



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Studies

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

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Fakulta zdravotně sociální
Katedra laboratorních metod a informačních systémů

Bakalářská práce

Semikvantitativní bakteriologické vyšetření moče

Vypracoval: Alena Vitanovská

Vedoucí práce: RNDr. Helena Nedvěďová

České Budějovice 2015

ABSTRAKT

Semikvantitativní bakteriologické vyšetření moče

Moč je kapalný produkt látkové výměny vylučovaný ledvinami. Poukazuje na celkový zdravotní stav organismu. Infekce močových cest patří mezi druhé nejčastější onemocnění, způsobené různými patogeny. Nejčastěji se vyskytuje patogen *E. coli*. S vysokým výskytem přetrvávajících infekcí a jejich léčbou souvisí nárůst rezistence bakteriálních patogenů k antibiotikům.

Hlavními cíli této bakalářské práce je seznámení se s bakteriologickým vyšetřením infekcí močového ústrojí, osvojení si techniky semikvantitativního bakteriologického vyšetření moče a dalších postupů vedoucích k diagnostice močových patogenů na Oddělení lékařské mikrobiologie Klatovské nemocnice, a.s.. Dalším cílem je na základě přebraných dat z LISu OLM vyhodnotit získané výsledky a porovnat je s literárními údaji.

Úvodní část práce se věnuje definicím základních pojmů, které jsou spojeny s močovým ústrojím, jeho infekcemi a vyskytujícími se patogeny. Jsou zde popsány jednotlivé fáze laboratorního postupu, zejména jeho analytická část, která se věnuje teoretickému popisu metod laboratorní diagnostiky.

V metodice jsou popsány postupy identifikačních metod, tak jak byly použity na Oddělení lékařské mikrobiologie Klatovské nemocnice, a.s. Popsáno je semikvantitativní vyšetření, mikroskopie, jednotlivé identifikační biochemické testy pro dourčení patogenů a postup stanovení citlivosti.

Výsledky výzkumu jsou vyhodnoceny pomocí jednoduché statistiky v tabulkách a grafech. V roce 2014 přijala laboratoř mikrobiologie 8623 vzorků moče, z nichž 6267 pocházelo od pacientů z nemocnic. Pro statistické vyhodnocení byly použity právě tyto vzorky. Ve 1260 případech byla detekována *E. coli*, v 829 případech *Enterococcus* a v 297 případech *Proteus*. Dalšímu statistickému vyhodnocení byly podrobeny jen případy *E. coli*, u kterých se stanovila citlivost na nitrofurantoin. Těch bylo 1030, z toho 819 žen a 211 mužů. Nejvyšší výskyt tohoto patogenu byl u žen ve věkové kategorii nad 61 let, jednalo se o 542 pacientek. U mužů byl záchyt taktéž nejvyšší ve věku nad

61 let, a to u 166 pacientů. Záchyt *E. coli* u mužů i žen byl oproti ostatním kategoriím nejnižší ve věku 7-17 let.

Klíčová slova: *Escherichia coli*, infekce močových cest, kultivační média, kultivační vyšetření

ABSTRACT

Semiquantitative bacteriological examination of urine

Urine is a liquid product of metabolism excreted through the kidneys. It refers to the overall health of the body. Urinary tract infections are the second most common disease in the population caused by various pathogens. *E. coli* is the most frequent pathogen. The increase in resistance of bacterial pathogens to antibiotics is related to the high incidence of persistent infections and their treatment.

The main objectives of this thesis are to introduce the bacteriological examination of urinary tract infections and mastering the art semiquantitative bacteriological examination of urine and other processes leading to the diagnosis of urinary pathogens using in the Medical Microbiology Department of Klatovská nemocnice, a.s.. Then, based on the results taken from LIS OLM to evaluate the obtained results and to compare them with the literature.

The first part deals with the definition of basic concepts that are associated with urinary tract infections, and its infections and occurring pathogens. The various phases of laboratory procedure are described. In particular, analytical part of laboratory procedure which deals with theoretical description of methods of laboratory diagnostics.

The procedures of identification methods, which are used in the Medical Microbiology Department of Klatovská nemocnice, a.s. are described in the methodology. That means semiquantitative examination, microscopy, various biochemical tests for pathogens identification and process for the determination of sensitivity.

The research results are evaluated using simple statistics in tables and graphs. In the year 2014 8623 urine samples were examined. 6267 samples came from hospital patients. The samples from hospital patients were for the statistical evaluation. From these samples 1260 were cases of *E. coli*, *Enterococcus* 829 cases and 297 cases of *Proteus*. For further statistical evaluation is carried out with *E. coli* which determine sensitivity to nitrofurantoin such were 1030. From that 819 women and 211 men. The highest incidence of this pathogen was among women in the age group over 61 years, it were the 542 patients. For men the capture also the highest over the age of 61 years,

with 166 patients. The lowest detection of *E. coli* in both men and women was the lowest compared to other categories of age 7-17.

Key words: *Escherichia coli*, urinary tract infections, culture medium, culture examination

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených 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 – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných fakultou – 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 kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 5. 5. 2015

.....

Alena Vitanovská

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat RNDr. Heleně Nedvědové za vedení mé bakalářské práce, cenné rady a odborný dohled. Velký dík patří též kolektivu Oddělení lékařské mikrobiologie Klatovské nemocnice a.s. za ochotu, rady a vytvoření příjemných pracovních podmínek při výzkumu.

Obsah

ÚVOD.....	11
1 SOUČASNÝ STAV.....	12
1.1 Tvorba moče.....	12
1.2 Fyziologické a patologické množství moči a fyzikální vlastnosti moči.....	12
1.3 Uroinfekce v populaci.....	13
1.4 Šíření uroinfekcí.....	14
1.5 Infekce horních cest močových.....	14
1.6 Infekce dolních cest močových.....	15
1.7 Nejčastější patogeny způsobující uroinfekce.....	16
1.8 Preanalytická fáze laboratorního vyšetření.....	17
1.8.1 Odběr moče na kvantitativní kultivační vyšetření.....	17
1.8.2 Uchovávání a transport vzorku do laboratoře.....	19
1.8.3 Identifikace pacienta na žádance a označení vzorku.....	19
1.9 Analytická fáze laboratorního vyšetření.....	20
1.9.1 Zpracování moče jako biologického materiálu.....	21
1.9.2 Mikroskopické vyšetření.....	21
1.9.3 Kultivační vyšetření.....	22
1.9.4 Stanovení citlivosti k antibiotikům.....	23
1.9.5 Rezistence bakterií k antibiotikům.....	23
1.10 Postanalytická fáze laboratorního vyšetření.....	25
1.10.1 Vydávání výsledků a jejich sdělování pacientům.....	25
1.10.2 Laboratorní a nemocniční informační systém.....	26
2 CÍL PRÁCE A HYPOTÉZY.....	27
2.1 Cíl práce.....	27
2.2 Předpokládané hypotézy.....	27
3 METODIKA.....	28
3.1.1 Mikroskopické vyšetření a barvení dle Grama.....	28
3.1.2 Kultivace.....	29
3.1.3 Izolace bakteriálních kmenů.....	31
3.1.4 Serologické vyšetřovací metody.....	31

3.1.5	Identifikace pomocí biochemických testů.....	34
3.1.6	Stanovení citlivosti- disková difúzní metoda	38
4	VÝSLEDKY	40
5	DISKUZE	49
6	ZÁVĚR	52
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ.....	54
8	PŘÍLOHY.....	59

Seznam použitých zkratk

ADH- antidiuretický hormon

ATB- antibiotikum

ARO- anesteziologicko- resuscitační oddělení

CFU- colony forming unit

CLED agar- Cystine Lactose Electrolyte Deficient medium

DN- Domažlická nemocnice, a.s.

E. coli- *Escherichia coli*

ESBL- Extended Spectrum Beta Lactamases

FUR- nitrofurantoin

GF- glomerulární filtrace

G+ - gram pozitivní bakterie

G- - gram negativní bakterie

IČZ- identifikační číslo zařízení

Ig- imunoglobulin

IMC- infekce močových cest

JIP- jednotka intenzivní péče

KA- krevní agar

KN- Klatovská nemocnice, a.s.

LDN- léčebna dlouhodobě nemocných

LIS- laboratorní informační systém

MO- mikroorganismus

MRSA- methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*

RN- Rokycanská nemocnice, a.s.

např.- například

NH- Nemocnice Horažďovice

OLM- oddělení lékařské mikrobiologie

pH- „potential of hydrogen“ = množství volných iontů vodíku H⁺

PE- polyetylen

S- sérum

S.- Staphylococcus

sk.- skupina

SN- Stodská nemocnice, a.s.

sp.- species

UPEC- uropatogenní *Escherichia coli*

URI- UriSelect půda

ZZ- zdravotnické zařízení

ÚVOD

Problematika infekčních a zánětlivých onemocnění močových cest je v lidské populaci dobře známa. Infekce močových cest se vyskytují v pořadí na druhém místě za infekcemi dýchacích cest. Jsou lokalizovány v běžné populaci, ale i v nemocnicích jako nozokomiální nákazy. Moč zdravého člověka je sterilní, tedy bez jakýchkoliv mikroorganismů. Propuknutí infekce se projeví bakteriurií, tzn. výskytem mikroorganismů v moči. S vysokým výskytem močových infekcí narůstá rezistence bakteriálních původců onemocnění k antibiotikům a s tímto související zvýšení nákladů na úspěšnou léčbu. Zvolení správného bakteriologického vyšetření vede ke včasnému odhalení patogenů a ke stanovení antibiogramu na zjištěné patogeny. Vyšetření moče je významnou součástí celkového vyšetření nemocných osob a poskytuje řadu informací o zdravotním stavu, a to jak ve stádiu s typickými klinickými příznaky, tak i ve stádiu bez jakýchkoli projevů onemocnění.

Praktická část bakalářské práce je provedena na Oddělení lékařské mikrobiologie Klatovské nemocnice a.s., kde autorka od června 2013 brigádně vypomáhá. Postup práce popsany v praktické části zachycuje reálné pracovní postupy používané na Oddělení lékařské mikrobiologie Klatovské nemocnice, a.s.. Stanovení patogenních bakterií v moči se provádí semikvantitativně, kultivačně a mikroskopicky. K práci se používají firemně dodávané barvicí roztoky, kultivační půdy a biochemické či aglutinační testy. Významnou součástí je i stanovení citlivosti bakterií k antibiotikům. Díky této metodě lze určit nejvhodnější, a tím i nejúčinnější druh antibiotika. Pracuje se s kvalitativní diskovou difúzní metodou, jejíž výsledek udává, zda-li je testovaná bakterie citlivá, a nebo rezistentní na testovaný druh antibiotika.

Cílem práce je semikvantitativní bakteriologické vyšetření vzorků moče z nemocnic patřících do spádové oblasti Klatovské nemocnice a.s. a porovnání získaných výsledků s literárními údaji. Vyhodnoceny budou počty vzorků moče přijatých do laboratoře za rok 2014, zastoupení jednotlivých agens v moči. A také bude zhodnocen výskyt nejčastějšího patogenu v závislosti na pohlaví a věku.

1 SOUČASNÝ STAV

1.1 Tvorba moče

Ledviny jsou vylučovací orgán, který nejen odstraňuje škodlivé látky, ale i přebytky látek tělu potřebné (ionty, vodu). Je to párový orgán, který je dostatečně chráněný pevným pouzdrém a je velmi bohatě zásoben krví. Ledvinami proteče za minutu více než 1 litr krve. Na průřezu ledvinou můžeme rozlišit tmavší zrnitou kůru a světlejší žíhanou dřev.

Nefron je základní stavební a funkční jednotkou ledviny. Skládá se z glomerulu, proximálního tubulu, Henleovy kličky, distálního tubulu a sběracího kanálku. Glomerulus o průměru asi 200 μm vzniká invaginací klubíčka kapilár do dilatovaného, slepého konce nefronu (Bowmanovo pouzdro) (Ganong, 2005, s. 703).

Glomerulární filtrace, probíhající v glomerulu, je první a základní stupeň vylučovací funkce ledvin. Vzniká ultrafiltrát krevní plazmy bez bílkovin. V proximálním tubulu dochází izosmotickou resorpcí k vstřebání 75 % GF. Následně vstupuje do Henleovy kličky izotonická tekutina a dochází k resorpci asi 15 % GF. Pod hormonální kontrolou dochází v distálním tubulu k resorpci 5 % GF, a to podle potřeb organismu. Sběrací kanálek prochází dřeví a vyústí do ledvinné pánvičky. Pod kontrolou ADH a vlivem osmotického gradientu hypertonické dřevě dochází k resorpci 4 % GF. Vzniká definitivní moč, jejíž objem je necelé 1 % GF, tj. asi 1,5 litru za den.

Definitivní moč se vylučuje ze sběrného kanálku na ledvinné papile, která ústí do ledvinné pánvičky. Odtud je moč transportována močovody do močového měchýře a močovou trubicí z těla ven (Mourek, 2005).

1.2 Fyziologické a patologické množství moči a fyzikální vlastnosti moči

Stanovení denního množství moči patří mezi důležité informace o koncentrační a zředovací schopnosti ledvin. Denní objem moči je závislý na příjmu i výdeji tekutin (močení, pocení, dýchání a ztrátě ve formě stolice).

Normální hodnoty definitivní moči se pohybují okolo 1,5 litrů za 24 hodin.

Za patologické stavy se považují:

Nykturie- zvýšené močení v noci

Polakisurie- časté močení v malých porcích

Inkontinence- neudržení moči, pomočování

Polyurie- zvýšené denní množství moči

Oligurie- snížené denní množství moči

Anurie- téměř úplná nebo úplná zástava močení

Fyzikální vlastnosti moče:

Barva, zákal, zápach, pH, hustota moče.

Změna fyzikálních vlastností moči vede k odhalení některých bakteriálních infekcí již v počátečním stádiu (Čermáková, 2003, s. 38- 41).

1.3 Uroinfekce v populaci

Močové infekce jsou druhé nejběžnější infekce. Postihují hlavně ženy a nejčastěji probíhají jako zánět močového měchýře (cystitis), méně často jako zánět ledvin a pánvičky ledvinné (pyelonefritis). Sexuálně přenosným onemocněním jsou obvykle záněty močové roury. Většinou jsou močové infekce ale původu bakteriálního (Votava, 2005).

IMC se rezultují z přítomnosti infekčních agens a z jejich pomnožování v jednom či více orgánech močového traktu s rizikem možného pronikání do tkání, popř. jejich okolí a do krve (Bébrová, 2002, s. 2).

U novorozenců je větší výskyt vrozených abnormalit močových cest u chlapců než u děvčat. S tímto souvisí nástup uroinfekcí vedoucích k rozvoji bakteriémie.

Již v batolecím věku dochází ke změně výskytu, kdy uroinfekce postihují více dívky. Tento výskyt je konstantní až do reprodukčního věku ženy. Ve věku mezi 20 – 50 roky jsou infekce močových cest 50x častější u žen než u mužů.

Ve vyšším věku se výskyt močových infekcí u obou pohlaví vyrovnává. Příčinou jsou obstrukční uropatie dolních cest močových a onemocnění prostaty u mužů. U žen

v důsledku zhoršeného vyprazdňování močového měchýře, při výhřezu dělohy nebo při inkontinenci (Bartoníčková, 2000).

Prognóza IMC: Nekomplikovaná dolní IMC má tendenci k recidivám, ale neohrožuje pacienta selháním ledvin. Komplikovaná IMC má tendenci vyvolat akutní pyelonefritidu a funkce ledvin klesá v důsledku infekce i základního onemocnění (městnání moči). Jestliže je úbytek ledvinové funkce v důsledku IMC značný (S-kreatinin $>350 \mu\text{mol/l}$), lze další progresi očekávat i tehdy, jestliže dalším atakám IMC předejdeme (Matušovič, 2001, s. 5).

1.4 Šíření uroinfekcí

Infekce močového ústrojí se z 99 % šíří ascendentní cestou z anorektální oblasti. Hlavní zásobárnou uroinfekcí bývá u žen také vagina. K lokalizaci a šíření infekce z vaginálního rezervoáru napomáhá nadměrná a nevhodná hygiena zevního genitálu. Časté mechanické omývání, používání kosmetických a dezinfekčních přípravků ovlivňuje pH sliznice a přirozenou bakteriální floru. Jedná se především o postižení dolních cest močových, související s krátkou uretrou u žen.

Hematogenní cestou je způsobováno, vysoce virulentními kmeny, asi 1 % uroinfekcí. Do této skupiny patří infekce horních cest močových dětí i dospělých. K hematogenním infekcím dochází nejčastěji šířením z ložisek v orofaciální oblasti (zubní kazy, tonzily) nebo po intravenózní aplikaci léčebných nebo chemických látek u osob postižených drogovou závislostí.

Také je možné šíření infekce lymfatickou cestou z oblasti cervixu a rektosigmoidea. Velmi vzácně vzniká infekce přímým šířením, např. provalením abscesu z okolí u apendicitidy a adnexitidy (Bartoníčková, 2000).

1.5 Infekce horních cest močových

Jedná se o zánětlivá onemocnění parenchymu ledvin. Infekce vznikají ascendentně z infikované moči, přechodem přes kanálky ledvinných papil do intersticia.

Akutní pyelonefritidu způsobují běžné i vysoce virulentní nozokomiální kmeny. Klinicky se projevuje náhle, během několika hodin až jednoho dne, nastupující celkovou nevolí, někdy zvracením a průjmem. Typická je vysoká teplota nad 39°C, tupá bolest v bederní krajině v místě uložení ledviny, moč kalné barvy s příměsí krve. Komplikací pyelonefritidy jsou vícečetné abscesy, postihující jednu nebo obě ledviny současně. Ztráta funkční schopnosti ledvin může vést až k úmrtí nemocného. Při laboratorním vyšetření bývá hematurie, leukocyturie. Základem je kultivační vyšetření.

Chronická pyelonefritida je stav po bakteriální nefritidě, charakterizující zjizvení ledviny, komplikované hypertenzí. Klinicky se manifestuje nenápadně, bakteriurie bývá jediným příznakem daného onemocnění. U dospělého člověka jsou ledviny odolnější proti jizvám a ireverzibilnímu poškození infekcí, než ledviny v dětství.

Absces ledviny dle morfologie rozlišujeme na intrarenální absces a perirenální. Etiologie obou typů je velmi podobná. Nejčastěji se jedná o infekci z hematogenního zdroje pocházejícího ze zubů, plic a kožního zdroje. Onemocnění postihuje především oslabené jedince. Klinicky se projevuje únavovým syndromem, chronické subfebrilie, ztráta tělesné hmotnosti, nechutenství, někdy i spasmus bederního svalstva (Bartoníčková, 2000).

1.6 Infekce dolních cest močových

Infekce dolních cest močových se často kombinují s onemocněním pohlavních orgánů nevyžadující hospitalizaci. Postihují všechny věkové kategorie obyvatel, recidivují a mají vleklý průběh. Původ infekce je prakticky vždy ascendentní z oblasti anorektální nebo urogenitální. Na místě je laboratorní vyšetření moči chemicky, mikroskopicky, kultivačně. K odlišení původce v případě uretritid a sdružených onemocnění pohlavních cest je vyšetření výtěru z uretry, z pochvy. U mužů případně vyšetření exprimátu z prostaty.

Cystitida patří mezi nejčastější onemocnění dolních cest močových, označuje zánětlivé onemocnění močového měchýře nejrůznější etiologie, typické ve větší míře u žen ve fertilním věku. Bývá způsobena převážně ascendentní infekcí, pocházející z perianální oblasti. Jde především o kolibacilární bakterie. Klinické příznaky jsou

typické pro infekce dolních cest močových, jako je bolestivá mikce s pálením při močení, pobolívání v podbřišku, subfebrilní teploty, překrvení močového měchýře vedoucí k makrohematurii.

Uretritida je zánětlivé onemocnění močové trubice. Etiologie a klinické příznaky jsou podobné jako u cystitidy.

Mezi další infekce dolních cest močových řadíme např. prostatitidu, epididymitidu, orchitidu, koloitidu (Bartoníčková, 2000).

Včasné rozpoznání a cílená terapie infekcí močového traktu omezuje nebezpečí vzniku chronických zánětů a rezistentní mikroflóry. Bakteriologické vyšetření moče je důležitá laboratorní metoda k určení druhu a počtu původců.

1.7 Nejčastější patogeny způsobující uroinfekce

U zdravého člověka by moč měla být sterilní, bez bakterií.

Nejpočetnější skupinou původců močových infekcí tvoří enterobakterie, pseudomonády, streptokoky a stafylokoky.

Mezi lidmi jsou v 90 % zastoupeny infekce močových cest způsobené bakteriálními kmeny *Escherichia coli*. Ta je především vyvolavatelem akutní nekomplikované formy onemocnění, méně často vyvolává komplikované a nozokomiální IMC (Teplan, 2004). *E. coli*, nesporulující, pohyblivá, gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinka, je běžnou součástí střevní flóry. Její jméno je odvozeno od rakouského lékaře a bakteriologa Theodora von Escherichia, který ji izoloval roku 1885. Kmeny UPEC (uropatogenní *E. coli*) jsou předurčeny k tomu, aby se staly příčinou IMC, a to díky specifickým faktorům virulence. Každý kmen *E. coli*, vyvolávající IMC, není UPEC. Tato bakterie bývá vykultivována v monokultuře u pacienta s typickým obrazem IMC (Votava, 2003).

Pseudomonas sp., *Enterococcus sp.*, *Proteus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.* a *Serratia sp.* patří mezi vyvolavatele zejména rekurentních komplikovaných či nozokomiálních IMC, včetně urosepsí. Bývají spojovány s řadou strukturálních a funkčních abnormalit močových cest, např. katetrizačními výkony (Teplan, 2004).

Do patogenní skupiny grampozitivních koků také řadíme staphylokoky a beta-hemolytické streptokoky.

Staphylococcus epidermidis je typickým oportunním patogenem, napadá oslabené pacienty. Patologicky se hodnotí u pacientů se zavedeným močovým katétrem, po instrumentálním vyšetření, či komplikovaných infekcích. Stafylokokové buňky adherují velmi dobře k povrchům umělých předmětů (katetry a jiné náhrady) (Bednář, 1996).

Staphylococcus saprophyticus má cílený tropismus k epitelu močových cest. Vyskytuje se především u mladých žen, má za následek až 20 % IMC. Méně častěji a bez příznaků onemocnění se vyskytuje u mužů na sliznici uretry (Bednář, 1996).

Beta hemolytický streptokok skupiny B *Streptococcus agalactiae* může osidlovat hospitalizované jedince a vyvolávat nozokomiální ICM. Vyskytuje se převážně u žen a patří k častým kontaminantům z močové trubice a pochvy (Principy antimikrobiální léčby uroinfekcí, 2005).

Další bakterie vyskytující se v moči: *Corynebacterium sp.*, *Lactobacillus sp.*, viridující Streptokoky a gama- hemolytické streptokoky.

U imunokompromitovaných pacientů většinou *Candida albicans*, jako ukazovatel vážného onemocnění jiného původu (Teplan, 2004).

1.8 Preanalytická fáze laboratorního vyšetření

Preanalytická fáze zahrnuje soubor všech postupů a operací, kterými projde vzorek analyzovaného materiálu od okamžiku, kdy je analýza požadována, do okamžiku, kdy je vzorek vložen do analytického měřicího systému. Významná část těchto postupů se odehrává na klinických a lůžkových odděleních mimo laboratoře (Preanalytická fáze laboratorního vyšetření, 2012).

1.8.1 Odběr moče na kvantitativní kultivační vyšetření

Moč na kultivačně kvantitativní vyšetření se odebírá za přísně sterilních podmínek. Na správném odběru závisí metody, kterými se snažíme odlišit původce infekce od

kontaminace. Při nesprávném odběru a skladování dochází k přemnožení bakterií ve vzorku a hrubému zkreslení výsledku (Votava, 2005).

Je vhodné, aby zdravotnický personál poučil své pacienty o správné technice odběru. Důležité je, aby si pacient uvědomil, že jakékoliv pochybení z jeho strany může ovlivnit výsledky vyšetření a následnou léčbu (Laboratorní příručka, 2011).

Nejčastěji se vyšetřuje spontánně vymočená ranní moč, před zahájením léčby antibiotiky, po předchozím omytí genitálu včetně zevního ústí močové trubice, vodou a mýdlem (Bartoníčková, 2000).

Někteří mikrobiologové doporučují dezinfekci zevního genitálu sterilními tampóny, namočenými v roztoku dezinfekční látky.

V případě podání antibiotik nebo chemoterapeutik u signifikantní infekce, před odběrem moče, může být pozitivní pouze mikroskopie, kultivace bakterií se už nemusí podařit. Proto platí obecná zásada, pro odběr materiálu na mikrobiologické vyšetření, odebírat materiál před zahájením antibiotické léčby.

Moč je odebírána vždy jen do sterilních odběrových nádob, kontejnerů, zkumavek. Pro přesné stanovení musí být zachyceno minimálně 1 ml středního proudu moče u předpokládané infekce vyšších struktur močového systému, včetně postižení ledvinného parenchymu. Tímto odběrem dojde k odplavení prvotních nečistot ze zevního genitálu. V případě uretritidy odebrat počáteční, u prostatitidy konečný proud moče (Zábranský, 2012).

Zkumavku pečlivě uzavřeme a okamžitě odešleme do laboratoře. Vhodnější jsou sterilní kontejnery se širším vstupním otvorem, kam pacient může přímo namočit dostatečné množství moče, aniž by došlo ke kontaminaci odebíraného vzorku.

Neinvasivní odběr nevyžaduje žádné speciální zákroky. Pacient se sám vymočí, dle výše uvedených pravidel.

Miniinvasivní odběr moče charakterizuje jednorázová katetrizace močového měchýře. Sterilní cévka se zavádí přes močovou trubici do močového měchýře, za účelem odvedení moče. U pacientů s déle zavedeným katetrem je běžná symptomatická lokalizace dolních cest močových, neboť katétr bývá kontaminován bakteriemi tvořícími biofilm na jeho povrchu.

Do skupiny invazivního odběru řadíme např. suprapubickou punkci- aspiraci moči tenkou jehlou z močového měchýře přes břišní stěnu. Tento odběr je doporučován u paraplegiků (Bartoníčková, 2000).

1.8.2 Uchovávání a transport vzorku do laboratoře

Transport materiálu by měl být co nejrychlejší, nejlépe do 2 hodin po odběru. Každá prodleva snižuje možnost diagnostiky. V tekutém materiálu vydrží bakterie podmínky i transport relativně nejlépe. Pokojová a vyšší teplota způsobí přemnožení bakterií, dojde ke zkreslení výsledku kultivace. Teplota okolo 4°C zabrzdí metabolické procesy a bakterie lépe zvládnou nepříznivé podmínky. Moč nemrazíme, při 4°C vzorek můžeme odeslat do laboratoře nejpozději do 18 hodin po odběru (Čermák, 2003).

Pokud nelze zajistit odvoz materiálu do 2 hodin po odběru nebo není k dispozici chladnička pro skladování, je doporučován odběr na komerčně dodávaný Uricult.

Uriculty jsou systémy určené k okamžitému použití, obsahují pevnou kultivační půdu na plastovém podkladě, sloužící ke kultivaci kultur ze vzorku moči.

V laboratoři KN se používá Uricult dip slide, založený na dvou agarových mediích. Jedna strana destičky je potažena zeleným CLED médiem (selektivně diagnostická kultivační půda), zaměřeným na detekci celkového počtu bakterií. Druhá strana obsahuje červenohnědý MacConkey agar (selektivně diagnostická kultivační půda s laktózou) pro detekci gramnegativních mikrobů, způsobujících IMC. Selektivita je dosažena žlučovými solemi, laktóza pozitivní bakterie rostou červeně a laktóza negativní jako průsvitné kolonie (Orion Diagnostica, 2013).

1.8.3 Identifikace pacienta na žádance a označení vzorku

V laboratoři jsou přijímány pouze řádně označené vzorky materiálů, které mají na štítku čitelně napsané základní údaje:

- jméno a příjmení pacienta,
- rodné číslo pacienta,
- označení nabíraného vzorku (např. moč),

- hodina a datum odběru.

Ke každému vzorku musí být přiložena řádně vyplněná žádanka. Žádanka na mikrobiologické vyšetření je rozdělena podle základních součástí mikrobiologie (bakteriologická, parazitologická, mykologická a sérologická vyšetření).

Na všech požadavkových listech musí být povinně vyplněny základní identifikační znaky:

- číslo pojištěnce – pacienta (rodné číslo, číslo pojistky u cizinců),
- kód pojišťovny,
- příjmení, jméno pacienta,
- základní a další diagnózy pacienta,
- datum a čas odběru vzorku,
- razítko lékařského zařízení včetně odbornosti, IČZ a jména lékaře,
- kontakt na objednavatele – adresa, telefon nebo jiné spojení,
- požadovaná vyšetření (vázaná k dodanému vzorku nebo k dodaným vzorkům)
- léčba (ATB, chemoterapeutika).

(Laboratorní příručka, 2011, s. 10 – 11)

V případě, že žádanka neobsahuje všechny náležitosti nebo není-li vzorek řádně označen, pracovník na příjmu řeší tuto skutečnost jako neshodu při příjmu vzorků. Drobné nedostatky se řeší telefonicky s lékařem, který si vyšetření objednal. U hrubých nedostatků nemůže být vzorek přijat a zpracován.

Pokud vzorek i žádanka obsahují veškeré náležitosti, biologickému materiálu je přiřazeno laboratorní číslo- kód.

1.9 Analytická fáze laboratorního vyšetření

Analytická fáze zahrnuje vlastní laboratorní vyšetření. Analýza je prováděna v souladu správné laboratorní praxe. Zapojení laboratoře do systému externí kontroly kvality a do systému vnitřní kontroly kvality výrazně eliminuje chyby analytického procesu (Zima, 2003).

1.9.1 Zpracování moče jako biologického materiálu

Cílem vyšetření je mikroskopický a kvantitativní kultivační průkaz bakterií v moči. Získání čisté kultury přítomných bakterií je potřebné pro jejich identifikaci a stanovení citlivosti k antibiotikům a chemoterapeutikům.

Moč určená ke kvantitativnímu bakteriologickému vyšetření je v naší laboratoři zpracována mikroskopicky- barvení dle Grama a kultivačně pomocí jednorázových bakteriologických kliček o známém objemu 1 μ l a 10 μ l. Jedná se o semikvantitativní stanovení počtu bakterií, při kterém je využita skutečnost, že jedna bakterie vytvoří na vhodné kultivační půdě, po přibližně 18 hodinové kultivaci v termostatu, jednu kolonii viditelnou okem. Konečná koncentrace se udává počtem bakterií, které vytvořili kolonii na 1 ml moče (CFU/ml).

1.9.2 Mikroskopické vyšetření

Mikroskopie je přímým a rychlým průkazem bakterií. Tato základní mikrobiologická disciplína informuje o tvaru, barvitelnosti, uspořádání a četnosti bakterií, ale i o přítomnosti jiných elementů, např. zánětlivých buněk, erytrocytů a epitelii. Též slouží jako diagnostický postup při identifikaci narostlých bakteriálních kultur.

Podání antibiotik či chemoterapeutik, u signifikantní infekce před odběrem, může způsobit pouze pozitivní mikroskopii. Kultivace bakterií se už nemusí podařit. Zásadou je odebírat materiál, pokud možno, před zahájením antibiotické léčby. Obecně platí, že mikroskopická metoda je méně citlivá než kultivace.

Při metodě barvení dle Grama se bakterie dají rozdělit na dvě skupiny. Gramnegativní bakterie se barví červeně a grampozitivní barvící se modře až fialově. Odlišné barvení je založeno na rozdílně struktuře bakteriální stěny. Stěna G- bakterií obsahuje více lipidů, než stěna G+ bakterií. Alkohol ve stěně vytvoří póry, kterými se barvený komplex lépe vyplaví. Stěna G+ bakterií je tvořena silnější vrstvou peptidoglykenu, po dehydrataci alkoholem dojde ke smrštění a zpomalení vyplavení krystalové violeti s jódem (Votava, 2005).

1.9.3 Kultivační vyšetření

Principem kultivačního vyšetření je využití růstových schopností bakterií na kultivačních půdách. Pro kvantitativní stanovení je využito skutečnosti, že 1 bakterie vytvoří na vhodné kultivační půdě 1 kolonii viditelnou okem. Konečná koncentrace se udává počtem bakterií na 1 ml moče (CFU/ ml).

Krevní agar je univerzální půda, ukazující veškerou bakteriální flóru v odebraném vzorku. Přípravuje se přidáním 5 až 10 % sterilní defibrinované ovčí krve k agarovému základu ochlazenému na 45 až 50°C (Votava, 2000, s. 65).

Chromogenní půda UriSelect slouží pro izolaci, předběžnou identifikaci a konfirmaci bakterií spojovaných s infekcí močového traktu. Identifikace je možná po 24 hodinové kultivaci. Dle barevného rozlišení, typického pro jednotlivé bakteriální kmeny, lze rozlišit *E. coli*, *Enterococcus* a *Proteus* (Perry, 2003).

Chromogenní půda MRSASelect slouží k detekci methicilin rezistentních stafylokoků. Identifikace je možná po 24 hodinové kultivaci. Až 96 % MRSA je detekováno pomocí tohoto agaru (Louie, 2006).

Patogenní bakterie se izolují na vhodných kultivačních médiích. Z čisté kultury se identifikují bakteriální kmeny pomocí vhodných komerčně vyráběných diagnostických souprav.

Na základě různých barev kolonií vykultivovaných na UriSelect se provádí identifikace a rozlišení druhu bakterií. Barva kolonií se porovnává se šablonou dodanou výrobcem.

Nejběžnější bakterie na UriSelect půdě jsou uvedeny v příloze (příloha 1-3).

Profily nejběžnějších bakterií:

Escherichia coli- růžová až purpurová barva, někdy čirá s purpurovým středem, průměr bakterie 1,5- 3 mm, beta galaktosidová aktivita, indol +

Proteus mirabilis- oranžovohnědá barva, průměr bakterie 2 mm

Morganella morganii, *Providencia*, *Proteus*- oranžovohnědá barva, kolonie velká 2- 3 mm

Enterokoky, Streptokoky skup. B- světle modrá barva, průměr kolonie 0,5- 1 mm, identifikace dle mikroskopie

Enterobakterie- modrá až zelenomodrá barva, průměr bakterie 2- 3 mm, beta glukosidáza

Staphylococcus saprophyticus- světle růžová barva, velké kolonie 0,5- 1 mm

Staphylococcus aureus- žlutá barva, kolonie velké 1- 2 mm

Pseudomonas aeruginosa- žlutá barva s bílým lemem, charakteristická vůně jasmínu, velké kolonie 2- 3 mm

(Perry, 2013)

1.9.4 Stanovení citlivosti k antibiotikům

Antibiotická citlivost je termín popisující citlivost patogenních bakterií k různým antibiotikům. Testování se provádí za účelem úspěšnosti léčby vhodnými antibiotickými preparáty.

Antibiotika jsou organické látky s účinkem baktericidním (usmrcení bakterie) nebo bakteriostatickým (reverzibilní zastavení růstu a množení bakterií). V roce 1928 Alexander Fleming objevil inhibici růstu stafylokoků v okolí plísně *Penicillium notatum*. Tuto látku, difundující z plísně do okolí, pojmenoval penicilin. Od roku 1940 se penicilin začal vyrábět v čisté formě, vhodné k léčbě pacientů. Antibiotika mohou být přírodního původu (plísně, streptomycety) nebo připravená chemicky-chemoterapeutika (Votava, 2005).

1.9.5 Rezistence bakterií k antibiotikům

Co se týká úspěšné léčby, je v dnešní době otázka rezistence bakteriálních kmenů k antibiotikům na prvním místě. Některé kmeny patogenních bakterií, způsobující uroinfekce, jsou k antibiotikům a chemoterapeutikům rezistentní. Rezistence velmi rychle narůstá na celém světě.

Server European antibiotic awareness day poukazuje na údaje získané epidemiologickým monitorováním. Zjistilo se, že antibiotická rezistence představuje

narůstající problém v evropských nemocnicích i v běžné populaci. Téměř ve všech státech Evropy stoupá rezistence bakterie *Escherichia coli* vůči hlavním antibiotikům. *Escherichia coli* způsobuje infekce močových cest i závažnější infekce a je jedním z nejčastějších původců infekcí.

Rezistenci je dělena:

1. Primární (přírozenou) rezistenci

Je dána druhem a přirozenými vlastnostmi bakteriálního kmene. Tyto bakterie jsou pro dané antibiotikum mimo spektrum účinku, protože pro dané antibiotikum nenesou zásahové místo. Důležité je znát přirozenou rezistenci u konkrétních druhů, jelikož specifická rezistence je vázaný znak, užívaný k jejich identifikaci (Spížek, 1999).

2. Sekundární (získanou) rezistenci

Vzniká genetická proměnlivost bakterií, které si dokážou vyvinout obranné mechanismy proti účinku antibiotik, a to během krátké doby. Hlavní příčinou rezistence je nadměrná a zbytečná spotřeba antibiotik a použití nesprávných léčebných postupů. Další příčina je v chovech hospodářských zvířat, kde jsou antibiotika používána k terapii, prevenci, ale i jako růstové stabilizátory. V průběhu několika let budou bakterie rezistentní ke všem běžně používaným antibiotikům (Kolář, 2007).

Možnosti řešení:

1. Nepoužívat antibiotika v počátečním stádiu rezistence infekčního bakteriálního kmene.
 2. Hledat nové, účinné látky a nové léčebné postupy.
 3. Nezneužívat antimikrobní látky k léčbě neadekvátních infekcí.
- (Kolář, 2007).

1.10 Postanalytická fáze laboratorního vyšetření

Postanalytická fáze uvnitř laboratoře zahrnuje validaci analytických dat v laboratoři, odesílání výsledků, hlášení výsledků v kritických intervalech a podobně. Další část postanalytické fáze se označuje jako post-postanalytická fáze a zahrnuje interpretaci výsledku lékařem a následující klinickou akci (Jabor, 2012, s. 18).

Nejznámější příčiny postanalytických chyb:

- nesprávné opsání výsledku,
- nesprávný přepočet výsledku,
- nesprávné zařazení výsledku (k jinému pacientovi),
- nesprávné odeslání výsledku (na jiné oddělení, jinému lékaři),
- špatná interpretace výsledku (ale to už patří do postpostanalytické fáze).

Většinu uvedených příčin postanalytických chyb řeší zavedení laboratorních informačních systémů, školení laboratorního personálu apod. (Portál CEVA, 2014, s. 23).

1.10.1 Vydávání výsledků a jejich sdělování pacientům

Pacientům jsou výsledkové listy předávány, pokud je lékařem na požadavkovém listu (žádance) písemně uvedeno, že výsledkový list si osobně vyzvedne pacient. Pacient dostává předběžný protokol výsledkového listu, originál je odeslán lékaři, který výsledek požadoval.

V případě, že si pacient nemůže výsledky osobně vyzvednout, je možno výsledky vydat doprovodu pacienta. Pacientovi popř. jeho doprovodu je výsledek vydán až po předložení dokumentu, který potvrzuje identitu vyzvedávající osoby a identitu pacienta. O předání výsledku doprovodu pacienta je na kopii vydaného výsledku proveden zápis s údaji o vyzvedávající osobě včetně podpisu a kopie je uložena do Evidence výsledků vydaných doprovodu pacientů.

Pokud byly splněny podmínky pro vydání výsledkového listu, vydávají se běžně výsledky v uzavřené obálce nebo přeložené a sešité sponkami (Zábranský, 2012, s. 22).

Výrazně patologické výsledky se vždy telefonují lékaři, který výkon objednal. Provede se záznam do LIS („telefonicky hlášeno“) současně s uvedením času předání výsledků, kdo výsledek hlásil a komu byl výsledek hlášen (Zábranský, 2012, s. 21).

1.10.2 Laboratorní a nemocniční informační systém

Laboratorní informační systém (LIS) je software pro komplexní zpracování dat v laboratoři od příjmu požadavku na vyšetření, až po vyúčtování provedených výkonů.

LIS umožňuje:

- příjem a evidenci požadavků na vyšetření pro jednotlivé pacienty,
- ruční zadávání požadavků a ruční záznam výsledků,
- komunikaci s automatickými analyzátory,
- archivaci výsledků (na záznamová média, tisk archivačních knih),
- kontroly výsledků analýz (chemická kontrola, SEKK, EHK- pro mikrobiologii),
- výdej výsledků v papírové i elektronické formě; tisk výsledků v různých formách,
- sledování ekonomických ukazatelů,
- sestavení účtů pro zdravotní pojišťovny,
- provádění základních statistických výpočtů,
- komunikaci s jinými informačními systémy (IS)

(Portál CEVA, 2014, s. 24).

Nemocniční informační systémy (NIS) jsou počítačové programy, které umožňují správu dat v rámci celé nemocnice. Propojení LIS a NIS je velmi výhodné pro obě strany – elektronické zadávání požadavků a elektronické vydávání výsledků. I zde se významnou měrou snižuje riziko administrativních chyb, záměn vzorků a celkový čas zpracování vzorků se zkracuje (Portál CEVA, 2014, s. 25).

V laboratoři Klatovské nemocnice je používán program Envis® LIMS od firmy DS Soft Olomouc, spol. s r.o. Envis® LIMS je ideálním nástrojem pro konsolidaci všech klinických laboratoří zdravotního zařízení. Podporuje provoz více zdravotních zařízení nad jednou databází. Také podporuje akreditaci laboratoře, protože splňuje všechny specifické požadavky normy ČSN EN ISO 15 189, kladené na laboratorní informační systém. Samozřejmostí je integrace s jinými systémy, např.: s IS VZP, s externími zdravotnickými zařízeními, s NIS (Lokoč, 2009).

2 CÍL PRÁCE A HYPOTÉZY

2.1 Cíl práce

Cílem této práce je osvojení a provedení semikvantitativního bakteriologického vyšetření moče, z nemocnic patřících do spádové oblasti Klatovské nemocnice a.s.. Dalším cílem je vyhodnocení vzorků moče, zastoupení jednotlivých agens, zhodnocení nejčastějšího patogenu v závislosti na pohlaví a věku, a to ze vzorků přijatých do laboratoře za rok 2014. Cílem práce je také porovnání získaných výsledků s literárními údaji.

2.2 Předpokládané hypotézy

Předpokládá se, že nejčastěji se vyskytující patogen ve vzorcích moče bude *E. coli* a IMC se budou u žen vyskytovat výrazně častěji než u mužů, tak jak uvádí literatura.

3 METODIKA

Praktická část práce byla provedena v Laboratoři lékařské mikrobiologie, v Oddělení klinických laboratoří Klatovské nemocnice a.s.. Od června 2013 se autorka brigádně podílí na rutinní práci v laboratoři, zahrnující zpracování vzorků a provedení jednotlivých diagnostických metod. Závěrečné výsledky obsahují údaje získané za rok 2014. Tato data jsou získána z LISu Laboratoře mikrobiologie.

3.1.1 Mikroskopické vyšetření a barvení dle Grama

Mikroskopicky se zpracovává každý vzorek moče přijatý do laboratoře. 10 μ l kličkou se nanese kapka necentrifugované promíchané moče na podložní sklíčko. Kapka se nerozetře a nechá se důkladně zaschnout. Následně se fixuje, barví metodou dle Grama (použité reagensie viz příloha 4) a prohlíží pod imerzním objektivem.

Po důkladném zaschnutí je vzorek fixován metylalkoholem. Nastane usmrcení buněk a vysrážení bílkovin. Mrtvá buňka přilne k podložnímu sklíčku a lépe přijme barvicí roztok. Na dobu 30s je suchý fixovaný preparát barven roztokem krystalové violeti, ten se připraví smícháním 100 ml roztoku krystalové violeti v 96 % etanolu a 400 ml šťavelanu amonného ve vodě (tyto dva roztoky jsou dodány komerční firmou). Bazický roztok se iontovými vazbami naváže na kyselé skupiny G+ i G- bakterií, ty se obarví tmavě modře až modrofialově.

Po opláchnutí preparátu destilovanou vodou následuje barvení preparátu, po dobu 30s, Lugolovým roztokem. Jód vstupuje do těl bakterií a dochází ke vzniku komplexu molekul, tvořící precipitát, které neprojdou přes hustý peptidoglyken G+ bakterií. Po dalším oplachu vodou je preparát odbarven acetonem, který dobře proniká plazmatickou membránou. V G- bakterií dojde k rozpuštění barevnému komplexu a vyplavení barviva z bakteriální buňky, zatímco G+ bakterie zůstanou zbarvené.

Následuje další oplach pod tekoucí vodou a následně kontrastní dobarvení G- bakterií karbolfuchsinem, který se z komerčně připraveného roztoku naředí v destilované vodě v poměru 1:10. Nechá se opět 30s působit, opláchně tekoucí vodou a usuší v sušárně (BD Gram Stain Kits and Reagens, 2010).

Důležité je předcházet vzniku sraženin, znemožňující odečítání preparátu. Z tohoto důvodu se barvicí roztoky slévají a oplachují z preparátu vždy jedním směrem.

Vysokoškolský pracovník prohlíží suchý preparát imerzním objektivem, za použitím imerzního oleje, který zvyšuje index lomu prostředí mezi objektivem a objektem.

Nález může být:

- negativní: MO nenalezeny,
- ojedinělý: MO v jednotkách na několik zorných polí,
- málo četný: MO v jednotkách na každém zorném poli,
- četný: MO v desítkách na každém zorném poli,
- velmi četný: MO v nepočitatelném množství na každém zorném poli.

Hodnoceny jsou:

- G+ bakterie: modrofialové až modročerné, např. stafylokoky, streptokoky,
- G- bakterie: růžové až červené- *E. coli*, *Neisseria gonorrhoe*, *N. meningitidis*,
- G+/ G- bakterie: nestejněmálně probarvené- *Corynebacterium diphtheriae*.

3.1.2 Kultivace

Pro kultivační vyšetření byl použit krevní agar, chromogenní půda UriSelect a v indikovaných případech (ARO, JIP, LDN, psychiatrie) ještě MRSASelect půda.

Zpracování provádí laborant v laminárním boxu (Biohazard). Sterilní polyamidovou kličkou o objemu 10 µl, ponořené kolmo do promíchané moči, vede kolmou čáru přes polovinu plotny URI a rozetře pravidelnými šikmými tahy kličkou moč po celé polovině povrchu půdy. Pokud se používá MRSASelect půda, je dělena na čtvrtiny a opět se 10 µl kličkou potře plocha půdy. Touto kličkou je nanášena kapka moče na předem označené podložní sklíčko. Očkování krevního agaru, sterilní polyamidovou kličkou o objemu 1 µl, se provádí stejným způsobem, jako na URI plotnu. Naočkované kultivační půdy se zakryjí víčkem a seřazené podle pořadových čísel se inkubují v termostatu při 37°C do druhého dne. Všechny zpracované vzorky moči jsou při chladničkové teplotě uchovávány do uzavření výsledku.

Základem hodnocení je kvantita jednoho druhu bakterií v 1 ml moče. Zároveň se srovnávají MO narostlé na krevním agaru a na URI.

Na URI, při použití 10 μ l bakteriologické kličky, hodnotíme počet narostlých kolonií následovně:

kvantita 10^2 CFU/ml= 1- 10 kolonií,

kvantita 10^3 CFU/ml= 10- 100 kolonií,

kvantita 10^4 CFU/ml= 100- 1000 kolonií,

kvantita 10^5 CFU/ml= 1000- 10 000 kolonií,

kvantita 10^6 CFU/ml= 10 000- 100 000 kolonií,

kvantita 10^7 CFU/ml= 100 000- 1000 000 kolonií.

Na krevním agaru, při použití 1 μ l bakteriologické kličky, hodnotíme počet narostlých kolonií následovně:

kvantita 10^2 CFU/ml= 1- 10 kolonií,

kvantita 10^3 CFU/ml= 10- 100 kolonií,

kvantita 10^4 CFU/ml= 100- 1000 kolonií,

kvantita 10^5 CFU/ml= 1000- 10 000 kolonií,

kvantita 10^6 CFU/ml= 10 000- 100 000 kolonií,

kvantita 10^7 CFU/ml= 100 000- 1000 000 kolonií.

Základní kritérium posouzení kvantity jednoho druhu bakterií:

- nepřesáhne-li bakteriální druh množství 10^3 je nález považován za kontaminaci,
- přesáhne-li bakteriální druh množství 10^4 je nález považován za suspektního původce onemocnění, je identifikován a stanovuje se jeho citlivost k ATB,
- přesáhne-li bakteriální druh množství 10^5 je tento nález považován za signifikantního původce onemocnění, je identifikován a stanovuje se jeho citlivost k ATB.

3.1.3 Izolace bakteriálních kmenů

Cílem izolace je získat jednotlivě rostoucí kolonie, které jsou považovány za čistou kulturu, důležitou pro další přesnější identifikaci pomocí biochemických a aglutinačních testů.

Izolace se provádí z 24 hodinového vykultivovaného vzorku moče, pokud je koncentrace bakterií vyšší než 10^3 CFU/ml. Kolonie se očkuje pomocí kalibrované kličky o objemu 1 μ l na selektivní a diagnostickou půdu. Kultivuje se v termostatu 24 hodin při 37°C.

Izolace nejčastějších bakteriálních kmenů na vhodné kultivační půdy:

- G- nefermentující tyčky: KA, MacConkey agar, UriSelect,
- G- fermentující tyčky: KA, MacConkey, UriSelect,
- Enterokoky: KA, Columbia- CAP Selective Agar with Sheep Blood,
- Staphylokoky: KA, UriSelect,
- Streptokoky: KA

(Votava, 2005).

3.1.4 Serologické vyšetřovací metody

Podstatou serologických metod je detekce původce na základě reakce antigenu se specifickou protilátkou proti tomuto antigenu (Čermák, 2003).

Latexová aglutinace je metoda průkazu protilátky nebo antigenu vznikem sraženiny. Protilátky nebo antigen jsou navázány na povrch latexové částice- nosič.

- Stanovení skupin streptokoků pomocí aglutinačního testu

Rychlá a jednoduchá serologická metoda stanovení pomocí komerčně vyráběných souprav, umožňující určení nejčastěji se vyskytujících skupin streptokoků v moči (*Streptococcus* sk. B- *agalactiae*, *Streptococcus* sk. D- enterokoky: *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium*).

Ke stanovení skupin streptokoků byl použit test Prolex™ Streptococcal Grouping Latex Kit. Použité reagentie viz příloha 5.

Principem tohoto testu je extrakce skupinově specifických sacharidových antigenů s použitím speciálně vyvinutých reagensů pro extrakci kyselinou dusitou. Extrakční reagensie 1 a 2 dodávané v soupravě obsahují chemické látky schopné extrahovat antigeny specifické pro streptokokové skupiny při pokojové teplotě. Extrakční reagensie 3 obsahuje neutralizační roztok. Neutralizované extrakty lze jednoduše identifikovat s použitím modrých latexových částic senzibilizovaných čištěnými skupinově specifickými králičími imunoglobuliny (Biovendor, 2012).

Pracovní postup:

1. Do zkumavky kápnout 1 kapku činidla č. 1 s extrahující chemickou látkou
2. Z čisté 24 hodinové kultury narostlé na KA aplikovat 1 μ l kličkou minimálně 5 kolonií stanovovaného streptokoka do zkumavky s činidlem č. 1
3. Do stejné zkumavky přidat 1 kapku činidla č. 2 s extrahující chemickou látkou a důkladně protřepat 5- 10s
4. Do téže zkumavky přidat 5 kapek reagensie 3 s neutralizačním roztokem
5. Na připravenou destičku, pomocí pasterky, aplikovat 1 kapku roztoku ze zkumavky
6. Ke kapce roztoku na destičce přidat 1 kapku činidla se specifickým imunoglobulinem (např. B)
7. Po jedné minutě odečíst přítomnost aglutinace
8. Pozitivní reakce: silná aglutinace v přítomnosti homologenních antigenů
Negativní reakce: nenastane aglutinace- nebude přítomen homologenní antigen

Souprava obsahuje:

Latexové reagensie: Šest lahvíček s kapátkem obsahujících 3,0 ml modrých latexových částic potažených purifikovanými králičími protilátkami proti streptokokům skupiny A, skupiny B, skupiny C, skupiny D, skupiny F nebo skupiny G. Modré latexové částice jsou suspendovány v pufru pH 7,4 obsahujícím 0,098% azid sodný jako konzervans.

Polyvalentní pozitivní kontrola: Jedna lahvička s kapátkem obsahující 2 ml polyvalentních antigenů hotových k použití extrahovaných z inaktivovaných streptokoků skupin A, B, C, D, F a G dle Lancefieldové.

Extrakční reagencie 1: Jedna lahvička s kapátkem obsahující 3,2 ml reagencie s 0,098% azidem sodným jako konzervans.

Extrakční reagencie 2: Jedna lahvička s kapátkem obsahující 3,2 ml extrakční reagencie 2.

Extrakční reagencie 3: Dvě lahvičky s kapátkem, každá obsahující 8 ml reagencie s 0,098% azidem sodným jako konzervans. (Biovendor, 2012)

• Identifikace kmene *Staphylococcus aureus* metodou latexové aglutinace

Test Prolex™ Staph Latex Kit využívá modrých polystyrenových latexových částic, které byly senzibilizovány fibrinogenem a IgG specifickými pro *S. aureus* kapsulární typy 5 a 8. Když jsou stafylokokové kolonie mající minimálně jednu z možností clumping faktor, protein A a/nebo kapsulární antigeny 5 nebo 8 smíchány s latexovou reagencí, latexové částice silně aglutinují během 20 sekund (Biovendor, 2012).

Pracovní postup:

1. Na označenou část kartičky kápnout 1 kapku reagencie
2. Z čisté, 24 hodinové, kultury narostlé na KA nanést kličkou 2 bakteriální kolonie a důkladně promíchat s latexovou reagencí
3. Krouživými pohyby kartičky nechat pomalu směs přelévat
4. Při pozitivním výsledku (jedná se o *S. aureus*) lze za 20s pozorovat aglutinaci

Souprava obsahuje:

Staph Xtra Latex Reagencie: obsahuje latexových částic potažených králičími IgG rozpoznávajícími *S. aureus* s expresí kapsulárního antigenu 5 a 8 a humánním fibrinogenem. Latexové částice jsou suspendovány v pufru obsahujícím 0,098% azid sodný jako konzervans.

Negative Control Latex Reagencie: nesenzibilizovaných latexových částic suspendovaných v pufru obsahujícím 0,098% azid sodný jako konzervans. (Biovendor, 2012)

3.1.5 Identifikace pomocí biochemických testů

Ke konečné identifikaci bakteriálního kmene se užívá zjišťování jeho biochemických vlastností, např. schopnost tvořit indol, sirovodík, štěpit močovinu, zkvašovat různé sacharidy a tvořit plyn. V dnešní době se uplatňují mikrometody urychlující diagnostický postup. Jde o miniaturizované diagnostické půdy v důlcích serologické destičky nebo ve speciálních komůrkách rozmanitých komerčních identifikačních souprav (Votava, 2005, s. 298).

Použity byly diagnostické soupravy, dodávané komerční firmou Erba- Lachema Diagnostika s.r.o..

• ENTEROtest 16

Souprava je určena pro rutinní identifikaci bakterií z čeledi Enterobacteriaceae, které nejčastěji způsobují infekce močových cest. ENTEROtest umožňuje identifikaci pomocí 16 biochemických testů umístěných v jamkách mikrotitrační destičky (2 řady po 8 jamkách)- příloha 6.

Pracovní postup:

1. Z čisté 24 hodinové kultury narostlé na MacConkey, UriSelectu, KA, Mueller Hintově agaru připravit ve sterilním roztoku homogenní suspenzi. Zákal musí odpovídat 1. stupni McFarlandovy zákalové stupnici.
2. Pomocí mikropipety inokulovat do všech 16 jamek 0,1 ml suspenze.
3. K testům: sirovodík, lysin, indol, ornitin a ureáza přidat 2 kapky sterilního parafínového oleje.
4. Do zbytku suspenze ve zkumavce vložit papírový test pro ONPGtest.
5. Destičku přikrýt víčkem a vložit do PE sáčku.
6. ENTEROtest 16 i ONPGtest ve zkumavce inkubovat 18- 24 hodin při 37°C.
7. Po uplynutí doby kultivace přidat činidlo pro indol a fenylalanin do příslušných jamek destičky.

Vyhodnocení testu provádí vysokoškolský pracovník pomocí barevné srovnávací stupnice a diagnostického seznamu pro ENTEROtest 16 (Erba- Lachema s.r.o., 2011).

• OFtest

Tímto testem je vhodné doplnit ENTEROtest 16. Slouží k rychlému rozlišení fermentativního a oxidativního metabolismu glukózy.

Nejčastějšími močovými patogeny G- nefermentujících tyčinek jsou *Pseudomonas* spp. a *Acinetobacter* spp.

Pracovní postup:

1. Z čisté 24 hodinové kultury narostlé na KA připravit ve sterilním fyziologickém roztoku homogenní suspenzi o hustotě odpovídající 4. stupni McFarlandovy zákalové stupnici.
2. Inokulovat do 1 jamky OFtestu 0,1 ml suspenze a zakapat 3 kapkami sterilního parafínu.
3. Vložit do PE sáčku a inkubujeme 2- 4 hodiny při 37°C.
4. Pozitivní reakce- žluté zbarvení
Negativní reakce- zelené zbarvení

Při pozitivní reakci provést identifikaci G- nefermentujících tyčinek pomocí NEFERMtestu 24 (Erba- Lachema s.r.o., 2011).

• NEFERMtest 24

Test je určen k identifikaci G- nefermentujících bakterií pomocí 24 biochemických testů. Stanovení je doplněno OXItestem na detekci aktivity cytochromoxidázy.

Pracovní postup:

1. Z čisté 24 hodinové kultury narostlé na KA připravit ve sterilním fyziologickém roztoku homogenní suspenzi o hustotě odpovídající 2. stupni McFarlandovy zákalové stupnici.
2. Inokulace 0,1 ml suspenze do všech jamek ve sloupcích H-E.
3. Inokulace 1 ml suspenze ve fyziologickém roztoku do zkumavky suspenzního média pro NEFERMtest 24.
4. Inokulace 0,1 ml zředěné suspenze do všech jamek ve sloupcích D- A

5. K testům indol, arginin, ureáza a lyzin přidat 2 kapky sterilního parafínového oleje.
6. Destičku přiklopit víčkem, vložit do PE sáčku a inkubovat 48 hodin při 30°C.
7. Přidat 2 kapky činidla pro indol a 1 kapku činidla pro fosfatáza a nitráty, nechat působit 10- 15 minut při pokojové teplotě.

Vyhodnocení testu provádí vysokoškolský pracovník pomocí barevné srovnávací stupnice a diagnostického seznamu pro NEFERMtest 24 (Erba- Lachema s.r.o., 2011).

• STAPHYtest 16

Test je určen k identifikaci bakterií z rodu Staphylococcus. Souprava umožňuje identifikaci pomocí šestnácti biochemických testů, které jsou umístěny v jamkách. Nejčastější patogenní bakterie tohoto druhu, vyskytující se v moči: *S. epidermidis*, *S. aureus*, *S. saprophyticus*.

Pracovní postup:

1. Z čisté 24 hodinové kultury narostlé na KA připravíte ve sterilním fyziologickém roztoku homogenní suspenzi o hustotě odpovídající 2. stupni McFarlandovy zákalové stupnici.
2. Inokulace 0,1 ml suspenze do všech jamek.
3. K testům arginin, ureáza a ornitin přidat 2 kapky sterilního parafínového oleje.
4. Do zbytku suspenze ve zkumavce vložit proužek VPtestu.
5. Destičku přiklopit víčkem, vložíme do PE sáčku.
6. STAPHYtest 16 i zkumavku s VPtestem inkubovat při 37°C. VPtest inkubovat 1,5 hodiny, pak přidat 3 kapky činidla pro VPT I a VPT II a opět inkubovat v termostatu 30 minut. Následně odečíst barevnou reakci testu: červenofialová barva- pozitivní na přítomnost Stafylokoka.
7. Destičku se STAPHYtestem inkubovat 18- 24 hodin při 37°C.
8. Přidat po 1 kapce činidla pro test nitráty a fosfatáza.

Vyhodnocení testu provádí vysokoškolský pracovník pomocí barevné srovnávací stupnice a diagnostického seznamu pro STAPHYtest 16 nebo pomocí fotometru Multiskan EX (Erba- Lachema s.r.o., 2011).

• STREPTOtest 16

Tento test byl použit k identifikaci streptokoků, u nichž nelze stanovit skupinu pomocí koaglutinace. Test umožňuje identifikaci šedesáti kmenů pomocí šestnácti biochemických testů, umístěných v jamkách mikrotitrační destičky. Identifikaci doplňujeme testy: PYRAtest- detekuje aktivitu pyrrolidonylamidázy a VPtest- detekuje tvorbu acetoinu.

Pracovní postup:

1. Z čisté 24 hodinové kultury narostlé na KA připravit ve sterilním fyziologickém roztoku homogenní suspenzi o hustotě odpovídající 3. stupni McFarlandovy zákalové stupnici.
2. Inokulace 0,1 ml suspenze do 1. osmi jamek.
3. Pipetovat 1 ml suspenze ve fyziologickému roztoku do zkumavky suspenzního média pro STEPTOtest 16
4. Důkladně protřepanou suspenzi inokulovat do zbývajících osmi jamek.
5. K testů, arginin, ureáza přidat 2 kapky sterilního parafínového oleje.
6. Destičku vložit do PE sáčku a inkubovat 24 hodin při 37°C.
7. Do zbytku suspenze ve zkumavce vložit proužek VPtestu a inkubovat při 37°C 2 hodiny, přidat 3 kapky činidla pro VPT I a VPT II, inkubovat v termostatu 30 minut při 37°C, následně odečíst barevnou reakci- červené zbarvení udává přítomnost streptokoka
8. Po uplynutí doby kultivace STREPTOtest destičky přidat do jamky H 2 kapky činidla pro test hippurát a do jamky G 1 kapku činidla pro test fosfatáza. Nechat působit 5 minut při laboratorní teplotě.

Vyhodnocení testu provádí vysokoškolský pracovník pomocí barevné srovnávací stupnice a diagnostického seznamu pro STAPHYtest 16 (Erba- Lachema s.r.o., 2011).

3.1.6 Stanovení citlivosti- disková difúzní metoda

Diskovým testem byla stanovena citlivost nebo rezistenci rychle rostoucích, nenáročných bakterií k antibiotikům. Testování citlivosti většiny kmenů bylo provedeno na půdě Mueller- Hinton. U růstově náročnějších kmenů, např. Streptokoků, byl použit Mueller- Hinton agar s krví (MHK). Jedná se o půdu s přidavkem 5% defibrinované ovčí krve. Hotové půdy jsou dodávány diagnostickými firmami (BioRad).

Testovaná bakterie, v přesně stanovené koncentraci, byla inokulována na agarovou půdu, na kterou byly následně kladeny antibiotické disky. Sestavy antibiotik jsou uvedeny v příloze 7. Po 18- 24 hodinové inkubaci sledujeme vytvoření či nevytvoření zóny inhibice růstu kolem disku s určitou koncentrací antibiotika. Nárůst zón u ESBL- příloha 8. V závislosti na rychlosti difúze antibiotika z disku se u jednotlivých antibiotik liší průměr zóny inhibice. Na přesném dodržení metody, přísně sterilních podmínek a přesném měření inhibičních zón závisí kvalita výsledku (Bednář, 1996).

Pracovní postup:

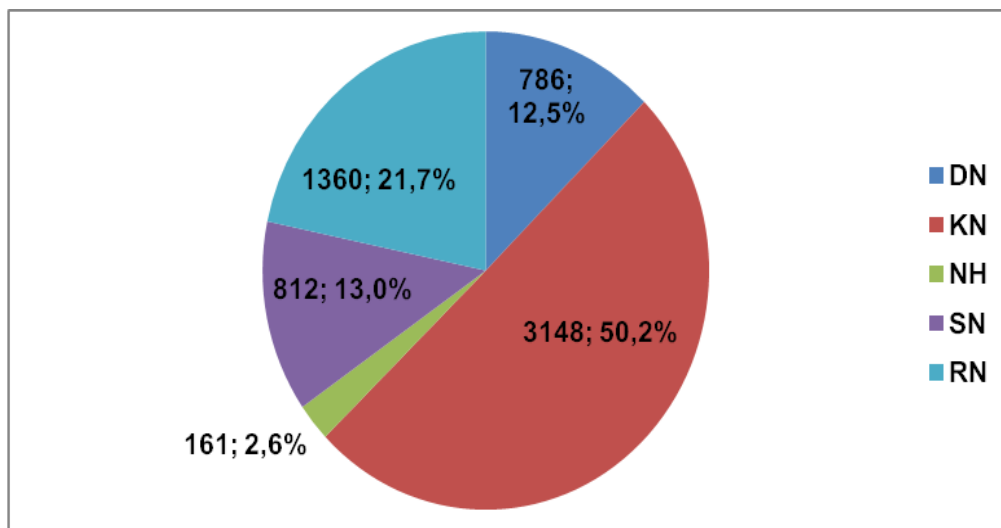
1. Reagencie musí mít laboratorní teplotu.
2. Pomocí bakteriologické kličky připravíme z čisté 24 hodinové kultury narostlé na pevné půdě ve sterilním fyziologickém roztoku s glukózou (cca 2 ml) homogenní suspenzi. Zákal musí odpovídat 0,5 McFarlanda (měříme na Densi-La-Metru).
3. Inokulujeme přelitím na celou kultivační plotnu, kterou nakláníme tak, aby došlo k namočení celého povrchu. Přebytek suspenze z plotny odsajeme sterilní pasterkou do kontejneru s dezinfekčním roztokem.
4. Nejpozději do 15 minut po inokulaci aplikujeme antibiotické disky pomocí automatického aplikátoru nebo jehly.
5. Plotny se umístí do termostatu a inkubují se 18-24 hodin při teplotě 37°C.

Po inkubaci hodnotí vysokoškolský pracovník posuvným měřítkem průměry inhibičních zón (včetně disků). Vyhodnocené výsledky zapisuje laborantka do počítačového systému.

4 VÝSLEDKY

V roce 2014 vyšetřilo Oddělení lékařské mikrobiologie Klatovské nemocnice a.s. 8623 močí. Jednalo se o vzorky od praktických lékařů, urologických ambulancí a vzorky z nemocnic (Domažlice, Horažďovice, Klatovy, Rokycany, Stod). V bakalářské práci jsou zpracovány pouze patientské vzorky z nemocnic, kterých bylo za rok 2014 vyšetřeno 6267. Zdrojová data jsou uvedena v příloze 9.

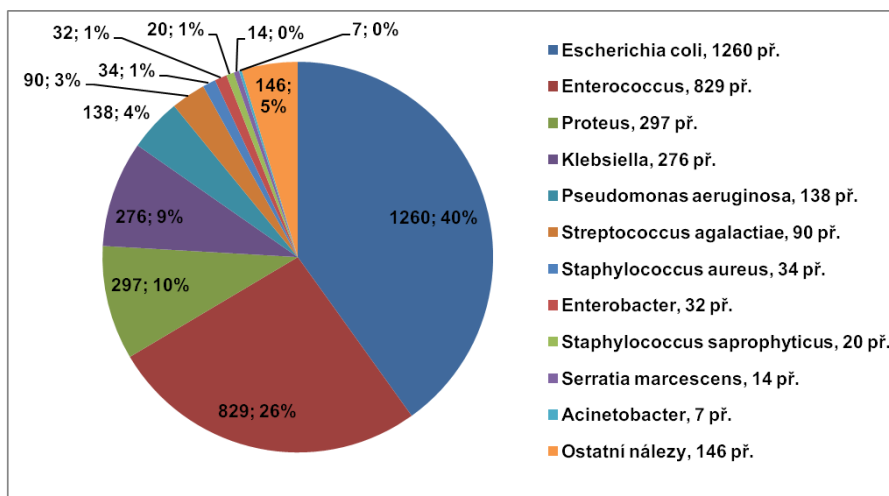
Graf 1: Počet vzorků moči vyšetřených na mikrobiologii KN v roce 2014 (n=6267)



Zdroj: vlastní zpracování dle přebraných dat z LISu

Graf 1 zobrazuje počty přijatých močí z nemocnic za rok 2014. Z 6267 vzorků bylo přijato 50,2% močí z KN, oproti tomu nejméně, tedy 2,6%, vzorků z NH, což je nemocnice následné péče.

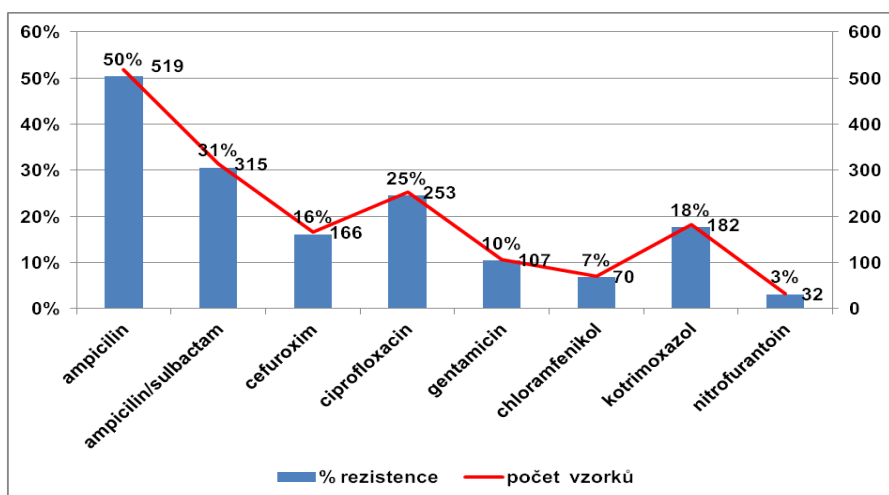
Graf 2: Zastoupení jednotlivých agens v moči v roce 2014 (celkem vzorků moči 6267)



Zdroj: vlastní zpracování dle přebraných dat z LISu

Graf 2 znázorňuje zastoupení agens v moči. Ve 40% případů byla diagnostikována *E. coli*, *Enterococcus* byl nalezen ve 26% případech, téměř shodný nález (10% a 9%) *Proteus* a *Klebsiella*.

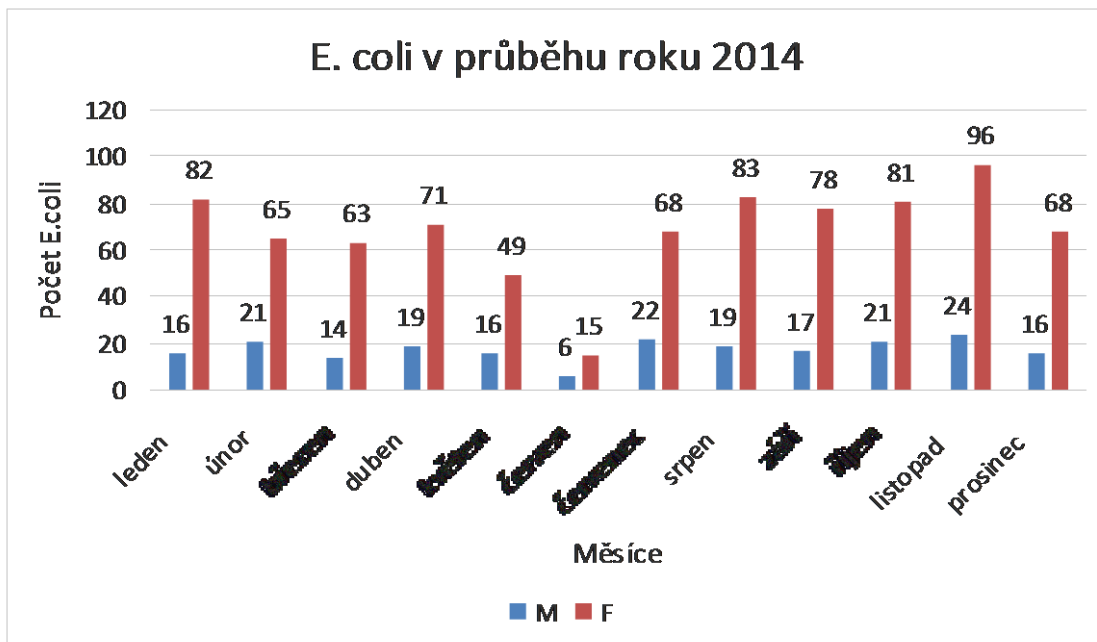
Graf 3: Rezistence k vybraným antibiotikům (%) u *E. coli* z moči roce 2014 (n= 1030)



Zdroj: vlastní zpracování dle přebraných dat z LISu

50 % vzorků bylo rezistentní k ampicilinu, 31 % k ampicilinu/ sulbactamu. *E. coli* byla nejvíce citlivá k nitrofurantoinu a to v 97 %.

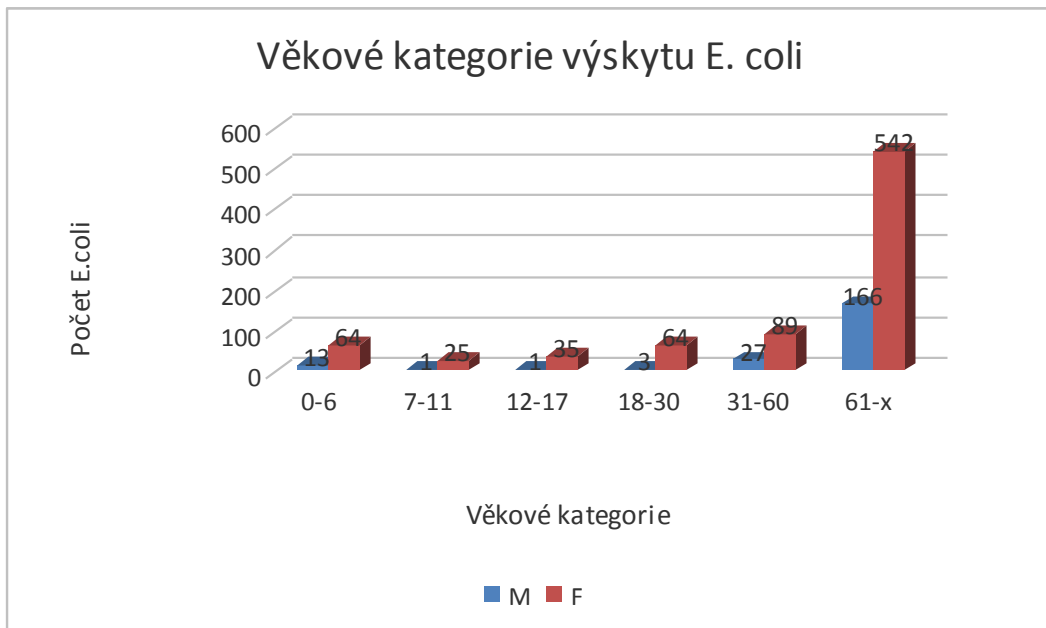
Graf 4: Výskyt *E. coli* u mužů a žen v průběhu roku 2014



Zdroj: vlastní zpracování dle přebraných dat z LISu

Graf 4 poukazuje na výskyt *E. coli* u mužů a žen v průběhu roku 2014. Z 1030 vzorků bylo nejméně záchytů v červnu- 6 mužů a 15 žen. Nevyšší výskyt *E. coli* byl v listopadu, 96 patogenů ženy, 24 patogenů muži. Tabulka ke grafu uvedena v příloze 10.

Graf 5: Výskyt *E. coli* v závislosti na věku a pohlaví



Zdroj: vlastní zpracování dle přebraných dat z LISu

Graf č. 5 popisuje závislost výskytu *E. coli* u žen a mužů dle věku. Nad 61 let je u žen výskyt nejvyšší. U 89 žen byl patogen zachycen ve věku od 31-60 let. Zajímavý je i shodný počet nálezů u žen nad 18 let a malých dětí do 6 let. Nejvíce se *E. coli* vyskytuje u starších mužů, na druhém místě u malých chlapců. Ve věku od 6-30 let je výskyt nejmenší. U malých chlapců je výskyt vyšší, od 7 let se výskyt snižuje. Tabulka ke grafu viz příloha 11.

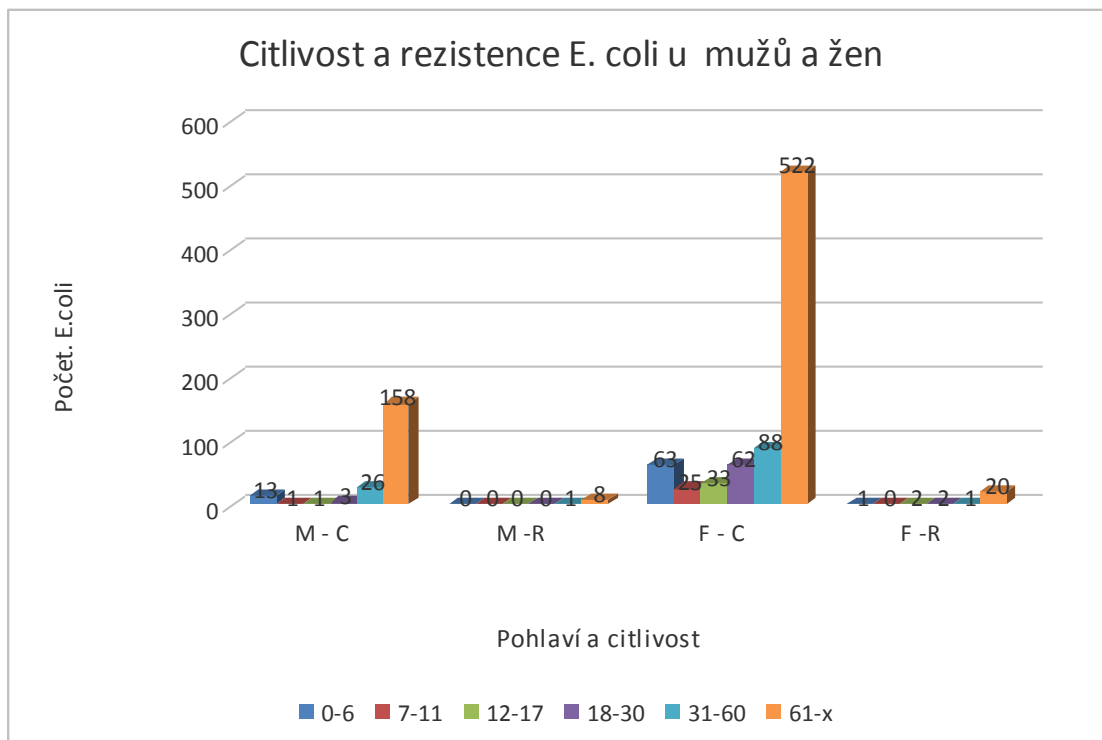
Tabulka 1: Procentuální výskyt *E. coli* dle pohlaví a věkových kategorií

Věkové kategorie	F (n=819) (%)	M (n= 211) (%)
0-6	7,8	6,2
7-11	3,1	0,5
12-17	4,3	0,5
18-30	7,8	1,4
31-60	10,9	12,8
61-x	66,2	78,7
Celkem	100,0	100,0

Zdroj: vlastní zpracování dle přebraných dat z LISu

Nejvíce IMC z žen způsobuje *E. coli*. Z tabulky je patrný nárůst infekce *E. coli* v první věkové kategorii chlapců a následný pokles. Ovšem nepřesahují výskyt u stejně starých dívek. U těch je výskyt *E. coli* do 30let vyšší než u mužů. Po tomto věku se IMC zvyšují u mužů.

Graf 6: Citlivost *E. coli* dle věku u mužů a žen



Zdroj: vlastní zpracování dle přebraných dat z LISu

Nejmíň rezistentních *E. coli* bylo u mužů, 1 rezistence v kategorii 31-60 let a 8 rezistencí ve věku nad 61 let. U žen bylo taktéž nejvíce rezistentních bakterií u nejstarších pacientů, v ostatních kategoriích byla rezistentní *E. coli* u 1-2 pacientů. Zdrojová data uvedena v příloze 12 a 13.

Tabulka 2: Bakteriologické nálezy v moči podle pohlaví

	Počet ženy	% ženy	Počet muži	% muži	Celkem vzorků
<i>E. coli</i>	819	79,5%	211	20,5%	1030
Jiné gramnegativní střevní tyčky *	313	53,4%	273	46,6%	586
<i>Enterokoky**</i>	165	50,8%	160	49,2%	325
<i>Streptococcus agalactiae</i>	36	92,3%	3	7,7%	39
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	19	100 %	0	0	19

Zdroj: vlastní zpracování dle přebraných dat z LISu

**Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Proteus spp.*, *Providencia spp.*, *Morganella spp.*

** *Enterococcus faecalis* 309 kmenů, 15 kmenů *Enterococcus faecium*

Tabulka 1 znázorňuje druhy bakterií nalezené v moči podle pohlaví. Lze si povšimnout, že u žen jsou bakteriologické nálezy v moči častější než u mužů. U žen dominuje *E. coli*, byla diagnostikována v 819 případech. Enterokoky a jiné G- střevní tyčky byly diagnostikovány u žen i u mužů v přibližně stejných poměrech. *Streptococcus agalactiae* je dalším patogenem vyskytujícím se převážně u žen. Dále je potřeba zmínit nález *Staphylococcus saprophyticus*, který byl nalezen v 19 případech, jednalo se pouze o ženy.

Tabulka 3: Počet žen a mužů (%) v souboru 1030 vzorků *E. coli* (pacientů) dle nemocnic

Název ZZ	Počet žen	% žen	Počet mužů	% muž	Celkem Počet	Celkem %
Domažlická nemocnice, a.s.	93	67,4%	45	32,6%	138	100,0%
Klatovská nemocnice, a.s.	396	83,9%	76	16,1%	472	100,0%
Nemocnice násl.péče LDN Horažďovice s.r.o.	27	60,0%	18	40,0%	45	100,0%
Rokycanská nemocnice, a.s.	164	82,8%	34	17,2	198	100,0%
Stodská nemocnice, a.s.	139	78,5%	38	21,5%	177	100,0%
Celkový součet	819	79,5%	211	20,5%	1030	100,0%

Zdroj: vlastní zpracování dle přebraných dat z LISu

Tabulka 2 znázorňuje počty žen a mužů dle nemocnic, u kterých byla nalezena *E. coli*. Do souboru byly zahrnuty pouze vzorky *E. coli*, u kterých se stanovovala citlivost. Z tabulky je zřejmé, že výskyt *E. coli* je častější u žen.

Tabulka 4: Pohlaví a věk u *Staphylococcus saprophyticus*

ŽENY	DN	KN	RN	SN	celkem
Věk					
80		1			1
43	1				1
36		1			1
26		1			1
23			1		1
22		1			1
19		1			1
19				1	1
17			1		1
17			1		1
17		1			1
17	1				1
17			1		1
16		1			1
16				1	1
16		1			1
14				2	2
05			1		1
celkem	2	8	5	4	19

Zdroj: vlastní zpracování dle přebraných dat z LISu

Z tabulky je patrné, že *Staphylococcus saprophyticus* byl zachycen pouze u mladých žen, nejčastěji ve věku 14- 26 let. Výjimku tvoří pětiletá dívka a osmdesátiletá žena.

5 DISKUZE

Infekce močových cest se v lidské populaci vyskytují na druhém místě, hned za infekty dýchacích cest. Častější jsou infekce dolních močových cest- močové trubice a močového měchýře. Postihují všechny věkové kategorie, ovšem s rozdílnou incidencí. Nejvíce postižené jsou dospělé ženy, ve srovnání s dospělými muži. V novorozeneckém období bývají, díky vyššímu výskytu vrozených vad močového ústrojí, infekty močových cest ohroženi více chlapci než dívky. Ale po 3. měsíci stárí se IMC u chlapců snižují a u dívek dochází k nárůstu, který je konstantní až do puberty. Výrazný vzestup IMC je u žen v reprodukčním věku. Až 20 % žen prodělá více než jednu epizodu IMC za život. Infekce mohou souviset s infekcemi pohlavích cest a zvláště rizikové jsou v graviditě. U starší generace se výskyt IMC u obou pohlaví vyrovnává. U žen má za následek zvyšující se incidence výskyt inkontinence a používání vložek či dalších pomůcek. U mužů je problémem zvětšující se prostata, či dlouhodobě zavedený močový katetr. U obou pohlaví má negativní vliv na IMC výskyt cukrovky.

Vzhledem ke zvyšujícím se rezistencím na ATB je důležitá spolupráce lékařů s mikrobiologickou laboratoří. Pro získání kvalitních výsledků je velmi důležitá preanalytická laboratorní fáze zahrnující odběr moče (nejčastěji střední proud před nasazením ATB). Jelikož odběr provádí většinou pacienti sami, je třeba dbát na dostatečnou informovanost o zásadách správného odběru moče na bakteriologické vyšetření.

Z celkového počtu 8623 močí, přijatých na OKL KN, a.s., v roce 2014 bylo 6267 vzorků z nemocnic, tyto vzorky jsou dále použity pro statistické zpracování. Vzhledem k opakovaným odběrům nelze tvrdit, že se jedná o 6267 rozdílných pacientů. Někteří se v průběhu roku několikrát opakovali.

Nejčastěji izolovaným agens ve zkoumaném souboru byla *E. coli*, z čeledi *Enterobacteriaceae* (*E. coli* je v literatuře uváděna nejčastějším patogenem IMC; Bartoníčková, 2000; Smíšek, 2008; Teplan, 2004; Votava 2005). Tato G- tyčinka byla zachycena 1260 krát (40 %). Vyskytuje se fyziologicky ve střevech a osidluje anorektální oblast. Vzhledem k anatomickému uspořádání močové trubice u žen

a mužů, je cesta vniknutí infekce snazší u žen. Zevní třetina močové trubice bývá bakteriemi přímo osídlena.

Dalšími nejčastěji zachycenými bakteriemi byly: *Enterococcus* 829 případů (26 %), *Proteus* 297 případů (10%). Tyto patogeny patří mezi původce rekurentních komplikovaných či nozokomiálních IMC. Bývají spojovány se strukturálními a funkčními abnormalitami močových cest. *Staphylococcus saprophyticus* byl zachycen ve 20ti případech, všechno byly ženy. Literatura uvádí (Bartoníčková, 2000) častější výskyt u žen a i výskyt u mladých lidí. Většina žen zkoumaného souboru byla taktéž mladá.

Z 1260 případů *E. coli* byla stanovena citlivost u 1030 vzorků. Spolupráce lékařů a mikrobiologů je důležitá pro sledování stavu rezistence a následné účinné terapie. Měl by být kladen důraz na chybné a nadměrné předepisování antibiotik. 50 % případů bylo rezistentních na ampicilin, způsobené produkcí betalaktamázy. Výbornou citlivost na kmeny *E. coli* prokazuje nitrofurantoin, který byl rezistentní jen ve 3%. Z tohoto důvodu také bývá často užívaným uroseptikem, s výbornou citlivostí i na *Enterokoky*. Bohužel bývá dětmi hůře tolerován. Problémem jsou časté recidivující ICM. Nejčastější chybou je nedostatečná dávka ATB, nedostatečná délka léčby zjm. u recidiv, nesprávně zvolené ATB, problémem je také katetrizace pacientů. U nekomplikovaných cystitid je vhodná třídní ATB léčba, při recidivách žen a u mužů by se léčba měla protáhnout na týden. S obdobnou problematikou antibiotických rezistencí se setkáváme i v odborné literatuře, např.: Kovář, 2007; Spížek, 1999; Ševčíková, 2005.

4,3 % mužů bylo rezistentních k nitrofurantoinu, nejvíce rezistentních pacientů bylo v kategorii nad 61 let (88,9 %). U žen byla rezistence k nitrofurantoinu ve 3,2 %. Shodně rezistentních pacientů u žen bylo v kategorii do 6ti let a do 60ti let (3,8 %). Nejvíce rezistentních pacientek bylo v kategorii nad 61 let (76,9 %). Zvýšená rezistence ve stáří může být následkem dlouhodobě hospitalizovaných pacientů s více různými infekty.

IMC u žen jsou způsobeny nejčastěji *E. coli*, což může být dáno anatomickými rozdíly mezi ženami a muži a ascendentní formou přenosu. V mém souboru bylo 819 žen (79,5%) s prokázanou *E. coli*, 36 žen (92,3%) se *Streptococcus agalactiae*,

Staphylococcus saprophyticus byl nalezen pouze u žen. U mužů byla *E. coli* zachycena ve 211 případech (20,5%) oproti tomu je vyšší výskyt *Enterokoků* ve 160 případech (49,2%).

Nejčastěji diagnostikované patogeny i četnost IMC u žen a mužů v průběhu života odpovídá literárním údajům: Bartoníčková, 2000; Votava, 2005. Pouze u malých chlapců do 3 měsíců, nelze z důvodu malého zkoumaného souboru potvrdit hypotézu, že IMC jsou častější než u dívek, tak jak uvádí Teplan. Na bakteriologické vyšetření moče byly za rok 2014 přijaty 3 vzorky chlapců a 7 vzorků dívek mladších jednoho roku.

6 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se zabývá bakteriologickým vyšetřením moče. Jedním z cílů práce bylo osvojení a provedení semikvantitativního bakteriologického vyšetření moče z nemocnic patřících do spádové oblasti Klatovské nemocnice, a. s.. Další cíl zahrnoval vyhodnocení získaných výsledků a jejich porovnání s literárními údaji.

Na OKL Klatovské nemocnice, a.s. dochází autorka brigádně vypomáhat, část vzorků za rok 2014 bylo její zpracovaných. Laboratorní zpracování moče i identifikace standardními diagnostickými metodami, s následným stanovením citlivosti, je pro každé mikrobiologické pracoviště různé. Postup práce, který je popsán v kapitole 3, byl proveden dle zpracování v Klatovské nemocnici, a.s..

Pro zpracování výsledku byly použity vzorky od pacientů z nemocnic, patřících do spádové oblasti KN. Takových vzorků bylo přijato v roce 2014 6267. Nejčastějším patogenem byla *E. coli*, diagnostikována u 1260 pacientů, *Enterococcus* 829 případů, za ním se umístil *Proteus* (297 případů), *Klebsiella* (276 případů).

Dále se pracovalo se vzorky *E. coli*, které byly citlivé na nitrofurantoin (1030 vzorků). Až 50 % *E. coli* bylo rezistentní k ampicilinu, 31 % k ampicilinu/ sulbactamu. K neúčinnějším antibiotikům patří nitrofurantoin (citlivost 97 %), dále chloramfenikol (93 %), gentamicin (80 %).

4,3 % mužů bylo rezistentních k nitrofurantoinu, nejvíce rezistentních pacientů bylo v kategorii nad 61 let (88,9 %). U žen byla rezistence k nitrofurantoinu ve 3,2 %. Shodně rezistentních pacientů u žen bylo v kategorii do 6ti let a do 60ti let (3,8 %). Nejvíce rezistentních pacientek bylo v kategorii nad 61 let (76,9 %).

U žen byla nejčastěji diagnostikována *E. coli* (819krát), častým patogenem byl u žen také *Streptococcus agalactiae* (36krát), u devatenácti žen a žádného muže byl nalezen *Staphylococcus saprophyticus*, nejčastěji se vyskytoval u žen ve věku 14-26 let.

U mužů byly nejčastějším nálezem jiné G- tyčky (*Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Proteus spp.*, *Providencia spp.*, *Morganella spp.*),

a to ve 273 případech. U 211 mužů byla vykultivována *E. coli*, téměř shodně jako u žen bylo diagnostikováno *Enterokoků* (49,2 %).

U chlapců do 6ti let (6,2 %) je patrný nárůst infekce způsobený *E. coli*, poté dochází k poklesu až do 31let, kdy je patrné mírné zvýšení a od 61let následuje výrazný nárůst (78,7 %) infekce. 7,8 % infekcí bylo o dívek do 6ti let, od 7-17 let následoval mírný pokles. Výrazný vzestup infekce je patrný nad 61 let, a to z 10,9 % na 66,2 %.

Vzhledem k malému zkoumanému souboru malých dětí do 1 roku (dívek bylo vyšetřeno 7 a chlapci 3) nelze potvrdit shodu s literaturou, kde se udává zvýšený výskyt IMC u chlapců do 3 měsíců.

Závěrem lze říci, že nejčastější patogen způsobující IMC je *E. coli*. IMC jsou častější u žen než u mužů. U žen je nejčastějším patogenem již zmíněná *E. coli*, u mužů vedou *Enterokoky* a jiné G- střevní tyčky. *E. coli* byla nejčastěji diagnostikována u starších pacientů. Předpokládané hypotézy byly potvrzeny.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

1. BARTONÍČKOVÁ, K. *Uroinfekce*. 1. vyd. Praha: Galén, 2000, ISBN 80-726-2027-4.
2. BD Gram Stain Kits and Reagents. BD [online]. 2010 [cit. 2014-06-08]. Dostupné z: <http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=19560>
3. BEDNÁŘ, M. *Lékařská mikrobiologie*. Praha: Marvil, 1996. ISBN 859-4-0315-0528-0.
4. BÉBROVÁ, E. Infekce močových cest-mikrobiologická diagnostika [online]. 2002. s.2 [cit.2015-02-18]. Dostupné z < <http://www.cls.cz/dokumenty2/postupy/t155.rtf> >
5. BIOVENDOR. PROLEX™ - STAPH XTRA LATEX KIT. In: *Biovendor* [online]. 2012 [cit. 2014-06-13]. Dostupné z: <https://www.biovendor.cz/prolex-tm-staph-xtra-latex-kit/p100.PL.1081/#tab=downloads>
6. BIOVENDOR. PROLEX™ - STREPTOCOCCAL GROUPING LATEX KIT (pro in vitro diagnostické použití). In: *Biovendor* [online]. 2012 [cit. 2014-06-13]. Dostupné z: <https://www.biovendor.cz/prolex-tm-streptococcal-grouping-latex-kit-modry-kompletni/p100.PL.030/#tab=downloads>
7. BUNEŠOVÁ, M. *Preanalytická fáze laboratorních vyšetření*. Praha: UK 2 LF a FN Motol, 2012
8. ČERMÁK, P., FÖRSTL M. Zásady odběru a zasílání biologického materiálu k bakteriologickému vyšetření u dětí. *Pediatric pro praxi* [online]. 2003, č. 4 [cit. 2014-06-06]. Dostupné z: <http://www.solen.cz/pdfs/ped/2003/04/02.pdf>

9. ČERMÁKOVÁ, M., ŠTĚPÁNOVÁ, I. *Klinická biochemie*. 1. vyd. Brno: IDVPZ, 2003, s. 38- 41. ISBN 80-701-3372-4.
10. ERBA LACHEMA s.r.o. *ENTEROtest 16* [online]. Brno 16. 2. 2011 [cit. 2015-04-10]. Dostupné z: <https://www.erbalachema.com/attachments/ENTEROtest%2016-CZ+SK+EN+RU+PL.pdf>
11. ERBA LACHEMA s.r.o. *NEFERMtest 24* [online]. Brno 15. 3. 2011 [cit. 2015-04-10]. Dostupné z: <https://www.erbalachema.com/attachments/NEFERMtest%2024%20N-CZ+SK+EN+RU+PL.pdf>
12. ERBA LACHEMA s.r.o. *OFtest* , Brno 18. 2. 2011
13. ERBA LACHEMA s.r.o. *STAPHYtest 16* [online]. 1. 3. 2011 [cit. 2015-04-10]. Dostupné z: <https://www.erbalachema.com/attachments/STAPHYtest%2016-CZ+SK+EN+RU+PL.pdf>
14. ERBA LACHEMA s.r.o. *STAPHYtest 16* [online]. 18. 2. 2011 [cit. 2015-04-10]. Dostupné z: <https://www.erbalachema.com/attachments/STREPTOtest%2016-CZ+EN+RU+PL+SK.pdf>
15. European antibiotic awareness day. *Factsheet for general public* [online]. 2005 [cit. 2014-07-23]. Dostupné z: <http://www.ecdc.europa.eu/en/eaad/antibiotics/Pages/facts.aspx>
16. GANONG, W. *Přehled lékařské fyziologie*. 20. vyd. Praha: Galén, 2005, s. 703. ISBN 80-726-2311-7.

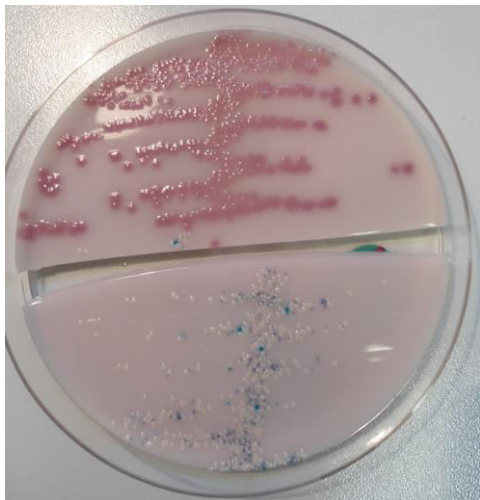
17. JABOR, A. a FRANEKOVÁ, J. Několik poznámek k postanalytické fázi a bezpečnosti pacientů. *Kvalita v laboratorní medicíně* [online]. 2012, č. 4 [cit. 2014-07-25]. Dostupné z: <http://web2.stapro.cz/bullfons/42012/kvalita4.pdf>
18. KOLÁŘ, M. Vývoj bakteriální rezistence a nová antimikrobní léčiva. *Interní medicína pro praxi* [online]. 2007, č. 5 [cit. 2014-07-24]. Dostupné z: <http://www.internimedicina.cz/artkey/int-200705-0003.php>
19. Laboratorní příručka. [online]. 2011 [cit. 2014-06-06]. Dostupné z: http://www.nemocnicepribram.cz/pdf/lab_mikro.pdf
20. LOKOČ, R. DS Soft Olomouc [online]. c1994-2009 [cit. 2014-08-27]. Laboratorní Informační Systém Envis LIMS. Dostupné z WWW: <http://www.dssoft.cz/?=LIMS\Start>
21. LOUIE, L., D. SOARES, MEANEY, VEARNCOMBE a A. E. SIMOR. Evaluation of a New Chromogenic Medium, MRSA Select, for Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Mikrobiol.* [online]. 2006, 44(12) [cit. 2014-06-10]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1698420/>
22. MATUŠOVIČ, K. Infekce močových cest [online]. 2001. [cit. 2015-02-18]. Dostupné z < <http://www.cls.cz/dokumenty2/postupy/r114.rtf> >
23. MOUREK, J. *Fyziologie: učebnice pro studenty zdravotnických oborů*. 1. vyd. Praha: Grada, 2005, ISBN 80-247-1190-7
24. PERRY, J. D., L. A. NICHOLSON, M. R. APPLEBY a K. E. ORR. Evaluation of a new chromogenic medium, Uriselect 4, for the isolation and identification of urinary tract pathogens. *J Clin Pathol* [online]. 2003, 56(7) [cit. 2014-06-10]. Dostupné z: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1769995/#__sec1title

25. Portál CEVA. Preanalytická a postanalytická část laboratorního vyšetření. CEVA [online], poslední aktualizace 22. 7. 2014 [cit. 2014-07-25]. Dostupné z: http://www.ceva-edu.cz/pluginfile.php/2573/mod_resource/content/0/Preanalyticka_faze_120801.pdf
26. SMÍŠEK, J. Infekce močových cest (IMC). In: *Infekce močových cest (IMC)* [online]. ÚLM 3 LF UK, 2008 [cit. 2014-06-06]. Dostupné z: http://mikrobiologie.unas.cz/soubory/mocove_infekce_tisk.pdf
27. SPÍŽEK, J. Rezistence na antibiotika. *Vesmír* [online]. 1999, č. 1 [cit. 2014-07-23]. Dostupné z: <http://casopis.vesmir.cz/clanek/rezistence-na-antibiotika>
28. ŠEVČÍKOVÁ, A. a ŠEVČÍK, P. Principy antimikrobiální léčby u uroinfekcí. *Urol List* [online]. 2005, č. 3 [cit. 2014-06-05]. Dostupné z: http://www.prolekare.cz/pdf?ida=ul_05_02_02.pdf
29. TEPLAN, V. *Infekce ledvin a močových cest: v dospělém a dětském věku*. 1. vyd. Praha: Grada, 2004, ISBN 80-247-0566-4.
25. Uricult. *Orion Diagnostica* [online]. 2013 [cit. 2014-06-06]. Dostupné z: <http://www.oriondiagnostica.cz/Produkty/Uricult/Uricult/#>
30. VOTAVA, M. a kol. *Kultivační půdy v lékařské mikrobiologii*. 1. vyd. Brno: HORTUS, 2000, s.65. ISBN 80-238-5058-X.
31. VOTAVA, M. a kol. *Lékařská mikrobiologie II*. 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2000, 309 s. ISBN 80-210-2272-8.
32. VOTAVA, M. a kol. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2., přepr. vyd. Brno: Neptun, 2001, ISBN 80-902-8962-2.

33. VOTAVA, M. a kol. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003, ISBN 80-902-8966-5.
34. ZÁBRANSKÝ, M. Laboratorní příručka. In: *Příloha č. 4 pokyny k odběru materiálu pro mikrobiologická vyšetření* [online]. 2012 [cit. 2014-06-06]. Dostupné z: <http://www.nemkt.cz/datab/2014113533-priloha-c04-pokyny-k-odberu-pro-mikrobiologicka-vysetreni.pdf>
35. ZÁBRANSKÝ, M. *Laboratorní příručka* [online]. 2012 [cit. 2014-07-25]. Dostupné z: http://www.nemkt.cz/datab/2013144904-laboratorni-prirucka-okl_2013.pdf
36. ZIMA, T. Laboratorní diagnostika. *Lékařské listy* [online]. 2003, č. 5 [cit. 2014-08-28]. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/laboratorni-diagnostika-151412>

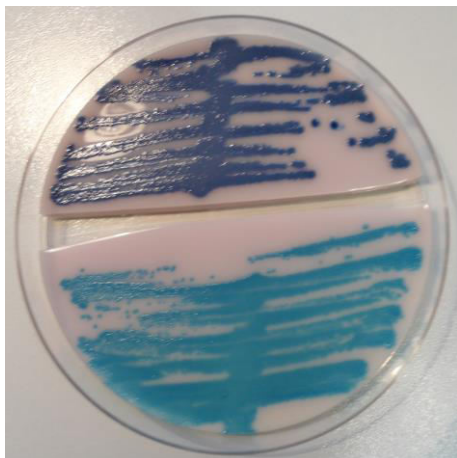
8 PŘÍLOHY

Příloha 1: masivně *E.coli*; čteně *Candida albicans* a ojedinelé *Enterococcus faecalis* na URISelect půdě



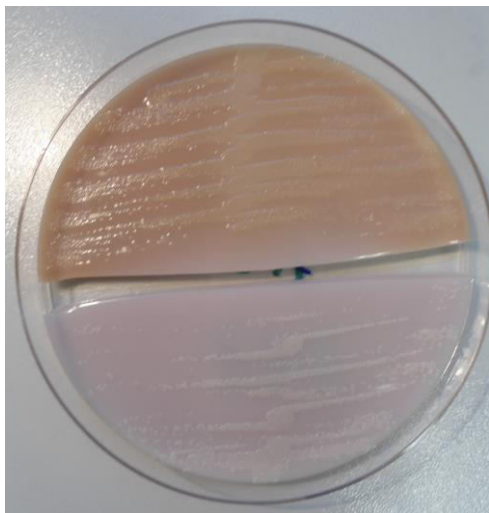
Zdroj: autor

Příloha 2: masivně *Klebsiella pneumoniae*; masivně *Enterococcus faecalis* na URI



Zdroj: autor

Příloha 3: masivně *Pseudomonas aeruginosa*; čítně *Staphylococcus aureus* na URI



Zdroj: autor

Příloha 4: činidla pro barvení dle Grama



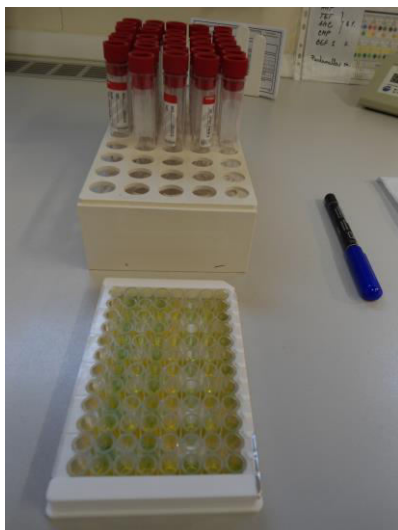
Zdroj: autor

Příloha 5: reagentie pro stanovení skupin Streptokoků



Zdroj: autor

Příloha 6: Enterotest 16



Zdroj: autor

Příloha 7: ATB sestavy

ESBL (širokospektré b-laktamázy)	
Antibiotikum	koncentrace (µg)
Ceftazidim	10
Amoxicilin/klavulanát	2/1
Cefotaxim	5

1. řada G- tyčky	
Antibiotikum	koncentrace (µg)
Chloramfenikol	30
Gentamicin	10
Ampicilin	10
Ampicilin/Sulbactam	10/10
Cefalexin	30
Cefuroxim	30
Cotrimoxazol	1/19
Ciprofloxacin	5
Nitrofurantoin	100

2. řada G- tyčky	
Antibiotikum	koncentrace (µg)
Gentamicin	10
Tobramycin	10
Amikacin	30
Ciprofloxacin	5
Ceftazidim	10
Piperacin/ Tazobactam	30/6
Imipenem	10
Colistin	10

3. řada Stafylokoky	
Antibiotikum	koncentrace (µg)
Cefoxitin	30
Erytromycin	15
Clindamycin	2
Tetracyklin	30
Cotrimoxazol	1/19
Gentamicin	10
Vankomycin	30

4. řada Enterokoky	
Antibiotikum	koncentrace (µg)
Ampicilin	2
Tetracyklin	30
Vankomycin	5
Gentamicin	30
Teicoplanin	30
Nitrofurantoin	100

5. řada Streptokoky	
Antibiotikum	koncentrace (µg)
Penicilin	1 IU
Erytromycin	15
Clindamycin	2
Vancomycin	5
Chloramfenikol	30
Tetracyklin	30

6. řada Hemofily	
Antibiotikum	koncentrace (µg)
Ampicilin	2
Amoxicilin/klavulanát	2/1
Chloramfenikol	30
Tetracyklin	30
Cotrimoxazol	1/19
Cefuroxim	30

7. řada Branhamella	
Antibiotikum	koncentrace (µg)
Amoxicilin/klavulanát	2/1
Cefuroxim	30
Erytromycin	15
Tetracyklin	30
Cotrimoxazol	1/19
Cefotaxim	5

11. řada Pneumokoky	
Antibiotikum	koncentrace (µg)
Oxacilin	1
Chloramfenikol	30
Tetracyklin	30
Erytromycin	15
Cotrimoxazol	1/19
Vankomycin	5

Příloha 8: ESBL



Zdroj: autor

Příloha 9: zdrojová data (měsíc, věk, pohlaví, citlivost/ rezistence)

měsíc	věk	pohlaví	citlivost
leden	69	F	C
leden	17	F	C
leden	73	F	C
leden	1	M	C
leden	85	M	C
leden	2	F	C
leden	80	M	R
leden	79	F	C
leden	74	F	C
leden	82	F	C
leden	3	F	C
leden	89	F	C
leden	11	F	C
leden	84	F	C
leden	84	F	C
leden	67	F	C
leden	3	F	C
leden	17	F	C
leden	82	F	C
leden	59	F	C
leden	65	F	C
leden	77	M	C
leden	8	F	C
leden	5	F	C
leden	7	F	C
leden	77	F	C
leden	71	F	C
leden	79	F	C
leden	92	F	C
leden	64	F	C
leden	87	F	C
leden	8	F	C
leden	57	M	C
leden	91	F	C
leden	85	M	R
leden	79	F	C
leden	83	F	C
leden	85	F	C

leden	23	F	C
leden	61	F	C
leden	82	M	C
leden	75	F	C
leden	84	F	C
leden	85	F	C
leden	5	M	C
leden	75	F	C
leden	61	F	C
leden	18	F	C
leden	82	F	C
leden	70	M	C
leden	91	F	C
leden	90	F	C
leden	89	F	C
leden	69	F	C
leden	39	F	C
leden	73	F	C
leden	67	M	C
leden	73	F	C
leden	79	F	C
leden	44	F	C
leden	70	F	C
leden	63	F	C
leden	71	F	C
leden	79	F	C
leden	5	F	C
leden	10	F	C
leden	88	F	C
leden	80	F	C
leden	90	F	C
leden	8	F	C
leden	69	M	C
leden	76	F	C
leden	69	F	C
leden	80	F	C
leden	90	F	C
leden	90	F	C
leden	84	F	C

leden	81	F	C
leden	93	F	C
leden	21	M	C
leden	66	M	C
leden	71	M	C
leden	68	M	C
leden	73	M	C
leden	10	F	C
leden	92	F	C
leden	74	F	C
leden	74	F	C
leden	70	F	C
leden	76	F	C
leden	69	F	C
leden	8	F	C
leden	55	F	C
leden	87	F	R
leden	66	F	C
leden	81	F	C
leden	85	F	C
leden	73	F	C
únor	76	M	C
únor	28	F	C
únor	79	M	C
únor	19	F	C
únor	78	F	C
únor	53	F	C
únor	77	F	C
únor	73	F	C
únor	70	F	C
únor	74	M	C
únor	75	F	C
únor	7	F	C
únor	83	F	C
únor	28	F	C
únor	71	F	R
únor	17	F	C
únor	15	F	C
únor	74	F	C
únor	73	F	C

únor	90	F	C
únor	19	F	C
únor	10	F	C
únor	85	F	C
únor	18	F	C
únor	90	F	C
únor	27	F	C
únor	61	F	C
únor	1	M	C
únor	2	F	C
únor	84	F	C
únor	89	F	C
únor	86	M	C
únor	66	M	C
únor	85	M	C
únor	71	F	C
únor	75	F	R
únor	4	F	C
únor	4	F	C
únor	58	M	C
únor	52	F	C
únor	34	F	C
únor	71	F	C
únor	83	F	C
únor	58	F	C
únor	77	F	C
únor	67	F	C
únor	77	M	C
únor	73	F	C
únor	92	F	C
únor	57	M	C
únor	29	F	C
únor	83	M	R
únor	74	F	C
únor	3	F	C
únor	72	M	C
únor	74	F	C
únor	86	F	C
únor	89	F	C
únor	62	F	C

únor	72	F	C
únor	78	F	C
únor	84	F	C
únor	1	F	C
únor	60	M	C
únor	86	M	C
únor	5	F	C
únor	77	F	C
únor	5	F	C
únor	92	F	C
únor	90	M	C
únor	30	F	C
únor	2	M	C
únor	72	M	C
únor	20	F	C
únor	84	F	C
únor	83	F	C
únor	52	F	C
únor	90	M	C
únor	63	M	C
únor	60	M	C
únor	36	F	C
únor	95	F	C
únor	55	F	C
únor	75	F	C
únor	84	F	C
únor	83	M	C
březen	79	F	C
březen	2	F	C
březen	82	F	C
březen	60	M	C
březen	92	M	C
březen	86	F	C
březen	92	F	C
březen	89	F	C
březen	77	F	C
březen	2	F	C
březen	80	F	C
březen	2	F	C
březen	88	F	C

březen	79	F	C
březen	60	F	C
březen	70	F	C
březen	18	F	C
březen	18	F	C
březen	15	F	C
březen	60	M	C
březen	73	M	C
březen	80	F	C
březen	65	F	C
březen	79	F	C
březen	77	M	C
březen	84	F	C
březen	66	F	R
březen	74	F	C
březen	73	F	C
březen	5	F	C
březen	82	M	C
březen	71	F	C
březen	85	M	C
březen	78	F	C
březen	73	F	C
březen	19	F	C
březen	3	F	C
březen	17	F	C
březen	53	F	C
březen	1	F	C
březen	59	F	C
březen	34	F	C
březen	65	F	C
březen	81	M	C
březen	59	F	C
březen	84	M	C
březen	85	F	C
březen	23	F	C
březen	17	F	C
březen	5	F	C
březen	57	F	C
březen	81	F	C
březen	80	M	C

březen	93	F	C
březen	76	F	C
březen	75	F	C
březen	59	F	C
březen	80	F	C
březen	18	F	C
březen	59	F	C
březen	82	F	C
březen	88	M	C
březen	60	F	C
březen	28	F	C
březen	66	F	C
březen	81	F	C
březen	91	F	C
březen	86	M	R
březen	83	M	C
březen	62	F	C
březen	87	F	C
březen	8	F	C
březen	88	F	C
březen	59	M	C
březen	84	F	C
březen	77	F	C
březen	82	F	C
duben	85	M	C
duben	75	F	C
duben	88	F	C
duben	28	F	C
duben	80	F	R
duben	71	F	C
duben	81	M	C
duben	81	F	C
duben	18	F	C
duben	93	F	C
duben	77	F	C
duben	88	M	C
duben	76	M	C
duben	80	M	C
duben	66	F	C
duben	64	F	C

duben	79	F	C
duben	67	M	C
duben	34	F	C
duben	72	F	C
duben	73	M	C
duben	75	F	C
duben	73	F	C
duben	42	F	C
duben	67	F	C
duben	75	F	C
duben	2	F	C
duben	59	F	C
duben	93	F	C
duben	85	F	C
duben	62	F	C
duben	9	F	C
duben	68	F	C
duben	3	M	C
duben	48	F	C
duben	83	M	C
duben	65	M	C
duben	87	F	C
duben	81	F	R
duben	83	F	C
duben	70	F	C
duben	60	F	C
duben	96	M	C
duben	1	M	C
duben	43	F	C
duben	57	F	C
duben	83	F	C
duben	22	F	C
duben	82	F	C
duben	95	F	C
duben	69	F	C
duben	1	M	C
duben	74	F	C
duben	81	F	C
duben	42	F	C
duben	2	F	C

duben	64	M	C
duben	86	F	C
duben	78	F	C
duben	70	F	C
duben	80	F	C
duben	83	M	C
duben	86	F	C
duben	77	F	C
duben	65	F	C
duben	75	F	C
duben	70	F	C
duben	21	F	C
duben	30	F	C
duben	67	F	C
duben	81	F	C
duben	84	M	C
duben	86	F	C
duben	85	M	C
duben	48	F	C
duben	83	F	C
duben	75	F	C
duben	63	F	C
duben	9	F	C
duben	87	F	C
duben	3	F	C
duben	7	F	C
duben	80	F	C
duben	78	F	C
duben	81	F	C
duben	87	F	C
duben	72	F	C
duben	86	M	C
duben	87	F	C
duben	69	M	C
květen	74	F	C
květen	80	F	C
květen	67	F	C
květen	78	F	C
květen	82	M	C
květen	78	F	C

květen	90	M	C
květen	65	M	C
květen	87	F	C
květen	87	F	C
květen	82	F	C
květen	85	F	C
květen	90	F	C
květen	56	F	C
květen	0	M	C
květen	51	F	C
květen	67	F	C
květen	66	M	C
květen	60	F	C
květen	78	F	C
květen	70	M	C
květen	21	F	C
květen	71	F	C
květen	82	F	C
květen	2	F	C
květen	4	F	C
květen	87	F	C
květen	53	F	C
květen	86	F	C
květen	2	F	C
květen	77	F	C
květen	79	F	C
květen	2	F	C
květen	88	F	C
květen	78	F	C
květen	93	M	C
květen	76	M	C
květen	85	F	C
květen	65	F	C
květen	69	F	C
květen	89	F	C
květen	86	F	C
květen	44	F	C
květen	74	M	C
květen	75	F	C
květen	64	M	C

květen	15	F	C
květen	59	M	C
květen	85	F	C
květen	86	F	C
květen	29	F	C
květen	86	M	C
květen	86	M	C
květen	74	F	C
květen	90	F	C
květen	75	F	C
květen	66	F	C
květen	55	M	C
květen	78	F	C
květen	73	M	C
květen	75	F	C
květen	82	F	C
květen	34	F	C
květen	42	M	C
květen	73	F	C
červen	86	M	C
červen	72	F	C
červen	53	F	C
červen	42	M	C
červen	78	F	C
červen	83	F	C
červen	83	F	R
červen	17	F	C
červen	57	F	C
červen	91	F	C
červen	84	F	C
červen	71	M	C
červen	2	F	C
červen	83	F	C
červen	57	M	C
červen	82	F	C
červen	78	M	R
červen	15	F	C
červen	78	F	C
červen	82	F	C
červen	73	M	C

červenec	38	F	C
červenec	69	F	C
červenec	69	F	C
červenec	86	F	C
červenec	87	F	C
červenec	83	F	C
červenec	17	F	C
červenec	92	F	C
červenec	88	F	C
červenec	2	F	C
červenec	67	M	C
červenec	68	F	C
červenec	76	F	C
červenec	63	F	C
červenec	73	M	C
červenec	66	M	C
červenec	79	M	C
červenec	0	F	R
červenec	32	M	R
červenec	17	F	C
červenec	84	F	C
červenec	69	F	C
červenec	65	M	C
červenec	75	M	C
červenec	83	F	C
červenec	12	F	C
červenec	77	M	C
červenec	65	F	C
červenec	19	F	C
červenec	60	M	C
červenec	90	F	C
červenec	90	F	C
červenec	49	F	C
červenec	88	M	R
červenec	11	F	C
červenec	87	F	C
červenec	21	F	C
červenec	21	F	C
červenec	60	F	C
červenec	15	F	C

červenec	68	F	R
červenec	69	F	C
červenec	17	F	C
červenec	85	F	C
červenec	5	F	C
červenec	32	F	C
červenec	80	F	C
červenec	85	F	C
červenec	26	F	C
červenec	0	M	C
červenec	25	F	C
červenec	73	M	C
červenec	71	M	C
červenec	68	F	C
červenec	19	F	C
červenec	78	F	C
červenec	59	F	C
červenec	69	M	C
červenec	75	M	C
červenec	81	M	C
červenec	87	F	C
červenec	80	F	C
červenec	81	F	C
červenec	18	F	C
červenec	79	F	C
červenec	85	F	C
červenec	67	M	C
červenec	80	F	C
červenec	83	M	C
červenec	63	F	C
červenec	51	F	C
červenec	95	F	C
červenec	69	M	C
červenec	37	F	C
červenec	1	F	C
červenec	57	F	C
červenec	78	F	C
červenec	67	M	C
červenec	59	M	C
červenec	90	F	C

červenec	73	F	C
červenec	71	F	C
červenec	80	F	C
červenec	71	F	C
červenec	77	F	C
červenec	3	F	C
červenec	65	M	C
červenec	59	F	C
červenec	84	F	C
červenec	20	F	C
srpen	73	M	C
srpen	78	F	C
srpen	59	M	C
srpen	78	F	C
srpen	87	F	C
srpen	63	M	C
srpen	79	F	C
srpen	91	F	C
srpen	86	F	C
srpen	9	F	C
srpen	2	F	C
srpen	56	F	C
srpen	76	M	C
srpen	43	M	C
srpen	86	F	C
srpen	87	F	C
srpen	82	F	C
srpen	77	M	C
srpen	37	F	C
srpen	69	F	C
srpen	5	F	C
srpen	18	F	C
srpen	78	F	C
srpen	62	M	C
srpen	59	M	C
srpen	78	F	C
srpen	76	F	C
srpen	56	F	C
srpen	74	F	C
srpen	87	F	C

srpen	77	F	C
srpen	92	F	C
srpen	25	M	C
srpen	70	F	C
srpen	30	F	C
srpen	30	F	C
srpen	84	F	C
srpen	72	F	C
srpen	3	F	C
srpen	71	F	C
srpen	90	F	C
srpen	76	F	C
srpen	80	F	C
srpen	56	F	C
srpen	88	F	C
srpen	2	F	C
srpen	16	F	C
srpen	2	F	C
srpen	76	F	C
srpen	84	M	C
srpen	5	F	C
srpen	72	F	C
srpen	82	F	C
srpen	82	F	C
srpen	93	F	C
srpen	80	M	C
srpen	31	F	C
srpen	0	F	C
srpen	89	F	C
srpen	73	F	C
srpen	17	F	C
srpen	64	M	C
srpen	20	F	R
srpen	74	F	C
srpen	72	M	C
srpen	64	M	C
srpen	64	M	C
srpen	85	F	C
srpen	61	F	R
srpen	79	F	C

srpen	30	M	C
srpen	78	F	C
srpen	84	M	C
srpen	76	F	C
srpen	86	F	C
srpen	72	F	C
srpen	60	F	C
srpen	84	F	R
srpen	75	F	C
srpen	82	F	C
srpen	32	F	C
srpen	85	F	R
srpen	90	F	C
srpen	70	F	C
srpen	1	F	C
srpen	71	F	R
srpen	19	F	C
srpen	41	F	C
srpen	5	F	C
srpen	55	F	C
srpen	57	F	C
srpen	74	F	C
srpen	93	F	R
srpen	83	F	C
srpen	87	F	C
srpen	42	M	C
srpen	92	F	C
srpen	84	F	C
srpen	65	M	C
srpen	90	F	C
srpen	31	F	C
srpen	69	F	C
září	76	F	C
září	77	M	C
září	21	F	C
září	74	F	C
září	27	F	R
září	87	F	C
září	85	F	C
září	83	F	C

září	69	F	C
září	60	M	C
září	73	F	C
září	55	M	C
září	27	F	C
září	18	F	C
září	51	F	C
září	66	F	C
září	76	F	C
září	77	M	C
září	25	F	C
září	88	F	C
září	81	F	C
září	87	M	C
září	86	M	C
září	73	M	C
září	75	F	C
září	2	F	C
září	65	F	C
září	84	F	C
září	29	F	C
září	1	F	C
září	17	F	C
září	84	F	C
září	18	F	C
září	88	M	C
září	75	M	C
září	83	F	C
září	6	M	C
září	82	F	C
září	83	F	C
září	64	M	C
září	52	F	C
září	91	F	C
září	76	F	C
září	77	M	C
září	83	F	C
září	83	F	C
září	42	F	C
září	77	M	C

září	70	F	C
září	16	F	C
září	82	F	C
září	33	F	C
září	89	F	C
září	77	F	C
září	72	F	C
září	91	F	C
září	72	F	C
září	66	F	C
září	54	F	C
září	18	F	C
září	72	F	C
září	87	F	C
září	51	F	C
září	16	F	C
září	71	F	C
září	92	F	C
září	21	F	C
září	77	M	C
září	54	F	C
září	83	M	C
září	4	F	C
září	73	F	C
září	75	F	C
září	69	M	C
září	82	F	C
září	81	F	C
září	86	F	C
září	82	F	C
září	29	F	C
září	93	F	C
září	76	F	C
září	83	F	C
září	76	F	C
září	84	F	C
září	15	F	C
září	73	F	C
září	83	M	C
září	71	F	C

září	2	F	C
září	18	F	C
září	25	F	C
září	9	F	C
září	0	F	C
září	83	F	C
září	84	F	C
říjen	75	F	C
říjen	86	F	C
říjen	64	F	C
říjen	67	F	C
říjen	84	F	C
říjen	83	M	C
říjen	68	F	C
říjen	79	F	C
říjen	61	F	C
říjen	92	F	C
říjen	81	F	C
říjen	68	M	C
říjen	85	F	C
říjen	81	F	C
říjen	91	F	C
říjen	78	F	C
říjen	32	F	C
říjen	56	F	C
říjen	62	M	C
říjen	87	M	C
říjen	83	F	C
říjen	77	F	C
říjen	6	M	C
říjen	82	F	C
říjen	67	M	C
říjen	81	F	C
říjen	10	F	C
říjen	82	F	C
říjen	95	F	C
říjen	73	F	C
říjen	87	F	C
říjen	28	F	C
říjen	74	M	C

říjen	89	F	C
říjen	1	F	C
říjen	83	F	C
říjen	73	F	C
říjen	20	F	C
říjen	74	F	C
říjen	9	F	C
říjen	67	F	C
říjen	68	F	C
říjen	81	M	C
říjen	30	F	C
říjen	46	F	C
říjen	70	F	C
říjen	70	F	C
říjen	76	F	C
říjen	90	F	C
říjen	86	F	C
říjen	65	F	C
říjen	63	F	C
říjen	59	F	C
říjen	85	F	C
říjen	33	F	C
říjen	92	F	C
říjen	82	F	C
říjen	37	M	C
říjen	68	M	C
říjen	82	M	C
říjen	65	F	C
říjen	70	F	C
říjen	0	F	C
říjen	31	M	C
říjen	74	F	C
říjen	74	F	C
říjen	83	M	C
říjen	7	F	C
říjen	8	M	C
říjen	75	F	C
říjen	1	F	C
říjen	2	F	C
říjen	74	M	C

říjen	66	M	C
říjen	38	F	C
říjen	44	F	C
říjen	10	F	C
říjen	55	F	C
říjen	84	F	C
říjen	83	F	C
říjen	16	F	C
říjen	3	F	C
říjen	81	F	C
říjen	81	F	C
říjen	84	M	C
říjen	64	F	C
říjen	87	M	C
říjen	95	F	C
říjen	86	F	C
říjen	77	F	C
říjen	69	F	C
říjen	24	F	C
říjen	16	F	C
říjen	74	M	C
říjen	72	M	C
říjen	65	F	C
říjen	76	F	C
říjen	2	F	C
říjen	82	F	C
říjen	76	F	C
říjen	83	M	C
říjen	92	F	C
listopad	80	F	C
listopad	5	F	C
listopad	4	F	C
listopad	74	M	C
listopad	59	M	C
listopad	72	F	C
listopad	81	F	C
listopad	7	F	C
listopad	91	M	C
listopad	13	M	C
listopad	69	F	C

listopad	82	F	C
listopad	84	F	R
listopad	77	F	C
listopad	67	F	C
listopad	92	F	C
listopad	44	F	C
listopad	18	F	C
listopad	82	F	C
listopad	58	M	C
listopad	82	F	C
listopad	92	F	C
listopad	16	F	R
listopad	77	F	R
listopad	2	F	C
listopad	76	F	C
listopad	73	F	C
listopad	83	F	C
listopad	44	F	C
listopad	84	M	C
listopad	2	F	C
listopad	0	F	C
listopad	55	M	C
listopad	63	F	C
listopad	14	F	C
listopad	74	M	C
listopad	86	F	C
listopad	0	M	C
listopad	85	M	C
listopad	5	F	C
listopad	16	F	C
listopad	63	M	C
listopad	90	F	C
listopad	11	F	C
listopad	52	F	C
listopad	85	F	C
listopad	68	M	C
listopad	66	F	C
listopad	74	M	C
listopad	77	F	C
listopad	92	F	C

listopad	65	F	C
listopad	3	F	C
listopad	17	F	C
listopad	85	F	C
listopad	62	F	C
listopad	49	F	C
listopad	17	F	C
listopad	72	F	C
listopad	88	F	C
listopad	67	F	C
listopad	63	F	C
listopad	2	M	C
listopad	81	F	C
listopad	74	M	C
listopad	68	F	C
listopad	65	M	C
listopad	87	M	C
listopad	65	M	C
listopad	28	F	C
listopad	18	F	C
listopad	68	F	C
listopad	70	M	C
listopad	84	F	C
listopad	19	F	C
listopad	61	F	C
listopad	81	F	C
listopad	84	F	C
listopad	82	F	C
listopad	84	F	C
listopad	71	F	C
listopad	80	F	C
listopad	74	F	R
listopad	91	F	C
listopad	88	F	C
listopad	87	F	C
listopad	82	F	C
listopad	58	F	C
listopad	69	F	C
listopad	37	F	C
listopad	59	F	C

listopad	20	F	C
listopad	75	M	C
listopad	78	F	C
listopad	80	F	C
listopad	31	F	C
listopad	83	F	C
listopad	91	F	C
listopad	74	M	C
listopad	88	M	C
listopad	80	F	R
listopad	85	F	C
listopad	45	F	C
listopad	21	F	C
listopad	77	M	C
listopad	5	F	C
listopad	76	F	C
listopad	77	F	C
listopad	86	F	C
listopad	70	F	C
listopad	64	F	C
listopad	76	F	C
listopad	67	F	C
listopad	83	F	C
listopad	70	F	C
listopad	80	F	C
listopad	88	M	C
listopad	8	F	C
listopad	0	F	C
listopad	79	F	C
prosinec	48	F	C
prosinec	63	M	C
prosinec	80	F	C
prosinec	8	F	C
prosinec	84	M	C
prosinec	38	F	C
prosinec	83	F	C
prosinec	76	M	C
prosinec	83	F	C
prosinec	83	F	C
prosinec	81	F	C

prosinec	84	F	C
prosinec	84	M	C
prosinec	68	F	C
prosinec	76	F	C
prosinec	79	F	C
prosinec	83	F	C
prosinec	49	F	C
prosinec	74	F	R
prosinec	18	F	C
prosinec	86	F	C
prosinec	17	F	C
prosinec	64	F	C
prosinec	82	F	C
prosinec	12	F	C
prosinec	83	F	C
prosinec	62	F	C
prosinec	18	F	C
prosinec	50	F	C
prosinec	66	M	C
prosinec	83	M	C
prosinec	6	F	C
prosinec	64	F	C
prosinec	80	F	C
prosinec	38	F	C
prosinec	63	M	C
prosinec	5	F	C
prosinec	79	F	C
prosinec	92	F	C
prosinec	85	F	C
prosinec	15	F	C
prosinec	63	F	C
prosinec	76	F	C
prosinec	67	M	C
prosinec	81	F	C
prosinec	13	F	C
prosinec	68	F	C
prosinec	18	F	C

prosinec	17	F	C
prosinec	64	F	C
prosinec	66	M	R
prosinec	81	F	C
prosinec	86	F	C
prosinec	63	M	C
prosinec	51	F	C
prosinec	77	F	C
prosinec	86	F	C
prosinec	88	F	C
prosinec	45	F	C
prosinec	61	F	C
prosinec	65	M	C
prosinec	17	F	C
prosinec	19	F	C
prosinec	74	F	C
prosinec	88	M	C
prosinec	64	F	C
prosinec	67	F	R
prosinec	16	F	R
prosinec	90	F	C
prosinec	86	F	C
prosinec	18	F	C
prosinec	67	M	R
prosinec	64	F	C
prosinec	78	F	C
prosinec	67	M	C
prosinec	88	F	R
prosinec	74	F	C
prosinec	59	F	R
prosinec	3	F	C
prosinec	91	F	C
prosinec	92	M	C
prosinec	69	F	C
prosinec	81	F	C
prosinec	77	M	C

Zdroj: data přebrána z LISu

Příloha 10: výskyt *E. coli* u mužů a žen v průběhu roku 2014

Pohlaví/ měsíc	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	celkem	zastoupení
M	16	21	14	19	16	6	22	19	17	21	24	16	211	20%
F	82	65	63	71	49	15	68	83	78	81	96	68	819	80%
													1030	100%

Zdroj: autor dle přebraných dat z LISu

Příloha 11: tabulka ke grafu č. 5 (výskyt *E. coli* dle pohlaví a věku)

věková kategorie	M	M (%)	F	F (%)
0-6	13	6,2	64	7,8
7-11	1	0,5	25	3,1
12-17	1	0,5	35	4,3
18-30	3	1,4	64	7,8
31-60	27	12,8	89	10,9
61-x	166	78,7	542	66,2

Zdroj: autor dle přebraných dat z LISu

Příloha 12: tabulka ke grafu č. 6 (citlivost *E. coli* u mužů)

věková kategorie	M - C	M - C (%)	M - R	M - R (%)
0-6	13	6,4	0	0,0
7-11	1	0,5	0	0,0
12-17	1	0,5	0	0,0
18-30	3	1,5	0	0,0
31-60	26	12,9	1	11,1
61-x	158	78,2	8	88,9

Zdroj: autor dle přebraných dat z LISu

Příloha 13: tabulka ke grafu č. 6 (citlivost *E. coli* u žen)

věková kategorie	F - C	F - C (%)	F -R	F -R (%)
0-6	63	7,9	1	3,8
7-11	25	3,2	0	0,0
12-17	33	4,2	2	7,7
18-30	62	7,8	2	7,7
31-60	88	11,1	1	3,8
61-x	522	65,8	20	76,9

Zdroj: autor dle přebraných dat z LISu