



# archiwum medycyny sądowej i kryminologii

Praca poglądowa  
Review paper

Marta Rorat<sup>1</sup>, Tomasz Jurek<sup>1</sup>, Krzysztof Simon<sup>2</sup>

## Diagnostyka pośmiertna w przypadkach sepsy. Część I. Etiologia, epidemiologia i badania mikrobiologiczne Post-mortem diagnostics in cases of sepsis. Part 1. Aetiology, epidemiology and microbiological tests

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Polska

<sup>2</sup> Zakład Chorób Zakaźnych i Hepatologii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Polska

<sup>1</sup> Chair and Department of Forensic Medicine, Wrocław Medical University, Poland

<sup>2</sup> Department of Infectious Diseases and Hepatology, Wrocław Medical University, Poland

### Streszczenie

W praktyce klinicznej wypracowano skuteczną metodykę postępowania diagnostycznego w przypadku sepsy. Brakuje jednak standardów postępowania w diagnostyce pośmiertnej. Zakres badań ogranicza się do badania pośmiertnego i histopatologicznego. Sytuacja ta może prowadzić do błędów opiniodawczych dotyczących przyczyny zgonu oraz oceny prawidłowości postępowania medycznego. Przy podejrzeniu sepsy w dochodzeniach medyczno-sądowych konieczne jest uzyskanie szczegółowych informacji o okolicznościach zgonu (w tym o objawach i wynikach przeprowadzonych za życia badań) jeszcze przed wykonaniem badania pośmiertnego, a także jałowe pobranie materiału do badań mikrobiologicznych i interpretacja uzyskanych wyników na podstawie wiedzy z zakresu epidemiologii, patofizjologii oraz przebiegu klinicznego sepsy.

**Słowa kluczowe:** błąd opiniodawczy, zakażenie inwazyjne, diagnostyka pośmiertna.

### Abstract

Clinical practice has an effective methodology of diagnostic procedures to be followed in cases of sepsis. However, there are as yet no corresponding standards of action in post-mortem diagnostics. The scope of examinations is limited to an autopsy and histopathological tests. This situation may lead to errors in medico-legal opinions on the cause of death and in the assessment of appropriateness of medical procedures. In cases of suspected sepsis, medico-legal investigations require obtaining detailed information about the circumstances of death (including symptoms and results of intravital examinations) before autopsy is performed, as well as sterile collection of specimens for microbiological tests and interpretation of their results on the basis of knowledge of epidemiology, pathophysiology and clinical progression of sepsis.

**Key words:** error in medico-legal opinion, invasive infection, post-mortem diagnostics.

## Wprowadzenie

Niewyjaśnione okoliczności zgonu w przypadkach podejrzenia chorób zakaźnych stanowią wyzwanie dla współczesnej medycyny. Sepsa jest jednym z najpoważniejszych i nierzadko bardzo złożonych diagnostycznie stanów chorobowych. Jej przebieg determinuje wiele czynników – rodzaj i zjadliwość patogenu, droga wniknięcia, wydolność układu odpornościowego, ogólna kondycja zdrowotna czy też szybkość rozpoznania i rozpoczęcia właściwego leczenia. Niejednokrotnie nie ma możliwości ustalenia właściwego rozpoznania za życia pacjenta. Powodem może być nietypowy, podstępny czy też wręcz piorunujący przebieg zakażenia, brak wiedzy i doświadczenia lekarzy, ignorowanie zagrożenia, jakie niesie ze sobą zakażenie inwazyjne, czy też popełniane błędy medyczne. W praktyce często deprecjonuje się wartość sekcji zwłok w diagnozowaniu sepsy, odstępując tym samym od jej wykonania. Dotyczy to zwłaszcza sekcji patomorfologicznych. Takie decyzje wynikają pośrednio z przeświadczenia o braku patognomicznych cech sepsy w badaniu morfologicznym i histopatologicznym, trudności w interpretacji wyników badań mikrobiologicznych czy też z problemów finansowych szpitali. Brakuje przy tym precyzyjnego algorytmu postępowania w pośmiertnej diagnostyce chorób zakaźnych. Weryfikacja rozpoznania i ustalenie rzeczywistej przyczyny zgonu w każdym przypadku podejrzenia sepsy są jednak możliwe pod warunkiem przeprowadzenia pełnej diagnostyki pośmiertnej. Składają się na nią: prawidłowo przeprowadzone badanie pośmiertne, badania histopatologiczne, mikrobiologiczne i biochemiczne. Niezależnie od zakresu przeprowadzonych badań kluczowym elementem przy opiniowaniu o przyczynie zgonu jest prawidłowe wnioskowanie, czyli interpretacja uzyskanych wyników i ocena stwierdzonych nieprawidłowości. Ma to szczególne znaczenie w ocenie prawidłowości postępowania medycznego. Bez znajomości podstaw kliniki sepsy, danych wynikających z dokumentacji medycznej, objawów występujących przed śmiercią, przebiegu choroby i okoliczności zgonu istnieje duże ryzyko błędnej interpretacji wyników diagnostyki pośmiertnej. W takich sytuacjach łatwo o błąd opiniodawczy nie tylko dotyczący ustalenia przyczyny zgonu, lecz także poprawności leczenia.

## Introduction

Unexplained circumstances of death in cases of suspected infectious diseases pose a challenge to contemporary medicine. Sepsis is one of the most serious and often very diagnostically complex diseases. The course of sepsis is determined by multiple factors including the type and virulence of the pathogen, route of entry, efficiency of the immune system, general health status or speed of diagnosis and initiation of appropriate treatment. Frequently, there is no possibility of establishing a correct diagnosis during the patient's life because the infection follows an atypical, insidious or even fulminant course, physicians lack necessary knowledge and experience, the risk involved in invasive infection is ignored or medical errors are committed. In practice, the value of autopsy in the diagnosis of sepsis is often depreciated, and consequently a decision not to perform an autopsy is made. This happens especially with pathomorphological autopsies. Such decisions are indirectly motivated by the belief that sepsis has no pathognomonic features identifiable by morphological and histopathological analysis, by difficulties with the interpretation of results of microbiological tests or financial difficulties experienced by hospitals. Furthermore, there is no precise algorithm of action for post-mortem diagnostics of infectious diseases. However, it is possible to verify the diagnosis and establish the actual cause of death in every case of suspected sepsis, provided that complete post-mortem diagnostics is performed. It consists of a properly conducted autopsy coupled with histopathological, microbiological and biochemical tests. Regardless of the scope of examinations performed, the key factor in preparing opinions about the cause of death is appropriate inference, i.e. interpretation of findings and assessment of any abnormalities which are identified. This is particularly important for the assessment of appropriateness of medical procedures. Without sufficient knowledge of basic clinical aspects of sepsis, information included in patients' medical records, pre-death symptoms, course of the disease and circumstances of death, there is a high risk of an incorrect interpretation of post-mortem diagnostic findings. Such situations are conducive to errors in medico-legal opinions not only with respect to the establishment of the cause of death but also the appropriateness of treatment administered to the patient.

## Definicje

Sepsa wywołuje wiele różnych zmian patofizjologicznych w organizmie gospodarza, co wynika z systemowej, nadmiernej lub nieprawidłowej reakcji zapalnej, będącej odpowiedzią na zakażenie. Właściwa semantyka stanów zapalnych lub septycznych jest kluczowa dla prawidłowego wnioskowania, szczególnie w zakresie opiniowania sądowo-lekarskiego w przypadkach błędów medycznych. W praktyce klinicznej używa się następujących definicji i kryteriów rozpoznania:

**Zespół ogólnoustrojowej reakcji zapalnej (SIRS);** kryteria diagnostyczne (co najmniej 2 muszą być spełnione) [1, 2]:

- czynność serca powyżej 90 uderzeń/min,
- temperatura ciała poniżej 36°C lub powyżej 38°C,
- częstość oddechów spontanicznych powyżej 20/min; w badaniu gazometrycznym krwi tętnicznej PaCO<sub>2</sub> poniżej 4,3 kPa (32 mm Hg),
- liczba leukocytów we krwi poniżej 4000 komórek w mm<sup>3</sup> lub powyżej 12 000 komórek w mm<sup>3</sup>, lub obecność ponad 10% niedojrzałych neutrofilów.

**Bakteriemia, fungemia, wirusemia, parazytemia** – stan, w którym we krwi obecne są zdolne do życia bakterie, grzyby, wirusy, pasożyty [3].

**Sepsa** – SIRS będący wynikiem zakażenia; kryteria – udokumentowane lub podejrzewane zakażenie oraz niektóre z poniższych [1, 2]:

- wskaźniki ogólne:
  - gorączka (temperatura > 38,3°C),
  - hipotermia (temperatura wnętrza ciała < 36°C),
  - częstotliwość rytmu serca > 90/min,
  - *tachypnoë*,
  - zaburzenia świadomości,
  - znaczny obrzęk lub dodatni bilans płynów (> 20 ml/kg m.c. przez 24 godziny),
  - hiperglikemia [stężenie glukozy w osoczu > 140 mg/dl (> 7,7 mmol/l)] u osób bez cukrzycy;
- wskaźniki zapalenia:
  - leukocytoza (> 12 000/μl),
  - leukopenia (< 4000/μl),
  - prawidłowa liczba leukocytów z > 10% postaci niedojrzałych,
  - stężenie białka C-reaktywnego w osoczu > 2 SD od wartości średniej,
  - stężenie prokalcytoniny w osoczu > 2 SD od wartości średniej;

## Definitions

Sepsis triggers a wide spectrum of pathophysiological lesions in the host's body due to a systemic, excessive or abnormal inflammatory response to an infection. Appropriate semantics of inflammatory/septic conditions is of key importance for ensuring appropriate inference, particularly when medico-legal opinions are prepared in cases involving medical error. Clinical practice uses the definitions and diagnostic criteria listed below:

**Systemic inflammatory response syndrome (SIRS);** diagnostic criteria (at least two criteria must be satisfied) [1, 2]:

- heart rate greater than 90 bpm,
- body temperature less than 36°C or greater than 38°C,
- spontaneous respiratory rate greater than 20 breaths per minute; PaCO<sub>2</sub> on ABG below 4.3 kPa (32 mmHg),
- WBC less than 4,000 cells per mm<sup>3</sup> or greater than 12,000 cells per mm<sup>3</sup> or the presence of over 10% of immature neutrophils.

**Bacteraemia, fungaemia, viraemia, parasitaemia** – a condition in which viable bacteria, fungi, viruses or parasites are present in the blood [3].

**Sepsis** – SIRS due to infection; criteria – documented or suspected infection and some of the criteria listed below [1, 2]:

- general markers:
  - fever (body temperature > 38.3°C),
  - hypothermia (core temperature < 36°C),
  - heart rate > 90 bpm,
  - *tachypnoë*,
  - altered mental status,
  - significant oedema or positive fluid balance (> 20 ml/kg over 24 hours),
  - hyperglycaemia [plasma glucose > 140 mg/dl (> 7.7 mmol/l)] in the absence of diabetes;
- inflammatory markers:
  - leukocytosis (> 12,000/μl),
  - leukopenia (< 4,000/μl),
  - normal WBC count with > 10% immature forms,
  - plasma CRP > 2 SD above the normal value,
  - plasma pro-calcitonin > 2 SD above the normal value;

- wskaźniki hemodynamiczne: obniżone ciśnienie tętnicze (skurczowe < 90 mm Hg, średnie < 70 mm Hg) lub obniżenie skurczowego o > 40 mm Hg u dorosłych;
- wskaźniki dysfunkcji narządów:
  - hipoksemia ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$ ),
  - ostry skąpomocz (wydalanie moczu < 0,5 ml/kg m.c./godz. przez co najmniej 2 godziny mimo odpowiedniego nawodnienia),
  - zwiększenie stężenia kreatyniny o > 0,5 mg/dl (44,2  $\mu\text{mol/l}$ ),
  - zaburzenia krzepnięcia (INR > 1,5 lub APTT > 60 s),
  - niedrożność porażenna jelit (niesłyszalne szmery perystaltyki),
  - małopłytkowość (liczba płytek krwi < 100 000/ $\mu\text{l}$ ),
  - hiperbilirubinemia (stężenie bilirubiny całkowitej w osoczu > 4 mg/dl lub 70  $\mu\text{mol/l}$ );
- wskaźniki perfuzji tkankowej:
  - zwiększone stężenie mleczanów w surowicy (> 1 mmol/l),
  - opóźnienie powrotu kapilarnego lub wybroczyny skórne.

**Ciężka sepsa** – sepsa z towarzyszącą niewydolnością narządów lub hipoperfuzją tkanek; kryteria diagnostyczne [1, 2]:

- hipotensja spowodowana sepsą,
- zwiększone stężenie mleczanów w surowicy,
- diureza < 0,5 ml/kg m.c./godz. przez > 2 godziny, mimo odpowiedniego nawodnienia,
- ostre uszkodzenie płuc z  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 250$ , jeśli źródłem zakażenia nie jest zapalenie płuc,
- ostre uszkodzenie płuc z  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 200$ , jeśli źródłem zakażenia jest zapalenie płuc,
- stężenie kreatyniny > 2,0 mg/dl (> 176,8  $\mu\text{mol/l}$ ),
- stężenie bilirubiny > 2 mg/dl (> 34,2  $\mu\text{mol/l}$ ),
- liczba płytek krwi < 100 000/ $\mu\text{l}$ ,
- zaburzenia krzepnięcia krwi (INR > 1,5).

**Wstrząs septyczny** – hipotensja spowodowana przez sepsę, utrzymująca się pomimo odpowiedniego uzupełniania płynów [1, 2].

**Bakteryjne zakażenie inwazyjne** – to zakażenie, w którego przebiegu bakterie namnażają się w miejscach organizmu, które normalnie są jałowe (np. krew lub płyn mózgowo-rdzeniowy). Najczęściej występujące postaci to zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i sepsa. Należą do nich także m.in. zapalenie płuc z bakteriami, zakażenie tkanki podskórnej i powięzi lub ropne zapalenie stawów [4]. Należy

- haemodynamic markers: arterial hypotension (SBP < 90 mmHg, mean arterial pressure < 70 mmHg) or SBP decrease > 40 mmHg in adults;
- organ dysfunction markers:
  - hypoxaemia ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$ ),
  - acute oliguria (urine output < 0.5 ml/kg/h for at least 2 hours despite appropriate fluid resuscitation),
  - creatinine increase > 0.5 mg/dl (44.2  $\mu\text{mol/l}$ ),
  - coagulation abnormalities (INR > 1.5 or APTT > 60 s),
  - ileus (absent bowel sounds),
  - thrombocytopenia (platelet count < 100,000/ $\mu\text{l}$ ),
  - hyperbilirubinaemia (plasma total bilirubin > 4 mg/dl or 70  $\mu\text{mol/l}$ );
- tissue perfusion markers:
  - hyperlactataemia in blood serum (> 1 mmol/l),
  - decreased capillary refill or mottling.

**Severe sepsis** – sepsis accompanied by organ dysfunction or tissue hypoperfusion; diagnostic criteria [1, 2]:

- sepsis-induced hypotension,
- elevated serum lactate levels,
- urine output < 0.5 ml/kg/h for > 2 hours despite appropriate fluid resuscitation,
- acute lung injury with  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 250$  in the absence of pneumonia as infection source,
- acute lung injury with  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 200$  in the presence of pneumonia as infection source,
- creatinine > 2.0 mg/dl (> 176.8  $\mu\text{mol/l}$ ),
- bilirubin > 2 mg/dl (> 34.2  $\mu\text{mol/l}$ ),
- platelet count < 100,000/ $\mu\text{l}$ ,
- coagulopathy (INR > 1.5).

**Septic shock** – sepsis-induced hypotension persisting despite appropriate fluid resuscitation [1, 2].

**Invasive bacterial infection** – infection during which bacteria multiply in normally sterile body areas (e.g. blood or cerebrospinal fluid). The most commonly occurring forms are meningitis and sepsis. However, they also include pneumonia with bacteraemia, infection of subcutaneous tissue and fascia or suppurative arthritis [4]. It needs to be stressed that sepsis is not a term reserved for bacterial infections. Generalized infections and septic conditions can also be caused by fungi – fungaemia (e.g. *Candida* sp., *Aspergillus* sp. – particularly in immunosuppressed individuals), viruses – viraemia (e.g. influenza virus, eb-

podkreślić, że pojęcie sepsy nie jest zarezerwowane dla zakażenia bakteryjnego. Zakażenia uogólnione i stany septyczne mogą być również spowodowane przez grzyby – fungemia (np. *Candida* sp., *Aspergillus* sp. – szczególnie u osób będących w immunosupresji), wirusy – wirusemia (np. wirus grypy, ebola, dengi, Lassa i inne z grupy gorączek krwotocznych), a nawet pasożyty (riketsje, *Plasmodium* sp.).

## Wywiad chorobowy – okoliczności śmierci

Pierwszym etapem pracy obducenta, wymagającym realizacji przed przystąpieniem do sekcji zwłok, jest ustalenie okoliczności śmierci. Mimo że konieczność uzyskania informacji o okolicznościach zgonu (w tym historii choroby, procedur medycznych poprzedzających śmierć) wydaje się oczywista, praktyka pokazuje, że w wielu przypadkach – zwłaszcza zgonów w szpitalu – element ten jest całkowicie pomijany. Zdawkowa notatka policyjna lub lakoniczny wpis prokuratora na postanowieniu o przeprowadzeniu sekcji zwłok jest niewystarczający. Rzadko, w przypadku zgonów potencjalnie związanych z infekcją, lekarz dąży do zebrania jak największej liczby danych dotyczących przeszłości chorobowej, a przede wszystkim ostatniego okresu życia denata – występujących objawów chorobowych, przebiegu schorzenia, diagnostyki i leczenia przed rozpoczęciem diagnostyki pośmiertnej. Takie informacje pozyskiwane są dopiero po sekcji, przy opracowywaniu jej wyników lub w przypadku opiniowania o błąd medyczny. Wynika to z braku czasu w związku z licznymi zobowiązaniami biegłych medyków sądowych, trudności we współpracy z organami ścigania i zdobyciu takich danych, ale również z niedostatecznej wiedzy z zakresu chorób zakaźnych i ignorowania takich przypadków jako z definicji trudnych do udowodnienia. Pozyskanie odpowiednich materiałów, optymalnie przed przystąpieniem do sekcji (w praktyce trudne i wymagające zaangażowania), może być niezwykle pomocne. Pozwala ukierunkować dalszą diagnostykę – uwzględniając w niej badania mikrobiologiczne. Jest to o tyle istotne, że po otwarciu zwłok szansa na prawidłowe zabezpieczenie materiału znacznie spada. Wykazane podczas sekcji zwłok nieprawidłowości należy w miarę możliwości każdorazowo skonfrontować z danymi o występujących przed śmiercią objawach chorobowych. Znane są prace wykazujące

ola, dengue, Lassa and other haemorrhagic fever viruses), and even parasites (rickettsias, *Plasmodium* sp.).

## Medical history – circumstances of death

Before commencing an autopsy, the primary task that must be completed by a post-mortem examiner is establishing the circumstances of death. Although the need to collect information about the circumstances surrounding death (the deceased person's medical history, medical procedures preceding death) seems quite obvious, practice shows that in many cases, particularly if the death occurs in hospital, this element is completely ignored. A short police note or a laconic annotation made by a prosecutor on the decision to hold an autopsy is not sufficient. When dealing with deaths potentially linked to an infection, physicians rarely strive to collect as much data as possible about the deceased person's medical history and, in particular, the final period of life including pathological symptoms, course of the disease, diagnostics and therapy, before post-mortem diagnostics is undertaken. Collecting such information is usually delayed until after an autopsy, when autopsy findings are described or a medical error is claimed to be involved. This situation can be attributed to the lack of time due to the considerable workload of forensic pathology experts and difficulties in cooperation with law enforcement agencies, but also inadequate knowledge in the field of infectious diseases and a tendency to ignore such cases due to them being, by definition, difficult to prove. The acquisition of appropriate specimens preferably before undertaking an autopsy (a challenging task which requires a lot of commitment) can be extremely useful because it sets the course for further diagnostic procedures, including microbiological tests. This is especially significant in view of the fact that after the body is opened the chances for properly securing the necessary specimens are considerably decreased. All abnormalities detected during an autopsy should every time, to the extent possible, be confronted with data about disease symptoms present before death. There are reports indicating major discrepancies between autopsy findings and the clinical course, both in adults and in children, pointing to

istotne dyskrepancje pomiędzy obrazem sekcyjnym a przebiegiem klinicznym zarówno wśród osób dorosłych, jak i dzieci, wskazujące na wyraźnie niższą rozpoznawalność chorób infekcyjnych przyżyciowo [5]. Z drugiej strony poza skrajnymi przypadkami (noworodki, osoby starsze, ciężko i przewlekle chorzy, anergiczni, w stanie wegetatywnym itp.) choroby zakaźne, a tym bardziej sepsa, nie są przyczyną nagłych, bezobjawowych zgonów. Stąd też nadużyciem jest rozpoznanie sepsy jako przyczyny śmierci w sytuacji nagłego zgonu, jedynie na podstawie stwierdzonych w badaniu histopatologicznym izolowanych nacieków z komórek zapalnych w poszczególnych narządach (tym bardziej w jednym narządzie), bez weryfikacji historii choroby, okoliczności zgonu oraz braku potwierdzenia czynnika etiologicznego badaniami mikrobiologicznymi.

## Epidemiologia

Epidemiologia sepsy nie jest do końca poznana, brak jest odpowiednich, prospektywnych badań populacyjnych, szczególnie w zakresie częstości występowania oraz śmiertelności. Większość danych pochodzi z oddziałów intensywnej terapii. Dostępne statystyki wskazują, że liczba przypadków sepsy na świecie wzrasta. Posocznica pozostaje również główną przyczyną zachorowalności i śmiertelności wśród pacjentów hospitalizowanych [6]. W Polsce wg danych Polskiej Grupy Roboczej ds. Sepsy na podstawie wyników badania Prevalence różne rodzaje sepsy stwierdzono u 34% osób leczonych na oddziałach intensywnej terapii, ciężka sepsa była rozpoznawana u 16%, a wstrząs septyczny u 6%. Roczna zachorowalność na ciężką sepsę została oszacowana na 34/100 000 osób, a na wszystkie rodzaje sepsy na 91/100 000. Autorzy cytowanej pracy podkreślili jednocześnie, że dane te nie uwzględniają osób leczonych z powodu sepsy poza oddziałami intensywnej terapii, stąd liczby te w rzeczywistości mogą być nawet kilkakrotnie wyższe [7]. Niestety, brakuje większej liczby szczegółowych badań i raportów, które pozwoliłyby na określenie rzeczywistej częstości występowania sepsy, ciężkiej sepsy i wstrząsu septycznego w Polsce.

W Stanach Zjednoczonych wg Angusa ciężką sepsę stwierdza się aż u 2% chorych przyjmowanych do szpitala, częstość występowania oszacowano na 3/1000 osób w populacji. Liczba przypadków sięga w sumie 750 000 rocznie [8]. W Niemczech czę-

a markedly lower diagnosability of infectious diseases in living patients [5]. On the other hand, with the exception of extreme cases (newborns, the elderly, people with severe and chronic diseases, anergic patients, individuals in vegetative state, etc.), infectious diseases – and especially sepsis – do not cause sudden asymptomatic deaths. Therefore, it is far from justified to diagnose sepsis as the cause of sudden deaths solely on the basis of histopathologically determined isolated infiltrations of inflammatory cells in individual organs (all the more so in a single organ) without verifying the deceased person's medical history and circumstances of death, and in the absence of microbiological evidence of an aetiological factor.

## Epidemiology

The epidemiology of sepsis has not been entirely elucidated, and there are no appropriate prospective population studies, particularly with respect to sepsis incidence and mortality. The majority of data come from intensive therapy units. Available reports show that the number of sepsis cases across the world is rising. Septicaemia also continues to be the main cause of morbidity and mortality among hospitalized patients [6]. In Poland, according to data released by the Polish Work Group for Sepsis and based on results of the Prevalence study, different forms of sepsis were detected in 34% of ITU patients. Severe sepsis was diagnosed in 16%, and septic shock in 6% of patients. The annual incidence of severe sepsis was estimated at 34 cases per 100,000 population, and the annual incidence of all forms of sepsis – at 91 cases per 100,000 population. The authors of the cited study also emphasized that their data excluded individuals treated for sepsis outside of intensive therapy units, hence the actual figures could even be several times higher [7]. Unfortunately, there is a shortage of detailed studies and reports that would make it possible to determine the actual incidence of sepsis, severe sepsis and septic shock in Poland.

In the United States, according to Angus, severe sepsis is detected in as many as 2% of all hospital-admitted patients, and the incidence has been estimated at 3 cases per 1,000 population. The overall number of cases reaches 750,000 per annum [8]. In Germany, the annual incidence of severe sepsis has

stość występowania ciężkiej sepsy oszacowano na 76–110/100 000, w Holandii 54/100 000, w Hiszpanii 104/100 000, a w Wielkiej Brytanii 51/100 000 na rok [9–12]. Śmiertelność z powodu sepsy w badaniu europejskim SOAP wahała się w zależności od kraju pomiędzy 20 a 47%. Śmiertelność z powodu ciężkiej sepsy na oddziałach intensywnej terapii wynosiła średnio 32,2%, a 54,1% w przypadku wstrząsu septycznego [13]. Śmiertelność pacjentów z ciężką sepsą w Polsce wynosi ponad 50% [14, 15].

Istnieje wiele czynników bezpośrednio wpływających na zachorowalność i śmiertelność w sepsie. Jednym z nich jest wiek. Szczególnie narażone są skrajne grupy wiekowe: noworodki i niemowlęta oraz osoby po 65. roku życia [16–18]. Również przedstawiciele rasy czarnej i płci męskiej są bardziej narażeni na rozwój sepsy. U osób z ciężką sepsą i wstrząsem septycznym często stwierdza się istotne choroby współistniejące, co wiąże się z większym ryzykiem niepowodzenia terapeutycznego i zgonem. Najczęstszymi czynnikami predysponującymi do rozwoju posocznicy są: cukrzyca, nowotwór, schyłkowa niewydolność nerek, przewlekła obturacyjna choroba płuc, alkoholizm, marskość wątroby, zakażenie HIV oraz inne wrodzone i nabyte niedobory odporności [6, 16–18].

Powyższe dane wskazują, że sepsa stanowi obecnie jeden z najważniejszych i najtrudniejszych problemów zdrowotnych na świecie. Stąd też potrzeba skupienia większej uwagi na jej diagnozowaniu również po śmierci, nie tylko dla celów czysto klinicznych czy medyczno-sądowych, lecz także epidemiologicznych.

## Etiologia

Najczęstszym punktem wyjścia zakażenia w sepsie są płuca (ponad 50% na oddziałach intensywnej terapii), jama brzuszna, drogi moczowe, tkanki miękkie oraz pierwotne zakażenie krwi [16, 19–22]. Ustalenie źródła infekcji ma kluczowe znaczenie, gdyż w połączeniu z etiologią wiąże się bezpośrednio z leczeniem i rokowaniem. Z kolei dla medyka sądowego staje się podstawą do wnioskowania o przebiegu zdarzenia – zwłaszcza w kontekście oceny błędów medycznych.

Statystyki pokazują, że współcześnie sepsę najczęściej wywołują bakterie, a spośród nich bakterie Gram-dodatnie. Najczęstszymi izolowanymi

been estimated at 76–110/100,000, in the Netherlands at 54/100,000, in Spain at 104/100,000, and in the UK – at 51/100,000 [9–12]. The sepsis mortality determined in the European SOAP study varies between 20 and 47% depending on the country. The average mortality due to severe sepsis in ITUs ranged between 32.2% and 54.1% for septic shock [13]. In Poland, the mortality of patients with severe sepsis exceeds 50% [14, 15].

There are multiple factors directly affecting the morbidity and mortality of sepsis. One of them is age. Particularly high susceptibility to sepsis is noted in extreme age groups: newborns and infants, and people over 65 years of age [16–18]. A higher risk of sepsis is also noted among representatives of the black race and men. Especially patients with severe sepsis and septic shock are often diagnosed with serious concomitant diseases, which is associated with a higher risk of therapeutic failure and death. The most common factors predisposing to sepsis are: diabetes, cancer, end-stage renal disease, chronic obstructive pulmonary disease, alcoholism, cirrhosis, HIV infection and other congenital and acquired immunodeficiencies [6, 16–18].

The above data show that sepsis is currently one of the most serious and challenging health issues worldwide. Therefore, it is necessary to focus a greater attention on diagnosing sepsis also posthumously – not only for purely clinical or medico-legal, but also for epidemiological purposes.

## Aetiology

The most common sites of infection leading to sepsis are the lungs (over 50% of ITU cases), abdominal cavity, urinary tract, soft tissues and primary blood infection [16, 19–22]. Establishing a source of infection is of key importance because, in combination with aetiology, it is directly linked to therapy and patient prognosis. For forensic physicians, in turn, it becomes a basis for drawing inferences about the course of the event, particularly in the context of assessment of medical errors.

Statistics indicate that currently the most common sepsis-causing factor are bacteria and, among them, Gram-positive bacteria. The most commonly isolated Gram-positive pathogens are *Staphylococcus aureus*, coagulase-negative staphylococci (main-

patogenami Gram-dodatnimi są *Staphylococcus aureus*, koagulazoujemne gronkowce (głównie związane z zakażeniami szpitalnymi) oraz *Streptococcus pneumoniae*, a Gram-ujemnymi: *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Enterococcus* sp. i *Pseudomonas aeruginosa* [22–25]. Dużą uwagę zwraca się w ostatnim czasie na wzrost liczby zakażeń polietiologicznych, a także zakażenia bakteriami lekoopornymi, takimi jak gronkowce czy wielolekooporne szczepy Gram-ujemnych pałeczek. Związane jest to zarówno z rosnącą liczbą pacjentów obciążonych licznymi czynnikami ryzyka (przewlekłe choroby, zaburzeniami odporności), jak i z działalnością medyczną – długotrwałe hospitalizacje, inwazyjne procedury, nadużywanie antybiotyków [21, 26]. Również liczba przypadków inwazyjnych zakażeń grzybiczych w ostatnich latach rośnie, co wiąże się ze wzrostem liczby osób z grup ryzyka [27].

Niezwykle istotne znaczenie dla przebiegu sepsy i jej etiologii ma stan układu odpornościowego. W przypadku chorych leczonych immunosupresyjnie, z wrodzonymi lub nabytymi niedoborami odporności należy mieć na uwadze rozwój zakażeń oportunistycznych, niewystępujących wśród osób zdrowych.

Na etiologię sepsy wpływa wiek pacjenta. Wykazano, że zakażenia bakteriami Gram-ujemnymi częściej spotyka się u osób starszych – najczęstszą bakterią w grupie chorych powyżej 65. roku życia jest *Escherichia coli*. Z kolei *Streptococcus pneumoniae* jest najczęstszym patogenem u pacjentów w wieku 1–5 lat, a *Staphylococcus aureus* w grupie wiekowej 6–64 lat [25]. Wśród noworodków dominują bakterie Gram-ujemne – *Klebsiella* sp. i *Escherichia coli*, z Gram-dodatnich *Staphylococcus aureus*. W tej grupie wiekowej należy brać pod uwagę również takie patogeny, jak *Streptococcus* grupy B czy *Listeria monocytogenes* [28].

## Badania mikrobiologiczne

Mimo ograniczonej czułości posiew krwi jest wciąż uznawany za złoty standard diagnostyki sepsy i identyfikacji patogenów krążących we krwi [24, 29, 30]. W przypadku osób żywych dodatnie posiewy uzyskiwane są w ok. 30–60% przypadków. Odsetek dodatnich posiewów krwi wzrasta wraz z ciężkością objawów choroby [15, 31]. Oczywiście pozytywny wynik posiewu nie daje pewności, że wyhodowany

ly linked to hospital-acquired infections) and *Streptococcus pneumoniae*, and Gram-negative pathogens – *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Enterococcus* sp. and *Pseudomonas aeruginosa* [22–25]. A great amount of attention has recently been given to an increase in the number of infections of multiple aetiology as well as infections caused by drug-resistant bacteria (e.g. staphylococci or multi-drug-resistant strains of Gram-negative rods). The trend is attributable both to the growing number of patients affected by multiple risk factors (chronically ill, with immunity disorders) and to medical practices (long-term hospitalizations, invasive procedures, overuse of antibiotics) [21, 26]. Recent years have also seen an increase in the number of invasive fungal infections, which entails a growth in the number of patients in risk groups [27].

The course of sepsis and its aetiology are determined to a significant extent by the condition of the immune system. In patients undergoing immunosuppressive therapy, with congenital and acquired immunodeficiencies, consideration should be given to the development of opportunistic infections that are not found among healthy individuals.

The aetiology of sepsis is influenced by patient age. Infections with Gram-negative bacteria have been found to occur more frequently in the elderly – the most common bacteria type identified in patients over 65 years of age is *Escherichia coli*. In contrast, *Streptococcus pneumoniae* is the most common pathogen detected in patients aged 1–5 years, and *Staphylococcus aureus* – in the age group of 6–64 years [25]. Neonatal infections are caused predominantly by Gram-negative bacteria – *Klebsiella* sp. and *Escherichia coli*, and Gram-positive bacteria – *Staphylococcus aureus*. Other major pathogens in this age group include group B streptococcus and *Listeria monocytogenes* [28].

## Microbiological tests

Despite its limited sensitivity, blood culture continues to be regarded as a gold standard in the diagnosis of sepsis and in the identification of pathogens circulating in the bloodstream [24, 29, 30]. In living patients, positive cultures are obtained in ca. 30–60% of cases. The proportion of positive blood cultures rises along with the severity of disease symptoms [15, 31]. Naturally, a positive culture result does not give



patogen jest faktyczną przyczyną sepsy, a nie skutkiem kontaminacji.

Procedury dotyczące pobierania próbek poszczególnych płynów ustrojowych i tkanek do badania mikrobiologicznego są bardzo dobrze opracowane dla osób żywych. Brakuje jednak tak szczegółowych wytycznych w przypadku diagnostyki pośmiertnej. Badania wykazały, że podczas sekcji zwłok w przypadkach sepsy tylko w 1/3 przypadków posiewy krwi dają wynik dodatni. Z pewnością na wyniki negatywnie wpływa powszechnie stosowana antybiotykoterapia. Mając na uwadze specyfikę sekcji zwłok, przy rutynowym sposobie jej przeprowadzania, istnieje dodatkowo duże prawdopodobieństwo kontaminacji próbki materiału patogenami z innych tkanek lub narządów. Ponadto, przeprowadzając pośmiertną diagnostykę mikrobiologiczną, a następnie interpretując jej wyniki, należy uwzględnić ryzyko pośmiertnej translokacji bakterii jelitowych do krwi i różnych tkanek, co znacznie utrudnia wnioskowanie. Kolejną przyczyną fałszywie dodatnich wyników posiewów krwi to bakteremia, czyli obecność bakterii bez towarzyszących objawów zapalnych. Takie stany zdarzają się wielokrotnie w ciągu życia i nie są przyczyną zgonu. Istnieje również teoria rozprzestrzenienia się bakterii podczas agonii (*agonia spread*), co wiąże się z utratą integralności błon śluzowych podczas hipoksemii i niedokrwienia. Prowadzi to ostatecznie do inwazji bakterii do krwiobiegu, nie stanowi jednak przyczyny śmierci [32, 33].

Wykazano, że prawdopodobieństwo rzeczywistej inwazji bakteryjnej zależy od wyhodowanego gatunku. Stwierdzenie takich patogenów, jak *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes* i *S. agalactiae*, różnych bakterii z grupy *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Bacteroides fragilis*, *Candida* sp. i *Cryptococcus neoformans* w większości przypadków będzie prawdziwym zakażeniem, a nie fałszywie dodatnim wynikiem badania. Z kolei takie bakterie, jak gronkowce koagulazoujemne (wyjątek – szpitalne zakażenia odcewnikowe), *Propionibacterium* sp., *Bacillus* sp. czy też *Corynebacterium* sp. i *Micrococcus* sp., wskazują na kontaminację próbki [34, 35].

Z uwagi na brak jednoznacznych standardów postępowania w pośmiertnej diagnostyce mikrobiologicznej w celu zmniejszenia ryzyka kontaminacji

any certainty that the cultured pathogen is the actual cause of sepsis and not an effect of contamination.

While there are well-developed procedures for taking samples of different bodily fluids and tissues for microbiological tests from living patients, there are no corresponding detailed guidelines for post-mortem diagnostics. Research has shown that blood cultures performed during autopsy in sepsis cases are positive only in one third of all cases. A factor which has a clear adverse effect on blood culture results is the common use of antibiotic therapy. Taking into consideration the specific nature of the autopsy examination, it must be noted that a routine autopsy carries an additional high risk of contaminating specimens with pathogens from other tissues or organs. Furthermore, post-mortem microbiological diagnostics and interpretation of its results must take due account of the risk of post-mortem translocation of intestinal bacteria into the blood and various tissues, which makes it markedly more difficult to draw correct inferences. Another cause of falsely positive blood culture results is bacteraemia, i.e. the presence of bacteria without associated symptoms of inflammation. Bacteraemic conditions occur commonly during life and are not a cause of death. There is also a theory of agonal spread claiming that bacteria invade the body during dying. The process is linked to the loss of mucosal integrity during hypoxaemia and ischaemia. Agonal spread ultimately leads to the bacterial invasion of the bloodstream, however without constituting the cause of death [32, 33].

The likelihood of a true bacterial infection has been shown to depend on the cultured species. The identification of pathogens from the group comprising *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes* and *S. agalactiae*, different bacteria from the groups of *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Bacteroides fragilis*, *Candida* sp. and *Cryptococcus neoformans* in the majority of cases signifies a true infection rather than a falsely positive test result. In contrast, bacteria including coagulase-negative Staphylococci (with the exception of hospital-acquired catheter-associated infections), *Propionibacterium* sp., *Bacillus* sp. or *Corynebacterium* sp. and *Micrococcus* sp. point to the contamination of sample [34, 35].

As there are no generally recognized standards of action in post-mortem microbiological diagnostics,

należy przy pobieraniu materiału do badania przestrzegać zasad aseptyki i antyseptyki stosowanych u ludzi żywych. Dla jakości i wiarygodności wyniku kluczowe są trzy determinanty: czas – wszelkie czynności powinny zostać wdrożone w możliwie najkrótszym czasie od zgonu; sterylność – materiał biologiczny powinien być pobierany w sposób jałowy, z użyciem sterylnych narzędzi, po uprzednim zdezynfekowaniu skóry denata, do jałowych pojemników; droga pobrania materiału – konieczne jest przestrzeganie zasad zbliżonych do tych stosowanych w medycynie klinicznej, unikanie pobierania płynów ustrojowych do badań mikrobiologicznych po otwarciu jam ciała lub rozpreparowaniu narządów. Płyn mózgowo-rdzeniowy powinien zostać pobrany z nakłucia podpotylicznego lub lędźwiowego; mocz z nakłucia nadłonowego; krew z serca, żyły podobojczykowej, ewentualnie w przypadku otwarcia zwłok, lecz przed otwarciem lub usunięciem jakiegokolwiek narządu – z żyły biodrowej. W przypadku pobierania narządów do posiewu (np. śledziona, zastawka, płuco) powinno się przede wszystkim zadbać o jałowość, przewidziane do zbadania tkanki należy pobrać w pierwszej kolejności, zaraz po otwarciu jamy ciała, z użyciem sterylnych narzędzi – unikając skażenia płynami ustrojowymi. Pobrane materiały należy natychmiast umieścić w jałowych pojemnikach, w przypadku płynów i wymazów w pojemnikach z podłożem wzrostowym lub transportowym, następnie jak najszybciej dostarczyć do laboratorium mikrobiologicznego i posiać zarówno w kierunku bakterii tlenowych, jak i beztlenowych, co warto zaznaczyć na skierowaniu. Przy zastosowaniu wszystkich wymienionych środków ostrożności ryzyko kontaminacji może zostać zmniejszone do poziomu zbliżonego jak w wypadku próbek uzyskanych od pacjentów żywych [36, 37].

Na wzrost i inwazję bakterii po śmierci wpływa ich gatunek, ale również warunki (np. temperatura, wilgotność), w jakich znajdują się zwłoki. Co do zasady materiał do badań mikrobiologicznych należy pobierać w jak najkrótszym czasie od zgonu (15–24 godzin), choć niektóre badania pokazują, że czas, jaki upłynął od zgonu, nie ma aż tak dużego znaczenia dla hodowli bakterii. Samo ryzyko translokacji bakteryjnej jest małe, pod warunkiem że próbki materiału do badań zostaną pobrane w ciągu 24 godzin od śmierci lub gdy zwłoki, do czasu przeprowadzenia sekcji, przebywają w temperaturze 4°C [32]. Z całą pewnością nie należy rezygnować

in order to reduce the risk of contamination, the collection of specimens for testing should be performed with the same aseptic and antiseptic techniques which are used in living patients. The quality and reliability of results depend on three key determining factors: time – all activities should be completed within the shortest possible time after death; sterility – biological material should be collected aseptically, after disinfecting the skin of the deceased person, using sterile instruments and into aseptic containers; route of sample collection – the rules to be followed should be similar to those used in clinical medicine, and bodily fluids for microbiological tests should not be collected after the opening of body cavities or the removal of body organs. Cerebrospinal fluid should be collected by suboccipital or lumbar puncture, urine – by suprapubic puncture, blood – from the heart or the subclavian vein or, following the opening of the body but before the opening or removal of any organ – from the iliac vein. When organ samples are collected for culture (e.g. spleen, valve, lung) the primary focus should also be on following aseptic procedures. Tissues for testing should be harvested immediately after opening a body cavity, using sterile instruments and avoiding contamination with bodily fluids. Collected specimens should be immediately transferred to aseptic containers, and bodily fluids and swabs should be placed in containers with appropriate growth or transport media. The specimens should then be delivered, as soon as possible, to a microbiological laboratory and cultured to detect the presence of both aerobic and anaerobic bacteria, which should be indicated in the referral. By following all the precautions listed above, it is possible to reduce the risk of contamination to a level similar to that associated with specimens harvested from living patients [36, 37].

The process of post-mortem bacterial growth and invasion is determined not only by the species but also by the conditions (e.g. temperature, humidity) in which the body is stored. As a rule, specimens for microbiological tests should be taken within the shortest possible time after death (15–24 h), though some studies show that the time elapsed after death does not, in fact, carry a great significance for bacterial culturing. The risk of bacterial translocation is low as long as specimens for tests are collected within 24 hours after death or the body is stored at a temperature of 4°C until the time of autopsy [32]. However, microbiological diagnostics should still be

z diagnostyki mikrobiologicznej, nawet jeśli upłynęło wiele godzin od zgonu, ale trzeba uwzględnić ten fakt w interpretacji uzyskanych wyników [37].

Sama interpretacja wyniku badania mikrobiologicznego bywa trudna, toteż niezbędna jest współpraca z doświadczonym specjalistą mikrobiologiem. Nierzadko w posiewie uzyskuje się wzrost kilku gatunków bakterii, co w większości przypadków wskazuje na kontaminację próbki (ewentualnie translokację bakterii), która staje się tym samym nie-diagnostyczna, chyba że jeden z patogenów uda się wykazać w innych próbkach lub tkankach. Najlepsze i najistotniejsze diagnostycznie w przypadkach sepsy są krew i śledziona. Najtrudniejsza w posiewie jest tkanka płuca – z uwagi na fizjologiczną kolonizację bakteriami oraz pośmiertny spływ śliny do dolnych partii płuc, co wielokrotnie prowadzi do wyników fałszywie dodatnich. W przypadku nerek i wątroby, ale także innych narządów należy wziąć pod uwagę możliwość zakażenia, które nie skutkuje rozwojem posocznicy, a jest zakażeniem miejscowym – stąd każdorazowo istnieje potrzeba weryfikacji uzyskanych wyników [36, 37]. Celem zwiększenia czułości badań mikrobiologicznych wskazane jest także pobieranie kilku próbek z różnych miejsc, w tym również krwi [37].

Na podstawie znajomości epidemiologii zakażeń można podejrzewać, który z patogenów jest najbardziej prawdopodobny jako przyczyna sepsy. Wykazano bowiem, że np. *Mycobacterium tuberculosis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* czy też *Neisseria meningitidis* rzadko przypadkowo dostają się do krwi i innych płynów ustrojowych i tkanek, z reguły ich obecność jest wynikiem kontaminacji [36]. Trudności w uzyskaniu wyniku mogą być związane z sytuacją słabego wzrostu kolonii bakteryjnych – ważne jest pobranie odpowiedniej ilości materiału biologicznego (optymalnie 20–30 ml krwi, co najmniej 1 ml płynu mózgowo-rdzeniowego) [24, 38]. Badania pokazują jednak, że w większości przypadków skąpego wzrostu będziemy mieć do czynienia z rzeczywistym zakażeniem, o ile wynik badania będzie korespondował z obrazem klinicznym i zmianami histopatologicznymi [32].

Przeprowadzanie badań mikrobiologicznych ma szczególne znaczenie w przypadku nagłych zgonów u dzieci. W każdym przypadku podejrzenia nagłego niespodziewanego zgonu niemowlęcia (SUDI) i zespołu nagłej śmierci niemowląt (nagłej śmierci łóżeczkowej; SIDS) należy obligatoryjnie wykonać

undertaken even if many hours have elapsed from death, though the fact should be taken into account in the interpretation of results [37].

The interpretation of microbiological test results can also be a challenging task, hence collaboration with an experienced microbiologist is required. It is not uncommon for a culture test to yield several species of bacteria, which in the majority of cases suggests specimen contamination (or bacterial translocation). If this is the case, the specimen is non-diagnostic, unless the presence of one of the pathogens is also demonstrated in other specimens or tissues. The best and the most diagnostically valuable specimen types in cases of sepsis are the blood and spleen. In contrast, lung tissue is the most difficult tissue to culture in view of physiological bacterial colonization and post-mortem flow of saliva into the lower lungs, frequently resulting in false positive results. During examinations of the kidneys and liver, but also other body organs, consideration must be given to the possibility of an infection which does not lead to septicaemia but rather represents a localized infection. Therefore, results of such examinations always require suitable verification [36, 37]. In order to increase the sensitivity of microbiological tests, it is also recommended to take specimens from several different sites, including the blood [37].

Based on the knowledge of the epidemiology of infections, it is possible to select a pathogen which represents the most likely cause of sepsis. It has been demonstrated, for example, that *Mycobacterium tuberculosis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* or *Neisseria meningitidis* rarely enter the blood, other bodily fluids and tissues by accident. Their presence is usually an effect of contamination [36]. Difficulties with obtaining a result can also arise from the poor growth of bacterial colonies. To reduce that risk, it is important to collect an appropriate amount of a biological material (optimally 20–30 ml of blood, minimum 1 ml of cerebrospinal fluid) [24, 38]. Studies reveal, however, that in the majority of cases poor bacterial growth indicates a true infection, especially when the result corresponds with clinical findings and histopathological changes [32].

Microbiological tests are particularly important in cases of sudden death in children. Whenever SUDI (sudden unexpected death of an infant) or SIDS (sudden infant death syndrome) is suspected, it is obligatory to perform a blood and cerebrospinal

posiew krwi i płynu mózgowo-rdzeniowego. Podejrzewa się, że zakażenia uogólnione mogą mieć związek z powyższymi zespołami. Co ważne, jeśli proces jest gwałtowny, zmiany zapalne w narządach mogą być słabo wyrażone i nieadekwatne do posiewów bakteryjnych. W takiej sytuacji należy dążyć do wykluczenia fałszywie dodatniego wyniku, np. poprzez wykonanie dwóch posiewów – tuż po śmierci i przed sekcją, z zachowaniem należytych środków ostrożności w zakresie czystości i sterylności [32].

Dużym krokiem naprzód w diagnostyce infekcji bakteryjnych i grzybiczych jest rozwój metod molekularnych polegających na wykrywaniu materiału genetycznego drobnoustrojów. Molekularne metody diagnostyki sepsy obejmują techniki oparte na reakcji hybrydyzacji (FISH), amplifikacji (PCR), *real-time* PCR czy też mikromacierzy. W przeciwieństwie do metod hodowlanych, do detekcji nie jest wymagany wzrost drobnoustrojów. Techniki molekularne znajdują szczególne zastosowanie w diagnostyce zakażeń patogenami, których hodowla *in vitro* jest trudna, długotrwała lub niemożliwa (w szczególności wirusy wywołujące zapalenie płuc, serca i mózgu, pasożyty). Ich niewątpliwą zaletą w porównaniu z metodami konwencjonalnymi jest krótki czas oczekiwania na wynik, wysoka czułość i swoistość [37–40]. W ciągu ostatnich lat rozwinęła się nowa metoda diagnostyki mikrobiologicznej – spektrometria masowa typu MALDI-TOF, która może stanowić alternatywę dla badań molekularnych. Metoda oparta jest na analizie białek, takich jak białka rybosomalne, co pozwala zarówno na identyfikację drobnoustrojów – bakterii i grzybów, jak i na precyzyjną identyfikację konkretnych gatunków [41]. Z uwagi na wysokie koszty oraz ograniczony dostęp do laboratoriów wyspecjalizowanych w diagnostyce molekularnej czy dysponujących spektrometrem masowym techniki te nie są szeroko rozpowszechnione w medycynie klinicznej, a tym bardziej w medycynie sądowej. Biorąc pod uwagę ograniczoną użyteczność klasycznych metod mikrobiologicznych, należy dążyć do rozszerzenia zakresu wykonywanych badań o nowoczesne techniki, zwłaszcza w przypadkach nietypowych i w okresie epidemii.

## Wnioski

1. Ustalenie przyczyny zgonu w przypadku podejrzenia choroby zakaźnej wymaga wiedzy z zakre-

fluid culture. The two syndromes are hypothesized to be linked to generalized infections. Crucially, if the disease process is very rapid, inflammatory lesions found in the body organs can be poorly defined and incompatible with bacterial culture results. If this is the case, attempts must be made to rule out a false positive result, for example by performing two cultures: one immediately after death and another one before autopsy, following all sanitation and sterility standards [32].

A major step forward in the diagnostics of bacterial and fungal infections is the development of molecular methods based on the detection of pathogenic genetic material. Molecular methods of diagnosing sepsis include techniques based on the reaction of hybridization (FISH), amplification (PCR), real-time PCR or microarrays. As opposed to culture methods, molecular techniques do not require the growth of pathogens for their detection. They are particularly useful in the diagnostics of infections caused by pathogens whose *in vitro* culture is impossible or difficult, or time-consuming (especially viruses responsible for pneumonia, myocarditis or encephalitis; or parasites). Molecular techniques also have other undeniable advantages over conventional methods, namely a short period of waiting for results, high sensitivity and specificity [37–40]. Recent years have seen the development of a new method of microbiological diagnostics – MALDI-TOF mass spectrometry, which can be an alternative to molecular tests. The method relies on the analysis of proteins (e.g. ribosomal proteins), which makes it possible both to detect pathogens (bacteria and fungi) and to precisely identify specific species [41]. Because of high costs and limited access to laboratories specializing in molecular diagnostics or having a mass spectrometer, the new techniques are not very widely used in clinical medicine, let alone in forensic medicine. Considering the fact that classical microbiological methods only have limited applicability, the scope of available examinations should be expanded by adding advanced techniques, especially in atypical cases and during epidemics.

## Conclusions

1. Establishing the cause of death in cases of suspected infectious disease requires the knowledge

- su epidemiologii, etiologii, diagnostyki i przebiegu sepsy.
2. Pierwszym etapem pracy obducenta w przypadku podejrzenia sepsy jest ustalenie okoliczności śmierci, jeszcze przed przystąpieniem do badania pośmiertnego.
  3. Badania mikrobiologiczne są podstawowym elementem diagnostyki pośmiertnej sepsy. Materiał należy pobierać w sposób jałowy, jak najszybciej po śmierci.
  4. Istnieją nowe metody diagnostyki mikrobiologicznej, które mogą stanowić uzupełnienie, a nawet alternatywę dla standardowych posiewów.
- of epidemiology, aetiology, diagnostics and progression of sepsis.
2. The first task of a post-mortem examiner in cases of suspected sepsis is ascertaining the circumstances of death, even before commencing an autopsy.
  3. The basic element of the post-mortem diagnostics of sepsis are microbiological tests. Specimens for testing must be collected aseptically and within the shortest possible time after death.
  4. There are new methods of microbiological diagnostics which can be used as a useful addition or even an alternative to standard cultures.

*Autorzy deklarują brak konfliktu interesów.*

*The authors declare no conflict of interest.*

## Piśmiennictwo

### References

1. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, Jaeschke R, Osborn TM, Nunnally ME, Townsend SR, Reinhart K, Kleinpell RM, Angus DC, Deutschman CS, Machado FR, Rubenfeld GD, Webb S, Beale RJ, Vincent JL, Moreno R. Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including The Pediatric Subgroup. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med* 2013; 39: 165-228.
2. Jankowski M, Jaeschke R. Postępowanie w ciężkiej sepsie i we wstrząsie septycznym. Podsumowanie międzynarodowych wytycznych Surviving Sepsis Campaign 2012. Dostępne na: <http://www.mp.pl/oit/sepsa/show.html?id=84857>.
3. Samet A, Bronk M, Śledzińska A, Labon M, Rybak B. Bakteriemia szpitalne. *Przegl Epidemiol* 2006; 60: 35-41.
4. Kadłubowski M, Skoczyńska A, Hryniewicz W. Zasady postępowania diagnostycznego w przypadkach podejrzenia ostrego bakteryjnego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych lub innego inwazyjnego zakażenia bakteryjnego nabytego poza szpitalem. Dostępne na: <http://www.gis.gov.pl/ckfinder/userfiles/files/EP/choroby%20zaka%C5%BAne/rekomendacjeDIA.pdf>.
5. Bonds LA, Gaido L, Woods JE, Cohn DL, Wilson ML. Infectious diseases detected at autopsy at an urban public hospital, 1996-2001. *Am J Clin Pathol* 2003; 119: 866-872.
6. Moss M. Epidemiology of sepsis: race, sex, and chronic alcohol abuse. *Clin Infect Dis* 2005; 41 Suppl 7: S490-497.
7. Kübler A, Mayzner-Zawadzka E, Durek G, Gaszyński W, Nestorowicz A, Karpel E. Częstość występowania sepsy w oddziałach intensywnej terapii w Polsce. *Anestezjol Intens Ter* 2007; 2: 90-94.
8. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001; 29: 1303-1310.
9. Engel C, Brunkhorst FM, Bone HG, Brunkhorst R, Gerlach H, Grond S, Gruendling M, Huhle G, Jaschinski U, John S, Mayer K, Oppert M, Olthoff D, Quintel M, Ragaller M, Rossaint R, Stuber F, Weiler N, Welte T, Bogatsch H, Hartog C, Loeffler M, Reinhart K. Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. *Intensive Care Med* 2007; 33: 606-618.
10. Van Gestel A, Bakker J, Veraart ChPWM, Van Hout BA. Prevalence and incidence of severe sepsis in Dutch intensive care units. *Crit Care* 2004; 8: 153-162.
11. Padkin A, Golfrad C, Brady AR, Young D, Black N, Rowan K. Epidemiology of severe sepsis occurring in the first 24 hrs in intensive care units in England, Wales and Northern Ireland. *Crit Care Med* 2003; 31: 2332-2338.
12. Esteban A, Frutos-Vivar F, Ferguson ND, Peñuelas O, Lorente JA, Gordo F, Honrubia T, Algora A, Bustos A, García G, Diaz-Regañón IR, de Luna RR. Sepsis incidence and outcome: contrasting the intensive care unit with the hospital ward. *Crit Care Med* 2007; 35: 1284-1289.
13. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, Moreno R, Carlet J, Le Gall JR, Payen D. Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients Investigators. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med* 2006; 34: 344-353.
14. <http://sepsa.rejestr.edu.pl/>.
15. Gierek D, Kuczera M, Dąbek J, Piłat D, Kurtok-Nowak A. Analiza leczenia chorych z ciężką sepsą w Oddziale Anestezjologii i Intensywnej Terapii Górnośląskiego Centrum Medycznego. *Anestezjol Intens Ter* 2011; 1: 22-28.



16. Artero A, Zaragoza R, Nogueira JM. Epidemiology of severe sepsis and septic shock. In: *Severe Sepsis and Septic Shock – Understanding a Serious Killer*. Fernandez R (ed.). InTech 2012. Available at: <http://www.intechopen.com/books/severe-sepsis-and-septic-shock-understanding-a-serious-killer/epidemiology-of-severe-sepsis-and-septic-shock>.
17. Martin GS, Mannino DM, Moss M. The effect of age on the development and outcome of adult sepsis. *Crit Care Med* 2006; 34: 15-21.
18. Esper AM, Moss M, Lewis CA, Nisbet R, Mannino DM, Martin GS. The role of infection and comorbidity: Factors that influence disparities in sepsis. *Crit Care Med* 2006; 34: 2576-2582.
19. Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, Moreno R, Lipman J, Gomersall C, Sakr Y, Reinhart K. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA* 2009; 302: 2323-2329.
20. Sartelli M, Catena F, Di Saverio S, Ansaloni L, Malangoni M, Moore EE, Moore FA, Ivatury R, Coimbra R, Leppaniemi A, Biffl W, Kluger Y, Fraga GP, Ordonez CA, Marwah S, Gerych I, Lee JG, Tranà C, Coccolini F, Corradetti F, Kirkby-Bott J. Current concept of abdominal sepsis: WSES position paper. *World J Emerg Surg* 2014; 9: 22.
21. Annane D, Aegerter P, Jars-Guincestre MC, Guidet B. Current epidemiology of septic shock: the CUB-Rea Network. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 165-172.
22. Heffner AC, Horton JM, Marchick MR, Jones AE. Etiology of illness in patients with severe sepsis admitted to the hospital from the emergency department. *Clin Infect Dis* 2010; 50: 814-820.
23. Opal SM, Garber GE, LaRosa SP, Maki DG, Freebairn RC, Kinasewitz GT, Dhainaut JF, Yan SB, Williams MD, Graham DE, Nelson DR, Levy H, Bernard GR. Systemic host responses in severe sepsis analyzed by causative microorganism and treatment effects of drotrecogin alfa (activated). *Clin Infect Dis* 2003; 37: 50-58.
24. Patel R, Vetter EA, Harmsen WS, Schleck CD, Fadel HJ, Cockerill FR 3rd. Optimized pathogen detection with 30- compared to 20-milliliter blood culture draws. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 4047-4051.
25. Diekema DJ, Pfaller MA, Jones RN; SENTRY Participants Group. Age-related trends in pathogen frequency and antimicrobial susceptibility of bloodstream isolates in North America: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-2000. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 20: 412-418.
26. Lim CJ, Cheng AC, Kong DC, Peleg AY. Community-onset bloodstream infection with multidrug-resistant organisms: a matched case-control study. *BMC Infect Dis* 2014; 14: 126.
27. Warnock DW. Trends in the epidemiology of invasive fungal infections. *Nihon Ishinkin Gakkai Zasshi* 2007; 48: 1-12.
28. Zaidi AK, Thaver D, Ali SA, Khan TA. Pathogens associated with sepsis in newborns and young infants in developing countries. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28 (1 Suppl): S10-S18.
29. Barenfanger J, Graham DR, Kolluri L, Sangwan G, Lawhorn J, Drake CA, Verhulst SJ, Peterson R, Moja LB, Ertmoed MM, Moja AB, Shevlin DW, Vautrain R, Callahan CD. Decreased mortality associated with prompt Gram staining of blood cultures. *Am J Clin Pathol* 2008; 130: 870-876.
30. Kirn TJ, Weinstein MP. Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19: 513-520.
31. Guidet B, Aegerter P, Gauzit R, Meshaka P, Dreyfuss D. Incidence and impact of organ dysfunctions associated with sepsis. *Chest* 2005; 127: 942-951.
32. Morris JA, Harrison LM, Partridge SM. Postmortem bacteriology: a re-evaluation. *J Clin Pathol* 2006; 59: 1-9.
33. Weinbaum FI, Lavie S, Danek M, Sixsmith D, Heinrich GF, Mills SS. Doing it right the first time: quality improvement and the contaminant blood culture. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 563-565.
34. Weinstein MP. Blood culture contamination: persisting problems and partial progress. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 2275-2278.
35. Schiffman RB, Strand CL, Meier FA, Howanitz PJ. Blood culture contamination: a College of American Pathologists Q-Probes study involving 640 institutions and 497134 specimens from adult patients. *Arch Pathol Lab Med* 1998; 122: 216-221.
36. Lucas S. The autopsy pathology of sepsis-related death. *Current Diagnostic Pathology* 2007; 13: 375-388.
37. Rutty GN. *Essentials of Autopsy Practice: Advances, Updates and Emerging Technologies*. Springer-Verlag, London 2006.
38. Liesenfeld O, Lehman L, Hunfeld KP, Kost G. Molecular diagnosis of sepsis: New aspects and recent developments. *Eur J Microbiol Immunol* 2014; 4: 1-25.
39. Tissari P, Zumla A, Tarkka E, Mero S, Savolainen L, Vaara M, Aittakorpi A, Laakso S, Lindfors M, Piiparinen H, Mäki M, Carder C, Huggett J, Gant V. Accurate and rapid identification of bacterial species from positive blood cultures with a DNA-based microarray platform: an observational study. *Lancet* 2010; 375: 224-230.
40. Clancy CJ, Nguyen MH. Finding the “missing 50%” of invasive candidiasis: how nonculture diagnostics will improve understanding of disease spectrum and transform patient care. *Clin Infect Dis* 2013; 56: 1284-1292.
41. Bruker Polska sp. z o.o. [www.bruker.pl](http://www.bruker.pl).

**Adres do korespondencji**

Tomasz Jurek  
Katedra i Zakład Medycyny Sądowej  
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
ul. J. Mikulicza-Radeckiego 4  
50-345 Wrocław, Polska  
e-mail: tomasz.jurek@umed.wroc.pl

**Address for correspondence**

Tomasz Jurek  
Chair and Department of Forensic Medicine  
Wrocław Medical University  
J. Mikulicza-Radeckiego 4  
50-345 Wrocław, Poland  
e-mail: tomasz.jurek@umed.wroc.pl

