



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

Zdravotně sociální fakulta

Katedra laboratorních metod a informačních systémů

Bakalářská práce

Infekce močových cest vyvolané
Staphylococcus saprophyticus

Vypracoval: Karel Formánek

Vedoucí bakalářské práce: MUDr. Petra Dovinová

České Budějovice 2015

Abstrakt

V bakalářské práci se zabývám infekcemi močových cest vyvolané *Staphylococcus saprophyticus*. *S. saprophyticus* patří mezi koaguláza negativní stafylokoky. Je původce nekomplikovaných infekcí močových cest. V teoretické části jsem se zaměřil na rod *Staphylococcus*, který patří mezi odolné mikroby, přestože netvoří spory. Jeho taxonomie se za poslední čtyři dekády rozvinula, dnes je známo 54 druhů stafylokoků. *S. saprophyticus* patří mezi koaguláza negativní stafylokoky, je rezistentní k novobiocinu a je producentem enzymu ureázy. Lékem první volby u akutní cystitidy je nitrofurantoin.

Praktickou část jsem prováděl v Laboratoři lékařské mikrobiologie, Pracovišti bakteriologie Nemocnice České Budějovice, a.s. pod odborným dohledem. Vzorčky moče jsem zpracovával v automatickém systému HB&L UROQUATTRO. Nejčastěji používanou metodou pro identifikaci *S. saprophyticus* je hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF. U každého kmene *S. saprophyticus* jsem zhotovil citlivost k antibiotikům.

Statistickým zpracováním výsledků jsem došel k závěru, že záchyt *S. saprophyticus* jako původce infekce močových cest dle pohlaví za rok 2013 se vyskytoval z 94,7 % u žen a 5,3 % u mužů, za rok 2014 byly výsledky obdobné. Věková distribuce největšího záchytu u pacientek se pohybovala mezi 20–40 lety.

Klíčová slova: *S. saprophyticus* – antibiotika – biofilm – infekce močových cest – akutní cystitida – stafylokoky – krevní agar

Abstract

This bachelor's thesis deals with infections of urinary tracts caused by *Staphylococcus saprophyticus*. *S. saprophyticus* belongs into coagulase-negative staphylococci. It is a cause of uncomplicated urinary tract infection. In theoretical section I focused on genus of *Staphylococcus*, which belongs into resistant microbes, despite the fact they do not generate spores. *Staphylococcus* taxonomy has been developed in past four decades, nowadays are known 54 genres of staphylococci. *S. saprophyticus* belongs to coagulase-negative staphylococci, it is resistant to novobiocin and it is a producer of enzyme of urease.

Practical section was carried out at laboratory of medical microbiology, bacteriological department in local hospital, in České Budějovice, a.s. under the professional supervision. I worked with urinal samples in automatic system HB&L UROQUATTRO. The most frequent method for identification *S. saprophyticus* is mass spectrometry MALDI–TOF. In every single genus I made sensitivity for antibiotics.

Via statistic processing of results I came to a conclusion that capture of *S. saprophyticus* as a cause of urine tract infection according to gender in year 2013 was occurred at 94,7% of women and 5,3% of men, in year 2014 results were analogous. Age distribution of the biggest capture of patients was between 20–40 years.

Keywords: *S. saprophyticus* – antibiotics – biofilm – urinary tract infection – acute cystitis – staphylococci – blood agar

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracoval 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. května 2015

.....

(Karel Formánek)

Poděkování

Především děkuji paní MUDr. Petře Dovinové za cenné rady, trpělivost při zpracování a vedení mé bakalářské práce. Dále děkuji laborantkám z oddělení Lékařské mikrobiologie Nemocnice České Budějovice a.s. A nakonec děkuji své rodině, která mě po celou dobu mého studia podporovala.

Obsah

Seznam použitých zkratek	8
1 Úvod	9
1.1 Infekce močových cest	9
1.2 Rod <i>Staphylococcus</i>	11
1.2.1 Taxonomie	11
1.2.2 Odolnost.....	14
1.2.3 Kultivace a identifikace	14
1.2.4 Patogeneze	15
1.3 <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	15
1.3.1 Vlastnosti	16
2 Hypotézy a cíle práce	17
2.1 Hypotézy	17
2.2 Cíle práce	17
3 Metodika.....	18
3.1 Odběr vzorků.....	18
3.2 Preanalytická fáze	19
3.3 Zpracování vzorků	19
3.3.1 Automatický systém HB&L UROQUATTRO.....	20
3.3.2 Metoda tří ředění.....	21
3.3.3 Mikroskopický preparát barvený dle Grama	22
3.4 Identifikace.....	24
3.4.1 Kataláza	24
3.4.2 Latexová aglutinace	25

3.4.3	UriSelect.....	26
3.4.4	Identifikace metodou MALDI-TOF na přístroji VITEK MS	26
3.4.5	Biochemická identifikace na přístroji VITEK 2	28
3.5	Antibiogram	29
4	Výsledky.....	31
4.1	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> jako původce infekce močových cest dle pohlaví za rok 2013 a 2014	31
4.2	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> jako původce infekce močových cest dle věku a pohlaví za rok 2013 a 2014	33
4.3	Zastoupení primárních diagnóz při infekcích močových cest etiologie <i>Staphylococcus saprophyticus</i> u mužů a žen za rok 2013 a 2014.....	35
4.4	Distribuce oddělení a primární péče, kde byly vyšetřovány ženy při infekcích močových cest etiologie <i>Staphylococcus saprophyticus</i> za rok 2013 a 2014.....	38
4.5	Způsob odběru vzorků moči při infekcích močových cest etiologie <i>Staphylococcus saprophyticus</i> za rok 2013 a 2014.....	40
4.6	Výskyt infekcí močových cest etiologie <i>Staphylococcus saprophyticus</i> v jednotlivých měsících roků 2013 a 2014	41
4.7	Koinfekce <i>S. saprophyticus</i> a <i>E. coli</i> za rok 2013 a 2014.....	42
4.8	Stav rezistence izolátů <i>S. saprophyticus</i> k antibiotikům za rok 2013 a 2014 ..	44
5.	Diskuse	45
6.	Závěr.....	47
7.	Použitá literatura.....	48

Seznam použitých zkratk

CBS – krevní agar

MH – Mueller-Hinton

NFE – nitrofurantoin

SXT – cotrimoxazol

GTM – gentamicin

TMP – trimetoprim

DDT – diskový difúzní test

MIC – minimální inhibiční koncentrace

LIS – laboratorní informační systém

McF – McFarland

1 Úvod

1.1 Infekce močových cest

Infekce močových cest je stav, při kterém lze prokázat přítomnost choroboplodných zárodků v moči nebo ve tkáních močového ústrojí. Tyto infekce jsou vyvolány především bakteriemi a v menší míře jinými mikroorganismy, jako jsou plísně a viry (Votava et al., 2010).

Infekce močových cest může člověka postihnout již od narození. Rozdílnost výskytu odpovídá jednak zastoupení urologických onemocnění v jednotlivých věkových kategoriích a jednak v odlišnostech pohlaví.

V novorozeneckém období jsou chlapci postiženi uroinfekcemi třikrát až pětkrát častěji než dívky. Po třech měsících věku prevalence uroinfekce u chlapců klesá, zatímco u dívek v batolecím věku výrazně narůstá. Ta je poté konstantní až do puberty.

Výrazně patrná převaha uroinfekce je u žen v reprodukčním věku. Kolem šedesáti let věku se výskyt močových infekcí u obou pohlaví vyrovnává. Močová trubice u muže je dlouhá asi 25 cm, vychází z močového měchýře, prostupuje prostatou, přes svalové dno pánevní a ústí na konci pyje, žaludu. U ženy je močová trubice dlouhá 2–3 cm a široká 7 mm (Fleischmann et al., 1964). Krátká a široká uretra je hlavním důvodem častějšího výskytu močových infekcí u žen (Carey et al., 2011). Dochází k přesunu mikroorganismů z poševního vchodu do močového měchýře, ten může být usnadněn pohlavním stykem, který je tak nejvýznamnějším rizikovým faktorem uroinfekce u žen (Votava et al., 2010). Ženy mladšího a středního věku jsou více náchylné k infekcím močového ústrojí, a proto je snaha zaměřit se u nich na terapii a profylaxi recidiv infekcí. Postižené ženy jsou vyšetřované a léčené standardním postupem. Je identifikován původce infekce a zhodnocen lokální nález v oblasti zevního genitálu. U mužů mladšího a středního věku je vždy infekce močových cest považována za potenciálně závažnou. Věnuje se jim větší péče, pozornost a provádí se podrobná

vyšetření možného primárního onemocnění. Nutno vyloučit urolitiázu (přítomnost konkrementů v močových cestách) a nádorového onemocnění uretropaetického systému, umožňující rozvoj uroinfekce a podobně (Bartoničková, 2000).

Šíření infekcí probíhá nejčastěji, z 99 %, ascendentní cestou z anorektální oblasti. Rezervoárem uroinfekce u žen je ve většině případů genitální trakt. Kolpitis jako primární zdroj infekce močových cest není tak častá, jako asymptomatické bakteriální osídlení vagíny, které bývá nejčastějším zdrojem uroinfekce u žen. K rozvoji infekci mnohdy vede i přehnaná hygiena kosmetickými přípravky, které mohou ovlivnit pH poševní sliznice a přirozené bakteriální osídlení v pochvě. Přirozenou bakteriální flóru vagíny mohou ovlivnit také kondomy, mechanicky dráždivý povrch sliznice, taktéž spermicidní látky, výrazně ovlivňující pH vagíny. Pokles pH následně poskytuje vhodné podmínky pro růst oportunně patogenních mikrobů. Nejčastějšími původci klasických nekomplikovaných infekcí močových cest u žen jsou enterobakterie (Bartoničková, 2000).

Hematogenní cestou vzniká infekce močových cest vzácně, je způsobena vysoce virulentními kmeny, a to asi z 1 %. Klinicky se jedná o postižení horních močových cest, a to jak u dětí, tak i u dospělých.

Další možností šíření infekce močových cest je lymfogenní šíření z cervixu. Nicméně přenos z ložisek touto cestou je pouze spekulativní. Ložiska vytvářejí vyšší bakteriální koncentraci pro následné ascendentní šíření.

Posledním způsobem je tzv. šíření přímé. Dochází k němu například k provalení abscesu z okolí močových cest nebo ke vzniku píštěle mezi močovým a gastrointestinálním traktem. Takto vzniklá infekce močových cest je ale vzácná. Na přímé šíření by se mělo pomyslet při nejasných komplikacích chronického zánětu malé pánve (Bartoničková, 2000).

1.2 Rod *Staphylococcus*

Stafylokoky jsou grampozitivní bakterie ve tvaru hroznu, od něhož získaly název (řecky *staphylé* = hrozen). Stafylokoky poprvé pozorovali Louis Pasteur a Alexander Ogston v roce 1880 v mikroskopickém preparátu hnisu z nohy mladého muže (Votava et al., 2003).

1.2.1 Taxonomie

Rod *Staphylococcus* lze dle současné taxonomie zařadit takto:

Říše: Eubacteria
Oddělení: Firmicutes
Třída: Bacilli
Řád: Bacillales
Čeleď: Staphylococcaceae
Rod: *Staphylococcus*

(Zdroj: Garrity et al., 2004)

Rod *Staphylococcus* svou taxonomií za poslední čtyři dekády rozvinul. Původně byly rozeznávány jen dva druhy stafylokoků, *Staphylococcus aureus* a *Staphylococcus epidermidis*, v roce 1951 přibyl nový druh, *Staphylococcus saprophyticus*. K dnešnímu dni je popsáno 54 druhů stafylokoků (Petráš, 2010; viz Tab. č. 1). Přibližně polovina (24 taxonů) lze vykultivovat z lidského klinického materiálu, ostatní rody jsou nejčastěji identifikovány u zvířat a v potravinách.

Těchto 54 druhů se dělí na dvě skupiny dle schopnosti koagulovat plazmu (produkcí koagulázy), a to na stafylokoky koaguláza negativní a stafylokoky koaguláza pozitivní (Votava et al., 2003). Zástupci koaguláza pozitivních stafylokoků jsou *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus delphini*, *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans*, *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius*. Ostatní druhy jsou koaguláza negativní.

Číslo	Druh	Hostitel	Zdroj	Rok
1	<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	člověk	zvíře, prostředí	1884
2	<i>S. epidermidis</i>	člověk	zvíře, prostředí	1916
3	<i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>saprophyticus</i>	člověk	-	1951
4	<i>S. capitis</i> subsp. <i>capitis</i>	člověk	-	1975
5	<i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>	člověk	-	1975
6	<i>S. haemolyticus</i>	člověk	zvíře, prostředí	1975
7	<i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	člověk	-	1975
8	<i>S. simulans</i>	člověk	-	1975
9	<i>S. warneri</i>	člověk	-	1975
10	<i>S. xylosus</i>	člověk	prostředí	1975
11	<i>S. intermedius</i>	člověk	zvíře	1976
12	<i>S. sciuri</i> subsp. <i>sciuri</i>	člověk	zvíře	1976
13	<i>S. hyicus</i>	-	zvíře, potraviny	1978
14	<i>S. carnosus</i> subsp. <i>carnosus</i>	-	uzeniny	1982
15	<i>S. auricularis</i>	člověk	-	1983
16	<i>S. caprae</i>	člověk	kozí mléko	1983
17	<i>S. gallinarum</i>	-	drůbež	1983
18	<i>S. lentus</i>	člověk (zřídka)	zvíře	1983
19	<i>S. saccharolyticus</i>	člověk	-	1984
20	<i>S. arlettae</i>	-	koza, drůbež	1984
21	<i>S. equorum</i> subsp. <i>equorum</i>	-	kůň	1984
22	<i>S. kloosii</i>	-	divoká zvířata	1984
23	<i>S. aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i>	-	ovce	1985
24	<i>S. chromogenes</i>	-	zvíře, mléko	1986
25	<i>S. lugdunensis</i>	člověk	-	1988
26	<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i>	člověk	-	1988
27	<i>S. delphini</i>	-	delfín	1988
28	<i>S. felis</i>	-	kočka	1989
29	<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i>	-	pes	1990
30	<i>S. capitis</i> subsp. <i>urealyticus</i>	člověk	-	1991
31	<i>S. cohnii</i> subsp. <i>urealyticus</i>	člověk	zvíře	1991
32	<i>S. muscae</i>	-	moucha, vepř	1992

Číslo	Druh	Hostitel	Zdroj	Rok
33	<i>S. piscifermentans</i>	-	marinované ryby	1992
34	<i>S. pasteurii</i>	člověk	zvíře, potraviny	1993
35	<i>S. vitulinus</i>	-	zvíře, potraviny	1994
36	<i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>bovis</i>	-	zvíře	1996
37	<i>S. sciuri</i> subsp. <i>carnaticus</i>	-	masové výrobky	1997
38	<i>S. sciuri</i> subsp. <i>rodentium</i>	-	hlodavci	1997
39	<i>S. lutrae</i>	-	vydra	1997
40	<i>S. succinus</i> subsp. <i>succinus</i>	-	"jantar"	1998
41	<i>S. condimenti</i>	-	sójová omáčka	1998
42	<i>S. carnosus</i> subsp. <i>utilis</i>	-	potraviny	1998
43	<i>S. hominis</i> subsp. <i>novobiosepticus</i>	člověk	-	1998
44	<i>S. fleuretti</i>	-	sýr z kozího mléka	2000
46	<i>S. succinus</i> subsp. <i>casei</i>	-	zrající sýr	2003
47	<i>S. nepalensis</i>	-	kozy v Himalájích	2003
48	<i>S. pseudointermedius</i>	-	zvíře	2005
49	<i>S. simiae</i>	-	kotul veverovitý	2005
50	<i>S. pettenkoferi</i>	člověk	-	2007
51	<i>S. microti</i>	-	-	2010
52	<i>S. massiliensis</i>	člověk	hraboš polní	2010
53	<i>S. rostri</i>	-	prase	2010
54	<i>S. devriesei</i>	-	skot	2010

Tabulka č. 1: Přehled dosud identifikovaných stafylokoků (Petráš, 2010).

Většina druhů stafylokoků patří mezi fakultativně anaerobní bakterie, výhradně anaerobní jsou pouze *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius* a *Staphylococcus saccharolyticus*. Stafylokoky jsou nepohyblivé, neopouzřené a spory nevytvářející bakterie.

Všechny druhy stafylokoků jsou kataláza pozitivní (s jedinou výjimkou – *Staphylococcus sciuri*). Rostou na běžných mikrobiologických půdách. K jejich izolaci se může použít selektivní médium, a to krevní agar s 10% NaCl (Vijaranakul et al., 1997). Stafylokoky jsou součástí přirozené mikroflóry teplotokrevných živočichů.

U člověka se mohou za určitých podmínek stát původci nozokomiálních infekcí a dalších typů onemocnění (Votava et al., 2003).

1.2.2 Odolnost

Stafylokoky patří mezi odolné mikroby. Přestože netvoří spory, jsou odolné vůči nepříznivým podmínkám vnějšího prostředí: přežívají teploty blízké bodu mrazu, odolávají vysokým koncentracím NaCl, vyschnutí, některým dezinfekčním prostředkům, jako např. fenolu či sloučeninám těžkých kovů. Jsou rezistentní k bacitracinu, furazolidinu a lysostafinu. Koncentrovaný ethanol stafylokoky nehubí, spíše je konzervuje (Bednář et al., 1996).

1.2.3 Kultivace a identifikace

Stafylokoky koaguláza negativní rostou na běžných kultivačních půdách (krevní agar – CBS) v poměrně velkých koloniích (*Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus vitulinus*) a další. Jiné stafylokoky tvoří kolonie malé, až dosti drobné (*Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus auricularis*). Kolonie jsou většinou pigmentovány. Asi 65 % stafylokoků tvoří žluté kolonie a 35 % bílé kolonie (Nicolle et al., 1983). Kolonie bez pigmentu jsou průhledné. Bílé až porcelánově bílé kolonie tvoří *Staphylococcus epidermidis*, obvykle jasně bílé kolonie vytváří *Staphylococcus haemolyticus*. Výrazně žlutě jsou pigmentovány kolonie *Staphylococcus pasteurii* a *Staphylococcus xylosum* (Votava et al., 2003).

Řada stafylokoků tvoří hemolysin, podobný hemolyzinu delta *Staphylococcus aureus*. Tvorba hemolyzinu je typická pro *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis* a další. Stafylokoky produkující beta-hemolysin, lze identifikovat pomocí tzv. chladového efektu, kdy se naočkovaná kultivační média inkubují při chladničkové teplotě (4–6 °C). Při této teplotě dochází k úplné hemolýze na kultivačním médiu. Další možností identifikace u koaguláza negativních stafylokoků je průkaz citlivosti k novobiocinu. Důležité biochemické znaky jsou například štěpení močoviny, mannitolu, acetoinu, glukosidasy a pyrrolidonylarylamidasy (Votava et al., 2003).

1.2.4 Patogeneze

Onemocnění vyvolané stafylokoky koaguláza negativními u zdravého člověka jsou vzácné a jako oportunní patogeny k infekci vyžadují specifické podmínky. Existují ale tři skupiny osob, které jsou predisponované k infekcím vyvolaným koaguláza negativními stafylokoky. První skupinou jsou narkomani, převážně intravenózní. Druhou skupinou jsou imunokompromitovaní jedinci (neutropenici, nezralí novorozenci). Třetí skupinou jsou jedinci se zavedenými či implantovanými pomůckami (intravenózní katétrů a vstupy, umělé srdeční chlopně, cévní protézy, katétrů k peritoneální dialýze, permanentní močové katétrů, kloubními protézami, šrouby, fixačními pomůckami a podobně).

Koaguláza negativní stafylokoky mají schopnost adherovat na cizorodé povrchy a růst na nich v podobě biofilmu. Adheze je rychlá, plasmatické i tkáňové bílkoviny (fibronektin, fibrinogen) se okamžitě shlukují na implantovaném tělesu a slouží jako receptor pro bakterie. Stafylokoky po adhezi začnou tvořit kolonie. Pouhé přilnutí k povrchu stačí stafylokokům k aktivaci genů pro tvorbu slizovité extracelulární matrix. Pokud stafylokoky vytvoří biofilm, dobře odolávají nejen fagocytům, ale i antibiotikům (Votava et al., 2003).

V souvislosti s infekcemi močových cest je nejčastěji zmiňován *Staphylococcus saprophyticus*. Jako etiologické agens se nejčastěji vyskytuje u mladých, sexuálně aktivních žen. Ostatní stafylokoky způsobují infekce močových cest především u starších osob se zavedeným močovým katétrem (Votava et al., 2003).

1.3 *Staphylococcus saprophyticus*

Staphylococcus saprophyticus a další koaguláza negativní stafylokoky byly dříve považovány za kontaminanty močového ústrojí. V roce 1962 Torres Pereira identifikoval izoláty koaguláza negativních stafylokoků z moči, u žen s akutní infekcí močových cest (Pereira, 1962). Tyto izoláty byly zařazeny k rodu *Micrococcus*

do podskupiny 3 (Kerr, 1973). Později byly reklasifikovány jako *S. saprophyticus* (Buchanan et al., 1974). *S. saprophyticus* se vyznačuje rezistencí k novobiocinu. Na krevním agaru tvoří bíle pigmentované nehemolytické kolonie.

Staphylococcus saprophyticus je nejčastější spjat s nekomplikovanou infekcí močových cest u žen (Meers et al., 1976). Jedná se o zánět močového měchýře (akutní cystitida). *Staphylococcus saprophyticus* vyvolává klinicky velmi podobnou infekci močových cest jako *Escherichia coli*, avšak liší se patogenezí a nejspíše i geografickým rozšířením. Ve studii, která byla provedena v Austrálii, byl *Staphylococcus saprophyticus* jako etiologické agens infekce močových cest běžně izolován u žen v rozmezí od třinácti do čtyřiceti let (Scheider et al., 1996). Naproti tomu například v Izraeli nebyl prokázán záchyt *Staphylococcus saprophyticus* při infekci močových cest u žádné ze 198 žen zařazených do studie (Raz et al., 1983).

K naprosté většině infekcí močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* dochází u mladých sexuálně aktivních žen (Wallmark et al., 1978). Nejčastěji je *Staphylococcus saprophyticus* jako etiologické agens identifikován u žen ve věku 16–25 let (Gupta et al., 1999).

Staphylococcus saprophyticus byl popsán i jako vyvolavatel, ale ne původce infekce močových cest u mužů všech věkových kategorií. Byl izolován u chlapců, starších mužů se zavedeným permanentním katétretem nebo u homosexuálů (Hovelius et al., 1984; Tolaymat et al., 1991). U mužů může vyvolat uretritidu, prostatitidu nebo nefrolitiázu. *Staphylococcus saprophyticus* je poměrně vzácný u hospitalizovaných mužů (Kauffman et al., 1983).

1.3.1 Vlastnosti

Důležitou vlastností *Staphylococcus saprophyticus* je produkce enzymu ureázy. *Staphylococcus saprophyticus* má na svém povrchu struktury, jejichž pomocí adheruje na fibronektin a epitelu močových cest a enzym ureázy je poškozující (Votava et al., 2003).

2 Hypotézy a cíle práce

2.1 Hypotézy

1. *Staphylococcus saprophyticus* je původcem infekce močových cest primárně u žen.
2. Věkový průměr žen s infekcí močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* je mezi 20 až 30 lety.
3. Při infekcích močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* se nejedná o koinfekci.

2.2 Cíle práce

Cílem práce je statistické vyhodnocení infekcí močových cest vyvolaných *Staphylococcus saprophyticus* za období let 2013 – 2014 v Laboratoři lékařské mikrobiologie, Pracovišti bakteriologie Nemocnice České Budějovice, a.s.

1. Zhodnocení současných možností laboratorní diagnostiky infekcí močových cest.
2. Statistické vyhodnocení záchytu *Staphylococcus saprophyticus* jako etiologického agens při infekcích močových cest.
3. Distribuce pacientů s infekcí močových cest vyvolaných *Staphylococcus saprophyticus* dle věku a pohlaví.
4. Profil rezistence izolátů *Staphylococcus saprophyticus* k antibiotikům.

3 Metodika

3.1 Odběr vzorků

Vzorky moče se odebírají do sterilních zkumavek nebo do sterilních nádob. Rutinně se odebírá střední proud moče – cca 10 ml. Střední proud moče znamená, že první porci moče vymočí pacient do toalety, poté odebere vzorek moči do sterilní zkumavky a zbytek moče vyloučí zase do toalety. Odběr moči je nejdostupnějším materiálem a nikterak bolestivým pro pacienta.

Odběr u žen se provádí v poloze polosedu. Žena levou rukou oddálí labia a namočeným tampónem, který je namočený nejčastěji v mýdlové vodě, provede dezinfekci směrem od močové trubice ke konečníku. Poté genitál opláchnou vlažnou vodou. Následně při močení odebírá střední proud moče. Není doporučeno odebírat střední proud moče, pokud má žena menstruaci. U mužů je po omytí genitálu nutné stáhnout předkožku a provést dezinfekci zevní močové trubice (http://www.androgeos.cz/cs_CZ/vysetreni-moce-a-sekretu).

Při jednorázové katetrizaci ženy sestra desinfikuje zevní ústrojí močové trubice. Konec cévky, který je smočen v lubrikačním, gelu je opatrně zaveden pomocí pinzety přes močovou trubici do močového měchýře. Pár kapek se nechá odkapat do emitní misky, a poté je odebrán vzorek moči do zkumavky (www.prakticka-medicina.cz, 2001).

Chybou v diagnostice infekce močových cest v mikrobiologické laboratoři je pozdní dodání moči, kdy dojde ke zmnožení bakterií a výsledkem je falešně pozitivní nález. Při nedostatečném omytí genitálu je moč často kontaminována mikroorganismy z pochvy (alfa hemolytické streptokoky, laktobacily, *Corynebacterium* sp., *Gardnerella vaginalis* apod.) (ČLK JEP – doporučené postupy pro praktické lékaře). Při katetrizaci muže se omyje gland a ústí močové trubice. Do močové trubice se aplikuje anestetikum. Lékař pomocí pinzety zavádí cévku o velikosti asi 20 cm, dokud katétrem nezačne

odtékat moč. Dále se postupuje jako u katetrizace ženy (Pačes, 1979). Před výkonem suprapubické punkce je nutno ověřit naplnění močového měchýře ultrazvukem. Pacient je uložen na zádech v tzv. „žabí pozici“ a jeho znehybnění zajišťuje zdravotní sestra. Pro suprapubickou punkci se používá jehla 22G a místem vpichu je střední čára 1-2 cm nad symfýzou. Vpich se provede kolmo a hloubka vpichu je do 2 cm. Používá se sterilní zkumavka, výkon je za aseptických podmínek, ve sterilních rukavicích. Nezbytné je potřít místo vpichu anestetickým krémem (Havránek, 2006).

3.2 Preanalytická fáze

Preanalytická fáze se skládá ze dvou částí - mimolaboratorní a laboratorní. Mimo laboratoř probíhá vyšetření pacienta, odběr vzorku a jeho transport do laboratoře. Do transportu se vzorek moči uchovává při chladničkové teplotě. Laboratorní část preanalytické fáze nastává při převzetí vzorku a je ukončena jeho zpracováním.

Vzorek moče, který byl odebrán pacientem do sterilní zkumavky či sterilní nádoby, je se žádankou dopraven do laboratoře na Centrální příjem. Zde laborant zkontroluje jméno pacienta na žádance, rodné číslo, pojišťovnu, požadované vyšetření, podpis a razítko lékaře. Údaje na žádance musí být shodné se zkumavkou, aby nedošlo k záměně vzorku. Tento vzorek poté dostane svůj kód a je v nejkratší možné lhůtě předán ke zpracování.

3.3 Zpracování vzorků

Vzorek, který je připraven ke zpracování, převezme laborant. Podle požadovaného vyšetření provede jeho zpracování - kultivaci vzorku, která umožňuje kvalitativní a kvantitativní stanovení infekčního agens.

3.3.1 Automatický systém HB&L UROQUATTRO

Principem této metody je nefelometrická detekce bakteriálního růstu ve vzorku moči. Jedná se tedy o takzvanou metodu zákalu, kde laserový paprsek, který přechází přes skleněnou lahvičku se vzorkem, je rozptýlen. Signály rozptýleného laserového paprsku jsou detekovány, vypočteny a zobrazeny jako růstové křivky, které detailně informují množství rostoucích bakterií (URO-QUICK Screening kit, Alifax, s.P.a.).

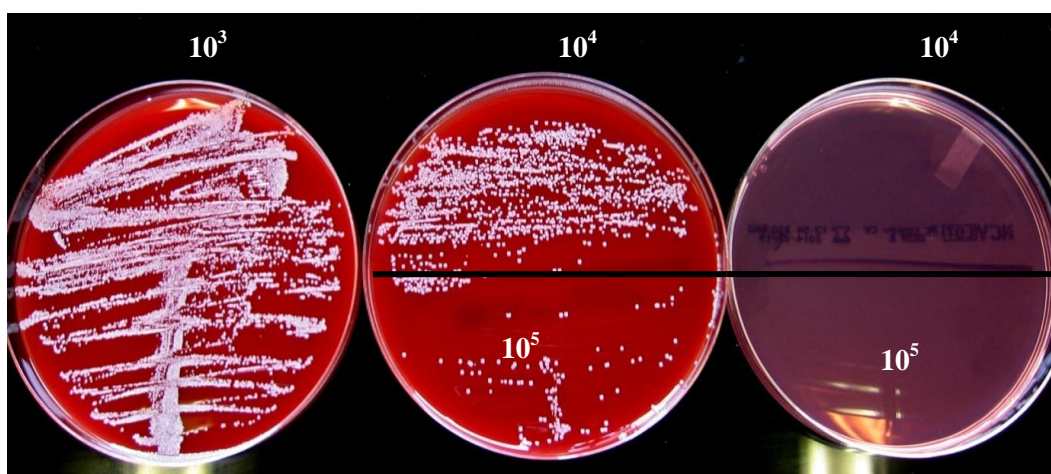
Lahvičky s médiem jsou očíslovány dle laboratorního čísla přiřazenému vzorku. Označené lahvičky po sobě jdoucími čísly, jsou vloženy do stojánku. Do lahviček je pomocí automatické pipety aplikováno 0,5 ml vzorku moče přes filtrační papír, aby došlo k odsátí přebytečné tekutiny. Po naočkování vzorku jsou lahvičky vloženy do přístroje HB&L UROQUATTRO.

Automatický přístroj HB&L UROQUATTRO vyhodnocuje vzorky moče jako negativní, pozitivní či kalné. Pokud přístroj vyhodnotí lahvičku se vzorkem moči jako negativní, vyšetření je ukončeno. Lahvička je vyjmuta z přístroje, výsledek kultivace je zapsán do LIS (laboratorní informační systém) a lahvička je vyhozena do infekčního odpadu. Při pozitivním nález, koncentrace CFU 10^3 a vyšší, je vzorek dále zpracováván. Při koncentraci 10^3 je moč vyočkována na krevní agar (CBS). Při koncentraci 10^4 až 10^8 je vzorek moči zcentrifugován (5 minut při 4000 otáčkách). Supernatant je odsán a ze sedimentu je zhotoven mikroskopický preparát barvený dle Grama. Dle hodnocení výsledku mikroskopie a indikace lékaře se vzorky vyočkují na UriSelect, CBS, a další tuhé půdy. Vzorek moče vyhodnocený jako kalný, je zpracován klasickou metodou tří ředění.

U všech pozitivních vzorků, které po inkubaci mají koncentraci 10^3 a vyšší, je změřena turbidita, takzvaný stupeň McFarlanda (McF). Poté je možno zhotovit citlivost k antibiotikům (Uživatelský manuál HB&L Uroquattro).

3.3.2 Metoda tří ředění

Principem metody je kvantitativní průkaz bakterií, způsobujících onemocnění močového ústrojí. Vzorek moči je naočkován na kultivační agarové médium CBS (krevní agar) a MCV (MacConkey agar). Jednorázovou kličkou o objemu 10 μ l je nabrán vyšetřovaný vzorek moče, který je masivně rozetřen po středu CBS, přes celou plochu, tím je vytvořena čára inokula. Stejnou kličkou je vzniklé inokulum rozetřeno kolmo po celé ploše, tj. ředění 10³/ml. Stejnou kličkou se odebere 10 μ l moče a promíchá ve zkumavce s 1 ml fyziologického roztoku. Kapka je rozetřena horizontálně po ½ agaru (CBS, MCV) stejným způsobem jako ředění 10³/ml moče, tj. ředění 10⁴/ml moče. Jednorázová klička o objemu 1 μ l je vložena do zkumavky s naředěnou močí a naočkována horizontálně po zbývající ½ agaru CBS a MCV, stejným způsobem jako ředění 10³/ml moči, tj. ředění 10⁵/ml moči (viz Obr. č. 1). Naočkované kultivační půdy jsou inkubovány 18–24 hodin při 36 \pm 1 °C v aerobní atmosféře.



Obr. č. 1: Metoda tří ředění (zleva CBS 10³/ml moči, CBS ½ 10⁴/ml moči a ½ 10⁵/ml ml moči, MCV ½ 10⁴/ml moči a ½ 10⁵/ml moči). *Staphylococcus saprophyticus* při 10⁶ CFU/ml (neroste na půdě MCV).

ředění 10^3 /ml moči	do 10 kolonií	$< 10^3$ CFU /ml moči
	více kolonií, růst pouze v tomto ředění	10^3 CFU /ml moči
ředění 10^4 /ml moči	růst pouze v tomto ředění	10^4 CFU /ml moči
ředění 10^5 /ml moči	do 10 kolonií	10^5 CFU /ml moči
	do 100 kolonií	10^6 CFU /ml moči
	> 100 kolonií	10^7 CFU /ml moči

Tabulka č. 2: Vyhodnocení kvantitativního ředění moči (pozn.: CFU – Colonia Forming Unit).

3.3.3 Mikroskopický preparát barvený dle Grama

Mikroskopický preparát zhotovený dle Grama slouží ke zjištění přítomnosti bakterií v moči. Gramovo barvení umožňuje rozdělit bakterie na základě jejich tvaru, velikosti, morfologie. Dále slouží ke zhodnocení kvality klinického vzorku, zhodnocení přítomnosti leukocytů, fagocytózy. Po obarvení jsou buňky rozlišovány na grampozitivní a gramnegativní.

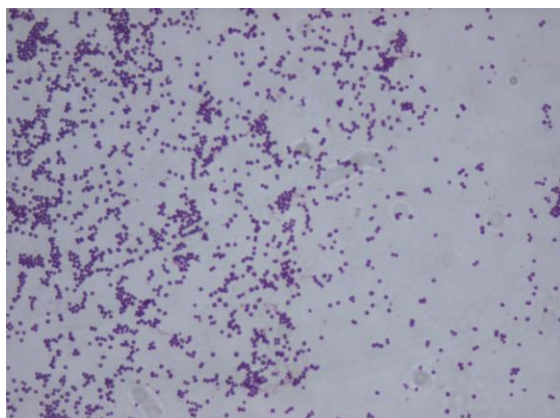
Membrána grampozitivních buněk je tvořena silnou vrstvou peptidoglykanu (základní složka buněčné stěny) a obsahuje vysoké množství teichoových kyselin. Proto je membrána odolnější vůči alkoholu a buňka si zachová modrofialové zbarvení krystalové violeti.

Membrána gramnegativních buněk je tvořena vnitřní vrstvou peptidoglykanu a vnější dvouvrstvou fosfolipidů a lipopolysacharidů. Vnější vrstva je při bujení narušena působením alkoholu a krystalová violet' je vyplavena z buněk. Červené zbarvení získávají buňky po dobarvení fuchsinem.

Kolonie z agarové půdy je sterilizovanou kovovou kličkou či jednorázovou plastovou kličkou přenesena do kapky vody a krouživým pohybem je rozetřena po podložním sklíčku a ponechána do zaschnutí. Následně je preparát fixován nad plamenem. Při zhotovení preparátu ze vzorku moči je vzorek centrifugován (při 4000 otáčkách po dobu 5 minut), odsán supernatant a sediment je přenesen na sklíčko. Po zaschnutí sedimentu na sklíčku je preparát fixován nad plamenem.

Při barvení dle Grama je nejprve sklíčko s preparátem ponořeno do krystalové violeti, po dobu 30 sekund. Následně je sklíčko převrstveno na 60 sekund Lugolovým roztokem a po uplynulé době opláchnuto pod tekoucí vodou. Dále je sklíčko ponořeno do acetonu či alkoholu, na dobu nutnou k vyplavení modrofialového zbarvení. Poté je preparát opláchnut pod tekoucí vodou a dobarven po dobu 60 sekund pomocí karbolfuchsinu. Na závěr je sklíčko omyto vodou a ponechá se osušit.

Preparát je prohlížen meandrovitě, pod imerzí s imerzním objektivem, při celkovém zvětšení 1000x (viz Obr. č. 2). U klinických vzorků je důležité zhodnotit přítomnost a množství leukocytů, erytrocytů a epiteliálních buněk. Dále se popisuje množství a morfologie mikroba, jeho uspořádání a případná přítomnost spor. Interpretace mikroskopického preparátu je při zvětšení 1000x hodnocena na kříže. Jeden kříž (+) znamená, že v zorném poli se vyskytuje 0–1 mikrobů, dva kříže (++) je 2–10 mikrobů, tři kříže (+++) je 10–100 mikrobů a čtyři kříže (++++) znamenají přítomnost více než 100 mikrobů v zorném poli (Isenberg, 2007).



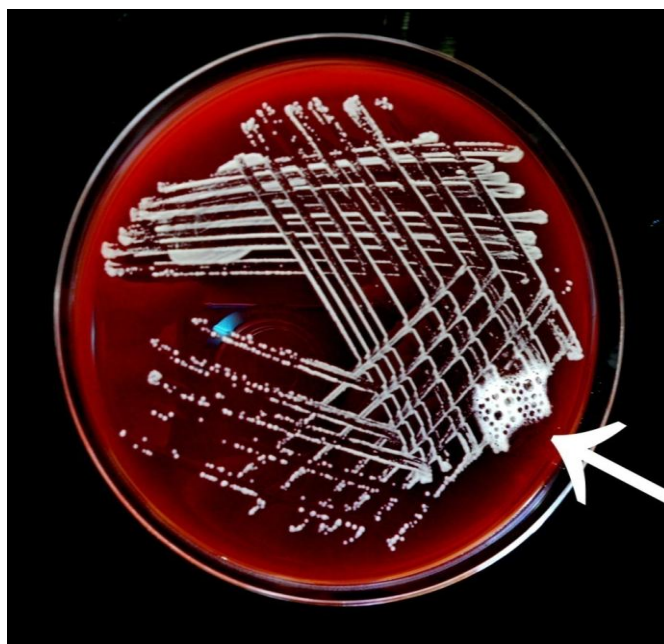
Obrázek č. 2: Mikroskopie *Staphylococcus saprophyticus* barvený dle Grama.

3.4 Identifikace

Stafylokoky se určují mikroskopicky (zhotovení preparátu) a makroskopicky (morfologie, zbarvení, velikost kolonií). Důležité jsou komerční soupravy k průkazu plasma-koagulázy a k biochemické identifikaci kmenů. V současné době se často využívá identifikace pomocí MALDI – TOF. Velký význam má i sledování rezistence k antibiotikům, na základě stanovení minimální inhibiční zóny.

3.4.1 Kataláza

Mikroorganismy, které syntetizují enzym katalázu, hydrolyzují jejím účinkem peroxid vodíku na vodu a plynný kyslík. Projevem této reakce je bublání uvolněného kyslíku. Test lze použít pro rozlišení stafylokoků, pro které je tento test pozitivní, od streptokoků a enterokoků, které katalázu neprodukují (viz Obr. č. 3).



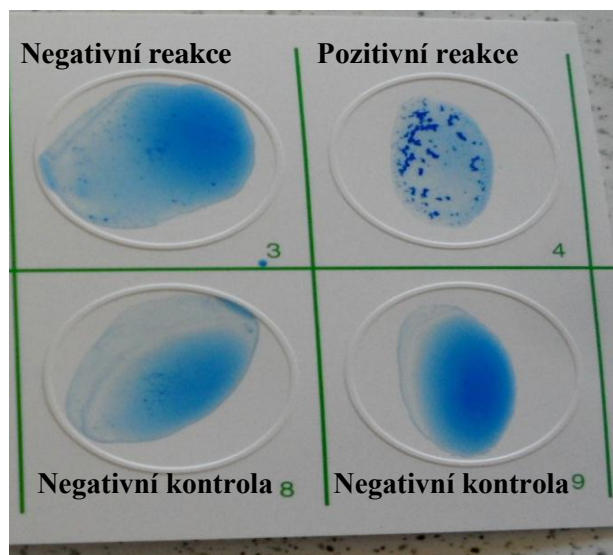
Obrázek č. 3: Katalázový test.

3.4.2 Latexová aglutinace

Aglutinační test slouží k detekci tzv. clumping faktoru (vázaná koaguláza), proteinu A a kapsulárního polysacharidu *Staphylococcus aureus*. Na latexových částicích jsou navázané specifické monoklonální protilátky a v přítomnosti homologního antigenu dochází k aglutinaci partikulí.

Při testu je doprostřed kruhu na testovací kartu kápnuta latexová suspenze (Staph Test Latex Reagent). Jednorázovou kličkou je sebrána kolonie testovaného kmene a zamíchána do kapky latexové suspenze. Kapka s testovaným kmenem je míchána po dobu 10 sekund. Suspenze je poté homogenizována jemným kývavým pohybem. Výsledek je možný odečíst do 30 sekund. Pokud do 30 sekund dojde k vytvoření aglutinátu, je test vyhodnocen jako pozitivní, a je provedena negativní kontrola (Negative Control Latex Reagent).

Pomalá a slabá aglutinace může značit nespecifickou aglutinaci. V tomto případě kmen aglutinuje s negativní kontrolou. U negativní reakce nedojde k vytvoření aglutinátu. *Staphylococcus saprophyticus* má latexovou aglutinaci negativní (viz Obr. č. 4).



Obrázek č. 4: Latexová aglutinace – vlevo negativní reakce, vpravo pozitivní reakce s tvorbou aglutinátu.

3.4.3 UriSelect

UriSelect je chromogenní kultivační médium, které je určeno ke kvantitativní a přímé identifikaci patogenů močových cest. Jsou přítomny dva chromogenní substráty pro detekci β -galaktosidázy a β -glukosidázy a tryptofan pro detekci tryptofanázové a tryptofandeaminázové aktivity.

Automatickou pipetou je nasáto médium z lahvičky a na agaru je vytvořeno inokulum. Jednorázovou kličkou je pak nanesený vzorek jedním tahem kličky rozočkován přes střed agaru. Poté je inokulum masivně rozočkováno kolmo po celém agaru. Půda je inkubována 18–24 hodin při 36 °C. Po kultivaci je hodnocena hustota kolonií a jejich zbarvení. U *Staphylococcus saprophyticus* jsou kolonie typicky růžové (viz Obr. č. 5).



Obr. č. 5: *Staphylococcus saprophyticus* vyočkovaný na médiu UriSelect 4.

3.4.4 Identifikace metodou MALDI-TOF na přístroji VITEK MS

Principem metody MALDI-TOF (Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization – Time-Of-Flight) je ionizace laserem za přítomnosti matrice a analýza doby letu. Na nosič je aplikována jednorázovou kličkou o objemu 1 μ l bakteriální kolonie

z agarového média a poté je překryta 1 µl matričního roztoku HCCA (matriční roztok s kyselinou kyanoskořicovou). Vytvořená suspenze matrice a vzorku se nechá volně zaschnout. Kromě vzorku je na nosič aplikován čerstvý kontrolní a kalibrační kmen *Escherichia coli* ATCC 8739. Nosič je poté vložen do přístroje VITEK MS, kde je podroben opakovanému působení laserového paprsku. Matrice absorbuje laserové světlo a dochází k ionizaci. Ve vakuové trubici dochází k rozdělení iontů podle hmotnosti a doby letu. Výsledky jsou zobrazeny ve formě tzv. píků, které odpovídají fragmentům původních molekul ve vzorku. Spektra jsou porovnána s databází spekter druhů bakterií a jsou nabídnuty druhy a poddruhy mikroorganismů s procentuální pravděpodobností identifikace. MALDI-TOF poskytuje rychlou, přesnou a snadnou hromadnou analýzu (Eigner et al., 2009; Uživatelská příručka VITEK MS, bioMérieux, Inc.). Při dokonalé shodě je pravděpodobnost 99 %. Za pravděpodobně správné určení lze pokládat hodnoty 60–99 %. Jakmile pravděpodobnost klesá pod 60 %, je vzorek považován za neidentifikovatelný. Pokud není jednoznačně určen jeden druh, systém nabídne seznam možných kmenů či vyhodnotí, že dané spektrum neodpovídá spektrům v databázi (viz Tab. č. 3; Obr. č. 6, Uživatelská příručka VITEK MS, bioMérieux, Inc.).

Spolehlivost identifikace	Počet kandidátů	Pravděpodobnost (%)	Poznámky
Dobrá	1	60–99,9	
Nízké rozlišení	2 – 4	< 60	Nutno určit dalšími testy
Neidentifikováno	-	-	Neodpovídá žádnému spektru v databázi

Tabulka č. 3: Spolehlivost identifikace analyzátozem VITEK MS.

3.4.5 Biochemická identifikace na přístroji VITEK 2

Identifikaci *Staphylococcus saprophyticus* lze provést i biochemickými testy laboratoři na přístroji VITEK 2. K identifikaci *S. saprophyticus* se používá výjimečně.

Laborator bakterieologie

bioMerieux Customer: Laboratory Report Printed Mar 13, 2014 14:47 CET
 System #: Printed by: david

Isolate Group: u869-1
 Bionumber: 030000017670031
 Selected Organism: *Staphylococcus saprophyticus*

Comments:			
------------------	--	--	--

Identification Information	Card: GP	Lot Number: 242270110	Expires: May 7, 2014 13:00 CEST
	Completed: Jan 13, 2014 16:17 CET	Status: Final	Analysis Time: 5.00 hours
Selected Organism	99% Probability <i>Staphylococcus saprophyticus</i>		
	Bionumber: 030000017670031	Confidence: Excellent identification	
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Analysis Messages:			
Contraindicating Typical Biopattern(s)			

Biochemical Details																	
2	AMY	-	4	PIPLC	-	5	dXYL	-	8	ADH1	+	9	BGAL	+	11	AGLU	-
13	APPA	-	14	CDEX	-	15	AspA	-	16	BGAR	-	17	AMAN	-	19	PHOS	-
20	LeuA	-	23	ProA	-	24	BGURr	-	25	AGAL	-	26	PyrA	-	27	BGUR	-
28	AlaA	-	29	TyrA	-	30	dSOR	-	31	URE	+	32	POLYB	-	37	dGAL	-
38	dRIB	+	39	ILATk	+	42	LAC	+	44	NAG	-	45	dMAL	+	46	BACI	+
47	NOVO	+	50	NC6.5	+	52	dMAN	+	53	dMNE	-	54	MBdG	-	56	PUL	-
57	dRAF	-	58	O129R	-	59	SAL	-	60	SAC	+	62	dTRE	+	63	ADH2s	-
64	OPTO	+															

Installed VITEK 2 Systems Version: 06.01
 MIC Interpretation Guideline:
 AES Parameter Set Name:

Therapeutic Interpretation Guideline:
 AES Parameter Last Modified:

Page 1 of 1

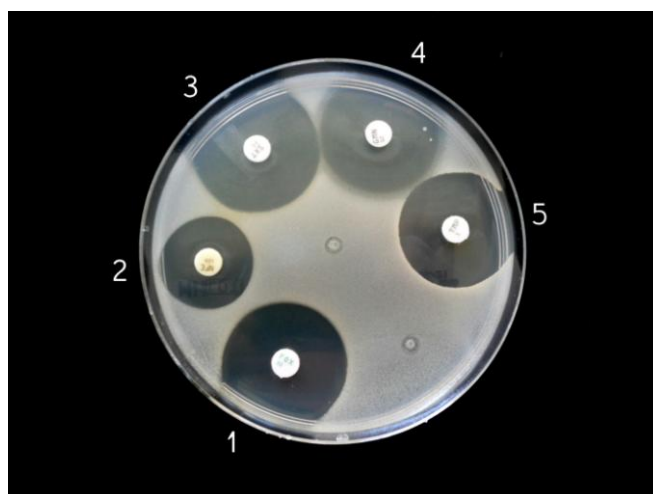
Obr. č. 6: Laboratorní zpráva z analyzátoru VITEK MS – identifikace *Staphylococcus saprophyticus* s pravděpodobností 99 %.

3.5 Antibiogram

Antibiogram je prováděn diskovým difúzním testem (DDT). Při této metodě je stanovena citlivost bakteriálních agens k antimikrobiálním látkám kvalitativní metodou.

Agarová půda (MH – Mueller-Hinton agar) a disky s antibiotiky jsou před použitím vytemperovány na pokojovou teplotu (22 °C). Z krevního agaru je pomocí jednorázové kličky odebrána kolonie a přenesena do zkumavky se sterilním fyziologickým roztokem. Suspenze je promíchána a na denzitometru je změřen zákal 0,5 McF. Suspenzí je přelita MH půda a přebytek je odsán pasteurovou pipetou. Na agar se suspenzí jsou poté položeny disky napuštěné antimikrobiálními látkami. Pro stafylokoky je na agarovou půdu vkládáno pět disků (cefoxitin, nitrofurantoin, cotrimoxazol, gentamicin a trimetoprim), (viz Obr. č. 5 na str. 30). Dle citlivosti k cefoxitinu se interpretuje citlivost k oxacilinu. Půda s antibiotickými disky je inkubována aerobně v termostatu při 36 ± 1 °C 18–24 hodin.

Během inkubace dochází k inhibici růstu citlivých bakterií a vytvoření inhibičních zón. Posuvným měřítkem jsou po inkubaci změřeny průměry inhibičních zón včetně disků. Naměřené hodnoty jsou porovnány s hraničními hodnotami stanovenými pro citlivé kmeny dle EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). Hodnoty shodné nebo vyšší poukazují, že kmen je k danému antibiotiku citlivý. V opačném případě je považován za rezistentní (Votava et al., 2010). Hraniční hodnota pro cefoxitin je 22 mm, pro nitrofurantoin 13 mm, pro cotrimoxazol 17 mm, pro gentamicin 18 mm a pro trimetoprim 17 mm.



Obr. č. 5: Antibiogram S. saprophyticus - 1.- FOX (cefoxitin), 2.- NFE (nitrofurantoin), 3.- SXT (cotrimoxazol), 4.- GMT (gentamicin), 5.- TMP (trimetoprim).

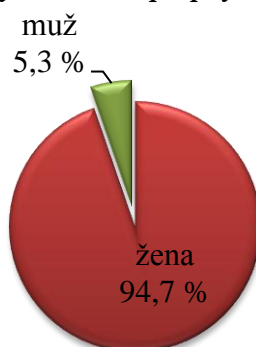
4 Výsledky

Výsledky jsou získány z laboratorního informačního systému (LIS) v Laboratoři lékařské mikrobiologie, Pracovišti bakteriologie, Nemocnice České Budějovice, a.s. Hodnoceno je statistické vyhodnocení infekcí močových cest vyvolaných *Staphylococcus saprophyticus* za období 2013 – 2014.

4.1 *Staphylococcus saprophyticus* jako původce infekce močových cest dle pohlaví za rok 2013 a 2014

Za rok 2013 byl u 114 pacientů jako původce infekce močových cest izolován *Staphylococcus saprophyticus*. Z tohoto počtu to bylo u 6 mužů (5,3 %) a 108 žen (94,7 %; viz Graf č. 1).

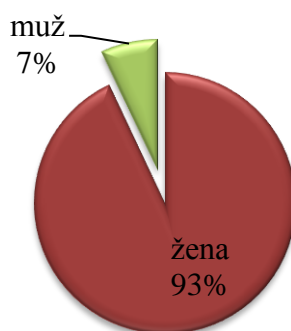
Infekce *Staphylococcus saprophyticus* dle pohlaví za rok 2013



Graf č. 1: Záchyt *Staphylococcus saprophyticus* jako etiologické agens infekce močových cest dle pohlaví za rok 2013.

Za rok 2014 byl u 143 pacientů jako původce infekce močových cest izolován *Staphylococcus saprophyticus*. Z tohoto počtu to bylo u 10 mužů (7 %) a 133 žen (93 %, viz Graf č. 2).

Infekce *Staphylococcus saprophyticus* dle pohlaví za rok 2014

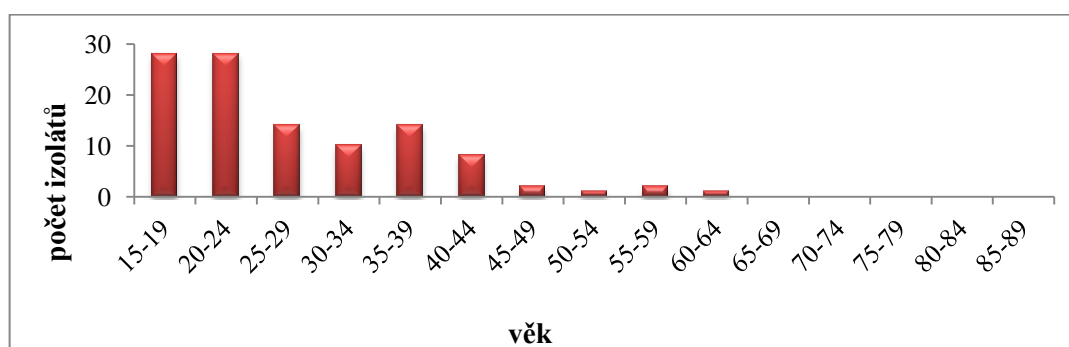


Graf č. 2. Záchyt Staphylococcus saprophyticus jako etiologické agens infekce močových cest dle pohlaví za rok 2014.

4.2 *Staphylococcus saprophyticus* jako původce infekce močových cest dle věku a pohlaví za rok 2013 a 2014

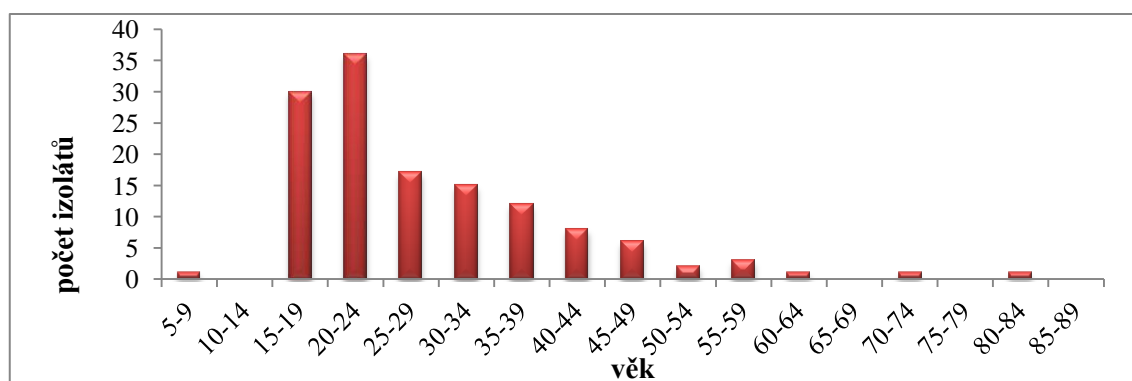
Ze sloupcového grafu je zřejmé, že infekce močových cest vyvolané *Staphylococcus saprophyticus* jsou nejčastěji identifikovány u mladých žen, a to ve věku mezi 15–24 lety (viz Graf č. 3 a 4).

Infekce *Staphylococcus saprophyticus* dle věku u žen za rok 2013



Graf č. 3: Vyhodnocení infekce močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* u žen dle věku za rok 2013.

Infekce *Staphylococcus saprophyticus* dle věku u žen za rok 2014

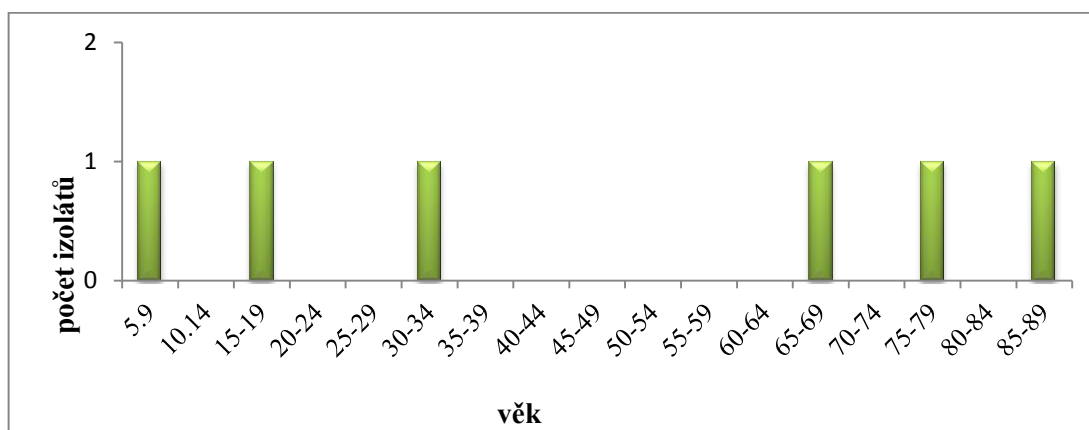


Graf č. 4: Vyhodnocení infekce močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* u žen dle věku za rok 2014.

Věkový průměr žen s infekcí močových cest etiologie *S. saprophyticus* v roce 2013 je 27 let a v roce 2014 je 28 let.

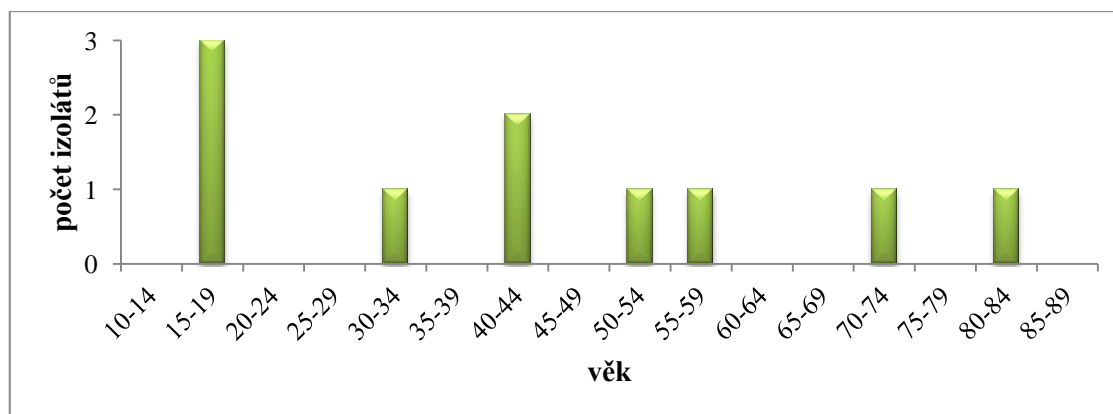
U mužů není věková distribuce tak zřejmá jako u žen, jedná se spíše o ojedinělé infekce vyvolané *S. saprophyticus* nezávisle na věku (viz graf č. 5 a 6).

Infekce *Staphylococcus saprophyticus* dle věku u mužů za rok 2013



Graf č. 5: Vyhodnocení infekce močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* u mužů za rok 2013.

Infekce *Staphylococcus saprophyticus* dle věku u mužů za rok 2014



Graf č. 6.: Vyhodnocení infekce močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* u mužů za rok 2014.

4.3 Zastoupení primárních diagnóz při infekcích močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* u mužů a žen za rok 2013 a 2014

V roce 2013, z celkového počtu 108 případů, byl *Staphylococcus saprophyticus*, jako původce infekce močových cest u žen, především při diagnóze akutní cystitidy, identifikován v 65 případech. Pouze v jednotlivých případech se jednalo o akutní tubulo-intersticiální nefritidu - 9 případů a ledvinnou koliku - 4 případy. U 6 případů byla diagnóza uvedena jako infekce močového ústrojí (viz Tab. č. 4).

Diagnóza	Počet případů
akutní cystitida	65
akutní tubulo intersticiální nefritida	9
zlomenina bederního obratle	3
ledvinná kolika	4
gastroenteritida a kolitida NS	1
infekce močového ústrojí	6
jiná a neurčitá břišní bolest	2
dysurie	2
Diabetes mellitus	1
intersticiální cystitida	1
zánět močového měchýře - cystitida	3
prohlídka	1
tubulointersticiální infekce	1
onemocnění ledvin a močovodu NS	1
cystitida NS	4
neučřitá ledvinná kolika	2
falešná porodní činnost	2
celkem	108

Tabulka č. 4: Primární diagnózy při infekcích močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* u žen.

V roce 2014, z celkového počtu 133 případů, byl *Staphylococcus saprophyticus*, jako původce infekce močových cest u žen, především při diagnóze akutní cystitidy, identifikován v 72 případech. V jednotlivých případech se jednalo o ledvinnou koliku – 10 případů, akutní tubulo-intersticiální nefritidu – 9 případů. U 9 případů byla diagnóza uvedena jako jiná neurčitá břišní bolest (viz Tab. č. 5).

Diagnóza	Počet případů
akutní cystitida	72
neurčitá ledvinná kolika	10
akutní tubulo intersticiální nefritida	9
jiná neurčitá břišní bolest	9
cystitida NS	5
dysurie	2
infekce močového ústrojí	3
těhotenství	2
zhmoždění	1
pohlavním stykem přenášené nemoci	2
meningokoková meningitida	1
snížený objem plazmy nebo extracelulární tekutiny	1
kámen močovodu	1
kámen ledvin	2
běžná lupenka	1
kýla	2
striktura uretry NS	2
vyšetření potenciálního dárce orgánů	1
onemocnění ledvin a močovodu	1
poruchy močové soustavy NS	2
akutní zánět pochvy	3
akutní infekce horních cest dýchacích	1
celkem	133

Tabulka č. 5: Primární diagnózy při infekcích močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* u žen.

U mužů byl v roce 2013 *Staphylococcus saprophyticus* identifikován jako původce infekce močových cest z celkového počtu 6 případů při akutní cystitidě ve 2 případech. V ostatních případech se jednalo o diagnózy přímo nesouvisející s infekcí močových cest (viz Tab. č. 6)

Diagnóza	Počet
akutní cystitida	2
poruchy způsobené opioidy	1
retence zadržetí moči	1
zbytnění prostaty	1
jiná a neurčitá břišní bolest	1
celkem	6

Tabulka č. 6: Primární diagnózy při infekcích močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* u mužů.

V roce 2014 byl u mužů *Staphylococcus saprophyticus* jako původce infekce močových cest z celkového počtu 10 případů identifikován při akutní cystitidě ve 3 případech. Ve 2 případech se jednalo o infekci močového ústrojí, ojedinele o zánět močového měchýře nebo kámen močovodu. V ostatních případech se jednalo o diagnózy přímo nesouvisející s infekcí močových cest (viz Tab. č. 7).

Diagnóza	Počet případů
akutní cystitida	3
infekce močového ústrojí	2
zánět močového měchýře	1
kámen močovodu	1
pyj-penis NS	1
roztroušená skleróza	1
akutní zánět nosohltanu	1
celkem	10

Tabulka č. 7: Primární diagnózy při infekcích močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* u mužů.

4.4 Distribuce oddělení a primární péče, kde byly vyšetřovány ženy při infekcích močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* za rok 2013 a 2014

V roce 2013 bylo z celkového počtu 108 případů infekcí močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* u žen 71 vzorků odebráno na oddělení urologie, 4 vzorky na oddělení gynekologie, 3 vzorky na oddělení traumatologie a 2 vzorky na dětské ambulanci. Celkem 16 vzorků bylo odebráno v rámci primární péče praktickým lékařem. Zbytek tvořily ojedinělé nálezy (viz Tab. č. 8).

Oddělení	Počet případů
urologie	71
gynekologie	4
praktický lékař	16
ARO	2
FRN	1
dětské oddělení	2
rehabilitační oddělení	1
klinická hematologie	1
traumatologie	3
infekční oddělení	1
gastro ambulance	1
interní nefrologická ambulance	1
dětská ambulance	2
infekční ambulance	1
chirurgie	1
celkem	108

Tabulka č. 8: Původ odebraných vzorků moči při infekci močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* u žen za rok 2013.

V roce 2014 bylo z celkového počtu 133 případů infekcí močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* u žen 106 vzorků odebráno na oddělení urologie, 6 vzorků na oddělení gynekologie, 5 vzorků na dětském oddělení, 4 vzorky v gastrologické ambulanci. Zbytek tvořily ojedinělé nálezy (viz Tab. č. 9).

Oddělení	Počet případů
urologie	106
dětské oddělení	5
gynekologie	6
gastro ambulance	4
chirurgie	3
infekční oddělení	3
interní nefrologická ambulance	3
traumatologie	1
plicní oddělení	1
kožní oddělení	1
celkem	133

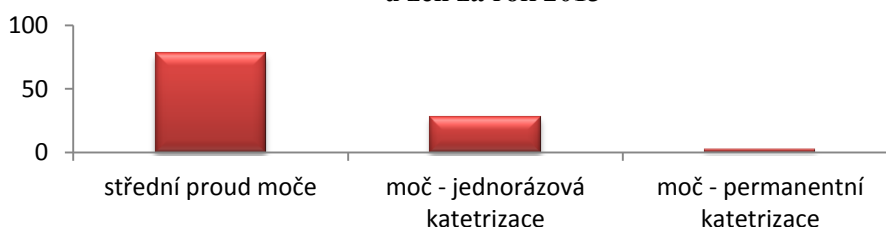
*Tabulka č. 9: Původ odebraných vzorků moči při infekci močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* u žen za rok 2014.*

Podobně jako u žen, tak i u mužů, byly nejvíce zastoupené pozitivní vzorky zaslané z oddělení urologie, za období 2013–2014.

4.5 Způsob odběru vzorků moči při infekcích močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* za rok 2013 a 2014

V roce 2013 byl z celkového počtu 108 případů infekcí močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* u žen v 78 případech odebrán střední proud moče, ve 28 případech byla provedena jednorázová katetrizace a ve 2 případech se jednalo o nález z permanentního katétru (viz Graf č. 7).

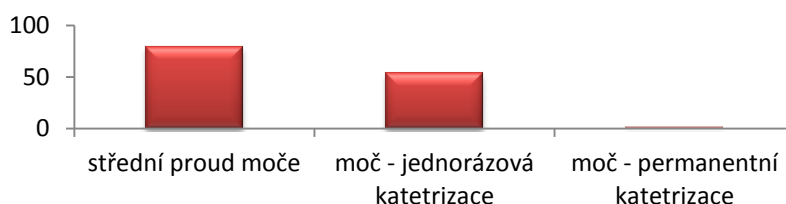
Způsob odběru vzorků moči při infekci močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* u žen za rok 2013



Graf č. 7: Způsob odběru vzorků moči u žen při infekci močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* u žen za rok 2013.

V roce 2014 byl z celkového počtu 133 případů infekcí močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* u žen v 79 případech odebrán střední proud moče, v 53 případech byla provedena jednorázová katetrizace a v 1 případě se jednalo o nález z permanentního katétru (viz Graf č. 8).

Způsob odběrů vzorku moči při infekci močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* u žen za rok 2014

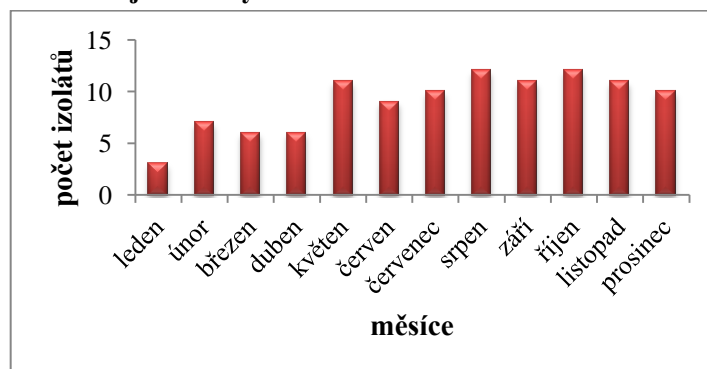


Graf č. 8: Způsob odběru vzorků moči u žen při infekci močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* u žen za rok 2014

4.6 Výskyt infekcí močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* v jednotlivých měsících roků 2013 a 2014

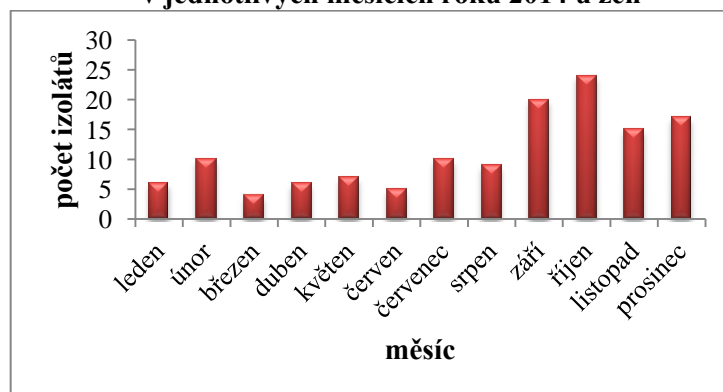
Infekce močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* byly u žen v roce 2013 nejčastěji diagnostikovány od srpna do listopadu. Nejvyšší počet infekcí močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* byl diagnostikován v říjnu – 12 záchytů, tak v říjnu 2014 – 23 záchytů (viz Graf č. 9 a 10).

Výskyt infekcí močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* v jednotlivých měsících roku 2013 u žen



Graf č. 9: Výskyt infekcí močových cest vyvolaných *Staphylococcus saprophyticus* v jednotlivých měsících za rok 2013 u žen.

Výskyt infekcí močových cest etiologie *Staphylococcus saprophyticus* v jednotlivých měsících roku 2014 u žen

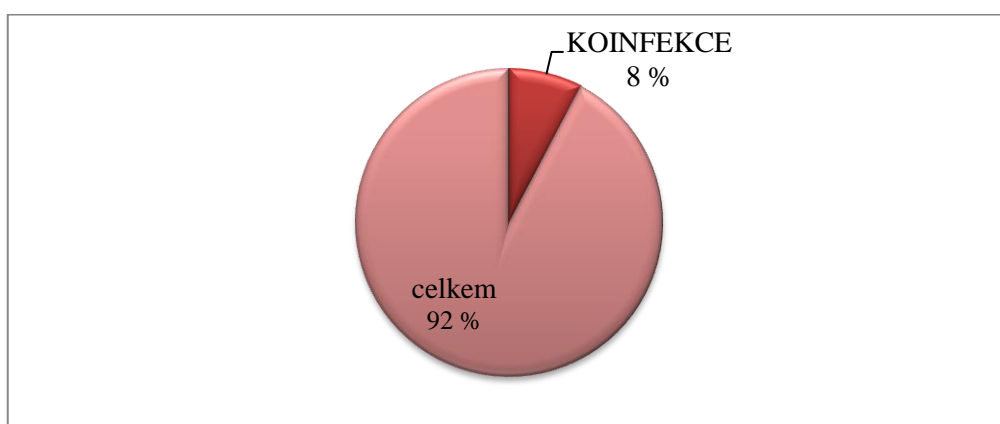


Graf č. 10. Výskyt infekcí močových cest vyvolaných *Staphylococcus saprophyticus* v jednotlivých měsících za rok 2014 u žen.

4.7 Koinfekce *S. saprophyticus* a *E. coli* za rok 2013 a 2014

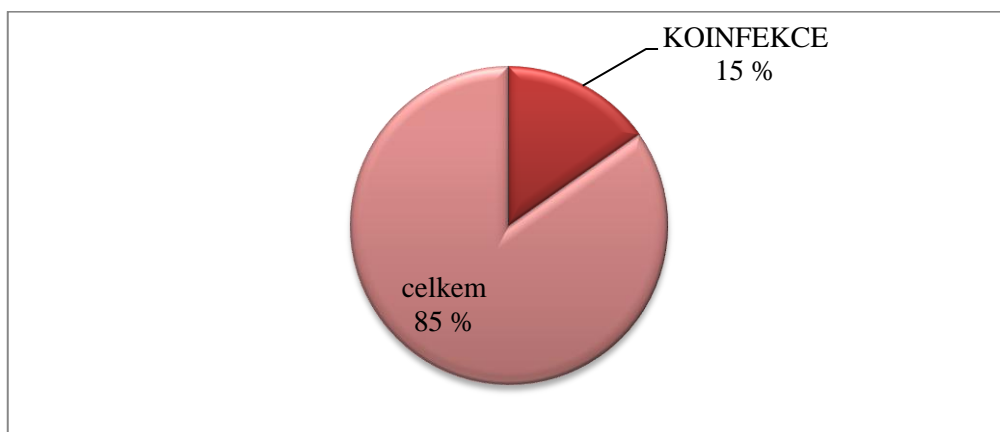
V roce 2013 byla koinfekce z celkového počtu 108 případů prokázána u 9 žen. V roce 2014 z celkového počtu 133 případů byla koinfekce u 24 žen (viz Graf č. 11 a 12). U všech pacientek byla diagnostikována akutní cystitis.

Infekce *Staphylococcus saprophyticus* a koinfekce u žen za rok 2013



Graf č. 11: Záchyt koinfekce u žen za rok 2013.

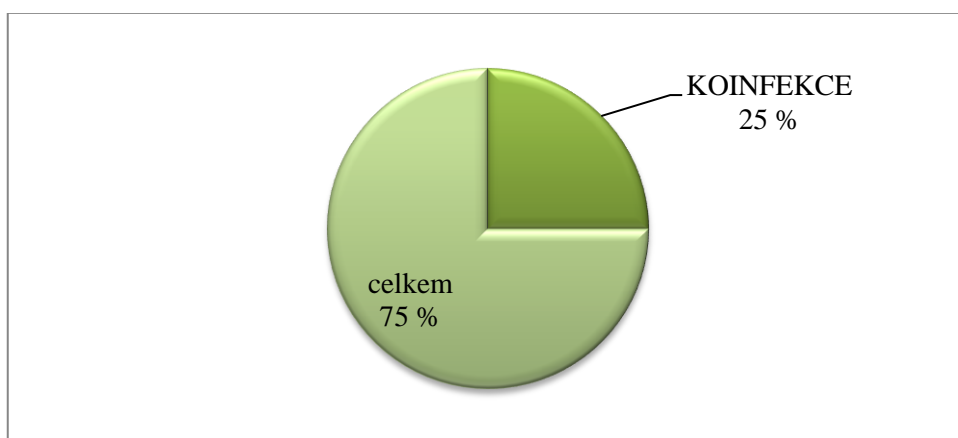
Infekce *Staphylococcus saprophyticus* a koinfekce u žen za rok 2014



Graf č. 12: Záchyt koinfekce u žen za rok 2014.

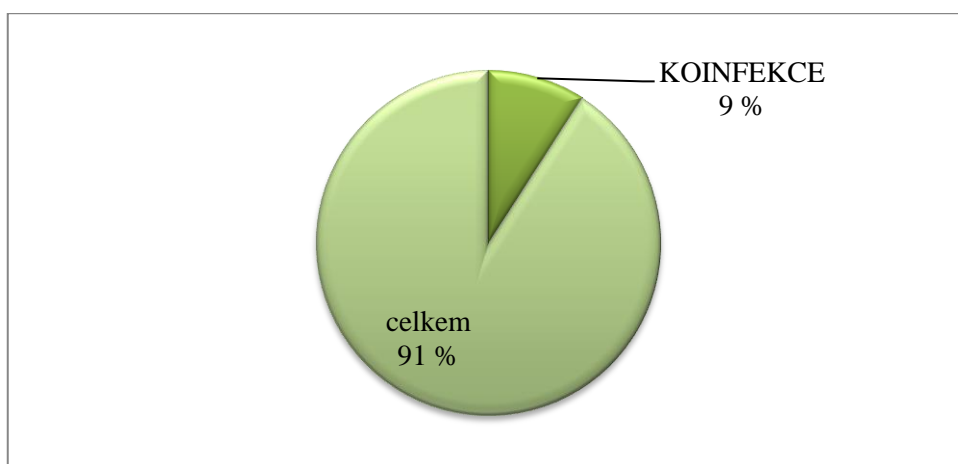
V roce 2013 byla koinfekce z celkového počtu 6 případů prokázána u 2 mužů s diagnózou zbytnění prostaty a jiná neurčitá břišní bolest. V roce 2014 z celkového počtu 10 případů byla koinfekce u 1 muže s akutní cystitidou. (viz Graf č. 13 a 14).

Infekce *Staphylococcus saprophyticus* a koinfekce u mužů za rok 2013



Graf č. 13: Záchyt koinfekce u mužů za rok 2013.

Infekce *Staphylococcus saprophyticus* a koinfekce u mužů za rok 2014



Graf č. 14: Záchyt koinfekce u mužů za rok 2014.

4.8 Stav rezistence izolátů *S. saprophyticus* k antibiotikům za rok 2013 a 2014

Všech 257 kmenů *S. saprophyticus* bylo citlivých ke všem testovaným antibiotikům (oxacilin, nitrofurantoin, gentamicin, cotrimoxazol, trimetoprim).

5. Diskuse

Cílem mé bakalářské práce bylo vyhodnotit záchyt *Staphylococcus saprophyticus* ze vzorů moče na Pracovišti bakteriologie Nemocnice České Budějovice, a.s. za období 2013-2014. Zjistit věkovou distribuci pacientů s infekcí močových cest a zjistit stav rezistence *S. saprophyticus* k antibiotikům. Podklady pro mou práci jsem získal z databáze pacientů Nemocnice České Budějovice, a.s.

První a druhou hypotézu se mi podařilo potvrdit. Podle mé studie byl *Staphylococcus saprophyticus* jako původce infekcí močových cest izolován převážně u žen. V roce 2013 bylo izolováno celkem 114 kmenů *S. saprophyticus* z toho 94,7 % kmenů bylo od žen a pouze 5,3 % od mužů. V roce 2014 bylo izolováno 143 kmenů, z toho 93 % bylo od žen a 7 % od mužů. Celkový počet pacientů s uroinfekcí vyvolanou *S. saprophyticus* za období 2013-2014 byl 257, z toho bylo 241 žen a 16 mužů. Dle mého výzkumu byl věkový průměr žen s infekcí močových cest etiologie *S. saprophyticus* v roce 2013 27 let a v roce 2014 28 let. Dle Gupty je nejčastěji *S. saprophyticus* jako etiologické agens identifikován u žen ve věku 16–25 let. Wallmark tvrdí, že k naprosté většině infekcí močových cest etiologie *S. saprophyticus* dochází u mladých sexuálně aktivních žen. Po závěru studie dle Schneidera, která byla provedena v Austrálii, vyplývá, že *S. saprophyticus* byl izolován u žen v rozmezí od třinácti do čtyřiceti let. Tato tvrzení byla potvrzena na základě statistického rozboru, který jsem prováděl, tedy že *S. saprophyticus* byl převážně identifikován u sexuálně aktivních žen v rozmezí 15–24 let.

Třetí hypotéza se nepotvrdila. Zjistil jsem několik případů koinfekce (infekce *S. saprophyticus* s *E. coli*) u žen i u mužů. Za rok 2013 byla prokázána koinfekce u 8 % žen a 25 % mužů. V roce 2014 byla prokázána koinfekce u 15 % žen a 9 % mužů. Všechny ženy měly diagnostikovanou akutní cystitidu. U mužů se jednalo o akutní cystitidu, jinou a neurčitou břišní bolest a hypertrofii prostaty. Za období 2013-2014 bylo prokázáno celkem 35 koinfekcí u žen a 3 koinfekce u mužů.

U všech 257 kmenů *S. saprophyticus* byla otestována citlivost k antibiotikům. Na nekomplikované cystitidy se často podává nitrofurantoin tzv. lék první volby. Dle Černohorské za období 2005–2009 bylo testováno celkem 87 kmenů *S. saprophyticus*. Žádný z kmenů nebyl rezistentní k nitrofurantoinu, ale byla zjištěna rezistence 20 kmenů (23 %) k oxacilinu. V mé studii nebyla zjištěna rezistence ani k oxacilinu ani k nitrofurantoinu u žádného testovaného kmene.

Z uvedených grafů č. 9 a 10 byl nejnižší záchyt *S. saprophyticus* v roce 2013 a 2014 na začátku roku. Může to však souviset s počtem vyšetření.

6. Závěr

Za roky 2013-2014 bylo na Pracovišti bakteriologie Nemocnice České Budějovice, a.s. celkem izolováno 257 kmenů *S. saprophyticus*. Z toho bylo 16 kmenů od mužů a 241 kmenů od žen. U všech kmenů *S. saprophyticus* byla provedena citlivost k antibiotikům kvalitativní metodou diskového difúzního testu. Testovala se citlivost k 5 antibiotikům (oxacilin, nitrofurantoin, cotrimoxazol, gentamicin, trimetoprim). Žádný kmen nebyl rezistentní k testovaným antibiotikům.

Za velmi spolehlivou, rychlou a přesnou metodu identifikace se považuje hmotnosti spektrofotometrie MALDI-TOF, která je schopná kmeny *S. saprophyticus* určit s přesností 99 %. Pro provedení této metody je třeba mít narostlou kulturu bakterie na CBS. Výsledek identifikace je poté možno získat během 30 minut.

V období 2013-2014 byl nejpočetnější záchyt *S. saprophyticus* u mladých žen, ve věkové kategorii 15–24 let, s diagnózou akutní cystitis. Nejvíce vzorků moče bylo zasláno z oddělení urologie, gynekologie a dětské ambulance. Nejpočetnější záchyt byl v říjnu – celkem 26 případů. Nejčastější diagnóza byla akutní cystitida – celkem 142 případů, dále akutní tubulo-intersticiální nefritida – celkem 18 případů, jiná a neurčitá břišní bolest – celkem 12 případů, a ledvinná kolika – celkem 4 případy.

Protože se *S. saprophyticus* vyskytuje převážně u mladých sexuálně aktivních žen, prevencí uroinfekcí by mohlo být používání kondomu při pohlavním styku a nedoporučuje se přehnaná hygiena pomocí kosmetických přípravků ovlivňující přirozené pH poševního prostředí. U opakujících se infekcí se stejným etiologickým agens je možné uvažovat o zhotovení autovakcíny.

7. Použitá literatura

Bartoníčková, K.: *Uroinfekce*, Praha: Galén, 2000. 79 s.

Bednář, M., Fraňková, V., Schindler, J., Souček, A., Vávra, J.: *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. 1. vyd. Trion, 1996. 596 s. ISBN-10: 80-2380-297-6.

Buchanan, R.E., Gibbons, N.E.: *Bergey's manual of determinate bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, 1974, 478-489 s.

Carey, R.B., Schuster, M.G., McGowan, K.L.: *Lékařská mikrobiologie v klinických případech*, Trion, 2011.

Černohorská, L., Votava, M.: *Staphylococcus saprophyticus – jeho rezistence k vybraným antibiotikům a tvorba biofilmu u kmenů izolovaných z moče*. Epidemiol. Mikrobiol. Imunol. 52, 2010, č. 2, s. 88-91.

Dostupné z www: http://www.androgeos.cz/cs_CZ/vysetreni-moce-a-sekretu
[cit. 2015-03-13].

Dostupné z www: <http://www.prakticka-medicina.cz> [cit. 2015-03-14]
[<http://www.urologiepropraxi.cz/pdfs/uro/2001/03/12.pdf>].

Eigner, U. et al.: *Performance of a matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-light mass spectrometry system for the identification of bacterial isolates in the clinical routine laboratory*. Clin. Lab., 2009, roč. 55(7-8), s. 298-96.

Fleischmann, J., Linc, R.: *Anatomie člověka II*, Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1964. 273 s.

Garrity, G.M., Bell, J.A., Lilburn, T.G. 2004. *Taxonomic Outline of the Prokaryotes. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd Edition, Release 5.0., Springer-Verlag, New York., May 2004: 1-399. [DOI: 10.1007/bergeysoutline200405] [online].

Gupta, K., Hooton, T.M., Wobble, C.L., Stamm, W.E.: *The prevalence of antimicrobial resistance among uropathogens causing acute uncomplicated cystitis in young women.* Int J Antimicrob Agents., 1999, 11:305-8.

Havránek, J.: *Některé aspekty v diagnostice a léčbě akutní pyelonefritidy.* Pediatrie pro praxi, 2006. 205-206.

Hovelius, B.S., Colleen, S., Mardh, P.A.: *Urinary tract infections in men caused by Staphylococcus saprophyticus.* Scand J. Infect Dis., 1984, 16:37-41.

Hovelius, B.S., Mardh, P.A., Bygren, P.: *Urinary tract infections caused by Staphylococcus saprophyticus: recurrences and complications.* J. Urol., 1979, 233:645-7.

Kauffman, C.A., Hertz, C.S., Sheagren, J.N.: *Staphylococcus saprophyticus: role in urinary tract infections in men.* J. Urol., 1983, 130:493-4.

Kerr, H.: *Urinary tract infection caused by Micrococcus subgroup 3.* J. Clin. Pathol., 1973, 26:918-920.

Marrie, T.J., Kwan, C.: *Antimicrobial susceptibility of Staphylococcus saprophyticus and urethral staphylococci.* Antimicrob. Agents Chemother., 1982, 22:395-397.

Meers, P.D., Whyte, W., Sandys, G.: *Coagulase-negative staphylococci and mircococci in urinary tract infections.* J. Clin. Pathol., 1976, 28:270-273.

Nicolle, L.E., Hoban, S.A., Harding, G.K.: *Characterization of coagulase-negative staphylococci from urinary tract specimens.* J. Clin. Microbiol., 1983, 17:267-71.

Pačes, V.: *Urologie.* 1. vyd. Avicenum, 1979. 364 s.

Petřáš, P.: *Čtyři nové druhy v rodu Staphylococcus popsané v roce 2010.* Zprávy CEM (SZÚ, Praha), 2010. 19(11): 334-337 s.

Raz, R., Merzbach, D., Sobel, J., Finkelstein, R.: *Absence of Staphylococcus saprophyticus in urinary tract infections in Israel.* Irs J. Med. Sci., 1983, 19:566-7.

Scharfen, J. ml.: *Diferenciální diagnostika v klinické mikrobiologii*. 1. vyd. Praha: Nucleus HK, 2013. 223 s. ISBN 978-808-7009-321.

Schneider, P.F., Riley, T.V.: *Staphylococcus saprophyticus urinary tract infections: epidemiological data from Western Australia*. Eur J Pediatr., 1993, 12:51-4.

SOP – Standardní operační postupy pro Oddělení lékařské mikrobiologie v Nemocnici České Budějovice, a.s.

Tolaymat, A., Al-Jayousi, Z.: *Staphylococcus saprophyticus urinary-tract infection in male children*. Child. Nephrol. Urol., 1991, 11:100-2.

Torres Pereira A., *Coagulase-negative strains of staphylococcus possessinf antigen 51 as agents of urinary infection*. J. Clin. Pathol., 1962, 15:252-3.

Vijaranakul, U., Nadakavukaren, M.J., Bayles, D.O., Wilkinson, B.J., Jayaswal, R.K.: *Characterization of an NaCl-sensitive Staphylococcus aureus mutant and rescue of the NaCl-sensitive phenotype by glycine betaine but not by other compatible solutes*. Appl. Environ. Microbiol., 1997, 63:1889-1897.

Votava, M. a kol.: *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1. vyd. Brno: Neptun, 2003. 495 s. ISBN 80-902-8966-5.

Votava, M. a kol.: *Lékařská mikrobiologie: Vyšetřovací metody*. 1. vyd. Brno: Neptun, 2010. 495 s. ISBN 987-80-86850.

Wallmark, G., Arremark, I., Telander, B.: *Staphylococcus saprophyticus: a frequent cause of acute urinary tract infection among female outpatients*. J. Infect Dis. 1978, 138:791-7.