



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

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

Mikrobiologická diagnostika *Ureaplasma urealyticum* a *Mycoplasma hominis* u žen s urogenitálními infekcemi

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program:

SPECIALIZACE VE ZDRAVOTNÍCTVÍ

Autor: Gabriela Slípková

Vedoucí práce: Mgr. Lenka Myslivcová

České Budějovice 2023

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem „*Mikrobiologická diagnostika *Ureaplasma urealyticum* a *Mycoplasma hominis* u žen s urogenitálními infekcemi*“ jsem vypracoval/a samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

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

V Českých Budějovicích dne 6.8.2023

.....
Gabriela Slípková

Poděkování

Chtěla bych tímto poděkovat své vedoucí práce Mgr. Lence Myslivcové za odborné vedení práce, cenné rady, trpělivost, čas a ochotu kdykoliv pomoci, při psaní bakalářské práce. Dále děkuji své rodině a přátelům za trpělivost, pomoc a podporu po celou dobu mého studia.

Mikrobiologická diagnostika *Ureaplasma urealyticum* a *Mycoplasma hominis* u žen s urogenitálními infekcemi

Abstrakt

Tato bakalářská práce je zaměřena na diagnostiku bakterií *Ureaplasma urealyticum* a *Mycoplasma hominis* u žen s urogenitálními infekcemi. Teoretická část práce se obecně zabývá urogenitálními infekcemi, jako jsou infekce močových cest, záněty reprodukčního systému žen a jejich nejčastější bakteriální původci. V další části je popsána problematika *Ureaplasma urealyticum* a *Mycoplasma hominis*.

Metodika a cíle práce zahrnovaly laboratorní průkaz mykoplazmat, dále průkaz citlivosti na antibiotika pomocí kitů. Dalším úkolem bylo celkové laboratorní zpracování výtěrů z pochvy. Dále statistické vyhodnocení výsledků pacientek v Unilabs k.s. laboratoři. Statistické vyhodnocení vedlo k zjištění společné přítomnosti *Ureaplasma* a *Mycoplasma* s některými dalšími mikroorganismy osidlujícími ženský urogenitál. Pro statistickou část jsem použila výsledky pacientek za období 1.1.2019 – 31.12.2022. Celkem jsem měla k dispozici 859 výsledků. Na základě nich jsem zjistila, že v největším počtu převažuje pozitivní nález *Ureaplasma urealyticum*, poté v menší míře zastoupení byla smíšená přítomnost *Ureaplasma urealyticum* a *Mycoplasma hominis*. V malém počtu byl pozitivní pouze nález s *Mycoplasma hominis*. U přidružených mikroorganismů byl nejčastější výskyt laktobacilů spojený s pozitivitou *Ureaplasma urealyticum*, dále nález *Gardnerella vaginalis* zjištěný u všech pozitivit s mykoplazmaty, nejvyšší u *Ureaplasma urealyticum*. Dále v podobné míře zastoupení *Streptococcus anginosus* a *Candida albicans* opět v největší míře zastoupen u pozitivity *Ureaplasma urealyticum*. Ostatní mikroorganismy byly zastoupeny v menší míře a jsou popsány detailněji ve výsledcích práce.

Klíčová slova

Ureaplasma urealyticum; *Mycoplasma hominis*; urogenitální infekce; koinfekce; mykoplazmata; laktobacily; *Gardnerella vaginalis*

Microbiological diagnosis of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in women with urogenital infections

Abstract

This bachelor's thesis is focused on the diagnosis of bacteria *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in women with urogenital infections. The theoretical part of the work deals with urogenital infections, such as urinary tract infections, reproductive tract infections system of women and their most common bacterial agents. The issue is described in the next section *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis*.

The methodology and goals of the thesis included laboratory evidence of mycoplasmas, as well as evidence of sensitivity to antibiotics by using some kits. Another task was laboratory processing of swabs from the vagina. Furthermore, the statistical evaluation of the results of patients in Unilabs k.s. laboratory. Statistical evaluation led to the detection of common presence of Ureaplasmas and Mycoplasmas with some other microorganisms inhabiting the female urogenital tract. For the statistical part, I used the results of the patients for the period 1/1/2019 – 12/31/2022. I had a total of 859 results available. Based on them, I found out that the largest number of positive findings predominates *Ureaplasma urealyticum*, followed by a mixed infection of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* to a lesser extent. Only in small number have been found positive *Mycoplasma hominis*. Among the associated microorganisms, the most frequent occurrence of lactobacilli was associated with *Ureaplasma urealyticum* positivity. *Gardnerella vaginalis* was found in all positivities with mycoplasmas, the highest in *Ureaplasma urealyticum*. Furthermore, *Streptococcus anginosus* and *Candida albicans* are represented to a similar extent, again to the greatest extent represented in the case of *Ureaplasma urealyticum* positivity. Other microorganisms were represented to a lesser extent and are described in more detail in the results of the thesis.

Keywords

Ureaplasma urealyticum; *Mycoplasma hominis*; urogenital infections; coinfections; mycoplasmas; lactobacilli; *Gardnerella vaginalis*

Obsah

Úvod.....	8
1 Teoretická část.....	9
1.1 Anatomie urogenitálního traktu žen	9
1.1.1 Močové ústrojí žen.....	9
1.1.2 Pohlavní ústrojí žen.....	9
1.2 Infekce močových cest (IMC).....	11
1.2.1 Mikrobiologické vyšetření moči.....	12
1.3 Záněty reprodukčního systému žen	13
1.4 Fyziologie a patologie poševního prostředí	14
1.5 Mikrobiologické vyšetření infekcí pochvy a léčba.....	14
1.6 Vulvovaginální infekce	16
1.6.1 Bakteriální vaginóza (BV).....	16
1.6.2 Vulvovaginální kandidóza (VVK).....	17
1.6.3 Aerobní vaginitida (AV)	17
1.6.4 Trichomoniáza	17
1.6.5 Poševní laktobacilóza.....	18
1.7 Nejčastější původci urogenitálních infekcí	18
1.7.1 Bakteriální původci.....	18
1.7.2 Viroví původci.....	19
1.7.3 Mykotičtí původci.....	20
1.7.4 Parazitární původci	20
1.7.5 Bakteriální původci parazitující intra i extracelulárně na eukaryotických buňkách urogenitálního traktu.....	21
1.8 Charakteristika mykoplazmat.....	21

1.8.1 Historie	21
1.8.2 Taxonomie	22
1.8.3 Charakteristika a morfologie	22
1.8.4 Patogeneze a onemocnění způsobená urogenitálními mykoplazmaty	23
1.8.5 Laboratorní diagnostika	25
1.8.6 Léčba	26
2 Cíl práce a hypotéza	27
3 Metodika	28
3.1 Úvod k datům a vzorkům	28
3.2 Odběr, transport a příjem materiálu	28
3.3 Laboratorní vyšetření <i>Ureaplasma urealyticum</i> a <i>Mycoplasma hominis</i>	29
3.3.1 Postup přípravy na vyšetření positivity/negativity mykoplazmat	29
3.3.2 Postup přípravy na vyšetření citlivosti mykoplazmat k ATB	30
3.4 Laboratorní vyšetření výtěru z pochvy	32
3.4.1 Bakteriální kultivace z pochvy u žen ve fertilním věku	32
3.4.2 Barvení dle Grama na vyšetření MOP	33
4 Výsledky	34
4.1 Statistika vyšetření UU a MH z cervixu u žen	34
4.2 Statistika vyšetření výtěrů z pochvy a výskyt spojený s pozitivitou UU a MH	38
5 Diskuze	41
6 Závěr	44
7 Seznam použitých zdrojů	45
8 Přílohy	51
9 Seznam zkratk	57

Úvod

Základními vlastnostmi mykoplazmat, které se liší od jiných mikroorganismů, je nepřítomnost buněčné stěny. To jim zajišťuje odolnost vůči antibiotikům (ATB), která působí na buněčnou stěnu, dále je nelze barvit dle Grama. Patří mezi nejmenší prokaryotické bakterie se schopností dělení. Jejich genom je brán za jeden z nejmenších, proto jsou odkázány na příjem organických molekul z prostředí. Běžně se přenášejí nechráněným pohlavním stykem, nebo může dojít k vertikálnímu přenosu. Mykoplazmata patří do třídy *Mollicutes*, ty mají v přírodě široké spektrum hostitelů od člověka, přes živočichy, až po mikroorganismy vyskytující se u rostlin, ve vodě a půdě. Nejvýznamnější pro člověka jsou rody *Ureaplasma* a *Mycoplasma*. Nejčastěji osidlujícími mikroorganismy urogenitálního traktu jsou zástupci *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* a *Mycoplasma hominis* a *Mycoplasma genitalium*. Sliznici dýchacího ústrojí osidluje *Mycoplasma pneumoniae*. Mykoplazmata se mohou chovat jako komenzálové, oportunní, či primárně lidské patogeny.

Ureaplasma urealyticum se dá běžně izolovat z genitální flóry sexuálně aktivních žen i mužů, kteří nevykazují žádné klinické známky nemoci. *Mycoplasma hominis* potom v menším zastoupení. Faktem ale zůstává, že i přes běžnou kolonizaci urogenitálního traktu, se u žen vyskytují při různých vaginálních zánětech (zejména při bakteriální vaginóze), urologických infekcích a endometritid. U těhotných pacientek se mohou v souvislosti s touto infekcí vyskytnout zdravotní komplikace. U novorozenců se pak mohou účastnit při vzniku chronického onemocnění plic. U mužů se s největší pravděpodobností účastní vzniku non-gonorrhoidických uretritid a prostatitid.

Ke klinickému zpracování se nejčastěji odebírá výtěr z cervixu, nebo pochvy. K diagnostice se využívá kultivačních metod, které jsou náročnější na zpracování a čas. Pro snadnější identifikaci bakterií a stanovení jejich množství byla zavedena metoda polymerázové řetězové reakce (PCR), která má vysokou spolehlivost a urychluje významně diagnostiku.

Cílem této práce bylo seznámení s *Ureaplasma urealyticum* a *Mycoplasma hominis* v souvislosti s urogynekologickými infekcemi. Osvojit si laboratorní diagnostiku těchto mikroorganismů a dále laboratorní diagnostiku poševního výtěru. Zpracovat laboratorní výsledky z laboratorního systému LIS a vyhodnotit je.

1 Teoretická část

1.1 Anatomie urogenitálního traktu žen

1.1.1 Močové ústrojí žen

Močový systém (*Systema Urinarium*)

- Pravá a levá ledvina (*ren dexter et ren sinister*)
- Močové cesty: ledvinové kalichy (*calices renales*), ledvinové pánvičky (*pelvis renalis*), pravý a levý močovod (*ureter dexter et ureter sinister*), nepárové orgány močový měchýř (*vesica urinaria*) a močová trubice (*urethra*)

Ženská močová trubice je mnohem kratší (cca 4 cm), než u mužů. Stěna ureteru je složena ze sliznice (*tunica mucosa*), svaloviny (*tunica muscularis*) a vazivové adventicie (*tunica adventitia*) na vnější straně. *Tunica mucosa* vytváří v příčném průřezu trubicí hvězdicovitý vzhled tím, že je složena v nízké podélné řasy. Na jejím povrchu je přechodný epitel (*lamina epithelialis*), který se při roztažení trubice zplošťuje a snižuje. Dále pak směrem do hloubky slizniční vazivo řídne a mění svůj vzhled na podslizniční vazivo. *Tunica muscularis* je tvořena hladkou svalovinou a smíšeným vazivem, je tvořena vnitřní podélnou a zevní cirkulární vrstvou a v pánevním úseku se napojuje třetí zevní podélná vrstva. Která je před vstupem do močového měchýře zesílená svalovými pruhy a smyčkami, ty vytvářejí tzv. ureterovou pochvu, která brání reflexu moče z močového měchýře zpět do močové trubice. *Tunica adventitia* má na svém povrchu řídké kolagenní vazivo pod kterým se nacházejí cévy ureteru. Nad adventicií najdeme svalstvo dna pánevního, které je příčně pruhované. (Čihák, 2004; Martínek et al., 2009)

1.1.2 Pohlavní ústrojí žen

Ženské pohlavní orgány (*Organa genitalia feminina*)

- Ženské vnitřní pohlavní orgány (*Organa genitalia feminina interna*):
 - Párové orgány: vaječníky (*ovaria*), vejcovody (*tubae uterinae*)
 - Nepárové orgány: děloha (*uterus*), pochva (*vagina*)

- Ženské zevní pohlavní orgány (*Organa genitalia feminina externa, vulva*):
 - Párové orgány: velké a malé stydké pysky (*labia majora pudendi et labia minora pudendi*), vestibulární žláza (*glandula vestibularis major*)
 - Nepárové orgány: poševní předsíň (*vestibulum vaginae*), poštváček (*clitoris*), stydký pahorek (*mons pubis*), předsíňové topořivé těleso (*bulbus vestibuli*)

Stěny jsou 3 – 4 mm silné, elastické a měkké, proto lze vyšetřit okolní orgány jako dělohu a vaječníky. Stěna pochvy je složena ze sliznice, svaloviny a vazivové adventicie. Poševní sliznice je kryta mnohvrstevnatým dlaždicovým epitelem s náznaky rohovatění. Slizniční vazivo vyběhá v papily do epitelu, zde se nacházejí nervová zakončení. Sliznice má absenci žláz, proto se sekret do pochvy dostává z děložního hrdla. Povrch děložního čípku, který vybíhá do pochvy je kryt stejným epitelem jako pochva. Epitel se mění cyklicky pod vlivem ovariálních hormonů během menstruačního cyklu. Má vyšší tloušťku v proliferační fázi menstruačního cyklu. Pomocí vaginální cytologie můžeme mikroskopicky sledovat stav buněk a jejich případné patologické změny. V povrchové vrstvě buněk epitelu se vytváří a hromadí keratin a vyplňuje cytoplazmu buněk dlaždicového epitelu. K tomu dochází v proliferační fázi, pod vlivem estrogenů. Po ovulaci dochází ke změnám v této vrstvě pod vlivem progesteronu. V buňkách středních vrstev epitelu se hromadí glykogen. Dále se z rozpadlých a odloučených buněk pomocí *Lactobacillus bifidus* štěpí glykogen na kyselinu mléčnou, která vytváří kyselé pH v pochvě a má tak antimikrobiální účinky. Mezi epitelovými buňkami se nachází dendritické Langerhansovy buňky, které mají funkci antigen prezentujících buněk. Slizniční vazivo je kolagenní a řídké s elastickými vlákny a nervovými zakončeními a volnými místy, kde se při povrchu vazivových papil vyskytují genitální Krauseho tělíska a četné žíly a pleteně. Dále jsou ve vazivu lymfocyty a neutrofilní leukocyty, které se dostávají na povrch epitelu a jejich přítomnost v cytologii značí sekreční fázi menstruačního cyklu. Ve svalovině se nacházejí cirkulární a longitudinální snopce hladké svaloviny a v dolní části pochvy jsou příčně pruhované svalové snopce pánevního dna. Adventicie je z hustšího kolagenního vaziva s větším množstvím cév, nervů a gangliových buněk nervového systému, plynule pak navazuje na okolní vazivo zvané parakolpium, kde se nachází Vaterova-Paciniho tělíska (Čihák, 2004; Martínek et al., 2009).

1.2 Infekce močových cest (IMC)

IMC a infekce ledvin jsou po infekcích dýchacích cest druhé nejčastější onemocnění. Uroinfekce postihují přibližně 10 – 20 % žen, jsou proto významným zdravotnickým problémem. Infekce je častější u žen, než u mužů a to v poměru 20:1. Četnost výskytu onemocnění se zvyšuje s rostoucím věkem. U dívek mezi 1 – 2 lety se pohybuje kolem 1 – 2 % a spíše koreluje s anatomickými abnormalitami. Poté je výskyt nízký a narůst přichází s pubertou a sexuální aktivitou, dále je vyšší výskyt v těhotenství. Nejvyšší incidence je však ve stáří, kolem 65 let je to 20 % a v 80 letech vystoupá až na 50 %. Zde hrají roli systémová onemocnění, změny uložení pánevních orgánů a hospitalizace. U přibližně 2 % všech hospitalizovaných je prokazatelná nozokominální uroinfekce z důvodu instrumentálních výkonů a katetrizace (Mašata et al., 2004; Schindler, 2010; Hurych et al., 2021).

Močové cesty jsou za normálních okolností poměrně rezistentní vůči osídlení patogenních mikroorganismů a to díky mnoha mechanismům jako je hladký odtok moči, pH moči, hlen uromukoid, který nedovolí adhezenci bakterií, které se přichycují pomocí p-fimbrií a slizniční imunoglobuliny A (IgA). Znakem močové infekce je pak bakteriurie spojená s klinickými příznaky, ale může být i bezpříznaková. Přičemž nález mikroorganismů do 10^4 /ml moči je brán jako asymptomatická bakteriurie bez klinického významu, ale může mít u některých imunodeficientních osob a těhotných žen význam. Výskyt symptomatické infekce je brán nad 10^5 /ml bakterií v moči. Hlavními formami IMC je uretritida, cystitida a pyelonefritida. U uretritidy je většinu dodáván přívlastek nespecifická, negonokoková (NGU). U žen nemůžeme bezpečně odlišit, symptomy od cystitidy a tak se vzácně diagnostikuje samostatně. Cystitida označuje zánět močového měchýře, u kterého je třeba odlišit bakteriální a nebakteriální formu. A pyelonefritida označuje klinicky stav s bolestmi v bedrech, horečkou, zimnicí a nálezem bakteriurie a pyurie. Dále se mohou a nemusí přidružit jiné komplikace, může dojít k reinfekci, relapsu a perzistenci bakterií. Symptomy u žen jsou rozmanité, ale nejčastějšími příznaky je dysurie, časté močení, urgence, nykturie a dyskomfort v podbříšku. Může se projevit i hematurií, či inkontinencí. Naopak příznaky infekce horních cest močových jsou vysoká teplota, třesavka, bolest v bedrech, zvracení. Neléčené infekce mohou vyústit až v urosepsi, či komplikované infekce s poškozením ledvin (Mašata et al., 2004; Schindler, 2010; Hurych et al., 2021).

1.2.1 Mikrobiologické vyšetření moči

Mikrobiologické vyšetření moči se provádí buď do sterilní širokohrdlé nádoby, nebo do komerčních transportních Uricult systémů, pacientka si musí před odběrem omýt zevní ústí uretry a odebrat střední proud moči (nejlépe první ranní moč) přibližně 3 – 5ml. První proud snižuje množství kontaminantů z dolní části uretry. Moč musí být uložena do chladničky a odeslána do 2 hodin do laboratoře, pokud ne, musí být uschována při 4 °C maximálně 24 hodin a v jiných případech využít setů Uricult. Vyšetření je kvantitativní a za kritérium infekce se bere nad 10⁵/ml bakterií v moči. Mikroskopickým vyšetřením je dále zjišťována přítomnost leukocytů u signifikantní bakteriurie se dále stanovuje citlivost k antibiotikům. Jiné možnosti odběru jsou cévkováním, nebo odběr z permanentního katétru, popřípadě u malých dětí do adhezivních sáčků (Ryšková 2008; Schindler, 2010; Hurych et al., 2021).

Při nekomplikované cystitidě je léčba zahájena ještě před výsledkem mikrobiologické kultivace, z důvodu dřívějšího zaléčení. V případě zjištění rezistence bakterií na již podávaná antibiotika, jsou nasazena jiná a léčba je upravena. Kultivace moči je však důležitým vyšetřením k odlišení rekurentní infekce od perzistující a také při komplikovaném průběhu. Nejčastějšími patogenními mikroorganismy osidlující močové cesty jsou gram-negativní (G⁻) bakterie z čeledi *Enterobacterales* (až 90 % všech uroinfekcí) s dominantními zástupci uropatogenní *E. coli*, dále *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Serratia*. Nozokominální původce spojovaný s výkonem na močových cestách je *Pseudomonas aeruginosa*. Z gram-pozitivních (G⁺) bakterií jsou to rody *Enterococcus* a *Streptococcus* představují cca 3 % uroinfekcí. *Enterococcus faecalis* se vyskytuje u 15 % nozokominálních infekcí. *Staphylococcus epidermidis* se nejvíce vyskytuje u pacientů s katetrizací. *Streptococcus agalactiae* je častý u gravidních pacientek a pacientek s *diabetes mellitus* 1. typu. *Staphylococcus saprophyticus* se nachází u 10 % pohlavně aktivních žen. Houbovitě mikroorganismy jako například *Candida albicans* se vyskytují u imunokompetentních osob nebo jsou spojovány s *diabetem mellitem* a permanentní katetrizací. Neobvyklé uropatogenní mikroorganismy jako *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* či *Gardnerella vaginalis* se mohou vyskytovat u nemocných, kteří mají příznaky akutní močové infekce, ale jejich bakteriologický nálezn v moči je negativní (Halaška, 2004; Votava, 2005; Mašata et al., 2006; Hurych et al., 2021).

Moč vyšetřujeme pomocí kultivačních médií nejčastěji na CLED agaru, který je obohacen o laktózu a cystein, chybí elektrolyty. Na něm následně vyrůstají jak G⁻, tak G⁺ bakterie. (Votava 2000; Mašata et al., 2006; Hurych et al., 2021).

1.3 Záněty reprodukčního systému žen

Zánětlivá onemocnění pohlavních orgánů se častěji vyskytují u žen, než u mužů. Důvodem je anatomické postavení, propojení orgánů a fyziologické procesy reprodukčního systému jako jsou menstruace, pohlavní styk a porod. Potraty a intrauterinní výkony zvyšují riziko zánětu, dále každý prodělaný zánět může zanechat různé následky (neplodnost, pánevní bolesti, poruchy funkce). Některé virové onemocnění (HPV) mají vliv na vznik cervikálního karcinomu. Proti gynekologickým zánětům má ženské tělo některé anatomické a funkční mechanismy jako jsou malé a velké stydké pysky, které fungují jako uzávěr stydké štěrbin, normální poševní mikroflóra, děložní hrdlo a hlenová zátka v cervikálním kanále, endometrium, peristaltiku vejcovodů směrem k dutině děložní a fimbrie ústí vejcovodu, které se při zánětu stáhnou a slepí a tím zneprístupní cestu infekce do dutiny břišní.

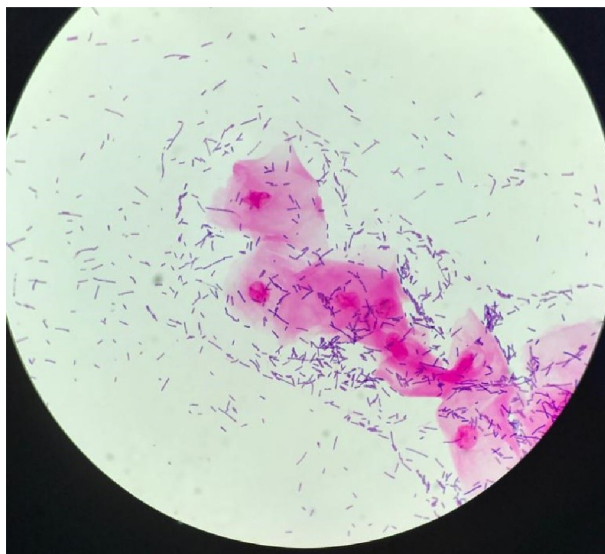
Záněty dělíme:

- zánět zevních rodidel (*vulvitis*): bývá spojen se zánětem pochvy (*vulvovaginitis*), častěji v dětském věku a stáří;
- zánět pochvy (*colpitis, vaginitis*): původci mohou být aerobní i anaerobní mikroorganismy;
- zánět děložního hrdla (*cervicitis, endocervicitis*): významně se podílejí sexuálně přenosné nemoci (STD) (chlamydie, gonokoky);
- zánět dělohy (*endometritis, myometritis, perimetritis*): vznik nejčastěji po potratu, nebo porodu;
- zánět děložních přívěšků (*adnexitis*): podílí se nejčastěji ascendentní infekce;
- zánět výstelky malé pánve (*pelveoperitonitis*): vzniká nejčastěji přenosem infekce z vejcovodu;
- zánět vaziva malé pánve (*parametritis*): nejčastěji přechodem mikroorganismů z děložního hrdla.

(Mašata et al. 2004; Špaček et al., 2013)

1.4 Fyziologie a patologie poševního prostředí

Celý poševní systém je nejlepší chápat jako ekosystém, který se skládá z poševní sliznice, která vytváří vhodné poměry pro osídlení kolonizující flóry. Schopnost vyvolávat poševní infekce mají jak exogenní mikroorganismy, tak i endogenní hostitelské mikroorganismy. Ve vaginální flóře probíhají fyziologické interakce mezi exogenními a endogenními mikroorganismy, ti soupeří o přežití na poševní sliznici. Řady pooperačních a poporodních infekcí se účastní mikroorganismy běžně osidlující poševní sliznici, které mohou putovat z dolní části genitálního traktu do horní, kde způsobí endocervikální infekci. Mikroorganismy, které jsou spouštěčem vaginální infekce, jsou často nalezeny u asymptomatických žen. Poševní epitel je ovlivňován bakteriální flórou a estrogenní stimulací, tím se vytváří určité prostředí a podmínky pro mikrobiální kolonizaci. Proto je celý ekosystém v určité flexibilní rovnováze a změna byť je jednoho faktoru ovlivní ostatní části. Pochva osídlená laktobacily (Obr 1.), má vhodné prostředí, ve kterém se nemohou usídlit a množit škodlivé bakterie, nebo plísňe. (Mašata et al., 2006;)



Obrázek 1: Mikroskopické zobrazení laktobacilů (G+ tyčinky) a vaginálních epitelálních buněk (zdroj: vlastní)

1.5 Mikrobiologické vyšetření infekcí pochvy a léčba

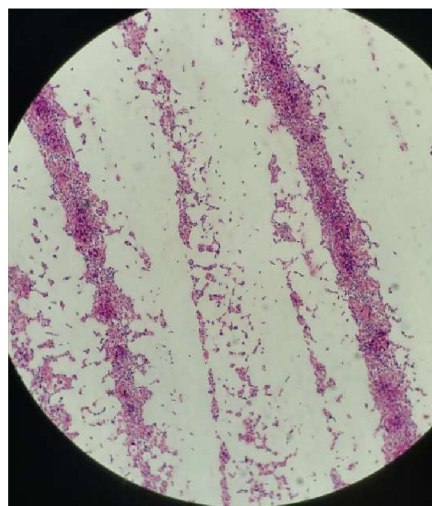
Za vaginálními infekcemi může stát celá řada různých patogenních mikroorganismů. Přesnost diagnózy závisí na výsledcích laboratorních vyšetření a jejich zařazení

do kontextu s klinickými symptomy a celkovou anamnézou a aktuálním zdravotním stavem pacientky. V laboratořích se rutinně provádějí kultivace bakterií na selektivně-diagnostických půdách, mikroskopie a stanovení citlivosti na antimikrobiální látky (Julák, 2003; Špaček et al., 2013).

Gynekolog odebírá stěr tampónem ze zadní stěny pochvy za použití gynekologických zrcadel a vloží jej do transportní Amiesovy půdy. Výtěr se použije na vyšetření bakterií, gardnerel, hemofilů. Druhá vyšetřovací kultivační půda (C. A. T. Swab) slouží na bakteriologické vyšetření. Pro mikroskopické vyšetření mikrobiálního obrazu poševního (MOP) se provede nátěr na dvě podložní sklíčka pro barvení dle Gramma a Giemsky a nechá volně zaschnout bez fixace. Uchování a transport je při pokojové teplotě do 24 hodin (Ryšková, 2008).

V laboratoři se provádí kultivace na selektivních půdách, které jsou specifické, pro dané bakterie a kvasinky. Po naočkování se získá čistá kultura mikroorganismu. Pro růst mikrobů musíme zajistit také různé podmínky, někdy zvýšený přísun CO₂ nebo přidání antibiotického disku chloramfenikol na zvýšení selektivity kvasinek, nebo selektivní půdu s krví a jiné. (Klener et al., 2009; Špaček, 2013).

Mikroskopické vyšetření je dalším krokem k hodnocení stavu, využívá se světelného mikroskopu. Rozlišujeme zde základní barvení dle Grama a Giemsky. Gramovo barvení je nápomocné při stanovení Nugentova skóre, které hodnotí výskyt základních mikrobů. Čím vyšší je číslo skóre, tím je méně laktobacilů a více anaerobních bakterií. Dále je barvení jak dle Giemsky (zobrazí trichomonády), tak dle Grama (zobrazí ostatní původce) využíváno k stanovení MOP. Hodnotí se přítomnost dlaždicových epitelů, nebo výskyt clue cells (typické tečkování na epitelových poševních buňkách při nativní mikroskopii, také rovnoměrně granulovaná cytoplazma a nejasný okraj dle výkladu Gardnera a Dukese jsou to *Gardnerella vaginalis* (GAVA) na povrchu buněk (Obr. 2), také je u nálezu clue cells typická přítomnost charakteristických dlouhých tyčí a absence, či nízký počet laktobacilů).



Obrázek 2: Mikroskopické zobrazení GAVA z narostlé kultury (zdroj: vlastní)

Dále přítomnost leukocytů a kvasinek, či trichomonád. Výsledkem je dle mikroskopického nálezu a výtoku zařazení do systému MOP 0-6, kdy (0: premenerché/postmenopauzální, 1: fyziologický stav, 2: nehnisavý BV, 3: hnisavý zánět bakteriální vaginitida, 4: kapavka, 5: trichomoniáza, 6: kvasinková infekce). Dalšími metodami vyšetření je test pH spolu s nativním preparátem, test PCR, biochemické testy a imunofluorescence. Při terapii se nejčastěji využívají tetracykliny, makrolidy, fluorochinoly a metronidazol, vždy dle výsledků vyšetření (Hurych et al., 2021).

1.6 Vulvovaginální infekce

Jsou jedním z nejrozšířenějších problémů, se kterými navštěvují pacientky gynekologickou ambulanci. U většiny pacientek je zapotřebí jednoduché vyšetření a léčba, u menší části žen je pak obtížnější stanovit přesnou diagnózu. Symptomy jsou výtok, svědění, pálení zevních rodidel. Do této skupiny infekčních onemocnění řadíme vulvovaginální kandidózu, trichomoniázu, bakteriální vaginózu, aerobní vaginitidu, atrofickou vaginitidu, *herpes genitalis* a laktobacilózu. K základním vyšetřením patří klasické hodnocení MOP, který však může podat neúplný a falešně negativní výsledek, protože u 26 % žen nediodagnostikuje patologický poševní výtok. Proto se dnes významně rozšiřují diagnostické metody a mimo klasické kultivace mikroskopického vyšetření barvených, nativních preparátů a cytologie, se vyvíjejí nové metody jako je stanovení protilátek, průkaz genů a nukleových kyselin. Diagnóza by pak měla být stanovena na základě anamnézy, klinického vyšetření a výsledků laboratorních testů (Mašata et al., 2006; Špaček et al., 2013).

1.6.1 Bakteriální vaginóza (BV)

Je charakterizována poruchou poševní flóry, zjišťujeme jí u 40 – 50 % žen s řídkým homogenním výtokem a vyznačuje se poklesem aerobních laktobacilů a vzestupem anaerobních laktobacilů, obligátních anaerobů, gardnerel, mykoplasm, bakteroidů a dalších druhů, jsou přítomny clue cells, chybí leukocyty a je zvýšené pH. Bolest, svědění, dysurie nejsou přítomné. Příčina není zcela zřejmá, můžeme ji považovat za dysmikrobiu pochvy. Nebezpečná je hlavně v těhotenství, kdy vyvolává předčasný porod. K léčbě BV se využívá ATB obsahující metronidazol, nebo klindamycin (Mašata et al., 2006; Špaček et al., 2013).

1.6.2 Vulvovaginální kandidóza (VVK)

Je infekce kvasinkového původu lokálně zaměřená a nejčastěji postihuje dolní část ženského genitálu (pochva a poševní předsíň, případně přilehlé oblasti zevního genitálu se vyznačují otokem). Nejčastějším původcem je oportunní patogen *Candida albicans* a jiní příslušníci rodu *Candida*, ale mohou to být i jiné kvasinky především *Saccharomyces cerevisiae*. V současné době je na vzestupu a minimálně každá žena v reprodukčním věku ji za svůj život prodělá a u poloviny z nich bude mít jedno i více opakování. Klinickými projevy jsou dyskomfort a pruritus, dále tvarohovitý výtok, ten se nemusí vyskytovat pokaždé, žádný zápach a pH v normě, leukocyty chybí. Mikroskopické vyšetření nativního preparátu, včetně louhového, který rozpustí většinu struktur, ale stěny kvasinek a hyf odolají a dále barveného buď dle Grama nebo Giemsky hledá kvasinkovou jednobuněčnou formu, která se dělí pučením, vláknitou, nebo pseudovláknitou formou tvořenou hyfami, které se mohou větvit. Barvené preparáty rozlišují různé morfologické typy bakterií. K léčbě VVK se nejčastěji využívají lokální azolová antimykotika jako např. klotrimazol a ekonazol, nebo perorální léky flukonazol a itrakonazol (Mašata et al., 2006; Špaček et al., 2013; Mašata, 2014).

1.6.3 Aerobní vaginitida (AV)

Je spíše vzácnější infekční onemocnění, vyvolané aerobními bakteriemi, hlavně streptokoky skupiny B (*Streptococcus agalactiae*) a *E. coli*, může být příčinou chorioamnionitidy a předčasného odtoku plodové vody. Vyznačuje se zarudlou poševní sliznicí, zvýšeným pH nad hodnotu 4,6 amniový test je negativní, ale objevuje se hnilobný zápach. Při nativním mikroskopickém vyšetření nevidíme clue cells, ani laktobacily. Pozorujeme zvýšené množství leukocytů, toxických leukocytů, které mají granulární vzhled, koků a parabazálních buněk, které značí silný zánět. Léčba není zatím standardizovaná, ale na metronidazol onemocnění nereaguje, ale dobrou reakci vykazuje na lokální aplikaci nifuratelu a klyndamicinu. Dále je po léčbě vhodná aplikace estrogenů pro správnou rekolonizaci pochvy laktobacily (Mašata et al., 2006; Špaček et al., 2013).

1.6.4 Trichomonιάza

Je značně rozšířenou sexuálně přenosnou infekcí, kterou vyvolává anaerobní prvok *Trichomonas vaginalis*. U poloviny nakažených žen má asymptomatický průběh a toto

číslo se ještě zvyšuje v těhotenství, kde roste až k 80 %. Běžným spouštěčem je menstruace, protože trichomonáda umí rychle rozložit erythrocyty a tak získat pro svůj růst ionty železa. Zajímavostí je, že přítomnost trichomonády zvyšuje dvojnásobně riziko přenosu HIV infekce. Jsou více přenosné z muže na ženu a u mužů, někdy infekce spontánně vymizí. Základním vyšetřením je kultivace a Diamondově médiu, její senzitivita je 95 %, nižší senzitivitu vykazuje přímá imunofluorescence a nejcitlivější je amplifikační metoda T. vaginal PCR. Také cytologické vyšetření z cervixu, poskytne cenné informace o stavu. Při pozitivním výsledku, je pacientka přeléčena, bez nutnosti dalšího vyšetření. Léčba spočívá v podání preparátu obsahující 5-nitroimidazol, v České republice se používá metronidazol (Mašata et al., 2006; Špaček et al., 2013).

1.6.5 Poševní laktobacilóza

Je onemocnění, které se podobá na rekurentní vulvovaginální kandidózu, avšak kultivační vyšetření na kvasinky jsou negativní a nezabírá antimykotická léčba, charakteristickým znakem je, že se projevuje cyklicky. Objevuje se bělavý hustý krémovitý výtok 7 – 10 dní před menstruací, který je spojen s pálením a podrážděním zevních rodidel. Příznaky se po menstruaci již neobjevují, dále se mohou vyskytnout po ovulaci v sekreční fázi cyklu. Klinický obraz ukazuje, že v nativních nátěrech jsou dobře viditelné dlouhé filamentózní organismy a při použití fázového kontrastu docílíme ještě lepšího zobrazení. V barveném preparátu jsou vidět vláknité mikroorganismy s délkou 40 – 75 μm , přičemž běžná délka laktobacilů zdravých žen je 5 – 15 μm . Léčba spočívá v podávání penicilinových antibiotik např: ampicilin, penicilin, amoxycilin, doxycyklin, při alergii na penicilin a klindamycin. Další možností je podávat kombinaci aminopenicilinu s blokátory beta-laktamázy př: ampicilin plus kyselina klavulanová (Mašata et al., 2006; Špaček et al., 2013).

1.7 Nejčastější původci urogenitálních infekcí

1.7.1 Bakteriální původci

Mezi G+ bakterie, které způsobují infekce, řadíme nejčastěji beta-hemolytické (pyogenní) streptokoky nejčastěji *Streptococcus agalactiae* (GBS), který bývá přítomen v poševní sliznici bez příznaků, ale je nebezpečný v těhotenství, kdy stojí za novorozeneckými meningitidami a sepsí. Pak dělíme infekce, na časného typu, které vznikají ještě v děloze a objevují se několik hodin po porodu jako meningitida,

pneumonie, bakteriémie a sepse – mortalita je kolem 5 % a nejvíce jsou v ohrožení života předčasně narozené děti. Dále infekce pozdní, které se objevují na konci prvního měsíce života a mají mortalitu kolem 10 % a probíhají jako meningitida a sepse. Pro rodičku představují komplikace v šestinedělí jako endometritidu, IMC a po císařském řezu způsobují endokarditidu, meningitidu a mohou tvořit abscesy (Votava, 2003; Konečná, 2010; Schindler, 2010; Špaček et al., 2013).

Dále pak *Streptococcus pyogenes* hlavně u malých dívek. K hojným původcům urogenitálních infekcí řadíme výhradně *Enterococcus faecalis* v menší míře zastoupen i *E. faecium*. Dále pak mezi stafylokokové původce infekcí řadíme *Staphylococcus aureus*, který se u někoho vyskytuje jako komenzál, ale u někoho může způsobit až celkový toxický šok (Bednář et al., 1996; Votava, 2003).

Z G–bakterií jsou to fakultativně anaerobní tyčinky z čeledi *Enterobacterales* – jmenovitě *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* a *Proteus mirabilis*. Dále G–aerobní, či mikroaerofilní gonokok *Neisseria gonorrhoeae* jako obligátní patogen vyvolávající sexuálně přenosné onemocnění (STD) kapavku. *N. gonorrhoeae* adhezuje raději na cylindrickém epitelu cervixu a neuchytí se na poševním dlaždicovém epitelu. Při vaginálních infekcích se často uplatňuje GAVA. Řadíme jí mezi G–mikroaerofilní tyčinky a hojně je spojována s přítomností BV. Má schopnost přilnout na poševní epitel, typickým znakem je přítomnost clue cells (Votava, 2003; Mašata et al., 2006; Konečná, 2010; Špaček et al., 2013).

Mezi další zástupce anaerobních bakterií spojovaných s BV jsou *Bacteroides*, *Mobiluncus*, *Mycoplasma hominis*, *Porphyromonas* a *Prevotella*. V neposlední řadě nemůžeme opomenout zástupce z kmene spirochét *Treponema pallidum*, která vyvolává syfilis (Mašata et al., 2004; Špaček et al., 2013).

1.7.2 Viroví původci

Herpes simplex virus (HSV):

Je z čeledi *Herpesviridae* z DNA virů, tyto viry po prodělání infekce přetrvávají v organismu v latenci v nervové tkáni a čekají na oslabení obranyschopnosti, aby se mohl virus znovu reaktivovat a přejít do rekurentní infekce. Při genitální infekci se uplatňuje HSV-1 a HSV-2. V těhotenství jsou herpetická onemocnění velice vážná, zřídka se přenášejí transplacentárně, mnohem častěji až při porodu, kdy pak způsobí

novorozenci neonatální infekci s fatálními následky. Ale i v prvním trimestru mohou způsobit potrat.

Lidský papiloma virus (HPV):

Je z čeledi *Papovaviridae* z DNA virů a patří mezi nejčastější sexuálně přenosné onemocnění. Je jedním z významných faktorů podílejících se na vzniku prekanceróz a karcinomu děložního hrdla. Mezi rizikové faktory přenosu je počet sexuálních partnerů. Riziko pak zvyšuje hormonální antikoncepce, těhotenství, kouření a imunosupresivní léčba. Důležité je při diagnostice rozlišovat mezi benigními a maligními viry, ty benigní pak způsobují proliferaci a vznik kondylomat lehce odlišitelných od charakteristických znaků maligního bujení (Bednář et al., 1996; Votava, 2003; Hurych et al., 2021).

1.7.3 Mykotičtí původci

Mezi původce urogenitálních infekcí můžeme zařadit výhradně rod *Candida*. Nejčastěji pak *Candida albicans*, dále *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*. Je ale zjištěno, že *C. albicans* se hojně vyskytuje v poševním prostředí žen, aniž by vyvolávala nějaké příznaky infekčního onemocnění. K přemnožení kvasinek musí dojít ke třem fázím, které jsou popsány níže. Tyto fáze zahrnují adhezenci ke stěně a následnou tvorbu blastospor, hyf a mycelií, které napadají epitel. Nejvyšší schopnost adheze má právě *C. albicans*. Dalším krokem je přítomnost receptoru ve vaginální sliznici a ne všechny ženy tyto receptory mají, proto jsou některé vnímavější a jiné nikoli. Posledním faktorem je kompetice s laktobacily o receptory, proto normální výskyt laktobacilů zabraňuje přilnutí spor na receptory. Z ostatních kvasinek je to převážně askosporogenní *Saccharomyces cerevisiae*, jiné nálezy jsou velice ojedinělé (Votava, 2003; Špaček et al., 2013; Hurych et al., 2021).

1.7.4 Parazitární původci

Parazitárním prvokem osidlujícím urogenitální trakt je *Trichomonas vaginallis*, který vyvolává trichomoníazu popsanou výše (Mašata et al., 2006).

1.7.5 Bakteriální původci parazitující intra i extracelulárně na eukaryotických buňkách urogenitálního traktu

Chlamydia trachomatis je nepohyblivá bakterie kulovitého tvaru, obtížně kultivovatelná. Je striktně intracelulárním parazitem, svým životním cyklem připomíná viry a stavbou stěny se přibližuje G⁻ bakteriím. Je to STD a způsobuje u žen záněty děložního hrdla, endometria a adnex. U mužů pak způsobuje NGU a chlamydiové prostatitidy. O mykoplazmových infekcích způsobenými urogenitálními mykoplazmaty zejména *Mycoplasma hominis* (MH) a *Ureaplasma urealyticum* (UU) budu pojednávat níže (Votava, 2003; Špaček et al., 2013; Schindler, 2014).

1.8 Charakteristika mykoplazmat

1.8.1 Historie

Ureaplazmata a Mykoplazmata jsou eubakterie, které jsou zařazeny do třídy *Mollicutes* (mollis – měkký, *cutis* – kůže). Vyvinuly se degenerativním procesem z G⁺ bakterií příbuzným klostridiím procesem delece genů a tím ztratily buněčnou stěnu tvořenou peptidoglykenem. V současnosti existuje více než 150 druhů pojmenovaných ve třídě *Mollicutes*, z nichž o 16 je známo, že kolonizují primárně člověka (Glass et al., 2000; Waites et al., 2005).

První zpráva o izolaci mykoplazmat od lidského zdroje byla v roce 1937. Organismy byly získány z čisté kultury abscesu Bartholinovy žlázy. O 18 let později byla navržena klasifikace pro tyto bakterie produkující na agarovém médiu kolonie vzhledem připomínající sázená vejce a metabolizujících arginin.

Ureaplasma urealyticum byla poprvé izolována od mužů s primární recidivující NGU v roce 1954 Sheperdem et al. Původně byly nazývány T kmeny, nebo T drobné kolonie, protože vytvářejí drobné homogenně zrnité kolonie na růstovém médiu. Později nesla název mykoplazmata kmene T, následně bylo zjištěno, že jsou jedinečné v tom, že metabolizují močovinu. To vyvolalo představu, že by měly mít nový rod a druhové označení UU v rámci řádu *Mycoplasmatales*. Jsou také triviálně označovány jako ureaplasmy a brzy poté co byly poprvé identifikovány, se zjistilo, že je lze klasifikovat do několika sérotypů (Waites et al., 2005; Waites et al., 2015).

Díky zavedení technik amplifikace nukleových kyselin (NAATs) byly rozděleny na dva nové druhy *Ureaplasma parvum* (dříve známá jako *U. urealyticum* biovar 1) obsahuje

sérovary 1, 3, 6, 14 a UU (dříve známá jako *U. urealyticum* biovar 2) obsahuje zbývající sérovary 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 souhrně nazývané jako *Ureaplasma spp.* (Pitcher et al., 2001; Waites et al., 2009; Leli et al., 2018).

1.8.2 Taxonomie

V řádu Mycoplasmatales, třída Mollicutes rozdělujeme čeleď *Mycoplasmataceae* s rody *Ureaplasma* a *Mycoplasma*.

Rod *Ureaplasma* je zastoupen šesti druhy, přičemž *Ureaplasma urealyticum* a *Ureaplasma parvum* se vyskytují u lidí. Rod *Mycoplasma* je bohatší, protože čítá na sto různých druhů, které kolonizují jak člověka, tak i rostlinou a živočišnou říši. Některé druhy jsou pro svého hostitele neškodní komenzálové, jiné jsou výhradně patogenní. Z lidského zdroje bylo kultivováno 16 druhů (nejznámější *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma fermentans*, *Mycoplasma penetrans*) (Kokkayil et al., 2015; Martin et al., 2015).

Tabulka 1: Taxonomická klasifikace UU

<i>Ureaplasma urealyticum</i>	
Doména	<i>Bacteria</i>
Kmen	<i>Mycoplasmata</i>
Třída	<i>Mollicutes</i>
Řád	<i>Mycoplasmatales</i>
Čeleď	<i>Mycoplasmataceae</i>
Rod	<i>Ureaplasma</i>
Druh	<i>Ureaplasma urealyticum</i>

Zdroj: Shepard et al. 1974 (Approved Lists 1980)

Tabulka 2: Taxonomická klasifikace MH

<i>Mycoplasma hominis</i>	
Doména	<i>Bacteria</i>
Kmen	<i>Mycoplasmata</i>
Třída	<i>Mollicutes</i>
Řád	<i>Mycoplasmatales</i>
Čeleď	<i>Mycoplasmataceae</i>
Rod	<i>Mycoplasma</i>
Druh	<i>Mycoplasma hominis</i>

Zdroj: Freundt 1953, Edward 1955

1.8.3 Charakteristika a morfologie

Jsou od jiných prokaryotických bakterií diferencované tak, že postrádají rigidní buněčnou stěnu, tím získaly rozmanitou morfologii tvarů od kulovitého, oválného, přes prstencovitý, vláknitý až po korálkovitý. Velikost jednotlivých buněk je v rozmezí 0,5 – 1,0 μm. Nepřítomnost buněčné stěny znemožňuje barvení dle Grama, mohou se barvit dle Giemsky, toho se však v klinické praxi nevyužívá. Povrch bakterie je složen z membrány tenké 10 nm, která je tvořena lipidy a proteiny. Důležitou složkou

membrány je cholesterol, který vytváří osmotickou integritu buněk. *Mollicutes* mají nejmenší genom ze všech žijících samoreplikujících se organismů. Ten je uložen v jediné cirkulární molekule DNA o molekulové hmotnosti $4,5 \times 10^8$ daltonů. Nejmenší genom ze všech má *M. genitalium* složená z 580 Kbp, je zde předpoklad, že takovýto počet se přibližuje k minimální hranici sadě genů nezbytných pro přežití a proto byl také mezi prvními kompletně osekvenovaný a také zrekonstruovaný in vitro. Pro kultivaci musí mít růstová média sterol, kvůli sníženým biosyntetickým schopnostem. Redukovaná velikost genomu je důvodem parazitického způsobu jejich existence. Mykoplazmata dělíme na dvě skupiny dle metabolismu a to ty které metabolizují glukózu (*M. genitalium* a *M. pneumoniae*) a ty které nehydrolyzují glukózu, ale jiné zdroje jako je MH, štěpící L-arginin a UU využívající močovinu, která dodá ATP z 95 % a zbytek doplní substrátovou fosforylací (Razin et al., 1997; Votava, 2003; Martin et al., 2015; Salavec et al., 2017; Hurych et al., 2021).

Morfologie kolonií jednotlivých zástupců se liší, nejlépe rozpoznatelné a i pouhým okem viditelné kolonie vzhledu sázeného vejce vytváří MH a jako jediné vyrůstají i na krevním agaru. Ostatní kolonie musíme pozorovat pod stereomikroskopem při zvětšení 20x – 60x. Drobné homogenně zrnité kolonie pak vytváří UU. V porovnání s jinými bakteriemi obsahují buňky mykoplazmat minimální množství organel (plazmatickou membránu, ribozomy a bakteriální chromozom), chybí jim geny pro syntézu buněčné stěny, Krebsův cyklus a tvorbu 20 aminokyselin a jiné další (Razin et al., 1998; Votava, 2003; Salavec et al., 2017).

Rozmnožování mykoplazmat je podobné jako u jiných prokaryontních organismů s jednoduchým binárním dělením. Dělení začíná replikací bakteriálního genomu, které může být pomalejší, než dělení cytoplazmy, přičemž pak vznikají mnohojaderná vlákna, která se následně rozpadají na základní elementy (Bednář et al., 1996).

1.8.4 Patogeneze a onemocnění způsobená urogenitálními mykoplazmaty

Do jaké míry se UU a MH podílejí na vzniku patogenity, nebylo doposud zkoumáno, tak jako u jiných bakterií. Přenášejí se nejčastěji horizontálním přenosem při kontaktu sliznic při pohlavním styku, nebo vertikálním přenosem z matky na dítě v děloze, nebo prostřednictvím tělesných sekretů při porodu. Vzácně byl popsán i přenos při transplantaci, zejména v rizikových oblastech urogenitálního systému (ledviny). UU a MH jsou považovány za oportunní patogeny, protože jsou běžně izolovány

z urogenitálního traktu žen i mužů, kteří nevykazují žádné klinické známky nemoci. Prevalence u žen je přibližně u MH 20 – 50% a UU 40 – 80%. Na takto masivní výskyt bakterií u klinicky zdravých jedinců hraje roli několik faktorů, věk, pohlaví, sexuální aktivita, počet partnerů a sociálně-ekonomický status. Několik studií ukázalo, že jsou zapojeny do několika stavů jako například negonokoková uretritida (NGU) a prostatitida u mužů v kooperaci s chlamydiemi, urologické infekce, močové kameny, gynekologická onemocnění (UU byla izolovaná u 62 – 97 % pacientek s BV, záněty vejcovodů, zánětlivé onemocnění pánve (PID), kde je výskyt vzácný a objevuje se i s jinými patogeny současně), dále neplodnost, chronická onemocnění plic u novorozenců, u pacientů s hypogamaglobulinémií a vzácně také v kloubech pacientů s hnisavou artritidou (Taylor-Robinson, 1996; Sethi et al., 2000; Zhu et al., 2011; Taylor-Robinson, 2017; Bradhurst et al., 2021).

Má se za to, že mezi nejdůležitější faktory virulence patří adhezivní struktury na površích jejich membrán. Mají charakter proteinů a lipoproteinů, kterými se přichytí k povrchu lidských buněk, jako jsou např: erytrocyty, neutrofilů, spermie a především epiteliální buňky urogenitálního traktu. U MH je jako takováto struktura popsán Vaa (Variable adherence-associated adhesin) protein, P120 a P80. Nejvýznamnějším popsáním antigenem u bakterie UU je MBA (z angl. Multiple banded antigen) lipoprotein. Tyto povrchové antigeny, které představují na svém povrchu, umožňují unikat imunitní odpovědi hostitele, protože mají vysokou variabilitu (Razin et al., 1998; Waites et al., 2009).

Dalším faktorem virulence je amoniak, který vzniká při metabolismu močoviny UU vytváří na povrchu sliznic lokální cytotoxický efekt a zvyšuje riziko tvorby struvitových kamenů. Ureaplazmata umí také produkovat IgA proteázu, která ničí slizniční funkci IgA imunoglobulinů a tím mají snazší přístup k mukózním povrchům urogenitálního traktu. Dále dovednost produkovat fosfolipázu byla u UU zjištěna in vitro. Tento objev se dá s velkou pravděpodobností aplikovat na vysvětlení toho, že UU se může podílet na zánětu plodových blan a tím způsobit perinatální morbiditu a mortalitu. Hydrolyza fosfolipázy A a C spouští produkci kyseliny arachidonové a ta stimuluje tvorbu prostaglandinů, které vyvolávají porod. Odpadní produkt fosfolipáza se také může účastnit při vzniku plicních onemocnění nedonošených novorozenců (Votava, 2003; Waites et al., 2005; Miano et al., 2007; Sethi et al., 2012).

Mykoplazmata a ureaplazmata mají schopnost aktivovat makrofágy a T lymfocyty a tím vyvolávat zánět a tvorbu cytokinů. Schopnost odstartovat produkci IL-23 dendritickými buňkami byla objevena u MH. Tento interleukin, může být příčinou autoimunitních onemocnění. U kmenů UU byla zjištěna schopnost tvorby biofilmů, které jsou příčinou selhání antimikrobiální léčby zejména vůči erytromycinu a chinolům (Sethi et al., 2012; Salavec et al., 2017; Mašata, 2014).

Klinickými studii Martinelliho et al. a Ghoshe et. al. bylo zjištěno, že infekce UU potencionálně zvyšuje náchylnost k získání a přenosu HIV, dále pak že MH a *M.genitalium*. jsou významné kandidátorské kofaktory v patogenezi AIDS a zhoršují retroviróvé onemocnění. Také bylo zjištěno, že UU má schopnost adheze na spermie a tím zhorší jejich pohyblivost a ovlivňují tím i zásadně plodnost a MH byla objevena intracelulárně ve spermatocytech (Razin et al., 1992; Ghosh et al., 2013; Kokkayil et al., 2015).

1.8.5 Laboratorní diagnostika

Na začátku laboratorní diagnostiky, je velice důležité zhodnotit celkový stav pacientky a důsledně vyplnit anamnézu. Také správná technika odběru vzorků z příslušného místa je pro detekci mikroorganismů stejně důležitá jako volba laboratorní metody. Vyšetření se provádí vždy před léčbou antibiotiky (Bednář et al., 1996; Combaz-Söhnchen et al., 2017).

Průkaz urogenitálních mykoplazmat UU a MH se provádí z biologického materiálu jako je stěr z pochvy, cervixu, uretry, první porce moči, nebo z ejakulátu. Odběr vzorku musí obsahovat co nejvíce epiteliálních buněk. Vzorky se odebírají do lahvičky s transportním médiem, protože jsou mykoplazmata náchylná na vyschnutí. (Dvořáková, 2009; Laboratorní příručka Unilabs, 2023).

K průkazu se využívá většinou přímých vyšetřovacích metod. Kultivační vyšetření ze stěrů je senzitivnější, než vyšetření z moče. Provádí se na tekutých, nebo pevných agarových plotnách, které musí být obohacené o zdroj cholesterolu (koňské sérum), který potřebují ke svému růstu. Dále také prekurzory nukleových kyselin získané z kvasničného extraktu. V neposlední řadě jsou do kultivačních ploten přidávány antibiotika k zamezení růstu jiné bakteriální flóry a to nejčastěji nějaké beta-laktamové antibiotikum k potlačení růstu G+ bakterií a octan thallnatý k zamezení růstu plísní

a G⁻ bakterií, který se ale nepřidává, když chceme identifikovat UU, protože je pro ně toxický. Dále je přidán pro zviditelnění biochemické reakce arginin pro MH a urea pro UU. Přeměnu substrátů pak sledujeme jako změnu barvy ze žluté na růžovou/červenou, při zvýšení pH, toho se využívá v praxi, kde jsou běžně využívány komerčně vyrobené kultivační sety pro rychlou diagnostiku mykoplazmat. Kultivujeme při teplotě 37 °C v mikroaerofilním prostředí. Další možné vyšetření je pomocí molekulárně mikrobiologické metody PCR. Tato metoda je výjimečná v tom, že dokáže odhalit jak živé, tak i usmrcené mikroorganismy. Výsledky jsou do druhého dne a metoda vykazuje vyšší senzitivitu. (Votava, 2000; Votava, 2003; Evans et al., 2016; Hurych et al., 2021).

1.8.6 Léčba

Při léčbě infekcí mykoplazmaty je nejtěžší otázka ponechána na lékaři, který musí rozhodnout, zda je daná bakterie, která byla prokázána laboratorními testy, patogenně významná, nebo ne. Jelikož je asymptomatické přenášení u sexuálně aktivních jedinců časté a žádné zdravotní problémy se nerozvinou. Rozsáhlá léčba těchto bakterií u asymptomatických jedinců by vedla k antimikrobiální rezistenci a tím pak k následnému zhoršení stavů u bakterií, které způsobují závažnější infekce. Naopak při přetrvávajících příznacích IMC, či dalších urogenitálních problémech, které jsou negativní na standardní testování, či nereagující na použitá antibiotika, by měly vyvolat otázku, zda nejsou přítomny urogenitální mykoplazmata (Potts et al., 2000; Combaz-Söhnchen et al., 2017).

Pro následnou léčbu se pak nejčastěji využívá citlivosti na cykliny (doxycyklin, monocyklin) a makrolidové ATB (azitromycin, klaritromycin, erytromycin) a některá chemoterapeutika (chinoliny 4. generace). U těhotných žen jsou kontraindikované tetracykliny a fluorochinolony, na léčbu jsou doporučovaná makrolidová ATB erytromycin. Antibiotikum moxifloxacin, by mělo být používáno s opatností a pouze v kontextu selhání léčby, protože může způsobit vzácnou závažnou jaterní reakci. Důležitá je vhodná dávka a délka léčby (optimálně 3 týdny) a přeléčení sexuálního partnera stejným ATB. Při léčbě by měla být sexuální abstinence, nebo použití kondomu. Účinnost léčby by měla být testována ideálně tři týdny po léčení. Neúčinná ATB jsou ta, která inhibují syntézu buněčné stěny a to jsou beta-laktamová a glykopeptidy. (Votava, 2003; Bébéar et al., 2008; Waites et al., 2009; Samra et al., 2011).

2 Cíl práce a hypotéza

Cíle:

1. Osvojit si laboratorní diagnostiku *Ureaplasma urealyticum* a *Mycoplasma hominis* z gynekologických materiálů pacientek, dále také celkové laboratorní zpracování výtěrů z pochvy.
2. Statistické vyhodnocení pacientek v laboratoři Unilabs k.s. (dříve AeskuLab k.s.).

Hypotéza:

Vyskytují se mykoplazmové infekce separátně, nebo jsou v kooperaci s jinými infekcemi?

3 Metodika

3.1 Úvod k datům a vzorkům

Na metodickou část byly použity stěry z cervixu žen ve fertilním věku. Veškeré tyto vzorky, výsledky uvedené v mé bakalářské práci a laboratorní vybavení mi poskytla laboratoř AeskuLab nově pod názvem Unilabs Diagnostics k.s. v Českých Budějovicích, Antonína Barcala 404/38, 370 05.

Pro statistickou část byly zvoleny testované soubory pacientů za rok 2019 – 2022, celkem bylo vyšetřeno 945 pacientek. U tohoto vzorku žen byla vyšetřována pozitivita/negativita na přítomnost UU a MH. U žen byly provedeny výtěry z cervixu. Dále byla zkoumána přítomnost jiných patogenních organismů u žen, kterým byl proveden výtěr z pochvy/cervixu.

V praktické části jsem zpracovávala výtěry z cervixu pomocí komerčně dodávaných kitů MYCOPLASMA DUO (BIO – RAD), které jsou určeny pro diagnostiku UU a MH. Dále jsem pak testovala citlivost na antibiotika pomocí komerčně dodávaných kitů SIR MYCOPLASMA (BIO – RAD) u pozitivních pacientek. Také jsem zpracovávala vzorky na celkové vyšetření poševního výtěru.

3.2 Odběr, transport a příjem materiálu

Průkaz urogenitálních mykoplazmat UU a MH se provádí z biologického materiálu jako je stěr z cervixu. Odběr vzorku musí obsahovat co nejvíce epitelálních buněk, proto se u žen odebírá z endocervixu. Jeho ústí je před odběrem očištěno od hlenu, či krve. Dále je zaveden tampon do cervixu cca 1 cm do hloubky a několikrát je s ním otočeno pro získání buněk. U gravidních žen se výjimečně může odebrat stěr jen z povrchu čípku, nebo z pochvy. Tampon s odebraným vzorkem je pak zalomen do lahvičky se speciálním transportním médiem.

Odebraný vzorek v médiu, lze skladovat v pokojové teplotě 20 hodin, nebo pak až 56 hodin při teplotě 2 – 8 °C. Vzorek z odebrané moči se musí doručit do dvou hodin do laboratoře, nebo musí být uskladněn v chladničce a doručen v co nejkratší době. Transport probíhá, při chladničkové teplotě. Dostupnost výsledků je za 2 – 5 dní. Při pozitivním výsledku se automaticky testuje citlivost na antibiotika.

Odběr pro celkové vyšetření je proveden lékařem za použití gynekologických zrcadel ze zadní stěny poševní pomocí vatového tamponku na tyčince a zanořeno do transportní

půdy. Uchovává se při pokojové teplotě a transport musí být do 24 hodin. Součástí je i automatická kultivace na *Gardnerella vaginalis*, požadavek na anaerobní kultivaci, musí být uveden na žádance.

Příjem žádank pak probíhá na příjmu materiálu laboratoře mikrobiologie. Vzorek musí být odebraný dle standardů, správně a čitelně označený, skladovaný a transportovaný dle předpisů, nepotřísněný a doplněný správně vyplněnou žádankou. V jiném případě je vzorek odmítnutý a evidovaný v systému LIS.

3.3 Laboratorní vyšetření *Ureaplasma urealyticum* a *Mycoplasma hominis*

Vyšetřovala jsem materiály výtěrů z cervixu od žen. Průkaz UU a MH byl prováděn pomocí kitů MYCOPLASMA DUO (BIO – RAD). Pozitivita mykoplazmat se testuje semikvantitativně ve vysokém a nízkém titru. Při pozitivitě jsem dále testovala citlivost na antibiotika také ve dvou koncentracích (doxycyklin, tetracyklin, azitromycin, josamycin, erytromycin a ofloxacin), kromě (clindamycinu a pristinamycinu). Selektivita jamek na vyšetření je zajištěna antimykotickou látkou a směsí ATB, aby zde nerostla jiná kontaminující flóra. Identifikace mikroorganismu je pak založena na jeho schopnosti u UU hydrolyzovat ureu a u MH hydrolyzou argininu. Poté je uvolňován amoniak a alkalizace média způsobí změnu barvy v jamce ze žluté na červenou (fenolová červeně), ta pak značí pozitivitu a žlutá barva nepřítomnost mykoplazmat.

3.3.1 Postup přípravy na vyšetření pozitivitu/negativitu mykoplazmat

1. Materiálem je zde výtěr z cervixu, odebraný tampónem cytobrush, který je louhován ve 2 ml suspenzního média. Vzorek není třeba dále upravovat, je připraven k naočkování.
2. Mikrotitrační kultivační destičku jsem nejprve označila datem a číslem vzorku. Dále jsem do ní nakapala 4 kapky (200 μ l) diluentního roztoku v přiložené lahvičce do každé ze tří jamek spodní řady destičky $U \geq 10^4$, D a H $\geq 10^4$.
3. Suspenzní médium s výtěrem z cervixu jsem řádně promíchala pomocí vortexu (Obr. 3).
4. Dále jsem pomocí mikropipety inokulovala 4 kapky (100 μ l) do každé ze tří jamek horní řady



Obrázek 3: Vortex (zdroj: vlastní)

mikrotitrační destičky U, X, H a 1 kapku (25 µl) do jamky D, která je uprostřed ve spodní řadě destičky.

5. Novou pipetou (protože mykoplazmata adherují k plastovým povrchům) jsem pečlivě promíchala obsah jamky D alespoň 3x (Obr. 4).

6. Poté jsem promíchaný a nasátý obsah pipetou přenesla do vedlejších jamek U a H, po jedné kapce do každé jamky. Tyto jamky mají nižší titr, než jamky nad nimi (Obr. 4).

7. Nakonec jsem titrační destičku překryla přiloženou přílnavou fólií, aby destička nevyschla a dala jsem jí inkubovat do 37 °C po dobu 24 hodin, po této době se stanovuje výsledek vysokého titru, poté se ještě prodlužuje na dalších 24 hodin, aby byl výsledek validní a detekoval nám i kmeny přítomné v nízkém titru.



Obrázek 4: Mikrotitrační destička MYCOPLASMA DUO (zdroj: vlastní)

8. Změna barvy na růžovou bez zákalu, nám pak značí u jamek U pozitivitu na UU (Obr. 5) a u jamek H pozitivitu na MH. Ve vzorku mohou být najednou přítomny i oba druhy mykoplazmat (Obr. 6). Když nedojde k barevné změně, značí to negativní výsledek (Obr. 7).



Obrázky 5, 6, 7: Mikrotitrační destičky s výsledky, obrázek 5: pozitivita UU, obrázek 6: pozitivita UU a MH, obrázek 7: negativní výsledek (zdroj: vlastní)

3.3.2 Postup přípravy na vyšetření citlivosti mykoplazmat k ATB

1. Pro vyšetření citlivosti je možné použít 20 µl z jamky X z mikrotitrační destičky nebo odebrat 200 µl vzorku z odběrové transportní nádoby, která byla skladována při 4 °C.

2. Používala jsem 200 μ l ze suspenzního média s odebraným vzorkem, předtím jsem vzorek promíchala na vortexu a zředila jsem ho ve 2 ml argininového bujónu pro MH a další ve 2 ml bujónu U9 pro UU (Obr. 8).



Obrázek 8: Bujóny arginin a U9 (zdroj: vlastní)

3. Tím jsem získala dvě standardizované inokula, která jsem mohla naočkovat na dvě mikrotitrační destičky, v případě, že by měl pacient pozitivní jak UU, tak MH. Jinak jsem testovala citlivost pouze na přítomnost daného mikroorganismu.
4. Dále jsem si vzala mikrotitrační destičku, kterou jsem si označila číslem vzorku a datem.
5. Poté jsem do každé jamky napipetovala 100 μ l z vytvořeného inokula (Obr. 9).
6. Nakonec jsem destičku přelepila přiloženou fólií a nechala inkubovat při 37 °C.
7. Odečet se provádí po 24 hodinách a následně po 48 hodinách, ten nám ukáže nízkou hladinu rezistence k ATB.
8. Pokud obě jamky každého ATB zůstanou žluté, znamená to, že kmen je citlivý – mykoplazmata zde nerostou. Pokud jedna jamka zůstane žlutá a druhá se zbarví červeně (značí nárůst mykoplazmat), znamená to, že kmen je intermediální. V případě, že se obě jamky zbarví červeně, je kmen rezistentní (Obr. 10 a 11).



Obrázek 9: Mikrotitrační destička SIR MYCOPLASMA (zdroj: vlastní)

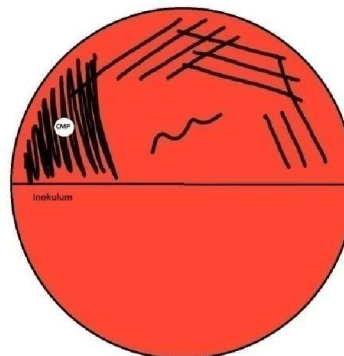


Obrázky 10 a 11: Mikrotitrační destičky s výsledky na citlivost k ATB (zdroj: vlastní)

3.4 Laboratorní vyšetření výtěru z pochvy

3.4.1 Bakteriální kultivace z pochvy u žen ve fertlím věku

1. Tampón s odebraným výtěrem z pochvy jsem postupně natírala na tuhé půdy pro diagnostiku bakteriálních původců.
2. Na polovinu kultivační půdy KAC jsem si do jednoho rohu vytvořila husté inokulum pomocí tampónu se vzorkem (Obr. 12).
3. Poté jsem vzala sterilní jednorázovou bakteriologickou kličkou a rozočkovala inokulum (Obr. 12).
4. Nakonec se doprostřed inokula položí ATB disk chloramfenikol, který odcloní nárůst většiny bakterií a kolem kterého vyrostou případné kvasinky.
5. Ostatní kultivační tuhé půdy se očkují po čtvrtině – používá se krevní agar se suplementem H (KAH), selektivní půda pro GAVA (GVS).
6. Podle požadavku na žádance se dále může naočkovat Schaedlerův agar pro anaerobní bakterie.



Obrázek 12: Schéma očkování kultivační půdy KAC (zdroj: vlastní)

3.4.2 Barvení dle Grama na vyšetření MOP

1. Odebraný vzorek natřený na podložním sklíčku od gynekologa jsem krátce zafixovala nad plamenem z plynového kahanu (3x protáhnutí nesvítivou částí plamene a sklíčko jsem držela nátěrem nahoru) a nechala vychladnout. Tím jsem si zajistila, že bakterie lépe přilnuly na sklíčko a jsou lépe připraveny k přijetí barviva.

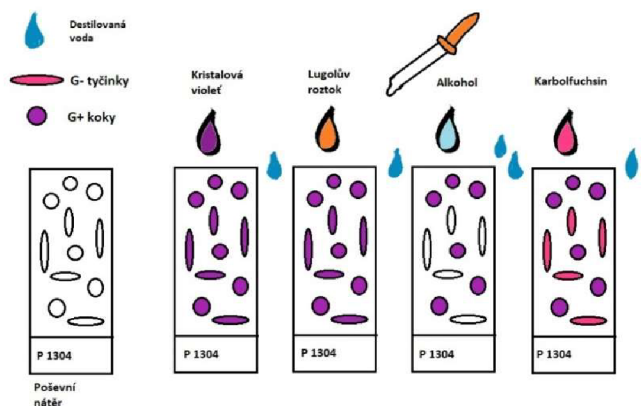
2. Preparát jsem vložila do barvicího automatu (Obr 13.) a spustila proces barvení (Obr. 14).



Obrázek 13: Barvicí automat (zdroj: vlastní)

- Ten začíná překrytím preparátu vrstvou krystalové violeti na 30 sekund.
- Poté je krystalová violet umyta destilovanou vodou a pokryta vrstvou Lugolového roztoku na 30 sekund (Obr. 14), který barvivo uvnitř buněk zafixuje.
- V dalším kroku je Lugolův roztok smyt destilovanou vodou a dále aplikován alkohol po dobu 15-20 sekund. U G⁻ bakterií dojde kvůli tenké vrstvě peptidoglykanu oproti G⁺ bakteriím k vymytí barviva.
- Poté je sklíčko důkladně opláchnuto destilovanou vodou.
- Nakonec je sklíčko pokryto vrstvou karbolfuchsinu a následně opláchnuto destilovanou vodou. V tomto kroku se G⁻ bakterie obarví růžovou barvou.
- Výsledkem je, že G⁺ bakterie jsou zbarveny do fialova a G⁻ bakterie vidíme jako růžové.

3. Oschlé preparáty jsou připraveny k mikroskopování.



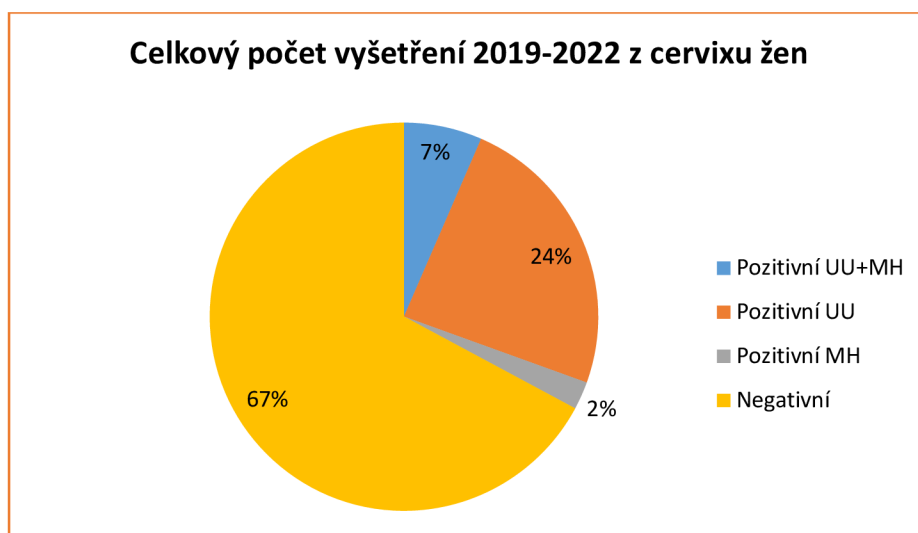
Obrázek 14: Schéma barvení dle Grama (zdroj: vlastní)

4 Výsledky

V období 1.1.2019 – 31.12.2022 bylo provedeno v Unilabs k.s. (dříve Aeskulab k.s.) 859 vyšetření vzorků výtěrů z cervixu, které zjišťovalo přítomnost UU a MH.

4.1 Statistika vyšetření UU a MH z cervixu u žen

Ve výšečovém grafu (Obr. 15) je zaznamenán celkový počet vyšetření UU a MH z cervixu žen za období 2019-2022. Na grafu je vidět, že z celkového počtu 859 vzorků bylo 577 (67 %) pacientek negativních, 56 pacientek (7 %) bylo současně pozitivních na UU i MM. Dále u 206 pacientek (24 %) byl pozitivní pouze nález UU a u 20 (2%) byl pozitivní pouze nález MH.



Obrázek 15: Celkový počet vyšetření UU a MH z cervixu u žen za roky 2019 – 2022 (zdroj: vlastní)

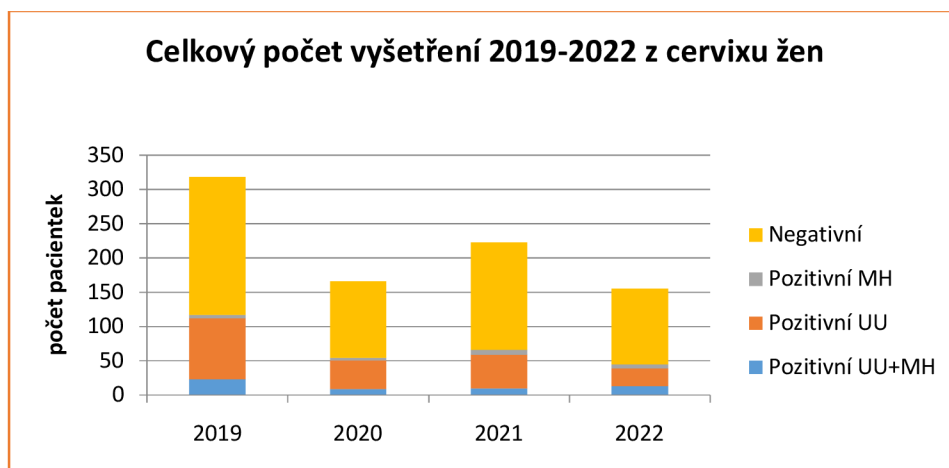
Na následujícím grafu (Obr. 16) je vyobrazen celkový počet vyšetření UU a MH z cervixu žen za roky 2019 – 2022. Grafy zobrazují počty pozitivních pacientek rozdělených dle positivity UU, MH a souběžného výskytu UU i MH, dále také počet negativních nálezů s porovnáním v jednotlivých letech.

Nejvyšší míru pozitivních výsledků, má výskyt UU a v roce 2019 ji mělo nejvíce pacientek 89 (43 %). Naopak v roce 2022 jich bylo nejméně a to 26 (13 %) pacientek.

Souběžný výskyt UU a MH je nejvyšší v roce 2019, pozitivních pacientek je 23 (42 %). Nejnižší výskyt je v roce 2020, s 9 (16 %) pozitivními pacientkami.

MH je nalezena v nízkém počtu, v nejvyšším zastoupení 7 (33 %) pozitivních pacientek v roce 2021 a s nejnižším počtem pozitivních pacientek 3 (14 %) v roce 2020.

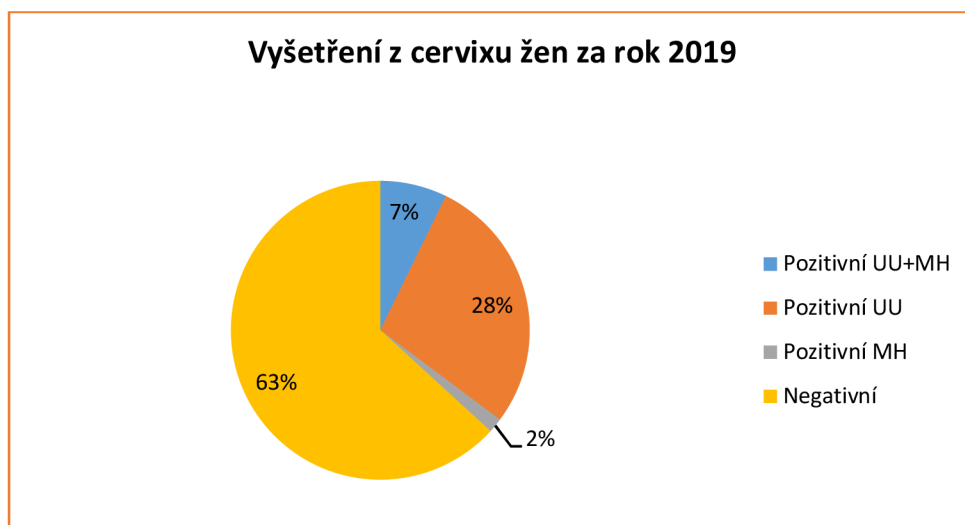
Počet negativních pacientek je nejvyšší v roce 2019 s počtem 201 (35 %) pacientek. Nejnižší byl v roce 2022 se zastoupením 110 (19 %) pacientek.



Obrázek 16: Celkový počet vyšetření UU a MH z cervixu žen v letech 2019 – 2022

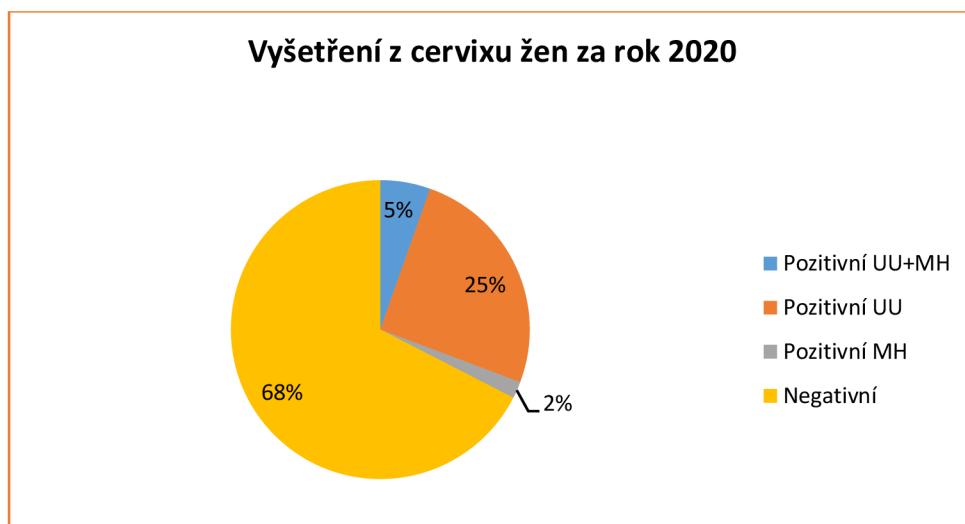
V následujících grafech (Obr. 17 – 20) můžeme vidět rozdělení počtu pacientek v jednotlivých letech.

Ve výšečovém grafu (Obr. 17) můžeme vidět počet vyšetření UU a MH za rok 2019, kterých bylo 318. U 201 (63 %) pacientek vyšel výsledek negativně. Nejvíce bylo pozitivních pacientek 89 (28 %), kterým byla zjištěna UU. U 23 (7 %) pacientek byla zjištěna pozitivita UU a MH současně. Pozitivita MH byla detekována u 5 (2 %) pacientek.



Obrázek 17: Počet vyšetření UU a MH z cervixu žen za rok 2019 (zdroj: vlastní)

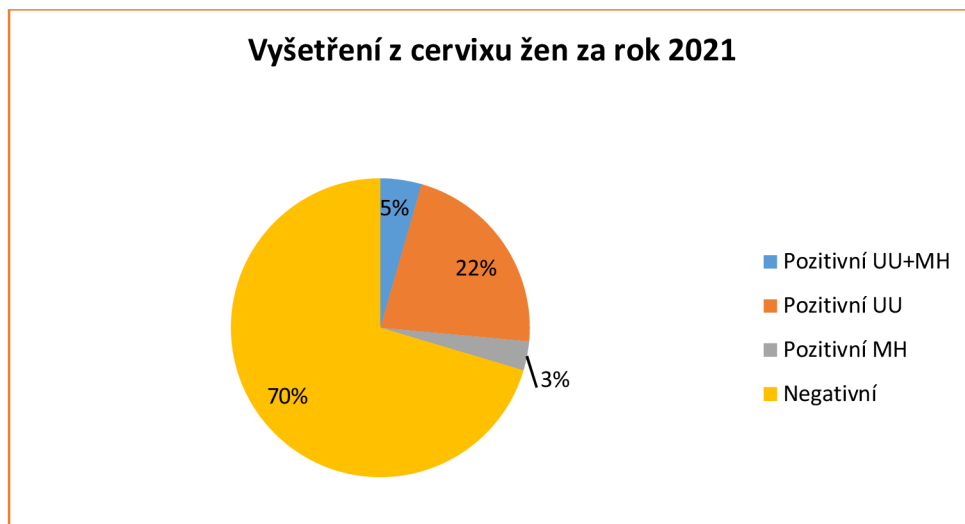
Další výšečový graf (Obr. 18) ukazuje počet vyšetření UU a MH za rok 2020, kterých bylo 166. U 112 (68 %) pacientek byl výsledek negativní. Nejvíce bylo pacientek 42 (25 %), s pozitivním nálezem UU. U 9 (5 %) pacientek byla zjištěna pozitivita UU a MH současně. Pozitivita MH byla detekována u 3 (2 %) pacientek.



Obrázek 18: Počet vyšetření UU a MH z cervixu žen za rok 2020 (zdroj: vlastní)

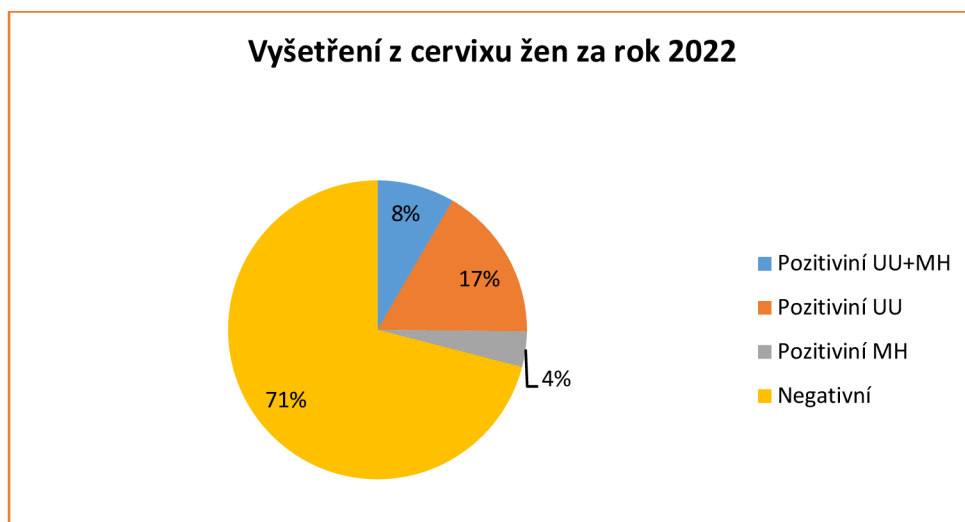
Na následujícím výšečovém grafu (Obr. 19) můžeme vidět počet vyšetření UU a MH za rok 2021, kterých bylo 223. U 157 (70 %) pacientek vyšel výsledek negativně. Nejvíce bylo pozitivních pacientek 49 (22 %), kterým byla zjištěna UU. U 10 (5 %) pacientek

byla zjištěna pozitivita UU a MH současně. Pozitivita MH byla detekována u 7 (3 %) pacientek.



Obrázek 19: Počet vyšetření UU a MH z cervixu žen za rok 2021 (zdroj: vlastní)

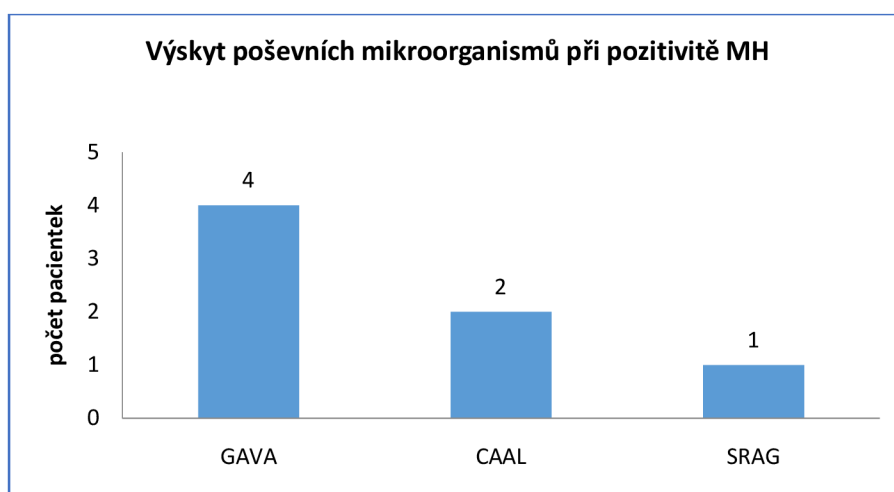
Poslední výšečový graf (Obr. 20) ukazuje počet vyšetření UU a MH za rok 2022, kterých bylo 155. U 110 (71 %) pacientek byl výsledek negativní. Nejvíce bylo pozitivních pacientek 26 (17 %), s pozitivním výsledkem na UU. U 13 (8 %) pacientek byla zjištěna pozitivita UU a MH současně. Pozitivita MH byla detekována u 6 (4 %) pacientek.



Obrázek 20: Počet vyšetření UU a MH z cervixu žen za rok 2022 (zdroj: vlastní)

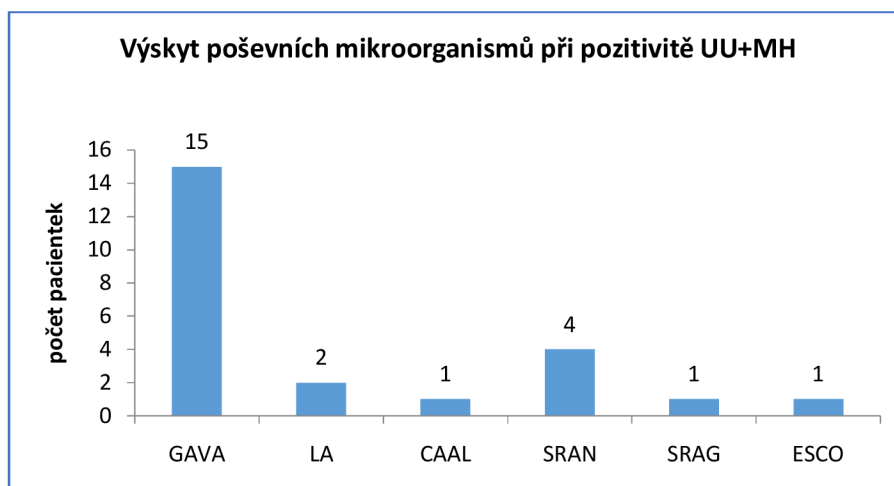
4.2 Statistika vyšetření výtěrů z pochvy a výskyt spojený s pozitivitou UU a MH

Na grafu (Obr. 21) můžeme vidět výsledky u pacientek, které měly k pozitivnímu výsledku na *Mycoplasma hominis* i výtěr z pochvy. U 4 (57 %) pacientek vyšel pozitivní výsledek na *Gardnerella vaginalis* (GAVA). U 2 (29 %) pacientek byla detekována *Candida albicans* (CAAL). V nejmenším počtu zastoupení jedné (14 %) pacientky se našel *Streptococcus agalactiae* (SRAG).



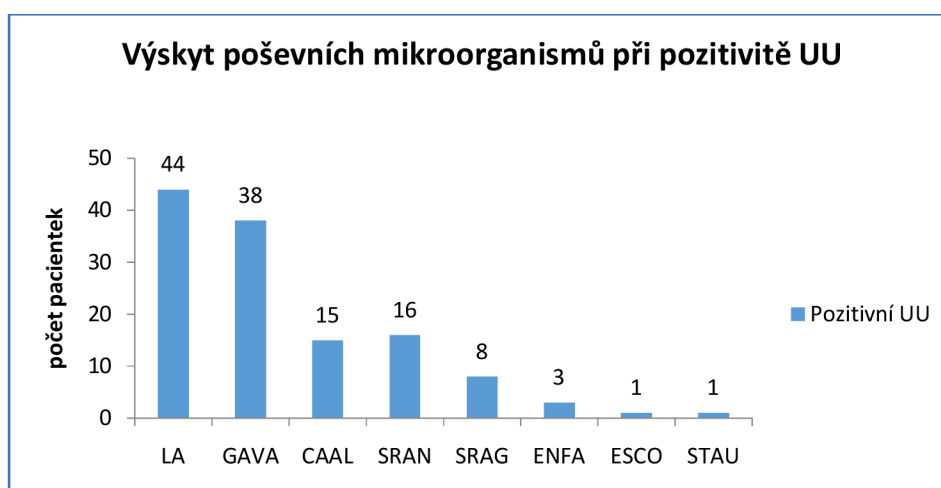
Obrázek 21: Výskyt poševních mikroorganismů při pozitivitě MH (zdroj: vlastní)

Na grafu (Obr. 22) můžeme vidět výsledky u pacientek, které měly k pozitivní nález UU i MH a výtěr z pochvy. U 15 (68 %) pacientek byl pozitivní výsledek na *Gardnerella vaginalis* (GAVA). U 4 (17 %) pacientek byl nález *Streptococcus anginosus*. U dalších 2 (9 %) pacientek byly nalezeny laktobacily (LA). Dále pak v zastoupení 1 pacientky (5 %) byly nálezy *Candida albicans* (CAAL), *Streptococcus agalactiae* (SRAG) a *Escherichia coli* (ESCO).



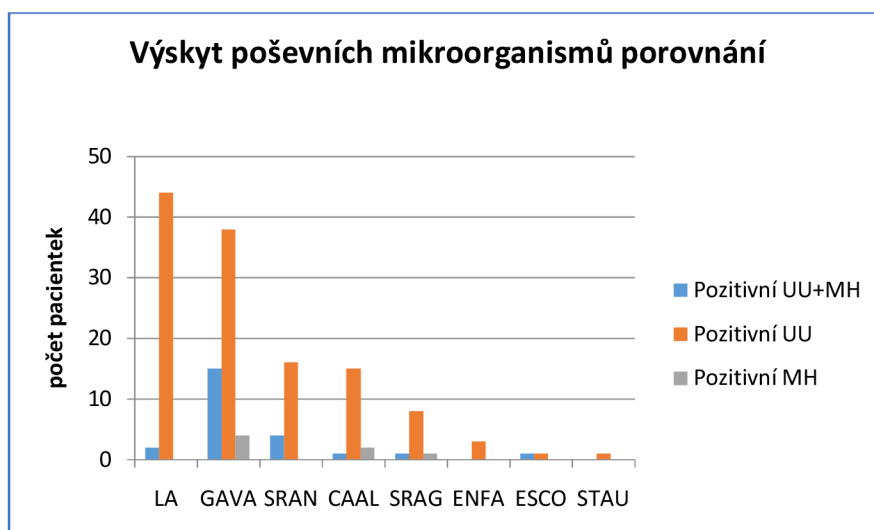
Obrázek 22: Výskyt poševních mikroorganismů při pozitivitě UU+MH (zdroj: vlastní)

Na grafu (Obr. 23) můžeme vidět výsledky u pacientek, které měly k pozitivnímu výsledku na *Ureplasma urealyticum* i výtěr z pochvy. Nejvíce bylo pozitivních pacientek 44 (35 %) s laktobacily (LA). U 38 (30 %) pacientek byla detekována *Gardnerella vaginalis* (GAVA). Dále pak byl zjištěn u 16 (13 %) pacientek *Streptococcus anginosus* (SRAN). U 15 (12 %) pacientek byla nalezena *Candida albicans* (CAAL). U 8 (6 %) pacientek byl izolován *Streptococcus agalactiae* (SRAG). U 3 (2 %) pacientek byl zaznamenán *Enterococcus faecalis* (ENFA). U dalších 2 pacientek byl nález u jedné z nich *Escherichia coli* (ESCO) a u druhé *Staphylococcus aureus* (STAU).



Obrázek 23: Výskyt poševních mikroorganismů při pozitivitě UU (zdroj: vlastní)

Na grafu (Obr. 24) je vidět porovnání nálezů výtěrů z pochvy s pozitivními nálezy čistě UU, MH, nebo současného výskytu UU a MH. Můžeme vidět, že nejčastější nálezy má vždy pozitivita u UU. Nejvyšší nález je laktobacilů (LA) u pozitivity UU a dále pak v mnohem menší míře u směsného nález UU s MH. U nálezů s MH se nevyskytuje. Jako druhá v pořadí má nejvyšší pozitivitu *Gardnerella vaginalis* (GAVA) u výskytu UU. Také má hojně zastoupení při nálezů směsné pozitivity UU a MH a v menší míře při nálezů samotné MH. Jako další nález je *Streptococcus anginosus* (SRAN) jak u pozitivity UU, tak u nálezů UU s MH. U nálezů s MH se nevyskytuje. Další je kvasinka *Candida albicans* (CAAL), vyskytující se v nejvíce u nálezů UU, poté u MH a v nejmenším zastoupení u směsného nálezů UU a MH. *Enterococcus faecalis* (ENFA) se vyskytuje v malém množství jen u pozitivity UU. Dále *Escherichia coli* (ESCO) má podobný výskyt u pozitivity směsné UU s MH a u nálezů UU. Pozitivní nález na *Staphylococcus aureus* (STAU), se vyskytuje pouze u nálezů s UU.



Obrázek 24: Výskyt poševních mikroorganismů porovnání při pozitivitě UU+MH, pozitivitě UU a pozitivitě MH (zdroj: vlastní)

Z celkového počtu 282 (100 %) pacientek, mělo 157 (56 %) pacientek udělané vyšetření na mykoplazmata a současné vyšetření poševního výtěru k zjištění případného výskytu jiných mikroorganismů v pochvě.

5 Diskuze

Kultivační vyšetření urogenitálních mykoplazmat je náročnější, než u jiných bakterií, kvůli jejich malému genomu a sníženým biosyntetickým schopnostem. Proto se v praxi využívá komerčně dodávaných kitů na diagnostiku mykoplazmat. Na konci procesu očkování mikrotitrační destičky mykoplazmaty, jsem musela dbát na pečlivé přelepení destičky fólií, protože jsou mykoplazmata náchylná na vysychání. Proto se také transportují do laboratoře v tekutém médiu.

Vzhledem k tomu, že se UU a MH přenáší převážně pohlavní cestou, koreluje proměření s počtem sexuálních partnerů, nebo s počtem sexuálních partnerů partnera, či partnerky (Waites et al., 2009).

Rutinní testování asymptomatických jedinců a léčba se nedoporučuje, kvůli možnému vzniku rezistence na ATB u mykoplazmat, ale i dalších bakterií způsobujících závažnější onemocnění (Horner et al., 2018). S tím souhlasím, ale pokud má pacientka recidivující urogynekologické obtíže, nebo je léčba ATB neúčinná, přiklonila bych se k názoru Potts et al., která doporučuje vyšetření na mykoplazmata a následné zaléčení, před invazivnějšími a nákladnějšími vyšetřeními (Potts et al., 2000).

Ve studii od Marovt et al. nebyla nalezena žádná souvislost mezi nepřítomností laktobacilů a pozitivitou UU, což potvrzují i mé výsledky, kdy byl nález laktobacilů u nálezů UU vysoký. V této studii dále přišly na to, že smíšená vaginální flóra tedy laktobacily ve spojení s patogenním mikroorganismem, často vytvářejí asymptomatické jedince. Ukazují tím, že svoji přítomností vytvářejí zdravou vaginální flóru (Marovt et al., 2015).

Ve studiích bylo dále zjištěno, že pozitivita MH je spojena se změnou vaginální flóry, včetně BV a infekce *Trichomonas vaginalis*. Taylor-Robinson zkoumal prevalenci MH u přibližně 2,5 tis. žen ve fertilním věku a objevil trojnásobný nárůst u žen s BV ve srovnání se zdravými ženami, což naznačuje, že dismikrobiální stav u BV podporuje růst MH. Dalším zajímavým objevem je, že po nasazení metronidazolu, který eliminuje GAVA, byla účinně eliminována i MH, která je normálně vůči metronidazolu rezistentní, to ukazuje synergii mezi těmito dvěma druhy. Zatímco role UU nebyla zatím úplně objasněna v souvislosti s BV (Taylor-Robinson, 2017).

Nicméně infekce urogenitálního traktu u obou pohlaví, které jsou vyvolané jinými bakteriálními původci (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus agalactiae*) jsou často sdružené s infekcí UU nebo MH (Rumyantseva et al., 2019; Marovt et al., 2015).

Hodně studií spíše zohledňuje výskyt mykoplazmat v souvislosti s urogynekologickými infekcemi, ale například ve studii Zdrodowska-Stefanow et al. zjišťovali konfekce s UU a MH u pacientek na klinice STD. U všech pacientek byla vyloučena infekce *Neisseria gonorrhoeae* a bakteriální vaginóza (ta je charakterizována snížením počtu laktobacilů a zvýšením GAVA, či obligátních anaerobů). Výsledky byly takové, že pozitivní nález UU byl zjištěn u 47 % pacientek, dále pak byl u 30 % pacientek nález UU s *Candida albicans*, u 14 % pacientek nález UU s *Chlamydia trachomatis*, u 9 % pak smíšený nález UU s MH. Výsledky korelují s mými v tom ohledu, že výskyt UU je v mnohem větším zastoupení, než souběžný výskyt UU s MH, nebo jen samotné MH. Dále, jsem v mých výsledcích také měla poměrně velké zastoupení nálezu UU s *Candida albicans*. Výskyt GAVA, který byl v mých výsledcích značný, se s porovnávanou studií neshoduje, protože jak se sami zmiňují v diskuzi ke studii, byly v jejich zkoumání vyloučeny ženy s bakteriální vaginózou, která je nejčastěji spjata s nálezem GAVA (Zdrodowska-Stefanow et al., 2006).

V další studii od Marovt et al. se zabývali konfekcemi spjatými s UU a *Ureaplasma parvum*. Výsledky u UU byly takové, že nejčastější byl výskyt laktobacilů, to koreluje s mými výsledky, jako další byla nalezena smíšená vaginální flóra, jako další pak GAVA, což také přesně odpovídá mým výsledkům. V menší míře pak nálezy SRAG, CAAL, *Chlamydia trachomatis*, kterou jsem já v nálezech neměla a MH (Marovt et al., 2015).

Moje hypotéza byla, zda se mykoplazmata vyskytují separátně, nebo v kooperaci s jinými mikroorganismy, může být zodpovězena částečně, protože bylo možné zohlednit cca polovinu pacientek 157 z 282, které měly udělané současné vyšetření na mykoplazmata a výtěr z pochvy. U zbylých nebyl proveden výtěr z pochvy. U vyšetřených pacientek vyšlo najevo, že se normální flóra v podobě nálezu laktobacilů vyskytuje nejvíce u nálezu s UU v zanedbatelném množství pak u smíšeného nálezu UU s MH u pozitivní MH nebyly nalezeny vůbec. V těsném závěsu pak dominuje výskyt GAVA u všech tří pozitivních skupin, jak u smíšeného nálezu UU s MH, tak

u separátních nálezů UU a MH. Dále pak v menším množství již zmiňované mikroorganismy ve výsledcích. Mohu tedy říci, že mykoplazmata se většinou nevyskytují separátně, ale jsou sdružené ať už s nějakými nálezy poševních mikroorganismů, či dle studií s urogynekologickými obtížemi.

Řekla bych, že ačkoliv se uvádí vysoká čísla positivity hlavně u nálezů UU, méně pak MH a mluví se v mnoha člancích o nepatogenních mikroorganismech, která nezpůsobují významná onemocnění, je zde několik studií, která naznačují pravý opak. Možná je to dané i tím, že několik studií vyvracející nepatogenitu, byly prováděny na jedincích již s nějakými obtížemi.

6 Závěr

V teoretické části své bakalářské práce jsem shrnula dosavadní informace o urogenitálních infekcích ženského ústrojí a o mykoplazmatech, detailněji jsem se zaměřila na *Ureaplasma urealyticum* a *Mycoplasma hominis*. V praktické části jsem si osvojila diagnostiku UU a MH pomocí komerčně dodávaných kitů a celkovou laboratorní diagnostiku zpracování výtěrů z pochvy, tím jsem splnila první cíl své práce. Díky zapojení v laboratorní činnosti v Unilabs k.s. jsem zjistila jak se přijímá vzorek, jak se zapisuje do systému, dále už jsem vzorek vyšetřovala pod vedením laborantek.

Dalším cílem mé práce bylo statistické vyhodnocení pacientek a zjištění, zda se nález mykoplazmat vyskytuje separátně, nebo v kooperaci s mikroorganismy. Tato problematika je popsána výše v diskuzi. Zpracováním výsledků do statistiky, byl splněn i druhý cíl mé práce.

Porovnání těchto dvou kritérií a to pozitivita na mykoplazmata a zároveň vyšetření poševního výtěru, mi poskytlo náhled na to, že samotný nález UU se vyskytuje v mnohem větší míře, než nález MH nebo směsný nález obou. Nejhojněji se vyskytují laktobacily u nálezu UU. Dále pak GAVA, která byla nalezena u všech tří skupin pozitivit. V podobné míře zastoupení pak nález CAAL a SRAN. Ve snižujícím se trendu pak SRAG, ENFA, ESCO a STAU. U všech nálezů mikroorganismů však převažuje spojení s pozitivitou na UU.

Mé doporučení, dle výsledků, pro praxi je, že pokud má pacientka nějaké opakující se problémy s močovým traktem, nebo gynekologické infekce, či dyskomfort. Bylo by vhodné ji vyšetřit na výskyt mykoplazmat a popřípadě zvolit vhodné schéma zaléčení ATB. Myslím si, že by se tak urychlil proces léčby, protože mykoplazmata mohou mít u některých pacientek významný vliv na recidivě urogynekologických obtíží.

7 Seznam použitých zdrojů

1. BÉBÉAR, C. M., BARBEYRAC, B., PEREYRE, S., RENAUDIN, H., CLERC, M., BÉBÉAR, C., 2008. Activity of moxifloxacin against the urogenital mycoplasmas *Ureaplasma* spp., *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma genitalium* and *Chlamydia trachomatis*. *Clinical Microbiology and Infection*. 14(8), 797-812. Dostupné z: doi: 10.1111/j.1469-0691.2008.02027.x.
2. BEDNÁŘ, M., FRAŇKOVÁ, V., SCHINDLER, J., SOUČEK, A., VÁVRA, J., 1996. *Lékařská mikrobiologie: Bakteriologie, virologie, parazitologie*. 1. vydání. Praha: Marvil. 116 s., ISBN 80-2380-297-6.
3. BRADHURST, P., EL-HADDAD, C., NG, J., URRIOLOA, N., 2021. *Ureaplasma urealyticum* septic oligoarthritis in a patient with severe secondary hypogammaglobulinaemia. *Medical Journal of Australia* [online]. 214(11) [cit. 2023-06-14]. ISSN 0025-729X. Dostupné z: doi:10.5694/mja2.51107
4. COMBAZ-SÖHNCHEN, N., KUHN, A., 2017. A Systematic Review of *Mycoplasma* and *Ureaplasma* in Urogynaecology. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* [online]. 77(12), 1299-1303 [cit. 2023-06-14]. ISSN 0016-5751. Dostupné z: doi:10.1055/s-0043-119687
5. ČIHÁK, R., 2004. *Anatomie*. 2., upr. a dopl. vyd. Ilustroval Milan MED, ilustroval Ivan HELEKAL. Praha: Grada, s. 512, ISBN isbn80-247-0143-x.
6. DVOŘÁKOVÁ, K., 2009. *Nejčastější sexuálně přenosné infekce a možnosti jejich léčby*. *Klinická farmakologie a farmacie*. roč. 23, č.1, s. 24-29, ISSN 1212- 7973
7. EVANS, G. E., ANDERSON, T. P., SEAWARD, L. M., MURDOCH, D. R., 2016. Evaluation of the *Mycoplasma* Duo kit for the detection of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* from urogenital and placental specimens. *British Journal of Biomedical Science* [online]. 64(2), 66-69 [cit. 2023-06-14]. ISSN 0967-4845. Dostupné z: doi:10.1080/09674845.2007.11732758

8. GLASS, J. I., LEFKOWITZ, E. J., GLASS, J. S., HEINER, CH. R., CHEN, E. Y., CASSELL, G. H., 2000. The complete sequence of the mucosal pathogen *Ureaplasma urealyticum*. *Nature* [online]. **407**(6805), 757-762 [cit. 2023-06-13]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/35037619
9. HALAŠKA, M., 2004. *Urogynekologie*. Praha: Galén, s. 256, ISBN isbn80-7262-272 2.
10. HORNER, P., DONDERS, G., CUSINI, M., GOMBERG, M., JENSEN, J. S., UNEMO, M., 2018. Should we be testing for urogenital *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum* and *Ureaplasma urealyticum* in men and women? – a position statement from the European STI Guidelines Editorial Board. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* [online]. **32**(11), 1845-1851 [cit. 2023-07-15]. ISSN 0926-9959. Dostupné z: doi:10.1111/jdv.15146
11. HURYCH, J., ŠTÍCHA, R., 2021. *Lékařská mikrobiologie: repetitorium*. 3. vydání. Praha: Stanislav Juhaňák – Triton, s. 543-560, ISBN 978-80-7553-976-2.
12. JULÁK, J., 2003. *Praktická cvičení a semináře z lékařské mikrobiologie*. Praha: Karolinum, s. 114, ISBN isbn80-246-0750-6.
13. KOKKAYIL, P., DHAWAN, B., 2015. *Ureaplasma: Current perspectives*. *Indian Journal of Medical Microbiology* [online]. **33**(2), 205-214 [cit. 2023-06-14]. ISSN 02550857. Dostupné z: doi:10.4103/0255-0857.154850
14. KONEČNÁ, J., 2010. Diagnostika *Ureaplasma urealyticum* a *Mycoplasma hominis* ve FN Brno. Brno, Masarykova univerzita, Lékařská fakulta. Vedoucí práce: MUDr. Jana Juránková, Ph.D.
15. LELI, CH., MENCACCI, A., LATINO, M. A., et al., 2018. Prevalence of cervical colonization by *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma genitalium* in childbearing age women by a commercially available multiplex real-time PCR: An Italian observational multicentre study. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* [online].

- 51(2), 220-225 [cit. 2023-06-13]. ISSN 16841182. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmii.2017.05.004
16. MAROVT, M., KEŠE, D., KOTAR, T., KMET, N., MILJKOVIĆ, J., ŠOBA, B., MATIČIČ, M., 2015. Ureaplasma parvum and Ureaplasma urealyticum detected with the same frequency among women with and without symptoms of urogenital tract infection. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* [online]. 34(6), 1237-1245 [cit. 2023-06-13]. ISSN 0934-9723. Dostupné z: doi:10.1007/s10096-015-2351-8
17. MARTÍNEK, J., VACEK, Z., 2009. *Histologický atlas*. Praha: Grada, s. 67 – 87, ISBN isbn978-80-247-2393-8.
18. MARTIN, D. H., 2015. Genital Mycoplasmas. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases* [online]. Elsevier, 2190-2193.e2 [cit. 2023-06-13]. ISBN 9781455748013. Dostupné z: doi:10.1016/B978-1-4557-4801-3.00186-7
19. MAŠATA, J., JEDLIČKOVÁ, A., © 2004. *Infekce v gynekologii a porodnictví a základy jejich antiinfekční léčby*. Praha: Maxdorf, s. 371, ISBN 80-7345-038-0.
20. MAŠATA, J., JEDLIČKOVÁ, A., ©2006. *Infekce v gynekologii. Farmakoterapie pro praxi*. Praha: Maxdorf. ISBN isbn80-7345-107-7.
21. MAŠATA, J., 2014. *Urogynekologické infekce-pohled urogynekologa* [online]. [cit. 2023-06-17]. Dostupné z: uro_05_14.indd (urologiepropraxi.cz)
22. MIANO, R., GERMANI, S., VESPASIANI, G., 2007. Stones and Urinary Tract Infections. *Urologia Internationalis* [online]. 79(Suppl. 1), 32-36 [cit. 2023-06-14]. ISSN 0042-1138. Dostupné z: doi:10.1159/000104439
23. PITCHER, D., SILLIS, M., ROBERTSON, J. A., 2001. *Simple Method for Determining Biovar and Serovar Types of Ureaplasma urealyticum Clinical Isolates Using PCR–Single-Strand Conformation Polymorphism Analysis*. *Journal of Clinical Microbiology*. 39(5), 1840-1844. doi: 10.1128/JCM.39.5.1840-1844.2001.

24. POTTS, J. M., WARD, A. M., RACKLEY, R. R., 2000. Association of chronic urinary symptoms in women and *Ureaplasma urealyticum*. *Urology* [online]. **55**(4), 486-489 [cit. 2023-06-14]. ISSN 00904295. Dostupné z: doi:10.1016/S0090-4295(99)00555-5
25. RAZIN, S., YOGEV, D., NAOT, Y., 1998. Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* [online]. **62**(4), 1094-1156 [cit. 2023-06-14]. ISSN 1092-2172. Dostupné z: doi:10.1128/MMBR.62.4.1094-1156.1998
26. RAZIN, S., MASOVER, G. K., PALANT, M., HAYFLICK, L., 1997. *Morphology of Ureaplasma urealyticum* Organsims and colonies. *Journal of Bacteriology*. **130**(1), 464-471. doi: 10.1128/JB.130.1.464-471.1977.
27. RAZIN, S., JACOBS, E., 1992. Mycoplasma adhesion. *Journal of General Microbiology* [online]. **138**(3), 407-422 [cit. 2023-06-18]. ISSN 0022-1287. Dostupné z: doi:10.1099/00221287-138-3-407
28. RUMYANTSEVA, T., KHAYRULLINA, G., GUSCHIN, A., DONDEERS, G., 2019. Prevalence of *Ureaplasma* spp. and *Mycoplasma hominis* in healthy women and patients with flora alterations. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* [online]. **93**(3), 227-231 [cit. 2023-06-14]. ISSN 07328893. Dostupné z: doi:10.1016/j.diagmicrobio.2018.10.001
29. RYŠKOVÁ, O., 2008. *Základy lékařské mikrobiologie a imunologie: učební texty pro bakalářské studium*. 2. dotisk 1. vyd. Praha: Univerzita Karlova. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 978-80-246-0135-9.
30. SALAVEC, M., SLEHA, R., LOUDA, M., BOŠTÍKOVÁ, V., JANOVSKÁ, S., BOŠTÍK, P., 2017. Infections of ureaplasma and mycoplasma in urogenital clinical practice. *Urologie pro praxi* [online]. **18**(5), 209-216 [cit. 2023-06-14]. ISSN 12131768. Dostupné z: doi:10.36290/uro.2017.050
31. SAMRA, Z., ROSENBERG, S., DAN, M., 2011. *Susceptibility of Ureaplasma urealyticum to tetracycline, doxycycline, erythromycin, roxithromycin,*

- clarithromycin, azithromycin, levofloxacin and moxifloxacin. Journal of Chemotherapy.* 23(2), 77–79. doi: 10.1179/joc.2011.23.2.77.
32. SETHI, S., SINGH, G., SAMANTA, P., SHARMA, M., 2012. Mycoplasma genitalium: an emerging sexually transmitted pathogen. *Indian J Med Res.*; 136(6): 942-955.
33. SCHINDLER, J., 2010. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů.* Praha: Grada, s. 183 – 186, ISBN isbn978-80-247-3170-4.
34. ŠPAČEK, J., BUCHTA, V., JÍLEK, P., 2013. *Vulvovaginální dyskomfort a poruchy poševního prostředí.* Praha: Grada, s. 359, ISBN 978-80-247-4554-1.
35. TAYLOR-ROBINSON, D., 1996. Infections Due to Species of Mycoplasma and Ureaplasma: An Update. *Clinical Infectious Diseases* [online]. 23(4), 671-684 [cit. 2023-06-14]. ISSN 1058-4838. Dostupné z: doi:10.1093/clinids/23.4.671
36. TAYLOR-ROBINSON, D., 2017. Mollicutes in vaginal microbiology: Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum, Ureaplasma parvum and Mycoplasma genitalium. *Research in Microbiology* [online]. 68(9-10), 875-881 [cit. 2023-06-14]. ISSN 09232508. Dostupné z: doi:10.1016/j.resmic.2017.02.009
37. VOTAVA, M., 2000. Lékařská mikrobiologie II: přehled vyšetřovacích metod v lékařské mikrobiologii. Brno: Masarykova univerzita, s. 309, ISBN 80-210-2272-8.
38. VOTAVA, M., 2003. *Lékařská mikrobiologie speciální.* Brno: Neptun, s. 495, ISBN isbn80-902896-6-5.
39. VOTAVA, M., 2005. *Lékařská mikrobiologie obecná.* 2. přeprac. vyd. Brno: Neptun, s. 291 –296, ISBN 80-86850-00-5.
40. WAITES, K. B., SCHELONKA, R. L., XIAO, L., GRIGSBY, P. L., NOVY, M. J., 2009. Congenital and opportunistic infections: Ureaplasma species and Mycoplasma hominis. *Seminars in Fetal and Neonatal*

- Medicine* [online]. **14**(4), 190-199 [cit. 2023-06-13]. ISSN 1744165X. Dostupné z: doi:10.1016/j.siny.2008.11.009
41. WAITES, K. B., TAYLOR-ROBINSON, D., 2015. Mycoplasma and Ureaplasma. In: JORGENSEN, James H., Karen C. CARROLL, Guido FUNKE, Michael A. PFALLER, Marie Louise LANDRY, Sandra S. RICHTER a David W. WARNOCK, ed. *Manual of Clinical Microbiology* [online]. Washington, DC, USA: ASM Press, 2015-05-26, s. 1088-1105 [cit. 2023-06-16]. ISBN 9781683672807. Dostupné z: doi:10.1128/9781555817381.ch62
42. WAITES, K. B., KATZ, B., SCHELONKA, R. L., 2005. Mycoplasmas and Ureaplasmas as Neonatal Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. **18**(4), 757-789 [cit. 2023-06-13]. ISSN 0893-8512. Dostupné z: doi:10.1128/CMR.18.4.757-789.2005
43. ZDRODOWSKA-STEFANOW, B., KLOSOWSKA, W. M., OSTASZEWSKA-PUCHALSKA, I., BULHAK-KOZIOL, V., KOTOWICZ, B., 2006. Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis infection in women with urogenital diseases. *Adv Med Sci.* 51:250-3. PMID: 17357319
44. ZHU, Ch., HU, Z., DONG, Ch., ZHANG, Ch., WAN, M., LING, Y., 2011. Investigation of Ureaplasma urealyticum biovars and their relationship with antimicrobial resistance. *Indian Journal of Medical Microbiology* [online]. **29**(3), 288-292 [cit. 2023-06-14]. ISSN 02550857. Dostupné z: doi:10.4103/0255-0857.83915

8 Přílohy

Příloha 1: Taxonomické tabulky v textu

Tabulka 1: Taxonomická klasifikace UU

<i>Ureaplasma urealyticum</i>	
Doména	<i>Bacteria</i>
Kmen	<i>Mycoplasmata</i>
Třída	<i>Mollicutes</i>
Řád	<i>Mycoplasmatales</i>
Čeleď	<i>Mycoplasmataceae</i>
Rod	<i>Ureaplasma</i>
Druh	<i>Ureaplasma urealyticum</i>

(Zdroj: Shepard et al. 1974 (Approved Lists 1980))

Tabulka 2: Taxonomická klasifikace MH

<i>Mycoplasma hominis</i>	
Doména	<i>Bacteria</i>
Kmen	<i>Mycoplasmata</i>
Třída	<i>Mollicutes</i>
Řád	<i>Mycoplasmatales</i>
Čeleď	<i>Mycoplasmataceae</i>
Rod	<i>Mycoplasma</i>
Druh	<i>Mycoplasma hominis</i>

(Zdroj: Freundt 1953, Edward 1955)

Příloha 2: Tabulky ke grafům

Tabulka 3: Celkový počet vyšetření 2019-2022 z cervixu žen

vyšetření	počet pacientek
Pozitivní UU+MH	56
Pozitivní UU	206
Pozitivní MH	20
Negativní	577

Tabulka 4: Vyšetření z cervixu žen za rok 2019

vyšetření	počet pacientek
Pozitivní UU+MH	23
Pozitivní UU	89
Pozitivní MH	5
Negativní	201

Tabulka 5: Vyšetření z cervixu žen za rok 2020

vyšetření	počet pacientek
Pozitivní UU+MH	9
Pozitivní UU	42
Pozitivní MH	3
Negativní	112

Tabulka 63: Vyšetření z cervixu žen za rok 2021

vyšetření	počet pacientek
Pozitivní UU+MH	10
Pozitivní UU	49
Pozitivní MH	7
Negativní	157

Tabulka 7: Vyšetření z cervixu žen za rok 2022

vyšetření	počet pacientek
Pozitivní UU+MH	13
Pozitivní UU	26
Pozitivní MH	6
Negativní	110

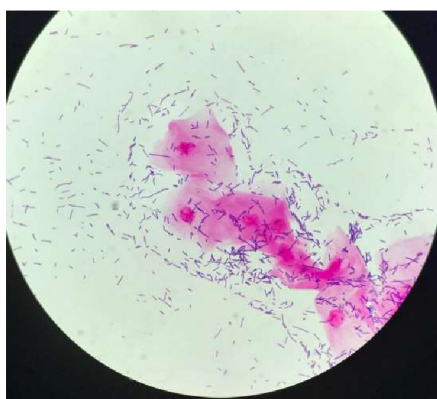
Tabulka 8: Celkový počet vyšetření z cervixu žen rozdělení dle roků

vyšetření	2019	2020	2021	2022
Pozitivní UU+MH	23	9	10	13
Pozitivní UU	89	42	49	26
Pozitivní MH	5	3	7	6
Negativní	201	112	157	110

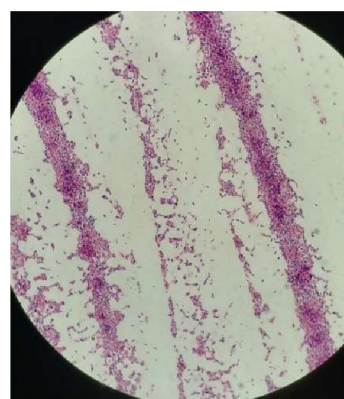
Tabulka 9: Výskyt poševních mikroorganismů při pozitivitě mykoplazmat

vyšetření	Pozitivní UU+MH	Pozitivní UU	Pozitivní MH
LA	2	44	0
GAVA	15	38	4
SRAN	4	16	0
CAAL	1	15	2
SRAG	1	8	1
ENFA	0	3	0
ESCO	1	1	0
STAU	0	1	0

Příloha 3: Mikroskopie



Obrázek 1: Mikroskopické zobrazení laktobacilů (G+ tyčinky) a vaginálních epitelálních buněk (zdroj: vlastní)



Obrázek 2: Mikroskopické zobrazení GAVA v poševním stěru (zdroj: vlastní)

Příloha 4:



Obrázek 3: Vortex (zdroj: vlastní)

Příloha 5: diagnostické sety na vyšetřování mykoplazmat



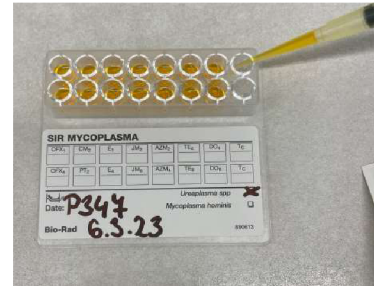
Obrázek 4: Mikrotitrační destička MYCOPLASMA DUO (zdroj: vlastní)



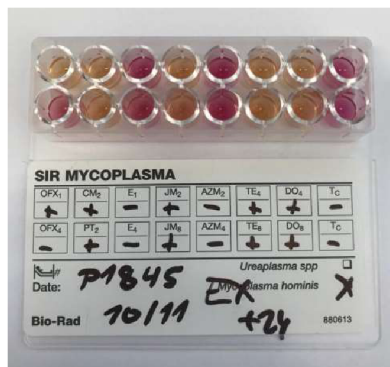
Obrázky 5, 6, 7: Mikrotitrační destičky s výsledky, obrázek 5: pozitivita UU, obrázek 6: pozitivita UU a MH, obrázek 7: negativní výsledek (zdroj: vlastní)



Obrázek 8: Bujóny arginin a U9 (zdroj: vlastní)

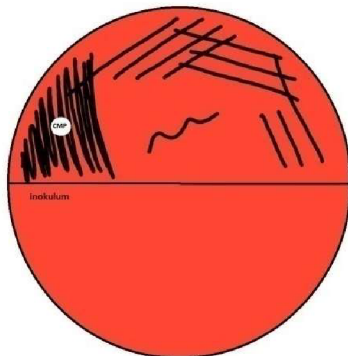


Obrázek 9: Mikrotitrační destička SIR MYCOPLASMA (zdroj: vlastní)



Obrázky 10 a 11: Mikrotitrační destičky s výsledky na citlivost k ATB (zdroj: vlastní)

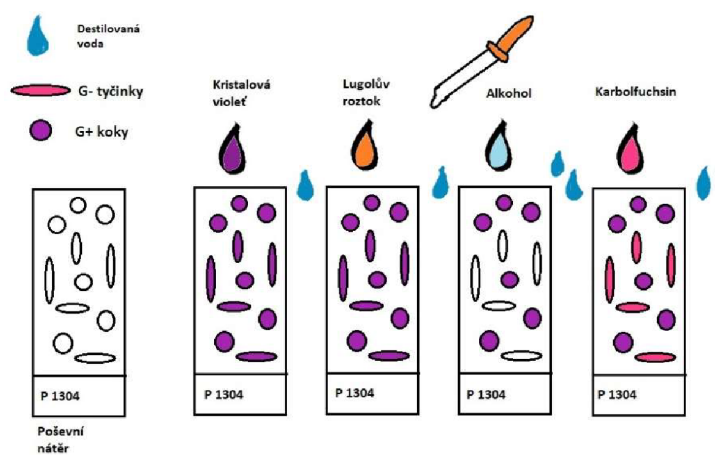
Příloha 6: Schéma očkování na kultivační půdu, barvicí automat a schéma barvení dle Grama



Obrázek 12: Schéma očkování kultivační půdy KAC (zdroj: vlastní)



Obrázek 13: Barvicí automat (zdroj: vlastní)



Obrázek 14: Schéma barvení dle Grama (zdroj: vlastní)

9 Seznam zkratek

AIDS	anglicky: Acquired Immune Deficiency Syndrome, česky: syndrom získaného selhání imunity
ATB	antibiotikum
ATP	adenosintrifosfát
AV	aerobní vaginitida
BV	bakteriální vaginóza
CAAL	<i>Candida albicans</i>
cm	centimetr
CO ²	oxid uhličitý
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ESCO	<i>Escherichia coli</i>
ENFA	<i>Enterococcus faecalis</i>
GAVA	<i>Gardnerella vaginalis</i>
G+	grampozitivní bakterie
G-	gramnegativní bakterie
HIV	Human imunodeficiency virus
HPV	Human papilloma virus
HSV	Herpes simplex virus
IgA	imunoglobulin A
IMC	infekce močových cest
LA	laktobacily
LIS	laboratorní informační systém
MH	<i>Mycoplasma hominis</i>
ml	mililitr
MOP	mikrobiální obraz poševní

NGU	negonokoková uretritida
nm	nanometr
PCR	polymerázová řetězová reakce
pH	vodíkový exponent
PID	zánětlivé onemocnění pánve
RTG	rentgenové záření
STAU	<i>Staphylococcus aureus</i>
SRAG	<i>Streptococcus agalactiae</i>
SRAN	<i>Streptococcus anginosus</i>
STD	sexually transmitted diseases
UU	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
VVK	vulvovaginální kandidóza
° C	stupeň celsia
μm	mikrometr