPN	+	-	+	+	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, GEN, TOB
21 (M, 65, AML)	KLPN	+	-	+	+	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, GEN, TOB
	MOMO	+	-	-	-	-	-	AMO, AMS, PPT, PIP, COT, COL, CRX, TIG
22 (M, 61, AML)	KLPN	+	-	+	+	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, TIG, GEN, AMI
	SAEN	-	-	-	+	-	-	COT
23 (F, 34, ALL)	KLPN	+	-	+	+	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, AZT, CRX, CTX, GEN, TOB
	SAEN	-	-	-	+	-	-	COT
24 (F, 46, AML)	ENCL	+	-	+	-	+	-	AMP, AMS, PPT, PIP, COT, CIP, OFL, AZT, CRX, CTX, CTZ, CPM, TIG, GEN, TOB

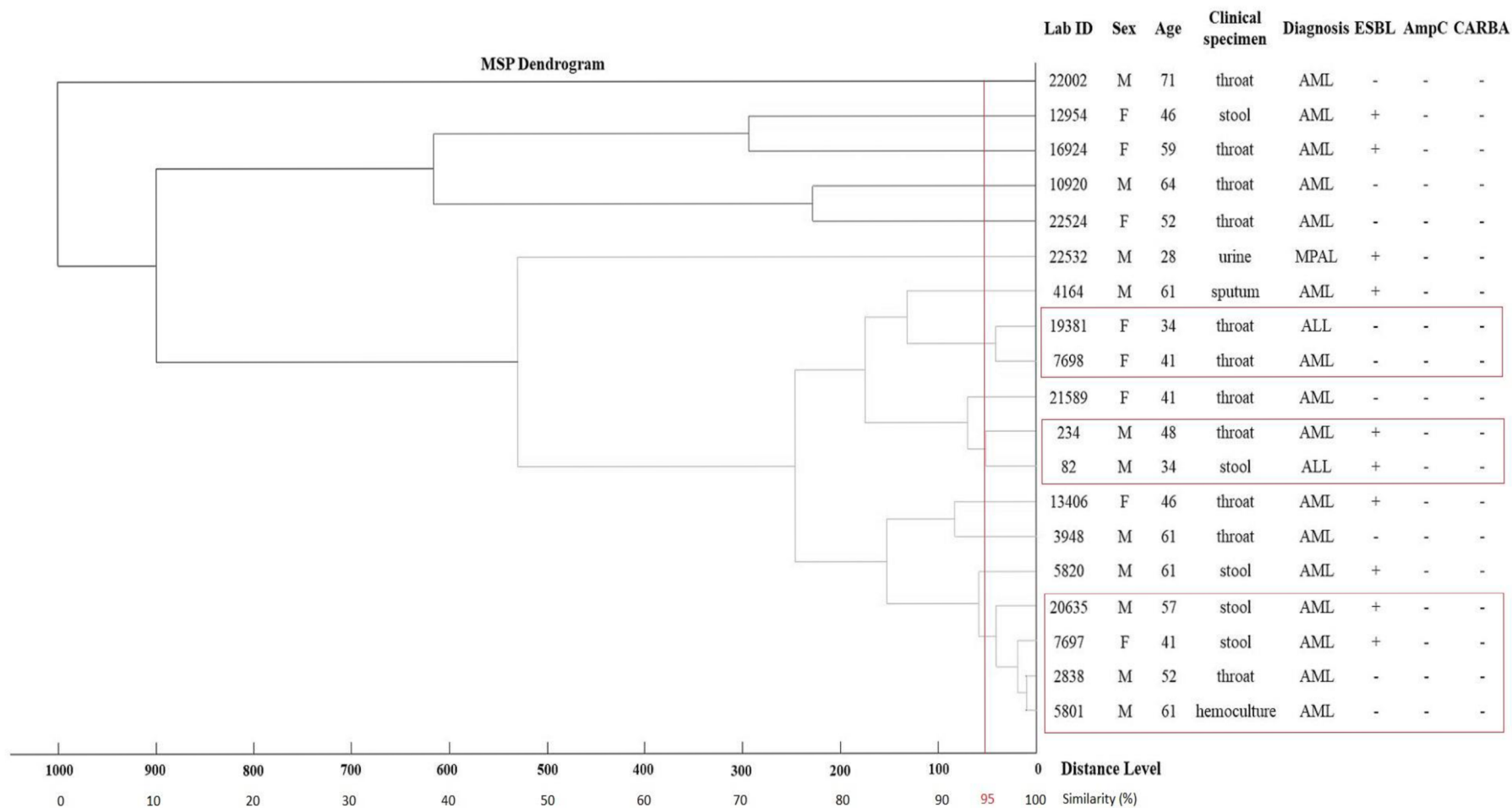
(Legenda: ESCO = *Escherichia coli*, KLPN = *Klebsiella pneumoniae*, ENCL = *Enterobacter cloacae*, KLOX = *Klebsiella oxytoca*, ENAS = *Enterobacter asburiae*, ESHE = *Escherichia hermanii*, MOMO = *Morganella morganii*, CIFR = *Citrobacter koseri*, HAAL = *Hafnia alvei*, SEMA = *Serratia marcescens*, ENLU = *Enterobacter ludwigii*; PRMI = *Proteus mirabilis*, CIKO = *Citrobacter koseri*, ENAE = *Enterobacter aerogenes*, PAAG = *Pantotea agglomerans*, RAOR = *Raoutella ornithinolytica*; RAPL = *Raoutella planticola*, SAEN = *Salmonella enterica*; SELI = *Serratia liquefaciens*, AMI = amikacin, AMP = ampicilin, AMS = ampicilin/sulbaktam, AZT = aztreonam, CIP = ciprofloxacín, COT = kotrimoxazol, COL = kolistin, CPM = cefepim, CRX = cefuroxim, CTX = cefotaxim, CTZ = ceftazidim, GEN = gentamycin, OFL = ofloxacin, PIP = piperacilin, PPT = piperacilin/tazobaktam, TIG = tigecyklin, TOB = tobramycin; A = pozitivní, N = negativní; F = žena, M = muž, ESBL = širokospektré β -laktamázy, AmpC = AmpC β -laktamázy)



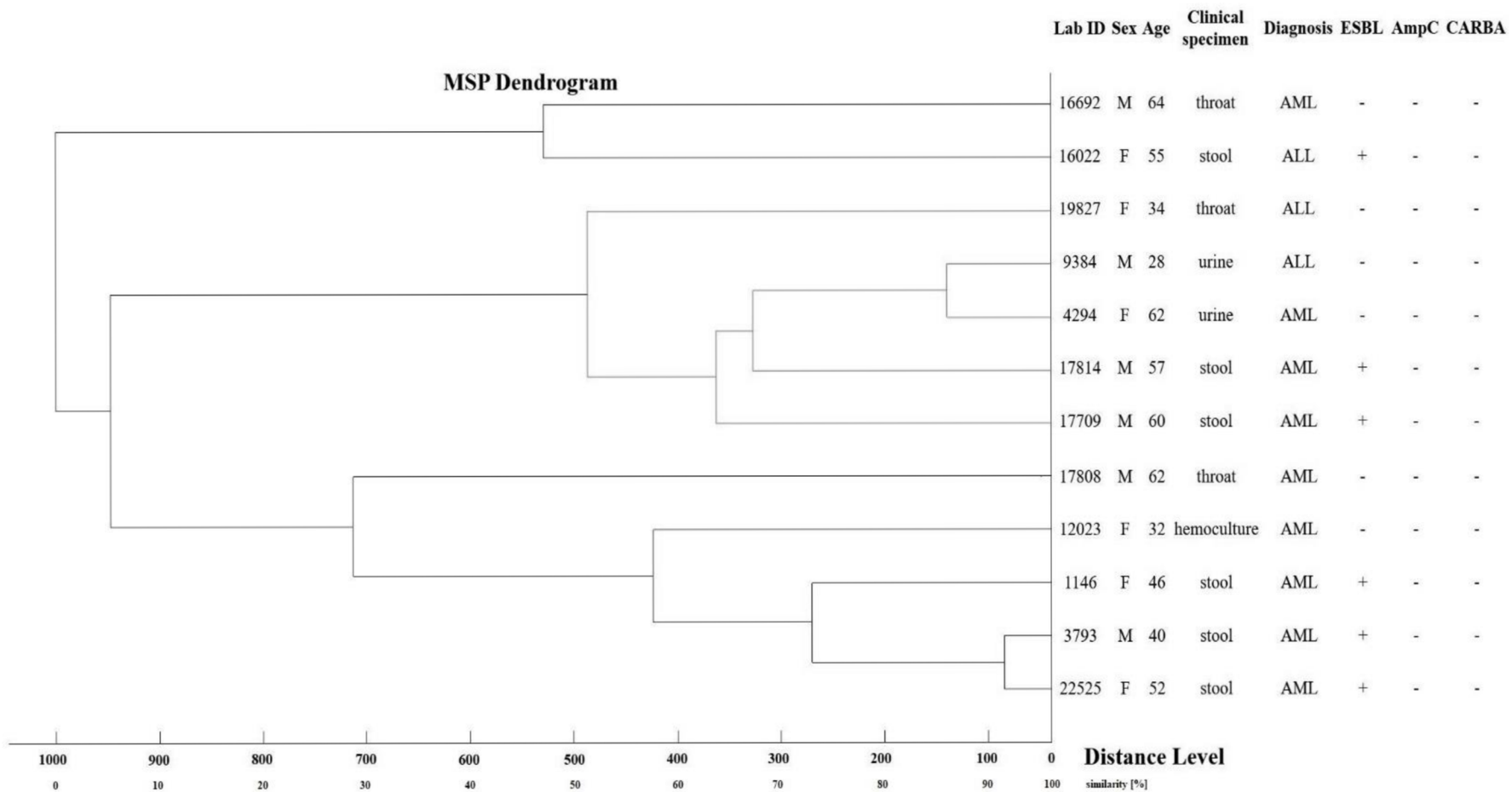
Příloha 3 Dendrogram izolátů *E. coli*



Příloha 4 Dendrogram izolátů *K. pneumoniae*



Příloha 5 Dendrogram izolátů *E. cloacae* získaných z klinického materiálu pacientů s akutní leukemií



Příloha 6 Dendrogram izolátů *K. oxytoca*