

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Katedra biologických a biochemických věd

Mikrobiální osídlení rány

Veronika Houfová

Bakalářská práce

2016

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2013/2014

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Veronika Houřová**
Osobní číslo: **C110013**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**
Název tématu: **Mikrobiální osídlení rány**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Rešerše o vzniku ran, jejich rozdělení a medicínský význam.
2. Rešerše o mikrobiálních agens osidlujících rány.
3. Rešerše o uplatnění mikrobiálního biofilmu v patogenezi chronických a nehojících se ran.
4. Retrospektivní studie mikrobiálních agens zachycených v materiálu z ran na Oddělení klinické mikrobiologie PKN,a.s. za posledních 5 let.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **MUDr. Karel Mencl, CSc.**
Katedra ošetřovatelství

Datum zadání bakalářské práce: **13. prosince 2013**

Termín odevzdání bakalářské práce: **18. července 2014**

h.z.



prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.
děkan

L.S.



doc. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 25. února 2014

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární parametry a informace, které jsme v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mě požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 28. 6. 2016

Veronika Houfová

Poděkování

Mé poděkování patří panu MUDr. Karlu Menclovi, CSc. za jeho trpělivost, ochotu a čas, který mi věnoval, jako vedoucí bakalářské práce. Velké díky mu patří jak za jeho cenné rady, odborné vedení a připomínky, které mi předával, tak za poskytnuté materiály, které jsem mohla využít při sepisování této práce.

Děkuji

Anotace

Práce se zabývá vznikem ran a jejich mikrobiálním osídlením. Dále řeší uplatnění mikrobiálního biofilmu v patogenezi chronických a nehojících se ran. Praktická část popisuje retrospektivní studii mikrobiálních agens zachycených z ran na Oddělení klinické mikrobiologie PKN, a.s. za posledních 5 let.

Klíčová slova

kůže, mikrobiální agens, rány, biofilmy

Title

Microbial flora in the wounds

Annotation

This thesis is aimed at the formativ of wounds and their microbial flora. Also this thesis sloves application of microbial biofilms in the pathogenesis of chronic and non-healingwounds. The practical part describes a retrospective study of microbial agents captured from wounds by the Department of Clinical Microbiology PKN , Inc. for the last 5 years.

Keywords

skin, microbial agent, wounds, biofilms

Souhrn

Předložená bakalářská práce se zabývá problematikou mikrobiálního osídlení rány. Literární přehled vzniku, charakteru a komplikací kožních ran a defektů je zde doplněn o retrospektivní studii na základě archivních záznamů laboratorního vyšetření Oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Pardubice za roky 2013 až 2015. Z tohoto období byli do studie

zahrnutí celkem 2804 pacienti rozdělení do dvou skupin (podle charakteru rány) s celkovým počtem vyšetření 22102 vzorků.

U chronických ran (bércové vředy, diabetická noha, proleženiny) převládaly výrazně nálezy *Pseudomonas aeruginosa* (10,62%), což představuje více než pětinasobek oproti ranám chirurgickým (2,01%). Také Methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA) byl více než 3x častěji pozorován ve vzorcích z chronických ran. Určitým překvapením bylo zjištění menšího zastoupení anaerobních mikroorganismů v chronických ranách (5,88%) oproti ranám chirurgickým (15,13%).

Summary

The bachelor thesis deals with the microbial colonization of the wound. Literary knowledge of the origin, character and complications of skin wounds and defects is complemented by a retrospective study based on archival records of laboratory screening at the Department of Clinical Microbiology in Pardubice Hospital from 2013 to 2015. The study included 2 804 patients who were divided into two groups (according to character of the wound). Total number of screening was 22 102 samples.

In chronic wounds (ulcers, diabetic foot, pressure sores) was prevail *Pseudomonas aeruginosa* (10.62 %), which is more than five times compared to surgical wounds (2.01 %). Also, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) was more than three times more frequently in samples from chronic wounds. The certain surprise was the smaller representation anaerobic organisms in chronic wounds (5.88 %) compared to surgical wounds (15.13 %).

Obsah

1	ÚVOD	1
2	KŮŽE	2
2.1	STAVBA KŮŽE.....	2
2.2	FUNKCE KŮŽE.....	3
3	RÁNY	4
3.1	DEFINICE KOŽNÍ RÁNY	4
3.2	KLASIFIKACE RAN	4
4	MIKROBIÁLNÍ AGENS	9
4.1	FYZIOLOGICKÁ MIKROFLÓRA	9
4.2	PATOGENNÍ MIKROORGANISMY	11
4.2.1	Rod Staphylococcus	13
4.2.2	Rod Streptococcus.....	13
4.2.3	Čeleď Enterobacteriaceae	14
4.2.4	Rod Pseudomonas	14
4.3	ULCERACE.....	15
4.3.1	Ulcus cruris venosum.....	15
4.3.2	Ulcus cruris arteriosum	16
4.3.2.1	Syndrom diabetické nohy.....	17
4.3.3	Dekubity	19
4.3.4	Ostatní ulcerace.....	23
4.4	HOJENÍ RAN.....	23
4.4.1	Léčba pomocí komprese	24
4.4.2	Léčba vředů pomocí larev.....	25
4.4.3	Pythium oligandrum.....	25
5	BAKTERIÁLNÍ BIOFILM	27
6	MATERIÁL A METODIKA	28

7	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	35
8	ZÁVĚR.....	37
9	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	38

Seznam obrázků

Obrázek 1 Stavba kůže [49].....	3
Obrázek 2 Macerace kůže [37]	6
Obrázek 3 Akutní rána [26]	7
Obrázek 4 Chronická rána [57].....	8
Obrázek 10 Ulcus cruris venosum před léčbou [50].....	15
Obrázek 11 Ulcus cruris venosum: léčba 4 týdny [50].....	16
Obrázek 12 Ulcus cruris arteriosum[38].....	17
Obrázek 13 Diabetická noha[27]	18
Obrázek 14 Dekubitus 1. Stupně [51].....	21
Obrázek 15 Dekubitus 2. Stupně [51].....	21
Obrázek 16 Dekubitus 3. stupně[51]	22
Obrázek 17 Dekubitus 4. stupně [39]	22

Seznam tabulek

Tabulka 1 Rozdělení rány dle příčiny	4
Tabulka 2 Rezidentní flóra [1]	10
Tabulka 3 Rozdělení mikroorganismů dle potřeby kyslíku.....	11
Tabulka 4 Patogenní mikroorganismy	12
Tabulka 5 Stupnice dle Fontaina.....	17
Tabulka 6 Rozdělení dle typu vředu	18
Tabulka 7 Klasifikace diabetické nohy.....	19
Tabulka 8 Sterlingova stupnice.....	20
Tabulka 9 Počty pacientů a vyšetření ve skupinách podle sledovaného období	29
Tabulka 10 Porovnání rozptylu počtu vyšetření u jednotlivých pacientů.....	29

Tabulka 11 Porovnání mikrobiálního osídlení dle typu rány (v absolutních číslech) 30

Tabulka 12 Porovnání mikrobiálního osídlení dle typu rány v % pozitivních nálezů..... 30

1 Úvod

Učebnice i slovníky popisují ránu jako porušení kožního krytu těla, které vzniklo jako následek poškození tkáně mechanickým, fyzikálním nebo termickým způsobem. V podstatě se jedná o poškození anatomické struktury kůže, které s sebou přináší zhoršení nebo ztrátu jejích fyziologických funkcí. Pokud se jedná o rány, které vznikly v aseptickém prostředí, tedy v podstatě rány chirurgické, nemělo by se v těchto případech jednat o rány, které komplikuje mikrobiální osídlení. Bohužel, velmi často je tomu právě naopak. A trofické, chronické, nehojící se rány, které vznikly na základě působení vnitřních příčin, se téměř automaticky spojují s bohatým mikrobiálním osídlením, což také nemusí být absolutní pravda.

Složitost uvedené problematiky nás vedla k tomu, abychom se na ni zaměřili v širších souvislostech a na souboru pacientů posoudili stav mikrobiálního osídlení, které ve svém důsledku, téměř vždy, zhoršuje kvalitu života postižené osoby a prodlužuje hojení rány.

2 Kůže

Kůže je největší orgán lidského těla. Slouží jako elastický a pevný kryt, zabraňuje průniku mikroorganismů a chrání tkáň před nadměrnými ztrátami tekutin. [40] Její tloušťka se liší v závislosti na umístění; nejtenčí vrstva, přibližně 0,4 milimetrů, se nachází na očních víčkách, nejtlustší vrstva, 4 milimetry, pak na chodidlech a dlaních. Povrch činí asi 1,5 – 2 m² a tvoří 5 – 9 % tělesné hmotnosti. [30]

2.1 Stavba kůže

Kůže se skládá ze tří základních částí:

I. Pokožka (*epidermis*)

Pokožka je zevní vrstva kůže bez cév a je tvořena vrstevnatým dlaždicovým epitelem. Nejsvrchnější vrstvou pokožky je zrohovatělá vrstva, která se skládá z mrtvých buněk vyplněných keratinem. Tyto buňky se postupně z povrchu kůže odlupují a jsou nahrazovány buňkami vznikajícími stálým dělením v zárodečné vrstvě pokožky. Tím dochází k plynulé obměně pokožky[40] Za celý lidský život se z kůže oloupe přibližně 20 kilogramů mrtvých buněk[30]

Pokožka dále obsahuje kožní pigment melanin, který chrání před ultrafialovým zářením[20]

II. Škára (*corium*)

Střední vrstva tvořená tuhým kolagenním vazivem. Tato vrstva rozhoduje o pružnosti, pevnosti a mechanické odolnosti kůže.

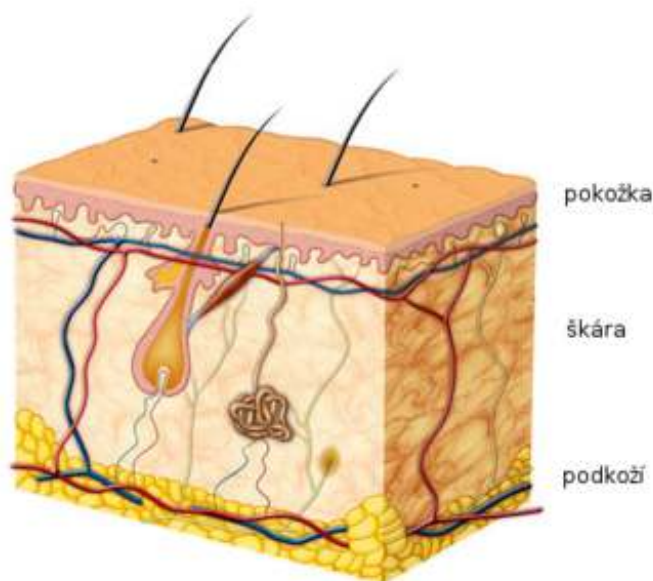
Škára je bohatě zásobena kožními kapilárami a nervovými vlákny[20] . Nacházejí se zde mazové žlázy, které vylučují maz chránící pokožku před vyschnutím, a žlázy potní s hlavní funkcí ochlazování organismu a vylučování některých minerálů, případně jiného „chemického“ odpadu[30] . V této vrstvě jsou uložena i speciální tělíska, která vnímají teplo, chlad, hmat, vlhkost či bolest[40]

III. Podkožní vazivo (*tela subcutanea*)

Podkoží je nejhlubší vrstva kůže. Je tvořena řídkým vazivem a tukem. Řídké vazivo umožňuje značnou pohyblivost kůže, například na krku a na čele[30] . V tukové tkáni si organismus uchovává přebytek energie. Počet tukových buněk je stále stejný, tukové buňky však mají schopnost výrazně měnit svůj objem.[20]

Podkožní vazivo obsahuje Vater – Paciniho tělíska, což jsou receptory tlaku a tahu.[52]

Obrázek 1 Stavba kůže [49]



2.2 Funkce kůže

Nejdůležitější funkcí kůže je ochrana před zevním prostředím a také tvoří první linii obrany proti mikroorganismům. Další důležitou funkcí kůže je vnímání, kdy se v kůži nacházejí smyslové buňky, které informují o teplotě nebo poranění. Jako jednou z nejdůležitějších funkcí kůže vůbec se také označuje funkce termoregulační. To představuje, že jejím prostřednictvím probíhá výměna tepla mezi tělem organismu a okolím a pomocí podkožní tukové vrstvy společně vytváří termoizolační vrstvu. Podkožní tuk tvoří také zásobu energie a bílkoviny obsažené v kůži mohou také sloužit jako zdroj aminokyselin.[29] Mazové a potní žlázy vylučují vodu, soli, tuky, oxid uhličitý a dusíkaté látky. Maz a pot mají kyselou reakci, která omezuje růst mikroorganismů, a slouží jako slabá dezinfekční činidla. Kůže také resorbuje látky rozpustné v tucích. Pokud je kůže zdravá, resorpce je malá.[20]

3 Rány

3.1 Definice kožní rány

Rána (*vulnus*) je zde definována jako ztráta či porušení kožního krytu či sliznice.[31] Tento stav může být způsoben mechanicky či chemicky, což je rozvedeno v další části této práce.

3.2 Klasifikace ran

Každá rána lze klasifikovat dle mnoha kritérií, nejčastěji je popisována a rozdělována podle její etiologie, lokalizace, velikosti, zápachu, vzhledu, okolí, okraje a průběhu hojení. Tyto informace jsou významné jak pro vhodnou volbu léčby, tak pro sledování procesu hojení.[41]

I. Klasifikace dle etiologie

Rána je nejčastěji způsobená vnějšími nebo vnitřními činiteli.[41]

Podle vnějších příčin se dělí [17] :

Tabulka 1 Rozdělení rány dle příčiny

TYP RÁNY	PŘÍČINA
Rána sečná (<i>vulnus sectum</i>)	styk povrchu těla s ostrým předmětem
Rána řezná (<i>vulnus scissum</i>)	tlak nebo tah ostrého předmětu po kůži.
Rána tržná (<i>vulnus lacerum</i>),	tah, který způsobí popraskání kůže.
Rána střelná (<i>vulnus sclopetarium</i>),	průchod projektilu nebo střepiny do kůže
Rána způsobená kousnutím (<i>vulnus morsum</i>)	působení tlakové síly a následný otisk čelisti do kůže
Rána způsobená zhmožděním (<i>vulnus contusum</i>)	silné stlačení kůže mezi dvěma předměty
Rány způsobené popálením (<i>combustiones</i>)	vystavení kůže vysoké teplotě.
Omrzliny (<i>congelationes</i>),	vystavení kůže příliš nízkým teplotám
Rána z důsledku poleptání (<i>corosio</i>),	poleptání kůže kyselinou, či louhem
Rána způsobená ozářením	působení radioaktivního záření na kůži

Podle vnitřních příčin se dělí na [42] :

- Cévní vředy dolních končetin, mezi které patří bércové vředy, křečové žíly a žilní záněty.
- Neuropatické vředy, mezi které patří například diabetická noha.
- Proleženiny postihující pacienty, kteří jsou dlouhodobě upoutáni na lůžko nebo na vozík a mají omezenou schopnost vlastního pohybu.
- Rána při nádorových onemocněních, označována též jako „maligní“ rána, je způsobena narušením kapilár a lymfatických cév. Dochází k útlaku okolních tkání, který vede k omezení přísunu živin a vzniku nekrózy.
- Rána při infekčních chorobách je způsobena infekčním onemocněním přímým působením infekčních agens, jako je například syfilis nebo tuberkulóza.
- Rána při imunitních chorobách, mezi které patří například autoimunitní záněty cév.

II. Klasifikace dle lokalizace a rozsahu

Lokalizace rány je důležitá kvůli procesu jejího hojení. Čím větší rána, tím větší pravděpodobnost delšího hojení. Nejhůře se hojí rány v oblasti kostí, kde je tenká kůže a pak také u pacientů se sníženou nutriční [17]

- Povrchní rána, zasahuje do kůže a podkoží.
- Hluboká rána, zasahuje svaly, vazy, šlachy, cévy, žíly a nervy.
- Penetrující rána, proniká do tělních dutin
- Nepenetrující rána, neproniká do tělních dutin [15]

III. Klasifikace dle zápachu a vzhledu

Mezi nejčastější etiologická agens osidlující rány patří *Staphylococcus aureus*. Jeho přítomnost se pozná podle smetanově žlutého sekretu bez zápachu. Řídký, žlutošedý sekret bez zápachu ukazuje spíše na přítomnost streptokoka. *Pseudomonas aeruginosa* má nasládlý zápach a zbarvuje sekret dozelena. [17] Přítomnost *Escherichia coli* bývá charakteristická svým nahnědlým sekretem zapáchajícím po fekáliích. Za „normální“ sekreci bez přítomných mikrobů je pak považován čirý exsudát s nízkou viskozitou [5] .

IV. Klasifikace dle okolí a okrajů.

Negativní tendenci k hojení mají rány s vystouplými, neostrými a podminovanými okraji, a rovněž rány tržně – zhmožděné. Oproti tomu řezné rány s hladkými okraji se hojí většinou velmi dobře.

Okolí rány je nutné chránit, jelikož v případě zasažení zdravé tkáně sekretem dochází k podráždění. To se projevuje zčervenáním až macerací kůže a umožňuje ránu zvětšovat.[17]

Obrázek 2 Macerace kůže [37]



V. Klasifikace dle průběhu hojení

Při hodnocení stáří a průběhu hojení rozdělujeme rány na akutní a chronické.

Rána akutní vzniká náhle ve zdravé tkáni. Hojí se primárně a v krátkém čase, zpravidla do šesti týdnů bez komplikací. Akutní rána je způsobena vnějšími činiteli, které jsou podrobněji popsány v této kapitole,(viz Klasifikace dle etiologie)

Primární hojení akutní rány má několik fází. Nejprve dochází ke slepení okrajů krevní bílkovinou fibrinem, která vzniká při srážení krve. Na povrchu se vytvoří tenká ochranná krusta. Po pár hodinách se u okrajů rány začínají hromadit bílé a červené krvinky jako projev reparativního zánětu a tím urychlují hojení. Následně bazální vrstva epitelových buněk zahajuje intenzivní dělení a přesouvá se směrem jak k okrajům rány,tak i přes ni. Zhruba po třech dnech je povrch rány pod koagulem zcela pokryt jednolitou bazální vrstvou buněk.

Pokud je rána zcela reepitelizována, buňky imunitního systému, postupně odstraňují vzniklou sraženinu a její místo je nahrazeno novou tkání s kapilárami, fibroblasty a myofibroblasty. Po deseti až čtrnácti dnech, kdy jsou okraje už spojeny novotvořenou neuspořádanou vazivovou tkání, dochází k odstranění zbytku koagula. Úplný proces hojení je ovšem ukončen až za několik týdnů až měsíců. Během této doby dochází k remodelaci vazivové jizvy s vytvořením uspořádaných kolagenních vláken, které zajišťují adekvátní pevnost a elasticitu.[32]

Obrázek 3 Akutní rána [26]



Jako **chronická rána** se označuje sekundárně se hojící rána. Dochází k porušení reparativního procesu, což má za následek, že i při adekvátní terapii nedochází ke zlepšení po dobu šesti až devíti týdnů.[47] Nejčastěji je to zapříčiněno infekcemi či přidruženými onemocněními.[3]

Chronická rána negativně ovlivňuje život nemocného. Nejzávažnějším rizikem je vstup mikroorganismů do těla pacienta a riziko vzniku infekcí lokálních i systémových. Další, neméně důležité faktory, jsou zejména bolest, sekrece, nepříjemný zápach a nevzhledné vzezření postižené oblasti.[7]

Sekundární hojení při ideálním průběhu zahrnuje dvě fáze. V první fázi dochází k odstranění nekrotických tkání a až teprve ve druhé fázi nastává vlastní hojení.

Stejně jako u primárního hojení se defekt nejprve vyplní koagulem s fibrinem. Pod ním se rozvine akutní zánět z důvodu nečistot. Po několika dnech se koagulum a exsudát mění v krustu a ze spodiny rány se posouvá vrstva epitelů směrem k povrchu. Přibližně po jednom týdnu krusta odpadá, pokračuje stahování rány a proliferace povrchového epitelu, na spodině rány jsou již patrné první kousky zdravé růžové tkáně. Po třech týdnech je pak rána zalitá jednovrstevným epitelem.[32] Oproti primární ráně zůstává rána mírně propadlá z důvodu nedokonalého obnovení původní tkáně. V spodině tak zůstává mohutná vazivová jizva.[35]

Obrázek 4 Chronická rána [57]



4 Mikrobiální agens

Je třeba si uvědomit, že lidský jedinec je po narození osidlován mikroorganismy z vnějšího prostředí. Tyto organismy sídlí jak na povrchu lidského těla, tedy na pokožce, tak i uvnitř, například na sliznici střeva.[4] Každá rána, i tzv. aseptická, může být osídlena mikroby. Samotná přítomnost bakterií v ráně však nemusí ještě nutně znamenat infekci.[16]

4.1 Fyziologická mikroflóra

Dospělý člověk je osídlen průměrně $10^{11} - 10^{15}$ mikroorganismů, které jsou nazývány také jako fyziologická či normální mikroflóra, nevedou k onemocnění a umožňují řadu fyziologických procesů. Tyto mikroorganismy však mohou vyvolat postižení zdraví, pokud se v důsledku poranění dostanou do jiného orgánového systému, než v jakém se běžně vyskytují.[46] Mohou zároveň představovat nebezpečí pro lidi s poruchou imunity.[10]

Hlavní funkcí fyziologické mikroflóry je zabránění kolonizace lidského těla dalšími mikroorganismy, včetně patogenů.

Souhrn převažujících rezidentních příslušníků flóry je uveden v Tabulka 2

Tabulka 2 Rezidentní flóra [1] .

LOKALIZACE	REZIDENTNÍ FLÓRA
Kůže	<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus hominis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Propionibacterium acnes</i> <i>Candida sp.</i>
Nos	<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> Koryneformní bakterie
Dutina ústní + zubní plak	<i>Streptococcus mitis</i> <i>Streptococcus intermedius</i> <i>Streptococcus anguis</i> nesporulující anaeroby <i>Neisseria pharyngis</i> (nepatologická neisserie) <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i>
Tonsily a nasofarynx	ústní streptokoky nepatogenní neisserie nesporulující anaeroby
Uretra (distální část)	<i>Staphylococcus epidermidis</i> koryneformní bakterie
Tenké střevo	laktobacily streptokoky Enterobacterie
Sporulující a nesporulující anaeroby	<i>Clostridium sp.</i> Enterobacterie (<i>Escherichiacoli</i>) Enterokoky nesporulující anaeroby <i>Bacteroides sp.</i>

4.2 Patogenní mikroorganismy

Kolonizace organismu nastává při přílišném rozmnožení mikroorganismů, které vede k vyvolání imunitní odpovědi lidského těla. Při porušení imunitních bariér, ať už uměle (úraz, popáleniny, lékařské zákroky atd.), nebo v důsledku oslabení imunity, vzniká infekční proces.[10]

Mezi nejčastější patogenní mikroorganismy infikující rány se řadí bakterie, původci infekce ovšem mohou být i viry, plísňe a paraziti.[12]

Bakterie jsou prokaryotní organismy, mnohé z nich produkují toxiny a jejich velikost je přibližně 1 – 10 μm . Podle potřeby kyslíku ke svému životu je můžeme rozdělit na aerobní, anaerobní, fakultativně anaerobní a mikroaerofilní.[12]

Tabulka 3 Rozdělení mikroorganismů dle potřeby kyslíku

Aerobní	Pro svůj metabolismus potřebují kyslík
Anaerobní	Neschopné žít v přítomnosti kyslíku
Fakultativně anaerobní	Životaschopné v aerobním i anaerobním prostředí
Mikroaerofilní	Rostou při zvýšeném obsahu oxidu uhličitého

Ve chvíli, kdy bakterie proniknou hlouběji do rány, vlastní obranné mechanismy již nejsou schopny se s tímto osídlením zcela vypořádat. Dochází zde k jejich pomnožení, jejich toxiny poškozují tkáň a vyvolávají zánětlivou reakci.[12]

Diagnostika bakteriálních infekcí ve většině případů spočívá v přímé mikroskopii a kultivaci biologického materiálu. Obě metody se navzájem doplňují. Pro kultivaci se z ran používá jako nejčastější biologický materiál hnis a výtěry, které jsou odebírané nejlépe z hloubky a z okrajů rány, protože tam se soustředí největší koncentrace bakterií. Odebraný materiál se kultivuje na speciálně připravených půdách a izolované mikroorganismy jsou identifikovány a je pro ně stanoven antibiogram.[12]

Chronická rána je, ve srovnání s akutní, významněji ohrožena vznikem infekce vzhledem k obtížnějšímu procesu hojení[16] Infekci ran zvyšuje několik faktorů[12] :

- Porucha prokrvení oblasti rány.

- Nekrotická rána. Špatné prokrvení a spousta odumřelých částec tkání představuje ideální živnou půdu pro bakterie
- Sekret, který se hromadí v hlubokých ranách.
- Cizí tělesa v tkáni, která způsobují snížení lokální obranyschopnosti a také ischemii tkáně
- Špatně zvolená léčba. Ta může být způsobena nevhodně zvoleným obvazem s nedostatečnou savostí a propustností, nevhodná ATB, nevhodné antiseptické přípravky.

Souhrn hlavních patogenních příslušníků chronických ran je uveden v Tabulka 4 [16]

Tabulka 4 Patogenní mikroorganismy

ČELEĎ	ROD	DRUH
<i>Micrococcaceae</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) Plazmakoaguláza negativní stafylokoky
<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> Viridující streptokoky
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia</i> <i>Klebsiella</i> <i>Proteus</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Proteus vulgaris</i>
<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Různorodostí mikrobiální populace v chronických ranách se zabývá celá řada odborných publikací[16] .Většina výsledků je založena na průkazu mikrobů na krevním agaru použitého jako univerzální kultivační médium[4] . Z výsledků těchto studií vyplývá, že mezi nejčastější patogenní činitele se řadí rody *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas* a čeleď *Enterobacteriaceae*. [12]

V mikrobiální flóře rány se ale také objevují anaerobní bakterie. V tomto případě se jedná nejčastěji o rody *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Veilonella*, *Fusobacterium*. Nežrádka jsou zastoupeny i kvasinky. [14]

4.2.1 Rod *Staphylococcus*

Stafylokoky jsou grampozitivní koky nacházející se ve shlucích. Nesporulují, jsou nepohyblivé a většinou neopouzdržené. Mohou být jak aerobní, tak i fakultativně anaerobní.[34]

Stafylokoky na rozdíl od streptokoků produkují katalázu, při zkvašování řady cukrů tvoří kyseliny, nikoliv plyn. Odolávají zahřátí 55°C po dobu 30 minut, vysychání, zvláště za přítomnosti bílkovin přežívají několik týdnů. Například v zaschlém hnisu odolávají také vyšším koncentracím NaCl.[1]

Druh *Staphylococcus aureus* patří mezi biochemicky nejaktivnější druhy bakterií. Produkuje velké množství toxinů a patří mezi nejčastější původce pyogenních infekcí. Na povrchu jeho buněčné stěny se vyskytují adheziny, což jsou bílkoviny, které podporují kolonizaci kůže.[34]

S. aureus je velmi častou příčinou špatného hojení venózních ulcerací. Jeho přítomnost se uvádí 65% až 94% mikrobiálních nálezů.[36]

V posledních letech je pozorován zvýšený výskyt kmenů *S. aureus*, které získaly rezistenci vůči antibiotiku methicilinu. Jejich označení je MRSA,(methicillin – resistant *Staphylococcus aureus*) a jejich frekvence výskytu je od 5 do 15% a to především ve zdravotnických zařízeních.[1]

4.2.2 Rod *Streptococcus*

Streptokoky jsou grampozitivní, kataláza negativní koky, které jsou uspořádané do dvojic a řetízků. Většina druhů je fakultativně anaerobních a růst některých je podporován oxidem uhličitým. Produktem fermentace cukrů je kyselina mléčná.[16]

Streptokoky jsou často nalézány v chronických ranách a jsou charakteristické rozmanitostí vlastností jednotlivých druhů. Lze je klasifikovat pomocí 4 charakteristik:[1]

- Sérologické třídění podle stěnového antigenu (serologické skupiny A – H, K – V, Z)
- Biochemická a fyziologická charakteristika
- Patogenita a místo výskytu
- Typy změn na krevním agaru (alfa – hemolytické, beta – hemolytické a nehemolytické)

Streptokoky spolu se stafylokoky jsou jedny z nejčastějších mikrobiologických nálezů u syndromu diabetické nohy, uvádí se až ve 59% případů [56]. Přitom *Streptococcus pyogenes* je nejčastější bakterie vyvolávající tzv. superinfekci, což vede ke komplikaci chronické rány. Způsobuje vznik erysipelu, kde mu chronická rána slouží jako vstupní brána infekce. Tato infekce je závažné onemocnění, způsobující zánět kůže a podkoží, které má celkové i lokální příznaky. Mezi celkové patří zimnice, horečka, bolest hlavy a nevolnost. Z lokálních příznaků to je zarudnutí kůže, pálení, svědění, citlivost, otok a šířené léze po kůži. Na postižené kůži může dojít k tvorbě puchýřů (bulózní erysipel), a nebo k nekróze (gangrenózní erysipel), což představuje zvětšování původní rány.[14]

4.2.3 Čeleď Enterobacteriaceae

Enterobakterie jsou z pohledu klinické mikrobiologie důležitou čeledí gramnegativních tyčinek. Jsou fakultativně anaerobní, a až na pár výjimek, většinou pohyblivé. Dobře snášejí změny teplot. Biochemicky jsou velmi aktivní, vesměs kataláza pozitivní, oxidáza negativní. Nejznámějším druhem této čeledi je *Escherichia coli*, dále *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* a *Proteus vulgaris*. [19]

4.2.4 Rod Pseudomonas

Rod *Pseudomonas* a zvláště druh *Pseudomonas aeruginosa* představuje klinicky nejvýznamnější bakterii celého rodu, který je podle dostupné literatury až v 52% případů důvodem nehojících se venózních ulcerací.[56]

4.3 Ulcerace

4.3.1 Ulcus cruris venosum

Ulcus cruris venosum, bércový vřed žilního původu, lze definovat jako následek poruchy odtoku krve v hlubokém žilním systému. Tento vřed vzniká v důsledku lokální tkáňové hypoxie v závislosti na stagnaci odkysličené krve jak v hlubokém, tak i v povrchovém žilním systému. Dochází k hypertenzi žil a vytlačování krevní plazmy z krve do tkáně [12] . Zjednodušeně řečeno, jedná se o žilní přetlak v dolním krevním řečišti, kvůli němuž se žíly rozšiřují. Tímto rozšířením ztrácejí žilní chlopně svojí funkci a krev stagnuje, průtok krve se zpomaluje a nahromaděná tekutina v žilách přestupuje do podkoží.[47]

Obrázek 5 Ulcus cruris venosum před léčbou [50]



Ulcerace tohoto typu bývají často povrchové s velkým rozsahem. Jejich bezprostřední vznik bývá často iniciován na základě drobného traumatu. Je to nejhojněji se vyskytující vřed, který je připisován až 85% případů bércových vředů.

Nejčastější výskyt tohoto onemocnění bývá v okolí zevního kotníku, mnohdy se jedná o tzv. cirkulární typ s menší bolestivostí.

Cílem léčby je zabránit zvýšenému tlaku v dolních končetinách pomocí kompresních bandáží. Účinek komprese a zlepšení prokrvení také zvyšuje pravidelné cvičení a chůze [12].

Obrázek 6 Ulcus cruris venosum: léčba 4 týdny [50]



4.3.2 **Ulcus cruris arteriosum**

Ulcus cruris arteriosum je bérkový vřed tepenného původu a jde o chronickou komplikaci postupně progredujících aterosklerotických změn na tepenném řečišti. Během těchto postupných změn mohou rovněž vznikat trombózy či gangrény. V důsledku neprůchodnosti periferních tepen z důvodu aterosklerózy, kdy se jejich průsvitnost zužuje, může dojít až k jejich úplnému uzávěru. Následkem je chronická ischemie (ICHDK), která může vyústit až nekrózy kůže.

Arteriální uzávěr se na kůži projeví modrým až černým zbarvením prstů až nártů a po odloučení nekrózy se objeví ulcerace se žlutým mazlavým povlakem. Jedná se o velmi hluboké rány doprovázené silnou bolestivostí.

Obrázek 7 Ulcus cruris arteriosum[38]



Prvotní výskyt arteriálního vředu se nachází v okrajové části končetin, hlavně špičky prstů, na nártu a na místech tlaku obuvi.

Na tomto onemocnění se negativně uplatňují dědičnost, nadváha, nezdravý životní styl, porucha funkce štítné žlázy, diabetes mellitus a mnoho dalších faktorů přispívajících k vzniku aterosklerózy.[12]

Diagnostika aterosklerózy při ICHDK – stupnice dle Fontaina:[12]

Tabulka 5 Stupnice dle Fontaina

První stádium	Bez příznaků, lehká unavitelnost dolních končetin
Druhé stádium	Klaudikační bolesti (nesnesitelné bolesti omezující pohyb) při překonání více jak 200 m, vzdálenost se snižuje
Třetí stádium	Klidová bolest objevující se hlavně v noci
Čtvrté stádium	Trvalá bolest Ulcerace, gangréna

4.3.2.1 Syndrom diabetické nohy

Tímto označením se charakterizuje chronická komplikace diabetu, která postihuje dolní končetiny. Díky usazování kyselých mukopolysacharidů na stěnách cévy vzniká chronická

ischemie a ischemické nekrózy. Tyto soubory změn na dolních končetinách jsou následkem vysoké hladiny glukózy v krvi.[12]

Rozdělení podle typu a lokalizace[12] :

Tabulka 6 Rozdělení dle typu vředu

TYP	PŘÍZNAKY
Neuropatický vřed	Změny nervového zásobení na dolních končetinách Snížená citlivost na bolest, chlad, teplo Defekt na chodidle a jeho hraně Pulzace nohy hmatatelná
Ischemický vřed	Postižení tepenného oběhu (nedostatečné prokrvení dolní končetiny) Studené a bledé nohy Defekt na prstech, prvních člancích metatarsu Pulzace není hmatatelná
Neuroischemický vřed	Způsoben defektem, na kterém se podílejí obě předchozí příčiny

Obrázek 8 Diabetická noha[27]



Rozdělení podle stupně závažnosti (Wagner – Meggitova klasifikace)[24] [54] :

Tabulka 7 Klasifikace diabetické nohy

STUPEŇ	KLASIFIKACE
Stupeň 0	Vysoce riziková noha (vysokou pravděpodobnost vzniku vředu)
Stupeň 1	Povrchové bolestivé vředy na noze (zasahují do dermis, rychle se infikují) Ischemický původ Tkáň je hypoxická Nutný chirurgický zákrok
Stupeň 2	Hluboké vředy bez infekce (zasahují pod dermis do hlubších tkání nohy) Nutné odstranění notorických tkání
Stupeň 3	Známky flegmóny (červená, oteklá a teplá noha) V hlubokých tkáních nohy abscesy Osteomyelitidy (hnisavý proces v kosti způsobený pyogenním organismem) Osídlení - <i>Staphylococcus aureus</i> , streptokoky skupiny B a gramnegativní bakterie Přímé ohrožení nohy amputací.
Stupeň 4	Gangréna přední části nohy – vyžaduje amputaci.
Stupeň 5	Gangréna po celé noze Amputace až nad kolenem

4.3.3 Dekubity

Jako dekubitus (proleženina) je označována rána, která vzniká v důsledku trvalého tlaku na kůži po dlouhou dobu. Onemocnění vzniká na tzv. predilekčních místech, což jsou místa, kde se kosti nacházejí blízko kožnímu povrchu a jsou málo izolovány vrstvou podkožního tuku a svalstva (paty, sakrální oblast). Vzniku dekubitu také přispívá posouvání pacienta po podložce, kdy dochází k hrnutí kůže, což způsobuje poruchu mikrocirkulace.[12] [9]

Pro vznik dekubitů jsou riziková pacienti [12] :

- Imobilní

- Obézní nebo naopak podvyživení
- V bezvědomí
- Ve vyšším věku
- Pod sedativy

Dekubity můžeme rozdělit na akutní a chronické [12] :

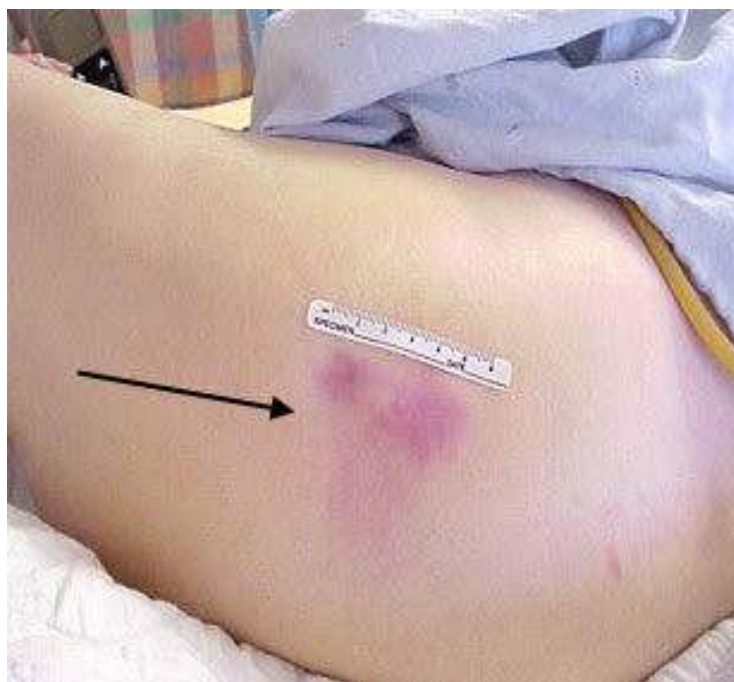
- **Akutní** – vznikají během 30 minut převážně u pacientů, kteří jsou nevléčitelně nemocní a jsou v těžkém stavu upoutaní na lůžko.
- **Chronické** – vznikají postupně během několika dnů až týdnů jako důsledek špatné ošetrovatelské péče.

Sterlingova stupnice je nejčastěji používaná stupnice při řešení hloubky a rozsahu postižené tkáně u dekubitů[12] :

Tabulka 8 Sterlingova stupnice

První stupeň	Začervenání kůže Poškození tukové vrstvy a svalů
Druhý stupeň	Tvorba puchýřů Kůže na povrchu poškozena, může vypadat jako odřenina.
Třetí stupeň	Tloušťka kůže se postupně ztrácí
Čtvrtý stupeň	Všechny vrstvy kůže postiženy Nekróza tkáně - rozšiřují ke kloubům, kostem a šlachám.

Obrázek 9 Dekubitus 1. Stupně [51]



Obrázek 10 Dekubitus 2. Stupně [51]



Obrázek 11 Dekubitus 3. stupně[51]



Obrázek 12 Dekubitus 4. stupně [39]



Faktory ovlivňující vznik dekubitů mohou být[12] :

- **Externí** – mezi externí faktory nejčastěji patří tlak na predilekční místa, což je například kost křížová a lopatky. Dalším faktorem je hrnutí kůže pacienta proti sobě a tření kůže o podložku. Také vlhkost, špatná hygiena, nevhodné polohování pacienta a neupravené lůžko může vést ke vzniku dekubitů.
- **Vnitřní** – nejdůležitějším vnitřním faktorem je věk. U starších pacientů se výrazně zvyšuje riziko vzniku dekubitů především díky zhoršené elasticitě a ochranné

funkce kůže. Dále se u starších lidí snižuje produkce mazu a potu, mají oslabenou termoregulaci a také sníženou odolnost vůči nárazům. Neméně důležitým vnitřním faktorem je mobilita, pohlaví (u žen se riziko zvyšuje) a hmotnost člověka. Také špatný stav výživy, nízká hladina albuminů a minerálů a nedostatek tekutin riziko zvyšuje. A v neposlední řadě inkontinence, která způsobuje podráždění kůže vlhkostí moči a stolice. Často izolovaným agens jsou zde především *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*.

Pro zhodnocení rizika vzniku dekubitů byla zavedena celá škála stupnic. Ve standardní ošetrovatelské péči je nejpoužívanější škála Nortonova, další jsou Medleyho, Bradenova či Waterlowa, která je využívána v intenzivní péči vzhledem k širokému rozsahu hodnocení.[12]
[9]

4.3.4 Ostatní ulcerace

Mezi ostatní ulcerace je možno zařadit posttraumatické vředy. Jedná se o defekty, které jsou způsobené devastujícím poraněním na dolních končetinách. Může se jednat o otevřené zlomeniny způsobené v mládí nebo jiné těžké úrazy s devastací měkkých tkání.

Aktinické ulcerace jsou vředy objevující se převážně u onkologicky nemocných pacientů. Důvod vzniku je radiační léčba, která ozařuje určité místo kůže. Změny na kůži se projevují vznikem erytému, macerací až rozpadem tkáně.

Exulcerované nádory se vyznačují typickým květákovitým narůstáním tkáně v těsných okrajích defektu. Jsou velmi často špatně diagnostikovány a léčené jako klasické bércové vředy.

Onkologické defekty, tzv. maligní rány, jsou velmi vážné stavy, kdy dochází k rozpadu tkání. Důsledek tohoto rozpadu je pokročilé stadium karcinomů. Hlavními příznaky je krvácení, sekrece z rány, nepříjemný zápach, bolest a svědění okolo rány.[12]

4.4 Hojení ran

Obtížně hojící se rány, u kterých hojení neprobíhá podle schématu koagulace – zánět – proliferace – reparace, obvykle zůstávají delší dobu ve fázi zánětu.

Hojení se účastní:

- **Buněčné struktury** - mezi které patří neutrofilny, lymfocyty, mastocyty, makrofágy, fibroblasty, keratinocyty a endotel.
- **Mediátory** - tedy cytokiny s jejich podtřídou růstových faktorů a proteázy, zejména skupina metaloproteáz jejich tkáňových inhibitorů.

Opakované trauma nebo ischemie vede v místě postižení ke zmnožení buněk, které ve větší míře začínají produkovat prozánětlivé cytokiny. Stoupá rovněž i množství proteáz, které vedou k nedostatku inhibitorů. Tato nerovnováha nám prodlužuje fázi hojení a hlavně pomáhá zmnožení bakterií, které proces ještě více zpomalují.[2]

Bakterie prodlužují hojení rány buď přímo, nebo nepřímo. Přímou omezují proliferaci a migraci buněčných struktur a stimulují metaloproteinázy, které mají význam při regeneraci tkání, hojení a tvorbě jizvy, zánětu. Nepřímo působí prostřednictvím produkce krátkých mastných kyselin. Tyto kyseliny jsou energetickým zdrojem pro další bakterie a ovlivňují proliferaci, migraci a remodelaci. Bakterie si také navzájem připravují podmínky. Ránu osídlí nejprve aerobní bakterie, které spotřebují kyslík a sníží redox potenciál a tím má rána vhodné podmínky pro anaeroby.

Důležitá informace pro hojení je počet druhů bakterií, jejich kvantitativní nálož i konkrétní kmene v ráně. Pokud se v ráně vyskytnou 4 a více druhů bakterií, pravděpodobnost zhoršeného hojení vzrůstá. Podle kvantity se popisuje infekční kontinuum v ráně. Kontaminace představuje přibližné množství 10^2 bakterií. Dalším stupněm je $10^3 - 10^4$ bakterií a posledním stupněm je kritická kolonizace, což je přibližně 10^5 bakterií. Pokud se v ráně nachází více bakterií než je počet bakterií v kritické kolonizaci a pokud se začíná šířit do okolí, jedná se již o přímou infekci.[2]

4.4.1 Léčba pomocí komprese

Při léčbě pomocí obinadel je velmi důležité znát podmínky nakládání bandáží s profylaktickým cílem. Rozeznává se tedy komprese preventivní a léčebná.

- **Preventivní tlaková komprese** – je základní metodou komprese s profylakčním účinkem. U operovaných a dlouho ležících pacientů slouží k prevenci hlubokých žilních trombóz. Používají se kompresivní punčochy a krátkotažná obinadla.

- **Terapeutická tlaková komprese** – je to základní léčebná metoda u pacientů s onemocněním žilního a lymfatického systému.

Fletcher a Sheldon v roce 1997 hodnotili 24 náhodně vybraných studií zabývajících se kompresivní terapií u onemocnění žil. Zjistili, že komprese výrazně urychluje hojení bércových vředů, že komprese samotná je lepší než vlhký interaktivní obvaz rány bez komprese a že režimy vysoké komprese jsou efektivnější než nízká komprese.[12]

4.4.2 Léčba vředů pomocí larev

Další zajímavá metoda v léčení chronických ran je léčba pomocí larev, konkrétně léčba larvami Bzučivky zelené.

Bzučivka zelená je moucha, která v přírodě klade vajíčka na hniající těla mrtvých živočichů. Protože se její larvy živí pouze odumřelou tkání, dokáží tímto způsobem velmi efektivně čistit také bércové vředy, popáleniny, proleženiny a jiné rány od hnisu a nekróz. Jde o bezbolestnou léčbu, která má velice dobré výsledky. Léčba larvami je alternativní metodou zejména při selhání chirurgické a enzymatické léčby.[24]

Larvy bzučivky zelené uvolňují z ústní dutiny enzymy, které rozpouštějí nekrotickou tkáň, kterou po rozpuštění vysají. V ráně současně působí jako dezinfekční činitelé, neboť požerem ničí většinu přítomných patogenních bakterií odolných na antibiotika, včetně MRSA. Larvy nejsou schopny zničit živé buňky, proto přesně kopírují hranici zdravé a mrtvé tkáně a to dokonce lépe než by dokázal chirurg. Z tohoto důvodu jsou také známé pod jménem biologický nůž.[24]

4.4.3 *Pythium oligandrum*

Pythium oligandrum, česky známé jako tzv. „chytrá houba“, je mykoparazitická řasovka, která jako striktní mykoparazit napadá mnoho druhů hub, včetně příbuzných řasovek. Za pomoci fermentů a enzymů rozkládá jejich povrchové struktury, díky čemuž, pak snadněji proniká svými vlákny do napadených hub, ze kterých získává živiny. Tento proces trvá tak dlouho, dokud napadenou houbu zcela nevysaje a nezničí. [55]

P. oligandrum vytváří nízkomolekulární protein zvaný oligandrin, který mimo jiné blahodárně působí i na hnisající rány.

Unikátní kompozice tohoto originálního českého biokosmetika nepřináší riziko žádných toxických či alergických vedlejších účinků. Biopreparáty jsou vhodné pro všechny osoby bez závislosti na věku, pohlaví a zdravotním stavu.

Biopreparáty s *P. oligandrum* využívají přírodního antagonizmu mezi mikroorganismy, takže u nich nehrozí riziko rezistence a je možné léčbu libovolně opakovat.[48]

5 Bakteriální biofilm

Bakteriální biofilm je společenství mikroorganismů, které jsou přichyceny k povrchu různých předmětů či k okolním buňkám. Produkují polymerní mimobuněčnou hmotu, ve které jsou usazeny a mají změněný fenotyp růstových vlastností a transkripci genů.[16] [56]

Biofilm vzniká přilnutím volně se pohybujících (planktonických) buněk k povrchu. Po přilnutí se změní fenotyp buněk a ty začnou produkovat do svého okolí velké množství glykokalyxu. Glykokalyx je polysacharid, který obklopuje bakterii a fixuje ji k podložce. Mikrobiální buňky rostoucí v prostředí biofilmu mají jedinečnou schopnost tvořit již zmíněný glykokalyx a také efektivněji tvořit toxiny, které je chrání. Dá se tedy říci, že biofilm zvyšuje virulenci zastoupených bakterií a prodlužuje hojení rány.[56] [16]

Biofilm se velmi těžko odstraňuje, neboť toleruje téměř všechny antimikrobiální látky (med, stříbro, antibiotika apod.). Chirurgické vyčištění rány (débridement) nedokáže odstranit biofilm kompletně a tak dochází k jeho opětovné tvorbě.[25]

Jako příklad biofilmu lidského těla lze uvést zubní plak. Vzniká z organických i anorganických látek obsažených ve slinách tvořících vhodnou potravu pro bakterie. Ze zubů jej můžeme odstranit vyčištěním, ale také pouze dočasně.[16]

6 Materiál a metodika

Oddělení klinické mikrobiologie (OKM) Pardubické nemocnice provádí kultivační vyšetření pro všechna klinická pracoviště nemocnice. Biologický materiál z rány je na OKM zasílán buď jako přímý stěr defektu/rány na vatovém tampónu v gelovém transportním médiu, případně jako tekutý materiál (hnis, obsah drénu apod.) ve Wassermannově zkumavce nebo injekční stříkačce. Z uvedených biologických materiálů je zakládána aerobní i anaerobní kultivace.

Pro retrospektivní studii mikrobiálního osídlení ran pacientů ošetřených v Pardubické nemocnici byly použity statistické výstupy laboratorního PC programu OpenLIMS fy STAPRO. Tento software je od roku 2013 hlavním laboratorním programem Oddělení klinické mikrobiologie Pardubické nemocnice. Starší data nebyla k dispozici pro technickou závadu na záložním disku původního programu. Počítačově tak mohla být poskytnuta data pouze za poslední tři roky (2013-2015).

Příslušná archivní data určená pro prezentovanou retrospektivní studii byla softwarově upravena do programu EXCEL2010 tak, aby byla zachována bezpečnost osobních údajů jednotlivých pacientů. V prostředí tohoto PC programu pak byly prováděny všechny výpočty a dokumentace.

V retrospektivní studii za roky 2013 – 2015 byli sledováni celkem 2804 pacienti, jejichž vzorky byly mikrobiologicky vyhodnoceny na OKM Pardubické nemocnice. Celkem se jednalo o 22102 odebraných a mikrobiologicky vyšetřených vzorků sekretů z ran.

Pro porovnání mikrobiálního osídlení chronických a chirurgických („akutních“) ran byly vytvořeny dva soubory pacientů a to na základě jejich příslušnosti k určité klinické jednotce. Chronické rány, které jsou představovány především bércovými vředy, diabetickou nohou a/nebo proleženinami jsou léčeny na Geriatrickém centru, Léčebně dlouhodobě nemocných (LDN) a na Kožním oddělení. Tato klinická pracoviště tak tvoří jednu sledovanou skupinu. Do druhé skupiny pak byly zařazeny biologické vzorky pocházející od pacientů, kteří podstoupili chirurgickou léčbu na odděleních všeobecné chirurgie, ortopedie, traumatologie a gynekologie, kdy předmětné odběry jsou vyšetřovány z důvodu sledování stavu rány po chirurgickém výkonu.

Tabulka 9 Počty pacientů a vyšetření ve skupinách podle sledovaného období

	ROK	POČET PACIENTŮ	CELKEM VYŠETŘENÝCH (n/%)	NEG	(%)	POZIT	(%)
CHIRURGICKÁ RÁNA	2013	465	3820	2084	54,55	1736	45,45
	2014	692	5789	3213	55,5	2576	44,5
	2015	654	4670	2416	51,73	2254	48,27
CELKEM		1811	14279	7713	53,93	6566	46,07
CHRONICKÁ RÁNA	2013	291	2038	620	30,42	1418	69,58
	2014	345	2650	821	30,98	1829	69,02
	2015	357	3135	933	29,76	2202	70,24
CELKEM		993	7823	2374	30,39	5449	69,61

Tabulka 10 Porovnání rozptylu počtu vyšetření u jednotlivých pacientů

RÁNA	ROK	POČET PACIENTŮ	ROZPTYL VYŠ. U 1 PACIENTA	CELKEM VYŠETŘENÝCH VZORKŮ
CHIRURICKÁ RÁNA	2013	465	≥3 – 97 (1x137)	97/20,86
	2014	692	≥3 – 83 (187 a 142)	139/20,09
	2015	654	≥3 – 82	115/17,58
CHRONICKÁ RÁNA	2013	291	≥3 – 49	52/17,87
	2014	345	≥3 – 62	79/22,9
	2015	357	≥3 – 95 (1x120)	86/24,10

Z výtěrů chronických ran pacientů se zjistilo, že rány nejsou zpravidla osidlovány pouze jedním mikroblem, ale častěji se jedná o společenství mikroorganismů. Mezi nejfrekventovanější mikroorganismy, které se v ráně objevovaly, patří: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* plazmakoaguláza negativní, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Escherichia coli*.

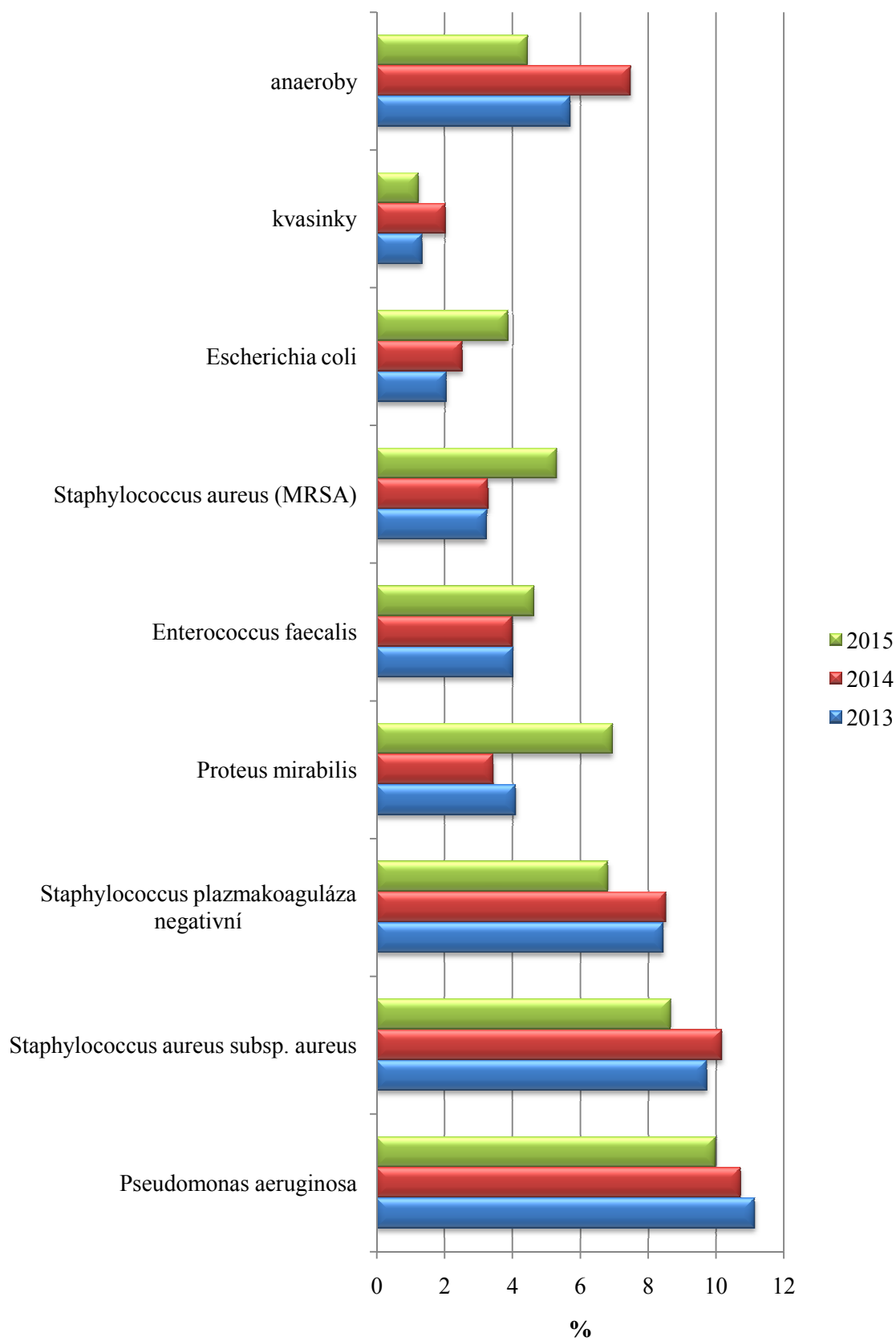
Tabulka 11 Porovnání mikrobiálního osídlení dle typu rány (v absolutních číslech)

	ROK	POZIT (n)	PSAE	STAU	STKON	STEP	PRMI	EKFA	MRSA	ESCO	KVAS	ANAER
CHIRURGICKÁ RÁNA	2013	1736	27	186	121	66	28	82	12	132	30	177
	2014	2576	48	316	158	124	19	87	28	157	35	568
	2015	2254	59	242	135	111	33	75	39	172	33	296
CHRONICKÁ RÁNA	2013	1418	158	138	119	1	58	57	46	29	19	81
	2014	1829	196	186	154	2	63	73	60	46	37	137
	2015	2202	220	191	113	37	153	102	117	85	27	98

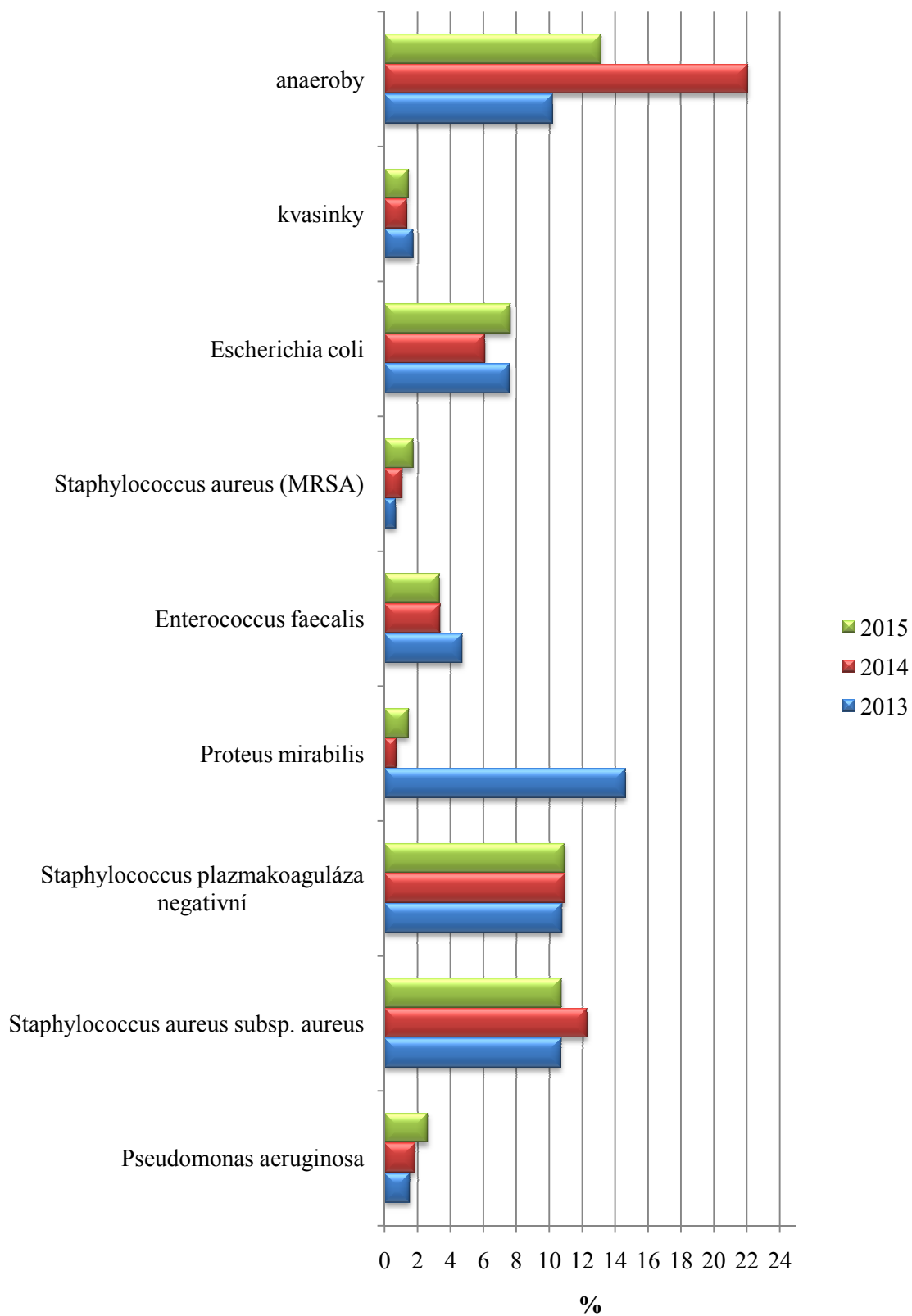
Tabulka 12 Porovnání mikrobiálního osídlení dle typu rány v % pozitivních nálezů

	ROK	POZIT (n)	PSAE	STAU	STKON	PRMI	EKFA	MRSA	ESCO	KVAS	ANAER
CHIRURGICKÁ RÁNA	2013	1736	1,55	10,71	10,77	14,61	4,72	0,69	7,6	1,73	10,2
	2014	2576	1,86	12,27	10,94	0,74	3,38	1,09	6,09	1,36	22,05
	2015	2254	2,62	10,74	10,91	1,46	3,33	1,73	7,63	1,46	13,13
CELKEM			2,01	11,2	10,87	1,27	3,81	1,17	7,11	1,52	15,13
CHRONICKÁ RÁNA	2013	1418	11,14	9,73	8,46	4,09	4,02	3,24	2,05	1,34	5,71
	2014	1829	10,72	10,17	8,53	3,44	3,99	3,28	2,52	2,02	7,49
	2015	2202	9,99	8,67	6,81	6,95	4,63	5,31	3,86	1,23	4,45
CELKEM			10,6	9,52	7,93	4,83	4,21	3,94	2,81	1,53	5,88

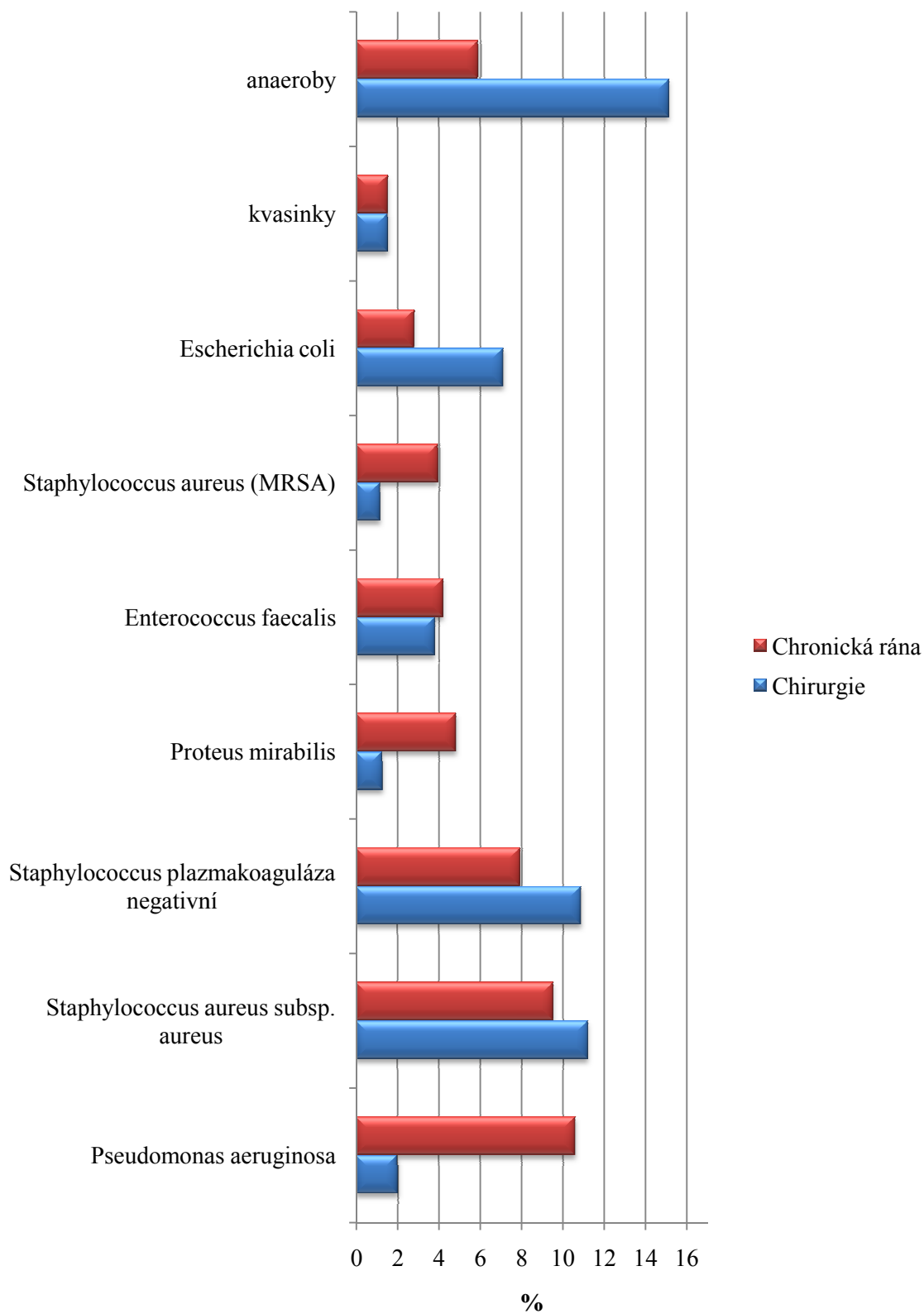
Graf 1 Mikrobiální osídlení chronické rány v PKN v letech 2013 - 2015 v %



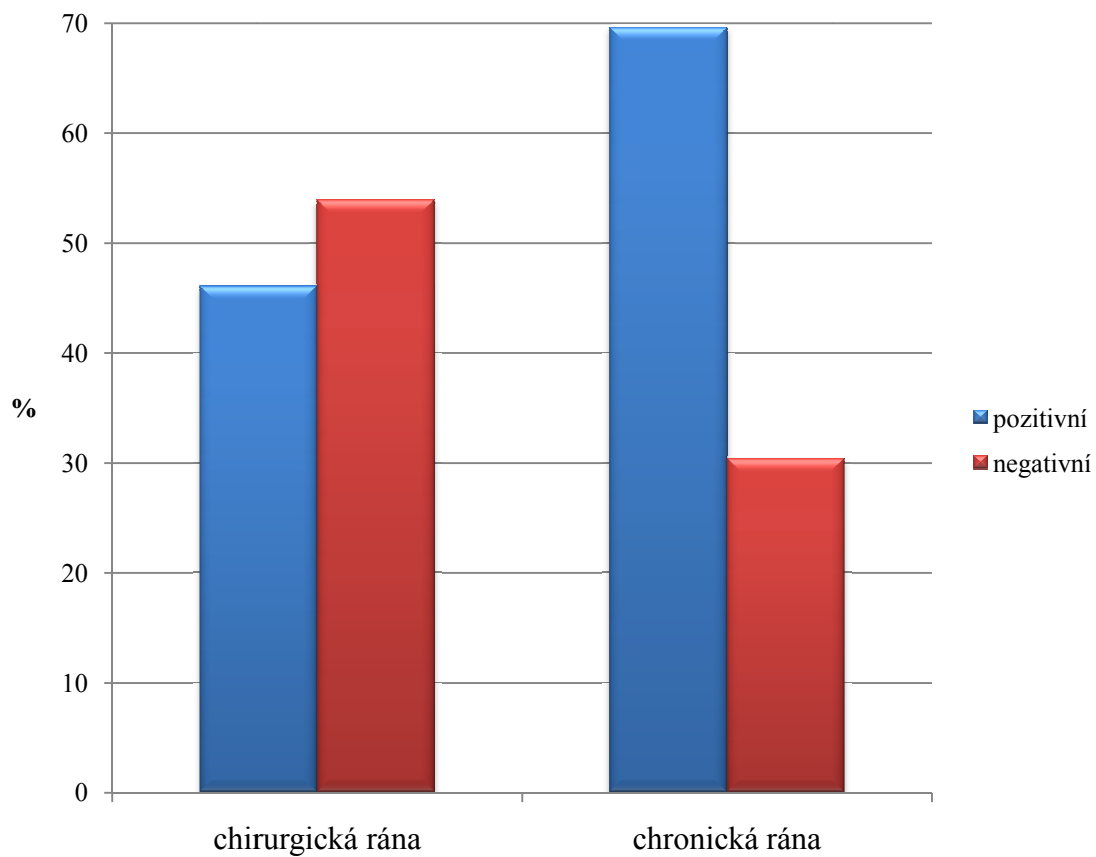
Graf 2 Mikrobiální osídlení chirurgické rány v PKN v letech 2013 - 2015 v %



Graf 3 Porovnání výskytu mikrobů podle typů ran v % za období 2013 - 2015



Graf 4 Porovnání pozitivních a negativních nálezů v chirurgické a chronické ráně v %



7 Výsledky a diskuze

Původně zamýšlené zhodnocení pětiletého období se nemohlo uskutečnit, protože k dispozici byly pouze výsledky z nového softwaru OKM Pardubické nemocnice. Archivní data uložená v souborech původního laboratorního programu MILAB37 se, bohužel, nepodařilo získat pro technickou závadu na záložním hardwaru.

Přehled sledovaných pacientů, jejich rozdělení a celkové počty vyšetření jsou uvedeny v Tabulka 9. Z uvedeného je zřejmé, že za celé sledované období bylo více pozitivních vzorků diagnostikováno v přepočtu u pacientů s chronickými defekty a to o 23,5% oproti ranám chirurgickým. Výsledky u osob skupin v jednotlivých rocích vykazují v rámci skupiny pouze nepatrné odchylky.

Sofistikovaněji vypadají výsledky sledování počtu vyšetření u jednotlivých pacientů (Tabulka 10) Počet vyšetřených vzorků zde u obou skupin kolísá od minimálně 3 vzorků na pacienta až po extrém, kterým je 187 vzorků od 1 pacienta. Vyšší rozptyl hodnot, zvláště v letech 2013 a 2014, jsme pozorovali u chirurgických ran a to včetně extrémů. Tento stav je pravděpodobně způsoben častějšími odběry u problematických, rizikových, pacientů a to i přes to, že jsou jejich rány dlouhodobě bez mikrobiálního osídlení. Toto je pravděpodobně také důvodem, proč je u chirurgických vzorků více negativních nálezů. Nicméně může být tento stav ovlivněn také počtem zařazených pacientů v obou sledovaných skupinách. Určitým způsobem o tom vypovídá další sledovaný parametr a to počet pacientů s více než deseti odběry v sledovaném období. Zde se podstatně liší absolutní počet sledovaných pacientů (n), avšak při přepočítání na relativní údaje (%) jsme zjistili, že se nijak výrazně tento parametr neliší ani v jedné skupině. U chirurgických pacientů představuje jejich počet s více než 10 odběry 19,51%, u chronických ran je to 21,62. Rozdíl je tedy minimální (2,11%) a statisticky nevýznamný.

Mikrobiální taxony, které byly identifikovány v jednotlivých vzorcích, jsou uvedeny, i s jejich absolutními hodnotami, v Tabulka 11. Vzhledem ke značnému množství identifikovaných agens jsou ze seznamu taxonů samostatně vedeny pouze ty mikroorganismy, které představovaly výrazně častější zastoupení. Relativní hodnoty počtu těchto agens jsou vyjádřeny v Tabulka 12 a Graf 1, Graf 2. Z uvedeného vyplynulo, že v provedené retrospektivní studii mikrobiálního osídlení ran v pozitivních nálezech převládaly výrazně

nálezy *Pseudomonas aeruginosa* u chronických ran (10,62%), oproti ranám chirurgickým (2,01%). U ran chirurgických byla mírná převaha *Staphylococcus aureus* a tzv. koaguláza negativních stafylokoků. Na základě námi provedené studie je také možno konstatovat, že methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA) byl více než 3x častější ve vzorcích z chronických ran oproti ranám chirurgickým. Pro ověření našich výsledků jsme v tomto případě nezískali relevantní literaturu a citace, pravděpodobně z důvodu, že je to problematika s poměrně krátkou historií. Přesně opačný byl poměr nálezů koaguláza negativních stafylokoků, který byl o téměř 3% vyšší u chirurgických ran. Co nás však překvapilo, byl výrazně nižší záchyt *Escherichia coli* v chronických ranách (2,81%), což je 2,5 x méně oproti ranám chirurgickým (7,11%). Z gramnegativních tyčinek tomu bylo obráceně u sledovaného *Proteus mirabilis*, který byl z chronických ran izolován v 4,83% pozitivních vzorků, u chirurgických ran pak v 1,27%, což je v poměru téměř 4x méně a koresponduje to s našimi předpoklady. Vzhledem k charakteru sledovaných raných afekcí jsme obecně předpokládali vyšší výskyt infekcí gramnegativními tyčinkami u chronických ran, jak je uváděno v dostupné literatuře.

Dalším překvapením bylo rozložení izolátů anaerobních mikroorganismů, které bylo výrazně vyšší u chirurgických ran (15,13%) oproti výskytu u ran chronických (5,88%). Vzhledem k tomu, že jsme měli pro studii k dispozici pouze archivní záznamy mikrobiologického oddělení, je velmi složité až spekulativní se k tomuto problému více vyjadřovat. Pro detailnější pochopení stavu by bylo nutné znát přesný klinický stav příslušné rány a ze kterých míst byly vzorky odebírány. To by bylo vhodné ověřit studií prospektivní, kdy by se mohlo sledovat daleko více klinických i mikrobiologických parametrů současně.

Rozhodně by bylo zajímavé také sledování problematických kmenů jednotlivých zastoupených mikroorganismů. Sem bychom mohli zařadit např. producenty širokospektrých betalaktamáz, nebo polyrezistentní kmeny nozokomiálního typu. Obecně se zde dá hovořit o stejném problému jako v případě anaerobních mikroorganismů. Také vzhledem k ne zcela kompletním údajům této oblasti v archivech OKM jsme od záměru sledování rezistencí ustoupili.

8 Závěr

Předložená bakalářská práce se zabývá problematikou mikrobiálního osídlení rány. Literární přehled vzniku, charakteru a komplikací kožních ran a defektů je zde doplněn o retrospektivní studii na základě archivních záznamů laboratorního vyšetření Oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Pardubice za roky 2013 až 2015. Z tohoto období byli do studie zahrnuti celkem 2804 pacienti rozdělení do dvou skupin (podle charakteru rány) s celkovým počtem vyšetření 22102 vzorků.

U chronických ran (bércové vředy, diabetická noha, proleženiny) převládaly výrazně nálezy *Pseudomonas aeruginosa* (10,62%), což představuje více než pětinasobek oproti ranám chirurgickým (2,01%). Také Methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA) byl více než 3x častěji pozorován ve vzorcích z chronických ran. Určitým překvapením bylo zjištění menšího zastoupení anaerobních mikroorganismů v chronických ranách (5,88%) oproti ranám chirurgickým (15,13%).

Sledování problematiky mikrobiálního osídlení rány by si pro svoji složitost a značný význam pro postižené pacienty, ale i z ekonomického pohledu, zasloužilo větší pozornost. Řadu aspektů, které jsme nebyli vzhledem k charakteru podkladů schopni zodpovědně v námi předložené práci hodnotit, by zasloužila spíše než studii retrospektivní komplexní a dlouhodobé sledování jednotlivých pacientů včetně informací o jejich léčbě a dalších klinických aspektech.

9 Seznam použité literatury

- [1] BEDNÁŘ, Marek, Věra FRAŇKOVÁ, Jiří SCHINDLER, Andrej SOUČEK a Jiří VÁVRA. *Lékařská mikrobiologie*. Praha: Marvil s.r.o., 1999. ISBN 8594031505280.
- [2] GROFOVÁ, Zuzana. *Biologie rány. Biologie rány*. 2006, X(X), 6.
- [3] HOLÍŠOVÁ, Hana. *Výživa při hojení ran a chronických defektech* [online]. Brno, 2011 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: http://is.muni.cz/th/214672/lf_b/Bakalarska_prace_vyziva_pri_hojeni_ran_a_chronicky_defektech.pdf
- [4] CHOVANEC, Zdeněk. *MIKROBIÁLNÍ ETIOLOGIE TORPIDNÍCH RANNÝCH INFEKČÍ V CHIRURGII, SROVNÁNÍ STĚROVÉ A NEPŘÍMÉ OTISKOVÉ METODY V CHIRURGICKÉ PRAXI* [online]. Brno, 2014 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: http://is.muni.cz/th/80839/lf_d/DP_kveten_2014.pdf
- [5] Ošetřovatelská péče v chirurgii. JANÍKOVÁ, Eva. *Ošetřovatelská péče v chirurgii: pro bakalářské a magisterské studium* [online]. Praha: Grada, 2013, s. 50 [cit. 2016-06-27]. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-4412-4. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=P5dGAgAAQBAJ&pg=PA79&lpg=PA79&dq=klasifikace+rány+dle+zápachu&source=bl&ots=_siHmjJrqX&sig=yQBUdfuu_gH6NmK_GSb8eQls69A&hl=cs&sa=X&ved=0ahUKewi_9Y7SI-PMAhVDyRQKHZzKAnIQ6AEIHjAA#v=onepage&q=klasifikace%20r%C3%A1ny%20dle%20z%C3%A1pachu&f=false
- [6] KITTNAR, Otomar. *Lékařská fyziologie*. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-3068-4.
- [7] KREJSKOVÁ, Kamila. *Nové trendy v hojení chronických ran* [online]. České Budějovice, 2013 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: http://theses.cz/id/dexc41/DIPLOMOV_PRCE_Krejskov.pdf
- [8] KŘIVÁNKOVÁ, Markéta a Milena HRADOVÁ. *Somatologie: učebnice pro střední zdravotnické školy*. Praha: Grada, 2009. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-2988-6.
- [9] MERVART, Petr. *Prevence a léčba ran v intenzivní péči* [online]. Plzeň, 2013 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <https://otik.uk.zcu.cz/bitstream/handle/11025/9082/Bakalarska%20prace%20Petr%20Mervart.pdf?sequence=1>
- [10] NAVRÁTIL, Leoš. *Vnitřní lékařství: pro nelékařské zdravotnické obory* [online]. Praha: Grada, 2008 [cit. 2016-06-27]. ISBN 978-80-247-2319-8. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=Jra-AgAAQBAJ&dq=fyziologické+osídlení+lidského+těla&hl=cs&source=gbs_navlinks_s

- [11] NETTER, Frank H. *Anatomický atlas člověka*. Praha: Grada, 2003. ISBN 80-247-0517-6.
- [12] PEJZNOCHOVÁ, Irena. *Lokální ošetřování ran a defektů na kůži* [online]. 1. Praha: Grada Publishing, a.s., 2010 [cit. 2016-06-27]. ISBN 978-80-247-2682-3. Dostupné z: [https://books.google.cz/books?id=b75aAgAAQBAJ&pg=PA17&lpg=PA17&dq=pato genn%C3%AD%20mikroorganismy%20akutn%C3%ADch%20ran&source=bl&ots=HSq5Qxuvlh&sig=YJcvldoVuJ1AFDBJX3qJ0bD11oI&hl=cs&sa=X&ved=0ahUKEwil0pqA__zMAhXKOBQKHVzeBJEQ6AEIVjAJ#v=onepage&q=patogenn%C3%AD%20mikroorganismy%20akutn%C3%ADch%20ran&f=true](https://books.google.cz/books?id=b75aAgAAQBAJ&pg=PA17&lpg=PA17&dq=pato%20genn%C3%AD%20mikroorganismy%20akutn%C3%ADch%20ran&source=bl&ots=HSq5Qxuvlh&sig=YJcvldoVuJ1AFDBJX3qJ0bD11oI&hl=cs&sa=X&ved=0ahUKEwil0pqA__zMAhXKOBQKHVzeBJEQ6AEIVjAJ#v=onepage&q=patogenn%C3%AD%20mikroorganismy%20akutn%C3%ADch%20ran&f=true)
- [13] PETROVICKÝ, Pavel. *Anatomie s topografií a klinickými aplikacemi*. Martin: Osveta, 2001. ISBN 80-806-3048-8.
- [14] PÍTHOVÁ, Pavlína. *Péče o infikovanou ránu. Péče o infikovanou ránu*. solen.cz, 2014, X(X), 8.
- [15] SKLENÁŘOVÁ, Irena. *RÁNY, OŠETŘOVÁNÍ CHRONICKÝCH RAN* [online]. České Budějovice, 2012 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: http://www.szscb.wz.cz/info/projekty/sablony/os4/vy_32_inovace_os4-sk-13.pdf
- [16] STRAKOVÁ, Jana. *KOMPLIKACE CHRONICKÝCH RAN U SENIORŮ* [online]. Brno, 2012 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: http://is.muni.cz/th/59887/lf_d/strakova_text.pdf
- [17] ŠTEFÁNKOVÁ, Jana. *Wound management ve zdravotnictví*. Brno, 2012. Masarykova Univerzita.
- [18] TROJAN, Stanislav a Ivan DYLEVSKÝ. *Somatologie: Učeb. pro stř. zdrav. šk., stud. obor zdrav. sestra, dět. sestra, ženská sestra, rehabilitační prac., radiol. laborant*. 2. vyd. Praha: Avicenum, 1990. ISBN 80-201-0026-1.
- [19] VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. 2003. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902-8966-5.
- [20] *Anatomie kůže* [online]. Praha: Investice do rozvoje vzdělání, 2011 [cit. 2016-05-16]. Dostupné z: http://www.szsemb.cz/admin/upload/sekce_materialy/Anatomie_kuze.pdf
- [21] *Rozdělení kůže* [online]. Praha: Biomach, 2012 [cit. 2016-05-16]. Dostupné z: <http://www.biomach.cz/biologie-cloveka/kozni-system-termoregulace>
- [22] *Léčba infekce nehojících se ran. Convatec* [online]. 2014, X(X), 50 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://www.convatec.cz/media/files/wt/02-lecba-infekce-u-nehojicich-se-ran.pdf>
- [23] *Diabetická noha. Metabol.lfp.cuni.cz* [online]. Olomouc: Univerzita Olomouc, 2013 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://metabol.lfp.cuni.cz/old/noha/text.asp?t=klasif>

- [24] Léčba larvami Bzučivky zelené. *Vyšetření a léky* [online]. Praha: vysetreni-a-leky.zdrave.cz, 2012 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://vysetreni-a-leky.zdrave.cz/lecba-larvami-bzucivky-zelene>
- [25] Jak zvládnout biofilm. *Convatec* [online]. Praha: convatec, 2013 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://www.convatec.cz/media/files/wt/jak-zvladnout-biofilm-pri-lecbe-ran.pdf>
- [26] *Acute wound* [online]. USA: Contravulnera, 2013 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://www.corradomariadurante.com/wound-complex/>
- [27] *Syndrom diabetické nohy* [online]. Vysoký Újezd u Berouna: G.P.S. Ofa, 2009 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://www.gps-ofa.cz/diabeticka-noha>
- [28] *Biofilm* [online]. USA: Contact Lens Spectrum, 2009 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://www.clspectrum.com/articleviewer.aspx?articleID=102915>
- [29] *Funkce kůže* [online]. Praha, 2016 [cit. 2016-05-16]. Dostupné z: http://www.wikiskripta.eu/index.php/Funkce_kuze
- [30] *Anatomie kůže* [online]. Praha: Meditorial, 2016 [cit. 2016-05-16]. Dostupné z: <http://www.hojeni-ran.cz/anatomie-lidske-kuze>
- [31] *Medon-solutio*. *Medon s.r.o.* [online]. Praha: Medon s.r.o., 2006 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://www.medon-solutio.cz/online2006/index.php?linkID=txt14>
- [32] *U lékaře* [online]. Praha: Praha, 2010 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://www.ulekare.cz/clanek/co-se-deje-v-rane-pri-hojeni-aneb-pod-mikroskopem-13096>
- [33] *Lékařská mikrobiologie*. Praha: Marvil, s.r.o., 1999. ISBN 859-4-315-0528-0.
- [34] *Staphylococcus* [online]. Praha: wikiskripta, 2016 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: http://www.wikiskripta.eu/index.php/Rod_Staphylococcus
- [35] *Bércový vřed* [online]. Praha: wikiskripta, 2013 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: http://www.wikiskripta.eu/index.php/Bercovy_vred
- [36] Biofilm a nehojící se rána. *Convatec* [online]. Praha: convatec, 2013 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://www.convatec.cz/media/files/wt/jak-zvladnout-biofilm-pri-lecbe-ran.pdf>
- [37] Macerace kůže. *Www.fixingyourfeet.com* [online]. USA: fixingyourfeet, 2014 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://www.fixingyourfeet.com/blog/2014/02/maceration-is-a-huge-problem>
- [38] *Ulcus cruris arteriosum* [online]. Amsterdam: huidziekten.nl, 2015 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://www.huidziekten.nl/zakboek/dermatosen/utxt/UlcusCruisArteriosum.htm>

- [39] *Decubitus* [online]. Florida: Michael Brevda, 2015 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://decubitusulcervictim.com/decubitus-ulcer-pictures>
- [40] Kůže. *Wikiskripta* [online]. Praha, 2016 [cit. 2016-05-16]. Dostupné z: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Kůže>
- [41] *Anatomie kůže* [online]. Praha: Meditorial, 2016 [cit. 2016-05-16]. Dostupné z: <http://www.hojeni-ran.cz/anatomie-lidske-kuze>
- [42] *Vnitřní rozdělení ran* [online]. Praha: Ošetřovatelství, 2011 [cit. 2016-05-17]. Dostupné z: <http://osetrovatelstvi.blog.cz/1101/hodnoceni-a-hojeni-ran>
- [43] *Moderní hojení* [online]. Praha: Hartmann - RICO a.s., 2015 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://modernihojeni.cz>
- [44] Hojení Rány. *Wikiskripta* [online]. 2014, X(X), 1 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: http://www.wikiskripta.eu/index.php/Hojení_rány
- [45] *Hojení rány* [online]. Praha: Wikiskripta, 2014 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: http://www.wikiskripta.eu/index.php/Hojení_rány
- [46] Mikrobiologie lidského organismu. *Mikrobiologie lidského organismu* [online]. 2015, x(x), 8 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: http://www.med.muni.cz/dokumenty/pdf/mikrobiologie_lidskeho_organismu.pdf
- [47] *Bércové vředy* [online]. Praha: hojeni-ran, 2014 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://www.hojeni-ran.cz/bercove-vredy>
- [48] Biopreparáty s chytrou houbou a jejich místo v dermatologii. *Biopreparáty*. 2013, X(X), 1.
- [49] Krizik. *Krizik.eu*. [online]. Plzeň: gymnázium Křižík, 2015 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://www.krizik.eu>
- [50] *Ulcus cruris venosum* [online]. Bulharsko: GlobalComercio Ltd., 2015 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://www.gcomercio.com/en/examplesok.html>
- [51] *Dekubity* [online]. Praha: Weil Electronic Devices s.r.o. WEIL ELECTRONIC DEVICES s.r.o., 2008 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://www.wed.cz/index.php?id=produkty&i=13&v=36>
- [52] *Podkožní vazivo* [online]. Praha: Biologie člověka, 2008 [cit. 2016-05-16]. Dostupné z: <http://www.biologiecloveka.estranky.cz/clanky/soustavy-cloveka/kozni-soustava.html>
- [53] *Osetrovatelstvi.blog.cz* [online]. Praha: osetrovatelstvi.blog.cz, 2011 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://osetrovatelstvi.blog.cz/1101/hodnoceni-a-hojeni-ran>
- [54] Diabetická noha. *Wikiskripta* [online]. Praha: wikiskripta, 2013 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: http://www.wikiskripta.eu/index.php/Diabetická_noha

- [55] Phytium oligandrum. *Chytra-houba.cz* [online]. Praha: chytra.houba, 2015 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://www.chytra-houba.eu/15,Polyversum-Biogarden-5g.html>
- [56] Biofilm a nehojící se rána. *Convatec* [online]. Praha: convatec, 2013 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://www.convatec.cz/media/files/wt/03-biofilm-a-nehojici-se-rana.pdf>
- [57] *Chronic wound* [online]. USA: MedPic, 2012 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: http://medpic.org/p/chronic_non-healing_wounds_pictures
- [58] *SkinCare* [online]. USA: MSKTC Experts, 2015 [cit. 2016-06-27]. Dostupné z: <http://www.msktc.org/sci/factsheets/skincare/Recognizing-and-Treating-Pressure-Sores>