



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Septické stavy z pohledu klinické mikrobiologie

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program: **Specializace ve zdravotnictví**

Autor: Markéta Szitaiová

Vedoucí práce: MUDr. Tamara Bergerová

České Budějovice 2023

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem „*Septické stavy z pohledu klinické mikrobiologie*“ jsem vypracoval/a samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby bakalářské práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne

Podpis

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucí práce paní MUDr. Tamaře Bergerové za odborné vedení mé bakalářské práce za odbornou pomoc, ochotu, trpělivost a práci. Dále bych chtěla poděkovat celému kolektivu Ústavu mikrobiologie ve Fakultní nemocnici v Plzni, kdy mi kolegyně ochotně pomáhaly s praktickou částí bakalářské práce. A v neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině za veškerou podporu.

Septické stavy z pohledu klinické mikrobiologie

Abstrakt

Tato bakalářské práce se zabývá septickými stavy z pohledu klinické mikrobiologie ve Fakultní nemocnici v Plzni.

V teoretické části bakalářské práce se vyskytují informace o infekcích krevního řečiště, kterými jsou bakteriémie, fungémie, sepse, endokarditida, atd.. Dále jsou obsahem práce informace o výskytu nejčastějších původců infekcí krevního řečiště, rozdílný výskyt patogenů způsobujících infekce krevního řečiště u specifických skupin pacientů. Tato práce je zaměřena na mikrobiologické vyšetření a zásady správného odběru hemokultur.

V praktické části bakalářské práce je popsáno vyšetření na přístroji BACT/ALERT Virtuo a popsán princip metody, na kterém přístroj funguje. Následně se v praktické části hodnotí data získaná ve Fakultní nemocnici v Plzni v období květen 2021 až červenec 2021. Cílem práce si bylo osvojit praktické zpracování hemokultur v automatickém hemokultivačním systému BACT/ALERT Virtuo. Dalším cílem bylo zpracování získaných dat, zhodnocení výsledků a zjištění nejčastějších agens u pacientů ve Fakultní nemocnici v Plzni. Zhodnocení významu počtu odebraných lahvíček a také vliv objemu krve v lahvíčkách na výsledek vyšetření.

V závěru jsou zhodnoceny výsledky a zdůrazněn nepostradatelný význam automatických hemokultivačních systémů v současné laboratorní diagnostice infekcí krevního řečiště.

Klíčová slova

Hemokultura; sepse; patogen; BACT/ALERT VIRTUO; inkubační čas; teplota; infekce krevního řečiště

Septic condition from the perspective of clinical mikrobiology

Abstract

This bachelor thesis deals with septic conditions from the point of view of clinical microbiology in Fakultní nemocnice in Plzeň.

In the theoretical part of the bachelor thesis, there is information about bloodstream infections, such as bacteremia, fungemia, sepsis, endocarditis, etc.. The work also contains information on the occurrence of the most common causes of blood stream infections, the different occurrence of the pathogens causing bloodstream infections in specific groups of patients. This work is focused on microbiological examination and the principles of correct collection of the blood culture.

In the practical part of the bachelor thesis, the examination on the BACT/ALERT Virtuo device is described and the principle of the method on witch the device works is described. Subsequently, in the practical part, data obtained at the Fakultni nemocnice in Plzeň between May 2021 and July 2021 are evaluated. The aim of the work was to master the practical processing of the blood cultures in the automatic blood culture system BACT/ALERT Virtuo. Another goal was to process the obtained data, evaluate the results in patiens at the Fakultní nemocnice in Plzeň. Evaluation of the importance of the number of vials taken as well as the effect of the volume of blood in the vials on the result of the examination.

In the conclusion, the results are evaluated and the indispensable importance of the automatic blood culture systems in the current laboratory diagnosis of bloodstream infections is emphasized.

Key words

blood culture; sepsis; pathogen; BACT/ALERT VIRTUO; incubation time; temperature; bloodstream infection

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Teoretická část	9
2.1	INFEKCE KREVNIHO ŘEČIŠTĚ	9
2.1.1	Bakteriémie.....	9
2.1.2	Fungémie	10
2.1.3	Sepse	10
2.1.4	Endokarditida.....	11
2.1.5	SIRS	13
2.1.6	MODS.....	14
2.2	NEJČASTĚJŠÍ PŮVODCI INFEKČÍ KREVNIHO ŘEČIŠTĚ	15
2.2.1	Komunitní infekce	15
2.2.2	Infekce spojené se zdravotní péčí (HCAI).....	16
2.2.3	Novorozenci a děti.....	16
2.2.4	Imunokompromitovaní pacienti.....	17
2.3	Stručná charakteristika a identifikace klinicky nejvýznamnějších bakteriálních kmenů izolovaných z hemokultur.....	18
2.3.1	Nefermentující G ⁻ tyčinky	18
2.3.1.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
2.3.1.2	Rod <i>Acinetobacter</i>	18
2.3.2	<i>Enterobacteriaceae</i>	19
2.3.2.1	<i>Escherichia coli</i>	19
2.3.2.2	Rod <i>Klebsiella</i>	20
2.3.2.3	Ostatní <i>Enterobacteriaceae</i>	20
2.3.3	Rod <i>Staphylococcus</i>	22
2.3.3.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	22
2.3.4	Koaguláza negativní stafylokoky (STCN).....	23
2.3.4.1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	23
2.3.4.2	<i>Staphylococcus hominis</i>	23
2.3.4.3	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	23
2.3.4.4	<i>Staphylococcus capitis</i>	24
2.3.5	Rod <i>Streptococcus</i>	24
2.3.5.1	<i>Streptococcus pyogenes</i>	24
2.3.5.2	<i>Streptococcus agalactiae</i>	24
2.3.5.3	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	25
2.3.6	Rod <i>Enterococcus</i>	25

2.3.7	<i>Listeria monocytogenes</i>	25
2.4	Kvasinky, plísně a houby	26
2.4.1	Kvasinky	26
2.4.2	Rod <i>Candida</i>	26
2.5	MIKROBIOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ HEMOKULTUR	27
2.5.1	Preanalytická část	27
2.5.2	Analytická část.....	29
3	Cíl práce	37
4	Metodika výzkumu	38
4.1	Princip přístroje.....	38
4.2	Příprava vzorků.....	38
4.3	Transport vzorku.....	40
4.4	Příjem vzorku v laboratoři	40
4.5	Zpracování lahvíček.....	40
4.6	Hodnocení výsledků	41
5	Výsledky	42
5.1	Výsledky vyšetřovaného souboru	42
5.2	Grafy a tabulky	43
6	Diskuse.....	48
7	ZÁVĚR.....	50
8	Seznam použité literatury	52

1 Úvod

Hemokultivace je stále velice důležitou diagnostickou metodou v klinické mikrobiologii, která objasňuje etiologii septických stavů. Cílem vyšetření je průkaz patogenu, u kterého je možno stanovit citlivost k antibiotikům, případně i další důležité vlastnosti, které mohou ovlivnit průběh terapie.

Citlivost hemokultivačního vyšetření ovlivňuje množství odebrané krve. Koncentrace bakterií v krvi je i při probíhající sepsi velmi nízká. Důležitým faktorem zdařilého hemokultivačního vyšetření je tedy odběr dostatečného množství krve. Dnes se používá strategie odběru zvaná „single sample strategy“, to znamená odběr celého doporučeného množství najednou. Jde především zajištění dostatečného objemu krve, menší zátěž personálu a uvádí se i nižší pravděpodobnost kontaminace, případně její snazší vyloučení.

Jako sepse je označován velice nebezpečný stav, kdy v organismu probíhá systémový zánětlivý proces za přítomnosti infekce a dochází k selhávání funkce některých orgánů. S jeho rozvojem se pojí celá řada dalších zdravotních komplikací. Důležité je včasné odhalení septického stavu a rychlý lékařský zásah. V opačném případě může sepse v krátkém časovém horizontu způsobit úmrtí pacienta. Diagnostika i následná léčba proto musí být velice rychlé.

Hemokultivační vyšetření slouží k průkazu bakterií cirkulujících v krvi pacienta pomocí automatického kultivačního systému, v našem případě byl použit přístroj BACT/ALERT Virtuo.

2 Teoretická část

2.1 INFEKCE KREVNÍHO ŘEČIŠTĚ

Infekce krevního řečiště je stav, kdy došlo k průniku mikroorganismů do krevního řečiště, který je doprovázen příznaky celkové infekce. Jako jsou například horečka nebo naopak hypotermie, zimnice, třesavka, celková únava a podobně. Infekce krevního řečiště mohou způsobovat různí původci. (4)

2.1.1 Bakteriémie

Bakteriémie je termín označující přítomnost životaschopné bakterie v krvi. Přítomnost bakterie v krvi neznamena automaticky infekci krevního řečiště. Bakteriémii může způsobit celá řada bakterií například *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (včetně MRSA), *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecium* a jiné.

Je známo, lidské tělo je fyziologicky osídleno bakteriální flórou (mikrobiotou), například ve střevě, na kůži či v ústech. Proto zdrojem bakteriální infekce mohou být i místa běžného výskytu bakterií. Ke vzniku infekce může dojít při porušení přirozené bariéry jako jsou sliznice a kůže během operačního zákroku, extrakci zubu, prostřednictvím katétrů či při úrazu.

Bakterie za běžných podmínek podléhají fagocytóze, aniž by došlo k rozvoji infekce.

Bakteriémie lze rozdělit dle délky trvání na:

Přechodná bakteriémie trvá několik minut, je spojena s lékařskými zákroky např. chirurgickými výkony na infikované tkáni nebo s instrumentací v oblasti kolonizovaných slizničních povrchů (střevo, ERCP, extrakce zubu, katetrizace močových cest, žvýkání při špatné zubní hygieně, defekace) vymačkávání furunklů, při i.v. podávání drog (kontaminovanými jehlami nebo přímo kontaminovanými drogami), vyskytuje se rovněž u fokálních infekcí, jako jsou pneumonie nebo pyelonefritida.

Intermitentní bakteriémie je přechodná opakující se bakteriémie a je spojena s nedrénovanými intraabdominálními abscesy. Dále se vyskytuje jako pneumokoková bakteriémie při pneumokokové pneumonii. Hemokultury odebrané během teplot a při rozvoji třesavky mohou být u intermitentní bakteriémie negativní, protože bakterie jsou odstraněny obrannými mechanismy hostitele.

Kontinuální bakteriémie představuje závažnou infekci, která překonala obranyschopnost pacienta. Je rovněž charakteristická pro intravaskulární infekce, např. infekční endokarditidu a hnisavou tromboflebitidu. U imunokompromitovaných pacientů může být i ze zdrojů mimo krevní řečiště. (4,13)

2.1.2 Fungémie

Fungémie je stav, kdy se krvi vyskytují huby nebo kvasinky. Nejčastěji bývá způsobena druhy rodu *Candida* (též kandidémie). Nejčastěji způsobuje fungémie *Candida albicans* a další nejčastější původce je *Candida glabrata*. Mohou ji ale způsobovat i jiné houby, například *Aspergillus*, *Cryptococcus* a *Saccharomyces*.

V posledních deseti letech byla v Japonsku objevena „vražedná super kvasinka“ s názvem *Candida auris*, která se vyskytuje po celém světě u každé věkové kategorie. „Super kvasinka“ je nazývána proto, že má sklon k multirezistencím, je obtížné ji odhalit standardními laboratorními metodami (chybná diagnóza vede k chybné léčbě) a navíc se snadno šíří ve zdravotnických zařízeních. (42)

Většinou se vyskytuje u pacientů s imunosupresí nebo imunodeficitem, u onkologických pacientů nebo u pacientů s žilním katétrem. (6)

2.1.3 Seps

Sepsí se rozumí systémová zánětlivá reakce organismu na přítomnost infekce. Ta většinou mívá bakteriální etiologii a z původního ložiska zánětu se postupně šíří do krve nebo případně do jednotlivých orgánů, které selhávají.

Zdroje infekcí lze rozdělit na:

- **primární** - zdroj infekce v krevním řečišti
- **sekundární** - zdroj v jiném orgánu, tkáni

Imunitní systém člověka za běžné situace soustředí svou odpověď na místo, kde se rozvíjí infekce. V případě sepsy se ale bakterie dostanou do krevního řečiště pacienta a prostřednictvím krve se mohou rozšířit po celém těle. Lidský organismus pak na tuto situaci reaguje agresivní obrannou reakcí, která může nemocného bez včasného lékařského zásahu ohrozit na životě.

Celková sepse organismu je tedy velice nebezpečný zdravotní stav, který často vyžaduje hospitalizaci pacienta na jednotce intenzivní péče. Může se totiž postupem času rozvinout do těžké sepse nebo do septického šoku, což vede k dysfunkci některých orgánů a oběhovému selhání. Kvůli tomu se tento stav pojí s vysokou úmrtností.

Rozdělení septických stavů:

- **Sepse – systémová** zánětlivá reakce organismu na přítomnost infekce.
- **Těžká sepse** – sepse komplikovaná orgánovou dysfunkcí, hypotenzí či hypoperfúzí. Hypoperfúze tkání a orgánů nebo perfúzní abnormality mohou přejít v závažnější stav. Konkrétně se jedná o laktátovou acidózu, oligurii, alteraci mentálního stavu a hypoxii.
- **Septický šok** – je těžká sepse s hypotenzí, kdy systolický tlak je nižší než 90 torrů i při adekvátní náhradě tekutin. Jedná se o současné kritérium a příznak septického šoku. Šok vznikající v důsledku sepse, zejména způsobené gramnegativními bakteriemi. Častěji vzniká u osob se zhoršenou imunitou. Jako u všech typů šoku je závažné narušení cirkulace, kriticky snížená perfúze tkání, vyústěním je mnohočetné orgánové selhání. Jednou z komplikací septikémie je vážný pokles krevního tlaku. (4,5,22,23)

2.1.4 Endokarditida

Infekční endokarditida je zánět vnitřní výstelky srdce (endokardu), který je způsobený mikroorganismy a postihuje zejména srdeční chlopně. Při onemocnění dochází k tomu, že endokard, který tvoří též chlopně, je napaden bakteriemi (vzácně jinými mikroorganismy – plísně, chlamydie), které se zde usadí a začnou se množit. Vzniká zde tzv. zánětlivý trombus neboli vegetace.

K bakteriémií dochází často například po stomatologických zákrocích. (např. extrakce zubu, čištění zubního kamene, aj.). Z tohoto důvodu je nutno některé zákroky u pacientů s určitými srdečními chorobami provádět za současného podávání ATB. Větší množství mikrobů v krevním oběhu nebo agresivnější mikroorganismy mohou vést k poškození i dříve zdravé srdeční chlopně¹.

¹ Zvláštní skupinou nemocných jsou narkomani užívající injekční drogy, u kterých bývají častěji poškozené chlopně pravé části srdce, na rozdíl od ostatních pacientů

Obranné mechanismy srdečních chlopní proti infekci jsou omezené kvůli absenci vlastního krevního zásobení. Endokarditidou jsou ohroženy zejména poškozené srdeční chlopně (následkem vrozených vad, předchozích operací, autoimunitních mechanismů či degenerativních změn). Zatímco u zdravých jedinců organismus většinou snadno zvládne krátkodobou přítomnost mikrobů v krevním oběhu (tzv. bakteriémie).

Na změněných srdečních chlopních se mohou bakterie snáze uchytit. Na vývoji nemoci závisí na druhu bakterie, která se zde usadila.

V prvním případě se jedná o bakterie agresivní, schopné svými produkty chlopěň zničit ve velmi krátké době (nejčastěji *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*). Dále je pro tuto formu specifické, že se z vegetace mohou uvolňovat částice nebo větší kusy obsahující bakterie, a protože jsou agresivní, napadají místa, na kterých se usadí a poškozují je (zakládají metastatická ložiska).

Mohou tak postupně obsadit celý organismus s fatálními následky. Dále hrozí riziko, že úlomky, které jsou krevním proudem zaneseny na jiné místo v těle, mohou cévu, ve které se zaseknou ucpat (dochází k embolizaci). Pak dojde k nedokrvení (ischemii) v oblasti za ní a odumření této tkáně.

Tento druh infekční endokarditidy se nazývá akutní endokarditida (rychle a vážně probíhající) a je oproti druhé formě výrazně vzácnější, ovšem bez včasné léčby končí smrtí.

V druhém případě jde o bakterie méně agresivní, které spíše, než by ničily chlopěň, se zde množí a mohou dorůst do rozměrů bránících volnému průtoku krve v srdci (nejčastějšími původci jsou to *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus epidermidis*). Tato se nazývá subakutní endokarditida (s pomalejším průběhem). Z této vegetace se mohou uvolňovat částice a hrozí tak riziko ischemizace různých tkání. Metastatická ložiska ale nezakládá, nepoškozují tedy tkáně svými produkty. Při nezaléčení dochází k smrti do 1 roku.

Jde o velmi závažné onemocnění, které i v dnešní době vede k úmrtí pacienta ve 20-30 % případů. (19,23,35,39)

2.1.5 SIRS

Syndrom systémové zánětové odpovědi² je akutní zánětová reakce, která se rozšiřuje na celý organismus.

Spočívá v intenzivní a nevyvážené imunitní odpovědi na primární lokální, mnohočetné anebo kombinované poškození. Původní poškození může být vyvoláno mechanicky, radiačně, termicky, chemicky anebo biologicky. Následný zánět se při SIRS neomezí pouze na vlastní zasaženou oblast, ale rozšíří se i na ostatní části těla.

Hlavní rozdíl SIRS proti normální zánětové odpovědi je ve ztrátě její kontroly. Zánět při SIRS ztrácí svůj původní obranný charakter a mění se v delokalizovaný a deregulovaný autoagresivní proces. Vede k sekundárnímu poškození vzdálených orgánů, které působením původní příčiny vůbec nemusely být poškozeny. Intenzita SIRS je úměrná síle a rozsahu působení škodlivého podnětu. U hypersenzitivních osob se SIRS může vyvinout i po působení malého podnětu. Rozvoj SIRS mohou modifikovat genetické predispozice.

Mezi hlavní symptomy SIRS patří: horečka, tachykardie, tachypnoe, hypotenze, tkáňová hypoxie a acidóza. Definovat SIRS lze na základě potvrzení minimálně dvou ze čtyř kritérií, tělesná teplota $>38\text{ }^{\circ}\text{C}$ nebo $<36\text{ }^{\circ}\text{C}$, tepová frekvence $>90/\text{min}$, dechová frekvence $20/\text{min}$ nebo hypoventilace s $\text{pCO}_2 <32\text{ mm Hg}$, leukocyty $>12 \times 10^9/\text{l}$ nebo $<4 \times 10^9/\text{l}$ nebo 10 % nezralých forem leukocytů.

Klasifikace SIRS:

Neinfekční SIRS je systémový zánět vzniklý na podkladě neinfekční příčiny jako je trauma, operace, pankreatitida nebo popáleniny.

Infekční SIRS mohou mít pacienti se sepsí s diseminovanou mikrobiální infekcí, což může být například infekce respiračního systému a urogenitálního traktu, infekce gastrointestinálního traktu, infekce kůže a měkkých tkání. Kdy zhruba 50% incidence, je způsobena gram pozitivními bakteriemi. SIRS byla začleněna jako kritérium pro rozpoznání sepse. (20,37)

² SIRS = systemic inflammatory response syndrome

2.1.6 MODS

Syndrom, který je charakterizován skupinou symptomů a příznaků vyskytujících se společně. Diagnostika multiorgánového selhání je založena na základě klinických a laboratorních výsledků. Syndrom multiorgánové dysfunkce³ ve své podstatě představuje primární i sekundární rozvoj různých dysregulací v organismu. Jedná se o dva a více dysfunkčních, život ohrožujících orgánů. Dysfunkce může postihnout veškeré systémy lidského organismu. Pacienti jsou v akutní péči a vyžadují částečnou nebo úplnou náhradu orgánových funkcí. MODS vzniká nejčastěji z důvodu nezvládnuté infekce a sepse.

Mezi další příčiny MODS lze zařadit hypovolemii, trauma, pankreatitidu, tkáňovou hypoperfuzi a hypoxii, popáleniny, velké operace s mimotělním oběhem. Závažnost orgánové dysfunkce lze kvalifikovat pomocí SOFA skóre⁴. Vstupní hodnota je v prognóze stejně důležitá jako denní skórování dynamiky pacienta.

Reakce na poškození orgánů je spojena s aktivací zánětlivých biologických pochodů. Doba mezi primárním septickým inzultem a progresí multiorgánovým selháním může trvat několik hodin až několik dnů. Selhávání orgánů je postupné a může mít u každého pacienta odlišný průběh. I jedno poškozené místo v těle pacienta může druhotně vyvolat zánětlivou reakci na místě jiném. Patologie spočívá ve spuštění zánětlivé reakce organismu s následným selháním regulačních mechanismů. Důsledkem toho dojde k propagaci zánětlivé reakce na původně nepostížené místo. Tato reakce může trvat až několik dní po primární infekci. První postiženým orgánem bývají plíce, kdy dojde k akutní dechové tísní, dále se rozvíjí selhání oběhového systému, selhání GIT, jater, ledvin a diseminovaná intravaskulární koagulopatie. (14,20,34)

³ MODS= multiple organ dysfunction syndrome

⁴ SOFA skóre hodnotí se pomocí bodové stupnice (0–4 body), hodnotí respirační funkce, parametry koagulace, jaterní a renální funkce, hemodynamiku a stav vědomí

2.2 NEJČASTĚJŠÍ PŮVODCI INFEKČÍ KREVNÍHO ŘEČIŠTĚ

Lidé a mikroorganismy nemají pouze vzájemně negativní vliv, ale mohou spolu i kooperovat. Tuto kooperaci nazýváme „symbióza“ tj. společné soužití dvou či více organismů. Toto soužití můžeme rozdělit ještě na 3 různé podoby:

- **Mutualismus**-vztah dvou organismů, při kterém jsou si oba účastníci vzájemně prospěšní
- **Komensalismus**-vztah dvou organismů, při kterém je tento vztah pro jeden organismus výhodný a druhého účastníka nijak nepoškozuje ani mu neprospívá, není tedy tímto vztahem nijak ovlivněn.
- **Parazitismus**-vztah dvou organismů, při kterém je jedna strana poškozována, zatímco druhá strana z tohoto vztahu profituje, tedy jí prospívá. (4,6)

2.2.1 Komunitní infekce

U ambulantních pacientů předpokládáme vznik infekce z plného zdraví, kdy se bakterie dostanou do oběhu z neobjeveného ložiska nebo rezidentní mikrobiální flóry.

Významní původci u komunitních infekcí je *Escherichia coli* (a ostatní bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae*), *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, beta hemolytické streptokoky, *Neisseria meningitidis*.

Pro těhotné ženy je největším nebezpečím především *Listeria monocytogenes*, která může způsobit postižení plodu až septický potrat. Těhotná žena se může nakazit z nepasterizovaného mléka, nedostatečně upraveného masa a zrajících sýrů.

Aspleničtí pacienti⁵ mají predispozice pro infekci opouzdřenými *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* a *Neisseria meningitidis*.

U pacientů u kterých byla diagnostikována endokarditida se vyskytují především koaguláza negativní stafylokoky (*S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, které mají afinitu k umělým povrchům) a *Staphylococcus aureus*. (4)(7)

⁵ pacienti po vyjmutí sleziny

2.2.2 *Infekce spojené se zdravotní péčí (HCAI)*

Hospitalizovaní pacienti jsou skupina osob, u kterých je bakteriémie způsobena buď přímo průnikem bakterií do krevního řečiště, nebo snížením obranyschopnosti organismu.

HCAI se mohou objevovat jako následek zdravotní péče při prováděných invazivních zákroců (operace, intervenční výkony), léčby (imunosupresivní a antibiotická) nebo umělé ventilace. U ambulantních pacientů, kteří do zdravotnických zařízení docházejí např. na dialýzu, stomatologické ambulantní zákroky apod., u nich je také riziko infekce krevního řečiště, spojené se zdravotní péčí.

Nejčastějšími původci HCAI jsou koaguláza negativní stafylokoky (jsou častou kontaminantou), *Escherichia coli* a jiné bakterie čeledi *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, enterokoky, kvasinky, anaerobní mikroorganismy. Původci pneumonie spojené s HCAI jsou často kmeny *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* nebo meticilin rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA), u kterého je nebezpečné nosičství. Nejčastější infekční agens uroinfekce jsou *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, enterokoky a jiné multirezistentní kmeny.

Katétrové infekce vyvolávají především stafylokoky, propionibakterie, méně často G-tyčinky, enterokoky, kandidy. (6,15)

2.2.3 *Novorozenci a děti*

Etiologie infekcí krevního řečiště u dětí prošla výraznou obměnou. Velkou měrou se na tom podílelo očkování, snížil počet infekcí, které vyvolával *Haemophilus influenzae b*. Výskyt nozokomiálních infekcí vzrostl. Nejčastějšími původci komunitních infekcí jsou *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*. U 2 % novorozenců se může rozvinout tzv. časná novorozenecká seps, která se objeví do tří dnů po porodu. Jako etiologická agens se uplatňují *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, méně často *Listeria monocytogenes*. Jako nozokomiální agens se uplatňují *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, gramnegativní tyčinky, zejména klebsiely, často vysoce rezistentní. (2,7)

2.2.4 *Imunokompromitovaní pacienti*

V této kategorii nalezneme pacienty s autoimunitním onemocněním, pacienty po transplantacích tak kostní dřeně tak orgánů, pacienty s onemocněním AIDS, onkologicky nemocné pacienty, pacienty s těžkou renální insuficiencí, ale i imunosupresivní léčbou, aj.

Pro pacienty s imunodeficiencí (vrozenou/získanou), jsou sepse hlavní příčinou úmrtí. V důsledku imunosuprese⁶ dochází k poruše buněčné imunity, fagocytózy, komplementu a tvorby protilátek, které zvyšuje riziko vzniku infekce. Velmi často se jako původce infekce uplatňují bakterie přirozené mikroflóry, které se u imunokompetentních jedinců diagnostikují jako kontaminanty-koaguláza negativní stafylokoky, enterokoky, viridující streptokoky, střevní enterobakterie.

V souvislosti se zvýšenou spotřebou antibiotik a použitím invazivních vstupů do krevního řečiště se uplatňují nefermentující gramnegativní bakterie (pseudomonády, acinetobaktery aj.), kandidy (zejména *Candida albicans* a *glabrata*), plísně a také viry. Tito pacienti jsou senzitivnější k onemocněním získaných v komunitě a relativně „běžná“ onemocnění mohou být pro tuto skupinu smrtelná (3,15)

⁶ stav, kdy je omezena schopnost organismu reagovat na antigenní podnět tvorbou protilátek nebo buněčnou reakcí, stav snížené imunity

2.3 Stručná charakteristika a identifikace klinicky nejvýznamnějších bakteriálních kmenů izolovaných z hemokultur

2.3.1 Nefermentující G⁻ tyčinky

Jedná se o nesourodou skupinu mikrobů, které nejsou schopné fermentovat glukózu, jsou běžně přítomné v přírodě – v půdě, ve vodě, na rostlinách a vyznačují se často vysokou rezistencí k antibiotikům. Patogenita pro imunokompetentního člověka je u této skupiny mikrobů obecně velmi nízká. Tyto oportunní patogeny způsobují infekce prakticky vždy jen u oslabených osob (s primárními imunodeficity, u pacientů s hematologickou malignitou, u transplantovaných, popálených apod.). Tyto infekce mohou, mít těžký průběh s fatálním koncem. (2)

2.3.1.1 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa gram negativní, aerobní, bakterie., která se vyskytuje v půdě, odpadních vodách nebo také ve stolici zvířat a lidí. Na základních půdách roste v koloniích s kovovým leskem. Většina kmenů produkuje modrozelený pigment pyocyanin a žlutozelený fluorescein. Pseudomonády se často uplatňují jako původci nozokomiálních nákaz. Kolonizuje hlavně sliznice dýchacího a močového ústrojí. Často se vyskytuje v nemocničním prostředí a kontaminuje právě katétr (cévní i močové), dýchací přístroje apod.. Nejzávažnějšími infekcemi způsobené *Pseudomonas aeruginosa* jsou infekce popálenin, oka a novorozenecké sepsy. U zdravých osob může pouze kolonizovat sliznice bez vzniku infekce.

V nemocničním prostředí představují pseudomonády hlavní příčinu bakteriémie a jimi způsobená infekce krevního řečiště je velmi závažné onemocnění. Nejčastěji se vyskytuje zdroj infekce v dýchacím a močovém traktu a dále v centrálním žilním katéttru, na kůži a měkkých tkáních. (2,33,36)

2.3.1.2 Rod *Acinetobacter*

Acinetobacter se často vyskytuje v přírodě v půdě, ve vodě. Jde o striktně aerobní krátké tyčky, někdy kokoidního tvaru a ve dvojicích. Může se vyskytnout i u člověka jako komensál⁷ na kůži a sliznici dýchacího ústrojí. Acinetobaktery mohou způsobit onemocnění při lokálním či celkovém oslabení např. při popáleninách, po transplantaci

⁷ organismus žijící v blízkém vztahu k jinému organismu, aniž by mu působil škodu

kostní dřeně, u osob na jednotkách intenzivní péče. Mohou vyvolat např. pneumonie a sepse.

Jsou přirozeně rezistentní na penicilin, ampicilin, cefalosporiny 1. a 2. generace, snadno získávají rezistenci k řadě velmi účinných antibiotik. K lékařsky a epidemiologicky významným druhům patří členové skupiny *A. baumannii calcoaceticus* komplex.

Jedná se o oportunní patogeny vyvolávající nozokomiální infekce. Největší význam představuje tato nefermentující gramnegativní tyčinka při sepsích, pneumoniích, infekci močového traktu a pooperačních ran. Je velice často multirezistentní. (10,21)

2.3.2 *Enterobacteriaceae*

Enterobacteriaceae jsou kosmopolitní organismy. Kromě zažívacího traktu se také nacházejí se také ve vodě, vzduchu i půdě. *Enterobacteriaceae* netvoří spóry, ale jen pouzdra. Pouzdra mají polysacharidový základ, chrání buňku před vnějšími vlivy například slunečním zářením a dezinfekčními prostředky. Kolonie některých neopouzdrěných mikroorganismů mohou získat opouzdrěnou genetickou mutací, přičemž obalem chráněny mikroorganismy jsou virulentnější. (10,17)

2.3.2.1 *Escherichia coli*

Nejvýznamnější ze skupiny *Enterobacteriaceae* je *Escherichia coli*, která se fyziologicky vyskytuje v zažívacím traktu konkrétně ve střevech. *E. coli* je pro lidský organismus velice prospěšná.

Přítomnost *Escherichia coli* ve střevě nám přináší několik výhod, stejně jako jiné enterobakterie produkuje speciální látky (koliciny), které mají antibiotický účinek. Tím působí na některé jiné bakterie, které jsou vůči kolicinům citlivé a které by mohly vyvolat onemocnění a znemožňuje jim průnik ze střeva do střevní sliznice. Tím těmto bakteriím zabrání, aby se ve střevě uhnízdily. Zároveň spolu s jinými bakteriemi ve střevě *Escherichia coli* produkuje vitamin K, který je nezbytný pro správnou srážlivost krve.

E.coli se při infekcích uplatní, pokud se dostane ze střeva do jinak relativně sterilního prostředí, v krvi se vyskytne při urosepsi, při cholangitidě, při ranné infekci, u novorozenců apod.. Některé tzv. „patogenní“ sérotypy *E. coli* jsou vybaveny

významnými faktory virulence, podílejí se především na střevních infekcích (to však není předmětem této práce). (17,21)

2.3.2.2 Rod *Klebsiella*

Klebsiella patří mezi opouzdřené gramnegativní nepohyblivé tyčky. Bakterie tohoto rodu jsou součástí trávicího traktu a respiračního ústrojí. Ve vnějším prostředí je nalézáme v půdě i ve vodě. Nejvýznamnějším druhem je *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*.

Rostou na krevním agaru v šedavě bílých vypouklých koloniích. Při kultivaci na Endově půdě rostou v růžových mukózních koloniích. Bakterie tohoto rodu nejčastěji způsobují uroinfekce a pneumonie, mohou se uplatňovat i při sepsi, a to především u pacientů na JIP jako nozokomiální nákaza. Klebsiellové pneumonie se často vyskytují u oslabených osob a alkoholiků. U novorozenců jsou původcem purulentní meningitidy a sepse. Přenos je fekálně-orální, kontaktem i vzduchem. (31)

2.3.2.3 Ostatní *Enterobacteriaceae*

Rod *Morganella* a *Proteus*

Morganella je rod bakterií blízkých rodu *Proteus* a způsobujících podobná onemocnění.

Na kultivačních půdách se vyznačují charakteristickým zápachem po močovíně. Jsou běžnou součástí střeva. Infekce jsou zpravidla vyvolány endogenně. Jejich patogenita je nízká. U zdravých jedinců jsou schopné vyvolat nejvýše infekce močového systému, u oslabených ale i pneumonie, meningitidy nebo sepse. Mezi nejvýznamnější patří *Morganella morganii*, a z rodu *Proteus* druh *P.mirabilis* (3,32)

Rod *Enterobacter*

Je součástí přirozené střevní mikroflóry. Je tedy patogenem oportunním, který výjimečně vyvolá mimostřevní infekci. Mimo střevní infekce může způsobit např. zánět močových cest nebo dokonce meningitidu u dětí (*Enterobacter sakazakii*, dnes uváděn jako *Cronobacter*). Podstatná je jejich přirozená rezistence na řadu antibiotik. Patří mezi významné nozokomiální patogeny, velmi často je multirezistentní. Nejčastějšími izoláty jsou zástupci skupiny *Enterobacte cloacae* komplex. (1)

Rod *Citrobacter*

Citrobacter je také oportunní patogen, který může kromě střevních infekcích vyvolat i mimostřevní infekce, kterými mohou být infekce močových cest. Mezi další infekce patří bakterémie, endokarditidy, meningitidy (i u novorozenců) a mozkové abscesy. K těmto komplikacím vede často primárně intraabdominální infekce, způsobená důsledkem neinfekčních procesů (např. žlučové kameny nebo těž nádory v dutině břišní). Mezi nejběžnější druhy patří *Citrobacter freundii* a *Citrobacter koseri*. (21)

Rod *Salmonella*

Rod *Salmonella* patří do čeledi *Enterobacteriaceae*. Jsou fakultativně anaerobní, nesporulující, gramnegativní tyčinky.

V praxi lze salmonely rozdělit na sérotypy, které jsou primárně patogenní pro člověka a jsou příčinou závažných systémových onemocnění – tyfů a paratyfů (sérotypy Typhi a Paratyphi) a dále na původce tzv. salmonelóz – tj. průjmových onemocnění, způsobených převážně zoopatogenními kmeny salmonel⁸, nejčastěji se jedná o sérotyp Enteritidis.

Invazivní druhy salmonel jsou častou příčinou sepse, mnohdy bez zjevné brány vstupu a kromě fatálního průběhu mohou zapříčinit i fokální infekce⁹ např. meningitidu, osteomyelitidu, artritidu nebo zánět plic.

U malých dětí, starších a oslabených osob hrozí salmonelová sepe, která může být smrtelná.

Salmonely se množí v lymfatické tkáni (makrofágy Peyerových plaků ve střevě). V buňkách se salmonely nemnoží v cytoplasmě, ale setrvávají ve fagosomálních vakuolách a jejich množení je proto pomalejší.

K septikémii dochází po rozpadu buněk, kdy se salmonely dostávají do krevního oběhu. (1,9)

⁸ zoopatogenní salmonely jsou u nás nejběžnějším původcem bakteriálních nákaz

⁹ infekce lokalizované v určitém ložisku, z něhož mohou nepříznivě ovlivňovat celý organismus

2.3.3 Rod *Staphylococcus*

2.3.3.1 *Staphylococcus aureus*

Jsou nejčastějšími původci pyogenních infekcí a intoxikací člověka a zvířat. Biochemicky jsou nejaktivnějšími druhy bakterií, produkují celou řadu exoenzymů a toxinů.

S.aureus se může vyskytovat v krku, v nose nebo také na kůži a vnitřních orgánech (např. v pochvě). Časté je nosičství, zejména u některých rizikových skupin pacientů a také zdravotníků. Tato bakterie je zodpovědná za vznik různých infekcí, mezi které patří: ječné zrno, hnisavá rýma, zánět nehtového lůžka, folikulitida, impetigo zánět průdušek, zánět vedlejších nosních dutin, zápal plic.

Při infekci vytváří častěji abscesy než flegmóny. Způsobuje záněty, abscesy, folikulitidy, sinusitidy, bronchopneumonie, sepse. Při chirurgických zákrocích, úrazech nebo imunologické nedostatečnosti může ale dojít k onemocnění. Díky značné virulenci mají stafylokokové infekce sklon k recidivám nebo k chronickému průběhu. Pokud se bakterie dostanou z léze do krve, může dojít ke vzniku sekundární pneumonie, osteomyelitidy nebo endokarditidy. Na těžkém průběhu nekrotizujících infekcí se podílejí kmeny s produkcí Panton-Valentinova enterotoxinu (PVL).

Stafylokoky patří k nejčastějším původcům poúrazových a pooperačních infekcí. Po 1 až 2 dnech inkubace se objevuje serózní exsudace v okolí poraněné tkáně. Zánětlivý proces se rychle mění v pyogenní reakci s následnou rozsáhlou nekrózou. Častou komplikací je zde sepse a vznik pyogenních metastáz.

Další závažná onemocnění způsobují kmeny produkující toxiny – syndrom toxického šoku (toxin TSST1), stafylokoková enterotoxikóza (enterotoxiny A-E), syndrom opažené kůže (exfoliatiny). (1,9)

MRSA

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, je označení pro kmeny bakterie *Staphylococcus aureus*, které získaly rezistenci vůči antibiotiku metilcinu. Tyto kmeny se rozšířily zejména v nemocnicích kvůli používání širokospektrálních antibiotik, která vyvíjejí selekční tlak na bakterie. MRSA se staly obvykle rezistentní i na řadu dalších antibiotik. (21)

2.3.4 Koaguláza negativní stafylokoky (STCN)

Koaguláza negativní stafylokoky jsou častými nálezy v hemokulturách. Mnohdy jsou pouhými kontaminantami při nedodržení asepse při odběru hemokultury, což komplikuje interpretaci výsledků.

2.3.4.1 *Staphylococcus epidermidis*

Fyziologicky osidluje kůži a sliznice člověka. Nejčastěji se vyskytuje na obličeji, v axilách, tříselné krajině a končetinách. *S.epidermidis* je oportunní patogen¹⁰.

Stafylokokové buňky velmi dobře adherují na umělé hmoty – katetry, kloubní náhrady, umělé chlopně. Způsobuje tedy často infekce umělých materiálů, používaných v ortopedii a chirurgii. Onemocnění způsobená *S. epidermidis* jsou často nemocničního původu, spadají do kategorie HCAI. (2,21)

2.3.4.2 *Staphylococcus hominis*

Jsou příčinou onemocnění především u oslabených osob a pacientů se zavedenými nebo implantovanými umělými materiály – způsobují infekce krevního řečiště, endokarditidy, infekce operačních ran a dolních cest močových. Tento druh se může způsobovat onemocnění jako je zánět pobřišnice, artritida, a dokonce svým pomnožením v krevním řečišti může způsobit septický stav. Jeho multirezistentní poddruh *S. hominis subsp. novobiosepticus*, bývá izolován především z hemokultur. (2)

2.3.4.3 *Staphylococcus haemolyticus*

Způsobuje endokarditidy, cystitidy, peritonitidy, infekce ran a kostí, septikémie.

Také způsobuje závažné infekce v neonatologii, u nedonošených dětí, u imunokompromitovaných osob, u osob po transplantaci kostní dřeně. Je velmi rezistentní na antibiotika. (1)

¹⁰ za normálních okolností není pro člověka nebezpečný, ale za určitých podmínek - zejména při snížení imunity

2.3.4.4 *Staphylococcus capitis*

Je součástí normální flóry kůže na hlavě, obličeji, krku. Přestože jsou bakterie druhu *Staphylococcus capitis* přirozeným prvkem lidské flóry, mohou být pro imunokompromitované pacienty nebezpečné. *Staphylococcus capitis* je koaguláza-negativní stafylokok, který může infikovat nativní srdeční chlopně a způsobit endokarditidu. (2)

2.3.5 Rod *Streptococcus*

2.3.5.1 *Streptococcus pyogenes*

Primárně patogenní, beta-hemolytický kok, patří do skupiny A. Má bohatou antigení strukturu a tvoří mnoho extracelulárních produktů významných pro patogenitu. Způsobuje běžné respirační infekce (tonsilopharyngitida, spála při přítomnosti erytrogenního toxinu, otitida), kožní infekce (impetigo, erysipel) ale i velmi závažné sepse při nekrotizující fasciitidě, myositidě, celulitidě, při pneumonii, mediastinitidě i meningitidě. S produkcí exotoxinů může být spojen závažný syndrom streptokokového toxického šoku. Může být příčinou poststreptokokových následků, revmatické horečky nebo glomerulonefritidy, které mohou vzniknout u neléčených infekcí nebo při předčasném přerušení užívání antibiotik. *Streptococcus pyogenes* si zachovává stále 100% citlivost k penicilinu. (9,21)

2.3.5.2 *Streptococcus agalactiae*

Beta-hemolytický kok patřící do skupiny B.

Asymptomatický výskyt u žen ve vagině může způsobit infekce novorozenců (pneumonie, sepse, meningitidy...), které jsou často fatální. Prevencí novorozeneckých sepsí je screening těhotných žen na přítomnost streptokoka ve vagině ke konci gravidity a v případě positivity antibiotická profylaxe při porodu. U starších dětí nebo dospělých (zejména imunokompromitovaných, u diabetiků) může způsobit močové infekce, faryngitidy a hnisavé infekce operačních ran. Citlivost k penicilinu je dosud zachována. (9,30)

2.3.5.3 *Streptococcus pneumoniae*

S. pneumoniae je podmíněný patogen, jeho infekcím předchází jiné infekce a vlivy které snižují lokální imunitu (virová infekce, aspirace kontaminovaných sekretů z nosohltanu). Za poškození odpovídá především zánětlivá reakce organismu pneumokok není toxický, ale invazivní. Infekce způsobené *S. pneumoniae* jsou pneumokoková pneumonie, průnik do pleurální dutiny – hnisavá ložiska, bakteriémie, hnisavá meningitida, infekce horních cest dýchacích (sinusitidy, otitis media). (1,7,9)

2.3.6 Rod *Enterococcus*

Enterokoky tvoří přirozenou mikroflóru ve střevě a vagíně. Jsou velmi odolné k vysokému pH (8,5) a teplotám. Jsou vysoce rezistentní k antibiotikům současným problémem jsou vankomycin-rezistentní enterokoky (VRE). Enterokoky patří mezi podmíněné patogeny. Způsobují infekce močových a žlučových cest, gynekologické záněty, pooperační komplikace u operací dutiny břišní a podílí se na vzniku infekční endokarditidy.

Nejčastější původci onemocnění *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium*. (8,40)

2.3.7 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes je významný patogen pro člověka. Jedná se o grampozitivní tyčinky, které nejsou kultivačně náročné. Množí se při nízkých teplotách (v chladničce) a vyšších koncentracích soli, zvláště v mléčných a masných výrobcích. V cytoplazmatické membráně se nacházejí virulentní proteiny, díky nimž bakterie proniknou do hostitelských buněk, kde přežívají a šíří se do dalších buněk, eventuálně do krevního řečiště. *Listeria monocytogenes* způsobuje onemocnění listeriózu, která spadá mezi alimentární onemocnění¹¹. U zdravého dospělé osoby může infekce probíhat bez příznakově.

Nejzávažnější je infekce způsobená *Listerií Monocytogenes* pro těhotné ženy, u kterých může dojít k septickému potratu nebo se u plodu rozvine granulomatosis

¹¹ onemocnění člověka, kdy se jedinec nakazí požitím kontaminované potravy či tekutiny -vstupní branou infekce je trávicí trakt

infantiseptica.¹² Pozdní infekce se u novorozenců může projevit jako meningitida či seps. Vzhledem k tomu, že jsou listerie primárně rezistentní na cefalosporinová antibiotika, k léčbě se používá ampicilin. (21,27)

2.4 Kvasinky, plísňe a houby

2.4.1 Kvasinky

Kvasinky jsou mikroorganismy ze skupiny eukariotních organismů, které se řadí do říše Fungi (mikromycety). V cytoplazmatické membráně mají ergosterol a tím se liší od živočišných buněk, které obsahují cholesterol. V buněčné stěně nalezneme chitin, chitosan, mannany a glukany. Morfologicky se jedná o kulaté nebo oválné buňky, označované jako blastokonidie. Rozmnožují se většinou nepohlavně. Nejvýznamnějšími rody kvasinek jsou *Candida*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces*. (2)

2.4.2 Rod *Candida*

Kandidy vytvářejí podobu typicky oválných blastokonidií, jež představují saprofytické stadium. Druhá forma jsou pseudomycélia, která prezentují parazitické stadium. *Candida albicans* je potenciální patogen a má schopnost tvořit zárodečné klíčky (germinace). Z těchto klíčků mohou vznikat pravé hyfy. Je nejčastějším původcem povrchových a systémových kandidóz endogenního původu.

Další patogenní zástupci jsou, např. *C.glabrata* a *C. krusei*. Uplatňují se často při vzniku nozokomiálních nákaz. Infekce krevního řečiště vyvolané kandidami jsou podstatnou příčinou komplikací a úmrtností u hospitalizovaných pacientů. Možné rizikové faktory jsou terapie antibiotiky, chemoterapie, intravaskulární katétr, chirurgický zákrok, parenterální výživa nebo předchozí kolonizace plísněmi. Růstově jsou kandidy nenáročné, ke kultivaci se používá Sabouraudův agar s glukózou nebo maltózou. (21,41)

¹² Tvorba granulomů po celém těle, zejména v játrech a slezině

2.5 MIKROBIOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ HEMOKULTUR

2.5.1 Preanalytická část

Preanalytická část je velice důležitou částí před samotným vyšetřováním vzorků. Porušením správných postupů v preanalytické části, můžeme ovlivnit výsledek pacienta.

➤ Správná indikace

Hemokultivace mají význam zejména u pacientů se známkami těžké sepse a sepse, u pacientů s infekčním procesem nejasné lokalizace a u infekčních procesů, z nichž je nemožné či obtížné odebrat přímý materiál k mikrobiologickému vyšetření.

Záchyt klíčového patogena hemokultivací je obecně nejvyšší u infekčních procesů lokalizovaných či komunikujících s krevním řečištěm a u infekcí spojených se vznikem septického stavu. (4)

➤ Odběr materiálu

Správné načasování odběru

Odběr se provádí před podáním antibiotik, při známkách sepse či infekce na vzestup tělesné teploty se již nečeká. Odběr krve do lahviček se provádí najednou z jednoho vpichu, tudíž nabere naráz 40-60 ml krve- tzv. strategie jednoho odběru (single sample strategy). Množství sérií odběrů závisí na diagnóze pacienta. (29)

Výběr lahviček a množství krve

Na oddělení jsou distribuovány lahvičky pro aerobní a anaerobní kultivaci krve. Speciální lahvičky pro malý objem vzorku používáme pro děti (pediatrické).

Objem krve je nejkritičtějším faktorem. Počet zárodků u dospělých je obvykle nízký, obvykle $<1 \times 10^3$ CFU/l¹³. Existuje přímá úměra mezi objemem a výtěžkem, popisuje se 3% nárůst na každý 1 ml krve. Doporučený objem je 40-60 ml. Většina moderních systémů doporučuje 8-10 ml krve do jedné lahvičky.

U dětí je v krevním řečišti větší koncentrace bakterií, ale lze odebrat menší objem krve. U dětí se odebírá množství krve dle jejich váhy. U dětí do 2 kg se odebírá 1ml krve, dále u dětí 2-13 kg se odebírají dvě pediatrické lahvičky o objemu 1x4 ml a 1x2 ml tj.

¹³ CFU= koloniformní jednotky na litr – Colony Forming Unit

6ml krve. U dětí 13-36 kg se požívá jeden set lahviček pro dospělé a objem krve je po 10 ml tj. 20ml krve celkem. Dále u dětí nad 36 kg se provádí odběr jako u dospělých.

Neměl by se překračovat maximální objem krve na aktuální lahvičky podle instrukcí výrobce. (12,16,29)



Obrázek 1 Kultivační media

➤ Odběr

Odběr se provádí ze správného venepunkčního místa po dezinfekci kůže. Výměna jehel mezi venepunkcí a inokulací lahviček se nedoporučuje kvůli riziku poranění, tento postup nepřináší významný pokles kontaminace. Není rozdíl mezi arteriální a venózní krví, kromě diseminovaných houbových infekcí (zde lépe arteriální).

Odběr u pacientů s probíhající antibiotickou terapií:

Složení obsahu hemokultivačních lahviček částečně eliminuje účinek některých antibiotik, přesto však antibiotická terapie může vést k falešně negativním výsledkům. Je-li u pacienta ATB terapie, doporučujeme provést odběr bezprostředně před podáním další dávky. (29)

Poměr krve a bujónu

Požaduje se poměr 1:15 kvůli neutralizaci antibakteriálního efektu krve, lze použít i poměr 1:5 a 1:10 s přidavkem 0.05% polyanetholsulfonátu sodného¹⁴. SPS má inhibiční účinek na *Neisseria species*, anaerobní koky, *Streptobacillus moniliformis* a *Mycoplasma hominis*. (28)

¹⁴ Sodium Polyanethol Sulphonate = SPS

Inkubační čas a teplota

U automatizovaných systémů se používá teplota 35-37 °C po dobu 5-7 dnů. Při podezření na citlivé bakterie se prodlužuje inkubační doba na 10 dnů s následným vyočkováním, při antibiotické terapii nebo při infekci houbami a náročnými pomalu rostoucími bakteriemi. (15)

Průvodka a značení vzorku

Průvodka je připevněna gumičkou k lahvičce a měla by být uložena v nepromokavém obalu.

Průvodka obsahuje údaje pacienta (jméno, příjmení, bydliště, rodné číslo, pojišťovnu, diagnózu) údaje ošetřujícího lékaře (jméno, příjmení, zařízení a jeho adresu, IČO, IČP, telefon, podpis lékaře), požadavek na vyšetření, datum a čas odběru, klinické údaje (předchozí léčba antibiotiky a jejich druh a doba trvání, teplota, aj.) Lahvička je popsána jménem pacienta, rokem narození a údajem zasilatele. (29)

Transport a skladování vzorku

Čas mezi odběrem vzorku a jeho zpracováním

Vzorky by měly být co nejdříve dopraveny do laboratoře a vloženy do přístroje na hemokultivaci.

Opatření k zachování kvality vzorku.

Po odběru nesmí být lahvičky uskladňovány v lednici. Ale do transportu ponechány při pokojové teplotě. (15,29)

2.5.2 Analytická část

Hemokultivace pomocí přístroje BACT/ALERT VIRTUO

Lahvičky určené do přístroje **BACT/ALERT VIRTUO** po odběru krve jsou transportovány na oddělení mikrobiologie. Nejdříve jsou zkontrolovány údaje na lahvičce a průvodce. Následně je přiděleno laboratorní číslo spolu s čárovým kódem. Poté se vloží do stroje, kde je načten čárový kód a lahvička je umístěna do „komůrky“, kde se kultivuje. Virtuo využívá technologie inteligentního 360° snímání: rozpoznává

lahvičku a referenční štítek pacienta, snímá a sleduje výšku hladiny krve ve všech lahvičkách.

Princip, na kterém přístroj funguje je detekce produktů metabolismu v lahvičkách při přítomnosti bakterií nebo hub. Tento přístroj je schopen inkubace, míchání a průběžného monitorování růstu mikroorganismů, které jsou kultivačně různě náročné (aerobní, anaerobní, fakultativně anaerobní nebo mikromycety).

Systém **BACT/ALERT VIRTUO** je založen na kolorimetrickém principu měření. Každá lahvička má ve svém dně zabudovaný senzor. Pokud jsou v lahvičce přítomny bakterie, dochází k produkci CO₂ a také ke změně pH. Tím, že se změní pH, dochází ke změně barvy senzoru. BACT/ALERT VIRTUO každých deset minut provádí monitoring a analyzuje, zda-li nedošlo k barevné změně z modrozelené na žlutou či nikoliv. Barevná změna senzoru tedy znamená pozitivní výsledek (nález mikroorganismů v hemokultivační lahvičce). V případě pozitivity přístroj zvukově ohlásí, že došlo k detekci mikroorganismů a laborantka lahvičku ze systému vyjme. Poté laborantka vezme lahvičku do laboratoře a vyočkuje ji na pevné půdy a zároveň zhotoví preparát. Pokud však nedochází k žádné detekci a barevné změně, lahvička se nechá kultivovat v přístroji po dobu pěti dní a poté vypadne do koše, ze kterého ji laborantka následně vyjme a vyhodí do infekčního odpadu. (25,26)



Obrázek 2BactAlert/Virtuo Zdroj: www.biomerieux.cz

Mikroskopie

Zhotovení mikroskopického preparátu

Z pozitivní hemokultivační lahvičky je třeba pro přímý průkaz bakterií provést mikroskopický preparát. Který umožňuje rozlišit bakterie dle typu buněčné stěny. S hemokulturou je potřeba zacházet velice opatrně jedná se o vysoce infekční materiál. Její zpracování se tedy provádí v laminárním boxu s ochrannými pomůckami. Nejdříve se víčko lahvičky vydezinfikuje 70% alkoholem a počká se do zaschnutí. Na čisté mikroskopické sklíčko se napíše laboratorní číslo lahvičky. Následně pro odvzdušnění hemokultury se propíchnou gumové víčko jehlou a počká se na únik plynu. Po odvzdušnění se nasadí na jehlu injekční stříkačka a poté lahvička s injekcí pomalu otočí tak, aby konec jehly byl ponořen v kapalině. Pak se trochu tekutiny odsaje a kápne jedna kapka na připravené sklíčko a sterilní kličkou se provede jemný nátěr. Sklíčko s nátěrem se nechá zaschnout. Zaschlé sklíčko se následně obarví dle Grama (pro mikroskopické rozlišení G⁺ a G⁻ bakterií a jejich morfologie). (7)

Barvení dle Grama:

- 1) Krystalová violet 20 sekund (krystalová violet je kyselé barvivo, mělo by se tedy navázat na kyselé skupiny bakterií)
- 2) Dále Lugolův roztok 20 sekund (jód z roztoku se pojí s barvivem a vytvoří precipitát)
- 3) Odbarvení acetonem a poté oplach vodou (aceton prostoupí buněčnou stěnou G⁻ bakterií a rozpustí a vyplaví precipitát z předešlého barvení. U bakterií G⁺ prostupuje aceton ztuhlne pomaleji. G⁺ bakterie tedy zůstanou na rozdíl od G⁻ obarvené)
- 4) Omytý preparát se obarví 30-60 sekund karbolfuchsinem (toto dobarvení dodá G⁺ bakteriím modrofialovou barvu. U G⁻ bakterií se acetonem odbarvené bakterie dobarví karbolfuchsinem do červena)
- 5) Nakonec se preparát ještě opláchnou vodou a osuší.

Ve FN Plzeň je používán automatický barvicí přístroj.

Zhotovený preparát prohlíží lékař pod objektivem s imerzí. Nález se ihned hlásí ošetřujícímu lékaři. (10)



Obrázek 3 Gramovo barvení

Kultivace

Nejdříve se popíšu plotny, které mají stejné číslo jako má hemokultivační lahvička. Používá se krevní agar a Endova půda. Z injekční stříkačky, ze které se nejprve zhotovil preparát, se nyní aplikuje kapka krve na plotnu. Poté se jehla vyhodí do odpadního kontejneru určeného pro ostré předměty.

Z aplikované kapky se pak sterilní bakteriologickou kličkou rovnoběžnými pohyby udělá inokulum přibližně do jedné třetiny kultivační půdy. Poté se bakteriologickou kličkou táhnou čáry kolmo z inokula téměř ke kraji misky, pod vedenou čáru se ještě vytvoří pár čar přibližně do třetiny půdy, tak aby už se inokula nedotýkaly. Otočí se klička a přes již vyočkované čáry se vede další čára a pod ní další tak, aby se již nedotýkaly tahů vedených z inokula. Opět se vezme sterilní klička a tento postup se opakuje. Tímto způsobem očkování by se měl snadno dosáhnout jednotlivých kolonií. (1)

Identifikace

Některé bakterie rostou v typických koloniích (tvar, konzistence, barva, zápach atd.), že jejich rozpoznání není složité. Vzhled kolonií a mikroskopie ovlivní výběr testů citlivosti a identifikace, u hemokultur téměř vždy MALDI.

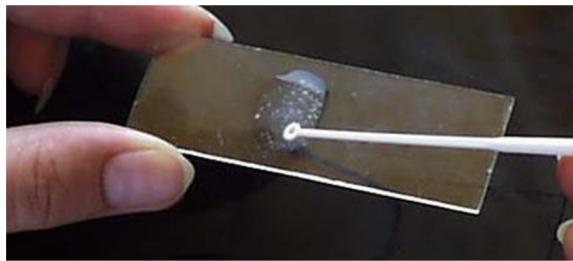
Plazmakoagulázový test

Tento test se využívá k rozlišení bakterií v rámci rodu *Staphylococcus*. Plazmakoagulázový test dokazuje přítomnost proteinu plazmakoagulázy s enzymatickou aktivitou měnící fibrinogen na pevný fibrin.

Princip: Kmeny tvořící koagulázu mění tekutou plazmu, do které byly naočkovány, v pevné koagulum (sraženiny) (1)

Výsledky: **pozitivní** – *Staphylococcus aureus*

negativní–koaguláza negativní stafylokoky např. *Staphylococcus epidermidis*



Obrázek 4 Pozitivní plazmakoagulázový test

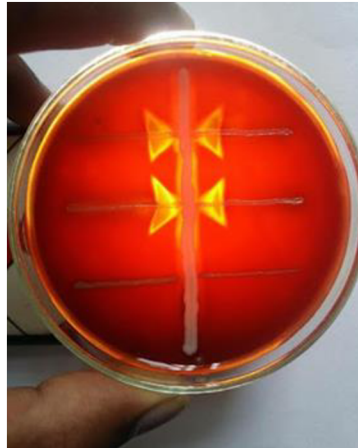
CAMP test

CAMP test slouží k odlišení beta-hemolytických streptokoků. Umožňuje nám odlišit *Streptococcus agalactiae* od *Streptococcus pyogenes*. Na krevním agaru se zkříží linie *S. aureus* a *Streptococcus agalactiae* či *Streptococcus pyogenes*. Každá z těchto tří bakterií způsobuje beta-hemolýzu.

Pokud zkřížíme linii *S. aureus* s linií *Streptococcus agalactiae*, dojde k interakci látek, které produkují. Dojde tedy k interakci beta-hemolyzinu a CAMP faktoru. Tato interakce způsobí zvětšení zóny hemolýzy. V místě interakce vznikne projasnění ve tvaru „mašličky“. Interakce *Streptococcus pyogenes* a *Staphylococcus aureus* a tedy pochopitelně zónu hemolýzy nezvětšuje. (1)

Výsledky: **pozitivní** – *Streptococcus agalactiae*

negativní – *Streptococcus pyogenes*



Obrázek 5 CAMP test

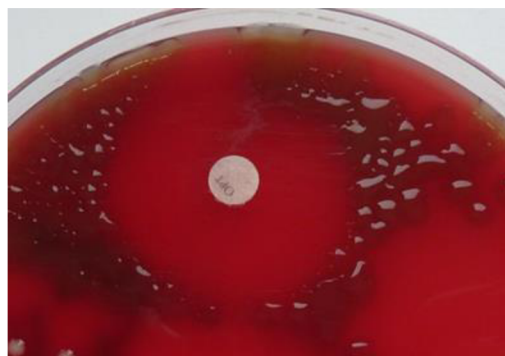
Optochinový test

Zóna inhibice růstu bakterie v okolí disku s optochinem

Tento test slouží k odlišení alfa-hemolytických (viridujících) streptokoků. Umožňuje nám od sebe rozlišit *Streptococcus pneumoniae* od skupiny orálních streptokoků.

Bakterie citlivé na optochin nerostou v okolí disku, neboť optochin z disku difunduje do okolí a brání tím v jejich růstu. Vytváří se zóna inhibice.

Výsledek: *Streptococcus pneumoniae* je citlivý na optochin – neroste v okolí disku, ale **výsledek nikdy není 100 %**. (1)



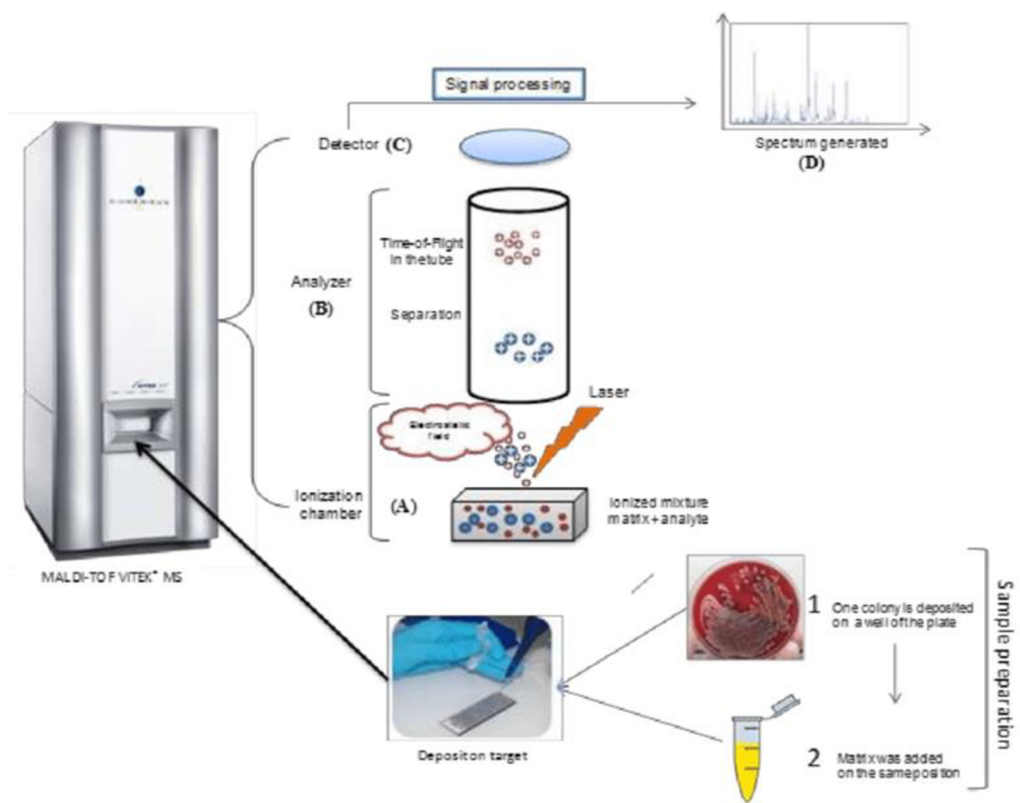
Obrázek 6 Optochinový test

MALDI-TOF

MALDI- TOF¹⁵ přístroj umožňuje rychlou diagnostiku bakterií na základě hmotnostní spektrofotometrie. V přístroji na vzorek působí laserový paprsek a vzorek spolu s matricí se odpaří za vzniku elektrického náboje. Poté dojde k rozdělení iontů ve vakuové trubici podle hmotnosti a doby letu. Výsledek je prezentován ve formě peaků, které jsou obrazem úseků molekul ve vzorku. Spektra jsou následně srovnávána v databázi a jsou navrženy druhy bakterií, kterými může vzorek být a také procentuální pravděpodobnost.

Malé množství izolované bakterie z půdy se nanese 1 mikrolitrovou kličkou na terčik testovací destičky, která obsahuje 48 terčiků. Nanesená vrstvička na terčiku se zakápně 1 mikrolitrem matričního roztoku, který urychluje ionizaci bílkovin, rozetře se a nechá zaschnout, poté se celá destička vložila do přístroje, který pomocí svého softwaru bakterii identifikuje. (18,22,24)

¹⁵ MALDI = matrix assisted laser desorption/ionization (ionizace laserem za přítomnosti matrice), v kombinaci s detektorem doby letu, TOF= time-of-flight.



Obrázek 7 MALDI TOF schéma Zdroj: www.researchgate.net

3 Cíl práce

1. Osvojení si poznatků o diagnostice infekcí krevního řečiště pomocí hemokultivace.
2. Získání dat o výsledcích hemokultivace, nejčastěji izolovaná agens.
3. Zhodnocení významu počtu odebraných hemokultur (lahviček) pro diagnostiku infekce krevního řečiště.

4 Metodika výzkumu

Vyšetření hemokultur v systému Bact/Alert Virtuo

- Výzkumné otázky:**
- 1. Proč je důležitý odběr více jak jedné sady hemokultur u jednoho pacienta?*
 - 2. Jakou roli hraje optimální objem krve v odebraných lahvičkách?*

4.1 Princip přístroje

BACT/ALERT VIRTUO je automatizovaný přístroj na hemokultivaci. Jehož základní jednotkou je izolovaná a temperovaná skříň, ve které se nacházejí výkyvné bloky. Podle typu přístroje můžeme pracovat s 50 až 240 lahvičkami. Držadla k umístění nádobek jsou vybavena kontrolkami zelené a červené barvy. Průběh každé kultivace je sledován nepřetržitě počítačovým programem. Na pozitivitu hemokultury reaguje systém ihned zvukovým signálem, barevnou změnou kontrolky se zelené na červenou, a nakonec laborantka pozitivní lahvičku z přístroje vyndá a dále zpracuje. Přístroj umí označit negativní hemokultury po uplynutí předepsané doby kultivace, tj. 5 dní. Jednotlivé bloky jsou vytápěny samostatně a systém je vybaven náhradním zdrojem energie z důvodu případné havárie.

Princip Bact/ALERT VIRTUO spočívá v detekci produktů metabolismu v lahvičkách při přítomnosti bakterií nebo hub. V tomto případě odlišuje pozitivní hemokultury od negativních díky bakteriální produkci oxidu uhličitého. Využívá při tom kolometrické senzory, které jsou umístěny v každé hemokultivační lahvičce. Polopropustná membrána reguluje průchod a tok látek. Oxid uhličitý volně prochází, reaguje s vodou a mění hodnotu pH. Kyselé prostředí působí na senzor a dochází k barevné změně indikátoru ze zelené na žlutou. Hemokultury jsou monitorovány a vyhodnocovány několikrát do hodiny a výsledek je oznámen zvukovým a světelným signálem. (11,25,26)

4.2 Příprava vzorků

Příprava vzorku začíná už odběrem, který musí být správně proveden. Tento krok spadá, do již výše uvedené preanalytické části. Je velice důležité dodržet přesnou metodiku odběru. Optimálně se u dospělých pacientů odebírá 8-10 ml krve do každé

hemokultivační lahvičky a u dětí dle hmotnosti 1-2 ml do pediatrické lahvičky (stačí jedna lahvička) u dospělých se odebírá většinou 4-6 lahviček.

Podle Laboratorní příručky MIKRO FN v Plzni

HEMOKULTURY

Indikace a časování odběru:

akutní sepse: 4–6 lahviček po 8–10 ml jednorázově (single sample strategy)

horečka neznámé etiologie: 4–6 lahviček po 8–10 ml jednorázově

katérová sepse: 1 sada z katétru (2 lahvičky) a 4 lahvičky z periferie

akutní endokarditida: 3 sady z 3 venepunkcí během 1–2 hodin

subakutní endokarditida: 3 dtto, jsou-li do 24 hod. negativní, ještě jednou opakujeme

Odběr hemokultur provádíme vždy před nasazením antibiotik (nebo změnou v případě neúspěšné dosavadní terapie): Nečekáme na teplotní špičku, naopak může být i hypotermie.

Odběrová souprava: odběrové lahvičky BACT/ALERT – aerobní, anaerobní, pediatrická.

Obvykle se používají 2–3 aerobní a 2–3 anaerobní lahvičky. U dětí viz níže.

Vlastní provedení odběru:

Preferenčně z periferní žíly po důkladné dezinfekci alkoholovým dezinfekčním přípravkem – nechat zaschnout 30–60 sec.

Odklopit kryt lahvičky, dezinfikovat stejnou dezinfekcí, ale novým tamponem.

Odběr pomocí Vacuette s nástavcem pro hemokultury přímo do lahvičky (napřed aerobní, pak anaerobní)

nebo:

Odběr do stříkačky a aplikace do lahvičky (napřed anaerobní, pak aerobní).

Odebrat potřebný objem 8–10 ml do 1 lahvičky (celkový objem krve ve všech odebraných lahvičkách dohromady u dospělého 40–60 ml).

U dětí dle váhy: do 2 kg: 1 ml

2kg–13 kg: 2 pediatrické lahvičky, 1x 4 ml a 1x 2 ml (celkem 6 ml)

13–36 kg: 1 x set dospělých lahviček – po 10 ml (Celkem 20 ml)

>36 kg: jako u dospělých (celkem 40–60 ml)

Manipulace s lahvičkami:

Uchovávání 15–30 °C ve vertikální poloze (musí stát), sledovat expiraci.

Před použitím nechat vytemperovat.

Kontrola před použitím: dno má zelenou barvu, uzávěr není vypouklý, médium je čiré.

Po odběru co nejdříve dopravit do laboratoře.

Pokud nelze ihned, ponechat při pokojové teplotě a zaslat druhý den ráno. (29)

4.3 Transport vzorku

Je důležité, aby byly hemokultivační lahvičky ihned po odběru doručeny do mikrobiologické laboratoře. Pokud to není možné, mohou být po nějakou dobu uskladněny při pokojové teplotě.

4.4 Příjem vzorku v laboratoři

Při příjmu lahviček do laboratoře se nejprve zkontrolují informace na hemokultivační lahvičce a na průvodce, zda jsou všechny údaje shodné. Každé lahvičce je následně přiděleno laboratorní číslo a čárový kód, který se vytiskne a nalepí na lahvičku. Dále se číslo zapíše do laboratorního informačního systému (LIS). A lahvička se vloží do přístroje.

4.5 Zpracování lahviček

Jak již bylo zmíněno, při pozitivitě se spustí světelný a zvukový signál o pozitivitě lahviček. Pokud k žádné metabolické změně nedojde v období 5 dnů, je lahvička vyhodnocena jako **negativní**, a vyhozena do odpadní nádoby. Laborantka po té negativní lahvičky z nádoby vyjme, v LIS zkontroluje, zda souhlasí údaje na lahvičce a v LIS a událost uzavře. Lahvičky se dále likvidují jako ostatní biologický materiál.

Pokud lahvička vyjde **pozitivní**, dále se zpracovává. Základním zpracováním je vyhotovení mikroskopického preparátu a vyočkování na pevné půdy. Toto zpracování probíhá v laminárním boxu. Hrdlo lahvičky se nejprve vydesinfikuje a následně propíchne stříkačkou s jehlou a nasaje se krev. Poté se kápne kapka na sklíčko, které se následně obarví dle Grama. Vzniklý preparát se po zaschnutí mikroskopuje pomocí

optického mikroskopu, imerzního oleje a objektivu s 1000 x zvětšením. Další kapky se nakapou na půdy – krevní agar a Endovu půdu a klasicky se rozočkuje. Inkubace probíhá 24 h při 35°C v termostatu, někdy se mohou nechat inkubovat 48 h.

Do laboratorní knihy s názvem „Pozitivní hemokultury“ se zapíše číslo pozitivní hemokultury a údaje o pacientovi. Dále se vše zapíše do LIS.

4.6 Hodnocení výsledků

V naprosté většině případů, pokud se opravdu jedná o infekci IKŘ, je pomocí hemokultivace dosaženo pozitivních výsledků do 48 hodin, většinou ale již do **24 hodin**. Pouze někteří původci infekcí jako např. *Haemophilus* spp., *Campylobacter* spp. anaerobní bakterie, některé kvasinky a jiné mykotické organismy mohou být zachyceny za déle než **48 hodin**.

Lékař či jiný vysokoškolský pracovník ihned nahlásí pozitivitu hemokultury ošetřujícímu lékaři s doporučením na vhodnou ATB léčbu. Opět se vše zapíše do knihy „Pozitivní hemokultury“ a do LIS. Následující den se hodnotí kultivace a test citlivosti.

V případě, že je nárůst kmene v den positivity hemokultury dostatečný, ještě ten samý den se provede identifikace kmene pomocí hmotnostní spektrometrie na přístroji **MALDI-TOF**, jehož principem je rozdělení nabitých částic podle jejich molekulové hmotnosti v magnetickém či elektrickém poli za přítomnosti matrice v kombinaci s detekcí doby letu. Pomocí této metody jsme schopni rychlé identifikace bakterií, plísní nebo kvasinek izolovaných z biologického materiálu.

5 Výsledky

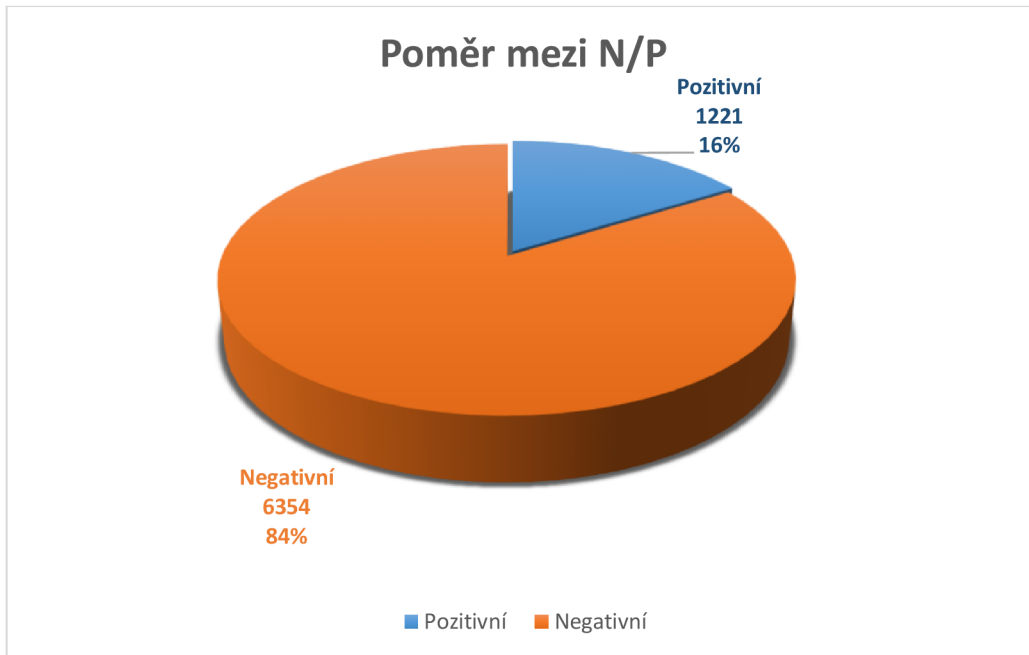
5.1 *Výsledky vyšetřovaného souboru*

V roce 2021 v období květen, červen, červenec bylo ve FN Plzeň v mikrobiologické laboratoři přijato a vyšetřeno 7581 lahvíček hemokultur. U některých pacientů se vyskytoval stejný patogen opakovaně. U pacientů se objevilo 60 druhů mikroorganismů. Pacienti pocházeli z různých nemocničních oddělení jako například z chirurgie, infekčního oddělení, z interních oddělení, z kliniky anesteziologie a resuscitace a EMERGENCY či z dětských oddělení, jako jsou neonatologie a dětská klinika, ale také z externích zařízení.

Data nejsou rozdělena dle pohlaví. Tento faktor nemá vliv na přítomnost a průběh IKŘ. Někteří pacienti měli odebráno více sérií hemokultur, ve kterých vyšel stejný výsledek, tudíž se do statistiky tito pacienti počítali pouze jednou.

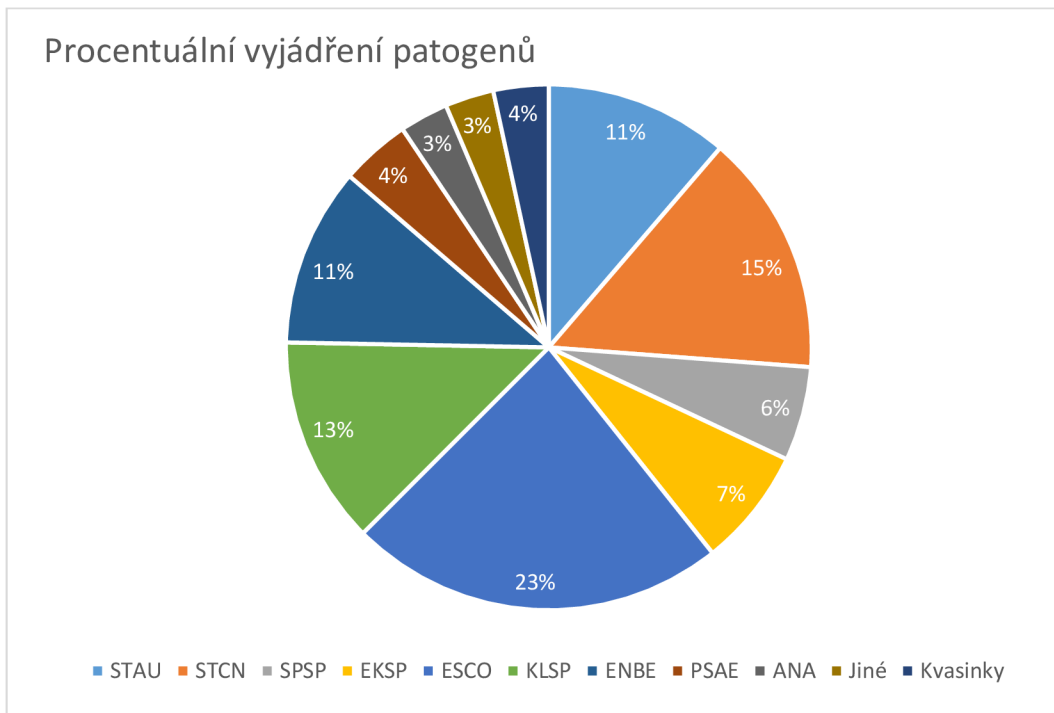
5.2 Grafy a tabulky

V prvním grafu je znázorněn poměr mezi pozitivními a negativními hemokulturami.



Graf 1 Poměr mezi P/N Zdroj: LIS ÚM FN Plzeň

Ve druhém grafu je procentuální rozdělení jednotlivých agens nebo skupiny agens způsobujících IKŘ.



Graf 2 Procentuální vyjádření patogenů Zdroj: LIS ÚM FN Plzeň

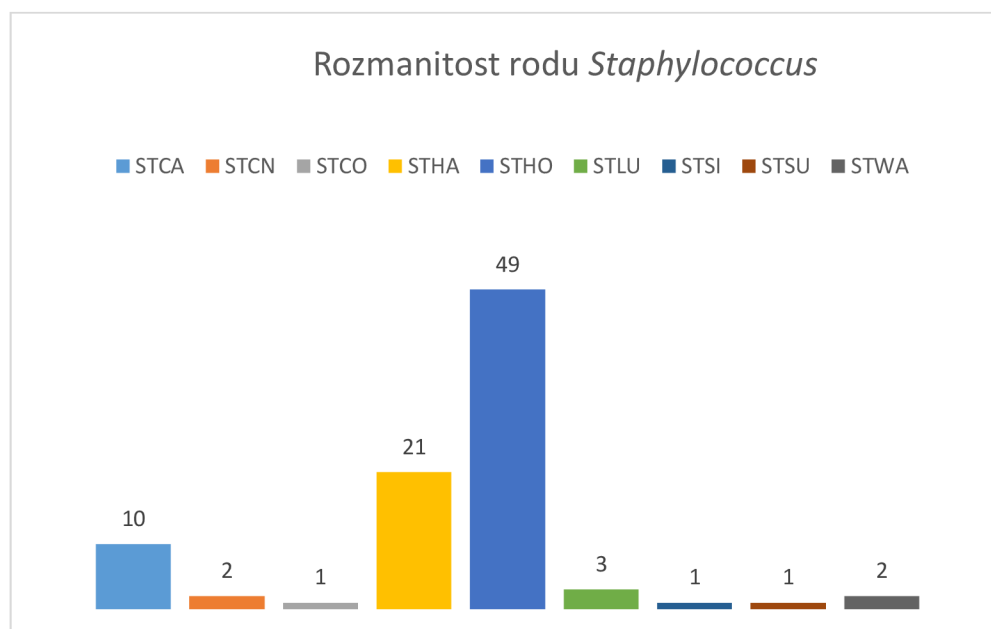
Mezi nejčastěji se vyskytující mikroorganismus v pozitivních hemokulturách vyšel *E.coli*. Druhá nejčastější skupina patogenů byla skupina koaguláza negativních stafylokoků (STCN). Mezi další početnou skupinu patogenů byly *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* spp., a ostatní enterobakterie,

Do skupiny „enterobakterie“ patří *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella* spp., *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae* komplex.

Skupina „ANA“ jsou anaeroby zahrnující klostridia a bakteroidy.

Skupina „Jiné“ obsahuje v hemokulturách vzácněji detekované, ale významné patogeny: *Pasteurella multocida*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*. Dalé obsahuje skupinu nefermentujících gram negativních bakterií *Acinetobacter* spp., *Burkholderia multivorans*.

Dále do skupiny „jiné“ patří i *Neisseria elongata*, která je ústní neisserie. Je součástí běžné flóry HCD. Mimo dutinu ústní mohou být patogenní. V našem případě se jednalo o původce infekční endokarditidy.

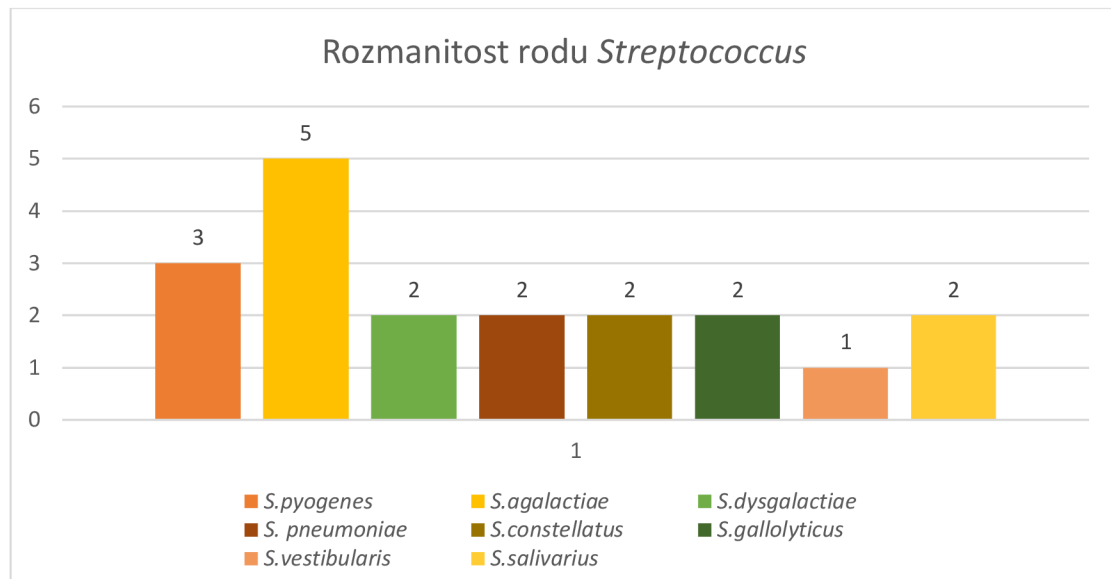


Graf 3 Rozmanitost rodu *Staphylococcus* Zdroj: LIS ÚM FN Plzeň

V grafu rozmanitost rodu *Staphylococcus* je nachází 9 různých stafylokoků. Z toho 7 koaguláza negativních druhů a dva koaguláza pozitivní druhy. Nejvíce v této skupině vyskytoval *Staphylococcus hominis*. Na druhém místě umístil *Staphylococcus*

haemolyticus – způsobuje závažné infekce v neonatologii, u nedonošených dětí, u imunokompromitovaných osob, u osob po transplantaci kostní dřeně. A třetí nejpočetnější skupinou v tomto grafu je *Staphylococcus capitis*. Ostatní stafylokoky byly v nízkém počtu od 3 do 1. Ojedinělý nález *S.sciuri* byl spojen s bakteriální endokarditidou.

Ve čtvrtém grafu je znázorněna rozmanitost rodu *Streptococcus*.



Graf 4 Rozmanitost rodu *Streptococcus* Zdroj: LIS ÚM FN Plzeň

Zajímavé na mé praktické části byla vysoká rozmanitost rodu *Streptococcus*. Streptokoky vyšly v počtu 19 z toho 8 druhů.

Pokud je rozdělíme podle toho jak hemolyzují na krevním agaru na:

alfa-hemolytické (neboli viridující) –tato skupina obsahuje *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus vestibularis* a *Streptococcus pneumoniae* (tzv. pneumokok)

beta-hemolytické na krevním agaru způsobuje typickou beta hemolýzu (úplné rozrušení membrán erytrocytů, projasnění půdy kolem kolonií).V této skupině se nacházejí: *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*.

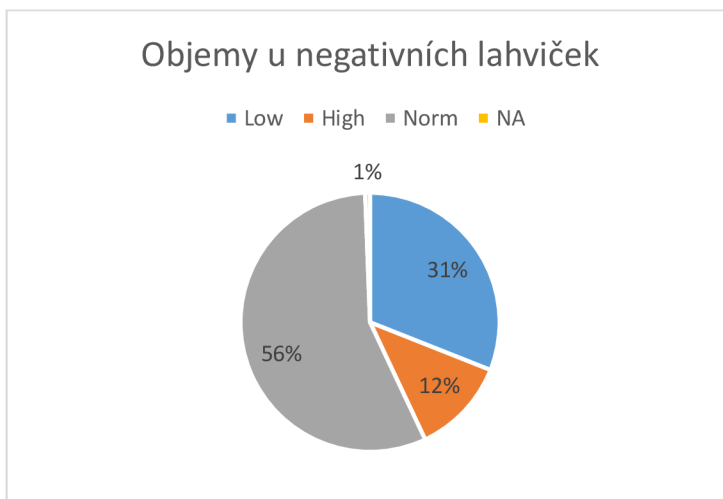
gama-hemolytické – krevní agar je beze změn *Streptococcus gallolyticus* (označován jako *S.bovis*), nachází se v trávicím traktu skotu. Zástupci této skupiny bývají často

spojování s rakovinou tlustého střeva a konečníku, subakutními endokarditidami a izolování byli také u pacientů s meningitidou

Další sledovanou hodnotou byl objem v lahvičkách. Ve FN Plzeň je doporučený objem v lahvičkách od 8ml do 12ml. V grafu číslo 5 je znázorněno, kolik procent lahviček z negativních 6354 bylo nad hranicí (H= high) doporučeného objemu, kolik jich bylo v normě a kolik jich bylo pod hranicí (L= low) doporučení.

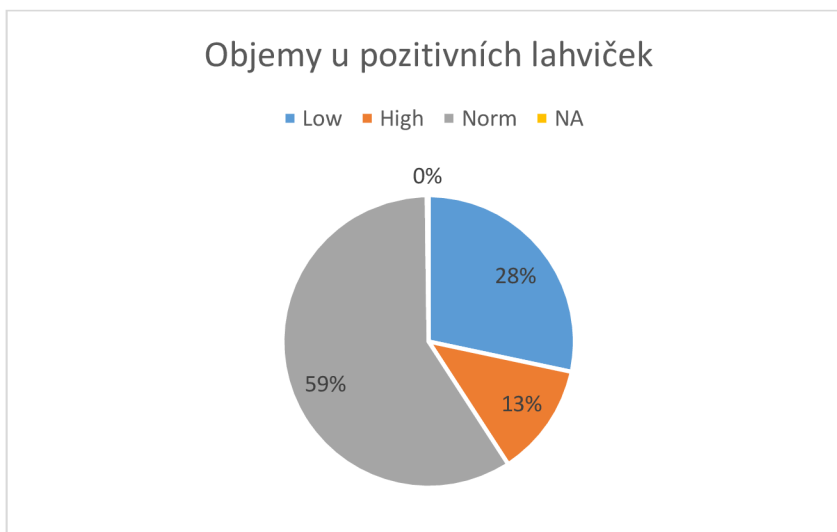
Hodnota NA je hodnota, která se nedala detekovat. To se stalo velice výjimečně, kdy přístroj nepřčetl daný objem. Nejčastěji k tomu docházelo z důvodu špatně nalepeného štítku, a to v místě detekce objemu.

Pátý graf znázorňuje objemy u negativních lahviček v procentuálním zastoupení.



Graf 5 Objemy u negativních lahviček Zdroj: LIS ÚM FN Plzeň

V šestém grafu je znázornění objemů u pozitivních lahviček vyjádřeno v procentech.



Celkový počet lahviček v období květen–červenec 2021 byl 7581. Z toho 719 pozitivních a 6861 negativních. Ze 719 pozitivních lahviček bylo 100 s vyšším objemem, než je doporučení a 299 lahviček pod doporučenou mezí objemu. U negativních to bylo 812 s vyšším objemem a 1971 lahviček s nižším než doporučeným objemem.

Nízký objem může způsobit falešnou hodnotu a nemusíme zachytit patogena. Naopak vyšší objem, může falešně hlásit výskyt vyššího výskytu CO₂ z důvodu přeplněné lahvičky – např. při rozpadu leukocytů (rozpad způsobí zvýšení CO₂ bez přítomnosti patogena). A proto je důležité dodržovat doporučený objem v lahvičkách, aby nedošlo k tomu, že nebudeme mít dostatečný celkový objem krve a díky tomu nebude zachycen původce IKŘ. A to je zároveň odpověď na druhou výzkumnou otázku.

Odběr více hemokultur je důležitý k zajištění dostatečného objemu krve a tedy zachycení patogena. Pokud by bylo v nějaké lahvičce méně krve patogen by se nemusel detekovat, ale pokud budeme mít více lahviček případného patogena lze detekovat. A to je odpověď na první otázku, proč je důležité odebírat více lahviček u jednoho pacienta.

6 Diskuse

Téma této bakalářské práce je zaměřeno na původce septických onemocnění z pohledu klinické mikrobiologie. Důležitou součástí mé bakalářské práce je zpracování hemokultur a diagnostika mikroorganismů. Teoretická část je zaměřena na pojmy spojené se sepsí a septickým šokem, rizikovými faktory, hemokultury, původce onemocnění. V praktické části jsem zjistila, jak probíhá zpracování hemokultur, fungování přístroje BACT/ALERT Virtuo, při pozitivitě další zpracování hemokultur, interpretace výsledků a nejčastěji izolovaná agens. Vše jsem zaznamenala do přehledných grafů v rámci přehledného vyhodnocení výsledků. Do své praktické části jsem použila výsledky z Fakultní nemocnice v Plzni v období květen až červenec 2021.

Drozenová a Petráš ve svém článku v odborném časopise *Epidemiologie, mikrobiologie a imunologie* (z roku 2000, číslo 2) uvedli, že při diagnostice bakterií koaguláza-negativních stafylokoků v jejich sledovaném souboru bylo největší množství bakterií zastoupeno v pořadí *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis* a *Staphylococcus haemolyticus*. V mé praktické části se shodujeme na tom, že nejvíce byl zastoupen *Staphylococcus epidermidis* ze skupiny koaguláza-negativních stafylokoků, tyto kmeny jsou podmíněně patogenní způsobující onemocnění u slabších osob a vyvolávají nejčastěji infekce krevního řečiště či katérové sepse. U ostatních pacientů se jednalo spíše o kontaminaci při odběru krve. U pozitivních hemokultur ev. jiného koaguláza negativního stafylokoka, ve kterých se prokázala přítomnost *Staphylococcus epidermidis* se přihlédlo ke klinickému stavu pacienta, stanovené diagnóze (zpravidla průkaz jiného agens), počtu pozitivních lahvíček, konzultaci s ošetřujícím lékařem. Část pozitivních lahvíček byl vyřazena jako kontaminované. Hemokultury, kde byl izolován *Staphylococcus epidermidis* ev. jiný koaguláza negativní stafylokok a nebyl hodnocen jako kontaminanta (převážně se jednalo o katérové infekce), byly jako skupina STCN, druhýmnejčastějším nálezem po vedoucím patogenu *E.coli*.

Profesor Milan Kolář z Ústavu mikrobiologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci ve svém článku **Sepse z pohledu klinické mikrobiologie** píše: „*Konkrétní patogen velmi často souvisí se základní bakteriální infekcí, pokud je přítomna. K častým zdrojům patří nozokomiální infekce, především pneumonie, intraabdominální infekce a uroinfekce. Sepse však může vycházet i z komunitních infekcí, například pneumonií, infekcí gastrointestinálního traktu a měkkých tkání. K nejčastějším bakteriálním*

původcům sepsí patří enterobakterie především Escherichia coli...“. S profesorem Kolářem se shodujeme, že nejčastějším patogenem infekcí krevního řečiště je právě *Escherichia coli*.

Nález nejčastějších původců se potvrdily jako správné v porovnání s odbornými články výše uvedenými.

Některé výsledky praktické části práce se mohou lišit od literatury vzhledem k sezónnosti patogenů. Data praktické části jsou z období květen až červenec 2021, kdy bylo složení patogenů ovlivněno výskytem COVID-19 s karanténními opatřeními a také sezónním výskytem jiných druhů onemocnění. V zimním období je například významně vyšší výskyt *Streptococcus pneumoniae* a jiných původců způsobujících respirační onemocnění.

Novinkou v oblasti hemokultur je strategie jejího odběru. Dříve se čekalo na vzestup tělesné teploty pacienta a až poté se odebírala krev na hemokultivaci. Novinkou tedy je že se již nečeká na vzestup tělesné teploty a k odběru krve na hemokultivaci se přistupuje při podezření na infekci krevního řečiště.

Další novinkou v oblasti vyšetřování hemokultur je strategie jejího odběru, která se nazývá „SINGLE SAMPLE STRATEGY“. Znamená to, že se pacientovi se ve stejný odebere více sad hemokultur najednou, např. 3 sady (tj. 6 lahvíček – 3 anaerobní a 3 aerobní).

Tyto novinky jsem se dozvěděla FN Plzeň na Ústavu mikrobiologie při zpracování mé praktické části. O těchto novinkách a jiných dalších, přednáší ve svém webinaru MUDr. Bergerová z roku 2020.

7 ZÁVĚR

Septické stavy jsou jedny z nejzávažnějších onemocnění, se kterými se můžeme setkat. S problematikou sepse a septických stavů se potýkají lékaři i pacienti po celém světě. Cílem této bakalářské práce bylo seznámení se infekcemi krevního řečiště, sepsí jako takovou a příbuznými pojmy. Ale hlavně s hemokultivací a prací s přístrojem BACT/ALERT Virtuo. Dalším cílem bylo zpracování vzorků hemokultur, diagnostika patogenů z pozitivních hemokultivačních lahvíček a zpracování zjištěných informací do grafů. Šetření jsem prováděla v mikrobiologické laboratoři ve Fakultní nemocnici Plzeň. Hemokultivace patří mezi nejdůležitější diagnostické postupy v mikrobiologii ke zjištění přítomnosti patogenů v krvi. Důležitá je spolupráce mezi klinickým lékařem a mikrobiologem. Díky této spolupráci a včasnou diagnostikou se může například včasné odhalení patogena, urychlení, výběr antibiotické léčby a zlepšit stav pacienta. Pacient v život ohrožujícím stavu tak má větší šanci na zotavení.

Prvním cílem bylo osvojení si poznatků v diagnostice infekcí krevního řečiště pomocí hemokultivace. To se mi podařilo splnit díky vypracování teoretické části, čtením odborné literatury a spolupráci s kolegyněmi, které mi ochotně pomáhaly se sběrem dat a prací s přístrojem BACT/ALERT Virtuo. A tyto poznatky jsem propojila při vypracování praktické části, kdy jsem získávala data a osvojovala si práci s hemokultivačním přístrojem BACT/ALERT Virtuo.

Druhým cílem bylo získání dat o výsledcích hemokultivace, nejčastěji izolovaná agens. Druhý cíl se mi podařilo splnit díky získání dat při práci s hemokultivačním přístrojem. A následnému zanesení hodnot do grafů.

Třetím cílem bylo zhodnocení významu počtu odebraných hemokultur (lahviček) pro diagnostiku infekce krevního řečiště. Počet lahvíček k odběru jsou podle doporučení minimálně dvě na jednu sadu tedy čtyři lahvičky na jednoho pacienta, pokud odebíráme aerobní a anaerobní hemokultury podle doporučení, pediatrické pouze jedna lahvička. Dvě lahvičky (jedna sada) nejsou dostatečné z důvodu nedostatečného zajištění potřebného množství (objemu) krve pro detekci agens.

Hemokultivace má svoji nezastupitelnou roli v identifikaci patogenů při infekci krevního řečiště. Stále je tzv. zlatým standardem i přes nástup nových metod detekce patogenů. Dnešní hemokultivační diagnostika probíhá výhradně za pomoci

automatických analyzátorů, založených na detekci CO₂ fluorescenčním nebo kolorimetrickým systémem.

Závěrem chci podotknout, že správně odebraná hemokultura je klíčem k úspěchu diagnostiky infekcí krevního řečiště. To znamená správný odběr ve smyslu dodržení doporučení objemu odebrané krve před nasazením antibiotik, počet lahviček. Významným faktorem je dodržení správné metodiky odběru na oddělení, jako je důkladná dezinfekce místa odběru která zamezí kontaminaci vzorku. V neposlední řadě je co nejrychlejší transport a včasné vložení hemokultivačních lahviček do analyzátoru. Za optimálních podmínek by měl být analyzátor k dispozici v režimu 24/7.

8 Seznam použité literatury

1. BEDNÁŘ, M. *Lékařská mikrobiologie: Bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha: Triton, 1996, (194.s), (204-210.s), (219.s). ISBN 978-80-2380-297-9.
2. BENEŠ, Jiří. *Infekční lékařství*. Praha: Galén, 2009, (196-197s),(219s),(266-267s),(310-317s),(352s). ISBN 978-80-7262-644-1.
3. CAREY, Roberta B. *Lékařská mikrobiologie v klinických případech*. Praha: Triton, 2011, (96s),(321s),. ISBN 9788073874803.
4. ČERMÁK, Pavel a kol. *Mikrobiologická diagnostika Infekcí krevního řečiště*. Praha: Maxdorf, 2008. (9-11s),(64-65s), (94-123s). ISBN 978-80-7345-142-4.
5. FEDORA, Michal a kol. *Sepse*. Praha: Maxdorf, 2015. ISBN 978-80-7345-448-7.
6. GOERING, Richard a et al. *Mimsova lékařská mikrobiologie. 5*. Praha: Triton, 2016. (64-65s),(244s) (523-531s). ISBN 978-80-7387-928-0.
7. GREENWOOD, David. *Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogenese, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie*. Praha: Grada, 1999. (199 s). ISBN 80-7169-365-0.
8. HORÁČEK, Jiří. *Základy lékařské mikrobiologie*. Praha: Karolinum, 2000. ISBN 80-246-0006-4.
9. HURYCH, Jakub a kol. *Lékařská mikrobiologie: Repetitorium. 3*. Praha: Triton, 2021. (77s), (85-89s),(95s),(113s), (134s). ISBN 978-80-7553-976-2.
10. JULÁK, Jaroslav. *Úvod do lékařské bakteriologie*. Praha: Karolinum, 2006, (185s),(199s),(295-296s). ISBN 8024612704.
11. LAMMY, B a et al. How to Optimize the Use of Blood Cultures for the Diagnosis of Bloodstream Infections?: A State-of-the Art. *Frontiers: Frontiers in Microbiology* [online]. 2016 [cit. 2022-10-26]. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2016.00697
12. LIN, Pei-Chin. Evisiting factors associated with blood culture positivity: Critical factors after the introduction of automated continuous monitoring blood culture systems. *Medicine* [online]. 2022, 2022, 1-6 [cit. 2022-10-26]. Dostupné z: doi:10.1097/MD.00000000000029693

13. OPOTA, O. *Blood culture-based diagnosis of bacteraemia: state of the art: Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* [online]. 2015 [cit. 2023-03-24]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25753137/>
14. PERES BOTA, Daliana a et al. The Multiple Organ Dysfunction Score (MODS) versus the Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score in outcome prediction. *Intensive care medicine* [online]. 2002, **2002**(28) [cit. 2022-10-26]. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-002-1491-3
15. SCHARFEN, Josef. *Diferenciální diagnostika v klinické mikrobiologii*. Hradec Králové: Nucleus, 2013, (98s). ISBN 9788087009321.
16. SMITH, Juanita. *BLOOD CULTURES: CLINICAL ASPECTS AND CONTROVERSIES* [online]. In: . july 2022, s. 1-2 [cit. 2023-02-26]. Dostupné z: <https://cerbalancetafrica.ke/media/x2ohredw/plk-blood-cultures.pdf>
17. SOUČEK, Ondřej. *Mikrociny čeledi Enterobacteriaceae: typy, syntéza, regulace, export a letální účinek*. Brno, 2010. Bakalářská práce. Masarykova univerzita. Vedoucí práce Prof. MUDr. David Šmajš, Ph.D.
18. ŠAFRÁNKOVÁ, Renáta. *Využití MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie i dalších metod při identifikaci mikroorganismů*. Hradec Králové, 2021. Doktorská disertační práce. Univerzita Karlova.
19. TESÁK, M. Infekční endokarditida. *Infekční endokarditida* [online]. Brno, 2017 [cit. 2022-12-04]. Dostupné z: <https://www.kardiologickarevue.cz/casopisy/kardiologicka-revue/2017-3/infekcni-endokarditida-61762>
20. VESELÝ, Jaroslav. Patofyziologická a klinická charakteristika SIRS a MODS. *Patofyziologická a klinická charakteristika SIRS a MODS* [online]. Olomouc, 2012, 2012 [cit. 2022-12-04]. Dostupné z: <http://pfyziolklin.upol.cz/?p=2367>
21. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. Brno: Neptum, 2001. ISBN 80-902896-2-2. Dostupné také z: (29-37s), (113s), (239s), (257s),(277-281s),(283-290s),(337-338s),(495s)
22. KOLÁŘ, Milan. Sepse z pohledu klinické mikrobiologie. *Klinická farmakologie a farmacie* [online]. 2016, 2016, **30**(3), 29-32 [cit. 2023-03-25]. Dostupné z: doi:DOI: 10.36290/far.2016.027

23. Bacteremia, Sepsis, and Infective Endocarditis Associated with *Staphylococcus aureus*. *National Library of Medicine* [online]. USA, 2015 [cit. 2022-10-26]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26659121/>
24. *Hmotnostní spektrometrie MALDI TOF* [online]. 2021 [cit. 2022-12-06]. Dostupné z: <https://lcms.cz/article/1211>
25. *BACT/ALERT® VIRTUO©* [online]. [cit. 2022-12-05]. Dostupné z: <https://www.biomerieux.cz/produkty/bactalertr-virtuoc>
26. *BACT/ALERT® kultivační média* [online]. [cit. 2022-12-05]. Dostupné z: <https://www.biomerieux.cz/produkty/bactalertr-kultivacni-media>
27. *How the Bacterial Pathogen *Listeria monocytogenes* Mediates the Switch from Environmental Dr. Jekyll to Pathogenic Mr. Hyde* [online]. 2006 [cit. 2022-12-05]. Dostupné z: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/IAI.74.5.2505-2512.2006>
28. *Nová strategie v odběru hemokultur* [online]. Plzeň, 2020 [cit. 2022-12-05]. Dostupné z: <https://postudium.cz/mod/book/view.php?id=5779&chapterid=2490&lang=cs>
29. *LABORATORNÍ PŘÍRUČKA – MIKRO* [online]. Plzeň: Fakultní nemocnice Plzeň, 2022 [cit. 2022-12-04]. Dostupné z: https://www.fnplzen.cz/sites/default/files/dokumenty/lp/sme_8_006.pdf
30. *Medical Microbiology: Streptococcus* [online]. Texas: University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996 [cit. 2022-12-04]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7611/>
31. *Molekulární charakterizace rezistence a virulence epidemických klonů *Klebsiella pneumoniae* pomocí sekvenování nové generace*. Brno, 2021. Diplomová práce. Masarykova univerzita. Vedoucí práce doc. Mgr. Martina Lengerová, Ph.D.
32. Characterization and genomic analyses of two newly isolated Morganella phages define distant members among Tevenvirinae and Autographivirinae subfamilies. *Nature* [online]. 2017 [cit. 2022-12-04]. Dostupné z: <https://www.nature.com/articles/srep46157>
33. *Pseudomonas aeruginosa in Healthcare Settings*. <https://www.cdc.gov> [online]. USA, 2019 [cit. 2022-12-04]. Dostupné z: <https://www.cdc.gov/hai/organisms/pseudomonas.html>

34. Multiple organ dysfunction syndrome (MODS) prediction score in multi-trauma patients. *Multiple organ dysfunction syndrome (MODS) prediction score in multi-trauma patients* [online]. 2017 [cit. 2022-12-04]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405857217300219>
35. Infekční endokarditida. *www.ikem.cz* [online]. Praha [cit. 2022-12-04]. Dostupné z: <https://www.ikem.cz/cs/infekcni-endokarditida/a-433/>
36. How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs in Context* [online]. 2018, (7), 1-18 [cit. 2022-10-26]. ISSN 17404398. Dostupné z: doi:10.7573/dic.212527
37. Patofyziologická a klinická charakteristika SIRS a MODS. *Http://pfyziolklin.upol.cz* [online]. Olomouc, 2012 [cit. 2022-10-26]. Dostupné z: <http://pfyziolklin.upol.cz/?p=2367>
38. *Biomérieux* [online]. Praha, 2022 [cit. 2022-10-26]. Dostupné z: <https://www.biomerieux.cz/produkty/bactalertr-kultivacni-media>
39. Mikrobiologická diagnostika infekční endokarditidy. *Zdraví.euro.cz* [online]. Praha, 2010 [cit. 2022-10-26]. Dostupné z: <https://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina-priloha/mikrobiologicka-diagnostika-infekcni-endokarditidy-451357>
40. *The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus* [online]. University of Northampton, 2009 [cit. 2022-10-26]. Dostupné z: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.026385-0>
41. *Candidiasis* [online]. USA, 2022 [cit. 2023-03-24]. Dostupné z: <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/candidiasis/index.html>
42. Superkvasinka *Candida auris* - co to je - příznaky a léčba | Rehabilitace.info. Zdravotní magazín a katalog rehabilitací | Rehabilitace.info [online]. [cit. 19.04.2023]. Dostupné z: <https://www.rehabilitace.info/nemoci/superkvasinka-candida-auris-co-to-je-priznaky-a-lecba/>

Seznam obrázků

Obrázek 1Kultivační media	28
Obrázek 2BactAlert/Virtuo Zdroj: www.biomerieux.cz	30
Obrázek 3Gramovo barvení.....	32
Obrázek 4Pozitivní plazmakoagulázový test.....	33
Obrázek 5 CAMP test.....	34
Obrázek 6Optochininový test	34
Obrázek 7MALDI TOF schéma Zdroj: www.researchgate.net	36

Seznam grafů

Graf 1 Poměr mezi P/N Zdroj: LIS ÚM FN Plzeň	43
Graf 2 Procentuální vyjádření patogenů Zdroj: LIS ÚM FN Plzeň.....	43
Graf 3 Rozmanitost rodu Staphylococcus Zdroj: LIS ÚM FN Plzeň	44
Graf 4 Rozmanitost rodu Streptococcus Zdroj: LIS ÚM FN Plzeň.....	45
Graf 5 Objemy u negativních lahviček Zdroj: LIS ÚM FN Plzeň.....	46
Graf 6 Objemy u pozitivních lahviček Zdroj: LIS ÚM FN Plzeň	47

Seznam zkratek

ATB	ATB – antibiotika
BUMU	BUMU – <i>Burkholderia multivorans</i>
CAGL	CAGL– <i>Candida Glabrata</i>
CFU	CFU – koloniformní jednotky na litr – Colony Forming Unit
CŽK	CŽK– centrální žilní katetr
EKFA	EKFA– <i>Enterococcus faecalis</i>
EKFC	EKFC– <i>Enterococcus faecium</i>
EKSP	EKSP– <i>Enterococcus species</i>
ENCL	ENCL– <i>Enterobacter cloacae</i>
ERCP	ERCP– Endoskopická retrográdní cholangiopankreatikografie
ESCO	ESCO– <i>Escherichia coli</i>
FN	FN– fakultní nemocnice
GIT	GIT– gastrointestinální trakt
HCAI	HCAI – healthcare associated infections/ nemoci spojené se zdravotní péčí
IČO	IČO– Identifikační číslo osoby
IČP	IČP– identifikační číslo pracoviště
IKŘ	IKŘ– infekce krevního řečiště
KNS	KNS– koaguláza negativní Stafylokoky
KLPN	KLPN– <i>Klebsiella pneumoniae</i>
KLVA	KLVA– <i>Klebsiella varida</i>
LIS	LIS– laboratorní informační systém
MGMO	MGMO– <i>Morganella morganii</i>
MODS	MODS– multiple organ dysfunction syndrome
MRSA	MRSA– methycylin rezistení <i>Staphylococcus aureus</i>
PPAC	PPAC – <i>Propinebacterium acnes</i>
PAMU	PAMU– <i>Pasteurella multocida</i>

PSAE	PSAE– <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PRMI	PRMI– <i>Proteus mirabilis</i>
PRVU	PRVU– <i>Proteus vulgaris</i>
SAEN	SAEN– <i>Salmonella enteritidis</i>
SEMA	SEMA– <i>Serratia marcescens</i>
SIRS	SIRS– systemic inflammatory response syndrome
SPS	SPS– Sodium Polyanethol Sulphonate
SPAG	SPAG– <i>Streptococcus agalactiae</i>
SPPY	SPPY– <i>Streptococcus pyogenes</i>
SOFA skóre	SOFA skóre – skóre hodnocení sekvenčního selhání orgánů
STAU	STAU– <i>Staphylococcus aureus</i>
STCA	STCA– <i>Staphylococcus capitis</i>
STCN	STCN – <i>Staphylococcus coagulase negativně</i> Koaguláza negativní Stafylokoky (KNS)
STCO	STCO – <i>Streptococcus constellatus</i>
STHA	STHA– <i>Staphylococcus haemolyticus</i>
STEP	STEP– <i>Staphylococcus epidermidis</i>
STHO	STHO– <i>Staphylococcus hominis</i>
STLU	STLU – <i>Staphylococcus lugdunensis</i>
STSU	STSU– <i>Staphylococcus scuri</i>
STWA	STWA – <i>Staphylococcus warneri</i>