



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

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

**Screening nosičství *Streptococcus agalactiae* (GBS)
v těhotenství**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program:

**SPECIALIZACE VE ZDRAVOTNICTVÍ/ZDRAVOTNÍ
LABORANT**

Autor: Johana Žižková

Vedoucí práce: MVDr. Zuzana Lapáčková

České Budějovice 2022

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem „*Screening nosičství Streptococcus agalactiae (GBS) v těhotenství*“ jsem vypracovala 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 jejích 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 29.4.2022

.....

Johana Žižková

Poděkování

Chtěla bych tímto poděkovat vedoucí bakalářské práce paní MVDr. Zuzaně Lapáčkové za odborné vedení, přístup a cenné poznámky při jejím zpracování. Také děkuji všem ostatním zaměstnancům mikrobiologické laboratoře SYNLAB s.r.o. v Českých Budějovicích, kteří mi byli vždy nápomocní. Děkuji také rodině a mému blízkému okolí za podporu a trpělivost, a to ne pouze v průběhu psaní bakalářské práce, ale i během celého studia.

Screening nosičství *Streptococcus agalactiae* (GBS) v těhotenství

Abstrakt

V teoretické části mé bakalářské práce se nejprve zaměřuji na přiblížení tématu urogenitálních infekcí. Okrajově zmiňuji i infekce, které se vyskytují u mužů, poté se věnuji především infekcím urogenitálního traktu ženy. Zmiňuji zde také sexuálně přenosné choroby. Pak přecházím přímo k tématu mé bakalářské práce, kde se věnuji blíže bakterii *Streptococcus agalactiae* a jejího screeningu.

Praktickou část věnuji osvojením metod, které se využívají pro stanovení přítomnosti *Streptococcus agalactiae*. Celá praktická část byla provedena v mikrobiologické laboratoři SYNLAB s.r.o. v Českých Budějovicích. Využity byly metody běžné kultivace, kultivace, která probíhala po pomnožení patogena v Todd Hewitt Broth + Antibiotics. Pokud došlo při kultivaci ke zjištění přítomnosti *Streptococcus agalactiae*, musel být proveden další test, abychom mohli s jistotou říct, že se opravdu jedná o tohoto patogena. Nejčastěji dochází k dourčování pomocí MALDI-TOF MS, ale může být využita také latexová aglutinace, CAMP test či biochemická test API® 20 STREP.

Během výzkumu bylo zpracováno 100 vzorků, které podlely běžné kultivaci a pak kultivaci dle doporučeného postupu, kde je výtěrový tampon ještě 24 hodin inkubován v pomnožovacím bujONU Todd Hewitt Broth + Antibiotics. Ze 100 vzorků se nám pozitivita ukázala po první kultivaci ve 14 případech, po pomnožení v bujONU bylo odhaleno ještě dalších 5. Ze získaných dat a dat poskytnutých laboratoří za 3 roky jsem zpracovala statistiku, kterou jsem dále porovnávala s celorepublikovými daty.

Cílem mé bakalářské práce bylo seznámení se s problematikou urogenitálních infekcí a možnostmi jejich laboratorní diagnostiky. Prováděla jsem vyšetření skupiny pacientů metodou bakteriologické kultivace výtěrů z pochvy a dále kultivaci po pomnožení v bujONU Todd Hewitt Broth + Antibiotics. Následně jsem porovnávala výsledky těchto dvou metod a srovnala výsledky laboratoře s frekvencí pozitivních nálezů s celorepublikovými daty.

Klíčová slova:

Urogenitální infekce; *Streptococcus agalactiae*; patogen; screening; laboratorní diagnostika; kultivace; výskyt

Screening of carriage of group B (GBS) *Streptococcus* in pregnant women

Abstract

In the theoretical part of my bachelor thesis, I first focus on the topic of genitourinary infections. I also mention infections that occur in men, then I deal mainly with infections of the genitourinary tract of a woman. I also mention sexually transmitted diseases. Then I go straight to the topic of my bachelor thesis, where I deal with *Streptococcus agalactiae* bacteria and its screening.

The practical part is devoted to the adoption of methods that are used to determine the presence of *Streptococcus agalactiae*. The whole practical part was carried out in the microbiological laboratory SYNLAB s.r.o. in České Budějovice. The methods of common cultivation were used, cultivation that took place after multiplication of the pathogen in Todd Hewitt Broth + Antibiotics. If *Streptococcus agalactiae* was detected during cultivation, another test had to be carried out to ensure that this is indeed the pathogen. MALDI-TOF MS is the most frequent determinant, but latex agglutination, CAMP test or API® 20 STREP biochemical test can also be used.

During the research, 100 samples were processed, which were subjected to normal cultivation and then cultivation according to the recommended procedure, where the swab is incubated in the Todd Hewitt Broth + Antibiotics for 24 hours. Of the 100 samples, the positivity was shown to us after the first cultivation in 14 cases, after multiplication in the broth, another 5 were revealed. From the obtained data and data from the last 3 years provided by the laboratory, I compiled statistics, which I further compared with nationwide data.

The aim of my bachelor thesis was to get acquainted with the issue of genitourinary infections and the possibilities of their laboratory diagnosis. I performed the examination of a group of patients by bacteriological cultivation of vaginal swabs and further cultivation after multiplication in the Todd Hewitt Broth + Antibiotics. Subsequently, I compared the results of these two methods and compared the results of the laboratory with the frequency of positive findings with the nationwide data.

Key words:

Genitourinary infections; *Streptococcus agalactiae*; pathogen; screening; laboratory diagnosis; cultivation; incidence

OBSAH

ÚVOD	10
1 TEORETICKÁ ČÁST.....	11
1.1 UROGENITÁLNÍ INFEKCE	11
1.1.1 <i>Klinické jednotky infekce močových cest a genitouretrálních infekcí mužů</i>	11
1.1.1.1 Asymptomatická bakteriurie	11
1.1.1.2 Cystitida	12
1.1.1.3 Pyelonefritida.....	12
1.1.1.4 Uretritida.....	13
1.1.1.5 Bakteriální prostatitida	13
1.1.1.6 Epididymitida	13
1.1.1.7 Balanopostitida	14
1.1.2 <i>Urogenitální trakt žen a jeho přidružené infekce</i>	14
1.1.2.1 Poševní prostředí	14
1.1.2.1.1 Poševní ekosystém	14
1.1.2.1.2 Poševní sliznice	15
1.1.2.1.3 Mikrobiom	15
1.1.2.2 Vulvovaginitis.....	16
1.1.2.2.1 Bakteriální vaginóza	16
1.1.2.2.2 Laktobacilóza	17
1.1.2.3 Syndrom toxického šoku.....	17
1.1.2.4 Sexuálně přenosné infekce	17
1.1.2.4.1 Trichomoniáza	17
1.1.2.4.2 Kapavka	18
1.1.2.4.3 Syfilis	18
1.1.2.4.4 Urogenitální chlamydiové infekce	19
1.2 STREPTOKOKY	20
1.3 STREPTOCOCCUS AGALACTIAE	21
1.3.1 <i>Historie objevu Streptococcus agalactiae</i>	21
1.3.2 <i>Fyziologie a kultivace</i>	21
1.3.3 <i>Antigenní struktura</i>	22
1.3.4 <i>Patogenita</i>	22
1.3.5 <i>Prevence přenosu infekce na novorozence</i>	23
1.4 SCREENINGOVÉ VYŠETŘENÍ.....	26
1.4.1 <i>Odběr, uchování a přeprava vzorku</i>	26
1.4.2 <i>Detekce</i>	26
1.4.3 <i>Kultivace</i>	26
1.4.3.1 <i>Půdy vhodné pro kultivaci S.agalactiae</i>	27
1.4.4 <i>Mikroskopie</i>	27

1.4.5 CAMP test	28
1.4.6 Latexová aglutinace.....	29
1.4.7 MALDI-TOF MS.....	29
1.4.8 Molekulární metody detekce GBS.....	30
1.4.9 API® 20 STREP	30
2 CÍL PRÁCE A VÝZKUMNÉ OTÁZKY	31
2.1 CÍL PRÁCE.....	31
2.2 VÝZKUMNÉ OTÁZKY	31
3 METODIKA	32
3.1 ODBĚR, TRANSPORT A PŘIJETÍ VZORKU	32
3.2 KULTIVACE	32
3.3 MIKROSKOPIE	34
3.4 CAMP TEST	36
3.5 MALDI-TOF MS.....	37
3.6 LATEXOVÁ AGLUTINACE.....	39
3.7 API® 20 STREP	40
4 VÝSLEDKY.....	43
4.1 ČETNOST VÝSKYTU STREPTOCOCCUS AGALACTIAE V LETECH 2019, 2020 A 2021 V MIKROBIOLOGICKÉ LABORATOŘI SYNLAB S.R.O. V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH	43
4.2 POZITIVNÍ NÁLEZY	44
5 DISKUSE	47
6 ZÁVĚR.....	49
7 POUŽITÁ LITERATURA.....	50
8 SEZNAM TABULEK, GRAFŮ A OBRÁZKŮ	55
9 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	56

Úvod

S infekcemi urogenitálního traktu se v našich podmínkách setkáváme velmi často. Skoro každý jedinec během svého života prodělá infekci močového měchýře, který řadíme mezi nejčastější bakteriální infekce u člověka vůbec. Infekce urogenitálního traktu mohou být také sexuálně přenosné. Nosičství některých onemocnění bývá bezpříznakové, proto je důležité podstupovat screeningová vyšetření, obzvláště pak v období těhotenství.

Mezi významné se řadí nosičství *Streptococcus agalactiae*. Tento streptokok se může běžně vyskytovat na sliznicích zdravých jedinců. Jako potenciální patogen je schopen ohrožovat novorozence, u kterých může způsobit sepse, meningitidy a pneumonie. Největší riziko přenosu z matky na novorozence je při průchodu porodními cestami, a proto je jeho přítomnost v období gravidity sledována.

V rámci schématu prenatálního screeningu dochází k detekci výskytu *Streptococcus agalactiae* z vaginálního případně rektovaginálního výtěru. Vyšetření bývá prováděno u každé těhotné ženy v rozmezí 35. – 37. týdne těhotenství.

1 Teoretická část

1.1 Urogenitální infekce

Infekce urogenitálního traktu (UGT) řadíme mezi onemocnění, které za život potká snad každého z nás. U každého pohlaví, a i v každé věkové kategorii má onemocnění specifické formy – u mladých dívek a žen v rozmezí jednoho až 50. roku dochází velmi často k nekomplikovaným infekcím dolních močových cest, zatímco u mužů ve stejném věkovém rozmezí k tomuto onemocnění dochází vzácně a obvykle značí přítomnost vrozené vývojové vady (Veselský, 2006).

Nejčastěji infekce močových cest postihují pacienty s diabetem, pacienty, kteří podstupují léčbu imunosupresivy, těhotné ženy a nemocné s obstrukcí a jinými anomáliemi odvodných cest močových. U těchto rizikových skupin je nutné provádět pravidelné vyšetření moči, i ve chvíli, kdy pacient nemá žádné potíže. Vyšetřuje se močový sediment a provádí se kultivace (Vachek, 2014).

Infekce urogenitálního traktu lze dělit podle několika hledisek. Dle etiologického agens (zda se jedná o bakteriální infekci či jinou), dle prostředí, ve kterém dochází ke vzniku infekce (horní či dolní močové cesty), zda je přítomné nějaké další komplikující onemocnění, dle časového průběhu (akutní nebo chronické) a závažnosti postižení pacienta. U infekcí genitálu je důležité rozhodnout, zda je zde možné riziko pohlavního přenosu a správně tedy diagnostikovat choroby, které je nutné odeslat venerologovi. Syfilis, kapavka, lymfogranuloma venereum a HIV/AIDS jsou sexuálně přenosné nemoci podléhající povinnému epidemiologickému hlášení. (Veselský, 2006).

1.1.1 Klinické jednotky infekce močových cest a genitouretrálních infekcí mužů

1.1.1.1 Asymptomatická bakteriurie

Termínem asymptomatická bakteriurie (ABU) označujeme přítomnost dvou po sobě jdoucích vzorků čisté moči, kde nám oba poskytují pozitivní kultury ($\geq 10^5$ cfu/ml) stejného uropatogena u pacienta bez klinických příznaků (Raz, 2003).

Stále není dost dobře známo, proč u pacientů s asymptomatickou bakteriurií nedojde k rozvinutí příznaků. Získané organismy jsou stejného typu bakterií, které způsobují cystitidu, mezi nejčastější řadíme *Escherichia coli*. Jedním z možných mechanismů

je, že kmeny se sníženou virulencí mohou kolonizovat moč spíše, než způsobit symptomatickou infekci (Raz, 2003).

Klinický význam a léčba asymptomatické bakteriurie se liší podle různých skupin pacientů. ABU vyžaduje antibiotickou léčbu u těhotných žen, dětí ve věku 5 – 6 let a před invazivními genitourinárními výkony (Raz, 2003).

1.1.1.2 Cystitida

Mezi nejčastější patogeny způsobující cystitidu řadíme *E.coli*. Méně často ji pak mohou způsobovat další gramnegativní tyčky jako jsou: *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* a to především u nozokomiálních infekcí (Schindler, 2014).

Častá je cystitida u žen ve fertilním věku, která může vzniknout bez jasné příčiny nebo po prochlazení, vybočením ze životosprávy či po pohlavním styku. Může vymizet spontánně, ale pak se často vrací. U starších žen a těhotných se bakteriurie *E.coli* objevuje bez příznaků. U mužů se s ní můžeme setkat přechodně, někdy i dlouho po prostatektomii (Schindler, 2014).

Mezi příznaky cystitidy patří časté, nutkavé a bolestivé močení s pocity pálení a řezání během mikce, bolest v podbříšku a někdy se může vyskytovat zvýšená teplota. Diagnózu stanovujeme na základě chemického vyšetření moči a močového sedimentu, kde často nalézáme leukocyturii a bakteriurii, občas může být přítomna i proteinurie a erytrocyturie (Kladenský, 2012).

1.1.1.3 Pyelonefritida

Pyelonefritida je infekce horních močových cest, která konkrétně zasahuje ledvinový parenchym a ledvinové pánvičky. Je považována za nekomplikovanou, pokud je infekce způsobena typickým patogenem a je přítomna u imunokompetentních pacientů s normální anatomií močových cest a správnou funkcí ledvin. Špatná diagnóza může vést k sepsi, ledvinovým abscesům a chronické pyelonefritidě, která může způsobit sekundární hypertenzi a selhání ledvin (Ramakrishnan, 2005).

Bývá často způsobena *E.coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Providencia rettgeri*, *Proteus mirabilis* a *Staphylococcus aureus* (Schindler, 2014).

1.1.1.4 Uretritida

Uretritida může být doprovázena hnisavým zánětem, jež je způsoben *Neisserii gonorrhoeae*, zřídka pak *Staphylococcus aureus* ve spojení s balanitidou. Může být přenášena i sexuálně, kde je patogenem *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis* a velmi často i *Candida albicans*. Toto onemocnění je charakterizované chudým sklovitým sekretem po ránu a mírnými obtížemi při mikci, často vede k neurotickým obtížím (Schindler, 2014).

1.1.1.5 Bakteriální prostatitida

Prostatitidu můžeme dělit na akutní a chronickou formu dle délky trvání. Obě tyto varianty onemocnění se vyskytují poměrně vzácně a jsou vyvolány běžnými uropatogeny (Poršová, 2018).

U akutní bakteriální prostatitidy se setkáváme s bolestí v oblasti konečníku a v suprapubické a perineální oblasti. Objevují se potíže při močení, horečka, zimnice, nauzea a únava. V laboratorním nálezu v krvi jsou přítomny zánětlivé parametry (CRP, leukocytóza), v moči pak leukocyty a bakterie (Poršová, 2018)

Při chronické bakteriální prostatitidě se vyskytují opakované infekce močových cest. Mezi epizodami akutní infekce jsou muži často asymptomatictí. Při laboratorním průkazu nacházíme v moči leukocyty a bakterie (Poršová, 2018).

1.1.1.6 Epididymitida

S epididymitidou se většinou setkáváme u dospělých mužů, u chlapců v pubertě bývá jen velmi zřídka. Hlavním příznakem je náhlá bolest skrota na postižené straně, jeho zarudnutí a otok. Mnohdy bývá přítomna zvýšená teplota. Vyšetření skrota se řadí mezi velmi bolestivá, především na zadní straně. Epididymitidu je důležité rozlišit od torze varlete, pokud jsou však při kultivaci v moči přítomny leukocyty, můžeme se spíše přiklonit k epididymitidě. U sexuálně aktivních jedinců bývá patogenem *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, jinak pak běžní uropatogeni jako např.: *E.coli* (Paclík, 1996).

1.1.1.7 Balanopostitida

Zánět předkožky a žaludu penisu bývá provázen špatnými hygienickými návyky či reinfekcemi od partnera. V některých případech může mít velice agresivní průběh, kdy dochází k odtoku hnisu a je nutná incize praeputiálního vaku, častější jsou však méně výrazné formy. Patogeny nejsou zcela specifické, je důležité brát v potaz i kandidózu. U mužů, kteří podstoupili obřízku se toto onemocnění vyskytuje velmi zřídka. Zánět ve většině případů vede ke vzniku fimózy. Sklerotizaci a atrofizaci pak podléhá i žalud penisu a vnější ústí uretry (Veselský, 2006).

1.1.2 Urogenitální trakt žen a jeho přidružené infekce

1.1.2.1 Poševní prostředí

Mikroorganismy, které jsou schopny vyvolat vaginální infekce, jsou ovlivněny celou řadou faktorů. Záleží na vztazích mezi mikroorganismy, ale také na interakci jednotlivých mikroorganismů s hostitelskou buňkou (Mašata a Jedličková, 2004). Fyziologické prostředí pochvy také značně ovlivňuje věk ženy, její hormonální stav, fáze menstruačního cyklu, gravidita a intimní hygiena (Velemínský, 2007).

Poševní infekci mohou vyvolat jak exogenní mikroorganismy, tak i organismy, které jsou běžnou součástí endogenní hostitelské flóry. Pro lepší pochopení je vhodné celý tento systém brát jako určitý druh ekosystému (Mašata a Jedličková, 2004). Tento ekosystém je složen z poševní sliznice, která tvoří vhodné prostředí pro osídlení kolonizující flórou. Tato flóra je tvořena celou řadou druhů a na jejím vytvoření se podílejí fyziologické a chemické interakce mezi mikroby a poševní sliznicí. Ve výsledku spolu exogenní mikroorganismy a endogenní mikroby bojují o přežití na sliznici (Mašata a Jedličková, 2006).

1.1.2.1.1 Poševní ekosystém

Naprostým základem pro pochopení mikroekologie je, že kolonizovaná tkáň nám tvoří prostředí pro kolonizující mikrobiální flóru. Na základě fyzikálních a chemických vlastností kolonizované tkáně se liší druhové složení a hustota populace mikrobiální flóry (Mašata a Jedličková, 2004). „Z tohoto konceptu vyplývá, že změna existujících podmínek tkáně vyústí v alteraci flóry ve smyslu množství nebo druhového zastoupení.“ (Mašata a Jedličková, 2004, s.24).

Estrogenní stimulace má značný vliv na mikrobiální flóru. Během cyklu je vaginální flóra schopna se až 10 000krát pomnožit. Dle výzkumu může k takto výrazné změně dojít i v průběhu 24 hodin. Tyto hormonální změny ovlivňují vaginální flóru jak kvantitativně, tak i kvalitativně. Poševní epitel se tak stává základním vlivem v ekosystému (Mašata a Jedličková, 2006).

Jednou z částí ekosystému je i mikrobiální flóra. Na základě průzkumu víme, že se v pochvě nacházejí i různé druhy bakterií, a to: grampozitivní, gramnegativní, anaerobní i fakultativně anaerobní bakterie (Mašata a Jedličková, 2006).

Důležitým vlivem je i komplexní interakce mezi hostitelem a mikroorganismem a interakce mezi jednotlivými bakteriálními druhy, a to jak endogenními, tak i exogenními (Mašata a Jedličková, 2004).

1.1.2.1.2 Poševní sliznice

„Poševní epitel vytváří nejen podmínky pro mikrobiální kolonizaci, ale je sám zpětně ovlivňován bakteriální flórou a dalšími zevními faktory.“ (Mašata a Jedličková, 2006, s.18).

Poševní sliznice se skládá z pěti buněčných vrstev, které jsou odlišné. Směrem od lumina se zde nacházejí tři vrstvy, a to: superficiální, přechodná a intermediální. Všechny tyto vrstvy jsou složeny z cca 10 řad dláždíkových buněk. Pod těmito buňkami se nachází vrstvy parabazální a bazální, ty jsou tvořeny dvěma řadami kolumnárních buněk, které přímo sousedí s bazální membránou (Mašata a Jedličková, 2004).

1.1.2.1.3 Mikrobiom

Vaginální mikrobiom zahrnuje směs bakterií, eukaryot, hub, arachaebakterií a virů. Většina z nich jsou komenzální druhy, které naše tělo obsahuje již od narození, ale které mohou za určitých podmínek způsobit infekci. Mnoho studií se zaměřilo především na bakteriom, který je považován za převládající složku mikrobiomu. Zatímco mykobiom, virom a lidský archeom jsou stále podceňovány, mají též silný dopad na lidské zdraví a pohodu (Abou Chacra a Fenollar, 2021).

Pochva je vlhký biotop složený z měnícího se a vyvíjejícího se bakteriálního systému podle různých fází života. Přibližně 1-4 ml poševní tekutiny může obsahovat až 10⁹ bakteriálních buněk, které hrají hlavní roli při ochraně sliznice před infekcí a udržování

fyziologické rovnováhy ženského genitálního traktu. Díky přítomnosti bakterií produkující kyselinu mléčnou je poševní prostředí u žen výrazně kyselé (pH 4,5 nebo méně) (Abou Chacra a Fenollar, 2021).

Bylo zjištěno, že vaginální bakteriální komunita je složena převážně z laktobacilů rozdělených do pěti skupin (I, II, III, IV a V). Čtyřem z nich dominuje *Lactobacillus*. Prvnímu *Lactobacillus crispatus*, druhému *Lactobacillus gasseri*, třetímu *Lactobacillus iners* a pátému *Lactobacillus jensenii*. Čtvrtý obsahuje nižší podíl laktobacilů, ale je složen z polymikrobiální směsi striktních a fakultativních anaerobů (Abou Chacra a Fenollar, 2021).

1.1.2.2 Vulvovaginitis

Mezi jedno z nejčastějších onemocnění u sexuálně aktivních žen patří zánět vulvy a pochvy. Během života se s touto infekcí setká snad každá žena. Mezi běžné subjektivní projevy řadíme „vulvovaginální dyskomfort“, což je výtok, svědění, pálení vulvy a dyspareunie (bolestivý pohlavní styk). Tato infekce může mít hned několik původců, můžeme je pak dělit na bakteriální, virové, kvasinkové a parazitární. Vulvovaginitidy vznikají v důsledku porušení rovnováhy ekosystému poševního prostředí, kde všechny jednotky musejí být v dynamické rovnováze. Pokud tomu tak není a dojde ke změně třeba jen jednoho faktoru, jsou ovlivněny i zbývající části (Dostálová, 2011).

Při diagnóze je důležité projít anamnézu. Také se musí provést kompletní klinické vyšetření, pomocí kterého se zjistí celkový stav ženy. Podrobí se gynekologickému vyšetření, stanovení pH poševního prostředí, provádí se test s hydroxidem draselným, mikroskopické vyšetření a kultivace. Nově je možné využít také stanovení přítomnosti protilátek, průkaz antigenu, genů či nukleových kyselin (Dostálová, 2011).

1.1.2.2.1 Bakteriální vaginóza

S bakteriální vaginózou se setkáváme u 40–50 % žen, u kterých je přítomen výtok. Dříve byl syndrom nazýván nespecifická vaginitis, později již jako bakteriální vaginóza, jelikož původcem tohoto onemocnění nebyli plísně a ani jiní parazité, ale zároveň nebyla objevena specifická bakterie, která toto onemocnění způsobuje (Mašata, 2014).

Při vyšetření se setkáváme s poklesem počtu laktobacilů, vzestupem počtu anaerobních laktobacilů a obligátních anaerobů, jsou také přítomny bakterie a chybí leukocyty. Jedná

se tedy o polymikrobiální stav, při kterém je zvýšeno poševní pH, klesá počet laktobacilů a výrazně se zvyšuje koncentrace jiných organismů (Mašata, 2014).

1.1.2.2 Laktobacilóza

U žen s laktobacilózou se objevuje výtok, který je spojený se svěděním, pálením a podrážděním zevních rodidel a cyklicky se objevuje 7-10 dní před menstruací. V nativním nátěru je možné prokázat přítomnost dlouhých filamentózních organismů. Při léčbě jsou využívány penicilinová antibiotika (Mašata, 2014).

1.1.2.3 Syndrom toxického šoku

Syndrom toxického šoku řadíme mezi velmi závažné horečnaté onemocnění. Je způsobeno systémovou imunitní odpovědí na pyrogenní exotoxiny, které jsou produkovány *Staphylococcus aureus* nebo *Streptococcus pyogenes* a chovají se jako superantigeny (Táborská, 2009)

Superantigeny jsou schopny aktivovat imunitní systém přímou vazbou na receptory lymfocytů. Dochází tedy k nekontrolovatelné aktivaci lymfocytů, která je doprovázena vyplavováním velkého množství cytokinů, především tumornecrosis faktoru alfa, interleukinu-1 a interleukinu-6. Nastartováním cytokinové kaskády dochází ke generalizované poruše mikrocirkulace, která se projevuje šokovým stavem a multiorgánovým selháním (Táborská, 2009).

Při laboratorní diagnostice se provádí kultivační průkaz *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus pyogenes* a průkaz tvorby toxinů (Táborská, 2009).

1.1.2.4 Sexuálně přenosné infekce

1.1.2.4.1 Trichomoniáza

Trichomoniáza je způsobována prvokem *Trichomonas vaginalis*. Jde o běžnou sexuálně přenosnou infekci, která se vyskytuje především u žen, u kterých se projeví vaginálním výtokem a vulvitidou. Je spojována s nepříznivým výsledkem těhotenství a výrazně zvyšuje přenos HIV. Uretrální příznaky u mužů jsou obvykle mírné a přechodné (Lewis, 2014).

Při diagnostice jsou využívány molekulární testy, ale standardně se využívá i mikroskopie a kultivační metody díky jejich jednoduchosti a ceně (Lewis, 2014).

1.1.2.4.2 Kapavka

Kapavku řadíme mezi sexuálně přenosné onemocnění, které je způsobené gramnegativním diplokokem *Neisseria gonorrhoeae*, v případě potvrzení diagnózy podléhá povinnému hlášení (Hájek et al., 2014).

U kapavky se často setkáváme i s jinými pohlavně přenosnými chorobami, proto je u diagnostiky nutná mezioborová spolupráce. Většina žen má mírný průběh infekce, mnohdy až asymptomatický. Prvotními příznaky jsou uretritida, pálení při a po mikci a časté nucení na močení. Během těhotenství je průběh závažnější, ale doposud nebyl prokázán důvod vyvolání předčasného porodu (Hájek et al., 2014).

Ve většině případů je přítomen hnisavý nebo hlenohnisavý výtok z děložního hrdla, uretry či anu, řadí se tedy k nejdůležitějším příznakům infekce. Kapavku je možné stanovit mikroskopickým vyšetřením barveného preparátu dle Grama, kde jsou patrné diplokoky uložené v leukocytech. Diagnózu je však nutné potvrdit kultivací na speciálních kultivačních půdách nebo jako alternativu lze využít i amplifikační metody jako je PCR (Hájek et al., 2014).

1.1.2.4.3 Syfilis

Syfilis je způsobeno spirochétou *Treponema pallidum*. Infekci je možno přenášet sexuálním kontaktem či transplacentárně (Hájek et al., 2014).

Onemocnění má velmi pestrou škálu příznaků a je děleno na tři stádia. První stadium nazýváme primární syfilis, vyvíjí se v průběhu tří týdnů po infekci a jeví se jako osamocená, často ztuhlá papule na genitáliích, řiti či v ústech. Její střed se po několika dnech rozpadá a zůstává nebolestivý vřed, nazýván *ulcus durum*. Ten se zhruba po třech až šesti týdnech zhojí (Hermanussen a Dielissen, 2018).

Bez léčby dochází u tří čtvrtin infikovaných jedinců k rozvoji sekundární syfilis, jež se projevuje kožními a slizničními abnormalitami, které se objevují cca deset týdnů po nákaze. Obvykle se jedná o makulopapulózní nesvědlivý exantém na končetinách, dlaních a ploskách nohou (Hermanussen a Dielissen, 2018).

Vzhledem k pokroku v medicíně v dnešní době již velmi zřídka dochází k rozvoji terciální syfilis. V této fázi již spirochéta způsobuje cévní změny a orgánové poškození,

např.: centrálního nervového systému, kardiovaskulárního systému a kůže (Hermanussen a Dielissen, 2018).

Samotný průběh infekce není ovlivněn těhotenstvím, je zde ale velmi výrazné riziko pro plod. Ten může být infikován v jakémkoli období těhotenství a v jakémkoli stádiu nemoci. Riziko infekce stoupá přímo úměrně s množstvím spirochét přítomných u matky. Největší riziko přenosu na plod je v průběhu primární nebo sekundární syfilis, kdy se nakazí většina plodů. Infekce plodu pak mohou způsobit jeho smrt či jiné poškození (Mašata a Jedličková, 2004).

Pro diagnostiku je důležité odebrat biologický materiál pro záchyt treponem, využívají se mikroskopická vyšetření v zástinu nebo kultivační či molekulárně biologické diagnostické metody. Také je odebírána krev, která podstupuje sérologické vyšetření (Hájek et al., 2014).

1.1.2.4.4 Urogenitální chlamydiové infekce

Ve vyspělých zemích je jedním z nejčastějších sexuálně přenosných bakteriálních agens *Chlamydia trachomatis*. U mužů probíhá infekce často asymptomaticky, větší problémy pak mají ženy. U cervikální chlamydiové infekce může docházet k hlubokému zánětu pánve, což vede k neplodnosti, nebo k chronické pánevní bolesti a ektopickému těhotenství (Hájek et al., 2014).

Problém vzniká v průběhu těhotenství, kdy je riziko infekce pro novorozence až 60-70 %. U nakažených novorozenců dochází u 20-50 % k rozvoji konjunktivitidy a u 10-20 % k pneumonii (Hájek et al., 2014).

Diagnostiku provádíme pomocí detekce specifických chlamydiových genů nebo antigenů (Hájek et al., 2014).

1.2 Streptokoky

Streptokoky jsou druhy bakterií, jejichž název je odvozen od dvou řeckých slov: streptos = řetízek a kokkos = kulička, jádro. V případě streptokoků mluvíme o grampozitivních kociích okrouhlého až ovoidního tvaru. Vyskytují se ve dvojici nebo mohou tvořit různě dlouhé řetízky. Charakterizují se fakultativní anaerobiózou, jsou nepohyblivé a netvoří spory (Klaban, 2005).

Dle hemolytických vlastností streptokoky dále dělíme na α -hemolytické, β -hemolytické a γ -hemolytické jinak řečeno anhemolytické (Klaban, 2005).

Alfa-hemolýza se vyskytuje kolem kolonií viridujících neboli α -hemolytických streptokoků. Viridace pochází z latinského viridis = zelený. Projev viridace je zelenavé či zelenošedé zbarvení kolem kolonií, které je způsobené částečným rozkladem hemoglobinu na methemoglobin (Klaban, 2005).

Beta-hemolýzou je označována úplná hemolýza, jejíž projevem je zóna vyjasnění kolem β -hemolytických streptokoků. Zde dochází k úplnému rozkladu krevního barviva (Klaban, 2005).

V některých zdrojích se také mluví o γ -hemolýze, zde však nedochází k žádné hemolýze, jelikož erythrocyty zůstávají zcela nedotčené (Klaban, 2005).

1.3 Streptococcus agalactiae

Streptococcus agalactiae se řadí mezi beta hemolytické (některé kmeny mohou být zcela výjimečně nehemolyzující nebo vyvolávající viridaci) pyogenní streptokoky (Bednář, 1996). Patří ke grampozitivním kokům, který může kolonizovat gastrointestinální trakt či vaginální epitel zdravých jedinců (Safari et al., 2021). Velikost jednotlivých bakteriálních buněk je 0,6 až 1,2 μm a mají kulatý či oválný tvar (Klaban, 2005). Na kultivační půdě roste v řetízkovém seskupení. Na povrchu se nachází skupinový C-polysacharid, který řadíme do skupiny B, podle Lancenfieldové (wikiskripta). Mimo tento skupinově specifický antigen B obsahuje *S. agalactiae* také typově specifické, většinou polysacharidové antigeny (Votava, 2003). Řadí se mezi známé původce onemocnění

u hovězího dobytka (mastitida), ale je také příčinou závažných onemocnění člověka, především novorozenců (Bednář, 1996). Bovinní kmeny jsou ovšem od kmenů, které jsou izolované u člověka odlišné (Votava, 2003).

1.3.1 Historie objevu Streptococcus agalactiae

Streptococcus agalactiae byl poprvé popsán jako původce bovinní mastitidy Edmondem Nocardem v roce 1887. Následkem tohoto onemocnění vznikala agalaktie neboli nedostatek produkce mléka. O desítky let později byl *S. agalactiae* uznán jako lidský patogen způsobující infekci, nejčastěji u těhotných žen a novorozenců. Význam tohoto organismu byl ovšem objeven až v roce 1938, kdy R.M.Fry popsal tři smrtelné případy poporodní sepse. Až do 70.let 20.století bylo tomuto patogenu připisováno čím dál více infekcí, jelikož se GBS objevil jako převládající organismus způsobující bakteriémiu a meningitidu u novorozenců a kojenců mladších tří měsíců (Hann a Noor, 2021).

GBS je také příležitostnou příčinou infekcí u žen po porodu, způsobující endometritidu a u jedinců s narušeným imunitním systémem může patogen způsobit septikémii nebo zápal plic (Hann a Noor, 2021).

1.3.2 Fyziologie a kultivace

U ženy odebíráme poševní sekret, který se pomnožuje v bujónu a očkuje se na neselektivní a selektivní půdy, abychom byli schopni zaznamenat i malé množství streptokoků (Toršová, 2005). Na krevním agaru roste v podstatně větších koloniích než *S. pyogenes*. Kolonie jsou mazlavé, obklopené úzkou zónou, která je neostře ohraničená,

neúplná beta-hemolýza (Votava, 2003). V blízkosti zlatého stafylokoka je hemolýza výrazně zesílená, jelikož tzv. CAMP – faktor *S. agalactiae* se váže na membránu erytrocytů, která je narušena stafylokokovou sfingomyelinasou C, což vede k rozpadu erytrocytů. Pozitivní CAMP – test je i v případě nehemolyzujících kmenů, kterých je však pouze malé procento (Votava, 2003). V tekutých médiích či za anaerobních podmínek většina kmenů vytváří žlutý pigment (Bednář, 2004). Drtivá většina kmenů roste v přítomnosti žluče, všechny pak hydrolyzují hippurát sodný. PYR-test a eskulin jsou negativní, což je rozdíl oproti enterokokům (Votava, 2003).

1.3.3 Antigenní struktura

Mimo skupinově specifický antigen B jsou ve *S. agalactiae* přítomné typově specifické antigeny, které jsou většinou polysacharidového typu (Votava, 2003). Dohromady rozlišujeme 10 různých serologických typů, a to dle pouzderných polysacharidových antigenů, mezi které patří Ia, Ib, II, III, IV, V a VI a dále podle proteinových antigenů (R a X) (Bednář, 2004). Pro nás je nejdůležitější serotyp III a V. Serotyp III je významný díky své přítomnosti především u novorozenců se sepsí nebo meningitidou. Když se prováděl epidemiologický výzkum, byl zhruba u dvou třetin nemocných novorozenců zachycen právě tento serotyp. U infekcí, které byly navíc doprovázeny meningitidou byl prokázán až v 90 %. „*Klinická virulence koreluje s typem specifického polysacharidového pouzdra a s tvorbou neuroaminidázy.*“ (Hájek, 2004, s.303) Serotyp V je důležitý, jelikož více jak polovina je rezistentní k erytromycinu (Votava, 2003).

1.3.4 Patogenita

Streptococcus agalactiae patří mezi potenciálně patogenní mikroorganismus, který se běžně vyskytuje v pochvě, rektu či nosohltanu (Mašata a Jedličková, 2004). V gastrointestinálním traktu je zachycen u 25-40 % dospělé populace. U gravidních žen v porodních cestách je zastoupen zhruba u 18 % (11-35 %), toto nosičství pak může být trvalé, tranzitorní nebo intermitentní (Česká neonatologická společnost, 2020). *Streptococcus agalactiae* může způsobovat těžké pneumonie, sepse či meningitidy u novorozenců a je významnou příčinou neonatální mortality (Pieranski et al., 2021). Infekce, které se objevují u novorozenců jsou rozlišeny na dva typy.

Prvním typem jsou časné novorozenecké infekce (GBS EOI), jejichž incidence v posledních 20 letech poklesla z původních 1,80 na 0,23 na 1000 narozených dětí (Česká

neonatologická společnost, 2020). Tyto infekce mohou vznikat již během porodu *in utero* při předčasném odtoku plodové vody nebo až při průchodu plodu porodním kanálem. První projevy se objeví v průběhu několika hodin případně dnů po narození dítěte (Votava, 2003). Zdrojem této infekce bývá matka, jde tedy o vertikální přenos nákazy (Roztočil, 2008). Začátek onemocnění je velmi neočekávaný. Novorozenec začíná zvracet, je cyanotický a hypotonický. Také se objevuje tachykardie a poruchy dýchání. V klinickém obraze převažuje respirační insuficience s pneumonií. Septický šok v tomto případě není možné odlišit od sepsí jiné etiologie. Letalita je velmi vysoká, může dosáhnout až 60 % (Mašata a Jedličková, 2004).

Pozdní forma infekce GBS (GBS LOI) se začíná projevovat mezi 7. a 90. dnem života dítěte. Tento typ onemocnění má incidenci 0,3 na 1000 živě narozených dětí (Česká neonatologická společnost, 2020). Avšak pozdní infekce se nejčastěji objevují koncem prvního měsíce života a v polovině případů se dítě nakazí až po porodu (Votava, 2003). U této infekce bývá častým zdrojem nákazy jiný novorozenec, přenos je tedy horizontální (Roztočil, 2008). Pozdní forma infekce se projevuje hnisavou meningitidou, kterou není možné odlišit od meningitid vyvolaných jinými bakteriemi. U případů s velmi rychlým začátkem dochází k poškození CNS a následné mortalitě (Mašata a Jedličková, 2004). Letalita této formy onemocnění je u nedonošenců 7,8 %, u donošených novorozenců 3,4 % (Česká neonatologická společnost, 2020). Infekci můžeme zaznamenat také jako hnisavou artritidu, osteomyelitidu, pleuritidu, konjunktivitidu aj. (Mašata a Jedličková, 2004). U těhotných žen streptokoky typu B způsobují nejčastěji záněty močových cest nebo endomyometritidu po porodu nebo potratu (Roztočil, 2008).

1.3.5 Prevence přenosu infekce na novorozence

Bezpříznakové nosičství GBS infekce se může periodicky objevovat v jakékoli fázi těhotenství. Bakterie proniká do prostředí pochvy ze střevního traktu. Ve vzácných případech se bakterie může dostat ascendentní cestou až do děložní dutiny, kde projde přes neporušené plodové obaly a tím dojde k těžké a rychlé neonatální infekci. To může způsobit i smrt novorozence (Mašata a Jedličková, 2004). V některých případech může dojít k infekci horního genitálního traktu, která dále může přejít v sepsi a ve výjimečných případech způsobit i smrt ženy. „*Streptokoky skupiny B jsou ve 30 % případů jedním ze zachycených mikroorganismů u těhotných s pozitivní kultivací moče. Kultivační záchyt streptokoků v moči je důležitý pro kontrolu infekce během těhotenství.*“

(Mašata a Jedličková, 2004, s.215). V mnoha studiích se pokoušeli o záchyt a eradikaci GBS kolonizace hned v brzkém stádiu těhotenství, avšak po této léčbě byla rekolonizace velmi častá a nedošlo k žádnému potvrzení snížení incidence neonatálních infekcí. Během těhotenství se doporučuje cíleně léčit GBS infekci jen pokud je pozitivní kultivace moči. USA byla první zemí, kde započal screeningový program s profylaktickým podáváním antibiotik, který měl základy opřené na kultivačním záchytu. Antibiotika se začala podávat ženám s pozitivním nálezem či na základě přítomnosti rizikových faktorů (Mašata a Jedličková, 2004).

Novorozeneckým infekcím lze předcházet nasazením penicilinu nebo ampicilinu, který podáme rodičce během porodu (Votava, 2003). První dávka antibiotik by v ideálních případech měla být podána alespoň 4 hodiny před porodem. Je také doporučeno podat antibiotika rodičkám, které měly po předešlém porodu dítě nakažené GBS, ženám s předčasným porodem nebo ženám, které měly již během těhotenství GBS bakteriurii (Mašata a Jedličková, 2004). Je velkým problémem rozeznat případy, kdy je na místě antibiotickou léčbu zahájit. Někteří lékaři tuto profylaxi předepisují každé rodičce, u které jsou určité podněty, které nám značí vyšší riziko infekce, jiní chtějí znát výsledky mikrobiologického screeningu a na základě toho zahájit antibiotickou profylaxi (Votava, 2003).

„Přístup na základě rizikových faktorů doporučuje aplikaci antibiotik při odtoku plodové vody delším než 18 hodin, při teplotě za porodu vyšší než 38 °C, s anamnézou porodu dítěte s ranou GBS infekcí v předcházející graviditě nebo při GBS bakteriurii v těhotenství.“ (Mašata a Jedličková, 2004, s.215).

Screeningová kultivace by měla být provedena každé těhotné ženě (výjimkou jsou ženy, které byly GBS-pozitivní kdykoli v průběhu těhotenství) mezi 35. až 38.týdnem těhotenství. Vhodný vzorek ke kultivaci je odebírán z postranní klenby v dolní třetině pochvy. Odebraný materiál je uložen do transportního média. Výsledek standardního kultivačního vyšetření získáme do 48 hodin. Existují i rychlé diagnostické testy, ty jsou však použity pouze v časové tísní, jelikož je zde vyšší riziko falešně negativních výsledků (Měchurová, 2007).

Gravidní ženě musí být před porodem sděleny výsledky kultivačního vyšetření a musí být poučena o přínosu i rizicích intrapartální antibiotické profylaxe. Pokud je výsledek kultivace negativní, není tak indikována antibiotická profylaxe. V případech,

kdy kultivace vůbec nebyla provedena, nebo výsledky nejsou známy je profylaxe indikována, pokud jsou přítomny některé z těchto rizikových faktorů (Mašata a Jedličková, 2004).

- Nezralost – pokud je novorozenec nezralý, má 3-30x vyšší riziko vzniku infekce GBS než zralý jedinec.
- Signifikantní bakteriurie, respektive infekce močových cest (IMC), která je v průběhu těhotenství způsobena *S. agalactiae*. Tato infekce představuje až 9 % riziko pro novorozence.
- Předčasné porušení plodových obalů (PROM), které trvá déle jak 18 hodin, vznik infekce zde představuje 1 %.
- Chorioamnionitida – horečka při porodu, riziko infekce je 5,5 %.
- Pokud v předešlé graviditě bylo dítě s časnou formou GBS infekce, pro tohoto novorozence riziko činí 5,5 % (Straňák a Janota, 2015).

Antibiotická léčba je ukončena s porodem plodu. Pokračovat v léčbě je doporučeno pouze v případech, kdy jsou přítomny jasné známky infekce u matky (Roztočil, 2008).

K léčbě infekce způsobené GBS je doporučen krystalický penicilin G nebo ampicilin. Tato farmakoterapie je doplněna i podpůrnou léčbou, jako je například podpora vitálních funkcí, parenterální výživa a jiné (Straňák a Janota, 2015). Těhotným ženám, které jsou alergické na penicilin, jsou podávána alternativní antibiotika, jako je např.: vankomycin, klindamycin nebo erythromycin (Abdallah et al., 2021).

1.4 Screeningové vyšetření

1.4.1 Odběr, uchování a přeprava vzorku

V případě odběru je doporučen výtěr z pochvy a rekta, který je proveden jedním tamponem. Nejprve je odebrán vzorek z pochvy, kdy tampon zavádíme asi 2 cm dovnitř, poté je vložen do konečníku asi 1 cm hluboko přes anální svěrač. Odběr z obou těchto míst nám podstatně zvyšuje výtěžnost kultury ve srovnání s odběrem pouze z děložního čípku nebo samotné pochvy. Také se pro vyšší výtěžnost kultivace doporučuje použít speciální semišový tampon, který se po odběru vkládá do tekutého transportního média. Ze semišového tamponu se na rozdíl od klasického vláknitého mikroorganismy snadněji uvolňují. Jako tekuté transportní médium se využívá Amiesova půda, která obsahuje anorganický fosfátový pufr, ten je schopen absorbovat inhibiční látky uvolňované během transportu. Vzorek by měl být do 24 hodin dopraven do laboratoře, v případě, že tomu tak není, doporučuje se odmítnutí vzorku a provedení nového odběru, jelikož životaschopnost GBS po 24 hodinách značně klesá (Falkins L., 2021).

1.4.2 Detekce

Dle doporučení by se měl výtěr kultivovat v selektivně obohaceném bujónu (např.: Todd-Hewittův bujón s gentamycinem) a inkubovat při 35-37°C po dobu 18 až 24 hodin. Selektivní GBS bujóny jsou komerčně dostupné (Rosa-Fraile et al.,2017).

Studie zjistily, že v případech, kdy je v rektovaginálním stěru přítomný *Enterococcus faecalis* a my jej vyočkujeme na selektivní půdu, je růst GBS potlačen a test subkultury tak bude negativní. Tomuto typu falešně negativního výsledku lze předejít inokulací vhodného média na plotnách kromě selektivního obohacovacího bujónu. Před selektivní inokulací bujónu nanese stěr na krevní agar. Ten by měl být inkubován 18 až 24 hodin při teplotě 35-37°C. V případě, že se neobjeví typické hemolytické kolonie, inkubace by měla trvat dalších 24 hodin. V některých případech je β -hemolýza málo výrazná, a tak musí být provedeno další testování, např.: latexový aglutinační test či CAMP test (Rosa-Fraile et al.,2017).

1.4.3 Kultivace

Kultivaci řadíme k nejdůležitějším diagnostickým metodám přímého průkazu přítomnosti bakterií, proto je považována za zlatý standard i v případě záchytu

S.agalactiae z rektovaginálního výtěru. Během kultivace dochází k izolaci několika druhů bakterií. V případě rektovaginálních a poševních stěrů dochází často k růstu i jiných druhů bakterií, z tohoto důvodu se využívají i selektivní půdy, které nám podporují růst *S.agalactiae* a zároveň potlačují nárůst jiných mikroorganismů. Hlavním cílem kultivace je pak získání co nejčistší kultury. Během kultivace musíme dodržet správnou vlhkost půdy, požadované pH, kultivační teplotu, atmosféru pro kultivaci, dostatek živin a musí být dodržena správná délka kultivace, ta ve většině případů probíhá 48 až 72 hodin (Hálová E., 2015)

1.4.3.1 Půdy vhodné pro kultivaci S.agalactiae

Krevní agar

Tento druh agaru využíváme k izolaci a detekci hemolytické aktivity streptokoků a dalších náročnějších mikroorganismů. V základu toto médium obsahuje hovězí extrakt a pepton, dále se přidává ovčí krev. V některých případech může být použita i krev králičí či koňská pro charakterizaci dalších hemolytických organismů, jako například *Haemophilus* (Jorgensen et al., 2015).

CNA agar

Ve srovnání s klasickým krevním agarem na tomto médiu rostou bakterie ve větších koloniích. Slouží k diferenciaci gram pozitivních koků. Obsahuje mimo jiné kolistin a kyselinu nalidixovou, což podporuje růst stafylokoků, hemolytických streptokoků a enterokoků, ale zároveň inhibuje růst *Protea*, *Klebsiella* a *Pseudomonas* (CHROMagar).

Todd Hewitt Broth + Antibiotics (TODD H-T)

Slouží jako pomnožovací bujón pro streptokoky skupiny B (Biomérieux, 2022).

1.4.4 Mikroskopie

V případě mikroskopie je potřeba mít sklíčko správně obarvené, využíváme proto barvení dle Grama. Při tomto barvení dochází k rozlišení vlastností bakterií, ale hlavně ho využíváme pro rozdělení na dvě základní skupiny: gram pozitivní a gram negativní (Votava, 2010)

Podstatou tohoto barvení je barevné rozlišení, které je závislé na stavbě bakteriální stěny. Během barvení dochází v bakteriální buňce ke vzniku komplexu krystalové violeti s jódem, který je v případě gramnegativní bakterie pomocí alkoholu či acetonu z buňky rychle vyplaven, zatímco u grampozitivních bakterií tak rychle k odbarvení nedojde. Záleží zde tedy na stavbě bakteriální buňky. Jedna hypotéza nám říká, že grampozitivní bakterie mají daleko silnější vrstvu peptidoglykanu ve stěně, ve které dochází při odbarvování ke smrštění a tím se zpomalí vyplavení komplexu. Druhá hypotéza praví, že ve stěně gramnegativní bakterie je vyšší obsah lipidů a po přidání alkoholu se v ní vytvářejí póry, jimiž se barevný komplex vyplavuje. *S.agalactiae* však není možné pod mikroskopem zcela odlišit od jiných β -hemolytických streptokoků (Votava, 2010).

1.4.5 CAMP test

Reakci CAMP faktoru poprvé popsali v roce 1944 Christie, Atkins a Munch-Petersen a týká se synergické lýzy erytrocytů β -hemolyzinem *Staphylococcus aureus* a extracelulárním faktorem CAMP (Jorgensen et al., 2015).

Téměř všechny klinické izoláty GBS produkují cytolytický toxin, takzvaný faktor CAMP. Ten sám o sobě není hemolytický, i přesto, že lyzuje ovčí erytrocyty předem ošetřené stafylokokovým β -lyzinem (sfingomyelinázou). Tento cytolyzin je odlišný od GBS β -hemolyzinu a pigmentu (Rosa-Fraile et al., 2017).

CAMP test vyžaduje nanesení testovaného kmene kolmo na pruh kmene *Staphylococcus aureus* na krevní agar obohacen ovčí krví. Pozitivní reakce se jeví jako charakteristická zóna hrotu šipky hemolýzy v blízkosti místa, kde se obě čáry dostávají do těsné blízkosti. Tento test však není dostatečně konkrétní, mnoho kmenů *S.porcinus*, které jsou izolovány z genitourinárního traktu pacientek a některé jiné streptokoky skupiny A (GAS) mohou také vyvolat pozitivní reakci CAMP testu. Fakt, že je CAMP faktor přítomen v nehemolytických nepigmentovaných kmenech GBS, lze využít k vyvolání β -hemolýzy u jinak nehemolytických kmenů začleněním stafylokokového β -lysinu do ploten s krevním agarem. Gen *cfb*, který kóduje faktor CAMP je přítomen ve velké většině izolátů GBS a je využíván pro molekulární identifikaci GBS (Rosa-Fraile et al., 2017).

1.4.6 Latexová aglutinace

Většina lidských izolátů GBS po inkubaci přes noc snadno roste na krevním agaru jako velké kolonie s úzkou zónou β -hemolýzy. U některých kmenů však může být obtížné detekovat beta-hemolýzu GBS a lze ji pozorovat pouze tehdy, když se kolonie oddělí od krevního agaru. Ve většině laboratoří jsou kolonie vykazující typickou morfologii GBS podrobeny latexovým aglutinačním testům ke stanovení přítomnosti Lancefieldova antigenu skupiny B, pokud jsou pozitivní, jsou označeny jako GBS. Rozhodnutí založené na detekci Lancefieldova antigenu skupiny B je velmi specifické, protože *S.agalactiae* je jediným streptokokovým druhem, který tento antigen nese (Rosa-Fraile et al., 2017).

1.4.7 MALDI-TOF MS

MALDI-TOF MS se pro svou vysoce výkonnou identifikaci mikrobiálních druhů stala zlatým standardem na klinických pracovištích (Rothen et al., 2019).

Mluvíme zde o hmotnostní spektrometrii (MS) s asistovanou laserovou desorpční/ionizací (MALDI) za pomoci matrice (TOF) (Calderaro et al., 2015). Tato metoda je založena na analýze proteinových profilů generovaných pomocí nefragmentačních nebo „měkkých ionizačních“ technik, které nám umožňují analýzu velkých makromolekul, které jsou charakteristické pro každý mikroorganismus. Získaná spektra, nebo-li proteinové otisky (běžně mezi 2 a 20 kDa), jsou porovnávána s databází nám již známých spekter. Pro správnou identifikaci záleží na kvalitě a komplexnosti databáze, jelikož mluvíme o automatizovaném systému. Tato metoda je využívána především pro svou rychlost a přesnost. MALDI-TOF MS je ovšem omezen na identifikaci čistých kolonií, které jsou pěstovány na pevném médiu, jelikož pro vytvoření vhodného hmotnostního spektra vyžaduje přiměřené množství vzorku. Je tomu tak proto, že dnešní softwarové programy nejsou schopny analyzovat spektra získaná ze smíšených kultur. Proto zatím pomocí MALDI-TOF MS není možné identifikovat mikroorganismy přímo z většiny klinických vzorků, jako jsou výtěry či vzorky ran. To vylučuje jeho použití pro přímou identifikaci GBS z vaginálního a rektálního výtěru. V dnešní době je tato metoda brána jako rychlá a robustní metoda pro přesnou mikrobiální identifikaci v mnoha mikrobiologických laboratořích a začíná nahrazovat techniky fenotypové identifikace. Pokud chceme analyzovat β -hemolytické streptokoky, včetně GBS, stanovení pomocí MALDI-TOF MS je velmi rychlé, v řádu několika minut, a 100 % přesné. (Rosa-Fraile et al., 2017) Metoda

nám také umožňuje rozlišení mezi *S.agalactiae* a *S.halichoeri* nebo *S.pseudoporcinus* (Falkins L., 2021).

1.4.8 Molekulární metody detekce GBS

Molekulární metody pro specifické diagnostické účely v posledních letech značně změnilly klinickou mikrobiologii. V případě jednoduché druhové diagnostiky GBS se NAAT nevyžadují, ovšem pokud se setkáme s atypickými izoláty GBS, je možné dosáhnout správného a spolehlivého označení druhu sekvenováním genu 16S rRNA a určením sekvence genu *sodA*. Velký potenciál použití NAAT vidíme ve screeningu GBS. První PCR pro účely screeningu GBS byly vyvinuty na základě genu faktoru CAMP (Rosa-Fraile et al.,2017).

Hlavní výhodou PCR je krátký časový rámec, který je nezbytný k poskytnutí výsledků ohledně stavu kolonizace GBS v době doručení vzorku. S ohledem na nižší citlivost však nejnovější doporučení CDC pro prevenci GBS doporučují prenatální screening *S.agalactiae* pomocí NAAT pouze po předchozím obohacení v selektivním bujónu. Je nutné dodat, že ani metoda PCR nemusí být vždy dostatečně rychlá pro podání peripartálních antibiotik, jelikož mnoho žen porodí během několika hodin po přijetí do nemocnice. Další velkou nevýhodou je nedostačující informovanost o citlivosti na antibiotika. CDC proto v současné době nedoporučuje rutinní screening GBS pomocí NAAT při porodu (Rosa-Fraile et al., 2017).

1.4.9 API® 20 STREP

API® 20 STREP je kvalitativní standardizovaný systém, který slouží k identifikaci skupin nebo druhů velkého množství streptokoků, enterokoků a jejich příbuzenských organismů. Jsou zde používány miniaturizované testy a speciálně upravené databáze (Doporučený postup BIOMÉRIEUX, 2019).

Proužek API 20 STREP je složen z 20 mikrozkušavek, které obsahují dehydratované substráty. Mikrozkušavky jsou inokulovány bakteriální suspenzí připravovanou v médiu API GP Medium. Toto médium zajišťuje rekonstituci u jednotlivých testů. Mikrozkušavky se nechávají inkubovat. Během inkubace dochází v důsledku metabolismu k barevným změnám. Reakce se odečítají podle odečítací tabulky a identifikace se provádí pomocí identifikačního softwaru (Doporučený postup BIOMÉRIEUX, 2019).

2 Cíl práce a výzkumné otázky

2.1 Cíl práce

Cíle mé bakalářské práce jsou:

1. Seznámení se s problematikou urogenitálních infekcí a možnostmi jejich laboratorní diagnostiky.
2. Provést vyšetření skupiny pacientů metodou bakteriologické kultivace výtěrů z pochvy v prostředí laboratoře rutinně tuto metodu provádějící.
3. Srovnat výsledky laboratoře – frekvenci pozitivních nálezů s celorepublikovými daty.

2.2 Výzkumné otázky

1. Lze dosáhnout rozdílnými metodami kultivace stejných výsledků?
2. Shodují se výsledky laboratoře s celorepublikovými daty?

3 Metodika

Laboratorní diagnostika *Streptococcus agalactiae* byla provedena v mikrobiologické laboratoři společnosti SYNLAB s.r.o v Českých Budějovicích. Bylo vyšetřováno 100 vzorků odebraných od těhotných žen v 35. – 37. týdnu těhotenství. Vzorky byly podrobeny klasickému kultivačnímu vyšetření na krevním agaru a dále pomnožením v pomnožovacím bujónu Todd Hewitt Broth + Antibiotics. U suspektních kmenů byla provedena identifikace pomocí MALDI-TOF MS.

3.1 Odběr, transport a přijetí vzorku

Jako materiál k vyšetření přítomnosti *Streptococcus agalactiae* nám slouží vaginální či rektovaginální výtěr, který provádí gynekolog pomocí sterilního dacronového tamponku. Ten je poté umístěn do již připravené zkumavky s transportním médiem, nejčastěji je využívána Amiesova půda, tato zkumavka musí být řádně označena jménem a příjmením pacientky. Takto odebraný vzorek je společně se žádankou odeslán do laboratoře. Žádanka by měla být správně vyplněna a musí obsahovat všechny potřebné informace o pacientce, jako je – jméno, příjmení, rodné číslo, pojišťovna, diagnóza, jméno a razítko lékaře, datum a čas odběru. Vzorek musí být do 24 hodin od odběru zpracován, proto je důležité doručit ho co nejdříve do laboratoře.

Po přijetí vzorku dochází laborantkou ke kontrole daného vzorku. Zkumavka nesmí být žádným způsobem poškozena a žádanka musí být správně vyplněna. Poškození či jiné znehodnocení vzorku může vést k jeho odmítnutí. Pokud v žádance chybí některá informace, je možno si ji telefonicky vyžádat. V případě, že je vše v pořádku, laborantka zaneše vzorek společně s informacemi o pacientovi do laboratorního informačního systému a vzorek si dále označí číslem, pod kterým se s ním dále pracuje.

3.2 Kultivace

Vzorky, které byly doručeny do laboratoře byly vyočkovány na běžně užívaný krevní agar s přidavkem 5 % ovčí krve. Ten byl inokulován odběrovým tamponem a pomocí sterilní bakteriologické kličky rozočkován. Do inokula byl nanesen antibiotický disk (Gentamicin 10 µg), na který je *Streptococcus agalactiae* přirozeně rezistentní, ale který je zároveň schopný odklonit ostatní nežádoucí bakterie. Byl vyhotoven i nátěr na sklíčko pro mikroskopii. Nakonec byl výtěrový tampon umístěn do pomnožovacího bujónu Todd

Hewitt Broth + Antibiotics pro jeho vyšší výtěžnost. Krevní agar společně s bujónem byly 18 – 24 hodin inkubovány v termostatu při teplotě 37°C.

Následující den se odečítaly narostlé kultury na krevním agaru. Výtěrový tampon z pomnožovacího bujónu byl po inkubaci inokulován na krevní agar a opět pomocí bakteriologické kličky rozočkován. Do inokula se aplikoval Gentamicin 10 µg a agar byl vložen do termostatu na 18 – 24 hodin při teplotě 37°C. Další den se kontrolovaly narostlé kolonie (obr.1).



Obr.1 – Narostlá kolonie *Streptococcus agalactiae* (zdroj vlastní).

Pomůcky:

- Krevní agar
- Bakteriologické kličky
- Výtěrový tampon se vzorkem
- Antibiotický disk Gentamicin 10 µg
- Termostat
- Todd Hewitt Broth + Antibiotics

Krevní agar řadíme mezi nejběžnější půdy klinické mikrobiologie. Do půdy, která je ochlazená na 45 až 50°C přidáváme 5 až 10 % sterilní defibrinované ovčí krve. Po promíchání směs přeléváme do Petriho misky. Velikou výhodou této půdy je, že na něm naroste většina lékařsky důležitých mikrobů a umožňuje nám sledovat hemolytické vlastnosti vyrostlých kmenů.

Tab.1 – složení krevního agaru

Složení krevního agaru g/l destilované vody	
Směs peptidů	23,0
Škrob	1,0
Chlorid sodný	5,0
Agar	10,0
Beranní Krev	50,0 ml
Výsledné pH	7,3 ± 0,2

(Zdroj: Atlas a Snyder, 2006)

Pomnožovací bujon Todd Hewitt Broth + Antibiotics je univerzální médium, které se však primárně využívá pro kultivaci β -hemolytických streptokoků. Tato půda je vysoce výživná díky obsahu peptonů, dextrózy a solí. Zmiňovaná dextróza je schopna stimulovat produkci hemolyzinu. Fosforečnan a uhličitan sodný poskytují puřovací účinek, aby působily proti kyselosti, která je produkována během fermentace dextrózy, tím je chráněn hemolyzin proti inaktivaci kyselinou (BBL Todd Hewitt Broth, 2015).

3.3 Mikroskopie

Před samotným vyhotovením nátěru jsme si připravili řádně označené sklíčko jedinečným číslem, které bylo shodné s číslem na vzorku. Materiál z výtěrového tamponu byl rozetřen po podložním sklíčku. Vše se nechalo zaschnout. Dále došlo k fixaci plamenem a barvení dle Grama.

Barvení dle Grama nám slouží nejen ke zjištění vlastností bakterií, ale především nám rozdělí bakterie na grampozitivní (G+) a gramnegativní (G-). Je nám znám i pojem gramlabilní, s nímž se setkáváme v případě, že bakterie není možné obarvit či se barví velmi špatně. Vlastní podstatou barvení dle Grama je rozdílná stavba bakteriální stěny. Při barvení dochází v buňce ke vzniku komplexu krystalové violeti s jódem, jenž je v případě gramnegativních bakterií alkoholem či acetonem rychle vyplaven z buňky. Naopak u grampozitivních bakterií k tak rychlému vyplavení nedochází, ale samozřejmě pokud alkohol působí delší dobu, může docházet k odbarvování i těchto bakterií. Grampozitivní bakterie se nám tedy zbarvují modře, gramnegativní bakterie pak červeně.

Postup barvení dle Grama:

- Na dobře zafixovaný vzorek se nanese barvivo, konkrétně tedy krystalová violet' po dobu 20 sekund.
- Následně krystalovou violet' ze sklíčka spláchneme Lugolovým roztokem a čistý Lugolův roztok necháme působit opět 20 sekund.
- Dále přichází na řadu organické rozpouštědlo v podobě acetonu či etanolu, které nám způsobí odbarvení.
- V dalším kroku důkladně opláchneme vodou.
- Aby byly gramnegativní bakterie lépe pozorovatelné pod mikroskopem, dochází ještě k dobarvení kultury zředěným karbolfuchsinem, který necháváme působit 30–60 s, opláchneme a necháme řádně zaschnout.

3.4 CAMP test

CAMP test nám slouží pro odlišení β -hemolytických streptokoků, konkrétně k odlišení *Streptococcus pyogenes* a *Streptococcus agalactiae*.

Test byl prováděn na krevním agaru, na který se pomocí bakteriologické sterilní kličky nanesly dvě čáry vyšetřovaného stěru a kolmo přes ně se jinou kličkou udělala čára se vzorkem obsahujícím *Staphylococcus aureus*. Takto připravený krevní agar se nechal 24 hodin inkubovat při 37°C.

Výsledek byl hodnocen jako pozitivní (obr.2), pokud v místě průsečíku obou kolonií došlo k výraznému projasnění, které má tvar „mašličky“.



Obr.2 - pozitivní CAMP test (zdroj vlastní).

Pomůcky:

- Krevní agar
- Bakteriologické kličky
- Rod *Staphylococcus aureus*
- Námí vyšetřovaný vzorek

3.5 MALDI-TOF MS

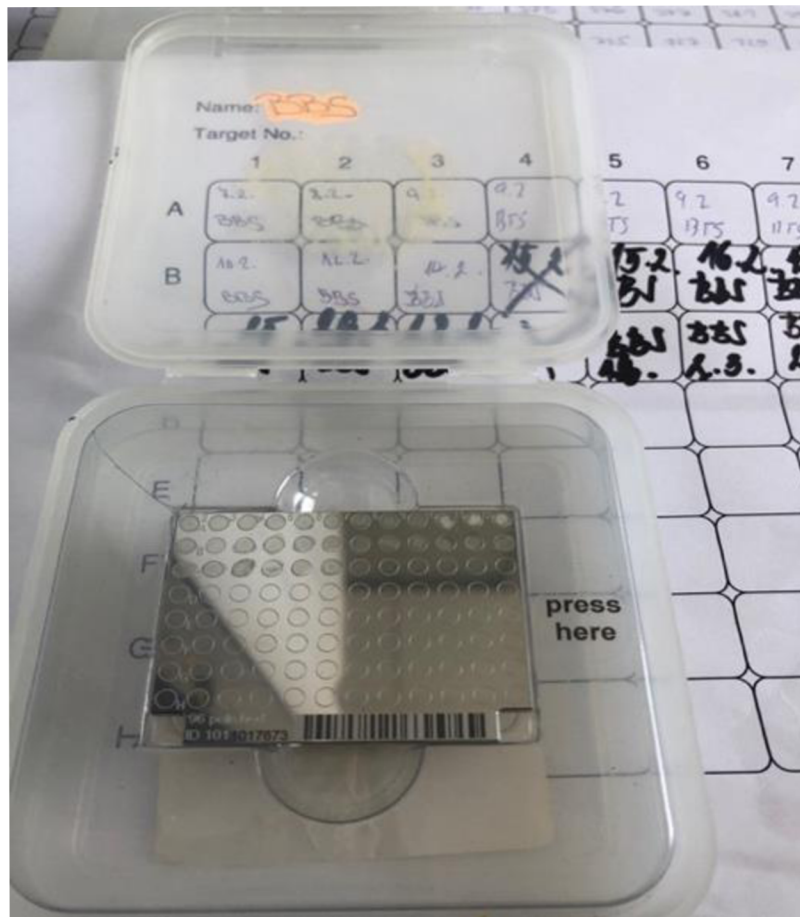
Hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpčí a ionizací za účasti matrice je v současné době zaváděna v klinických laboratořích pro svou schopnost určení molekulové hmotnosti a identifikaci biomolekul.

Vzorky, které se nám po kultivaci na krevním agaru jevily jako pozitivní, byly dále hodnoceny pomocí MALDI-TOF MS (obr.3), jelikož vždy potřebujeme dvojí potvrzení výsledku.

K tomu, abychom mohli tento přístroj použít, jsme museli mít čistou kulturu, která nám během noci narostla. Námi získaný biologický materiál jsme pomocí obyčejného párátko rozetřeli jako tenký film na ocelovou MALDI destičku. Materiálu není potřeba mnoho, stačí, když je možné okem vidět na terčiku alespoň nějaký biologický materiál. Na takto připravenou destičku se vzorkem byl pipetou nanesen 1 μ l roztoku MALDI matrice a destičku jsme nechali zaschnout (obr.4). Tímto byl vzorek připraven k identifikaci a vložen do přístroje.



Obr.3 – MALDI TOF MS od firmy BRUKER (zdroj vlastní).



Obr.4 – MALDI destička s nanesenou kulturou (zdroj vlastní).

Pomůcky:

- Čistá kultura námi vyšetřovaného vzorku
- MALDI destička
- Párátko
- MALDI matrice
- Analyzátor MALDI od firmy Bruker

3.6 Latexová aglutinace

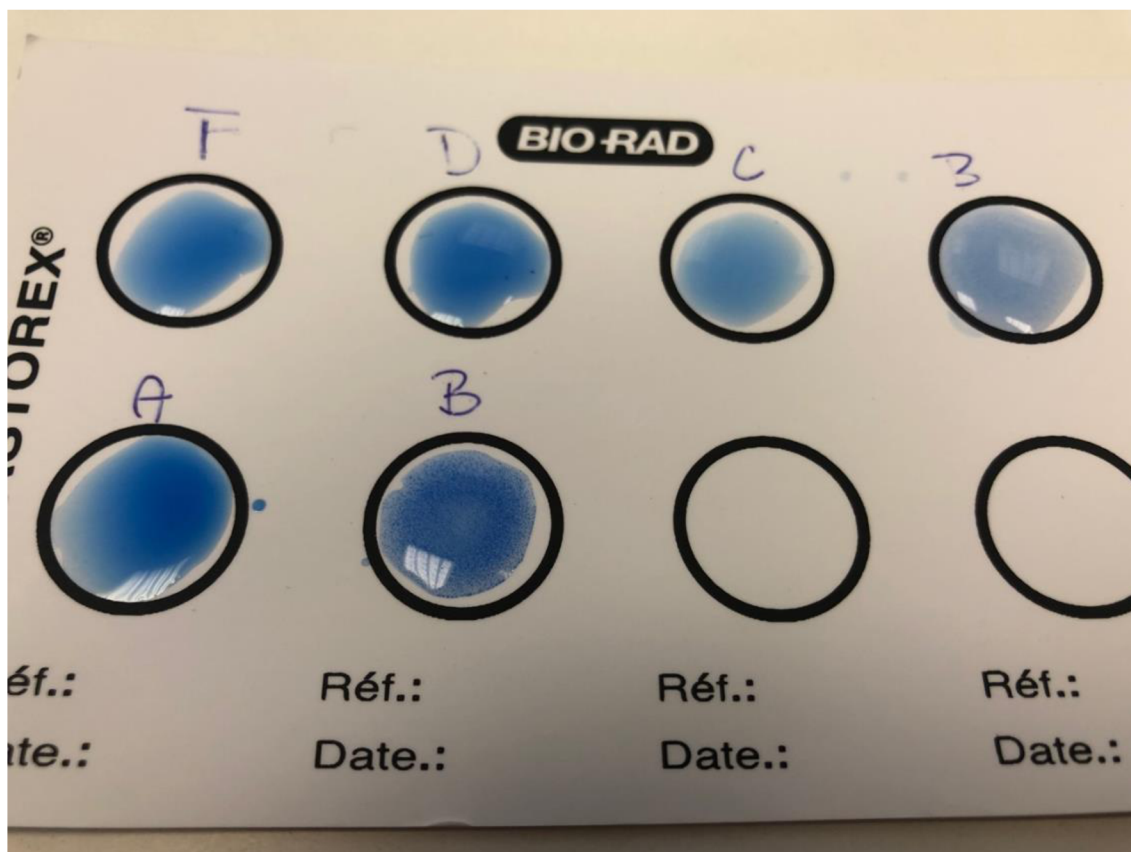
Ve chvíli, kdy nám po inkubaci na krevním agaru vyrostly kolonie, které bychom identifikovali jako GBS, jsme přistoupili k potvrzení latexovým aglutinačním testem, díky kterému jsme si mohli potvrdit přítomnost skupinového antigenu B.

Pomůcky:

- Strep Latex Group A
- Strep Latex Group B
- Strep Latex Group C
- Strep Latex Group D
- Strep Latex Group F
- Strep Extraction 1
- Strep Extraction 2
- Strep Extraction 3
- Sterilní bakteriologické kličky
- Aglutinační kartičky
- Pipetu a špičky
- Ependorfky
- Krevní agar s narostlou kolonií

Postupovali jsme dle předepsaného návodu. Všechny potřebné komponenty jsme nechali vytemperovat na pokojovou teplotu. Do již připravené „ependorfky“ jsme kápili 1 kapku „Strep Extraction 1“ a pomocí sterilní bakteriologické kličky přidali 1–4 kolonie *Streptococcus agalactiae*. K takto připravené suspenzi jsme přidali 1 kapku „Strep extraction 2“ a 5-10 vteřin protřepávali. V posledním kroku jsme přikapali dalších 5 kapek „Strep Extractin 3“ a protřepali. Do každého kroužku aglutinační destičky jsme postupně nakápili 1 kapku modré latexové suspenze (Strep Latex Group F, Strep Latex Group D, Strep Latex Group C, Strep Latex Group B a Strep Latex Group A) a vedle pomocí Pasteurovy pipety 1 kapku suspenze testovaného kmene. Tyto kapky jsme pomocí sterilní bakteriologické kličky promíchali. Poté jsme s aglutinační destičkou začali pomalým krouživým pohybem hýbat, aby bylo možné vidět případnou aglutinaci.

Pozitivní výsledek je znatelný u antigenu B, což nám opravdu potvrzuje přítomnost námi zjišťovaného streptokoka (obr.5).



Obr.5 – Latexová aglutinace, negativní výsledek viditelný u antigenu F, D, C, B a A, pozitivita u antigenu B (zdroj vlastní).

3.7 API® 20 STREP

API® 20 STREP řadíme mezi biochemické testy, které nám slouží k identifikaci streptokoků a enterokoků.

Abychom mohli provést diagnostiku pomocí tohoto biochemického testu, museli jsme si nechat opět inkubovat námi vyšetřovaný vzorek 24 hodin. Do zkumavky jsme si dali cca 4 ml destilované vody a k tomu přidali kulturu v takovém množství, aby vzniklý zákal byl vyšší než 4 McFarland. Výši zákalu jsme si přeměřili pomocí přístroje DENSIMAT. Vzniklou suspenzi jsme pomocí pipety o objemu 100 µl nanесли do jamek v první polovině testovacího proužku, tedy do testů VP – pyruvát sodný až LAP – L-Leucin-β-naftylamid a u testu ADH – L-Arginin jsme naplnili pouze zkumavku. Abychom mohli diagnostikovat i na zbylé polovině, museli jsme zhruba 0,5 ml námi připravené suspenze přenést pomocí Pasteurovy pipety do komerčně

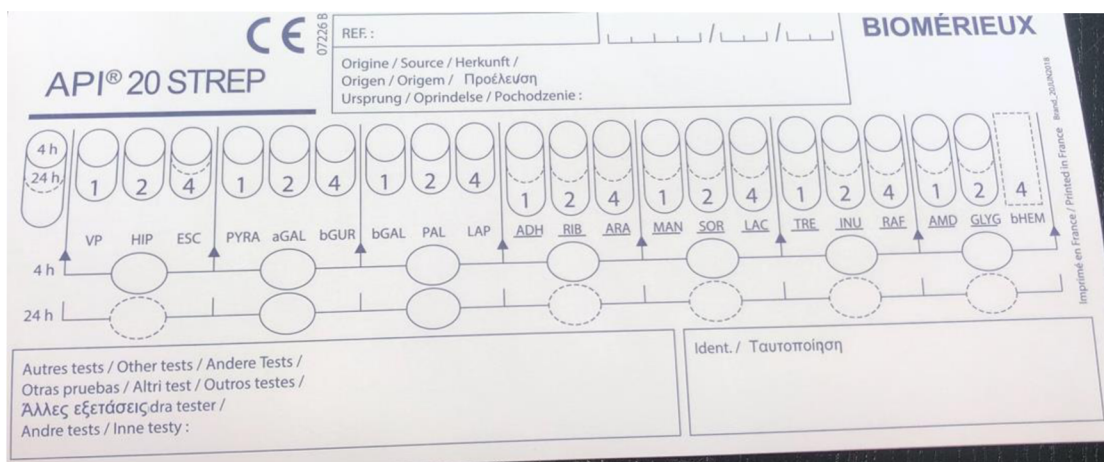
dodávaného média API GP Medium a řádně promíchat. Tuto novou suspenzi jsme nanесли do zbylých zkumavek, tedy do testů RIB – D-Ribóza až GLYG - glykogen.

U testů ADH až GLYG je důležité zajistit anaerobiózu, proto jsme jamky naplnili minerálním olejem, aby se vytvořil konvexní meniskus. Testovací proužek byl dále umístěn do inkubačního boxu, který jsme zalili vodou a uzavřeli (obr.6). Box se nechal inkubovat při teplotě 36°C po dobu 4 hodin.



Obr.6 – Testovací proužek připravený k inkubaci (zdroj vlastní).

Po 4 hodinách inkubace dochází k přidávání reagensů. Do testu VP se přidá po 1 kapce VP 1 a VP 2, do testu HIP - kyselina hippurová 2 kapky reagensie NIN. K testům PYRA - β -naftylamid kyseliny pyroglutamové, α GAL – 6-Brom-2-Naftyl- α D-glukopyranosid, β GUR – Nafotl ASBI-kyselina galaktopyranosid, β GAL - 2-Naftyl- β D-glukopyranosid, PAL – 2-Naftyl fosfát a LAP – L-Leucin- β -naftylamid přidáváme 1 kapku reagensů ZYM A a ZYM B. Takto připravený testovací proužek necháme 10 minut ležet, aby došlo k odbarvení a poté odečteme reakce pomocí odečítací tabulky.



Obr.7 – Výsledková tabulka (zdroj vlastní).

Ve výsledkové tabulce dochází k rozdělení testů do skupin po třech. Každé z těchto skupin se přidělí hodnota 1, 2 nebo 4 (obr.7). Sečtením hodnot, které odpovídají pozitivním reakcím v každé skupině, získáme sedmimístné číselné profily.



Obr.8 – Testovací proužek při odečítání výsledků a již vyplněna výsledková tabulka (zdroj vlastní).

Na základě změny barvy můžeme postupně rozhodnout o pozitivitě či negativitě. Změna barvy nastala v případě testů VP, HIP, ESC – eskulin citrát železitý, β GUR, PAL, LAP, ADH, RIB, TRE – D-Thehalóza, AMD - škrob. Po přiřazení jednotlivých hodnot a jejich následném sečtení jsme dostali tento sedmimístný profil: 7 4 6 3 0 1 1 (obr.8). Ten jsme zadali do identifikačního systému APIWEB™, který nám potvrdil přítomnost *Streptococcus agalactiae*.

4 Výsledky

4.1 Četnost výskytu *Streptococcus agalactiae* v letech 2019, 2020 a 2021 v mikrobiologické laboratoři SYNLAB s.r.o. v Českých Budějovicích

Česká neonatologická společnost uvádí výskyt *Streptococcus agalactiae* v poševním prostředí u 18% (11 – 35 %) gravidních žen, tuto hodnotu jsem srovnávala s hodnotami, které jsem během výzkumu získala.

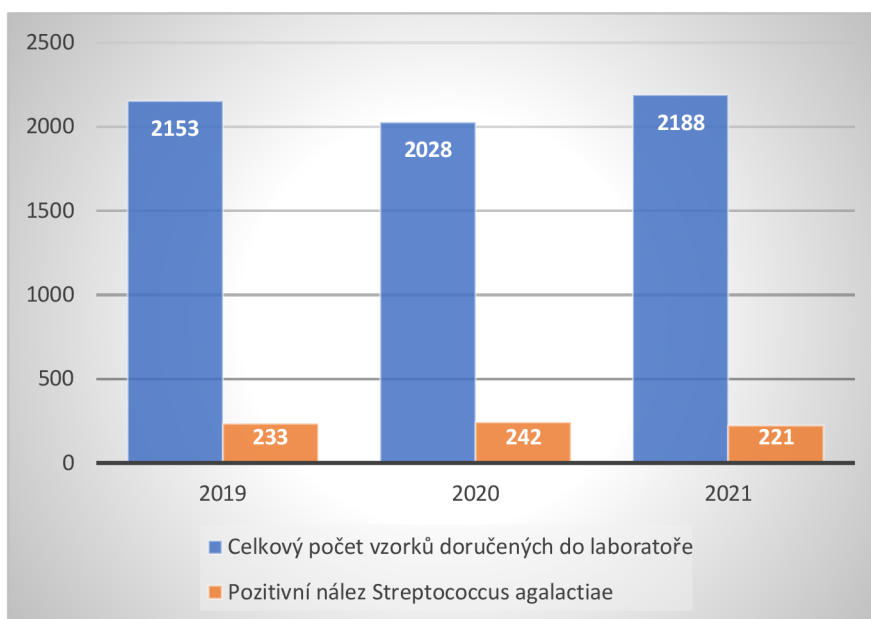
Dle statistiky, kterou mi poskytli v mikrobiologické laboratoři SYNLAB s.r.o. v Českých Budějovicích bylo v roce 2019 do laboratoře doručeno 2153 vzorků od gravidních žen, z toho se u 233 potvrdila přítomnost tohoto patogena, v procentuálním zastoupení byl výskyt pozitivní u 10,82 %. V roce 2020 bylo v laboratoři provedeno 2028 testů na přítomnost *Streptococcus agalactiae*, k jeho potvrzení došlo ve 242 případech, tedy v 11,93 %. V roce 2021 bylo vyšetřeno 2188 vzorků od gravidních žen a ve 221 případech se přítomnost patogena potvrdila, procentuální zastoupení zde bylo 10,10 % (Tabulka 1 a Graf 1). Všechny tyto vzorky podlely klasické bakteriologické kultivaci bez pomnožení v bujONU Todd Hewitt Broth + Antibiotics. Odebraný materiál, který byl do laboratoře doručen, pocházel převážně z gynekologických ambulancí, ordinací a center.

Na základě těchto výsledků můžeme tvrdit, že pozitivní výskyt *Streptococcus agalactiae* zachycen v laboratoři SYNLAB s.r.o. v Českých Budějovicích odpovídá předpokládanému rozmezí, které je udáváno Českou neonatologickou společností. Dokonce v letech 2019 a 2021 se čísla pohybují pod zmíněnou hranicí.

Tab.2 – Četnost pozitivních záchytů v letech 2019, 2020 a 2021.

Rok	2019	2020	2021
Celkový počet vzorků doručených do laboratoře	2153	2028	2188
Pozitivní nález <i>Streptococcus agalactiae</i>	233	242	221
Procentuální zastoupení pozitivních výsledků (%)	10,82	11,93	10,10

(zdroj vlastní)



Graf 1 - Četnost pozitivních záchytů v letech 2019, 2020 a 2021 (zdroj vlastní).

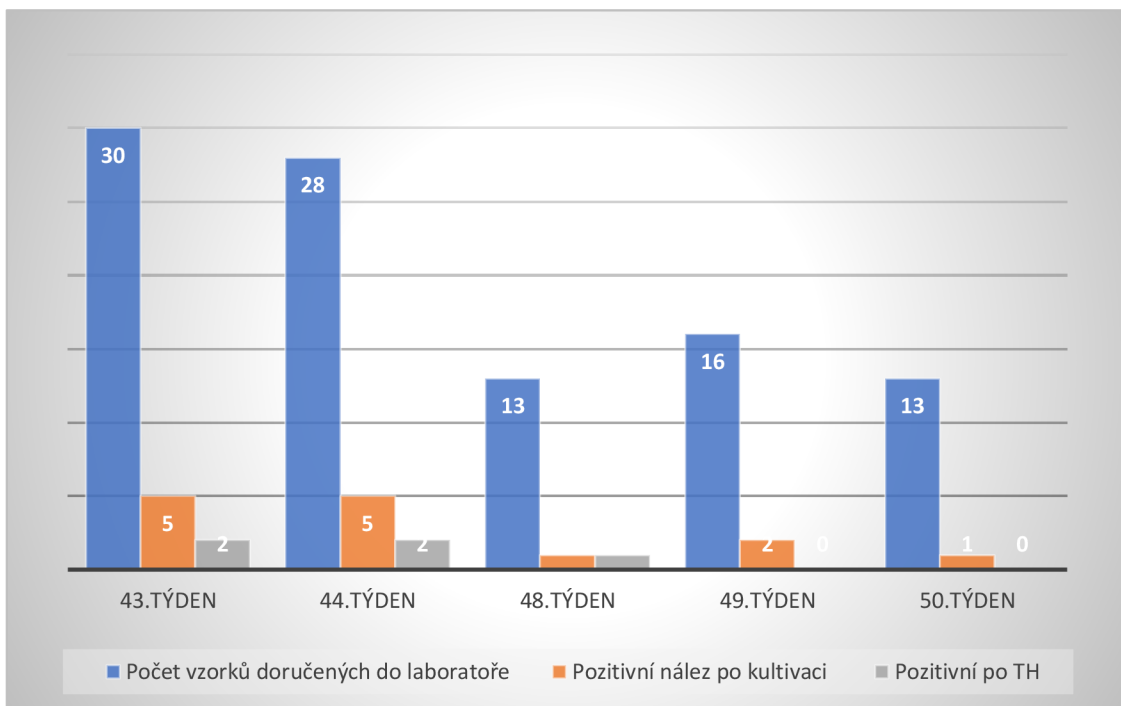
4.2 Pozitivní nálezy

V období od října do prosince roku 2021 jsem docházela do laboratoře SYNLAB s.r.o. v Českých Budějovicích, kde jsem zpracovala 100 vzorků. U těchto vzorků měla být potvrzena či vyloučenou přítomnost *Streptococcus agalactiae*. Mým úkolem bylo zjistit, zda vycházejí odlišné výsledky v případě běžné bakteriologické kultivace a kultivace po pomnožení v bujONU Todd Hewitt Broth + Antibiotics. Ze 100 vzorků byla potvrzena přítomnost patogena po běžné kultivaci u 14 těhotných žen, tedy u 14 % zaslaných vzorků. Všechny vzorky byly po kultivaci pomnoženy v bujONU Todd Hewitt Broth + Antibiotics, kvůli větší výtěžnosti. Po pomnožení se objevil patogen ještě u dalších 5 vzorků. Pozitiva byla tedy potvrzena u 19 % žen.

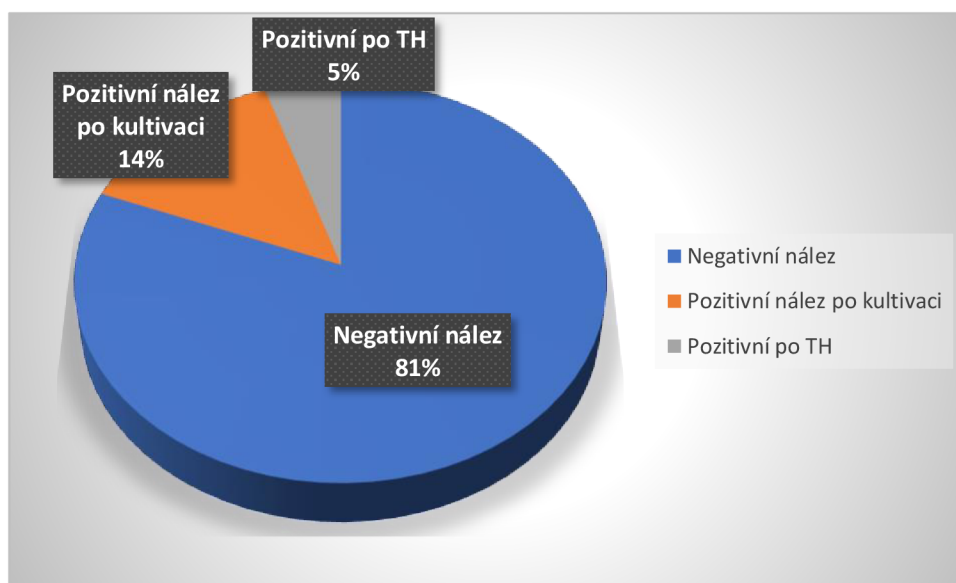
Tab.3 – Výsledky běžné kultivace a kultivace po pomnožení.

Týden v roce 2021	Počet vzorků doručených do laboratoře	Pozitivní nález po kultivaci	Pozitivní po TH
43.týden	30	5	2
44.týden	28	5	2
48.týden	13	1	1
49.týden	16	2	0
50.týden	13	1	0
Celkem	100	14	5

(zdroj vlastní).



Graf 2 – Výsledky běžné kultivace a kultivace po pomnožení (zdroj vlastní).



Graf 3 – Pozitivní a negativní záchyty v procentech (zdroj vlastní).

Tab. 4 – Tabulka pro výpočet senzitivity, specifity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty

První kultivace	Druhá kultivace		Celkem
	pozitivní	negativní	
pozitivní	14	0	14
negativní	5	81	86
Celkem	19	81	100

(zdroj vlastní)

Na základě hodnot zadaných v tabulce jsem vypočetla senzitivitu, specifitu, pozitivní a negativní prediktivní hodnotu (Tab.4). Senzitivita nám vyšla 73,7 % a udává, kolik pozitivních vzorků odhalí první kultivace z celkového počtu skutečně pozitivních. Specifita nám dle výpočtu vyšla 100 %. Specifita znamená, kolik negativních vzorků odhalí první kultivace z celkového počtu skutečně negativních. V případě výpočtu pozitivní prediktivní hodnoty nám vyšlo 100 %, pozitivní prediktivní hodnota nám udává, jak je pravděpodobné, že je vzorek označený jako pozitivní po první kultivaci skutečně pozitivní. Negativní prediktivní hodnota vyšla 94,2 % a udává pravděpodobnost s jakou je vzorek označený jako negativní po první kultivaci skutečně negativní.

Na základě těchto výpočtů můžeme tvrdit, že zde máme určitou odchylku mezi výsledky první a druhé kultivace, proto bych doporučila podrobnější stanovení u většího množství vzorků.

5 Diskuse

Streptococcus agalactiae patří mezi běžně se vyskytující patogeny v rektu, pochvě či nosohltanu. Riziko pak nastává, pokud je přítomen v pochvě gravidní ženy, která má před porodem. Může dojít k vertikálnímu přenosu patogena z matky na novorozence, a u něj vyvolat život ohrožující sepsi, meningitidy nebo pneumonie. Z tohoto důvodu je stěžejní včasná diagnostika. V laboratorní praxi bývá využívána kultivace, latex aglutinační test, mikroskopie, prokázání pomocí CAMP testu a v dnešní době často využívána hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpčí a ionizací za účasti matrice (MALDI-TOF MS). Pokud dojde k prokázání přítomnosti *Streptococcus agalactiae*, je důležité předejít přenosu na novorozence, a proto se matce během porodu podávají antibiotika, nejčastěji penicilin nebo ampicilin.

Hlavním cílem mé bakalářské práce bylo zjistit, zda se výsledky shodují s celorepublikovými daty a dále, zda je možné dosáhnout stejných výsledků rozdílnými metodami kultivace. Měla jsem k dispozici data za roky 2019, 2020 a 2021, které mi byly poskytnuty v mikrobiologické laboratoři SYNLAB s.r.o. v Českých Budějovicích. Následně jsem provedla samostatně vyšetření 100 vzorků. Na základě těchto dat jsem dospěla k následujícím výsledkům. V roce 2019 bylo vyšetřeno 2153 vzorků, z toho 233 bylo identifikováno jako pozitivní záchyt, tudíž 10,82 % z celkového množství bylo pozitivních. V roce 2020 bylo do laboratoře doručeno 2028 vzorků, z nichž 242 bylo pozitivních, v procentech tedy 11,93 % a v roce 2021 se provedlo vyšetření u 2188 vzorků, pozitivita byla potvrzena u 221 z nich, zastoupení pozitivních bylo tedy 10,10 %. Česká neonatologická společnost udává, že se *Streptococcus agalactiae* vyskytuje u 18 % (11-35%) těhotných žen. Na základě našich dat můžeme tvrdit, že údaj námi zjištěný opravdu odpovídá celorepublikovým datům. Své výsledky jsem porovnávala i s celosvětovými daty, které udávají míru kolonizace od 10 do 30 %. Země jižní a východní Asie měly nejnižší hlášenou prevalenci (11 až 12,5 %), zatímco v Karibiku byla pozorována prevalence nejvyšší (34,7 %) (Furfaro et al., 2018).

K porovnání výsledků rozdílných kultivací jsem sama zpracovala v období od října do prosince 100 vzorků. Všechny vzorky byly podrobeny klasické kultivaci a následně pomnoženy v bujonu Todd Hewitt Broth + Antibiotics. Po klasické kultivaci byl *Streptococcus agalactiae* nalezen u 14 vzorků, kultivace po pomnožení v bujonu odhalila dalších 5 pozitivních vzorků. Z těchto údajů jsem si zjistila senzitivitu a specifitu první

kultivace. Kultivace bez pomnožení dokázala odhalit 73,7 % pozitivních vzorků ze všech skutečně pozitivních.

Na základě toho usuzuji, že by se mělo provést další porovnání těchto dvou metod. Nemohu tvrdit, že je běžná kultivace nedostačující, jelikož by bylo nutné provést srovnání na větším množství vzorků. Určitě bych to však zvážila, úspěšnost 73,7 % u takto důležitého screeningu v těhotenství mi nepřijde jako zcela dostačující.

6 Závěr

V mé bakalářské práci jsem se věnovala výskytu *Streptococcus agalactiae* u těhotných žen. V teoretické části jsem se zaměřila na urogenitální infekce vyskytující se jak u mužů, tak i u žen, sexuálně přenosným chorobám a pak již konkrétněji screeningem *Streptococcus agalactiae* u těhotných žen, ke kterému dochází u každé těhotné ve 35. – 37. týdnu.

Hlavním cílem mé bakalářské práce bylo seznámení se s problematikou urogenitálních infekcí a jejich diagnostikou, provést vyšetření skupiny pacientů metodou klasické bakteriologické kultivace výtěrů z pochvy a všechny vzorky následně nechat pomnožit v bujonu Todd Hewitt Broth + Antibiotics, abychom měli srovnání, zda je klasická kultivace bez pomnožení dostačující pro odhalení *Streptococcus agalactiae*. Také jsem provedla statistické srovnání výsledků mikrobiologické laboratoře SYNLAB s.r.o. v Českých Budějovicích s celorepublikovými daty, které udává Česká neonatologická společnost.

V praktické části mé bakalářské práce jsem provedla vyšetření 100 vzorků. Popisují přesný postup, jak byl vzorek v laboratoři zpracován a následně jsou zaznamenány výsledky. Ze 100 vzorků bylo 81 negativních na přítomnost *Streptococcus agalactiae*, u 14 vzorků se přítomnost patogena potvrdila hned po běžné bakteriologické kultivaci, u dalších 5 vzorků byla pozitivita potvrzena až po pomnožení v bujonu Todd Hewitt Broth + Antibiotics.

Tímto výzkumem jsem byla schopna získat odpovědi na předem stanovené výzkumné otázky.

1. Lze dosáhnout rozdílnými metodami kultivace stejných výsledků?
2. Shodují se výsledky laboratoře s celorepublikovými daty?

V případě rozdílných metod kultivace byly odhaleny určité odchylky, proto bych zřejmě doporučila, aby bylo provedeno přeměření na větším počtu vzorků. I přesto se ovšem v obou případech naše výsledky shodovaly s celorepublikovými daty.

V rámci mé bakalářské práce došlo ke splnění stanovených cílů a zodpovězení výzkumných otázek

7 Použitá literatura

1. ABDALLAH, N.G., ALI, F.M., ADEL, L.A., ELKOTB, A.M., IBRAHIM, W.A., 2021. Prevalence, Resistance Profile and Virulence Genes of *Streptococcus agalactiae* Colonizing Near-term Pregnant Women Attending Ain Shams University Hospital. *Journal of Pure and Applied Microbiology* [online]. 15(3), 1490-1500 [cit. 2021-12-11]. DOI: 10.22207/JPAM.15.3.43. ISSN 09737510. Dostupné z: <https://microbiologyjournal.org/prevalence-resistance-profile-virulence-genes-of-streptococcus-agalactiae-colonizing-near-term-pregnant-women-attending-ain-shams-university-hospital/>
2. ABOU CHACRA, L., FENOLLAR, F., 2021. Exploring the global vaginal microbiome and its impact on human health. *Microbial Pathogenesis* [online]. 160(160) [cit. 2021-10-21]. DOI: 10.1016/j.micpath.2021.105172. ISSN 08824010. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0882401021004460?via%3Dihub>
3. ATLAS, R., M. a SNYDER, J., W., 2006. *Handbook of media for clinical microbiology*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press. ISBN 084933795X
4. BIOMERIEUX, 2022, Kultivační média pro perinatální prevenci GBS, , [online]., [cit. 2021-12-04]. Dostupné z: <https://www.biomerieux.cz/produkty/kultivacni-media-pro-perinatalni-prevenci-gbs>
5. BBL TODD HEWITT BROTH, 2015, Quality control procedures [online]., [cit. 2022-3-1]. Dostupné z: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=22903>
6. CALDERARO, A. et al., 2015. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry applied to virus identification. *Scientific Reports* [online]. 4(1) [cit. 2022-2-10]. DOI: 10.1038/srep06803. ISSN 2045-2322. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/srep06803>
7. ČESKÁ NEONATOLOGICKÁ SPOLEČNOST, Doporučený postup k profylaxi a léčbě infekcí vyvolaných *Streptococcus agalactiae* (GBS) 2020, NEONATOLOGICKÉ LISTY, 26/2020, číslo 1, [online]., [cit. 2021-11-24]. Dostupné z: <https://4602334f-92ff-4c44-91e7->

fd0adc51c6d9.filesusr.com/ugd/afc456_4d864768db7d477d8f894f89aad3f542.pdf

8. DOSTÁLOVÁ Z., GERYCHOVÁ R., 2011, Vulvovaginitidy – záněty vulvy a pochvy, *Interní medicína pro praxi*, 13(6), Solen, [online], 262-264, [cit. 2022-11-3], dostupné z: <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2011/06/09.pdf>
9. FILKINS L., HAUSER J., ROBINSON-DUNN B., TIBBETTS R., BOYANTON B., REVELL P., 2020 (update 2021), Guidelines for the Detection and Identification of Group B Streptococcus, American Society for Microbiology, [online]. [cit. 2022-2-3]. Dostupné z: <https://asm.org/Guideline/Guidelines-for-the-Detection-and-Identification-of>
10. FURFARO, L.L., CHANG, B.J., PAYNE, M.S., 2018. Perinatal Streptococcus agalactiae Epidemiology and Surveillance Targets. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 31(4), e00049-18 [cit. 2022-4-18]. DOI: 10.1128/CMR.00049-18. ISSN 0893-8512. Dostupné z: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00049-18>
11. HÁJEK, Z., 2004. *Rizikové a patologické těhotenství*. Vyd. 1. české. Praha: Grada. ISBN 80-247-0418-8.
12. HÁJEK, Z., ČECH, E., MARŠÁL, K., 2014. *Porodnictví*. 3., zcela přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-4529-9.
13. HÁLOVÁ, E., 2015, Záchyt Streptococcus agalactiae u těhotných žen a novorozenců. Č. Budějovice, bakalářská práce (Bc.). JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH. Zdravotně sociální fakulta
14. HANNA, M., NOOR, A., Streptococcus Group B. *StatPearls Publishing LLC* [online]. 2021 [cit. 2021-11-11]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553143/>
15. HERMANUSSEN, R., DIELISSSEN, P., 2018. Syfilis. *Huisarts en wetenschap* [online]. 61(3), 49-52 [cit. 2022-4-7]. DOI: 10.1007/s12445-018-0059-6. ISSN 0018-7070. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s12445-018-0059-6>
16. JORGENSEN, J.H. et al., ed., 2015. *Manual of Clinical Microbiology* [online]. Washington, DC, USA: ASM Press [cit. 2021-11-24]. DOI: 10.1128/9781555817381. ISBN 9781683672807. Dostupné z: [https://kaldur.landspitali.is/focal/gaedahandbaekur/gnhisykla.nsf/5e27f2e5a88c898e00256500003c98c2/9db7b974de9fe51500257555003b5d54/\\$FILE/ASM%2011.útgáfa.pdf](https://kaldur.landspitali.is/focal/gaedahandbaekur/gnhisykla.nsf/5e27f2e5a88c898e00256500003c98c2/9db7b974de9fe51500257555003b5d54/$FILE/ASM%2011.útgáfa.pdf)

17. KLABAN, V., 2005. *Ilustrovaný mikrobiologický slovník*. Praha: Galén. ISBN 80-7262-341-9.
18. KLADENSKÝ J., 2012, Akutní infekce močových cest – diagnostické a léčebné možnosti v ordinaci praktického lékaře, *Medicína pro praxi*, 9 (10), Solen, [online], 395-398, [cit. 2022-2-3]. Dostupné z: <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2012/10/07.pdf>
19. LEWIS, D., 2014. Trichomoniasis. *Medicine* [online]. 42(7), 369-371 [cit. 2022-2-28]. DOI: 10.1016/j.mpmed.2014.04.004. ISSN 13573039. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1357303914001054>
20. MAŠATA J., 2014, Urogynekologické infekce – pohled urogynekologa, *Urologie pro praxi*, 15(5), [online], 211-216, [cit. 2022-2-3], dostupné z: <https://www.urologiepropraxi.cz/pdfs/uro/2014/05/03.pdf>
21. MAŠATA, J., JEDLIČKOVÁ, A., 2004. *Infekce v gynekologii a porodnictví a základy jejich antiinfekční léčby*. Praha: Maxdorf. ISBN 80-7345-038-0.
22. MAŠATA, J., JEDLIČKOVÁ, A., 2006. *Infekce v gynekologii*. Praha: Maxdorf. Farmakoterapie pro praxi. ISBN 80-7345-107-7.
23. MĚCHUROVÁ A., 2007, *Moderní gynekologie a porodnictví: časopis pro celoživotní vzdělávání lékařů*, 2006. Praha: LEVRET, **2007**(1), 129-130, ISBN 80-903721-1-2. ISSN 1214-2093.
24. *Nové trendy v ošetrovatelství: sborník příspěvků z konference s mezinárodní účastí : Jihočeské ošetrovatelské dny*, 2002. České Budějovice: Jihočeská univerzita, **2007**(VI.). ISBN 978-80-7040-992-3.
25. PACÍK, D., 1996. *Urologie pro sestry*. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví. ISBN 80-7013-235-3.
26. PIERANSKI, M.K., RYCHLOWSKI, M., GRINHOLC, M., 2021. Optimization of Streptococcus agalactiae Biofilm Culture in a Continuous Flow System for Photoinactivation Studies. *Pathogens* [online]. 10(9) [cit. 2022-2-3]. DOI: 10.3390/pathogens10091212. ISSN 2076-0817. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2076-0817/10/9/1212>
27. PORŠOVÁ M., KOLOMBO I., PORŠ J., 2018, Prostatitidy – praktické poznámky k diagnostice a léčbě, *Urologie pro praxi*, 19(2), Solen, [online], 86-88, [cit. 2022-2-3]. Dostupné z: <https://www.solen.cz/pdfs/uro/2018/02/08.pdf>

28. Příspěvatelé WikiSkript, *Streptococcus agalactiae*, [online]., datum poslední revize 7.10.2020, [cit. 2022-04-12]., dostupné z: https://www.wikiskripta.eu/w/Streptococcus_agalactiae
29. RAMAKRISHNAN K., DEWEY C., 2005, Diagnosis and Management of Acute Pyelonephritis in Adults, American Academy of Family Physician, 71 (5), [online], 933-942, [cit. 2022-2-3], dostupné z: <https://www.aafp.org/afp/2005/0301/p933.html>
30. RAZ, R., 2003. Asymptomatic bacteriuria. Clinical significance and management. *International Journal of Antimicrobial Agents* [online]. 22(2), 45-47 [cit. 2022-2-23]. DOI: 10.1016/S0924-8579(03)00248-6. ISSN 09248579. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924857903002486>
31. ROSA-FRAILE, M., SPELLERBERG, B., KRAFT, C.S., 2017. Reliable Detection of Group B Streptococcus in the Clinical Laboratory. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. 55(9), 2590-2598 [cit. 2021-11-11]. DOI: 10.1128/JCM.00582-17. ISSN 0095-1137. Dostupné z: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.00582-17>
32. ROTHEN, J. et al., 2019. Subspecies Typing of Streptococcus agalactiae Based on Ribosomal Subunit Protein Mass Variation by MALDI-TOF MS. *Frontiers in Microbiology* [online]. 10 [cit. 2022-1-4]. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00471. ISSN 1664-302X. Dostupné z: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2019.00471/full>
33. ROZTOČIL, A., 2008. *Moderní porodnictví*. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-1941-2.
34. SAFARI, D. et al., 2021. Prevalence, serotype and antibiotic susceptibility of Group B Streptococcus isolated from pregnant women in Jakarta, Indonesia. *PLOS ONE* [online]. 16(5), 1-9 [cit. 2021-12-11]. DOI: 10.1371/journal.pone.0252328. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0252328>
35. SCHINDLER, J., 2014. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Grada. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-4771-2.
36. STRAŇÁK, Z., JANOTA, J., 2015. *Neonatologie*. 2., přepracované a rozšířené vydání. Praha: Mladá fronta. Aeskulap. ISBN 978-80-204-3861-4.

37. TÁBORSKÁ J., 2009, Syndrom toxického šoku, *Interní medicína pro praxi*, 11(9), Solen, , [online], 405-409, [cit. 2022-11-3], dostupné z: <https://www.solen.cz/pdfs/int/2009/09/09.pdf>
38. TORŠOVÁ, 2005. *Pro gynekology: Vyšetření GBS aneb screening Streptococcus agalactiae v těhotenství*. [online]. Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě. [cit. 2022-3-10]. Dostupné z: <https://www.zuova.cz/Home/Sluzba/vysetreni-gbs>
39. VACHEK J., ZAKIYANOV O., ADÁMKOVÁ V., TESAŘ V., 2014, Infekce dolních a horních močových cest, *Kardiologické revue – Interní medicína*, Care Comm s.r.o., [online]. 74-77, [cit. 2022-2-3]. Dostupné z: <https://www.kardiologickarevue.cz/casopisy/kardiologicka-revue/2014-1/infekce-dolnich-a-hornich-mocovych-cest-47827>
40. VESELSKÝ, Z., 2006, Infekce urogenitálního traktu, *Medicína pro praxi*, 5, Solen, [online]. 222-225, [cit. 2022-2-3]. Dostupné z: <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2006/05/05.pdf>
41. VOTAVA, M., 2003. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun. ISBN 80-902896-6-5.
42. ZANINI DA ROCHA, J. et al., 2020. Streptococcus agalactiae colonization and screening approach in high-risk pregnant women in southern Brazil. *The Journal of Infection in Developing Countries* [online]. 14(04), 332-340 [cit. 2021-11-11]. DOI: 10.3855/jidc.12025. ISSN 1972-2680. Dostupné z: <https://jidc.org/index.php/journal/article/view/12025>

8 Seznam tabulek, grafů a obrázků

Obrázky:

Obr.1 – Narostlá kolonie *Streptococcus agalactiae* (zdroj vlastní) – str.33

Obr.2 - pozitivní CAMP test (zdroj vlastní) – str.36

Obr.3 – MALDI TOF MS od firmy BRUKER (zdroj vlastní) – str.37

Obr.4 – MALDI destička s nanesenou kulturou (zdroj vlastní) – str.38

Obr.5 – Latexová aglutinace, negativní výsledek viditelný u antigenu F, D, C, B a A, pozitivita u antigenu B (zdroj vlastní) – str.40

Obr.6 – Testovací proužek připravený k inkubaci (zdroj vlastní) – str.41

Obr.7 – Výsledková tabulka (zdroj vlastní) – str.42

Obr.8 – Testovací proužek při odečítání výsledků a již vyplněna výsledková tabulka (zdroj vlastní) – str.42

Grafy:

Graf 1 - Četnost pozitivních záchytů v letech 2019, 2020 a 2021 (zdroj vlastní) – str.44

Graf 2 – Výsledky běžné kultivace a kultivace po pomnožení (zdroj vlastní) – str.45

Graf 3 – Pozitivní a negativní záchyty v procentech (zdroj vlastní) – str.45

Tabulky:

Tab.1 – Složení krevního agaru – str.34

Tab.2 – Četnost pozitivních záchytů v letech 2019, 2020 a 2021 – str.43

Tab.3 – Výsledky běžné kultivace a kultivace po pomnožení – str.44

Tab. 4 – Tabulka pro výpočet senzitivity, specifity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty – str.46

9 Seznam použitých zkratk

μg – mikrogram

βGAL – 2-Naftyl- βD -galakturonová

αGAL – 6-Brom-2-naftyl- αD -glukopyranosid

βGUR – Naftol ASBI-kyselina galaktopyranosid

μl – mikrolitr

μm – mikrometr

ABU – asymptomatická bakteriurie

ADH – L-Arginin

AIDS – syndrom získaného selhání imunity

AMD – škrob

CDC – centrum pro kontrolu a prevenci nemocí

CNS – centrální nervová soustava

CRP – c-reaktivní protein

E.coli – *Escherichia coli*

ESC – eskulin citrát železitý

GAS – streptokok skupiny A

GBS – streptokok skupiny B

GBS EOI – časná forma novorozenecké infekce způsobena streptokokem skupiny B

GBS LOI – pozdní forma novorozenecké infekce způsobena streptokokem skupiny B

GLYG - glykogen

HIP – kyselina hippurová

HIV – virus lidské imunitní nedostatečnosti

IMC – infekce močových cest

kDa – kilodalton

LAP – L-Leucin- β -naftylamid

MALDI-TOF MS – hmotnostní spektrometrie s asistovanou laserovou desorpcí/ionizací za pomoci matrice

ml - mililitr

NAAT – test amplifikace nukleových kyselin

PAL – 2-Naftyl fosfát

PCR – polymerázová řetězová reakce

PROM – předčasné porušení plodových obalů

PYRA - β -naftylamid kyseliny pyroglutamové

RIB – D-Ribóza

S. pyogenes – *Streptococcus pyogenes*

S. agalactiae – *Streptococcus agalactiae*

S. halichoeri – *Streptococcus halichoeri*

S. porcinus – *Streptococcus porcinus*

S. pseudoporcinus – *Streptococcus pseudoporcinus*

TH - Todd Hewitt Broth + Antibiotics

TRE – D-Trehalóza

UGT – infekce urogenitálního traktu

VP – pyruvát sodný