



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

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

Pseudomonas aeruginosa jako původce močových
infekcí

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program: LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Autor: Jakub Žáček

Vedoucí práce: MVDr. Zuzana Lapáčková

České Budějovice 2024

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem „*Pseudomonas aeruginosa* jako původce močových infekcí“ jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

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

V Českých Budějovicích dne 4. 4. 2024

.....

Podpis

Poděkování

Děkuji vedoucí bakalářské práce MVDr. Zuzaně Lapáčkové za cenné rady, připomínky, vstřícný přístup a metodické vedení mé práce. Mé poděkování patří také celému kolektivu sekce mikrobiologie laboratoře Synlab České Budějovice, za spolupráci a odborné rady pro praktickou část mé bakalářské práce. Na závěr bych chtěl poděkovat mé rodině za podporu při psaní bakalářské práce a při studiu samotném.

***Pseudomonas aeruginosa* jako původce močových infekcí**

Abstrakt

Hlavním cílem této bakalářské práce je seznámení se s problematikou diagnostiky bakteriálních močových infekcí, se zaměřením na bakterii *Pseudomonas aeruginosa*. Tato bakterie má schopnost kolonizovat močové cesty především u imunokompromitovaných pacientů. Často se vyskytuje ve zdravotnických zařízeních, kde jako nozokomiální patogen může kontaminovat močové katétry a tím způsobovat močové infekce.

V teoretické části bakalářské práce jsou především obsaženy informace o stavbě vylučovací soustavy, o bakteriálních močových infekcích, zaměřených především na cesty šíření infekce, klasifikaci diagnóz a typy infekcí. Dále je krátká kapitola věnována rodu *Pseudomonas* a následná kapitola je věnována samotné bakterii *Pseudomonas aeruginosa*.

V metodické části jsou popsány nejčastější možnosti odběru moči, její transport a příjem do laboratoře. Dále je popsán předkultivační screening, samotné možnosti bakteriální kultivace moči, identifikační metody založené na biochemických vlastnostech bakterií a metoda MALDI-TOF. V závěru metodiky je také popsána disková difuzní metoda sloužící ke stanovení citlivosti bakterií k antimikrobiálním látkám.

Výsledky získaných dat z laboratorního informačního systému laboratoře Synlab České Budějovice za tříměsíční období listopadu a prosince roku 2023 a ledna roku 2024, jsou statisticky vyhodnoceny, graficky znázorněny a následně porovnány s odbornou literaturou a jinými akademickými texty.

Klíčová slova

Pseudomonas aeruginosa; močové infekce; moč; bakterie; kultivace

***Pseudomonas aeruginosa* as causative agent of urinary infections**

Abstract

The main aim of this bachelor's thesis is to familiarize with the issue of diagnosing bacterial urinary tract infections, focusing on the bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. This bacterium has the ability to colonize the urinary tract, especially in immunocompromised patients. It is often found in healthcare facilities, where it can contaminate urinary catheters as a nosocomial pathogen, thereby causing urinary infections.

The theoretical part of the bachelor's thesis primarily contains information about the structure of the excretory system, bacterial urinary tract infections, focusing mainly on the pathways of infection, diagnosis classification, and types of infections. Furthermore, a brief chapter is dedicated to the genus *Pseudomonas*, followed by a chapter specifically addressing the bacterium *Pseudomonas aeruginosa*.

In the methodological section, the most common methods of urine collection, its transportation, and receipt in the laboratory are described. Additionally, pre-cultivation screening is discussed, along with the possibilities of bacterial urine cultivation, identification methods based on the biochemical properties of bacteria and the MALDI TOF method is also described. The methodology concludes with a description of the disc diffusion method used to determine bacterial sensitivity to antimicrobial substances.

The results obtained from the laboratory information system of Synlab České Budějovice over a three-month period from November and December 2023 to January 2024 are statistically evaluated, graphically represented, and subsequently compared with specialized literature and other academic texts.

Key words

Pseudomonas aeruginosa; urinary infections; urine; bacteria; cultivation

Obsah

1	Vylučovací soustava.....	10
1.1	Ledviny	10
1.2	Horní močové cesty	11
1.2.1	Ledvinové kalichy.....	11
1.2.2	Ledvinová pánvička.....	12
1.2.3	Močovod	12
1.3	Dolní močové cesty	12
1.3.1	Močový měchýř	12
1.3.2	Močová trubice	13
	Ženská močová trubice	13
	Mužská močová trubice	13
2	Bakteriální močové infekce.....	14
2.1	Charakteristika	14
2.2	Cesty šíření infekce.....	14
2.3	Klasifikace diagnóz.....	15
2.3.1	Asymptomatická bakteriurie.....	15
2.3.2	Akutní cystitida nekomplikovaná	15
2.3.3	Akutní cystitida komplikovaná	16
2.3.4	Akutní uretritida u mužů negonokoková	17
2.3.5	Prostatitida	17
2.3.6	Akutní epididymitida	18
2.3.7	Akutní nekomplikovaná pyelonefritida	19
2.3.8	Recidivující pyelonefritida	19
2.4	Typy infekcí.....	20
2.4.1	Komunitní močové infekce.....	20
2.4.2	Nozokomiální močové infekce	20
3	Rod <i>Pseudomonas</i>	22
4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23
4.1	Charakteristika	23
4.2	Morfologie a vnější stavba.....	23
4.2.1	Lipopolysacharidy	24
4.2.2	Flagellum	24
4.2.3	Pili.....	24

4.2.4	Proteiny vnější membrány	24
4.3	Quorum sensing	24
4.4	Extracelulární produkty	25
4.4.1	Exotoxiny	25
	Exotoxin A	25
	Fosfolipáza C	25
	Proteázy	25
	Hemolysiny	26
4.4.2	Pyocyanin.....	26
4.4.3	Pyoverdin	26
4.4.4	Rhamnolipidy.....	26
4.4.5	Sekreční systém 3. typu	27
4.5	Biofilm	27
4.6	Adherence	28
4.7	Motilita.....	28
4.8	Rezistence k antimikrobiálním látkám	29
4.9	Terapie	29
5	Cíle bakalářské práce.....	31
6	Metodika.....	32
6.1	Odběr biologického materiálu	32
6.1.1	Samoodběr	32
	Odběr do sterilní zkumavky.....	32
	Odběrová sada Uricult	32
6.1.2	Odběr z močového katetru.....	33
6.2	Transport.....	33
6.3	Příjem vzorku.....	33
6.4	Předkultivační screening.....	34
6.5	Zpracování primokultur pomocí kultivace	35
6.5.1	UriSelect TM 4	35
6.5.2	Krevní agar	36
6.6	Identifikace bakteriálních kolonií a identifikační testy.....	37
6.6.1	MALDI-TOF od firmy BRUKER	38
6.6.2	Identifikace dle biochemických vlastností.....	40
	Endova půda s biochemickým klínem	40

API® 20 NE.....	42
6.7 Stanovení citlivosti bakterií vůči ATB diskovou difúzní metodou	44
7 Výsledky	46
7.1 Četnost výskytu bakteriálních močových infekcí ve sledovaném období.....	46
7.2 Četnost výskytu <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ve sledovaném období	48
7.3 Poměr počtu mužů a žen s pozitivním nálezem <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ...	49
7.4 Detekce <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dle věku	50
7.5 Porovnání výskytu PSAE mezi pacienty ambulantní a lůžkové péče	51
8 Diskuse.....	53
9 Závěr.....	55
10 Zdroje	57
11 Seznam obrázků a tabulek.....	61
12 Seznam použitých zkratk	62
13 Terminologický slovník.....	64

Úvod

Bakteriální močové infekce se řadí mezi jedny z velmi častých infekcí, jak u žen, tak i u mužů. Mohou postihovat různé části močového traktu zahrnující dolní i horní močové cesty.

Jedním z původců bakteriálních močových infekcí je *Pseudomonas aeruginosa*, která se řadí mezi pohyblivé aerobní gramnegativní (v Gramově barvení barvící se negativně) tyčky. Infekce způsobované bakterií *Pseudomonas aeruginosa* jsou typické pro zařízení jako jsou léčebny dlouhodobě nemocných, nemocnice či domovy pro seniory, tedy zařízení, kde jsou pacienti upoutáni na lůžko či mají zavedený močový katétr. Pomocí biofilmu jsou schopny kolonizovat katétrů a tím způsobovat vážné infekce močových cest. Díky produkci široké škály extracelulárních produktů se *Pseudomonas aeruginosa* řadí k vysoce rezistentním až multirezistentním druhům bakterií. Správný a rychlý průkaz přítomnosti *Pseudomonas aeruginosa* v moči a následné určení rezistence vůči antibiotickým přípravkům, jsou nezbytné pro zvolení rychlé a adekvátní léčby pacienta. Samotný průkaz je pak nejčastěji prováděn pomocí bakteriální kultivace moči na vhodná kultivační média.

Výsledná práce by měla přispět k včasné diagnostice močových infekcí způsobovaných bakterií *Pseudomonas aeruginosa* a k verifikaci doposud používaných metod diagnostiky.

1 Vylučovací soustava

V tělních buňkách dochází během metabolických procesů ke vzniku odpadních produktů látkové přeměny. Pomocí vylučovací soustavy dochází k odstranění odpadních produktů z lidského těla. Dále zajišťuje stálost objemu tekutin v těle, jejich správnou koncentraci a chemické složení (Parker, 2016). Dalo by se tedy shrnout, že hlavní funkcí vylučovací soustavy je udržení homeostázy v organismu (Dylevský, 2009).

Vylučovací soustava se sestává z ledvin a horních a dolních močových cest (Fiala et al, 2015)

1.1 Ledviny

Ledviny jsou párové orgány uloženy v retroperitoneálním prostoru. Mají tvar oploštělého bobu dlouhého asi 12 cm, širokého 6 cm a tloušťce 3 cm. Z vnitřního okraje (hilu) vystupují močové cesty, cévy a nervy. Dle stavby je ledvina složena z kůry a dřene. Dřeň je rozdělena na 6-15 pyramid, jejichž báze jsou přivráceny ke kůře a jejich vrcholy (papily) směřují k hilu. Na vrcholech se nachází ústí sběracích kanálků a ty jsou obemykány ledvinovými kalichy. Dřeňové pyramidy společně s pásky kůry utvářejí ledvinové laloky (Dylevský, 2009).

V kůře se nachází funkční uropoetické jednotky zvané nefrony. V každé ledvině se nachází více než 1 milion nefronů (Fiala et al, 2015). Samotný nefron se pak skládá z Malpighiho tělíska, proximálního kanálku, Henleovy kličky a distálního kanálku. Malpighiho tělísko je utvořeno z trsu kapilárních kliček: klubička (glomerulu) a dvoulistého Bowmanova pouzdra. Ze štěrbin mezi listy pouzdra vychází proximální kanálek. Krev do glomerulu je přiváděna přívodními tepénkami a odváděna z nich, po průtoku glomerulem, odvodními tepénkami (Dylevský, 2009)

V Malpighiho tělísku dochází k filtraci krevní plazmy a tím se zde tvoří primární moč. V proximálním kanálku dochází ke zpětnému vstřebání primární moči filtrací. Do buněk kanálku a následně do krevních kapilár je vstřebáván sodík a difunduje i močovina. Dále se zde vstřebávají látky jako glukóza, aminokyseliny a další malé molekuly. Moč dále postupuje Henleovou kličkou do distálního kanálku, kde opět dochází ke zpětné resorpci tekutin a okyselení moče (Dylevský, 2009)

Moč dále putuje do sběracího kanálku, který vstupuje do dřeně ledvin. Ve sběracím kanálku ještě dochází k mírné úpravě kyselosti moči. Jeden sběrací kanálek je napojen na 5-10 nefronů. Sběrací kanálky směřují k vrcholu dřeňových pyramid, kde ústí do ledvinového kalichu (Dylevský, 2009).

1.2 Horní močové cesty

Horní močové cesty se skládají z ledvinových kalichů, ledvinové pánvičky a močovodů. Tyto 3 části vylučovací soustavy mají stejnou základní stavbu stěny: sliznice, svalovina, vazivová vrstva (Dylevský, 2009).

Sliznice je tvořena přechodným epitelem, jehož buňky jsou velmi plastické. Když jsou močové cesty prázdné, mají až kulovitý tvar. Při průtoku moči močovými cestami se vrstva epitelu oplošťuje a je podobná dlaždicovému epitelu. Funkce přechodného epitelu je především výstelková, nicméně nelze opomenout i funkci bariéry, kdy přechodný epitel zabraňuje oboustrannému průniku vody a solí mezi horními močovými cestami a sousedícími tkáněmi (Dylevský, 2009).

Svalovina horních močových cest se řadí k hladké svalovině, která je velmi hojně prostoupena elastickými vlákny (Dylevský, 2009).

Vazivová vrstva ledvinových kalichů a ledvinové pánvičky navazuje na řídké vazivo v hilu ledviny a na tukový polštář ledviny. U močovodů je vazivová vrstva součástí vaziva v retroperitoneálním prostoru pánevního vaziva, kdy vazivová vrstva fixuje močovody a udržuje je ve stejné poloze (Dylevský, 2009).

1.2.1 Ledvinové kalichy

Ledvinové kalichy tvoří první úsek vývodných močových cest. Nasedají na ledvinové bradavky a jsou pevně spojeny ledvinovým vazivem. Svalovina kalichů utváří slabší svěrač kolem vrcholu papily (Dylevský, 2009). Ledvinové kalichy lze dělit na menší (*minores*) a větší (*majores*). Menší ledvinové kalichy obemykají renální papily v počtu 7-12. Větší ledvinové kalichy pak vznikají spojením menších kalichů v počtu 2-3 (Fiala et al, 2015).

1.2.2 Ledvinová pánvička

Ledvinová pánvička tvořena spojením ledvinových kalichů. Tvarově odpovídá oploštělé nálevce přecházející do trubice močovodu. Kapacita ledvinové pánvičky se pohybuje kolem 6 až 8 ml (Dylevský, 2009).

1.2.3 Močovod

Močovod začíná na vnitřním okraji ledvinové pánvičky a končí vývodem do močového měchýře (Dylevský, 2009). Jeho délka se pohybuje mezi 25 až 35 cm a v průměru měří 4 až 6 mm. Sliznice je utvářena do podélných řas a je kryta urotelem. V močovodu se nachází 3 fyziologická zúžení: na přechodu pánvičky v močovod, v místě křížení s pánevní tepnou a při průchodu stěnou močového měchýře (Fiala et al, 2015).

Funkce spočívá především v transportu moči pomocí peristaltických vln z ledvinové pánvičky do močového měchýře (Fiala et al, 2015).

1.3 Dolní močové cesty

Mezi dolní močové cesty se řadí močový měchýř a močová trubice, která má rozdílnou anatomickou strukturu u žen a mužů (Fiala et al, 2015).

1.3.1 Močový měchýř

Močový měchýř je dutý orgán, sloužící jako rezervoár moči (Dylevský, 2009). Normální kapacita se pohybuje mezi 250 až 300 ml moče. Močový měchýř uložen v malé pánvi za stydkou sponou. Části močového měchýře rozlišujeme na vrchol, tělo a bázi. Část měchýře kolem močové trubice se nazývá hrdlo (Fiala et al, 2015).

Na vnitřní straně močového měchýře tvoří ústí močovodů a vývod močové trubice trojúhelník, pro nějž je typická hladká sliznice bez submukózy. Mezi ústími močovodů je příčná řasa. Ve zbylých částech močového měchýře je sliznice kryta urotelem uspořádaným v řasy, které mizí při naplnění močového měchýře. Pod urotelem se nachází submukóza (Fiala et al, 2015).

Hladká svalovina má 3 vrstvy: vnitřní podélná, střední cirkulární a zevní podélná. Slouží k vyprazdňování měchýře. Hladká svalovina tvoří smyčku kolem hrdla močového měchýře, která plní funkci svěrače. Tělo měchýře je kryto adventicií (Fiala et al, 2015).

Konečná část močovodu probíhá stěnou měchýře našikmo, čímž se uplatňuje mechanismus zabránění refluxu moče. Při kontrakci močového měchýře je konečná část močovodu stlačena. U vrozených vad ústí močovodu, dochází k refluxu moči, s nímž jsou spojeny časté infekce horních močových cest (Fiala et al, 2015).

1.3.2 Močová trubice

1.3.2.1 Ženská močová trubice

Ženská močová trubice je dlouhá 3 až 4 cm a začíná v močovém měchýři. Z močového měchýře prochází skrze svaly pánevního dna a vystupuje v poševní předsíni. Močová trubice je vystlána přechodným epitelem. Při průchodu pánevním dnem je kolem močové trubice svěrač, tvořený z příčně pruhované svaloviny, který je inervován míšními nervy a tedy ovládán vůlí (Fiala et al, 2015).

1.3.2.2 Mužská močová trubice

Mužská močová trubice je dlouhá 18 až 22 cm. Stejně jako u ženy začíná v močovém měchýři. Dále prochází prostatou, kde se močová trubice mírně rozšiřuje a na její zadní straně je výběžek, po jehož stranách jsou ústí ejakulačního vývodu a ústí prostatických žlázek. Po prostatě prochází močová trubice svalovinou dna pánevního a je zde, stejně jako u ženy, vůlí ovladatelný svěrač. Dále vstupuje do spongiozního tělesa penisu, kudy prochází až do ústí na žaludu. Před samotným ústím se v rozšířené části močové trubice nachází řasa, která může působit potíže při zavádění močového katétru. Za fyziologického stavu je ústí mužské močové trubice nejužší částí (Fiala et al, 2015).

2 Bakteriální močové infekce

Močové infekce, také označovány jako IMC, jsou v dnešní době druhým typem nejčastěji vyskytujících se bakteriálních infekcí, hned po infekcích respiračního traktu. Močové infekce se vyskytují jak u žen, tak i u mužů. Prevalence výskytu u žen je 30x vyšší než u mužů z důvodu snazšího ascendentního šíření skrze krátkou uretru s kolonizovaným okolím střevní a poševní mikroflórou. Více než polovinu žen, alespoň jednou za život, postihne symptomatická infekce močových cest. S přibývajícím věkem se výskyt močových infekcí dorovnává i u mužského pohlaví (Hora, 2021).

2.1 Charakteristika

Charakteristika IMC spočívá v bakteriální kolonizaci epitelu sliznic močového ústrojí, pomnožováním v 1 či více částech močového traktu a i riziko následku proniknutí do tkání močové soustavy, okolí a krve (Bartoníčková et al., 2006).

Vznik bakteriální močové infekce je závislý na virulentnosti bakteriálního kmene a zároveň na obranných mechanismech a rizikových faktorech ze strany hostitele. U IMC je vždy zásadní nález signifikantní bakteriurie v moči. Pouhý výskyt pyurie není podmiňující pro bakteriální infekci, jelikož výskyt pyurie může být způsoben i jinými příčinami než bakteriálními (Bartoníčková et al., 2006).

IMC lze dělit dle průběhu na infekce dolních močových cest, tedy cystitidu a uretrocystitidu, a na infekce horních močových cest– pyelonefritida (Hora, 2021).

U mužů močové infekce také souvisí s pohlavním ústrojím– prostatitida, orchitida, epididymitida (Rozsypal, 2015).

2.2 Cesty šíření infekce

Existuje několik typů cest šíření bakteriálních infekcí v močových cestách. Mezi základní se považují cesta ascendentní, hematogenní a lymfogenní. Zvláštním typem je pak šíření *per continuitatem*, tzv. přímé šíření, kdy se infekce šíří například píštělí či prorůstajícím sekundárně infikovaným nádorem (Hora, 2021)

Ascendentní přenos, je typický pro ženy, díky krátké močové trubici a kolonizaci bakterií okolního prostředí. Vstup infekce pak také bývá umocněn sexuálním stykem či nedostatečnou hygienou genitálu. Infekce horních močových cest je následně způsobena

refluxem infikované moči z močového měchýře skrze močovod až do ledviny, kdy vždy záleží na virulentnosti bakteriálního kmene. U mužů nebývá ascendentní šíření, tak běžné díky anatomické struktuře a délce močové trubice (Hora, 2021).

Hematogenní šíření je typické pro vysoce virulentní kmeny bakterií, nebo u výrazně imunosuprimovaných jedinců. V obou případech se jedná o velmi závažné průběhy infekcí, stejně jako u lymfogenní cest šíření, která je sice vzácná, nicméně může vznikat při těžkých střevních zánětech anebo u retroperitoneálních abscesů (Hora, 2021).

2.3 Klasifikace diagnóz

2.3.1 Asymptomatická bakteriurie

Jako asymptomatická bakteriurie se označuje stav, kdy je ve vzorku moči prokázána signifikantní bakteriurie, tedy 10^5 a více bakterií v 1 ml moči středního proudu dvakrát v odstupu 24 hodin. Dále je charakterizována absencí klinických příznaků a leukocyturií či pyurií (Bartoničková et al., 2006).

Asymptomatická bakteriurie je obvyklá u dívek školního věku, ale samotná kolonizace patogeny nevyvolá u mladších jedinců imunitní ani zánětlivou reakci. Na druhou stranu, u pacientů staršího věku je typická přítomnost imunitní reakce. O reakci svědčí přítomná pyurie, výskyt vysokých hladin močových a plasmatických koncentrací protilátek proti infekčním patogenům a výskyt cytokinů. Většina pacientů s ABU pochází z oddělení akutní medicíny, lůžkových oddělení a léčených dlouhodobě nemocných, kde má cca 5 % pacientů permanentně zavedený močový katetr a tudíž prakticky setrvalou bakteriurii (Teplan, 2004).

U nespolupracujících pacientů nelze ve většině případů odebrat vzorek střední moči a tím vyloučit kontaminaci vzorku. V dnešní době se u těchto pacientů doporučuje provést suprapubickou punkci, nicméně v realitě se skoro neprovádí a je nahrazena jednorázovým vycévkováním. Při výskytu ABU se neindikuje léčba antibiotiky, kdy jedinou výjimku tvoří gravidní ženy, u kterých může docházet v důsledku neléčené ABU k pyelonefritidě (Bartoničková et al., 2006).

2.3.2 Akutní cystitida nekomplikovaná

Nekomplikovaný akutní zánět močového měchýře se nejčastěji vyskytuje u pacientů, kteří nemají žádné či minimální predispoziční faktory (Bartoničková et al., 2006).

Onemocnění je typické pro dospělé ženy, kterým jsou imunokompetentní, nemají žádná přidružená onemocnění ani abnormality močového traktu, nejsou těhotné a neprošly menopauzou. Mezi typické příznaky se řadí dysurie a polakisurie, v některých případech se také vyskytuje hematurie (Colgan, 2011).

V mnoha případech je nutno zahájit empirickou léčbu, tedy antibiotickou léčbu ještě před zjištěním výsledků laboratorního vyšetření. Výsledek laboratorního kultivačního vyšetření je ovšem nezbytný pro odlišení akutní nekomplikované cystitidy od nespécifické uretritidy, dále pro ověření správnosti empirické léčby popřípadě pro zjištění úrovně rezistence bakterií vůči antibiotiku (Bartoníčková et al., 2006).

Mezi nejčastější původce patří *Escherichia coli*, kterou následují ostatní bakterie druhu *Enterobacteriaceae*, například *Klebsiella pneumoniae* a *Proteus mirabilis*. (Gupta, 2023).

2.3.3 Akutní cystitida komplikovaná

Akutní komplikovaná cystitida se na rozdíl od akutní nekomplikované cystitidy odlišuje přítomností predispozičních faktorů, jako například diabetes mellitus, sekundární imunodeficiencie či funkční nebo obstrukční uropatie. Do tohoto typu urologických infekcí řadíme akutní cystitidu u mužů a recidivující cystitidu žen a dětí (Bartoníčková et al., 2006).

Klinicky se tyto infekce nejčastěji projevují dysurií, polakisurií, urgencí, horečkou a bolestí v podbřišku (Hora, 2021).

Infekce vyžadují vyšetření odborným lékařem, který musí odhalit možné příčiny komplikovaných močových infekcí (organické či funkční abnormality v močových cestách, výskyt anatomických abnormalit atd.) či vyloučit infekci jiné části urogenitálního traktu (pyelonefritida, prostatitida) (Bartoníčková et al., 2006).

Akutní cystitida komplikovaná se nejčastěji stanovuje bakteriální kultivací moči a eventuálně se při horečnatých stavech a podezření na septikémii volí hemokultury. Rozmanitost bakterií je v případě komplikované cystitidy rozsáhlejší, než při nekomplikované cystitidě a bakteriální kmeny bývají více rezistentní vůči antimikrobiální léčbě. Nejčastějšími původci jsou *Escherichia coli*, *Proteus spp.*, *Klebsiela spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia spp.*, a *Enterococcus spp.* (Hora, 2021).

Terapie probíhá pod dozorem specialisty a je individuální u dětí a u dospělých. Relaps infekce po akutní nekomplikované cystitidě a akutní cystitida u mužů se léčí antibiotikem podávaným 14 dní, kdy cílem léčby je potlačit signifikantní bakteriurii. Reinfekce se nejčastěji přítomny u žen středního a staršího věku a léčba u asymptomatických pacientů se indikuje pouze v případech, kdy hrozí poškození ledvin, na rozdíl od ostatních, kdy léčbu provádíme pouze v přítomnosti infekce. U jedinců s predispozičními faktory pro urogenitální infekce, které nejsou plně odstranitelné či léčitelné, bývá jako ochrana před poškozením ledvin nasazena profylaktická antibiotická léčba, zpravidla podávána v nočních hodinách (Bartoníčková et al., 2006).

2.3.4 Akutní uretritida u mužů negonokoková

Klinické příznaky akutní negonokokové uretritidy a kapavky jsou v mnoha případech velmi podobné. V obou případech onemocnění je nejčastější formou přenosu přenos pohlavním stykem. Mezi klinické projevy se řadí dysurie a výtok z uretry (u kapavky častěji hnisavý). Akutní uretritida u mužů má ovšem ve většině případů pomalejší a mírnější nástup projevů než infekce způsobované gonokoky (Bartoníčková et al., 2006).

Ze snahy odlišit akutní negonokokovou uretritidu a kapavku je vždy nutno provést laboratorní vyšetření. U gonokokové uretritidy se ve výtěru z uretry vyskytují gramnegativní diplokoky, a negonokokové akutní uretritidy se v sekretu mohou nacházet leukocyty, nespecifická bakteriální flora či je obraz mikroskopicky negativní. Negonokoková uretritida se projeví přetrvávajícími příznaky po léčbě kapavky. Mezi nejznámější původce akutní negonokokové uretritidy u mužů patří *Chlamydia trachomatis*, *Ureoplasma ureolyticum* či například *Mycoplasma genitalum* (Bartoníčková et al., 2006).

2.3.5 Prostatitida

Prostatitida patří mezi nejčastější onemocnění v urologii, kdy ročně tvoří muži 25 % pacientů jenž vyhledají lékařskou pomoc s obtížemi v oblasti urogenitálního traktu (Poršová et al., 2006).

Prostatitidy rozlišujeme na bakteriální a nebakteriální, přičemž nejsou bakteriální prostatitidy tak časté a tvoří nejvýše 5 % všech případů prostatitid. Bakteriální průkaz se provádí z prostatického a uretrálního sekretu (po masáži prostaty) a může být také proveden doplňkový průkaz bakterie ze spermatu a nadále průkaz v moči k vyloučení infekce dolních močových cest (Bartoníčková et al., 2006). Mezi nejtypičtější původce

se řadí *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, tedy časté uropatogeny. Dle průběhu a délky lze infekce nadále dělit na akutní a chronické (Poršová et al., 2006).

Akutní bakteriální prostatitida je horečnatý zánět prostaty se silnými bolestmi v suprapubické a perineální oblasti a dysurií. Zánět je provázen celkovými tělesnými příznaky jako je horečka, zimnice, třesavka, slabost, nauzea, zvracení či celková schvácenost. Masáž prostaty je u akutní prostatitidy kontraindikována vzhledem k bolestivosti a rizika vzniku bakteriemie. Důsledkem neléčené akutní bakteriální prostatitidy může být přechod v chronickou bakteriální prostatitidu nebo granulomatozní prostatitidu (Poršová et al., 2006).

Jedinci s chronickou bakteriální prostatitidou mohou být mezi jednotlivými stavy akutní infekce asymptomatictí, většina z nich si však postihnuta mírnými až středně těžkými mikčnými potížemi a bolestmi nebo dyskomfortem v různých lokalizacích (perineum, penis, skrotum, křížová oblast). Při palpačním vyšetření per rectum může mít prostata fyziologickou velikost, tvar i konzistenci, může být zvětšená, těstovité konzistence nebo naopak malá, tuhá, vazivově změněná až dokonce hrbolatá. Léčba je ve většině případů empirická, jak u chronické, tak i akutní bakteriální prostatitidy a spočívá v podávání antibiotik (Poršová et al., 2006).

2.3.6 Akutní epididymitida

Akutní epididymitida neboli akutní zánět nadvarlete je časté onemocnění dolních močových cest. Klinicky se projevuje bolestí varlat a nadvarlat, jednostranným otokem scrota a také se mohou projevit mikční potíže, výtok z uretry či zvýšená celková teplota těla. Laboratorně se akutní epididymitida nejčastěji stanovuje vyšetřením močového sedimentu, dále také uretrálním stěrem ke stanovení patogenní mikroflóry. V laboratorním vyšetření krevního obrazu se ve více než polovině případů prokáže leukocytóza s posunem doleva. Při podezření na epididymitidu se také využívá ultrasonografie scrota (Matoušková et al., 2002).

Příčinou epididymitidy u mladých mužů bývá nejčastěji důsledek STD, u starších mužů pak bývá příčinou chronické infikované reziduum či reflux po prostatektomii. Celkově lze za příčinu epididymitidy označit jakákoliv manipulace v močové trubici. Bakteriální původci jsou stejní jako u prostatitidy (*Pseudomonas aeruginosa*, enterokoky,

enterobakterie, atd.) a u sexuálně přenosné epididymitidy se nejčastěji vyskytují původci jako *Chlamydia trachomatis* a *Neisseria gonorrhoeae*. Při diferenciální diagnostice je třeba brát v potaz riziko Fournierovy gangrény, nekrotizující fascitidy vyvolanou směsí aerobních a anaerobních bakterií (Bartoníčková et al., 2006).

Léčba probíhá v rukou urologa obvykle pomocí doxacyklinu v dávce 200 mg denně, vždy dle výsledků laboratorního vyšetření. Jako součást terapie jsou také podávána analgetika, pro vysokou bolestivost a také jsou doporučovány chladivé obklady scrota a jeho podložení (Matoušková et al., 2002).

2.3.7 Akutní nekomplikovaná pyelonefritida

Jedná se o infekci, která je nejčastěji způsobena ascendentní infekcí z dolních močových cest, která je způsobena střevní či vaginální mikroflórou. Nejčastějším původcem, stejně jako u akutní cystitidy, jsou enterobakterie a to zejména *Escherichia coli* (Bartoníčková et al., 2006).

Typickými klinickými příznaky jsou bolesti v boku a pyurie. Tyto příznaky slouží také k diferenciální diagnostice od dalších infekcí vylučovací soustavy. Dále bývá typická zvýšená teplota a dysurie. Mezi ostatní příznaky lze zařadit zimnici, nevolnost, zvracení, zvýšenou abdominální a suprapubická citlivost, tachykardii, hypotenzi a další. K diagnostice se využívá mikrobiologické vyšetření moči středního proudu a jako doplňující vyšetření se doporučuje vyšetřit krevní obraz a biochemické vyšetření krve, které může upozornit na jiné komplikace a stav pacienta. U pacientů, u kterých je ztížená diagnostika predominantních bakterií v moči (katetrizace, pacient již užívá antibiotika) stojí za zvážení využití hemokultur pro diagnostiku, kdy 10 % až 40 % pacientů má pozitivní nález hemokultury při akutní pyelonefritidě.

Léčba probíhá pomocí antibiotik a často je doplňována intravenózní rehydrací, antipyretiky a antiemetiky (Herness et al. 2020).

2.3.8 Recidivující pyelonefritida

Recidivující pyelonefritida se od akutní nekomplikované pyelonefritidy především liší klinickými příznaky a druhy bakteriálních původců. Klinické příznaky bývají mírné, atypické či jsou pacienti dokonce asymptomatictí. Predispozičním faktorem pro dané onemocnění je funkční či anatomická abnormalita močových cest, dále jsou ohroženi

pacientky se zavedenými močovými katétry a pacientky s rekurentní nekomplikovanou cystitidou, u kterých nebyla zvolena vhodná léčba. Původci recidivujících pyelonefritid jsou nejčastěji enterobakterie (například *Escherichia coli*), *Pseudomonas aeruginosa* a enterokoky. Jelikož jsou bakteriální kmeny u recidivující pyelonefritidy vyselektovány opakovanou mikrobiální léčbou a také často pochází z nemocničních prostředí, jsou bakteriální kmeny více rezistentní vůči antibiotikům, než u akutní pyelonefritidy. Terapie probíhá stejným způsobem jako u akutní pyelonefritidy. Pokud je pyelonefritida způsobena po antibiotické léčbě stejným bakteriálním kmenem nazýváme ji akutně relabující, pokud je způsobena pokaždé jiným kmenem nazýváme ji akutně rekurující (Bartoničková et al., 2006).

2.4 Typy infekcí

2.4.1 Komunitní močové infekce

Komunitní močové infekce jsou vyvolány přirozeně se vyskytující bakteriální mikroflórou ze střeva, kůže a sliznic, jako je například střevní bakterie *Escherichia coli*. Výskyt komunitních močových infekcí je závislý na dané populaci, která je definována věkem a pohlavím a nesouvisí s pobytem ve zdravotnickém zařízení. Bakteriální infekce močových cest se řadí mezi nejčastější bakteriální infekce a to zejména u žen. Léčba se provádí pomocí antibiotik a to nejčastěji pomocí betalaktamových antibiotik jako jsou peniciliny a cefalosporiny, nitrofurantoin, aminoglykosidy a další. Některé zahraniční studie uvádějí, že v terapii komunitních nekomplikovaných močových infekcí by se jako antibiotikum měl využívat především nitrofurantoin, který má dlouhodobě nízký výskyt bakteriálních rezistencí (Bartoničková, 2005).

2.4.2 Nozokomiální močové infekce

Nozokomiální infekce jsou infekce, které jsou spojeny s poskytováním zdravotní péče, tzv. HAI (healthcare-associated infections). Podmínkou, která určuje nozokomiální infekci, je že onemocnění nebylo přítomno při příjmu pacienta do zdravotnického zařízení. Tyto infekce se mohou vyskytovat v nemocnicích, léčebnách, ambulancích a v ostatních zdravotnických zařízeních. V moderní medicíně, kde se využívají invazivní postupy léčby a zdravotnické pomůcky, jsou nozokomiální infekce častější než kdy dříve. Nozokomiální infekce močových cest probíhají u vnímavých pacientů, kteří mají v množství případů zaveden močový katétr a jsou dlouhodobě imobilizováni. Tyto

podmínky vedou k rozvoji bakteriální infekce. Vzhledem k výskytu bakterií ve zdravotnickém zařízení, bývají bakteriální kmeny rezistentní k léčbě antibakteriálními přípravky, což komplikuje následnou terapii. HAI patří mezi jedny z nejčastějších komplikací ve zdravotnictví, které významně ovlivňují zdravotní stav pacienta (Sikora et al., 2023).

3 Rod *Pseudomonas*

Rod *Pseudomonas* čítá 144 druhů, což z něj dělá rod s největším počtem gramnegativních bakterií. Rod byl poprvé popsán v roce 1894 Walterem Migulou. Po několik desetiletí rod *Pseudomonas* obsahoval mnoho nepříliš dobře charakterizovaných druhů. V roce 1966 Roger Stanier definoval fyziologické a biochemické vlastnosti pseudomonád a tím dokázal vylepšit jejich taxonomické zařazení (Gomila, 2015).

Pseudomonády řadíme mezi gramnegativní nefermentující bakterie, což je nesourodá skupina bakterií s hlavním společným znakem, kterým je neschopnost fermentace glukózy. Dle tvaru se především jedná o tyčinky, případně kokobacily (Hurych et al, 2021)

Pseudomonádové infekce bývají u zdravých lidí poměrně vzácné. Přírodním rezervoárem je půda, voda (i odpadní) a typická je také kolonizace rostlin a sliznic živočichů (Hurych et al, 2021)

Bakterie z rodu *Pseudomonas* jsou nenáročné na živiny a dokonce dokáží přežívat i v ředěných dezinfekčních roztocích. Velmi často se vyskytují ve zdravotnických zařízeních, což ovlivňuje šíření genů rezistence v nemocničním prostředí. Způsobují nozokomiální infekce, kdy osidlují imunosuprimované pacienty nebo se udržují na vlhkých místech, na předmětech denní potřeby či zdravotnických pomůckách (Votava et al., 2010).

4 *Pseudomonas aeruginosa*

4.1 *Charakteristika*

Pseudomonas aeruginosa je nejčastější pseudomonádou u člověka a způsobuje vážné systémové i lokální infekce, jak endogenního, tak exogenního původu (Schindler, 2014). Vyskytuje se v odpadních vodách, v půdě a také ve stolici lidí a zvířat. Dokáže kolonizovat sliznice dýchacích a močových cest a to nejčastěji v nemocničním prostředí, kde kontaminuje například dýchací přístroje a močové katetry (Bednář et al., 1996). Je to častý původce nozokomiálních infekcí (Hurych et al, 2021).

Jedná se o oportunní bakterii, která infikuje imunokompromitované pacienty či pacienty s porušenými přirozenými obrannými mechanismy těla (Hussain, 2019). Dokáže způsobovat infekce jakéhokoliv orgánu či systému v těle, nicméně mezi nejobávanější infekce s nejhrošími prognózami se řadí infekce popálenin, septické stavy u novorozenců, infekce oka a osteomyelitidy (Votava et al., 2003). Dále je také známa jako významný původce morbidity a mortality u pacientů trpících cystickou fibrózou (Huszczynski et al, 2019).

Z biochemického hlediska je pozitivní na tvorbu enzymů kataláza, ureáza a oxidáza. Nefermentuje laktózu (Hurych et al, 2021). Dle antigenní struktury je heterogenní a dle aglutinačně prokazovaných somatických antigenů se rozlišuje 17 sérotypů, přičemž další antigeny jsou vázány na bičík a fimbrie (Bednář et al, 1996).

4.2 *Morfologie a vnější stavba*

Pseudomonas aeruginosa je gramnegativní aerobní pohyblivá tyčka, která není schopna fermentovat glukózu (Hurych et al, 2021). Bakteriální tyčka je dlouhá 1–5 μm a široká 0,5–1 μm (Diggle et al, 2020).

Morfologicky nejde odlišit v Gramově barvení od jiných stejně barvicích se tyček (Bednář et al, 1996). Někdy mají bakterie tendenci k polárnímu barvení. Jelikož nemají bakteriální pouzdro, tak některé kmeny produkují sliz, kterým se obalují (Votava et al, 2003).

4.2.1 Lipopolysacharidy

Lipopolysacharidy tvoří hlavní složku vnější membrány gramnegativních bakterií. Skládá se z lipidu A, jádrového oligosacharidu a O antigenu, dlouhého polysacharidového řetězce. Lipopolysacharidy interagují s hostitelovými receptory, inhibují jeho obranné mechanismy, ovlivňují tvorbu biofilmu a zprostředkovávají rezistenci vůči antimikrobiálním látkám (Huszczynski et al, 2019).

4.2.2 Flagellum

Pro *P. aeruginosa* je typický 1 polární bičík, který pomáhá bakterii v pohyblivosti, kdy umožňuje pohyb v kapalinách a po dalších površích. Bičík je složen ze 3 složek: bazálního tělíska, krátkého zahnutého háčku a dlouhého vnějšího vlákna. Flagellum je klíčovým virulentním faktorem pro *Pseudomonas aeruginosa* (Hussain, 2019).

4.2.3 Pili

Pili neboli fimbrie jsou tenké výběžky tvaru štěteček, které se vyskytují na povrchu bakterií v řádu desítek až stovek (Votava, 2005). Jsou tvořeny pilinem (bílkovina) a zlepšují adhezi bakterií ke sliznici a částečně dokáží chránit před fagocytózou (Hurych et al, 2021).

U *P. aeruginosa* jsou nejvýznamnější a nejhojněji vyskytující se pili IV. typu (Hussain, 2019).

4.2.4 Proteiny vnější membrány

Proteiny vnější membrány fungují jako semipermeabilní membrána. Přispívají k růstu a vývoji buňky, zachovávají vnitřní integritu bakteriální buňky a zajišťují přísun živin. *P. aeruginosa* produkuje až 100 proteinů vnější membrány, s variabilní strukturou a funkcí (Hussain, 2019).

4.3 Quorum sensing

Quorum sensing je proces, při kterém dochází ke komunikaci bakterií pomocí chemických signálů (Miranda et al, 2022). Jedná se o reakci na koncentraci buněk v populaci, kdy dojde k regulaci exprese genů. To je zajištěno autoinduktory, signálními molekulami produkovánými buňkami v populaci. Čím vyšší je koncentrace bakterií

v populaci, tím vyšší je koncentrace autoinduktorů. Při dosažení hraniční koncentrace autoinduktorů dochází ke změně genové exprese buněk (Vašatová, 2022).

Quorum sensing se skládá ze 2 kompletních okruhů, které zahrnují signály molekul acyl homoseriových laktonů a třetí okruh využívá signály chinolonových molekul. Okruhy dohromady regulují expresi stovek genů, přičemž mnoho z těchto genů kóduje virulentní faktory *Pseudomonas aeruginosa* (Miranda et al, 2022).

4.4 Extracelulární produkty

4.4.1 Exotoxiny

Exotoxiny jsou bakteriální toxické proteiny, které jsou na rozdíl od endotoxinů, vylučovány do okolí mikroba (Votava et al, 2005).

4.4.1.1 Exotoxin A

Exotoxin A je jedním z hlavních faktorů virulence, kde se řadí mezi velmi toxické a patogenní exotoxiny (Tanomand et al, 2013). Jeho funkce spočívá v narušení syntézy bílkovin v buňkách a tím dokáže způsobit až mnohočetné poškození orgánů, včetně ledvin (Hussain, 2019).

4.4.1.2 Fosfolipáza C

Fosfolipáza C má schopnost narušovat membrány buněk (Hurych et al, 2021). Enzym je schopen hydrolýzy esterových vazeb na glycerofosfolipidech. Je to významný virulentní faktor, který dokáže potlačit respirační vzplanutí neutrofilů (Hussain, 2019).

Fosfolipázu C lze rozdělit na hemolytickou a nehemolytickou, přičemž obě dokáží hydrolyzovat proteiny plicního surfaktantu (Edward, 2023). Přesné působení fosfolipázy u močových infekcí nebylo dosud objasněno (Hussain, 2019).

4.4.1.3 Proteázy

Hlavním úkolem proteáz je štěpit kolagen, elastin a fibrin a tím narušovat cévní stěny. To vede nejen k úniku krve z cév, ale také k nekrotizacím (Hurych et al, 2021). Mezi hlavní proteázy se řadí alkalická proteáza A (AprA) a elastáza B (LasB) (Mateu-Borrás et al, 2021).

Alkalická proteáza A degraduje složky komplementu (C3, C2, C1) a tím snižuje účinnost na komplement vázané fagocytózy (Mateu-Borrás et al, 2021).

Elastáza B je schopna degradace C3 složky komplementu a proteinů surfaktantu. Pro bakterii je významná především při infekcích respiračního traktu (Mateu-Borrás et al, 2021).

4.4.1.4 Hemolysiny

Hemolysiny jsou exotoxiny působící cytotoxicky (Hurych et al, 2021). Způsobují lýzu erytrocytů hostitele (Hussain, 2019).

Nejsou produkovány pouze bakterií *Pseudomonas aeruginosa*, ale i některými ostatními druhy bakterií (Hussain, 2019).

4.4.2 Pyocyanin

Pyocyanin je sekundární metabolit *Pseudomonas aeruginosa*. Jedná se o modrozelený pigment, který je produkován aktivní bakteriální kulturou *P. aeruginosa*. Má antibakteriální a antimykotický účinek a dokonce i antioxidační a protinádorový účinek (Hamad et al, 2020). Cytotoxický účinek pyocyaninu může vážně poškozovat uroteliální buňky, jelikož kmeny *Pseudomonas aeruginosa* izolované z močových cest produkují více pyocyaninu. To může snižovat schopnost obnovy buněk a tím vést k opakujícím se zánětům močových cest (Hussain, 2019).

4.4.3 Pyoverdin

Pyoverdin je pigment a siderofor, který v hostiteli extrahuje a váže železo, čímž narušuje funkci mitochondrií a poškozuje tím buňky hostitele. Napomáhá také k tvorbě biofilmu pomocí získaného železa, které je využito patogenem (Kang et al, 2018). Podobnou funkci jako pyoverdin má také siderofor pyochelin, který ovšem není produkován v takovém množství a má nižší afinitu k železu (Ghssein et al, 2022).

4.4.4 Rhamnolipidy

Rhamnolipidy jsou biosurfaktanty produkovány bakteriemi z rodu *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*, *P. chlororaphis*, *P. putida*) a některými bakteriemi z rodu *Burkholderia*. Nejlepším producentem rhamnolipidů z výše zmíněných bakterií je *P. aeruginosa*. Díky svým vlastnostem (nízké toxicitě, biologické rozložitelnosti, vysokému

vyprodukovanému množství atd.) mají rhamnolipidy *P. aeruginosa* vysoký potenciál k jejich využití ve biomedicíně, farmaceutickém a kosmetickém odvětví i v dalších odvětvích (Soberón-Chávez et al, 2021).

4.4.5 Sekreční systém 3. typu

U *P. aeruginosa* bylo popsáno celkem 9 typů sekrečních systémů, přičemž systém 3. typu (T3SS) je jedním z nejvýznamnějších virulentních faktorů (Horna et al, 2021). Funkce T3SS je penetrovat membránu hostitelských buněk pomocí jehlovité struktury a vpravit do ní efektorové proteiny produkované bakterií. Ty následně působí na procesy v hostitelské buňce dokonce ovlivňují imunitní odpověď (Hurych et al, 2021). Do cytosolu hostitelské buňky jsou nejčastěji vpraveny 4 efektorové proteiny: ExoS, ExoT, ExoU, Exo Y (Hussain, 2019).

ExoS a ExoT jsou především zodpovědné za narušení uspořádání cytoskeletu hostitelské buňky a inhibici fagocytózy. ExoU má cytotoxickou funkci, kdy toxiny dokáží likvidovat buňky imunitního systému, jako jsou neutrofilové a makrofágy. Dále silně poškozuje epitelální buňky a způsobuje rychlou nekrotickou smrt buněk. ExoY zvyšuje koncentraci cyklického adenosinmonofosfátu, čímž pozměňuje aktinový cytoskelet hostitelské buňky. Celkově ExoY v lidském těle snižuje integritu bariér, především plicní, zvyšuje apoptózu a zvyšuje sekreci cytokinů (Hussain, 2019).

Role T3SS v infekcích močových cest doposud nebyla plně prozkoumána (Hussain, 2019).

4.5 Biofilm

Biofilm lze popsat jako velké množství bakterií spojené extracelulárními strukturami, které jsou bateriemi samy produkovány. Díky integraci bakteriálního společenství dochází k lepší ochraně společenstva a lepšímu přísunu živin, tedy se zvyšuje šance bakterií na přežití. Za počáteční signál k tvorbě biofilmu je zodpovědný systém quorum sensing, zajišťující buněčnou komunikaci (Hurych et al, 2021).

P. aeruginosa má tendenci tvořit biofilmy a to především na povrchu močových katétrů. Samotný růst začíná ve formě mikrokolonií, které společně postupně začínají tvořit biofilm. Jednou z nejdůležitějších složek biofilmu je alginát (Mittal et al, 2009). Ten dodává biofilmu schopnost adherence (Hussain, 2019). Dalšími exopolysacharidy

podílejících se na biofilmu jsou psl a pel, které hrají důležitou roli u kmenů *P. aeruginosa* neprodukujících alginát (Mittal et al, 2009).

Na tvorbě biofilmu mají také svůj podíl virulentní faktory pseudomonády, jako například rhamnolipidy, extracelulární DNA a pili (Hussain, 2019).

Biofilm zajišťuje rezistenci vůči antimikrobiálním látkám a dalším obranným mechanismům hostitele a tím zvyšuje patogenitu *P. aeruginosa*. To často vede k přetrvávajícím a opakovaným infekcím (Mittal et al, 2009).

4.6 Adherence

Adherence je schopnost bakterií pevně přilnout k povrchu epitelii. Především v trávicím a močovém traktu by docházelo k rychlému a snadnému odplavení bakterií. Proto si téměř všechny patogeny vytvořili způsoby adherence k povrchu a to buď pomocí speciálních struktur na svém povrchu či pomocí specifických bílkovin (Votava, 2005).

Jednu z hlavních složek adherence tvoří biofilm, který přilpívá k různorodým povrchům (Hurych et al, 2021). Adherence je prvním krokem patogenních pseudomonád k infekčnímu procesu. Pseudomonády využívají k adherenci adheziny (Hinsa et al, 2004). Adheziny umožňují bakterii vazbu na specifické receptory na sliznici. Koncentrují se především na fimbriích tzv. fimbriální adheziny (Hurych et al, 2021).

Nezastupitelnou funkci při adherenci tvoří také alginát, extracelulární polysacharid mukózních kmenů *Pseudomonas aeruginosa*. Typicky se mukózní kmeny s tvorbou alginátu vyskytují u pacientů trpících cystickou fibrózou (Hurych et al, 2021).

4.7 Motilita

Motilita, též pohyblivost, je podstatným aspektem v počáteční fázi infekce. K pohybu *P. aeruginosa* využívá 3 typy mechanismů motility: swimming motility, twitching motility, swarming motility (Hussain, 2019).

Swimming motility zajišťuje rychlý pohyb v kapalném prostředí. Je umožněn díky polárnímu bičíku. Twitching motility umožňuje pohyb po pevných a polopevných površích a je zajištěna pili IV. typu, vláknitými výběžky a povrchem buňky. Během pohybu dochází k opakovanému prodlužování, upevňování a retrakci fimbrií. Pili IV. typu také zajišťují adhezi *P. aeruginosa* k různým povrchům (sklo, buňky epitelu,

nerozová ocel atd.). Posledním typem pohybu je swarming motility, umožňující pohyb po polotekutém povrchu. Je to nejrychlejší typ pohybu a je využíván ke kolonizaci. Zahrnuje několik buněčných komponent, jako jsou pili IV. typu, flagellum a biosurfaktanty, kupříkladu rhamnolipidy (Hussain, 2019).

4.8 Rezistence k antimikrobiálním látkám

Rezistence k antimikrobiálním látkám je schopnost mikroba odolávat léčbě antimikrobiálními přípravky. Rezistenci lze rozdělit na přirozenou (primární) a získanou. Přirozená rezistence je přirozenou necitlivostí mikroba k určitým antibiotikům a získaná rezistence je stav, při kterém se původně citlivý druh stává rezistentním (Hurych et al, 2021).

Pro některé kmeny *P. aeruginosa* je typická multirezistence k ATB. Multirezistentní kmeny jsou takové kmeny, které jsou rezistentní nejméně ke 3 skupinám nepříbuzných ATB. Zkratka ESKAPE označuje 6 vysoce multirezistentních a virulentních bakterií, jmenovitě *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Enterobacter* spp (Hurych et al, 2021).

V klinické praxi způsobují rezistentní a především multirezistentní kmeny *P. aeruginosa* závažný problém. Vykazují rezistenci k různým antimikrobiálním látkám (například B- laktamy), což je z velké části umožněno nízkou permeabilitou vnější membrány bakterie (Pachori et al, 2019). Mezi mechanismy rezistence se také uplatňují systémy eflux, který dokáže vypuzovat ATB z bakteriální buňky a produkce enzymů inaktivujících ATB (Pachori et al, 2019). Významným faktorem rezistence je také tvorba biofilmu (Pool, 2011). *P. aeruginosa* je schopna se přizpůsobovat okolnímu prostředí. Při vystavení selektivnímu tlaku bakterie dokáže přežít a rozvíjet své schopnosti rezistence. Jedním ze zaznamenaných příkladů může být kolonizace pacientů s cystickou fibrózou, kdy se rezistence vyvíjí během samotné antimikrobiální terapie (Pachori et al, 2019).

4.9 Terapie

Terapie pseudomonádových infekcí je poměrně složitá, díky vzrůstající rezistenci vůči určitým antibiotikům. K léčbě se využívají protipseudomonádová betalaktamová antibiotika jako jsou například ureidopeniciliny, cefalosporiny a karbapenemy. Vždy se využívá kombinace 2 antibiotik z různých skupin. (Hurych et al, 2021). Ureidopeniciliny

jsou antibiotika podávána parenterálně, mající širokospektrý účinek. Působí baktericidně jen na množící se bakterie (Votava, 2005). Z cefalosporinů se nejčastěji využívají ty z III. generace (ceftadizim) a ze IV. generace (cefepim). Ze skupiny karbapenemů se využívá meropenem a imipenem (Votava et al, 2003). Momentálně ovšem narůstá rezistence vůči karbapenemům v důsledku bakteriální produkce metalo-B-laktamáz (Hurych et al, 2021).

U závažných a komplikovaných infekcí se využívá kombinované terapie především zmíněnými antibiotiky s aminoglykosidy, fluorochinolony a polypeptidy (typicky kolistin) (Hurych et al, 2021).

5 Cíle bakalářské práce

Cílem mé bakalářské práce bylo:

- Seznámení se s problematikou diagnostiky bakteriálních močových infekcí.
- Popsání příznaků a vyšetření v klinické praxi, indikace laboratorního vyšetření, odběr biologického materiálu a transport, bakteriální kultivace moči na vhodná kultivační média a následná identifikace bakteriálních kolonií.
- Vyhodnocení patologických nálezů.
- Vyhodnocení výskytu močových infekcí způsobovaných *Pseudomonas aeruginosa*.

6 Metodika

Praktická část mé bakalářské práce byla provedena v laboratoři Synlab České Budějovice v sekci mikrobiologie, pod odborným dohledem MVDr. Zuzany Lapáčkové. Praktická část probíhala v listopadu a prosinci roku 2023 a lednu 2024.

Na následujících stránkách rozeberu problematiku odběru a transportu moče, příjem vzorku do laboratoře, předkultivační screening moče, dále bakteriální kultivaci moče na vhodná kultivační média, identifikaci bakteriálních kolonií pomocí MALDI-TOF, dnes již ne tak často využívanou identifikaci bakterií dle biochemických vlastností (biochemická řada a Endova půda s biochemickým klínem) a na konec stanovení diskové difúzní citlivosti *Pseudomonas aeruginosa* k antibiotikům.

6.1 Odběr biologického materiálu

Indikaci k odběru moči provádí praktický či odborný lékař. Samotný odběr se řídí dle laboratorní příručky dané laboratoře.

6.1.1 Samoodběr

6.1.1.1 Odběr do sterilní zkumavky

Při samoodběru je třeba řádně poučit pacienta, jak odběr provést. Pro odběr moči ke kultivačnímu vyšetření se využívá střední proud první ranní moči. Pacient před odběrem provede očistu zevního genitálu. První frakci moči pacient nesbírá, druhou frakci (střední proud moči) zachytí pacient do sterilní odběrové zkumavky v množství cca 10 ml. Poslední frakci moči pacient nesbírá.

6.1.1.2 Odběrová sada Uricult

V případě že podmínky nedovolují rychlý transport vzorku moči do laboratoře či je potřeba mít rychle výsledek, lze využít odběrové sady Uricult. Při odběru se využívá střední proud první ranní moči. Pacient zachytí střední proud moči do sterilní nádoby a ponoří do ní destičku s agarovými půdami na několik vteřin. Následně destičku s agarovými půdami vyndá a vloží zpět do plastové zkumavky.

6.1.2 Odběr z močového katetru

U pacientů, kteří mají zaveden močový katétr odebíráme stejně jako při samoodběru střední proud první ranní moči. U jednorázového cévkování se využívá sterilní katétr. U pacientů s permanentním močovým katetrem se provádí odběr moči až po výměně starého katetru za nový.

6.2 Transport

Vzorek moči by měl být od odběru do laboratoře dopraven do 2 hodin. Po přesáhnutí dané doby může docházet ke znatelnému pomnožení bakterií v moči, což by mohlo vést ke zkreslení výsledků bakteriologického vyšetření.

Svoz řádně označených primární vzorků se správně vyplněnými žádankami probíhá z odběrových míst laboratoří Synlab nebo z ordinací lékařů, vždy dle svozového plánu a trasy určené laboratoří. Řidič laboratoře přijme vzorky a žádanky. Vzorky moče pro mikrobiologické vyšetření jsou uloženy do termoboxu s teplotou 4°C – 8°C a transportovány do spádové laboratoře.

6.3 Příjem vzorku

Do laboratoře jsou přijaty řádně označené vzorky a správně vyplněné žádanky. Odmítnout lze vzorky, které jsou nedostatečně či nečitelně označené, žádanka nebo nádobka jsou potřísněny biologickým materiálem, biologický materiál bez žádanky, neoznačenou nádobku s biologickým materiálem a jiné.

Vzorek musí být označen jménem a příjmením pacienta a jeho rodným číslem. Žádanka musí obsahovat jméno a příjmení pacienta, číslo pojištěnce, diagnózu ve formě číselného kódu, číslo pojišťovny či zda se jedná o samoplátce, datum a čas odběru, razítko a podpis lékaře a označená požadovaná vyšetření.

Po přijetí materiálu do laboratoře jsou informace ze žádanky zapsány laborantem do laboratorního informačního systému a jsou vygenerovány štítky s kódem a číslem, pod kterými je pacient následně veden v laboratoři při laboratorním vyšetření a je jimi také označena žádanka a nádoby s biologickým materiálem.

6.4 Předkultivační screening

Před samotnou bakteriální kultivací se provádí u spontánně vymočených vzorků středního proudu moči předkultivační screening na analyzátoru UF-4000 od firmy Sysmex. Ten analyzuje moč na principu fluorescenční průtokové cytometrie pomocí modrého laseru o vlnové délce 488 nm a kvantitativně stanovuje množství erytrocytů, leukocytů, epiteliálních buněk, bakterií a močových válců. Pro bakteriologické vyšetření moče se využívají především hodnoty leukocytů a bakterií.

Vzorky moči jsou přeneseny z odběrových nádob do sterilních zkumavek označených kódem pacienta, nasazeny do kazety a vloženy do analyzátoru. Jedna kazeta pojme až 10 zkumavek. Analyzátor oskenuje kód pacienta a tenkou jehlou nasaje potřebné množství moči (2 ml) a provede analýzu. Jelikož je UF- 4000 napojen na LIS, jsou výsledky automaticky přenášeny do počítače.



Obrázek 1: Analyzátor UF- 4000 (zdroj: vlastní).

Vzorky moči, u kterých je nález bakterií vyšší nebo roven 100 / μ l (10^5 /ml) či vzorky moči, kde je nález leukocytů vyšší nebo roven 10/ μ l (10^4 /ml) jsou hodnoceny jako pozitivní a jsou kultivovány na UriSelect^{TM4} a ½ krevního agaru. Pokud jsou u vzorku hodnoty bakterií i leukocytů nižší, vzorek je vyhodnocen jako negativní a kultivuje se na ¼ Uricultu a ½ krevního agaru. U cévkovaných a onkologických pacientů jsou vzorky moče kultivovány bez ohledu na předkultivační vyšetření.

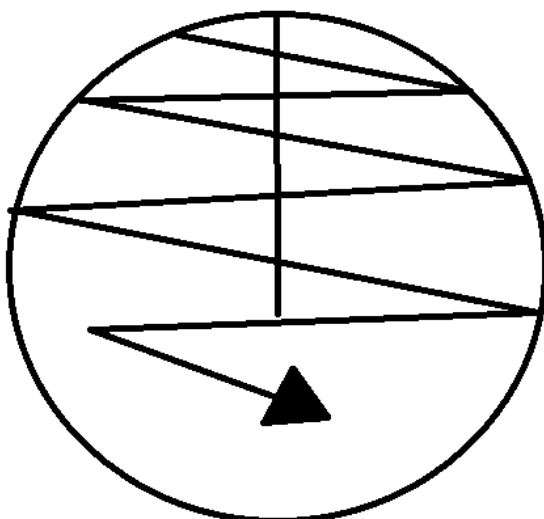
6.5 Zpracování primokultur pomocí kultivace

Dle pozitivního či negativního výsledku předkultivačního screeningu jsou vzorky moče kultivovány na vhodná kultivační média (viz. předešlý odstavec).

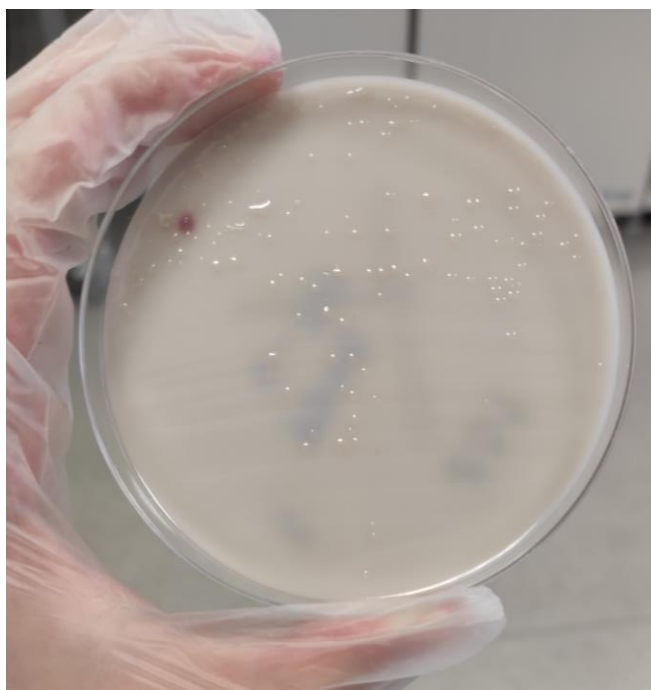
6.5.1 UriSelect^{TM4}

UriSelect^{TM4} od firmy Bio-Rad je chromogenní agarové médium sloužící k izolaci patogenů močového traktu a k jejich kvantitativnímu vyhodnocení. Obsahuje různé druhy peptonů, tryptofan a především chromogenní směs. Díky reakci chromogenní směsi obsažené v agaru s bakteriálními enzymy lze pozorovat a diferenciovat rody či skupiny bakterií dle zbarvení jejich kolonií. Agar je také velmi koncentrovaný, čímž zabraňuje plazivému růstu druhu *Proteus*.

Před samotnou kultivací se půda označí číslem pacienta a datem provedení kultivace. Při kultivaci se používá standardní kalibrovaná 10 μ l klička, která se svisle ponoří do vzorku moči. Jedním tahem bakteriologické kličky se provede od kraje do středu UriSelectu^{TM4} inokulace moči. Dále se od kraje, kde se začalo, provede kolmo k prvotnímu nátahu roztěr nepřerušovaným klikatým pohybem po celém povrchu agaru (viz. obr. 2). Půda je následně uložena to termostatu na 18 až 24 hodin při teplotě 37 °C. Po uplynutí doby kultivace je nárůst hodnocen lékařem či jiným odborným vysokoškolským pracovníkem laboratoře. Hodnotí se především nárůst čisté kultury a maximálně nárůst 2 agens v inokulu. Pokud naroste 3 a více druhů bakterií, nález se vyhodnotí jako kontaminace z nesterilního odběru a je třeba provést odběr znovu.



Obrázek 2: Schéma provedení inokulace na UriSelectTM4 (zdroj: vlastní).



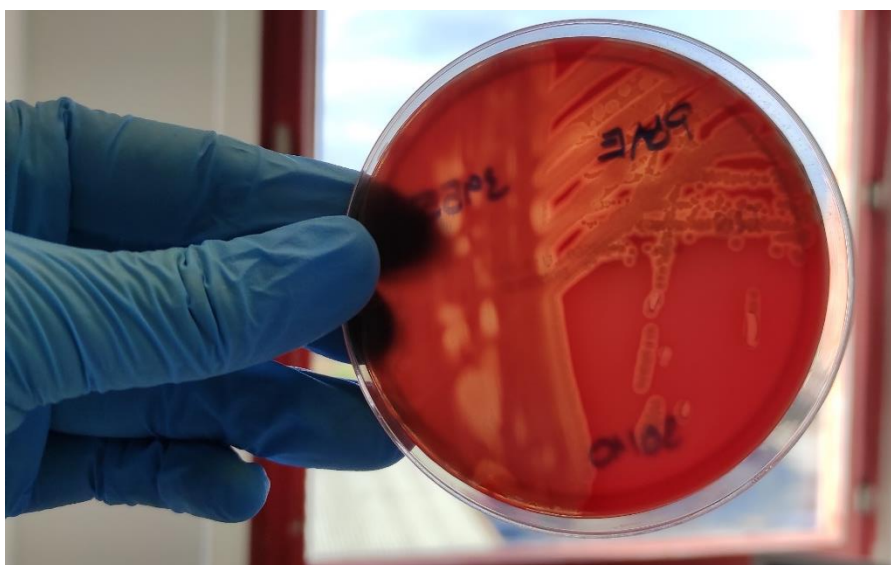
Obrázek 3: Kolonie *Pseudomonas aeruginosa* na UriSelectTM4 (zdroj: vlastní).

6.5.2 Krevní agar

Krevní agar patří mezi základní a nejpoužívanější kultivační půdy. Skládá se ze živného agaru obohaceného 5 až 10 % ovčí či koňské krve. Na krevním agaru rostou jak gramnegativní, tak grampozitivní bakterie, proto je hojně využíván ve zdravotnických laboratořích. Na agaru lze pozorovat míru hemolýzy: alfa hemolýza, beta hemolýza, gama hemolýza. Hemolýza je způsobena rozpadem erytrocytů při růstu bakterií na krevním agaru nebo působením hemolyzinů tvořených bakteriemi.

Ať už při pozitivním či negativním nálezu u předkultivačního screeningu se provádí vyočkování moči na ½ krevního agaru. Nejprve se Petriho miska rozdělí fixem na 2 poloviny a každá jedna polovina se před vyočkováním označí číslem pacienta a datem provedení. Moč se vyočkuje na ½ krevního agaru pomocí bakteriologické kličky stejným způsobem jako na UriSelect™4. Druhá polovina KA se využije pro další vzorek moči. KA se uloží do termostatu na 18 až 24 hodin při teplotě 37 °C. Poté dochází k odečtům, nicméně jako hlavní kultivačním médiem se využívá UriSelect™4 z důvodu kvantitativního stanovení a snazšímu určení kolonie dle barevné změny.

Pseudomonas aeruginosa roste na KA v šedo-bílých koloniích. Míra hemolýzy závisí na variantě kmene, nicméně častá se vyskytuje beta hemolýza. Čerstvě narostlé kolonie bývají typicky cítit jasmínem či ovocem. Starší kolonie páchnou močovinou. Jedná se ovšem o subjektivní zhodnocení.



Obrázek 4: Čistá kultura *Pseudomonas aeruginosa* na krevním agaru (zdroj: vlastní).

6.6 Identifikace bakteriálních kolonií a identifikační testy

Dle množství kolonií na kultivačním médiu od určitého výrobce se hodnotí množství bakterií na 1 ml moče. U necévkované moči s nálezem 10^3 /ml je výsledek zhodnocen jako kontaminace z uretry a tím pádem se neprovádí další identifikační testy ani citlivost k antimikrobiálním látkám. U cévkované moči je naopak koncentrace 10^3 /ml považována za signifikantní bakteriurii a provádí se identifikační testy i vyšetření citlivosti k ATB. Množství bakterií 10^4 /ml je hodnoceno jako hraniční množství a je potřeba, aby byla známa i klinické příznaky pro podpoření diagnózy. Provádí se identifikační testy

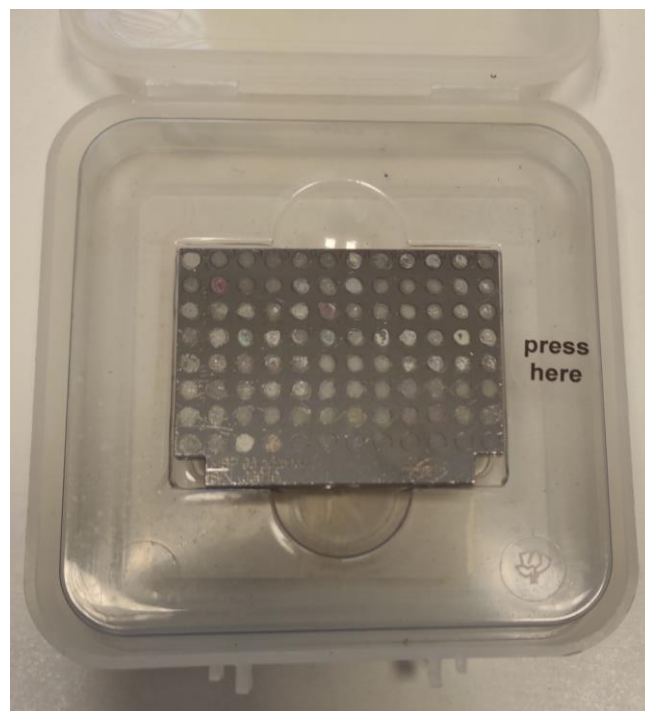
i citlivost k ATB, nicméně výsledek se odesílá s upozorněním, že se jedná o hraniční koncentraci a je doporučeno zopakovat vyšetření. Koncentrace $10^5/\text{ml}$ je považována za signifikantní bakteriurii a jsou provedeny identifikační testy i citlivost k ATB.

Dle barvy a typu kolonií lze určit rod a druh mikroba, případně je možno využít identifikační testy. K identifikaci se v dnešní době především využívá MALDI-TOF, případně testy, které ověřují biochemické vlastnosti bakterií. Při provádění identifikace se pracuje s izolovanými kulturami narostlými na kultivačním médiu.

6.6.1 MALDI-TOF od firmy BRUKER

MALDI-TOF (Matrix Assisted Desorption Ionization – Time of Flight) je metoda založená na principu hmotnostní spektrometrie. Jedná se o dnes velmi využívanou a rychlou metodu, sloužící k identifikaci mikroorganismů.

Nejprve se v protokolu označí poloha patientského vzorku číslem pacienta. Následně se zkoumaná čistá bakteriální kultura přenese pomocí párátko na zvolené pole na MALDI-destičce, které odpovídá poloze v protokolu. Vrstva nanesené kolonie by měla být rovnoměrně nanesená na poli a neměla by být příliš silná. Následně je přidán automatickou pipetou 1 μl kyseliny skořicové, která vzorek zafixuje a extrahuje jednotlivé proteiny.



Obrázek 5: MALDI-destička s nanesenými kulturami (zdroj: vlastní).

MALDI- destička je vložena do přístroje. V počítačovém programu jsou zvoleny polohy na destičce, na které byly nanесeny vzorky a je zadán název poloh (např.: číslo pacienta). Pole s nanесenými vzorky jsou zasahována laserem a dochází k ionizaci molekul. Ionty následně proletí trubicí detektoru, dle jejich hmotnosti a náboje. Výsledkem je hmotnostní spektrum, které je následně srovnáno s referenčními hodnotami a vyhodnoceno.



Obrázek 6: Přístroj MALDI- TOF od firmy BRUKER (zdroj: vlastní).

Výsledky se objeví v počítači připojenému k přístroji a je možné je vytisknout. Ve výsledkové listině je udáváno označení vzorku (Analyte ID), nejvíce odpovídající organismus dle zařazení k referenčním hodnotám (Organism (best match)) a druhý nejvíce odpovídající organismus dle zařazení k referenčním hodnotám (Organism (second best match)). U obou nejvíce shodných organismů je také udávána hodnota skóre (Score Value), které udává jak moc je naměřená hodnota podobná s referenčními hodnotami.

6.6.2 Identifikace dle biochemických vlastností

Identifikaci bakteriálních kolonií lze provádět pomocí metod, které hodnotí biochemické vlastnosti bakterií. Tyto metody jsou v laboratoři Synlab čím dál tím méně používány při diagnostice bakterií z moči, díky své časové náročnosti a pracnosti. Tyto metody jsou upozaděny metodou MALDI- TOF, která je snazší na provedení a je rychlejší.

6.6.2.1 Endova půda s biochemickým klínem

Endova půda s biochemickým klínem, také nazývána jako Švejcárova půda, je diagnostická půda k předběžné identifikaci bakterií. Na Petriho misce je z 1/3 zešikma nalit biochemický klín a na zbytku Petriho misky se nachází Endova půda.

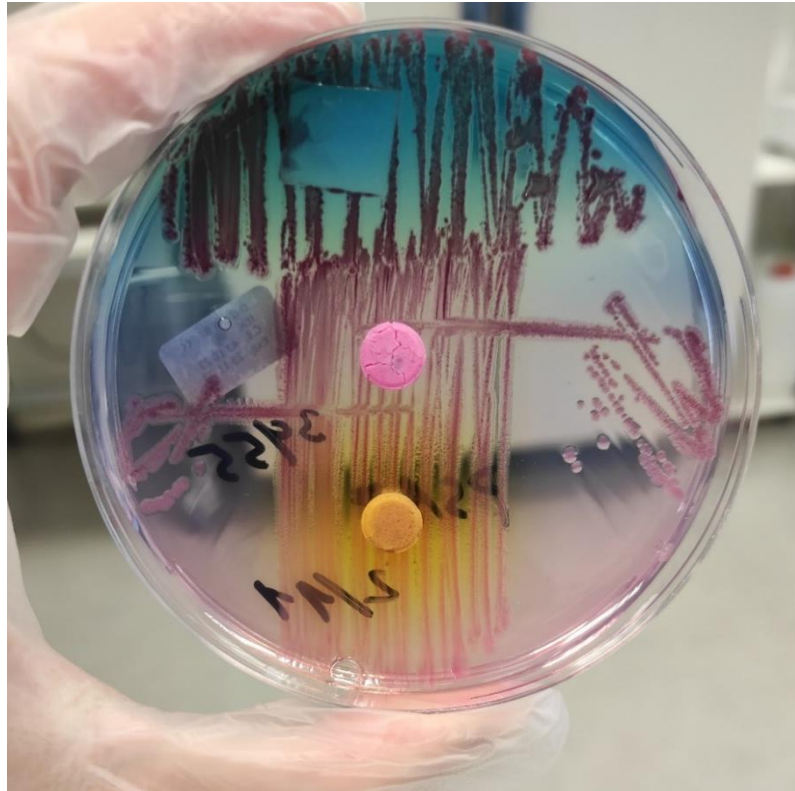
Půda se označí číslem pacienta a datem provedení. Bakteriologickou kličkou se nabere bakteriální kolonie a masivně se vyočkuje po biochemickém klínu. Dále se vyočkuje masivní pruh po středu Endovy půdy a po stranách Endovy půdy. Do biochemického klínu je následně provedeno několik vpichů a dále se na něj přidá sterilní sklíčko. Na masivně vyočkovaný pruh na Endově půdě se položí 1 tableta manitolu a 1 tableta sacharózy. Nakonec se půda vloží do termostatu o teplotě 37 °C na 18 až 24 hodin.

Na biochemickém klínu se hodnotí změna barvy klínu. Bakterie štěpící ureu vytváří amoniak, který zvyšuje pH a zelený klín, tím pádem mění svou barvu na modrou. Bakterie kvasící glukózu tvoří kyseliny a dochází k poklesu pH. Zelený klín v tomto případě mění svou barvu na žlutou. U sklíčka se hodnotí tvorba bublin, které mohou značit tvorbu plynu. U vpichů se hodnotí zčernání, které značí produkci sirovodíku.

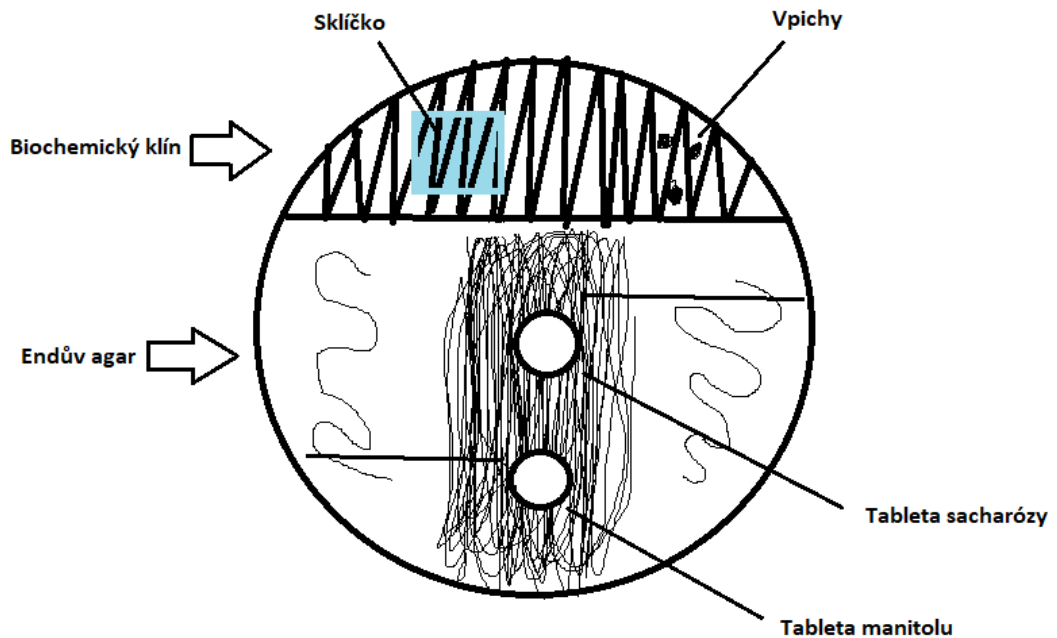
Na Endově půdě se hodnotí schopnost bakterií štěpit laktózu. Hodnotí se také schopnost mikroorganismů štěpit manitol a sacharózu, kdy zčervenání narostlých kolonií kolem manitolu či sacharózy značí pozitivitu.

Tabulka 1: Vlastnosti *Pseudomonas aeruginosa* na Endově půdě s biochemickým klínem (zdroj: vlastní).

Biochemické vlastnosti	Štěpení urey	Štěpení glukózy	Tvorba plynu	Tvorba H ₂ S	Štěpení laktózy	Štěpení manitolu	Štěpení sacharózy
	+	-	-	-	-	+	-



Obrázek 7: *Pseudomonas aeruginosa* na Endově půdě s biochemickým klínem
(zdroj: vlastní).



Obrázek 8: Schéma provedení inokulace na Endův agar s biochemickým klínem
(zdroj: vlastní).

6.6.2.2 API® 20 NE

API® 20 NE je souprava k biochemické identifikaci nefermentujících gramnegativních tyček. Souprava obsahuje 20 mikrozkušavek s dehydratovanými substráty, které se inokulují bakteriální suspenzí a inkubují se. Během inkubace dochází k biochemickým procesům mezi bakteriemi a substrátem a tím dochází k barevné změně a to samotnou inkubací nebo po přidání reagensů. Barevné změny jsou následně hodnoceny a je vyhodnocen výsledek.

Postup provedení:

K provedení API® 20 NE je potřeba čistá narostlá kultura bakterie. Nejprve je označen inkubační box číslem pacienta a datem provedení. Do voštinových jamek v inkubačním boxu je nanášeno malé množství destilované vody pomocí Pasteurovy pipety, pro vytvoření vhodné atmosféry k inkubaci. Následně dojde k přenosu několika kolonií, pomocí bakteriologické kličky, do zkumavky obsahující 2 ml fyziologického roztoku a homogenizaci. Je nutno docílit výsledného zákalu suspenze o 0,5 McFarland. Suspenze je následně přenesena pomocí automatické pipety do prvních 8 mikrozkušavek na testovacím proužku (NO₃, TRP, GLU, ADH, URE, ESC, GEL, PNPG).

Poté se otevře ampule média API® AUX Medium a její obsah je smíchán a zhomogenizován s 200 µl předešle používané suspenze. Nově vzniklá suspenze je pomocí automatické pipety přenesena do zbývajících mikrozkušavek (GLU, ARA, MNE, MAN, NAG, MAL, GNT, CAP, ADI, MLT, CIT a PAC). K třem podtrženým testům (GLU, ADH, URE) je jednotlivě přidána kapka minerálního oleje pro vytvoření anaerobního prostředí. Testovací proužek je do inkubačního boxu a vložen do termostatu na 24 hodin při teplotě 37 °C.



Obrázek 9: Testovací proužek API® 20 NE připravený k inkubaci (zdroj: vlastní).

Odečet:

Výsledky se odečítají podle odečítací tabulky jako pozitivní (+) či negativní (-), podle zbarvení, transparentnosti či opaknosti. Část testů je možno hodnotit hned po inkubaci, u zbylých je třeba přidat činidla vedoucí k reakci. Konkrétně se jedná o testy: NO₃ a TRP.

U testu NO₃ se do jamky přidává jedna kapka činidla NIT 1 a jedna kapka činidla NIT 2. Pokud se po 5 minutách jamka zbarví červeně, jedná se o pozitivní reakci, pokud se jamka nezbarví a vyskytnou se v ní drobné bubliny (vzniklé tvorbou dusíku), je nutno přidat 2 až 3 mg reagensie Zn. Jamka, která po 5 minutách nemění své zbarvení, je hodnocena jako pozitivní, jamka, která se zbarví růžovočerveně je hodnocena jako negativní.

U testu TRP se přidá 1 kapka činidla JAMES a okamžitě se hodnotí reakce. Růžové zbarvení značí pozitivní reakci.

Výsledky testů jsou zaneseny do odečítací tabulky, kde jsou jednotlivé testy ve skupinách po třech s jednotlivě přidělenými hodnotami, které se sčítají v závislosti na pozitivitě testu. Výsledné číselné hodnoty jsou zaneseny do identifikačního softwaru APIWEB, kde dojde k identifikaci bakterie.

Tabulka 2: Výsledky API® 20 NE u Pseudomonas aeruginosa (zdroj: vlastní).

Test:	NO ₃	TRP	<u>GLU</u>	<u>ADH</u>	<u>URE</u>	ESC	GEL
Výsledek:	+	-	-	V	V	-	+
Test:	PNPG	<u>GLU</u>	<u>ARA</u>	<u>MNE</u>	<u>MAN</u>	<u>NAG</u>	<u>MAL</u>
Výsledek:	-	+	-	-	+	+	-
Test:	<u>GNT</u>	<u>CAP</u>	<u>ADI</u>	<u>MLT</u>	<u>CIT</u>	<u>PAC</u>	OX
Výsledek:	+	+	+	+	+	-	+

6.7 Stanovení citlivosti bakterií vůči ATB diskovou difúzní metodou

Stanovení citlivosti bakterií vůči antimikrobiálním látkám se provádí z důvodu zvolení vhodné léčby pacienta. Disková difúzní metoda pracuje na principu, kdy se za stanovené koncentrace bakterie na agaru vytvoří či nevytvoří přípustná inhibiční zóna kolem antibiotického disku.

Stanovení citlivosti se provádí dle doporučení Národní referenční laboratoře pro antibiotika a dle doporučení EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

Postup provedení:

Ke stanovení citlivosti diskovou difúzní metodou se využívá čistá kultura kmene bakterie. Kultura se přenesse pomocí bakteriologické kličky do zkumavky s fyziologickým roztokem a zhomogenizuje se na třepačce tak, aby výsledný zákal měl hodnotu 0,5 McFarlanda. Do zkumavky je dále ponořen sterilní tampon, pomocí kterého se nanese rovná čára na agar a následně dojde k roztěru 3 směry. Jako agar se pro stanovení citlivosti patogenů v moči se především využívá Mueller-Hintonův agar bez krve.

Na agar jsou následně pomocí dispenzoru nanесeny antimikrobiální disky, dle předpokládaného patogena. Agar označený číslem pacienta, datem provedení a názvem použité sady antibiotických disků je vložen do termostatu na 18 až 24 hodin při 37 °C.

Odečet:

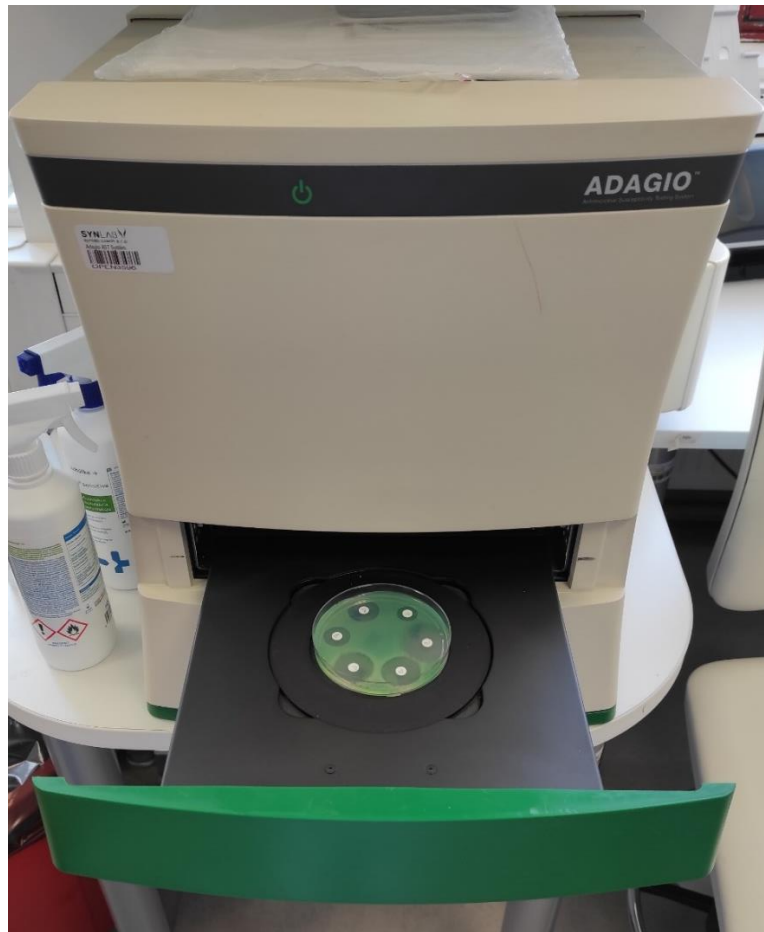
Po inkubaci se provádí odečet. Kmen musí na půdě narůst v čisté kultuře. Měří se inhibiční zóny kolem antibiotických disků. K měření se využívá posuvné kalibrované měřítko, kalibrované pravítko nebo čtecí zařízení ADAGIO (měří se procházející světlo).

Interpretace:

Stanovovaný mikroorganismus může být hodnocen jako C (citlivý při standardním dávkovacím režimu), jako I (citlivý při zvýšené expozici) nebo jako R (rezistentní).



Obrázek 10: Antibiogram- *Pseudomonas aeruginosa* (zdroj: vlastní).



Obrázek 11: Čtecí zařízení ADAGIO (zdroj: vlastní).

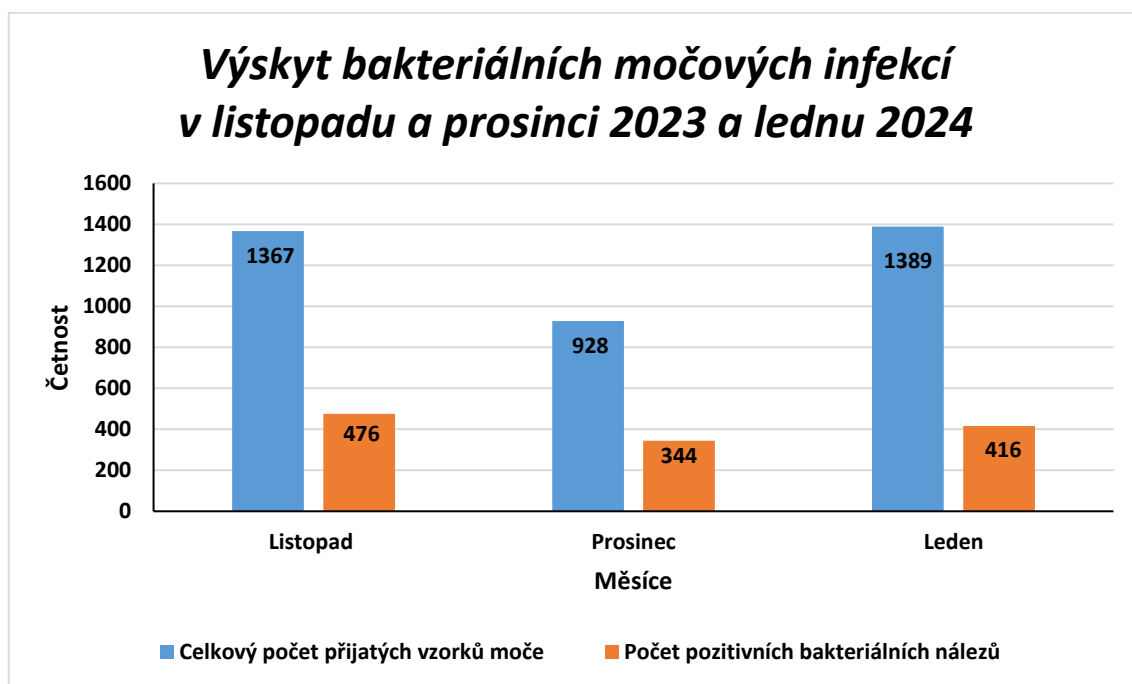
7 Výsledky

Data pro moji bakalářskou práci byla získána z laboratoře Synlab České Budějovice, sekce mikrobiologie. Z laboratorního informačního systému (LIS) jsem zpracoval data za období listopadu a prosince roku 2023 a ledna roku 2024. Z celkového počtu 3684 přijatých vzorků moči, bylo 1236 vzorků s pozitivním mikrobiálním nálezem, přičemž 30 vzorků moči bylo pozitivní na *Pseudomonas aeruginosa*.

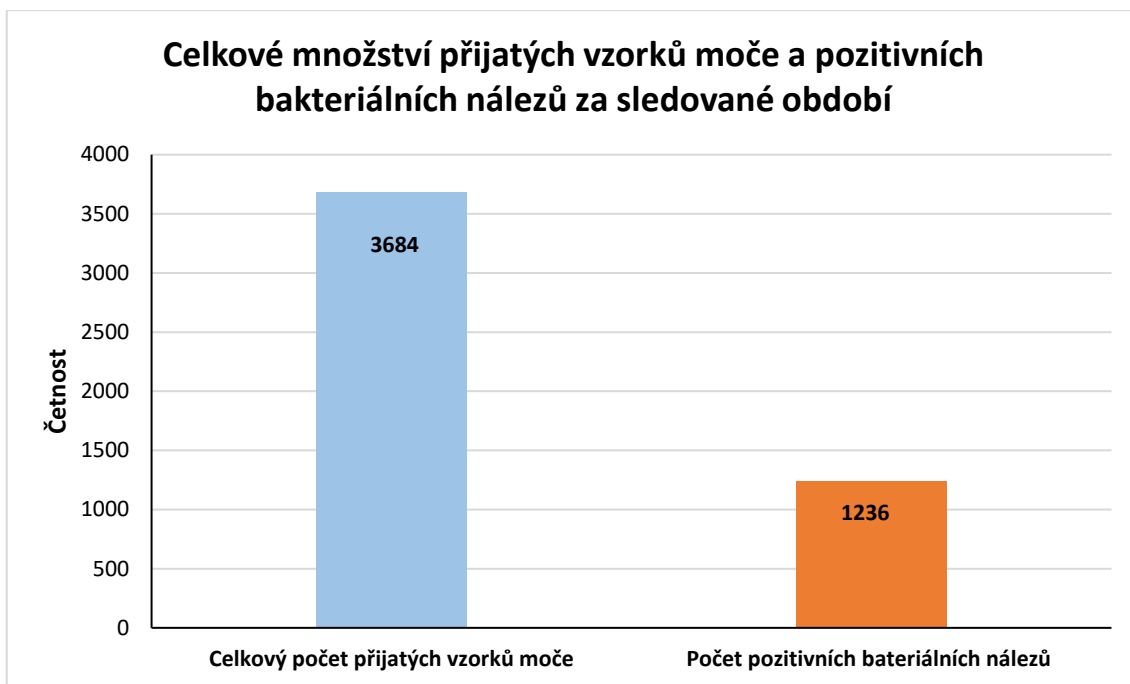
7.1 Četnost výskytu bakteriálních močových infekcí ve sledovaném období

V listopadu 2023 bylo do laboratoře Synlab přijato 1367 vzorků moči z čehož 476 vzorků bylo s pozitivním bakteriálním nálezem. V prosinci 2023 bylo přijato 928 vzorků moči z čehož 344 bylo s pozitivním bakteriálním nálezem a v lednu 2024 bylo přijato 1389 vzorků moči, přičemž s pozitivním bakteriálním nálezem bylo 416 vzorků moči.

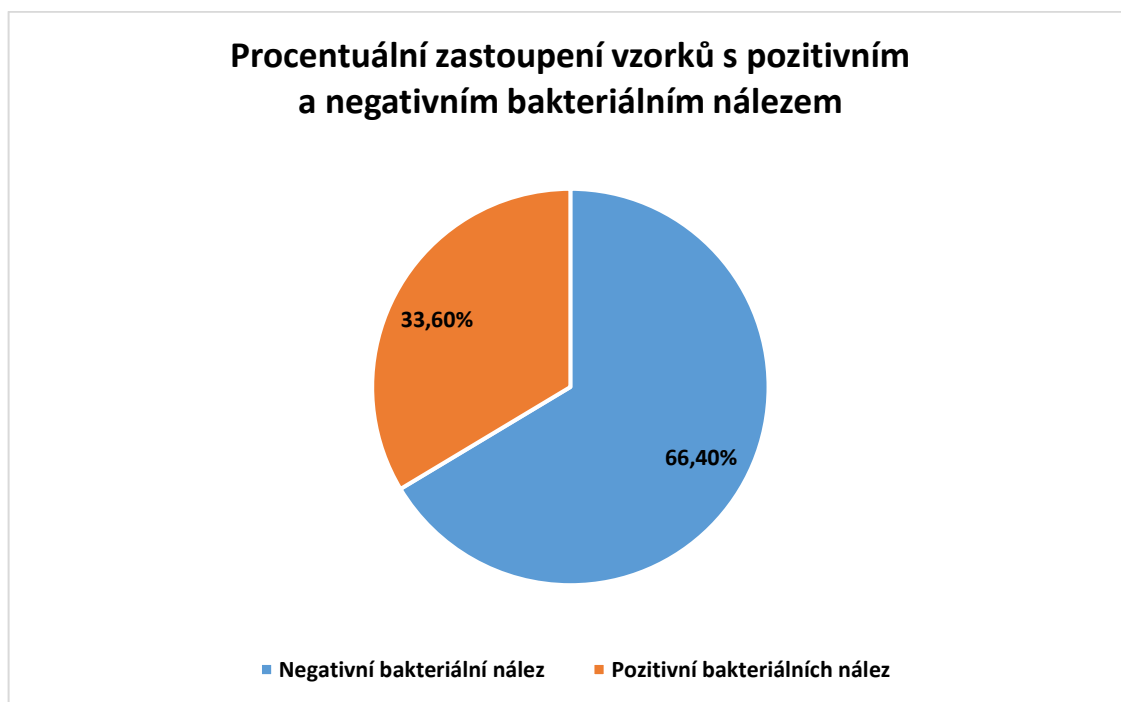
Celkem bylo během tříměsíčního sledovaného období přijato 3684 vzorků moči, přičemž s bakteriálním pozitivním nálezem bylo 1236 vzorků, tedy jen 33,6 % procent přijatých vzorků mělo pozitivní bakteriální nález.



Obrázek 12: Výskyt bakteriálních močových infekcí v listopadu a prosinci 2023 a lednu 2024 (zdroj: vlastní).



Obrázek 13: Celkové množství přijatých vzorků moče a pozitivních bakteriálních nálezů za sledované období (zdroj: vlastní).

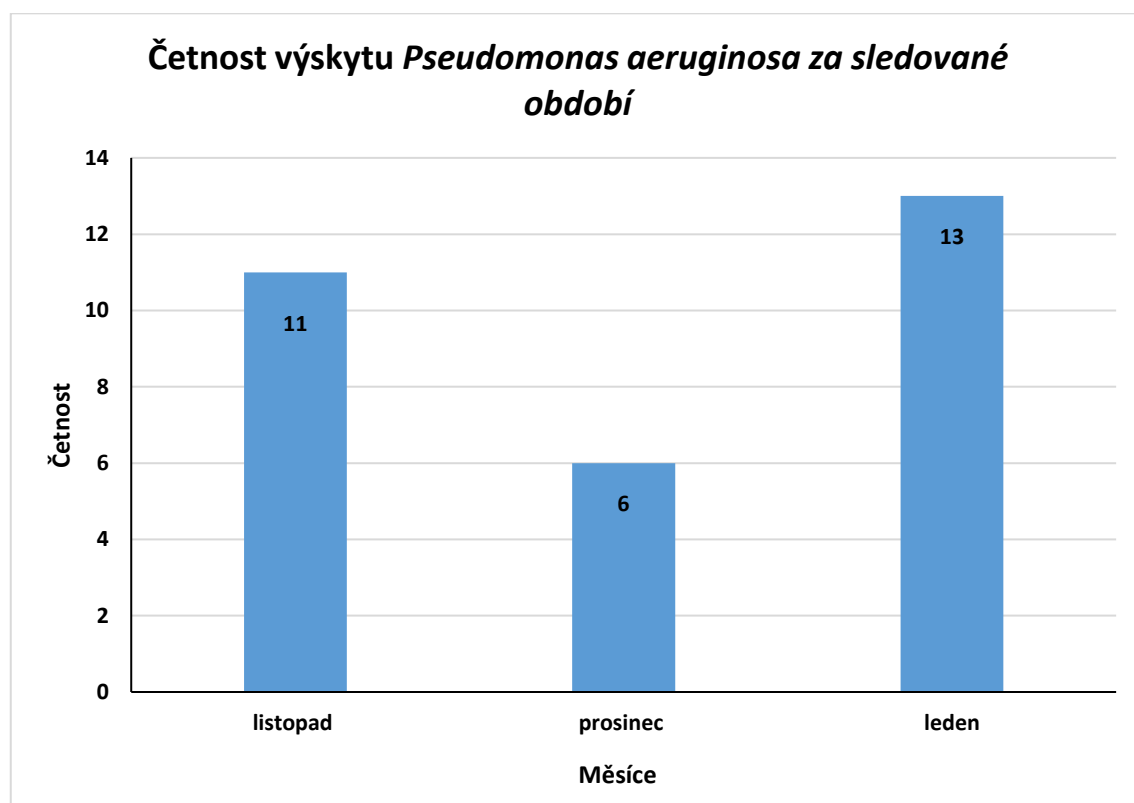


Obrázek 14: Procentuální zastoupení vzorků s pozitivním a negativním bakteriálním nálezem (zdroj: vlastní).

7.2 Četnost výskytu *Pseudomonas aeruginosa* ve sledovaném období

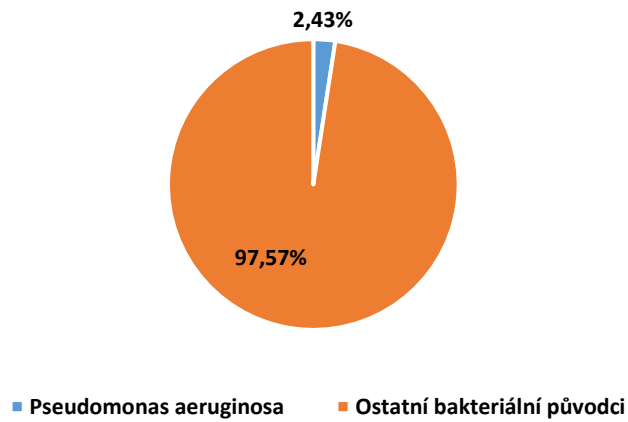
Během listopadu 2023 bylo s pozitivním bakteriálním nálezem diagnostikováno 476 vzorků moče, z čehož bylo 11 vzorků pozitivních na výskyt *Pseudomonas aeruginosa*. V prosinci 2023 bylo z 344 pozitivních nálezů 6 způsobených *Pseudomonas aeruginosa*. V lednu 2024 pak z 416 pozitivních vzorků 13 pozitivních na *Pseudomonas aeruginosa*.

Celkem bylo za tříměsíční sledované období 30 vzorků s pozitivním nálezem *Pseudomonas aeruginosa* z 1236 vzorků s pozitivním bakteriálním nálezem. Za sledované období tedy přibližně 2,43 % ze všech vzorků s pozitivním bakteriálním nálezem.



Obrázek 15: Četnost výskytu *Pseudomonas aeruginosa* za sledované období (zdroj: vlastní).

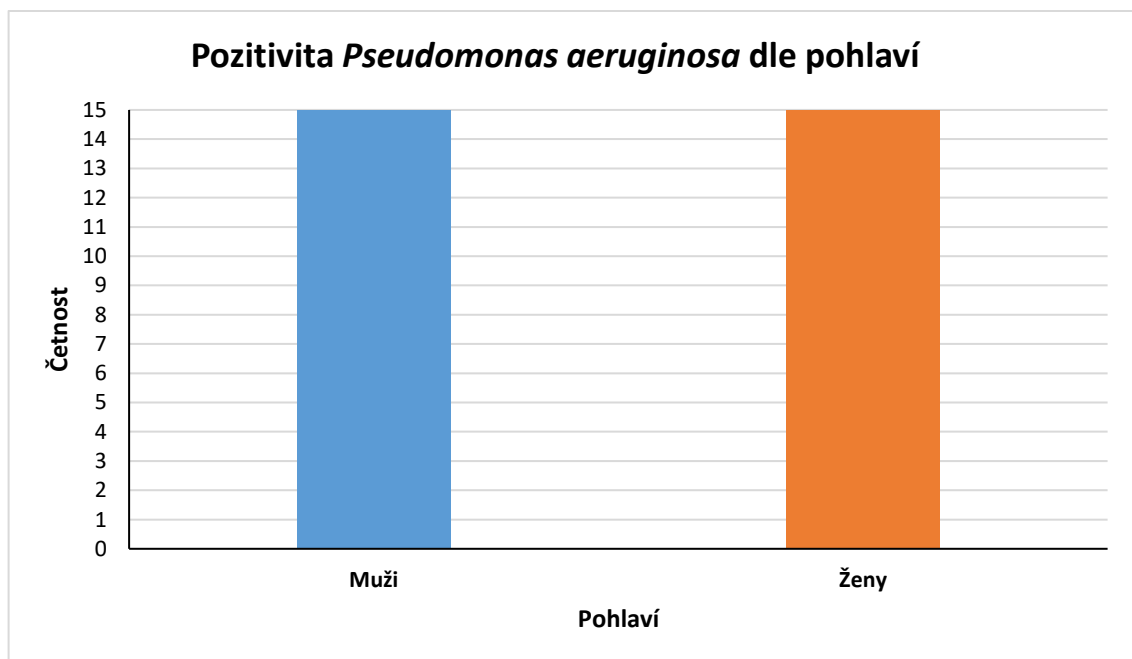
Procentuální zastoupení výskytu *Pseudomonas aeruginosa* a ostatních bakteriálních původců za celé sledované období



Obrázek 16: Procentuální zastoupení *Pseudomonas aeruginosa* a ostatních bakteriálních původců za celé sledované období (zdroj: vlastní).

7.3 Poměr počtu mužů a žen s pozitivním nálezem *Pseudomonas aeruginosa*

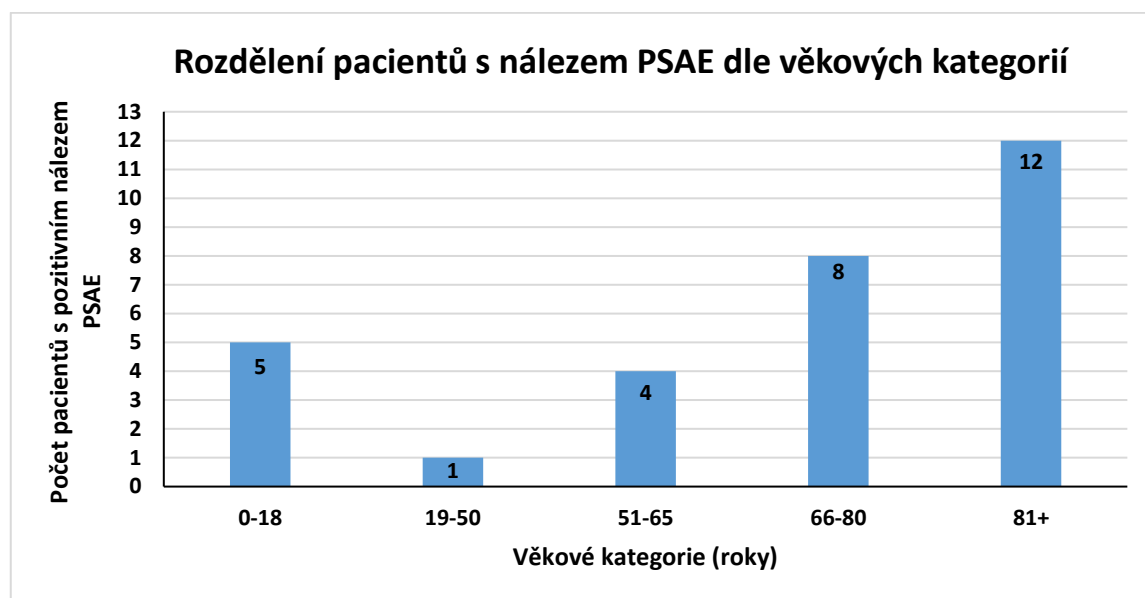
Z 30 pozitivních vzorků na bakterii *Pseudomonas aeruginosa* bylo 15 pozitivních vzorků u mužů a 15 pozitivních vzorků u žen. Lze tedy říci, že vzorky pozitivní na *Pseudomonas aeruginosa* byly z 50 % od mužů a z 50 % od žen.



Obrázek 17: Pozitivita *Pseudomonas aeruginosa* dle pohlaví (zdroj: vlastní).

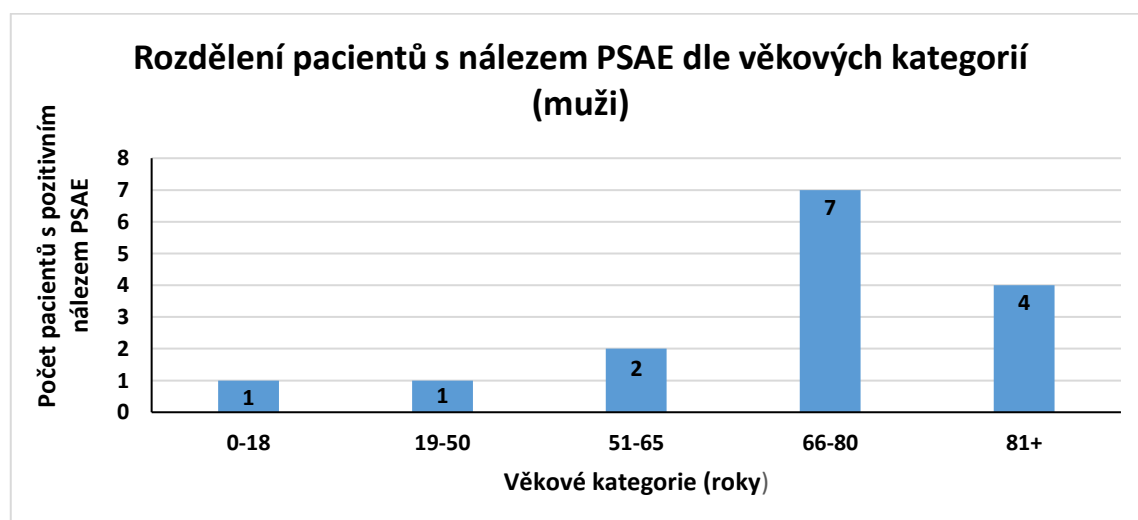
7.4 Detekce *Pseudomonas aeruginosa* dle věku

Bakterie *Pseudomonas aeruginosa* byla dle věkových skupin detekována nejčastěji u pacientů starších 80 let. Nejmenší zastoupení se vyskytovalo u pacientů ve věkové skupině 18-50 let. S výjimkou věkové skupiny 0-18 měl výskyt *Pseudomonas aeruginosa* vzestupnou tendenci, tedy čím starší byli pacienti, tím více se vyskytovala močová infekce způsobovaná PSAE.



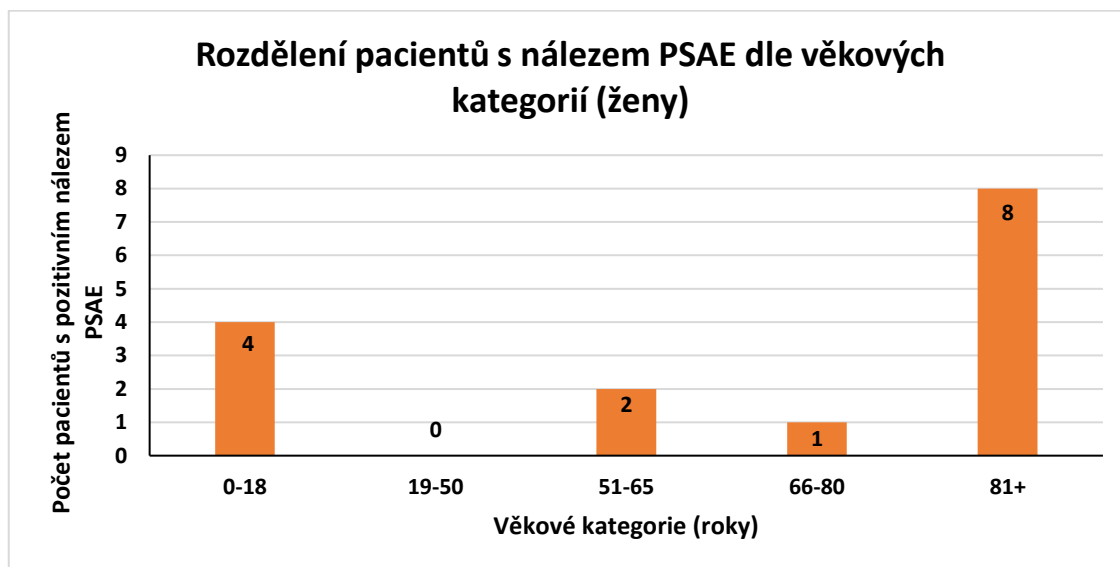
Obrázek 18: Rozdělení pacientů s nálezem PSAE dle věkových kategorií (zdroj: vlastní).

U mužů se většina nálezů vyskytovala ve věkové kategorii 66-80 let a druhá nejvíce zastoupená kategorie byla nad 81 let



Obrázek 19: Rozdělení pacientů s nálezem PSAE dle věkových kategorií (muži) (zdroj: vlastní).

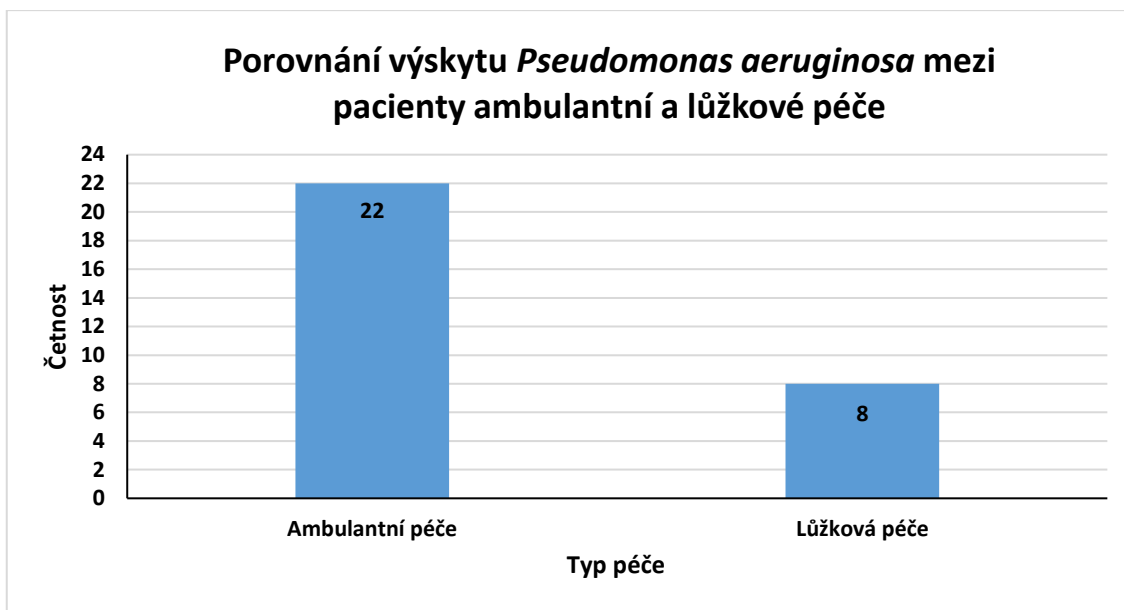
U žen byla nejvíce zastoupena kategorie s pacientkami staršími 81 let a naopak věková kategorie 66-80 let je zastoupena jen 1 pacientkou. Kategorie 19-50 let, na rozdíl od mužů není zastoupena ani jednou pacientkou. Naopak věková skupina 0-18 let je zastoupena mnohem početněji (4) než u mužů (1).



Obrázek 20: Rozdělení pacientů s nálezem PSAE dle věkových kategorií (ženy) (zdroj: vlastní).

7.5 Porovnání výskytu PSAE mezi pacienty ambulantní a lůžkové péče

Z laboratorního informačního systému se mi také podařilo získat informaci, z kterého typu zdravotnického či sociálního zařízení byly vzorky do laboratoře odeslány. Z celkového množství 30 vzorků s pozitivním nálezem na PSAE pocházelo 22 vzorků z ambulantní péče, nejčastěji od praktických lékařů a ojediněle od gynekologických lékařů a od lékařů pro děti a dorost. Zbýlých 8 pozitivních vzorů z 30 pocházelo ze zařízení poskytujících lůžkovou péči, především z léčen dlohodobě ležících (LDN) a z domovů pro seniory.



Obrázek 21: Porovnání výskytu PSAE mezi pacienty ambulantní a lůžkové péče (zdroj: vlastní).

8 Diskuse

V mé bakalářské práci jsem se zabýval průkazem bakterie *Pseudomonas aeruginosa* ve vzorcích moči. Během listopadu a prosince 2023 a ledna 2024 jsem stanovoval četnost výskytu bakteriálních infekcí z přijatých vzorků moči a následně stanovoval množství bakteriálních infekcí způsobovaných PSAE. U vzorků pozitivních na PSAE jsem následně vyhodnocoval poměr počtu pacientů dle jejich pohlaví, dle věkových kategorií a zda se jednalo o pacienty ambulantní či lůžkové péče. Vzorky jsem zpracovával v laboratoři Synlab České Budějovice v sekci mikrobiologie a data jsem získal z laboratorního informačního systému dané laboratoře.

Z celkového počtu 3684 přijatých vzorků moče za tříměsíční sledované období bylo 1236 vzorků s pozitivním bakteriálním nálezem, tedy 33,6 % přijatých vzorků bylo pozitivních na bakteriální nález a zbylých 66,4 % bylo negativních. Nejedná se jen o negativitu jakožto o nepřítomnost bakterií v moči, ale jedná se i o vzorky moče, které nevykazovali v předkultivačním screeningu nález bakterií vyšší nebo roven 100 / μ l (10^5 /ml) a vzorky moči, které nevykazovaly nález leukocytů vyšší nebo roven 10/ μ l (10^4 /ml).

Z celkového počtu 1236 vzorků s pozitivním bakteriálním nálezem bylo 30 vzorků od stejného počtu pacientů, pozitivních na přítomnost *Pseudomonas aeruginosa*. Procentuálně bylo z celkového počtu vzorků s pozitivním bakteriálním nálezem 2,43 % tvořeno PSAE a zbylých 97,57 % ostatními bakteriálními původci. Dle Hurycha et al. (2021), patří mezi nejčastější původce bakteriálních močových infekcí *Escherichia coli*, která se vyskytuje až v 80 % případů a dále *Staphylococcus saprophyticus*, který způsobuje až 10 % uroinfekcí. Zbylá močové infekce jsou tvořeny bakteriemi *Enterococcus spp.*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiela spp.*, *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* a ostatními bakteriálními původci. Vzhledem k mnou zjištěnému procentuálnímu zastoupení PSAE mezi močemi pozitivními na bakteriální nález a daty, které udává Hurych et al. (2021), lze usuzovat že výskyt PSAE během sledovaného období v laboratoři Synlab České Budějovice odpovídal normálnímu zastoupení mezi pozitivními bakteriálními nálezy, tedy za předpokladu, že většina uroinfekcí byla tvořena bakteriemi *Escherichia coli* a *Staphylococcus saprophyticus* a zbytek byl tvořen méně významnými původci močových infekcí jakožto *Enterococcus spp.*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiela spp.* a *Enterobacter spp.* a jiné. Tuto teorii podporuje i výzkumná část

Postupové (2023), která ve své bakalářské práci uvádí, že z 2791 pozitivně vyhodnocených vzorků moče byly 2 % infekcí způsobených *Pseudomonas aeruginosa*.

Zastoupení dle pohlaví mezi 30 pacienty s pozitivním nálezem *Pseudomonas aeruginosa* bylo tvořeno 15 muži a 15 ženami. Tedy 50 % infekcí PSAE se vyskytlo u žen a 50 % u mužů. Tento výsledek odporuje typické vyšší prevalenci močových infekcí u žen. V potaz je ovšem třeba vzít věkové zastoupení pacientů. Hora (2021) udává, že prevalence močových infekcí u žen je až 30x častější než u mužů ale zároveň, že s přibývajícím věkem se u mužského pohlaví výskyt močových infekcí dorovná. Když porovnáme věkové kategorie 66-80, které můžeme definovat jako pacienty s starší, zjistíme, že mužů je v této kategorii celkem 7 a žena je pouze 1. Naopak u věkové kategorie 0-18, tedy mladých pacientů, je muž pouze 1 a ženy jsou 4. Tím lze usoudit že Hora (2021) má pravdu v tom že u žen jsou infekce močových cest častější v mladším věku a také že ve starším věku muži ženy dorovnávají v počtu uroinfekcí, v našem případě dokonce předbíhají. To může být samozřejmě také způsobeno malou výzkumnou skupinou. Ve věkové kategorii 81+ převládá ženské pohlaví 8 ku 4 mužům, nicméně nesmíme opomenout, že průměrný věk žen je všeobecně vyšší než průměrný věk mužů.

U všech 30 vzorků moče se dalo z LISu zjistit, z jakého zařízení byl vzorek odeslán. Zařízení byla na základě toho rozdělena dle typu péče, kterou poskytují na 2 skupiny: zařízení poskytující ambulantní péči, tvořenou zejména praktickými lékaři, ale také gynekology a lékaři pro děti a dorost a na zařízení poskytující lůžkovou péči, léčebny dlouhodobě nemocných a domovy pro seniory. 22 vzorků pocházelo z ambulantní péče a 8 vzorků z lůžkové péče. To lze sice považovat za výjimku, jelikož všeobecně je PSAE spojována se zařízeními poskytující lůžkovou péči, nicméně je nutné podotknout, že laboratoř Synlab České Budějovice odebírá velké množství vzorků především od ambulantních zařízení a některá zařízení s vysokými počty ležících pacientů, jakými jsou například nemocnice, mají ve většině případů své vlastní laboratoře a služeb laboratoře Synlab České Budějovice nemají potřebu využívat.

Je třeba také opět zdůraznit, že výzkumná skupina není příliš velká a samotná výzkumná část se nezaobírá dlouhodobým trendem výskytu *Pseudomonas aeruginosa*.

9 Závěr

V mé bakalářské práci jsem se věnoval gramnegativní bakterii *Pseudomonas aeruginosa* jako původci močových infekcí. V teoretické části jsem se nejprve zaměřil na anatomický popis vylučovací soustavy, popis bakteriálních močových infekcí a klasifikaci jednotlivých diagnóz a typů infekcí. Následně jsem se věnoval rodu *Pseudomonas*, z něhož jsem přešel do podrobného popisu *Pseudomonas aeruginosa* zahrnující morfologii a vnější stavbu bakterie, extracelulární produkty, tvorbu biofilmu, adherenci, motilitu, její rezistenci vůči antimikrobiálním látkám i možnosti terapie.

V praktické části jsem se zabíral postupem zpracování moče v mikrobiologické laboratoři Synlab České Budějovice, kdy jsem si osvojil průkaz bakteriálních původců v moči, zejména *Pseudomonas aeruginosa*, především pomocí kultivačních metod, ale také pomocí metod založených na biochemických vlastnostech bakterií i pomocí metody MALDI-TOF. V neposlední řadě jsem si také osvojil stanovení citlivosti bakterií k antibiotikům pomocí diskové difuzní metody.

Součástí mé práce bylo také zpracování dat, kdy jsem sledoval počet bakteriálních nálezů v přijatých vzorcích moče a počet nálezů *Pseudomonas aeruginosa*. Za tříměsíční sledované období zahrnující listopad a prosinec roku 2023 a leden 2024 se vyskytl nález *Pseudomonas aeruginosa* ve 30 případech. To tvořilo 2,43 % nálezů ze všech pozitivních bakteriálních nálezů za sledované období. Zpracoval jsem data zahrnující pacienty s pozitivním nálezem *Pseudomonas aeruginosa*, konkrétně jejich zastoupení dle pohlaví, kdy ze 30 pacientů bylo 15 mužů a 15 žen. Jedním ze sledovaných parametrů byl také věk, kdy většinu pacientů u žen tvořila věková kategorie starší 81 let a u mužů věková kategorie 66-80 let následovaná kategorií starší 81 let. U žen byla také nezanedbatelný nález u pacientek mladších 18 let, kdy tato kategorie byla druhá nejpočetnější u žen. Posledním sledovaným ukazatelem byl typ zařízení, ze kterého byla moč odeslána. 22 vzorků moči pocházelo z ambulantních zařízení a 8 vzorků ze zařízení lůžkové péče.

Na samotné diagnostice močových infekcí a zejména diagnostice *Pseudomonas aeruginosa* v moči v laboratoři Synlab České Budějovice neshledávám žádné nové možnosti zlepšení diagnostiky. Snad bych jen zdůraznil, aby se dále pokračovalo v dodržování verifikovaných standartních operačních postupů, dodržování správných zásad práce v mikrobiologické laboratoři a využívání především moderních způsobů identifikace bakteriálních kmenů jako je MALDI-TOF a ustoupení od využívání

identifikačních metod založených na biochemických vlastnostech bakterií, konkrétně biochemické řadě (API® 20 NE) a Endově půdě s biochemickým klínem, které jsou příliš nespecifické, náročné na množství personálu a časově náročné.

Na závěr mé bakalářské práce bych chtěl zdůraznit, že ačkoliv není výskyt *Pseudomonas aeruginosa* tak významný jako výskyt jiných bakteriálních původců, nelze tuto bakterii brát na lehkou váhu zejména pro její širokou škálu virulentních faktorů a s tím spojenou neustále vzrůstající rezistenci vůči antimikrobiálním látkám.

10 Zdroje

BARTONÍČKOVÁ, K., 2005. *Infekce močových cest v komunitě. Interní medicína pro praxi* [online]. Praha: Solen, č. 12, str. 548-550 [cit. 2023-09-10]. ISSN 1803-5256. Dostupné z: <https://www.internimediceina.cz/pdfs/int/2005/12/06.pdf>.

BARTONÍČKOVÁ, K., BÉBROVÁ, E., BENEŠ, J., ET AL., 2006. *Doporučený postup pro antibiotickou léčbu komunitních infekcí ledvin a močových cest v primární péči* [online]. Praha: Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP, Odborná společnost praktických dětských lékařů ČLS JEP [cit. 2023-08-09]. Dostupné z: https://www.splm.cz/_download/0000016e-9301-df8d-abee-fff360b70000 nebo z https://www.cls.cz/dokumenty/dp_imc.doc.

BEDNÁŘ, M., FRAŇKOVÁ, V., SCHINDLER, J., ET AL., 1996. *Lékařská mikrobiologie: Bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha: Triton. ISBN 80-2380-297-6.

COLGAN, R., WILLIAMS, M., 2011. *Diagnosis and treatment of acute uncomplicated cystitis*. American family physician [online]. 84(7), 771–776 [cit. 2023-09-10]. Dostupné z: <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2011/1001/p771.html>.

DIGGLE, S., WHITELEY, M., 2020. *Microbe Profile: Pseudomonas aeruginosa: opportunistic pathogen and lab rat*. Microbiology (Reading, England), 166(1), 30–33. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000860>.

DYLEVSKÝ, I., 2009. *Funkční anatomie*. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-3240-4.

EDWARD, E.A., SHEHAWY, M. R., ABOUELFETOUH A., ET AL., 2023. *Prevalence of different virulence factors and their association with antimicrobial resistance among Pseudomonas aeruginosa clinical isolates from Egypt*. BMC Microbiol 23, 161. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02897-8>.

FIALA, P., VALENTA, J., EBERLOVÁ, L., 2015. *Stručná anatomie člověka*. Praha: Karolinum. ISBN 978-80-246-2693-2.

GHSSEIN, G., EZZEDDINE, Z., 2022. *A Review of Pseudomonas aeruginosa Metallophores: Pyoverdine, Pyochelin and Pseudopaline*. Biology, 11(12), 1711. <https://doi.org/10.3390/biology11121711>.

- GOMILA, M., PENA, A., MULET, M., ET AL, 2015. *Phylogenomics and systematics in Pseudomonas* [online]. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00214>.
- GUPTA, K., 2023. *Acute simple cystitis in females* [online]. [cit. 2023-09-10]. ISSN 1090-3496. Dostupné z: <https://www.uptodate.com/contents/acute-simple-cystitis-in-females#H899949262>.
- HAMAD, M. N. F., MARREZ, D. A., EL-SHERBIENY, S. M. R., 2020. *Toxicity Evaluation and Antimicrobial Activity of Purified Pyocyanin from Pseudomonas aeruginosa*. DOI: <https://doi.org/10.33263/BRIAC106.69746990>.
- HERNESS, J., BUTTOLPH, A., HAMMER, N. C., 2020. Acute Pyelonephritis in Adults: Rapid Evidence Review. *American family physician*, ISSN 1532-0650.
- HINSA, S. M., O'TOOLE, G. A., 2004. *Mechanisms of Adhesion by Pseudomonads*. In: Ramos, JL. (eds) *Pseudomonas*. Springer, Boston, MA. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9086-0_23
- HORA, M., DOLEJŠOVÁ, O., 2021. *Urologie pro studenty všeobecného lékařství*. Praha: Karolinum. ISBN 978-80-246-4544-5.
- HORNA, G., RUIZ, J., 2021. *Type 3 secretion system of Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiological research*, 246, 126719. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126719>.
- HURYCH, J., ŠTÍCHA, R., ET AL, 2021. *Lékařská mikrobiologie- repetitorium, 3. vydání*. Praha: Triton. ISBN 978-80-7553-976-2.
- HUSSAIN, E., 2019. *Pseudomonas aeruginosa: Pathogenesis in Urinary Tract Infections* [online]. Liverpool [cit. 2023-01-23]. Dostupné z: https://livrepository.liverpool.ac.uk/3079690/1/200179909_Nov2019.pdf.
- HUSZCZYNSKI, S. M., LAM, J. S., KHURSIGARA, C. M., 2019. *The Role of Pseudomonas aeruginosa Lipopolysaccharide in Bacterial Pathogenesis and Physiology*. *Pathogens* (Basel, Switzerland), 9(1), 6. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens9010006>.

KANG, D., KIRIENKO, D. R., WEBSTER, P., ET AL, 2018. *Pyoverdine, a siderophore from Pseudomonas aeruginosa, translocates into C. elegans, removes iron, and activates a distinct host response*. Virulence, 9(1), 804–817. <https://doi.org/10.1080/21505594.2018.1449508>.

MATEU-BORRÁS, M., ZAMORANO, L., GONZÁLES-ALSINA, A., ET AL, 2022. *Molecular Analysis of the Contribution of Alkaline Protease A and Elastase B to the Virulence of Pseudomonas aeruginosa Bloodstream Infections*. Front. Cell. Infect. Microbiol. 11:816356. DOI: 10.3389/fcimb.2021.816356.

MATOUŠKOVÁ, M., HANUŠ, M., MÁŠOVÁ, I., 2002. *EPIDIDYMITIS ACUTA - UROINFEKCE NEBO STD? Česká urologie*. Praha: Česká lékařská společnost J. E. Purkyně. č. 1, str. 20- 22. ISSN 1211-8729.

MIRANDA, S. W., ASFAHL, K. L., DANDEKAR, A. A., ET AL, 2022. *Pseudomonas aeruginosa Quorum Sensing. Advances in experimental medicine and biology*, 1386, 95–115. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-031-08491-1_4

MITTAL, R., AGGARWAL, S., SHARMA, S., ET AL, 2009. *Urinary tract infections caused by Pseudomonas aeruginosa: a minireview*. Journal of infection and public health, 2(3), 101–111. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2009.08.003>

PACHORI, P., GOTHALWAL, R., GANDHI, P., 2019. *Emergence of antibiotic resistance Pseudomonas aeruginosa in intensive care unit; a critical review*. Genes & diseases, 6(2), 109–119. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2019.04.001>.

PARKER, S., 2016. *Lidské tělo*. Praha: Euromedia Group, k. s. – Knižní klub. ISBN 978-80-242-5301-5.

POOL, K., 2011. *Pseudomonas aeruginosa: resistance to the max*. Front. Microbio. DOI: 10.3389/fmicb.2011.00065.

POSTUPOVÁ, L., 2023. *Nejčastější původci infekcí močových cest*. Bakalářská práce, vedoucí Jand'ourek, Ondřej. Hradec Králové: Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra biologických a lékařských věd. [cit. 2024-02-26]. Dostupné z: <http://hdl.handle.net/20.500.11956/181192>.

- PORŠOVÁ, M., PORŠ, J., KOLOMBO, I., ET AL, 2006. Prostatický syndrom. *Urologie pro praxi*. Olomouc: Solen, s. r. o. č. 1, str. 24- 27. ISSN 1213-1768
- ROZSYPAL, H., 2023. *Základy infekčního lékařství*. Praha: Karolinum. ISBN 978-80-246-5443-0
- SCHINDLER, J., 2014. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů. 2., dopl. a přeprac. vyd.* Praha: Grada. ISBN 978-80-247-4771-2.
- SIKORA, A., ZAHRA, F., 2023. *Nosocomial Infections* [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. [cit. 2023-10-13]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559312/>.
- SOBERÓN-CHÁVEZ, G., GONZÁLES-VALDEZ, A., SOTO-ACEVES, M. P., ET AL, 2021. *Rhamnolipids produced by Pseudomonas: from molecular genetics to the market. Microbial biotechnology*, 14(1), 136–146. DOI: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13700>.
- TANOMAND, A., NAJAR PEERAVEH, S., FARAJNIA, S., ET AL, 2013. *Protective Properties of Nontoxic Recombinant Exotoxin A (Domain I-II) Against Pseudomonas aeruginosa Infection. Iranian Journal of Biotechnology*, 11(3), 193-198. doi: 10.5812/ijb.10149.
- TEPLAN, V., HORÁČKOVÁ, M., BÉBROVÁ, ET AL, 2004. *Infekce ledvin a močových cest v dospělém a dětském věku*. Praha: Grada publishing. ISBN 978-80-247-6344-6.
- VAŠATOVÁ, K., 2022. *Quorum sensing: jeho role v mikrobiálních společenstvech* [online]. Brno, 2022 [cit. 2024-01-26]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/th/sodah/>.
- VOTAVA, M., 2005. *Lékařská mikrobiologie obecná. 2. přepracované vydání*. Brno: Neptun. ISBN 80-868-5000-5.
- VOTAVA, M., WOZNICOVÁ, V., ZAHRADNÍČEK, O., ET AL, 2003. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun. ISBN 80-902-8966-5.
- VOTAVA, M., RŮŽIČKA, F., HOLÁ, V., ET AL, 2010. *Lékařská mikrobiologie-vyšetřovací metody*. Praha: Neptun. ISBN 978-80-86850-04-8.

11 Seznam obrázků a tabulek

Obrázky:

Obrázek 1: Analyzátor UF- 4000 (zdroj: vlastní).....	34
Obrázek 2: Schéma provedení inokulace na UriSelect™4 (zdroj: vlastní).....	36
Obrázek 3: Kolonie Pseudomonas aeruginosa na UriSelect™4(zdroj: vlastní).....	36
Obrázek 4: Čistá kultura Pseudomonas aeruginosa na krevním agaru (zdroj: vlastní) ..	37
Obrázek 5: MALDI- destička s nanesenými kulturami (zdroj: vlastní).....	38
Obrázek 6: Přístroj MALDI- TOF od firmy BRUKER (zdroj: vlastní).....	39
Obrázek 7: Pseudomonas aeruginosa na Endově půdě s biochemickým klínem	41
Obrázek 8: Schéma provedení inokulace na Endův agar s biochemickým klínem	41
Obrázek 9: Testovací proužek API® 20 NE připravený k inkubaci (zdroj: vlastní).....	42
Obrázek 10: Antibiogram- Pseudomonas aeruginosa (zdroj: vlastní).....	45
Obrázek 11: Čtecí zařízení ADAGIO (zdroj: vlastní).....	45
Obrázek 13: Výskyt bakteriálních močových infekcí v listopadu a prosinci 2023 a lednu 2024 (zdroj: vlastní).....	46
Obrázek 14: Celkové množství přijatých vzorků moče a pozitivních bakteriálních nálezů za sledované období (zdroj: vlastní).....	47
Obrázek 15: Procentuální zastoupení vzorků s pozitivním a negativním bakteriálním nálezem (zdroj: vlastní).....	47
Obrázek 16: Četnost výskytu Pseudomonas aeruginosa za sledované období (zdroj: vlastní).....	48
Obrázek 17: Procentuální zastoupení Pseudomonas aeruginosa a ostatních bakteriálních původců za celé sledované období (zdroj: vlastní).....	49
Obrázek 18: Pozitivita Pseudomonas aeruginosa dle pohlaví (zdroj: vlastní).....	49
Obrázek 19: Rozdělení pacientů s nálezem PSAE dle věkových kategorií (zdroj: vlastní).....	50
Obrázek 20: Rozdělení pacientů s nálezem PSAE dle věkových kategorií (muži) (zdroj: vlastní).....	50
Obrázek 21: Rozdělení pacientů s nálezem PSAE dle věkových kategorií (ženy) (zdroj: vlastní).....	51
Obrázek 22: Porovnání výskytu PSAE mezi pacienty ambulantní a lůžkové péče (zdroj: vlastní).....	52

Tabulky:

Tabulka 1: Vlastnosti Pseudomonas aeruginosa na Endově půdě s biochemickým klínem (zdroj: vlastní).....	40
Tabulka 2: Výsledky API® 20 NE u Pseudomonas aeruginosa (zdroj: vlastní).....	43

12 Seznam použitých zkratek

+ – pozitivní

- – negativní

ABU – asymptomatická bakteriurie

ADH – L-arginin

ADI – kyselina adipová

AprA –alkalická proteáza A

ARA – L-arabinóza

ATB – antibiotikum

C – mikroorganismus citlivý na ATB při standardním dávkovacím režimu

CAP – kyselina kaprinová

CIT – citrát sodný

ESC – eskulin

EUCAST – European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

Exo – exotoxin

GEL – želatina (hovězího původu)

GLU – glukóza

GNT – glukonát draselný

H₂S – sirovodík

HAI – health care-associated infections

I – mikroorganismus citlivý při zvýšené expozici ATB

IMC – močové infekce

LaSB – elastáza B

LDN – léčebna dlouhodobě nemocných

LIS – laboratorní informační systém

MAL – D-maltóza

MALDI-TOF – Matrix Assisted Desorption Ionization – Time of Flight

MAN – D-manitol

MLT – kyselina jablečná

MNE – D-manóza

NAG – N-acetyl-glukosamin

NO₃ – dusičnan draselný

OX – oxidázový test

PAC – kyselina fenylactová

PNPG – 4-nitrofenyl-BD-galaktopyranosid

PSAE – *Pseudomonas aeruginosa*

R – mikroorganismus rezistentní vůči ATB

spp. – species

STD – sexually transmitted diseases

T3SS – sekreční systém 3. typu

TRP – l-tryptofan

URE – močovina

V – variabilní

13 Terminologický slovník

Absces – dutina v těle vyplněná hnisem

Adventicie – zevní vrstva cévy, která ji spojuje s okolní tkání

Aerobní – vyžadující k životu vzdušný kyslík

Agar – živná půda pro mikroorganismy

Anaerobní – žijící, probíhající za nepřítomnosti kyslíku

Antiemetika – léky proti zvracení

Antipyretika – léky snižující horečku

Apoptóza – programovaná buněčná smrt

Ascendentní – vzestupný

Asymptomatický – bezpříznakový

Bakteriurie – přítomnost bakterií v moči

Cystitida – zánět močového měchýře

Cytotoxický – poškozující buňky

Dysurie – obtížné a bolestivé močení

Empirická léčba – léčba, kdy se před zahájením neprovádí mikrobiologické vyšetření

Endogenní – vnitřní

Epididymitida – zánět nadvarlete

Exogenní – vnější

Fagocytóza – pohlcení a zničení cizorodého materiálu

Fascitida – zánět povázky

Fournierova gangréna – mikrobiální infekce mužského genitálu

Gramnegativní – bakterie, které se Gramovým barvením neobarví a pro rozlišení se dodatečně barví růžově

Grampozitivní – bakterie, které se Gramovým barvením obarví modrou barvu

Hematogenní – vznikající z krve, resp. krevní cestou

Hematurie – přítomnost krve v moči

Hemokultura – diagnostický test, který se provádí k identifikaci přítomnosti mikroorganismů v krvi

Hemolýza – rozpad červených krvinek

Homeostáza – stálost vnitřního prostředí

Hypotenze – nízký krevní tlak

Imunodeficience – porucha imunitního systému se sníženou odolností proti infekci

Imunokompromitovaný – ohrožený poklesem imunity

Inhibiční zóna – oblast, kde antimikrobiální látka zabraňuje růstu mikroorganismů

Inkubace – vývoj buněčných nebo bakteriálních kultur v teplém prostředí

Inokulace – aseptické přenášení mikroorganismů do nového sterilního živného prostředí

Intravenózní – nitrožilní, do žíly

Kolonie – výskyt většího počtu stejných mikroorganismů společně v určité oblasti

Kolonizace – osídlení

Kontraindikace – okolnost nebo stav pacienta vylučující některé léčebné postupy

Kultivace – množení bakterií v laboratorních podmínkách

Leukocytóza – zvýšený počet bílých krvinek v krvi

Leukocyturie – přítomnost leukocytů v moči

Lymfogenní – vznikající z lymfy, resp. lymfatickými cestami

Mikroflóra – komplex mikroorganismů, které se přirozeně nacházejí v určitém prostředí

Mikrokolonie – drobné kolonie bakterií, vznikají vzájemnou vazbou bakteriálních buněk

Nozokomiální – infekční onemocnění, vzniklé s pobytem ve zdravotnickém zařízení

Opaknost – neprůhlednost

Opportunní – využívající příležitosti, vyčkávající na oslabení jedince

Osteomyelitida – zánět kostní dřeně

Orchitida – zánět varlat

Perineální – hrázový

Per rectum – skrz konečník, konečníkem

Píštěl – abnormální kanálek tvořící komunikaci mezi dutinou a jejím povrchem

Polakisurie – časté nucení na močení

Posun doleva – zvýšený počet nezralých forem krvinek v krvi

Profylaktický – zamezující nákaze, ochranný

Prostatektomie – operativní odstranění prostaty

Prostatitida – zánět prostaty

Pyelonefritida – zánět ledvinové pánvičky

Pyurie – přítomnost hnisu v moči

Reflux – zpětný tok

Rehydratace – zavodnění organismu po ztrátě tekutin

Rekurující – opakovaně navracející se

Relabující – náhlé zhoršení projevů nemoci

Relaps – znovuvzplanutí nemoci, která byla v klidu

Resorpce – vstřebání, opětovné pohlcení

Retrakce – stažení, zkrácení

Retroperitoneální – nacházející se za pobřišnicí

Rezervoár – místo, kde mikroorganismy přežívají a mohou se následně šířit do vnějšího prostředí

Reziduum – zbytek

Scrotum – šourek

Semipermeabilní – polopropustný

Sérotyp – skupina organismů zejm. bakterií taxonomicky nižší než druh, odlišitelná od jiných skupin téhož druhu na základě sérologického vyšetření

Siderofor – látka vážící a přenášející železo

Signifikantní – významný, důležitý

Spongiozní – s pórovitou nebo houbovitou strukturou

Submukóza – podslizniční vrstva

Suprapubická punkce – lékařský postup, kterým se pomocí jehly provádí nábodnutí břišní stěny nad kostí stydkou

Tachykardie – zrychlená srdeční činnost

Transparentnost – průhlednost

Uretra – močová trubice

Uretritida – zánět močové trubice

Uretrocystitida – zánět postihující močovody a močový měchýř

Uropatie – onemocnění či poruchy spojené s močovými cestami

Uropatogeny – mikroorganismy způsobující infekce močových cest

Uropoetické – močotvorné, resp. spojené s procesem močení

Urotel – epitel tvořící součást sliznice močovodu, močového měchýře, močové trubice

Virulence – míra schopnosti choroboplodného patogenního zárodku vyvolat onemocnění