



Zdravotně  
sociální fakulta  
Faculty of Health  
and Social Sciences

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

*Staphylococcus saprophyticus* – IMC v Nemocnici  
České Budějovice, a.s.

## **BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

Studijní program: **LABORATORNÍ DIGNOSTIKA**

**Autor:** Martina Čížková

**Vedoucí práce:** RNDr. Jana Wagnerová

České Budějovice 2023

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem „*Staphylococcus saprophyticus – IMC v Nemocnici České Budějovice, a.s.*“ 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 2. 5. 2023

.....

Podpis

### **Poděkování**

Chtěla bych poděkovat své vedoucí bakalářské práce RNDr. Janě Wagnerové za ochotu, pomoc a cenné rady, které přispěly mé práci. Také bych chtěla poděkovat Oddělení lékařské mikrobiologie v Nemocnici České Budějovice, a.s. za možnost zpracování metodické části na jejich pracovišti. Nakonec děkuji své rodině za podporu, bez které bych se neobešla.

## Abstrakt

### *Staphylococcus saprophyticus* – IMC v Nemocnici České Budějovice, a.s.

Hlavním cílem této bakalářské práce je seznámení se s mikrobiologickým vyšetřením infekcí močových cest, osvojení si jak semikvantitativního, tak kvantitativního vyšetření moče a možnosti následné identifikace vedoucí k diagnostice patogenů na Oddělení lékařské mikrobiologie v Nemocnici České Budějovice, a.s. Dalším cílem je vyhodnocení výsledků 100 pozitivních vzorků moče z roku 2021 na bakterii *Staphylococcus saprophyticus* a následné porovnání výsledků s odbornými zdroji.

Úvodní část bakalářské práce se věnuje především základním informacím týkajících se infekce močových cest, jejím příznakům, etiologii a následné klasifikaci. Dále je zde popsáno samotné vyšetření moče, a to jak fyzikální, chemické, biochemické, tak především mikrobiologické. V závěru úvodní části je bakalářská práce věnována rodu *Staphylococcus* a dále konkrétně jednomu zástupci tohoto rodu, a to bakterii *Staphylococcus saprophyticus*.

V metodické části této práce jsou popsány postupy zpracování moče, které zachycují reálné mikrobiologické zpracování vzorků moče na Oddělení lékařské mikrobiologie v Nemocnici České Budějovice, a.s. Autor zde popisuje semikvantitativní vyšetření, kvantitativní vyšetření, identifikaci patogenních bakterií a následný postup ke stanovení citlivosti k antibiotikům.

Výsledky výzkumu jsou statisticky vyhodnoceny a znázorněny pomocí grafů. Pro vyhodnocení byly použity údaje z nemocničního systému, kde se pracovalo se 100 pozitivními vzorky moče na bakterii *Staphylococcus saprophyticus* z roku 2021.

**Klíčová slova:** *Staphylococcus saprophyticus*; infekce močových cest; mikrobiologické vyšetření; antibiotika

## **Abstract**

### ***Staphylococcus saprophyticus* – UTI in Nemocnice České Budějovice, a.s.**

The main objectives of this bachelor thesis are to familiarize oneself with microbiological examination of urinary tract infections, to learn both semi-quantitative and quantitative urine examination, and the subsequent identification leading to the diagnosis of pathogens at the Department of Medical Microbiology at Nemocnice České Budějovice, a.s. Another objective is to evaluate the results of 100 positive urine samples from 2021 for *Staphylococcus saprophyticus* and compare the results with professional sources.

The introductory part of the bachelor's thesis focuses primarily on basic information related to urinary tract infection, its symptoms, etiologies, and subsequent classification. It further describes the examination of urine itself, including physical, chemical, biochemical, and especially microbiological examinations. The conclusion of the introductory part is devoted to the genus *Staphylococcus* and specifically to one representative of this genus, *Staphylococcus saprophyticus*.

The methodology section of this thesis describes the procedures for processing urine, which capture the actual microbiological processing of urine samples at the Department of Medical Microbiology at Nemocnice České Budějovice, a.s. The author describes semi-quantitative examination, quantitative examination, identification of pathogenic bacteria, and the subsequent process of determining antibiotic sensitivity.

The research results are statistically evaluated and presented using graphs. Data from the hospital system were used for evaluation, which included 100 positive urine samples for *Staphylococcus saprophyticus* from 2021.

**Key words:** *Staphylococcus saprophyticus*; urinary tract infection; microbiological examination; antibiotics

## Obsah

Úvod .....	8
1 Infekce močových cest .....	9
1.1 Příznaky .....	9
1.2 Etiologie.....	9
1.3 Klasifikace .....	10
1.3.1 Asymptomatická bakteriurie.....	10
1.3.2 Cystitis acuta.....	11
1.3.3 Akutní uretrální syndrom u žen .....	11
1.3.4 Akutní uretritida u mužů.....	12
1.3.5 Akutní bakteriální prostatitida .....	13
1.3.6 Akutní epididymitida .....	13
1.3.7 Akutní bakteriální pyelonefritida.....	14
1.3.8 Chronická bakteriální pyelonefritida .....	15
1.3.9 Ledvinový absces.....	15
1.4 Odběr a transport vzorku .....	16
1.5 Laboratorní vyšetření moče .....	16
1.5.1 Fyzikální vyšetření.....	16
1.5.2 Chemické vyšetření.....	17
1.5.3 Biochemické vyšetření močového sedimentu.....	17
1.5.4 Mikrobiologické vyšetření.....	18
1.5.4.1 Mikroskopie .....	18
1.5.4.2 Kultivační vyšetření.....	18
1.5.4.3 Stanovení citlivosti k antimikrobním látkám.....	20
2 Rod Staphylococcus .....	22
2.1 Mikrobiologické vlastnosti .....	22
2.2 Kultivace.....	22
2.3 Koaguláza – pozitivní stafylokoky .....	23
2.4 Koaguláza – negativní stafylokoky.....	24
3 Staphylococcus saprophyticus.....	25
3.1 Etiologie.....	25
3.2 Epidemiologie.....	25
3.3 Patogeneze .....	26
3.4 Terapie a rezistence k ATB .....	26
4 Cíl práce a hypotézy .....	27

4.1	Cíl práce.....	27
4.2	Předpokládané hypotézy .....	27
5	Metodika.....	28
5.1	Příjem vzorku.....	28
5.2	Laboratorní vyšetření moče .....	29
5.2.1	HB&L UROQATRO .....	29
5.2.1.1	Mikroskopické vyšetření .....	31
5.2.2	Metoda tří ředění.....	34
5.2.3	Uricult .....	35
5.3	Identifikace .....	36
5.3.1	Katalázový test.....	36
5.3.2	Latexová aglutinace .....	37
5.3.3	UriSelect <sup>TM</sup> 4 .....	37
5.3.4	Identifikace MALDI – TOF na přístroji VITEK MS .....	39
5.4	Stanovení antibiogramu diskovou difúzní metodou .....	39
6	Výsledky práce .....	41
6.1	Poměr počtu mužů a žen ve vybraných vzorcích z roku 2021 .....	41
6.2	Detekce bakterie Staphylococcus saprophyticus dle věku žen.....	42
6.3	Detekce bakterie Staphylococcus saprophyticus dle věku mužů.....	42
6.4	Způsob odebraných vzorků moče u žen .....	43
6.5	Způsob odebraných vzorků moče u mužů .....	43
6.6	Staphylococcus saprophyticus a koinfekce u vzorků moče.....	44
6.7	Koinfekce v závislosti na způsobu odběru vzorku moče.....	44
6.8	Nález epitelu pod mikroskopem u žen a mužů .....	45
6.9	Nález erytrocytů pod mikroskopem u žen a mužů .....	46
6.10	Nález leukocytů pod mikroskopem u žen a mužů .....	47
6.11	Citlivost Staphylococcus saprophyticus k antibiotikům u žen a mužů.....	48
7	Diskuse .....	49
8	Závěr.....	51
9	Literatura .....	53
10	Seznam obrázků a tabulek .....	60
11	Přílohy .....	61
12	Seznam použitých zkratk.....	63

## Úvod

Tato bakalářská práce je zaměřena na infekce močových cest (dále IMC), které patří mezi nejčastější infekce, kvůli kterým pacient hledá odbornou lékařskou pomoc. IMC mohou postihnout různé části močových cest od močové trubice až po ledviny. Nejčastější formou infekce jsou cystitidy, tedy infekce močového měchýře. Tyto infekce se vyskytují převážně u žen, protože mají kratší močovou trubici než muži a bakterie se tak mohou snadněji dostat do močových cest.

Kromě močové trubice a močového měchýře mohou infekce postihnout také horní močové cesty (oblast ureterů a ledvin). Tato infekce, tzv. pyelonefritida, je mnohem závažnější. Je typicky doprovázena horečkou, silnou bolestí v boku / zádech a celkovou schváceností. Pokud se infekce neléčí včas, může dojít k vážným komplikacím, jako je absces ledviny nebo sepse. Hrozí také trvalé následky ve smyslu zjizvení ledviny a následné ztráty její funkce.

Léčba infekce močových cest zahrnuje obvykle podávání antibiotik, která jsou předepsána empiricky a event. upravována na základě citlivosti původce. Je důležité dodržovat předepsaný režim a užívat antibiotika včas a dostatečnou dobu, aby se zabránilo komplikacím. Pokud se infekce opakují, může být doporučeno další vyšetření, jako je ultrazvuk ledvin, rentgenové či scintigrafické vyšetření nebo cystoskopie. Tato vyšetření umožní lékaři posoudit stav a funkci močových cest.

Prevence infekcí je však stejně důležitá, jako léčba. Pro prevenci infekcí močových cest je zapotřebí zvýšit příjem tekutin, a to zejména vody. Důležité je také pravidelné vyprazdňování močového měchýře, nejlépe každé 2–3 hodiny, a to i v případě, že člověk necítí nutkání na močení. Správná hygiena je také klíčová, zejména u žen. Umývání intimních partií může pomoci snížit riziko infekce. Doporučuje se používat jen čisté a suché hygienické pomůcky a pravidelně je měnit. Kromě změn životního stylu, jako je zvýšení příjmu tekutin a pravidelné vyprazdňování močového měchýře, mohou být užitečná i další opatření, jako je užívání ochranných pomůcek při sexuálním styku.

Pokud se u člověka objeví příznaky IMC, jako např. bolest při močení, časté nutkání na močení, bolest v podbřišku nebo neobvyklý zápach moče, je důležité vyhledat lékařskou pomoc co nejdříve. Čím dříve bude infekce diagnostikována a léčena, tím menší je riziko vážných či trvalých komplikací.



# 1 Infekce močových cest

IMC je stav, který je vyvolán přítomností mikroorganismů v močovém ústrojí. IMC spadá mezi nejčastěji diagnostikované infekční onemocnění, kdy pohlaví a věk mají na výskyt infekce veliký vliv. Postiženy bývají především ženy, které mají oproti mužům kratší močovou trubici, což může být jedním z faktorů, které ovlivňují přítomnost bakterií v močových cestách. S rostoucím věkem se ale počet postižených u obou pohlaví vyrovnává z důvodu častějších obstrukčních obtíží u mužů (Beneš, 2009).

## 1.1 Příznaky

Klinické projevy IMC se mohou lišit v závislosti na jejich lokalizaci. Rozlišujeme infekci dolních močových cest a infekci horních močových cest. Infekce dolních močových cest má projevy mnohem mírnější a většinou není životu nebezpečná. Mezi obvyklé příznaky patří bolestivá a frekventovaná mikce. Pacient má neustálý pocit plného močového měchýře, který může být doprovázen bolestí v oblasti podbřišku. Moč bývá zakalená s možnou mikroskopickou nebo makroskopickou příměsí krve. Mezi laboratorní nálezy v moči patří nález bílkoviny, erytrocytů, leukocytů a bakterií. V krevních odběrech nacházíme většinou jen mírně zvýšené parametry zánětu (Beneš, 2009).

Infekce horních močových cest je mnohem závažnější. Může totiž dojít k přestupu infekce z tkáně do krevního řečiště, který pak způsobí urosepsi. Příznaky se projevují horečkou a třesavkou, doprovázenou často nevolností a zvracením. Pacient má pocit slabosti a schvácenosti, typicky s bolestí v oblasti beder. Pro laboratorní nálezy v krvi je typická leukocytóza s přítomností nezralých forem leukocytů a výrazně zvýšená hodnota CRP. Ve vzorku moči se mohou objevit granulované válce, bílkovina, leukocyty a bakterie (Beneš, 2009).

## 1.2 Etiologie

Nekomplikovaná infekce močových cest je v 80 % případů způsobena gramnegativními bakteriemi, jako je například *Escherichia coli*, která bývá často přenesena ascendentní cestou z oblasti konečníku (Votava, 2005).

Díky fimbriím, které tato bakterie vlastní, se může snadno přichytit k epitelu močového ústrojí. Tato vlastnost ji napomáhá zabránit vyplavení moči z těla ven.

V 10 % případů způsobují IMC enterokoky, v 5 % *Proteus mirabilis* a posledních 5 % je tvořeno ostatními gramnegativními bakteriemi a také určitými grampozitivními

koky, mezi které spadá například *Staphylococcus saprophyticus*. Komplikované infekce močového traktu bývají v 80 % případů způsobeny *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, enterokoky a ostatními enterobakteriemi. Zbýlá procenta jsou tvořena především *Serratia marcescens*, acinetobaktery a kandidami (Votava, 2005).

### **1.3 Klasifikace**

IMC lze klasifikovat dle různých kritérií a vychází z různých hledisek. V závislosti na průběhu lze infekce dělit na akutní a chronické. Akutní infekce vzniká velice rychle a má omezené trvání – na rozdíl od chronické infekce, která může probíhat několik let i doživotně. Dále lze IMC klasifikovat na symptomatické a asymptomatické. Rozdíl mezi nimi je dán přítomností či nepřítomností příznaků (Potužník, 1984).

Podle místa vzniku dělíme infekce na ty, které jsou získány mimo nemocniční prostředí, jiným slovem komunitní, a dále na nozokomiální, které jsou získány právě v nemocničním prostředí. Dále lze rozdělit infekci močových cest dle místa vzniku na infekci horních a dolních cest močových. Mezi onemocnění dolních močových cest spadá asymptomatická bakteriurie, akutní cystitida, uretrální syndrom, uretritida, prostatitida a epididymitida. Do onemocnění horních močových cest spadá akutní a chronická pyelonefritida a ledvinový absces.

#### **1.3.1 Asymptomatická bakteriurie**

Asymptomatická bakteriurie je stav, kdy se v 1 mililitru vzorku moče ze středního proudu nachází více než  $10^5$  mikrobů bez přítomnosti klinických příznaků IMC (Havlík, 1998).

Výsledek musí být potvrzen ještě druhým vzorkem, který se odebírá po více než 24 hodinách (Beneš, 2009).

Bakteriurie bývá způsobena především koliformními bakteriemi a v 15 % bývá zachycena u gravidních žen. Protože pacienti nemívají většinou žádné zřejmé příznaky, nález bývá často náhodný. Pokud se ve vzorku nachází více druhů bakterií, vypovídá to spíše o kontaminaci vzorku, která může být způsobena špatným odběrem, skladováním, či zavedením močového katétru (Havlík 1998).

Asymptomatická bakteriurie se léčí především u gravidních žen, aby se předešlo vzniku pyelonefritidy, předčasnému porodu, či porodu dítěte s nízkou porodní hmotností.

V tomto případě se využívá krátkodobé antimikrobiální léčby (Bonkat et al., 2022). U ostatních pacientů se užívání antibiotik nedoporučuje. (Beneš, 2009).

### **1.3.2 Cystitis acuta**

Cystitis acuta čili akutní zánět močového měchýře spadá mezi nejčastěji detekované infekce dolních močových cest. Je obvykle způsoben *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* a *Enterococcus faecalis* (Havlík, 1998).

Mezi běžné příznaky patří frekventovaná mikce s pocitem svědění a pálení, doprovázená bolestí v oblasti podbříšku. Pro diagnostiku je využíván vzorek moče, který je nejčastěji odebrán ze středního proudu spontánně vymočené moče. V laboratorních výsledcích se často nachází zvýšený počet leukocytů či erytrocytů v moči, bez výraznější elevace CRP (Hooten, 2021).

V případě rekurentní infekce se využívá kontinuální nebo postkoitální antimikrobiální profylaxe. Pacientovi se nasazují antibiotika empiricky, nejlépe však až po ukončené kultivaci vzorku moče, aby se předešlo vzniku rezistence (Bonkat et al., 2022). Léčba antibiotiky se indikuje nejčastěji na 3–5 dní. Jednodenní antibiotika nejsou rutinně vhodná, a to kvůli riziku vzniku relapsů. Častou volbou lékaře je trimethoprim, cotrimoxazol (kombinace trimethoprimu se sulfamethoxazolem) nebo nitrofurantoin. Výhodou těchto antibiotik je skutečnost, že nemění běžnou anaerobní či mikroaerofilní flóru. Další volbou mohou být aminopeniciliny s inhibitorem betalaktamáz nebo cefalosporiny 2. generace. U těchto antibiotik se ale musí prodloužit doba užívání na 5-7 dní (Jindrák et al., 2014). Během antibiotické léčby se doporučuje dodržovat klidový režim. Pacient by měl mít dostatečný přísun tekutin, pobývat v teple a snížit sexuální aktivitu (Beneš, 2009).

### **1.3.3 Akutní uretrální syndrom u žen**

Akutní uretrální syndrom spadá mezi infekce dolních cest močových. Mezi postižené patří často ženy s akutním zánětem dolního močového traktu, ale s negativním bakteriologickým nálezem (Scharfen, 2013).

Tento zánět vzniká především u sexuálně promiskuitních osob a bývá často vyvolán *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* a *Ureaplasma urealyticum*. Pro klinický obraz je typická výrazná dysurie podobně jako u cystitis acuta (Havlík, 1998).

Příčiny tohoto syndromu nejsou zřejmé, ale mezi faktory mající vliv na jeho vznik mohou patřit obstrukce močové trubice, senilní atrofie, či psychosomatické a traumatické faktory (Bashi 1988).

Při podezření na zánět způsobený *Chlamydia trachomatis* je nutné odebrat první porci moče (Kolářová, 2020). V ostatních případech se doporučuje odebrat vzorek moče ze středního proudu k provedení kultivace, stěr na PCR / STD a mikroskopie, která je důležitá například při infekci způsobené *Neisseria gonorrhoeae* – původcem kapavky (Bashi 1988).

V případě gonokokové infekce se k léčbě využívá duální léčba ceftriaxonem a azithromycinem, která bývá nejúčinnější. Při léčbě infekce bez identifikovaného patogenu se nasazuje doxycyklin 2x denně po dobu 7 dnů. Jako alternativu lze využít jednorázovou perorální dávku azithromycinu (Bonkat et al., 2022). V České republice se běžně používají k léčbě gonokokových infekcí cefalosporinová antibiotika. Lze podat perorálně 400 mg cefiximu, nebo pro jednorázovou parenterální terapii 125 mg i. m. ceftriaxonu. Jako alternativu lze využít azitromycin, či fluorochinolony (Jindrák et al., 2014).

Při podezření na sexuálně přenosné choroby se doporučuje vyšetřit a event. léčit rovněž partnera, aby se předešlo reinfekci a dalšímu šíření. Neléčený zánět může vést ke vzniku infertility (Beneš, 2009).

#### **1.3.4 Akutní uretritida u mužů**

Akutní uretritida u mužů, resp. nespecifický zánět močové trubice, je nejčastěji způsoben *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* a *Ureaplasma urealyticum* – podobně jako u žen. Všichni tyto původci se přenášejí sexuálním stykem a k jejich šíření dochází zejména ve vyšších socioekonomických skupinách. Inkubační doba trvá 2–35 dní, kdy příznaky infekce nastupují většinou v průběhu 4–6 dnů a často se shodují s příznaky cystitidy. Před samotnou léčbou je důležité zhotovit mikrobiologické vyšetření moče spolu s vyšetřením stěru z uretry (PCR / STD). Vyšetřena a event. léčena by měla být i partnerka. (Beneš, 2009).

Průběh léčby je stejný jako u žen, kdy v případě infekce způsobené *C. trachomatis*, je pravděpodobně azitromycin méně účinný než doxycyklin (Bonkat et al., 2022).

### **1.3.5 Akutní bakteriální prostatitida**

Akutní bakteriální prostatitida, jiným slovem akutní infekční onemocnění předstojné žlázy, je další onemocnění, které spadá mezi infekce dolních močových cest. Často probíhá současně s cystitidou a mezi původce patří především bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus faecalis* a chlamydie (Beneš, 2009). Ve většině případů se konkrétního původce nepodaří zachytit. Akutní prostatitida je častou komplikací transuretrálních resekcí nebo transrektálních biopsií prostaty (Coker, 2016).

Mezi symptomy doprovázející toto onemocnění spadá frekventovaná mikce, retence moče a systémové příznaky, jako je horečka, zimnice, nevolnost, zvracení a malátnost (Coker, 2016).

Fyzikální vyšetření spočívá v prohmatání dolní části břicha (zjištění roztaženého močového měchýře), zad (hledání citlivého místa), genitálií a konečníku (vyšetření prostaty). Palpace prostaty by se měla provádět opatrně, aby se předešlo vzniku bakteriémie. U pacienta s podezřením na akutní bakteriální prostatitidu je zapotřebí provést vyšetření na sexuálně přenosné patogeny, zahrnující analýzu a kultivaci moče a PCR, event. odběr hemokultury (Lipsky, 2010).

Vlastnosti prostaty mohou vést ke snížení účinnosti některých antibiotik díky jejich zásaditosti. Je tedy důležité zvolit takové léky, které mají vysoké pKa a dobrou rozpustnost v tucích (Davis, 2022).

Antibiotická léčba je úvodem empirická, s úpravou hned po výsledcích vyšetření moče či hemokultur (Zorman, 2015). Navzdory vysoké míře rezistence uropatogenů, bývají první volbou fluorochinolony, které se nasazují po dobu 14 dnů. V případě infekce způsobené atypickými patogeny, jako je např. *C. trachomatis*, se nasazují antibiotika azithromycin a doxycyklin po dobu 3 až 4 týdnů (Bonkat et al., 2022).

### **1.3.6 Akutní epididymitida**

Akutní epididymitida, resp. akutní zánět nadvarlate, je onemocnění, které bývá často následkem bakteriální uretritidy či prostatitidy. Postižení bývá buďto jednostranné, nebo oboustranné (Havlík, 1998).

Příznaky jsou běžně charakterizovány otokem a bolestí skrota, ve většině případu s jednostrannou lokalizací (Taylor, 2015).

Z pohledu bakteriální etiologie bývá u mužů ve věku  $\leq 35$  let nejčastější příčinou vzestupná infekce z oblasti močové trubice, přes kterou se šíří sexuálně přenosní

patogeni, jako je *Chlamydia trachomatis* a *Neisseria gonorrhoeae*. Naproti tomu zástupci rodu *Enterobacteriaceae*, zejména *Escherichia coli*, bývají často detekováni u starších mužů s problémy s vyprazdňováním močového měchýře (Ludwig, 2008).

Diagnózu lze stanovit na základě fyzikálního vyšetření, kdy sledujeme, zda má pacient zduřelé a bolestivé nadvarle. Je důležité také provést mikrobiologické vyšetření za účelem zjištění, zda příčinnou infekce nejsou sexuálně přenosní původci.

Léčba je empirická a měla by započít co nejdříve, aby se předešlo vzniku komplikací, jako je neplodnost či chronická bolest. Pacientovi se doporučuje dodržovat klidový režim na lůžku s elevací nadvarlete (Taylor, 2015). V případě podezření na *C. trachomatis* má dobrou účinnost antibiotikum doxycyklin a některé specifické fluorochinolony. Navzdory vznikající rezistenci se při infekci způsobené bakteriemi ze skupiny *Enterobacteriaceae* nasazují fluorochinolony a jedna účinná parenterální dávka cefalosporinu třetí generace při infekci *N. gonorrhoeae* (Bonkat et al., 2022).

### **1.3.7 Akutní bakteriální pyelonefritida**

Akutní bakteriální pyelonefritida je infekce parenchymu a dutého systému ledvin. Nejčastěji vzniká vzestupným šířením z močového měchýře do ledvin močovody (Belyayeva, 2018).

Mezi příznaky vznikajícího zánětu patří horečka, bolesti v oblasti třísel, dolní části zad, nebo břicha (Scharfen, 2013).

Akutní pyelonefritidu lze rozdělit na komplikovanou a nekomplikovanou, kdy komplikovaná postihuje především těhotné ženy, pacienty s diabetem, pacienty s transplantacemi ledvin, akutním či chronickým selháváním jater a další. Tyto dva typy je důležité od sebe rozlišovat kvůli průběhu léčby (Balyayeva, 2018).

Více než 75 % případů akutní pyelonefritidy způsobuje *Escherichia coli*. Dalšími patogeny jsou ostatní bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae*, kam spadají například *Klebsiella pneumoniae* a *Proteus mirabilis*. Zbývá 2–3 % jsou tvořena stafylokoky, kdy *Staphylococcus aureus* se šíří hematogenní cestou a způsobuje tvorbu kortikálních a paranefritických abscesů. Diagnóza je stanovena na základě fyzikálního vyšetření, kdy se sleduje citlivost pacientova břicha s použitím bimanuální palpce. U dětí nebývají symptomy tak zřejmé. V krevním obraze nacházíme leukocytózu, v krvi vysokou hladinu CRP a ve vzorku moči sledujeme proteinurii a leukocyturii (Havlík, 1998).

Léčba je iniciálně empirická a často s použitím parenterálních antibiotik. Pacienti s nekomplikovanou pyelonefritidou by měli být zpočátku léčeni např.

fluorochinolonom, aminoglykosidem, cefalosporinem, či penicilinem s rozšířeným spektrem. Dle výsledků kultivace je možná úprava léčby (včetně deescalace antibiotik, přechod na p.o. podávání – tzv. „switch“). Mezi nově používaná antibiotika využívaná při bakteriální pyelonefritidě udávají zahraniční zdroje imipenem / cilastatin, cefiderokol, meropenem-vaborbaktam a plazomicin (Bonkat et al., 2022). V ČR se tato nová antibiotika zatím nepoužívají.

### **1.3.8 Chronická bakteriální pyelonefritida**

Chronická bakteriální pyelonefritida je onemocnění horní močové soustavy, které způsobuje fokální destrukci parenchymu a částečný zánik glomerulů. Tyto změny lze sledovat pomocí zobrazovacího vyšetření (sonografie, CT, statická scintigrafie), kde jsou vidět jizevnaté svrašťelé ledviny. Onemocnění často vzniká následkem chronické ascendentní infekce močových cest. Méně častou příčinou je hematogenní šíření. V praxi je obtížné určit, zda je infekce aktivní. Chronická obstrukce močovodu, fenacetinová nefropatie či nefropatie při vaskulitidě mohou mít stejný obraz, tím pádem je složité od nich odlišit chronickou bakteriální pyelonefritidu. Při tomto onemocnění dochází ke snížení funkčnosti ledvin, tudíž pro výsledky biochemického vyšetření je typická zvýšená hodnota urey a zejména kreatininu v krevním séru. V hematologickém vyšetření je typická anémie a zvýšená sedimentace erytrocytů. Léčba závisí na fázi onemocnění, kdy infekce se potlačuje podáním antibiotik zvolených dle výsledků citlivosti. Vzniklé změny ledvin bohužel vyléčit nelze a v případě jednostranného postižení se někdy doporučuje provést nefrektomii (Beneš, 2009).

### **1.3.9 Ledvinový absces**

Ledvinový absces je další postižení horní močové soustavy. Toto onemocnění není tak časté a postihuje především pacienty s jednou nebo více anatomickými či funkčními abnormalitami. Vzniklý absces se nachází buď v perinefrickém prostoru, nebo zasahuje do přilehlého parenchymu. Pro výsledky mikrobiologického vyšetření je typická pyurie s pozitivním či negativním výsledkem kultivace. Mezi běžné patogeny patří obvykle gramnegativní bakterie, ale i stafylokoky (Havlík, 1998).

Léčba spočívá v chirurgickém ošetření (punkce abscesu, zavedení perkutánní drenáže) a nasazení antibiotik zvolených dle výsledků citlivosti (Beneš, 2009).

#### **1.4 Odběr a transport vzorku**

Správný odběr moče a skladování vzorku jsou velmi důležité, aby se předešlo případnému zkreslení výsledků. Při nesprávné manipulaci se vzorkem nebo s transportními soupravami hrozí kontaminace a následně falešně pozitivní interpretace výsledku (Scharfen, 2013).

Standardním postupem je odebrání středního proudu spontánně vymocené ranní moče. Je důležité pacienta náležitě poučit o správném odběru. Pacient by měl provést důkladnou hygienu zevního genitálu pomocí vody a mýdla. U žen je nutné omytí vaginálního introitu a okolí zevního vstupu uretry a u mužů provedení dezinfekce v okolí uretry až po stažení předkožky a odhalení glans penis. Pacient by měl odmočit první porci moče a bez přerušení zachytit 10 ml ze středního proudu do sterilní nádoby. Je důležité se vyvarovat kontaminaci vzorku, která může být způsobena například špatnou manipulací s odběrovou nádobou (Votava, 2010).

Odběr vzorku můžeme rozlišit dle způsobu získání sterilní moče. Mezi samovolně vyloučenou moč spadá spontánní mikce, moč zjednorázově, nebo permanentně zavedeného katétru. Dalším způsobem je moč získaná například suprapubickou punkcí. Posledním způsobem odběru je získání moče pomocí jednorázové katetrizace, kdy se zavede sterilní cévka přes močovou trubici až do močového měchýře a odvede se moč (Bartoníčková, 2000).

Po provedeném odběru moče je nutné vzorek co nejrychleji dopravit do laboratoře se správně vyplněnou žádankou. Protože se bakterie při pokojové teplotě množí, je vhodné uchovávat vzorek při teplotě 4°C. Tato teplota zabrání metabolickým procesům a nedojde tak vzniku falešně pozitivního výsledku (Scharfen, 2013).

#### **1.5 Laboratorní vyšetření moče**

Analýza moče je třetí nejžádanější analýzou v klinických laboratořích a lze ji použít jako diagnostický znak u pacientů se suspektní infekcí močových cest. Moč můžeme vyšetřovat fyzikálně, chemicky, mikrobiologicky nebo pod mikroskopem.

##### **1.5.1 Fyzikální vyšetření**

Mezi fyzikální vlastnosti moče patří vzhled, hustota a zápach. Zdravý jedinec má moč bez zákalu a slámově žlutou nebo tmavší, a to v závislosti na její koncentraci. Dalším parametrem je zákal moče, který může značit průběh zánětu. Pokud moč obsahuje bílkovinu nebo glukózu, dochází k jejímu zpěnění (Pohanka, 2017).



### **1.5.2 Chemické vyšetření**

K chemickému vyšetření moče lze využít diagnostických proužků, které se ponoří na 1 sekundu do vzorku moče a v závislosti na zabarvení indikačních proužků hodnotíme určité parametry. Patří mezi ně bílkovina, hemoglobin, erytrocyty, leukocyty, ketolátky, glukóza, kyselina askorbová, dusitany a pH (Pohanka, 2017). U IMC nacházíme zvýšený počet leukocytů v moči. K detekci leukocytů dochází na základě aktivity indoxylesterázy uvolněné z lyzovaných buněk. Detekce dusitanů je založená na aktivitě nitrátreduktázy, která je přítomna u většiny gramnegativních uropatogenních tyčinek, jako je například bakterie *Escherichia coli*. Interpretace testovacích proužků musí být velmi pečlivá. Ne všichni pacienti s leukocyturií mají bakteriurii. V případě pozitivních jak dusitanů, tak leukocytů lze považovat za příčinu detekce právě IMC. Přítomnost erytrocytů, hemoglobinu nebo myoglobinu v moči je buď viditelná pouhým okem, nebo ji odhalí až cílené vyšetření. Pozitivita indikačního proužku je založena na pseudoperoxidázové aktivitě, kterou vykazuje hemová část hemoglobinu nebo myoglobinu. Častou příčinou přítomnosti erytrocytů v moči bývá například cystitida. V takovém případě se pH moče pohybuje kolem 5–6. Ke zvýšení pH často dochází v důsledku přítomnosti bakterií, které metabolizují močovinu na amoniak (Kouri et al., 2000).

### **1.5.3 Biochemické vyšetření močového sedimentu**

Při mikroskopickém vyšetření se sleduje sediment moče v 50 zorných polích. Pokud se v jednom zorném poli nachází více než jedna bakterie, může se jednat o bakteriurii. V tomto případě je důležité sledovat i přítomnost erytrocytů, bílkoviny a hlenových válců (Mataša a Jedličková, 2006). Granulocyty jsou nejčastějšími leukocyty detekovanými v moči pacientů s infekcí močových cest způsobenou běžnými mikroorganismy, ale mohou být pozorovány i u jiných stavů, jako je glomerulonefritida, intersticiální nefritida a aseptická cystitida. Hematurie zůstává hlavním příznakem onemocnění močových cest a ledvin. Vzhled červených krvinek v moči odráží původ krvácení. Dysmorfní erytrocyty (červené krvinky abnormální velikosti nebo tvaru) svědčí o onemocnění ledvin, zatímco červené krvinky s normální morfologií obvykle pocházejí z dolních močových cest. Přechodné epitelální (urotelální) buňky pocházejí z vícevrstvého epitelu vystylajícího močový trakt od kalichů ledvinové pánvičky do močového měchýře u žen a do proximální uretry u mužů. Tyto buňky se často vyskytují u infekcí močových cest i u neinfekčních urologických poruch (Kouri et al., 2000).

#### **1.5.4 Mikrobiologické vyšetření**

Mikrobiologické vyšetření moče se provádí při podezření na infekci močových cest. Cílem je identifikovat přítomnost a typ bakterií nebo jiných mikroorganismů, které infekci způsobují. Toto vyšetření umožňuje lékaři přesně určit původce a jeho citlivost na antibiotika, což je klíčové pro výběr správného léčebného postupu.

Existují dva způsoby, jak prokázat přítomnost patogenního mikroorganismu – přímý a nepřímý průkaz. Přímý průkaz spočívá v detekci mikroorganismu přímo ve vzorku, zatímco nepřímý průkaz se zaměřuje na detekci stop, které mikroorganismus zanechal v organismu. Ve většině případů se jedná o průkaz protilátek. Mezi metody přímého průkazu patří mikroskopie nativního nebo barveného preparátu a kultivace, zatímco k nepřímému průkazu se řadí sérologické vyšetření (Murray, 2007).

##### **1.5.4.1 Mikroskopie**

V rámci mikrobiologického vyšetření je mikroskopie důležitá k průkazu přítomnosti bakterií. Tento diagnostický postup umožňuje identifikovat tvar, uspořádání a četnost bakterií v moči, stejně jako přítomnost jiných elementů, jako jsou leukocyty, erytrocyty a epitelové buňky. Díky své rychlosti a přesnosti je mikroskopie důležitým nástrojem pro správnou diagnózu infekce močových cest.

Metoda barvení dle Grama umožňuje rozdělit bakterie do dvou skupin. Gramnegativní bakterie jsou zbarveny červeně, zatímco grampozitivní bakterie jsou zbarveny modře až fialově. Toto odlišné zbarvení je založeno na rozdílné struktuře bakteriální stěny. Stěna gramnegativních bakterií obsahuje více lipidů než stěna grampozitivních bakterií. Během barvení alkohol pronikne do stěny a vytvoří póry, skrze které se barvicí roztok vyplaví. Na druhé straně je stěna grampozitivních bakterií tvořena silnější vrstvou peptidoglykanu a během dehydratace alkoholem dochází ke smrštění a zpomalení vymývání krystalové violeti s jódem (Votava, 2005). Vzhledem k odlišné citlivosti vůči antibiotikům má toto rozdělení bakterií i klinický dopad.

##### **1.5.4.2 Kultivační vyšetření**

Kultivační metoda je nejčastěji používaným způsobem pro zachycení patogenních mikroorganismů. Tato metoda může být prováděna na kultivačním médiu nebo na živých organismech. Živé organismy zahrnují tkáňové kultury a kuřecí embrya, avšak tento typ kultivace se nepoužívá často a je využíván především pro experimentální účely.

Ke kultivaci vzorků moče se běžně používají pevné půdy, jako jsou : krevní agar, půda McConkey, půda deoxycholát-citrát, chromogenní agar a CLED médium. Krevní agar patří mezi nejčastěji používaná pevná média. Toto médium může zachytit většinu bakterií, které kolonizují lidský organismus, stejně jako původce zoonóz. Díky svému složení je možné prokázat přítomnost bakterií, které způsobují hemolýzu. Pro detekci enterobaktérií lze použít půdy McConkey a deoxycholát-citrát (dále MC a DC půda). MC půda zachytí přítomné enterobakterie, které lze následně rozdělit podle schopnosti fermentace laktózy, kdy dojde k barevné změně kolonie. DC půda se také řadí mezi selektivní půdy, které mají podobné vlastnosti jako MC půda. Obě půdy potlačují růst grampozitivních bakterií a rozdělují bakterie z hlediska kvašení laktózy. Rozdílnou vlastností je detekce bakterií produkujících sirovodík, které lze rozpoznat na DC půdě, kde narostou v podobě černých kolonií (Bébrová, 2002). Chromogenní agar se využívá k selektivní identifikaci a diferenciaci různých druhů bakterií, na základě jejich schopnosti fermentovat specifické cukry. Fermentace cukrů produkuje kyseliny nebo plyny, které reagují s barvicími látkami v chromogenním agaru a způsobují změnu barvy kolonií nebo média. To umožňuje snadnou vizuální identifikaci specifických bakteriálních druhů na základě jejich charakteristických barevných reakcí. Dalším často používaným agarovým médiem je selektivní a zároveň diferenciatní CLED médium. Toto médium se využívá jak ke kultivaci grampozitivních bakterií, tak gramnegativních bakterií. Zároveň potlačuje nežádoucí růst bakterie rodu *Proteus* (Votava, 2010).

Během celého procesu kultivace je nezbytné udržovat stálou optimální teplotu, která se pro většinu bakterií patogenních pro člověka pohybuje kolem 37 °C. Výjimkou mohou být například kampylobaktery, které vyžadují kultivaci při 42 °C. Důležitá je také atmosféra, ve které bakterie rostou. Aerobní a fakultativně anaerobní bakterie rostou za přístupu kyslíku bez ovlivňování atmosférou. Anaerobní bakterie nevyrostou v běžné atmosféře a vyžadují prostředí bez přístupu kyslíku. Mikroaerofilní bakterie vyžadují atmosféru se sníženou koncentrací kyslíku, zatímco kapnofilní bakterie potřebují prostředí se zvýšenou koncentrací CO<sub>2</sub> (10 %). Nezbytnou podmínkou pro kultivaci je dostatečná vlhkost půdy a doba růstu bakterií, která závisí na jejich generační době. Většině aerobních a fakultativně anaerobních bakterií stačí na pevných půdách 16–20 hodin, ovšem anaerobní bakterie potřebují většinou až 2 dny (Votava, 2010).

Většina původců močových cest se kultivuje při teplotě 35–37 °C v aerobním prostředí, tedy za přístupu kyslíku, v přístrojích zvaných biologické termostaty. Tyto přístroje jsou elektricky vyhřívané a udržují konstantní teplotu prostředí v rozmezí ± 1 °C.

Inkubace trvá u běžných patogenů 16–24 hodin. Poté následuje odečet bakterií (Skopec, 2013).

Po ukončené kultivaci je důležité zhodnotit dle počtu narostlých kolonií, zda se jedná o signifikantní bakteriurii. Při odběru středního proudu spontánně vymočené moče a dodržení důkladné intimní hygieny se obecně za signifikantní bakteriurii u žen a mužů považuje vzorek s počtem bakterií  $10^5$  a více CFU/1 ml. U dětí je za hraniční hodnotu považováno  $10^4$  CFU/1 ml. V případě, že byl vzorek moče odebrán z jednorázově zavedeného katétru, je hraniční hodnotou  $10^3$  CFU/1 ml. U moče odebrané suprapubickou punkcí se bere každý nález za signifikantní bakteriurii (Skopec, 2013).

Pro správnou interpretaci výsledků musí lékař brát ohled na: způsob odběru, pozitivní symptomatologii u pacienta, počet druhů nalezených bakterií, typ mikroba (viz. příloha číslo 1.), signifikantní počet bakterií a další. Na základě těchto parametrů lékař rozhodne, zda se jedná o původce onemocnění, či o možnou kontaminaci (Votava, 2005). Koncentrace bakterií v moči považované za signifikantní jsou uvedeny v příloze č. 2.

#### **1.5.4.3 Stanovení citlivosti k antimikrobním látkám**

Stanovení citlivosti k antibiotikům se provádí za účelem určení, které antibiotikum bude nejefektivnější v boji proti konkrétnímu typu bakterií. Existuje několik metod stanovení citlivosti k antibiotikům. Nejčastěji používanou metodou je tzv. *disková difúze*. Tato metoda spočívá v tom, že na agarovou desku s vypěstovanými bakteriemi se umístí disky napuštěné různými antibiotiky. Poté pozorujeme, které antibiotikum vytváří okolo sebe zónu inhibice, tedy zónu, ve které se bakterie nevyskytují. Velikost této zóny určuje citlivost bakterií k danému antibiotiku – čím větší zóna inhibice, tím je bakterie citlivější k danému antibiotiku. Průměry inhibičních zón lze odečíst pravítkem, posuvným měřidlem či pomocí automatizovaného odečítače zón. Získané hodnoty se na závěr porovnávají s tzv. referenční zónou. Další metodou je tzv. *mikrodiluční test*, který umožňuje stanovit minimální inhibiční koncentraci antibiotika (MIC). Tato metoda spočívá v tom, že se do mikrotitrační destičky přidávají různé koncentrace antibiotik. Poté se pozoruje, která koncentrace antibiotika zastaví růst bakterií, tedy která je minimální inhibiční koncentrací (Votava, 2010).

Obecně platí, že bakterie s větší hodnotou průměru inhibiční zóny, než je hraniční hodnota, jsou citlivé k dané antimikrobiální látce. Naopak bakterie s menší hodnotou jsou odolné (rezistentní) k této antimikrobiální látce.

Používané testovací sestavy ATB se liší dle bakterií, druhu a původu (nemocniční nebo komunitní) primárních vzorků, ale také dle geografické oblasti. V případě původců infekcí močových cest se nejčastěji testují ATB, jako jsou: nitrofurantoiny, cefalosporiny, fluorochinolony, trimethoprim / sulfamethoxazol. Metodiku a interpretační kritéria v Evropských zemích řeší Evropská komise pro testování k ATB – EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). Její aktuální dokumenty by měly být v našem regionu závaznou normou.

## 2 Rod *Staphylococcus*

Rod *Staphylococcus* byl popsán anglickým chirurgem, který se jmenoval Alexander Ogston. V roce 1880 sledoval pod mikroskopem biologický materiál, který byl odebrán z hnisající rány na noze a povšimnul si bakterií typického tvaru a uspořádání, kterým je charakterizován právě rod *Staphylococcus* (Götz, 2006).

V dnešní době je popsáno více než 20 druhů bakterií spadajících do tohoto rodu. Jsou schopné vyvolat různorodé infekce jak u lidí, tak zvířat (Bednář, 1996).

### 2.1 Mikrobiologické vlastnosti

Bakterie rodu *Staphylococcus* jsou grampozitivními bakteriemi, což znamená, že se při užití Gramova barvení zbarví do fialova (na základě složení jejich buněčné stěny). Jejich velikost se pohybuje v průměru kolem 1  $\mu\text{m}$  (Foster, 1996).

Mohou se vyskytovat buď jednotlivě nebo v nepravidelných shlucích, kterým se říká hrozníčky. Bakterie jsou nepohyblivé, nesporulující koky, které mohou tvořit pouzdra. (Votava, 2003).

Bakterie rodu *Staphylococcus* jsou až na pár výjimek fakultativně anaerobní, což znamená, že mohou růst jak za přítomnosti kyslíku, tak v prostředí bez kyslíku. Podle schopnosti tvořit koagulázu je můžeme dělit na koaguláza pozitivní a koaguláza negativní druhy (Votava, 2010).

Většina stafylokoků spadá mezi růstově nenáročné – až na pár výjimek, které ke svému růstu potřebují organický zdroj kyslíku. Jejich růstovou nenáročnost lze využít při kultivaci, kdy jsou schopné snášet vysoké koncentrace NaCl. To je možné využít při selektivní kultivaci materiálu, který je kontaminován i jiným druhem bakterií. Na kultivačních pevných půdách mají vzhled hladkých, lesklých a ostře ohraničených kolonií. Koaguláza negativní stafylokoky obsahují málo karotenových pigmentů a díky tomu nebývají jejich kolonie výrazně zbarvené. Je pro ně typická našedlá až bílá barva. Naopak druh *Staphylococcus aureus*, který spadá mezi koaguláza pozitivní bakterie, obsahuje mnoho těchto pigmentů a jeho kolonie bývají smetanově, žlutě až temně oranžově zbarveny, v závislosti na typu kmene (Bednář, 1996).

### 2.2 Kultivace

Bakterie rodu *Staphylococcus* jsou velmi nenáročné na kultivaci a nevyžadují žádné specifické podmínky k růstu. Běžně jsou schopné velmi dobře růst na obyčejném živném agaru, na agaru se srdcovou a mozkovou infuzí a také na agaru s příměsí ovčí nebo hovězí

krve. Na pevných pomnožováních půdách se vyhodnocují po 24 hodinové inkubaci při 37 °C, kdy dojde k nárůstu okrouhlých, hladkých, lesklých, konvexních a mazlavých kolonií. Díky karotenovému pigmentu, který někteří zástupci tohoto rodu produkují, dochází ke specifickému zbarvení kolonií. Při kultivaci v bujónu dochází ke vzniku zákalu a sedimentu (Bednář, 1996).

Bakterie rodu *Staphylococcus* snášejí velmi dobře nepříznivé podmínky vnějšího prostředí a patří tak mezi nejodolnější bakterie. Mají schopnost odolávat teplotám 55 °C po dobu 30 minut. V přítomnosti bílkovin odolávají vyschnutí až několik týdnů. Další jejich výhodou je schopnost růst i za vyšší koncentrace NaCl. Všechny tyto faktory umožňují některým druhům bakterií rodu *Staphylococcus* přechodné či perzistující osídlování kožních oblastí (Bednář, 1996).

### **2.3 Koaguláza – pozitivní stafylokoky**

Koaguláza pozitivní stafylokoky jsou bakterie, které jsou schopné produkovat koagulázu. Nejvýznamnějším zástupcem je *Staphylococcus aureus*, který způsobuje infekce jak u lidí, tak u zvířat. Zbytek koaguláza pozitivních bakterií je především zvířecího původu, kdy k přenosu na člověka může dojít pouze během kontaktu se zvířetem (Votava, 2003).

*Staphylococcus aureus* je oportunní patogen, který se nachází přirozeně a bezpříznakově v oblasti přední dutiny nosní a na kůži člověka (Mehraj, 2016). Tato bakterie způsobuje širokou škálu onemocnění od kožních hnisavých afekcí různé závažnosti, až po smrtelný zápal plic a sepsi. Je nejčastějším původcem ranných infekcí komunitních i nozokomiálních (Cheung, 2021). Dále *Staphylococcus aureus* může také ojediněle způsobovat infekce močových cest. Tyto infekce se častěji vyskytují u pacientů s určitými rizikovými faktory, jako jsou imunodeficiencie, katetrizace močového měchýře nebo jiné zdravotní problémy. Pacienti s protilátkovou nedostatečností, kardiovaskulárními problémy nebo jinými chronickými chorobami jsou obzvláště ohroženi těmito infekcemi (Hilty, M.M. et al., 2012).

U pacientů s infekcí močových cest způsobenou *S. aureus* je obvykle nutná agresivní léčba, zahrnující intravenózní podávání antibiotik a podpůrnou terapii. Výběr antibiotik závisí na citlivosti bakterie, což by mělo být ověřeno pomocí mikrobiologického testování. Mezi antibiotika, která jsou často používána k léčbě infekcí způsobených *S. aureus*, patří například oxacilin, cefalosporiny (1. a 2. generace) a fluorochinolony.

Vzhledem k tendenci k tvorbě abscesů je v některých případech nutná chirurgická intervence (Hilty, M.M. et al., 2012).

#### 2.4 Koaguláza – negativní stafylokoky

Koaguláza – negativní stafylokoky jsou bakterie, které nejsou schopné produkovat koagulázu. Nachází se bez jakýkoliv příznaků v oblasti kůže a sliznic, a tudíž bývají častými kontaminanty vzorků odebraných z těchto míst. Dříve byly považovány za nepatogenní, ale postupem času se staly běžnými původci těžkých a někdy i smrtelných infekcí u jedinců s oslabenou imunitou (Beneš, 2009). Důvodem jsou častěji využívané invazivní vyšetřovací metody, komplikované a časově náročné chirurgické zákroky a léčebné metody vedoucí k imunosupresi (Votava, 2010).

Mezi nejvýznamnější patogeny spadají *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus lugdinensis* a *Staphylococcus novobioceticus* (Beneš, 2009).

Velká část infekcí způsobených koaguláza – negativními stafylokoky bývá šířena nozokomiální cestou. Nejzávažnější formy infekce postihují krevní řečiště: dochází k bakteriemiím, septikemiím, endokarditidě, osídlení implantovaných materiálů či katérovým sepsím. Nejčastějším patogenem bývá *Staphylococcus epidermis*, který často adhezuje k implantovaným náhradám. Infekce může být zapříčiněna i banálním zákrokem, jako je vytržení zubu či poranění kůže (Julák, 2006).

Naopak infekce močových cest bývají způsobeny, především u mladých žen, druhem *Staphylococcus saprophyticus*. Patogeny IMC starších osob se zavedeným katérem bývají druhy *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* a *Staphylococcus hominis* (Votava, 2010).



### 3 *Staphylococcus saprophyticus*

*Staphylococcus saprophyticus* je bakterie patřící do rodu *Staphylococcus*. Je to grampozitivní bakterie, která nezpůsobuje rozpad erytrocytů, jinými slovy je  $\gamma$  – hemolytická. Nejčastěji je spojována s nekomplikovanou infekcí močových cest, a to zejména u mladých, sexuálně aktivních žen (Raz, 2005).

U mužů bývá infekce způsobená *Staphylococcus saprophyticus* asymptomatická a dochází k ní ojediněle (Bednář, 1996).

#### 3.1 *Etiologie*

Bakterie *Staphylococcus saprophyticus* je považována za jednoho z nejčastějších patogenů způsobujících infekce močových cest. Je známo, že u žen ve věku 16–25 let způsobuje kolem 45 % veškerých infekcí močových cest. U 40 % sexuálně aktivních žen bývá součástí přirozené mikroflóry v močopohlavní oblasti. *Staphylococcus saprophyticus* je často diagnostikován u pacientů s nozokomiálními infekcemi močových cest, u starších osob, gravidních žen a u pacientů se zavedeným močovým katétrem. U mužů bývá infekce močových cest způsobená tímto stafylokokem ojedinělá. Mezi faktory ovlivňující IMC patří pohlaví, sexuální aktivita, zavedení katétru, opakující se IMC, poruchy vyprazdňování močového měchýře a benigní hypertrofie prostaty. *Staphylococcus saprophyticus* bývá také běžně součástí polymikrobiálních infekcí (infekcí způsobených větším počtem patogenů). Tyto infekce se často vyskytují u lidí s oslabenou imunitou, starších pacientů, pacientů s diabetem a u pacientů se zavedeným katétrem. Polymikrobiální infekce bývají naopak méně často diagnostikovány u mladých sexuálně aktivních žen (Ehlers, 2022).

#### 3.2 *Epidemiologie*

Obtíže s močením patří mezi celosvětově nejčastější problémy, pro které pacient vyhledá odbornou lékařskou pomoc. IMC spadá mezi jednu z deseti nejčastějších diagnóz na pohotovostních odděleních. Během života prodělá až 50 % žen infekci močových cest, kdy z 5–20 % bývá způsobena *Staphylococcus saprophyticus*. Ačkoliv léčba bývá u většiny případů úspěšná, dochází často k recidivující IMC (Ehlers, 2022).

### 3.3 Patogeneze

Mezi faktory virulence *Staphylococcus saprophyticus*, umožňující schopnost bakterie adherovat k epitelu a kolonizovat močové cesty, patří adheziny. Ty se nachází na buněčné stěně bakterie. *Staphylococcus saprophyticus* vlastní několik různých typů adhezínů. Spadají mezi ně hemaglutininy s autolytickými a adhezivními vlastnostmi. Díky nim se bakterie pevně přichytí k uroepitelu a dochází ke vzniku závažných infekcí. Dalším povrchovým faktorem ovlivňující přilnavost k povrchům je lipáza, která je podobná fimbríím. Některé kmeny *Styphylococcus saprophyticus* jsou schopné vytvářet biofilmy, které jim napomáhají bránit se účinkům antibiotik a zvyšujícím jejich rezistenci. Tvorba biofilmů je typická u pacientů se zavedeným katétrem (Ehlers, 2022). Existuje několik genů virulence, které přispívají k perzistenci této bakterie u hostitelů. Mezi ně patří: *ure* (kódující ureázu), *ssp* (kódující lipázu), *uafA* (kódující proteiny na povrchu) a další. Bakterie reagují na změny prostředí tím, že mění expresi genů, což jim umožňuje zvládat odlišný zdroj živin, změněný tlak kyslíku či přechod z planktonického růstu do života biofilmu (Alao et al., 2020).

### 3.4 Terapie a rezistence k ATB

Antibiotika se obecně nasazují především u symptomatických a komplikovaných IMC a vždy u pyelonefritidy. Při výběru antimikrobní látky je nutné vzít v úvahu možnou rezistenci. Běžnou volbou lékaře při podezření na infekci dolních močových cest je nitrofurantoin, který se podává perorálně 2x denně po dobu 5 dnů. U komplikovaných případů IMC trvá antibiotická léčba sedm dní (Ehlers, 2022).

*Staphylococcus saprophyticus* je obvykle citlivý na nitrofurantoin, cotrimoxasol a fluorochinolony. V případě citlivosti lze využít i chráněný aminopenicilin nebo cefalosporiny (Pailhoriès, 2017).

Na kterékoli z těchto antibiotik může *Staphylococcus saprophyticus* vykazovat rezistenci, pak je potřeba se řídit konkrétní citlivostí. Proto by mělo být kultivační vyšetření moče před zahájením léčby standardem.

V případě pyelonefritidy je obvykle lékem první volby fluorochinolon (Pailhoriès, 2017).

## **4 Cíl práce a hypotézy**

### **4.1 Cíl práce**

Cílem mé práce je osvojení si a provedení bakteriologického vyšetření moče na Oddělení lékařské mikrobiologie v laboratoři Nemocnice České Budějovice, a.s. a statistické vyhodnocení 100 vzorků moče z roku 2021 pozitivních na bakterii *Staphylococcus saprophyticus*.

### **4.2 Předpokládané hypotézy**

Předpokládá se, že bakterie *Staphylococcus saprophyticus* je nejčastěji detekována u mladých žen ve věkovém rozmezí 16–25 let.

## 5 Metodika

Praktická část byla provedena na Oddělení lékařské mikrobiologie v laboratoři Nemocnice České Budějovice, a.s. Závěrečné výsledky obsahují údaje z roku 2021, které byly získány z LISu laboratoře mikrobiologie.

### 5.1 Příjem vzorku

V laboratořích Nemocnice České Budějovice, a.s. jsou přijímány pouze řádně označené vzorky, které jsou předány osobně do rukou laboratorního pracovníka. Je nutné, aby byl vzorek nepoškozený, správně odebraný, správně identifikovaný a nepotřísněný odebraným materiálem. Každý vzorek musí obsahovat:

- jméno a příjmení pacienta,
- rodné číslo pacienta,
- označení nabíraného vzorku a
- datum a čas odběru vzorku.

Ke každému vzorku je nutné přiložit správně vyplněnou žádanku, která musí obsahovat základní identifikační informace:

- identifikační číslo zdravotně pojištěného pacienta,
- číslo pojišťovny,
- příjmení a jméno pacienta,
- čas a datum odběru vzorku,
- základní diagnózu pacienta,
- identifikaci požadujícího oddělení (neplatí u samoplátce),
- jméno a podpis lékaře,
- seznam požadovaných vyšetření,
- klinické informace o pacientovi a
- režim prováděného vyšetření (statim / rutina).

V případě že žádanka neobsahuje všechny základní náležitosti, nebo není-li vzorek řádně označen, laboratorní pracovník nemusí vzorek přijmout, a to zvláště pokud jde o hrubé nedostatky. Jestliže se jedná o drobné chyby, lze je řešit telefonicky s lékařem.

V opačném případě, kdy žádanka a vzorek splňují veškeré náležitosti, je vzorek přijat, náležitě označen laboratorním číslem a připraven k laboratornímu zpracování (Balejová a Šuš, 2021).

## 5.2 Laboratorní vyšetření moče

Cílem laboratorního vyšetření moče je průkaz pravděpodobného vyvolavatele infekcí horních a dolních močových cest, včetně stanovení jejich kvantitativní koncentrace a stanovení citlivosti k antimikrobním preparátům. Vyšetření slouží také ke kontrole úspěšnosti léčby. Kvantitativní stanovení bakterií ve vzorcích moče se provádí nefelometricky (pomocí systému HB&L UROQATRO) kvantitativním zpracováním moče ve třech ředěních a semikvantitativním stanovením na diagnostické půdě Uricult.

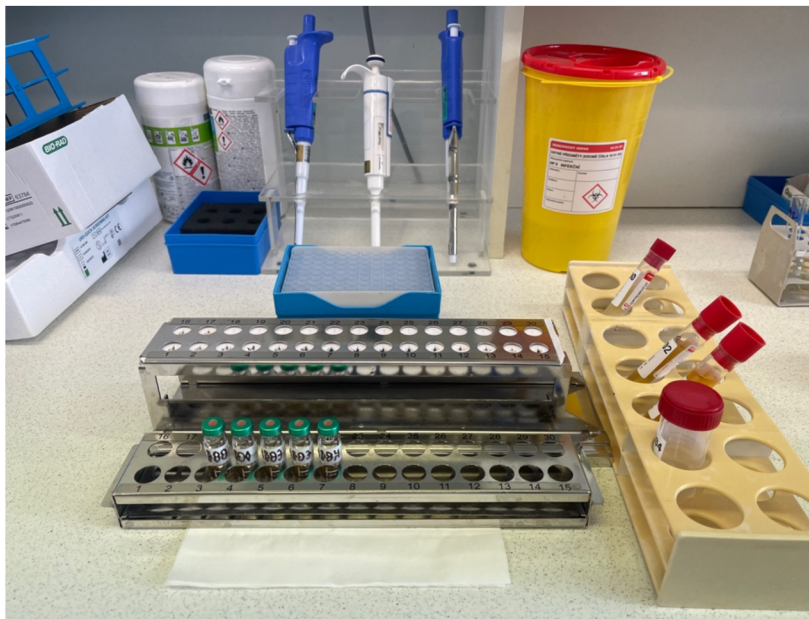
### 5.2.1 HB&L UROQATRO

HB&L UROQATRO je poloautomatický systém, který je využíván k rychlé kvantitativní detekci aerobních mikroorganismů. Principem systému je detekce rozptylu laserového paprsku při 650 nm, který prochází přes skleněnou lahvičku se vzorkem. Signály rozptýleného laserového světla jsou detekovány, vypočteny a následně zobrazeny pomocí růstových křivek, které detailně informují o množství rostoucích bakterií.



Obrázek č. 1: Poloautomatický systém HB&L UROQATRO (zdroj: vlastní)

Prvním krokem ke kvantitativnímu stanovení bakterií je správné označení skleněných lahviček laboratorním číslem vzorku. Pomocí automatické pipety se aplikuje 500  $\mu\text{l}$  vzorku moče přes filtrační papír, který odsaje přebytečnou tekutinu a následně se lahvičky se vzorkem vloží do analyzátoru.



Obrázek č. 2: Příprava skleněných lahviček (zdroj: vlastní)

Analyzátor vyhodnocuje vzorky moče jako negativní, pozitivní s vyjádřením kvantity bakterií, nebo jako kalné a abnormální. V případě, že přístroj vyhodnotí vzorek moče jako negativní a nedochází k růstu žádných bakterií, je vyšetření ukončeno. Lahvička se vyjme z přístroje, vyhodí do infekčního odpadu a negativní výsledek se zapíše do LISu. Je-li vzorek pozitivní a koncentrace bakterií je na  $10^3$ , moč se naočkuje na krevní agar (CSB). Při pozitivitě vzorků s hodnotami  $10^4$  až  $10^8$  se dá původní vzorek moče centrifugovat na 5 minut při 4000 otáčkách a ze sedimentu se zhotoví preparát, který se barví dle Grama a sleduje se pod mikroskopem. Podle druhu nalezených bakterií se zvolí k růstu vhodná půda a následně se vyhotoví citlivost pomocí Mueller-Hinton pŕdy. Naočkované pŕdy se kultivují 18–24 hodin při teplotě  $36 \pm 1$  °C aerobně. Jestliže je vzorek vyhodnocen analyzátozem jako kalný či abnormální, zpracuje se moč klasickou semikvantitativní metodou tří ředění.

### 5.2.1.1 Mikroskopické vyšetření

Mikroskopické vyšetření je přímou a velmi rychlou metodou k průkazu bakterií a eventuálně mikromycet. Provádí se jako součást bakteriologického vyšetření k průkazu bakteriální etiologie onemocnění, nebo k potvrzení, či vyloučení infekční komplikace probíhajícího onemocnění.

Při potvrzení pozitivity vzorku  $10^4$  až  $10^8$  pomocí systému HB&L UROQATRO, se vzorky moče dají stočit do centrifugy při 4000 otáčkách na 5 minut. Po stočení se odleje do infekčního odpadu supernatant a ze sedimentu ve zkumavce se zhotoví preparát. Podložní sklíčko se popíše identifikačním číslem vzorku a na tampon se nanese dostatečné množství sedimentu, které se přeneso na podložní sklíčko. Vzorek se nechá zaschnout, ofixuje se pod kahanem a dá se barvit dle Grama.



Obrázek č. 3: Příprava sedimentu na barvení dle Grama (zdroj: vlastní)

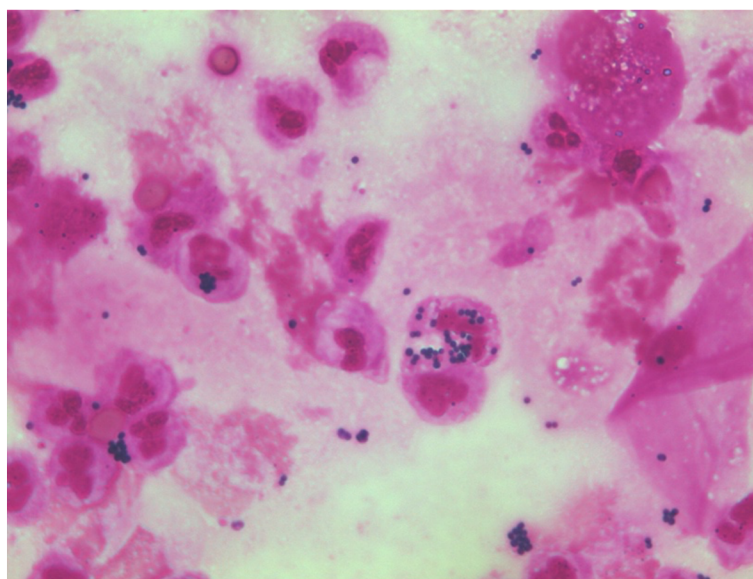
K barvení dle Grama se využívají v laboratoři 2 barvicí automaty, a to značky Polystainer a PREVI™ Color Gram. Barvení dle Grama probíhá v několika krocích:

- 1) 30 sekund krystalovou violetí,
- 2) 1 minutu Lugolovým roztokem,
- 3) opláchnutí vodou,
- 4) odbarvením acetonem či alkoholem,
- 5) opláchnutí vodou,
- 6) 1 minutu dobarvením karbolfuchsinem nebo safraninem a
- 7) opláchnutí vodou.



Obrázek č. 4: Barvicí automat značky Polystainer (zdroj: vlastní)

Obarvený preparát se prohlíží meandrovitě při zvětšení 100x za použití imerzního oleje. U klinických vzorků se sleduje přítomnost a množství leukocytů, erytrocytů a epitelálních buněk. Je důležité zhodnotit relativní množství bakterií, morfologii (koky, tyčky), uspořádání (řetízky, hloučky), u tyček osovou souměrnost (rovné, zakřivené, kyjovité, polymorfní). Nalezené buňky jsou na Oddělení lékařské mikrobiologie v laboratoři Nemocnice České Budějovice, a.s. kvantifikovány hodnocením pomocí křížů dle tabulky č. 1.



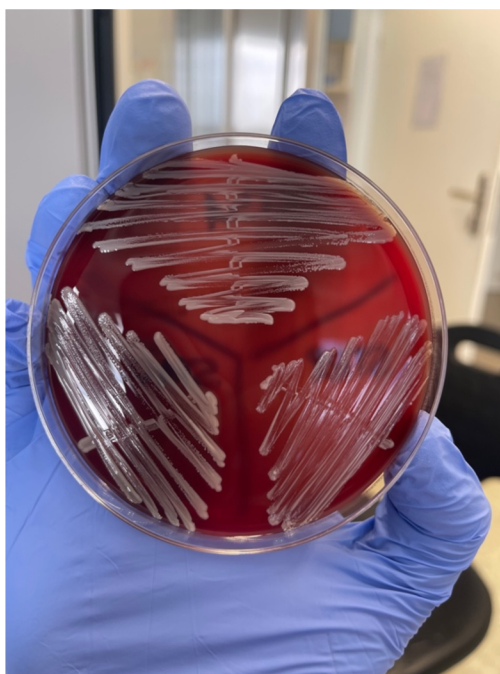
Obrázek č. 5: Sediment moče pod mikroskopem barvený dle Grama (kultivačně STSA) (zdroj: vlastní)



Tabulka č. 1: Vyhodnocení počtu bakterií.

	Počet nalezených bakterií v 1 zorném poli
1 kříž	0–1 bakterie
2 kříže	2–10 bakterií
3 kříže	10–100 bakterií
4 kříže	100 a více bakterií

Při nálezů gramnegativních tyček se naočkuje moč na půdu UriSelect 4 a vyhotoví se citlivost pomocí Mueller-Hinton půdy. V případě nálezů grampozitivních koků v řetězcích se naočkuje krev na krevní agar a stanoví se citlivost na streptokoky či enterokoky. Pokud jsou pod mikroskopem nalezeny grampozitivní bakterie v hloučcích, naočkuje se moč na krevní agar a stanoví se citlivost na stafylokoky, případně se naočkuje materiál na UriSelect 4.



Obrázek č. 6: Porovnání narostlých kolonií na CSB půdě: STSA (nahore), STEP (vlevo) a STAU (vpravo)  
(zdroj: vlastní)

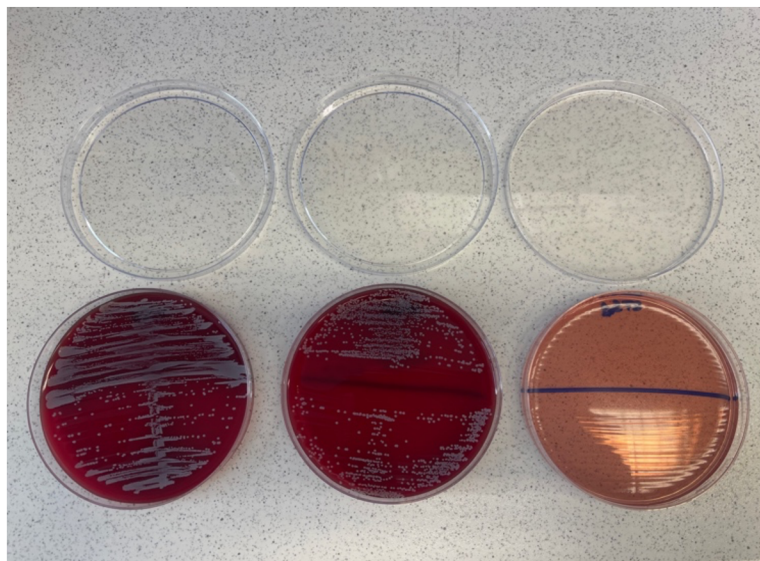
### 5.2.2 Metoda tří ředění

Metoda tří ředění slouží ke kvantitativnímu průkazu bakteriálních původců onemocnění močového traktu s cílem identifikovat pravděpodobného vyvolavatele onemocnění.

Ke kultivaci jednoho vzorku moče jsou používány celkem 3 kultivační půdy – dva KA + jedna MCV. Na první KA je za použití jednorázové kličky o objemu 10  $\mu$ l, která se ponoří do vzorku moče, vytvořeno přes celou jeho plochu inokulum a stejnou kličkou je inokulum pečlivě rozočkováno kolmo na čáru. Na očkování dalších půd se použije moč 100x ředěná a to tak, že kličkou o objemu 10  $\mu$ l je vzorek moče přenesen do zkumavky s 1 ml fyziologického roztoku, který se následně promíchá. Takto nařaděný vzorek moče se nabere 10  $\mu$ l kličkou a na horní 1/2 druhého KA se vytvoří čára, která je rozočkována kolmo na čáru. Na spodní 1/2 KA se rozočkuje stejným způsobem také 100x ředěný vzorek moče, ale použije se jednorázová klička o objemu 1  $\mu$ l. V případě inokulace MCV se postupuje stejným způsobem jako u druhého KA. Naočkované půdy se nechají aerobně inkubovat 18–24 hodin při teplotě  $36 \pm 1$  °C. Narostlé kolonie jsou hodnoceny na Oddělení lékařské mikrobiologie v laboratoři Nemocnice České Budějovice, a.s. dle tabulky č. 2.

Tabulka č. 2: Vyhodnocení narostlých kolonií

Ředění	Počet kolonií	Signifikantní počet bakterií
Moč neředěná	do 10 kolonií	$<10^3$ CFU /ml moče
	více kolonií růst pouze v tomto ředění	$10^3$ CFU /ml moče
Ředění $10^4$ /ml moče	růst pouze v tomto ředění	$10^4$ CFU /ml moče
Ředění $10^5$ /ml moče	do 10 kolonií	$10^5$ CFU /ml moče
	do 100 kolonií	$10^6$ CFU /ml moče
	více než 100 kolonií	$10^7$ CFU /ml moče

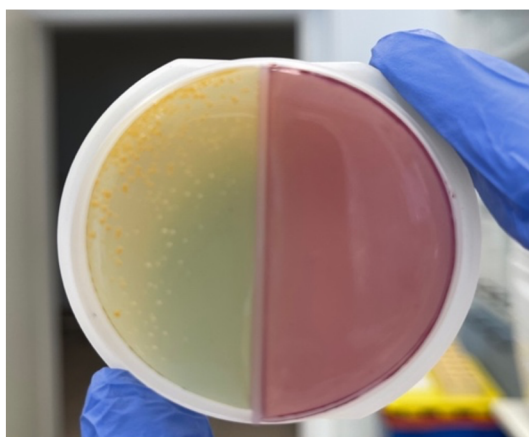


Obrázek č. 7: Kvantitativní stanovení STSA metodou tří ředění, nárůst kolonií  $10^7$  CFU/ml (zdroj: vlastní)

### 5.2.3 Uricult

System Uricult je založen na dvou agarových mediích, a to na zeleném CLED médiu a červeném MacConkey médiu. CLED médium slouží k detekci celkového počtu bakterií (G- tyčky, G+ koky) a MacConkey půda k selekci gramnegativních mikrobů na základě žlučové soli, která zabraňuje růstu grampozitivních bakterií (s výjimkou enterokoků).

Na základě porovnání narostlých kolonií s modelovou tabulkou, lze stanovit přibližnou koncentraci a druh bakterie. Na CLED médiu rostou žluté kolonie laktóza pozitivních kmenů, a naopak průsvitné kolonie laktóza negativních. Na MacConkey půdě rostou červené kolonie laktóza pozitivních a průsvitné kolonie laktóza negativních bakterií a drobné červené kolonie enterokoků.



Obrázek č. 8: Narostlé kolonie STSA na systému Uricult (zdroj: vlastní)

### 5.3 Identifikace

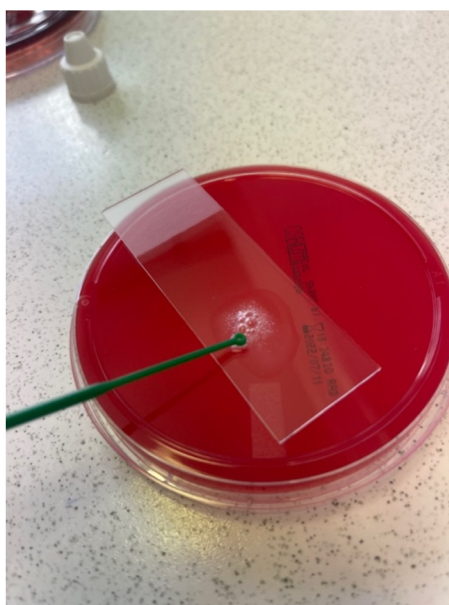
Identifikace bakteriálního kmene izolovaného z klinických vzorků slouží ke zjištění bakteriálního rodu a druhu. Výsledek identifikace je důležitý pro posouzení izolovaného agens v souvislosti s druhem vzorku, lokalitou jeho odběru, klinickou diagnózou pacienta a pro interpretaci výsledku vyšetření rezistence agens k antimikrobním látkám.

Rod *Staphylococcus* lze prokázat jak mikroskopicky pomocí barvených preparátů, tak makroskopicky dle zabarvení a velikosti narostlých kolonií. Mezi základní identifikační soupravy k průkazu stafylokoků patří plasma-koagulázové testy a v dnešní době velmi často využívaná MALDI – TOF.

#### 5.3.1 Katalázový test

Katalázový test je založen na základě schopnosti mikroorganismů produkovat enzym katalázu a hydrolyzovat tak peroxid vodíku na vodu a plynný kyslík. Využívá se k rozlišení stafylokoků od streptokoků a enterokoků.

Provádí se buďto kápnutím peroxidu na kolonii přenesenou na podložní sklíčko, či kápnutím přímo na kolonii na agarové půdě. Při pozitivní reakci dochází k uvolnění kyslíku ve formě bublinek a je tak prokázán rod *Staphylococcus*.

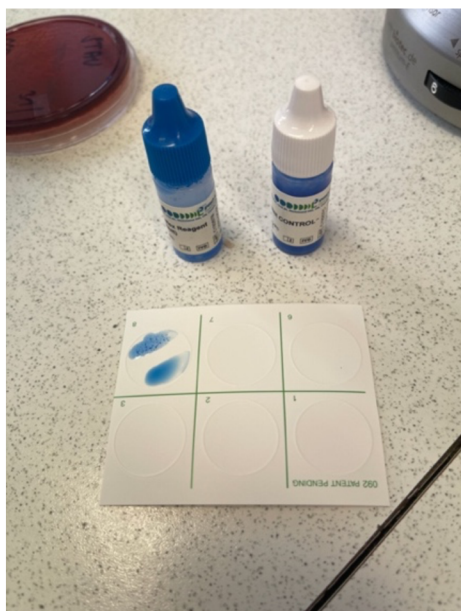


Obrázek č. 9: Pozitivní reakce katalázového testu (zdroj: vlastní)

### 5.3.2 Latexová aglutinace

Test latexové aglutinace slouží k průkazu *Staphylococcus aureus* na základě detekce „clumping faktoru“ proteinu A a kapsulárního polysacharidu. K aglutinaci partikulí dochází při přítomnosti homologního antigenu a navázaných specifických monoklonálních protilátek na latexových částicích.

K provedení se využívá testovací karta Latex Test reagent Kits značky Pro-Lab Diagnostics™. Nejprve je nutné umístit kapku latexové suspenze doprostřed kruhu testovací karty. Následně se jednorázovou kličkou nabere kolonie testovaného kmene a zamíchá se s kapkou suspenze. Po 30 sekundách jemného kývání s testovací kartou se začne hodnotit. Při pozitivní reakci dochází k vytvoření aglutinátu.



Obrázek č. 10: Latexová aglutinace, dole negativní kontrola, nahoře pozitivní reakce (zdroj: vlastní)

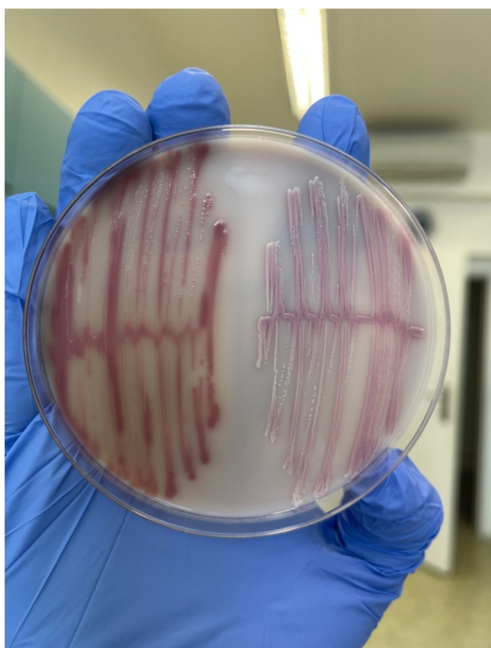
### 5.3.3 UriSelect™4

**UriSelect™4** značky Bio-Rad je chromogenní kultivační médium, které slouží k izolaci a diferenciaci patogenů močového traktu. **UriSelect™4** tvoří bohatý živný základ kombinující různé peptony, tryptofan a chromogenní směs. Umožňuje detekci specifických enzymů, což je principem diferenciacie druhů nebo skupin organismů s minimální potřebou potvrzovacích testů. Vysoká koncentrace agarů je ochranou proti plazivému množení druhu *Proteus*.

Je tvořeno 2 chromogenními substráty sloužícími k detekci  $\beta$ -galaktosidázy a  $\beta$ -glukosidázy a tryptofanem pro detekci tryptofandeaminázové a tryptofanázové aktivity. Výsledkem je tedy barevné odlišení kolonií:

- **$\beta$ -galaktosidáza:** růžové kolonie,
- **$\beta$ -glukosidáza:** tyrkysově modré kolonie,
- **$\beta$ -galaktosidáza a  $\beta$ -glukosidáza společně:** modrofialové kolonie a
- **Tryptofan deamináza (TDA):** oranžovohnědé kolonie s hnědavou aureolou kolem.

Pomocí automatické pipety se nasaje médium z lahvičky z automatického systému URO – QUICK a vytvoří se na agaru inokulum. Jednorázovou kličkou se nanese vzorek jedním tahem na agar a stejnou kličkou se rozetře kolmo k počátečnímu tahu přes celý povrch misky. Půda se kultivuje 18–24 hodin při teplotě  $36 \pm 1$  °C. Na základě zbarvení vyrostlých kolonií se vyhodnotí patogen.



Obrázek č. 11: Porovnání narostlých kolonií na půdě UriSelect<sup>TM</sup>4: ESCO (vlevo) a STSA (vpravo)  
(zdroj: vlastní)

#### **5.3.4 Identifikace MALDI – TOF na přístroji VITEK MS**

Metoda MALDI – TOF je založena na principu ionizace laserem za přítomnosti matrice. Je to velmi často užívaná metoda k rychlé a spolehlivé identifikaci mikroorganismů.

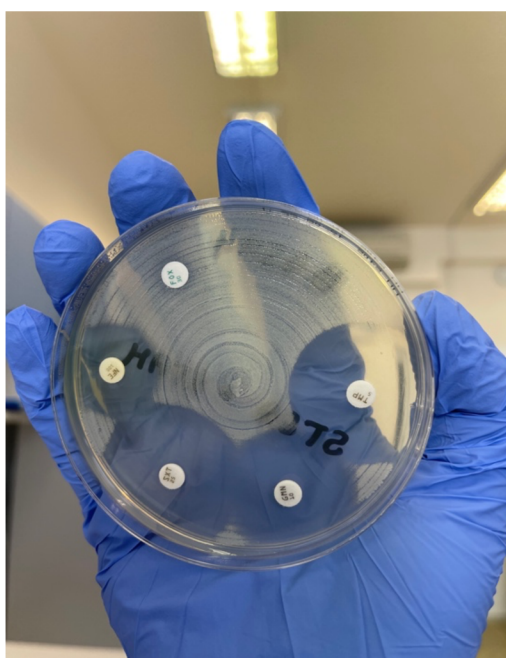
Prvním krokem je aplikace bakteriální kolonie jednorázovou kličkou na nosič a následné překrytí 1 µl matričního roztoku HCCA. V přístroji dochází ozáření vzorku a matrice laserem hmotnostního spektrometru, přičemž matrice pohltí UV záření. Dochází k ionizaci molekul vzorku, které vstupují do vakua v trubici detektoru. Na základě hmotnosti a náboje se molekuly rozdělí. Pro každý testovaný druh mikroorganismu je specifické určité hmotnostní spektrum. Získaná spektra jsou během analýzy porovnána s databází a následně identifikována s určitou procentuální pravděpodobností. Při poklesu pravděpodobnosti pod 60 % je vzorek považován za neidentifikovatelný.

#### **5.4 Stanovení antibiogramu diskovou difúzní metodou**

Disková difúzní metoda slouží ke stanovení citlivosti bakteriálních agens k antimikrobním látkám kvalitativní metodou. Na Mueller-Hinton půdu je inokulován bakteriální kmen na který se následně aplikuje disk napuštěný antimikrobní látkou. Během inkubace dochází k difúzi antimikrobní látky do média, která inhibuje růst citlivých bakterií a vytvoří tzv. inhibiční zónu.

Nejprve je nutné si nechat vytemperovat Mueller-Hinton půdu a antibiotické disky při pokojové teplotě. Ve zkumavce se sterilním fyziologickým roztokem se připraví inokulum testovaného kmene o zákalu 0,5 McFarlanda, které se ověří pomocí denzitometru. Za použití bavlněného sterilního tamponu se inokuluje suspenze pomocí automatického rotátoru na Mueller-Hinton půdu. Nechají se 3–15 minut stát a následně se aplikuje příslušná sestava antibiotických disků. Půdy se inkubují aerobně v termostatu při teplotě  $36 \pm 1$  °C, a to  $18 \pm 2$  hodiny. Výsledky citlivosti se interpretují dle kritérií EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

V případě bakterie *Staphylococcus saprophyticus* se na Oddělení lékařské mikrobiologie v laboratoři Nemocnice České Budějovice, a.s. stanovuje citlivost na antibiotika cefoxitin, nitrofurantoin, cotrimoxazol, gentamicin a trimetoprim. Následný průměr inhibiční zóny je hodnocen systémem ADAGIO™ nebo posuvným měřítkem.



Obrázek č. 12: Antibiogram STSA, rezistence k cefoxitinu (zdroj: vlastní)

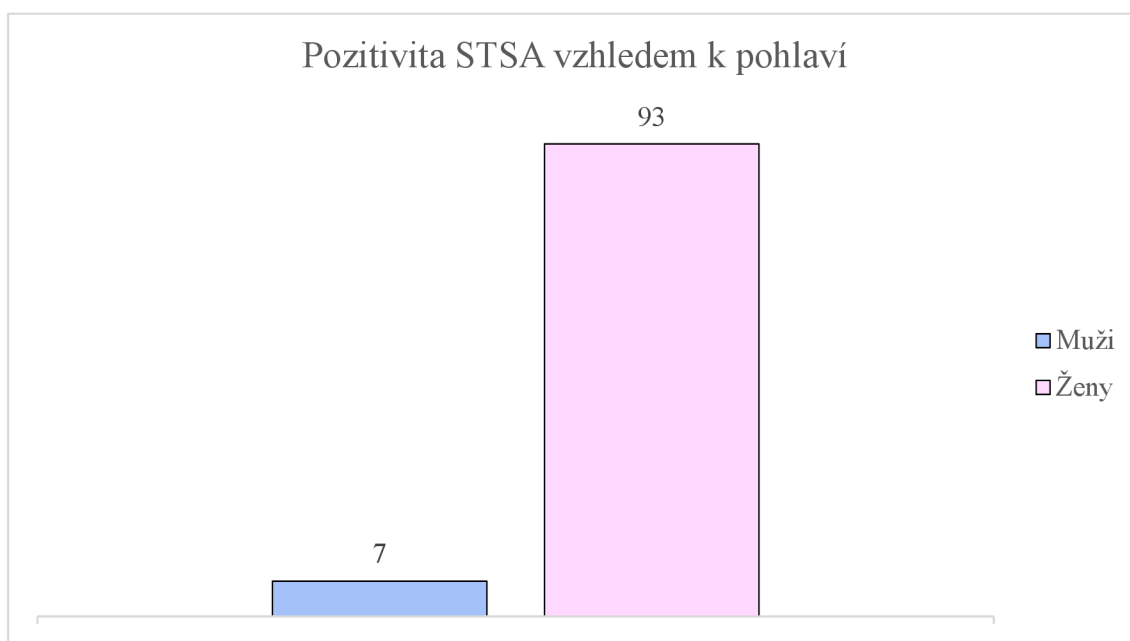


## 6 Výsledky práce

Data pro moji práci byla získána z laboratorního informačního systému (LIS) na Oddělení lékařské mikrobiologie v laboratoři Nemocnice České Budějovice, a.s. Vyhodnocovalo se celkem 100 pozitivních vzorků moče na bakterii *Staphylococcus saprophyticus* z roku 2021.

### 6.1 Poměr počtu mužů a žen ve vybraných vzorcích z roku 2021

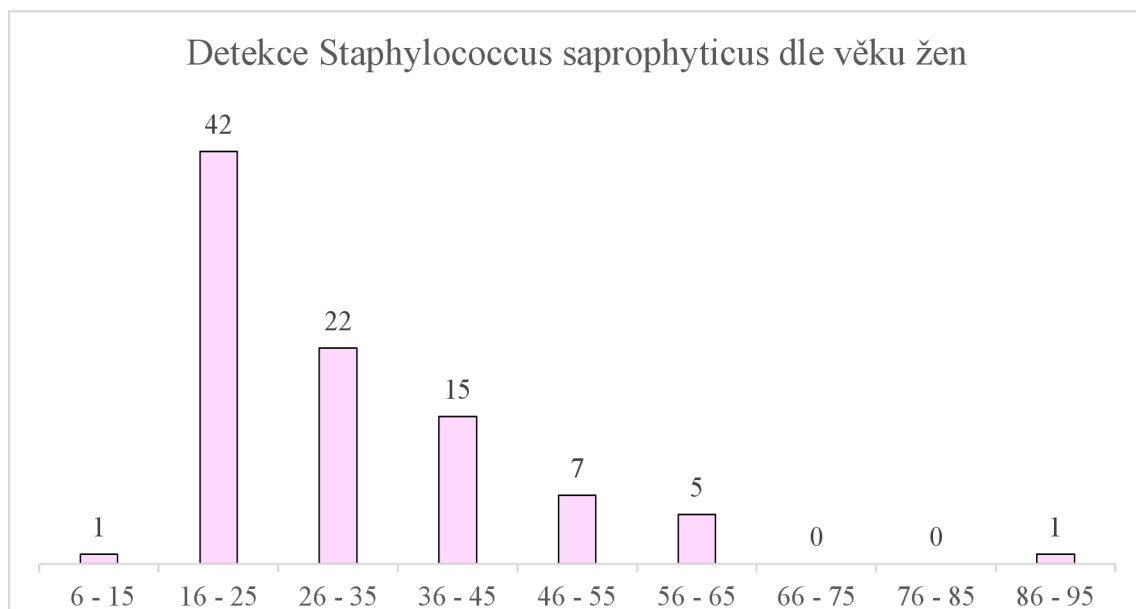
Předmětem výzkumu bylo dohromady 100 pozitivních vzorků na bakterii *Staphylococcus saprophyticus*. Nejvíce pozitivních vzorků bylo prokázáno u žen, které tvořily 93 % z celkového počtu, zatímco muži tvořili pouze v 7 %.



Obrázek č. 13: Pozitivita STSA vzhledem k pohlaví (zdroj: vlastní)

### 6.2 Detekce bakterie *Staphylococcus saprophyticus* dle věku žen

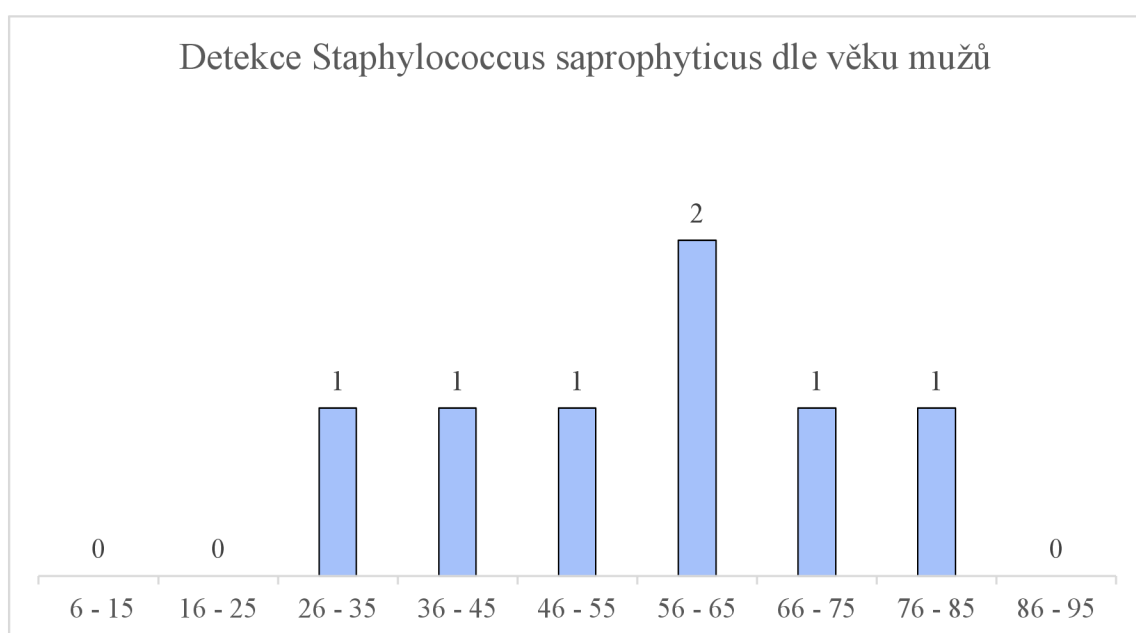
Bakterie *Staphylococcus saprophyticus* byla nejčastěji detekována u žen ve věkové skupině 16–25 let. S rostoucím věkem počet pozitivních postupně klesal. Výjimku tvořil jen jeden pozitivní vzorek, který byl od dívky ve věkovém rozmezí 6–15 let.



Obrázek č. 14: Detekce *Staphylococcus saprophyticus* dle věku žen (zdroj: vlastní)

### 6.3 Detekce bakterie *Staphylococcus saprophyticus* dle věku mužů

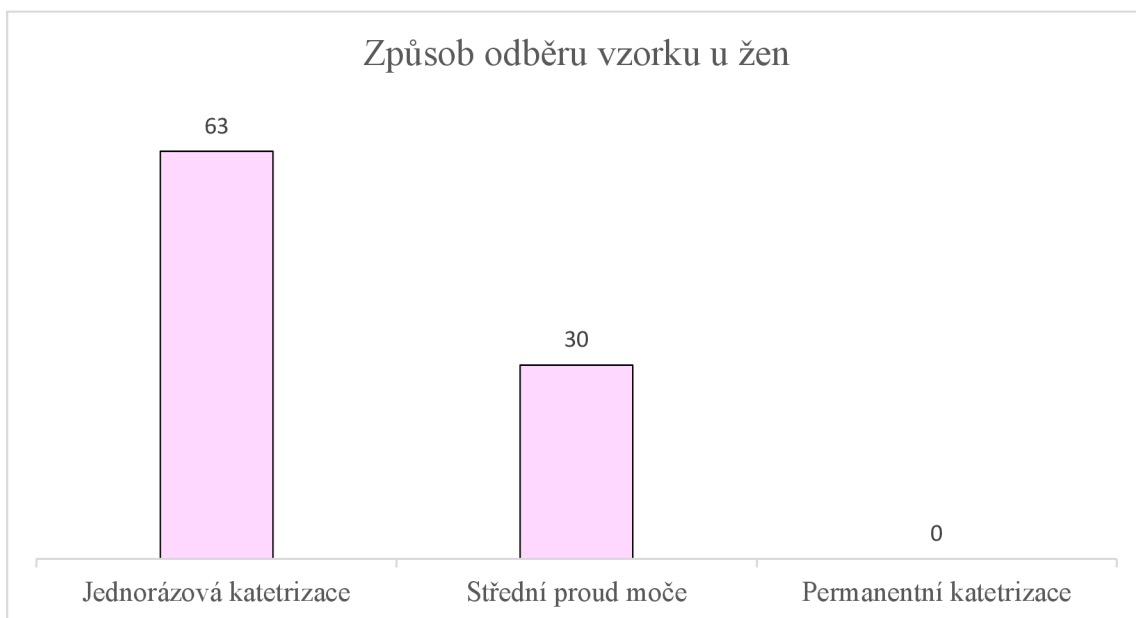
V případě mužů nebyla věková distribuce tak zřejmá, jako u žen. Zastoupení jednotlivých věkových rozmezí zde nehraje žádnou roli. Na rozdíl od žen nebyl v rozmezí 16–25 let detekován žádný pozitivní muž na bakterii *Staphylococcus saprophyticus*.



Obrázek č. 15: Detekce bakterie *Staphylococcus saprophyticus* dle věku mužů (zdroj: vlastní)

#### 6.4 Způsob odebraných vzorků moče u žen

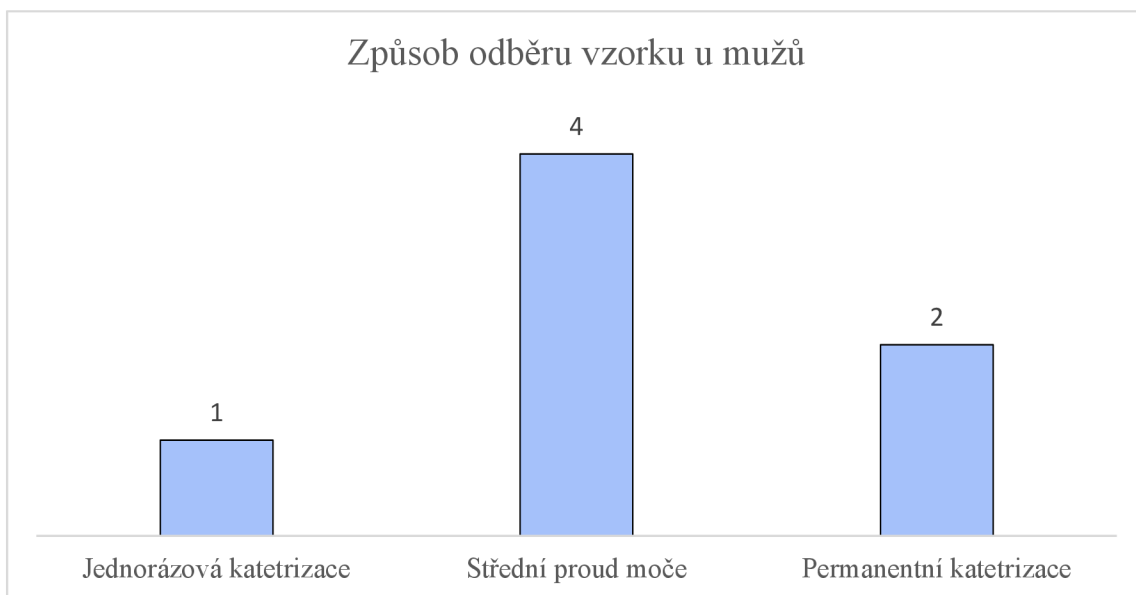
Z celkového počtu 93 biologických vzorků u žen, bylo odebráno 30 vzorků klasickou cestou středního proudu moče a 63 vzorků bylo odebráno pomocí jednorázové katetrizace.



Obrázek č. 16: Způsob odběru vzorku u žen (zdroj: vlastní)

#### 6.5 Způsob odebraných vzorků moče u mužů

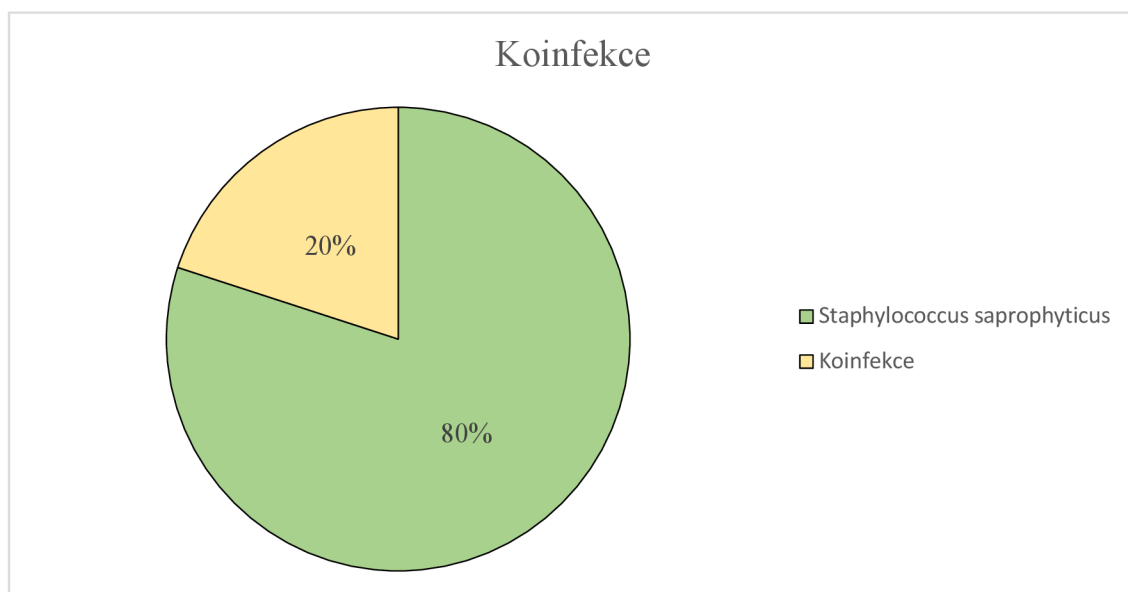
V případě mužů byly odebrány celkem 4 vzorky klasickou cestou středního proudu moče, 2 vzorky byly odebrány z permanentně zavedeného katétru a 1 vzorek byl odebrán pomocí jednorázové katetrizace.



Obrázek č. 17: Způsob odběru vzorku u mužů (zdroj: vlastní)

## 6.6 *Staphylococcus saprophyticus* a koinfekce u vzorků moče

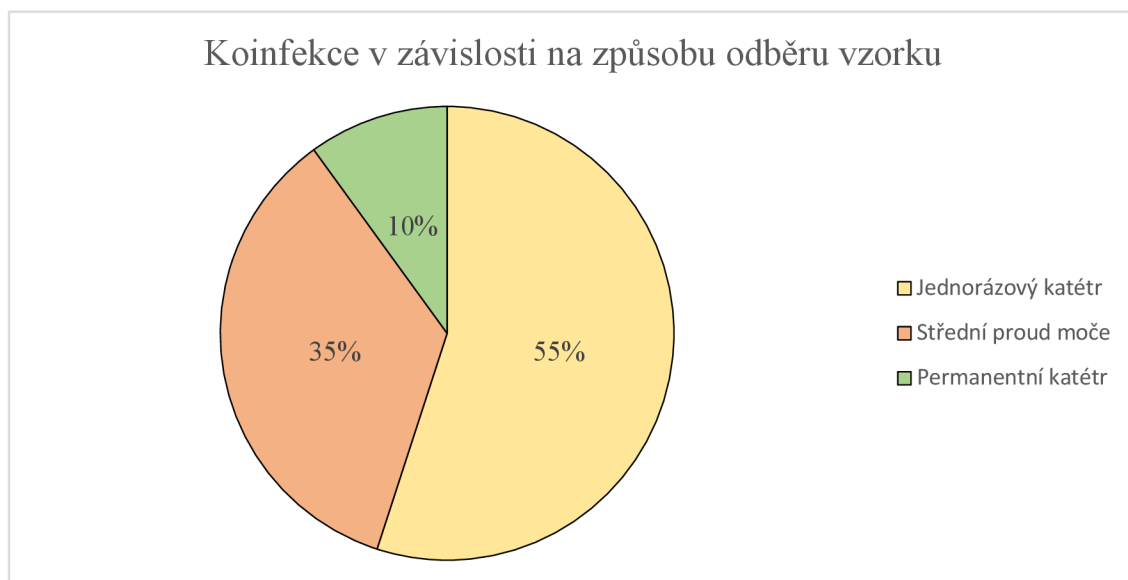
Z celkového počtu 100 vzorků byla prokázána koinfekce ve 20 případech.



Obrázek č. 18: Koinfekce (zdroj: vlastní)

## 6.7 Koinfekce v závislosti na způsobu odběru vzorku moče

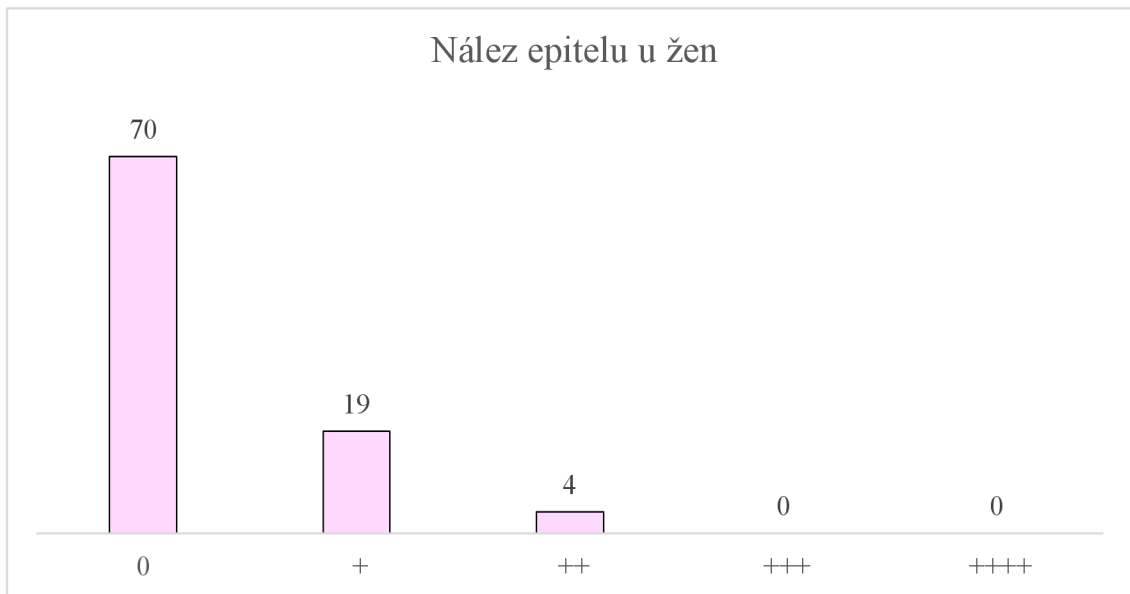
Koinfekce byla prokázána celkem v 55 % vzorků moče odebraných jednorázovou katetrizací, 35 % tvořily vzorky odebrané klasickou cestou středního proudu moče a zbylá procenta pocházela ze vzorků odebraných z permanentně zavedeného katétru.



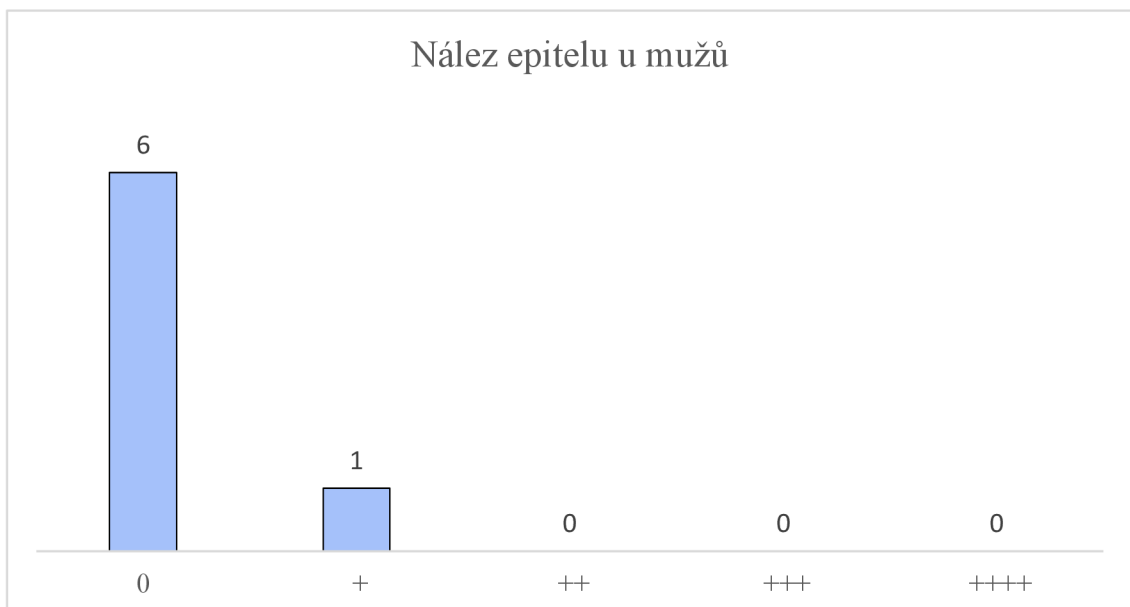
Obrázek č. 19: Koinfekce v závislosti na způsobu odběru vzorku (zdroj: vlastní)

### 6.8 Nález epitelu pod mikroskopem u žen a mužů

Následující 2 obrázky s grafy znázorňují přítomnost epitelu v mikroskopických preparátech barvených dle Grama. Z obrázku číslo 20 vyplývá, že u žen byl v 70 případech epitel vyhodnocen na 0 křížů, v 19 případech na 1 kříž a zbytek vzorků byl hodnocen na 2 kříže. U mužů bylo vyhodnoceno celkem 6 vzorků na 0 křížů a zbylý vzorek na 1 kříž.



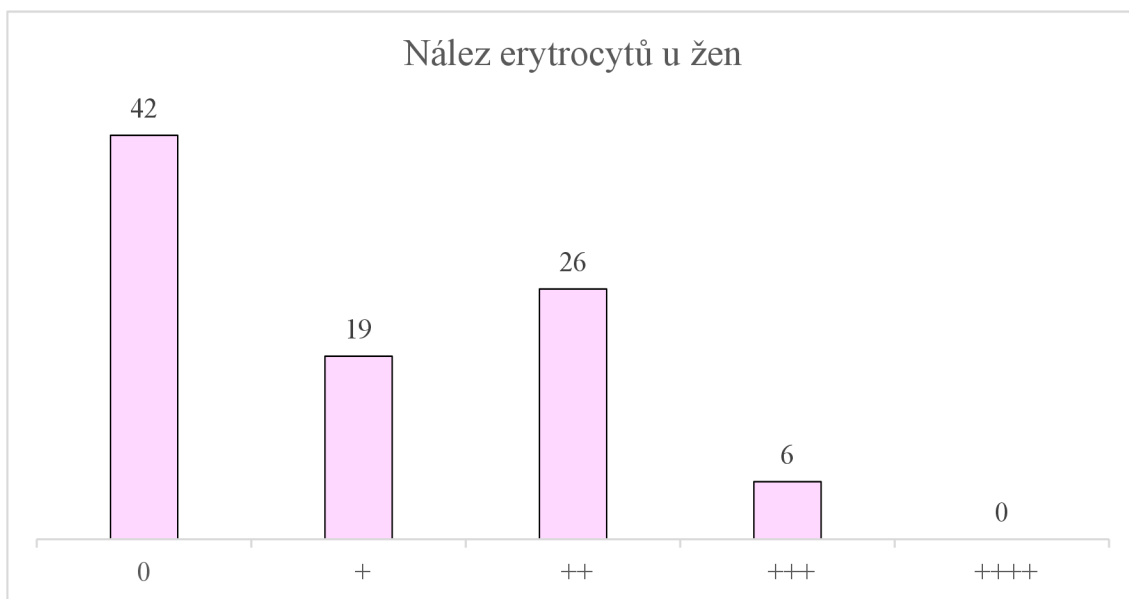
Obrázek č. 20: Nález epitelu u žen (zdroj: vlastní)



Obrázek č. 21: Nález epitelu u mužů (zdroj: vlastní)

### 6.9 Nález erytrocytů pod mikroskopem u žen a mužů

Na obrázcích č. 22 a 23 se nacházejí grafy vyhodnocující přítomnost erytrocytů u žen a mužů. Z prvního grafu vyplývá, že u většiny vzorků žen byly erytrocyty vyhodnoceny na 0 křížů. Na 1 kříž bylo vyhodnoceno 19 vzorků, na 2 kříže 26 vzorků a zbytek na 3 kříže. Naopak u mužů nebyly nalezeny žádné, nebo ojedinělé erytrocyty ve 2 případech, 2 vzorky byly vyhodnoceny na 2 kříže a poslední 3 vzorky na 2 kříže.



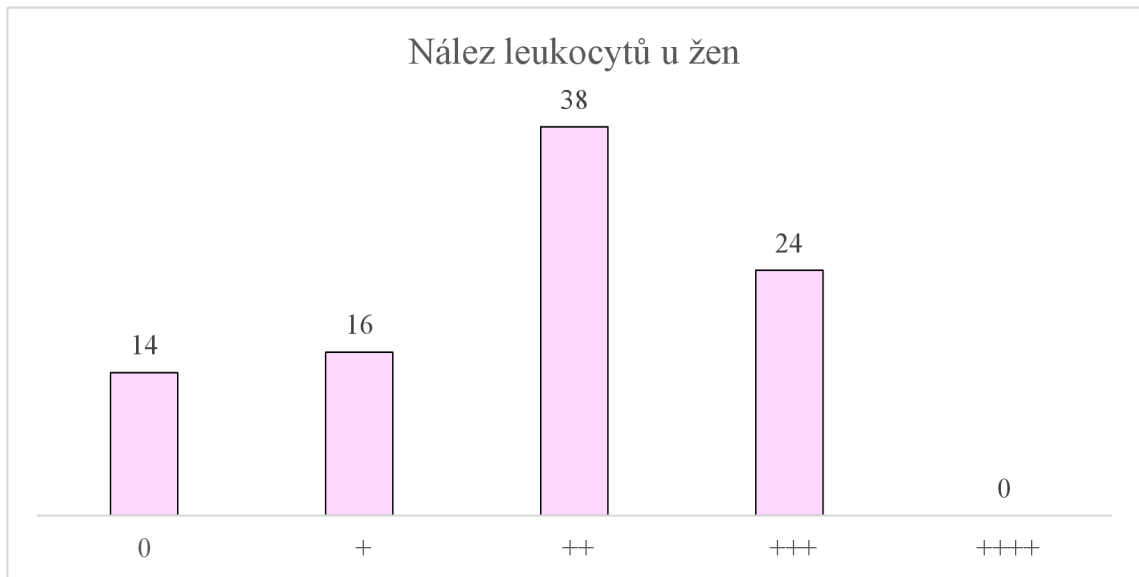
Obrázek č. 22: Nález erytrocytů u žen (zdroj: vlastní)



Obrázek č. 23: Nález erytrocytů u mužů (zdroj: vlastní)

### 6.10 Nález leukocytů pod mikroskopem u žen a mužů

Následující 2 obrázky s grafy znázorňují počet nalezených leukocytů u žen a mužů. Nejvíce vzorků žen bylo hodnoceno na 2 kříže, 14 vzorků na 0 křížů, 16 vzorků na 1 kříž a velká část, která byla zastoupena 24 vzorky, byla hodnocena na 3 kříže. U mužů byly hodnoceny na 3 kříže 3 vzorky, na 2 kříže 1 vzorek, na 1 kříž 1 vzorek. Ve zbylých 2 vzorcích nebyly nalezeny žádné leukocyty, nebo ojedinelé.



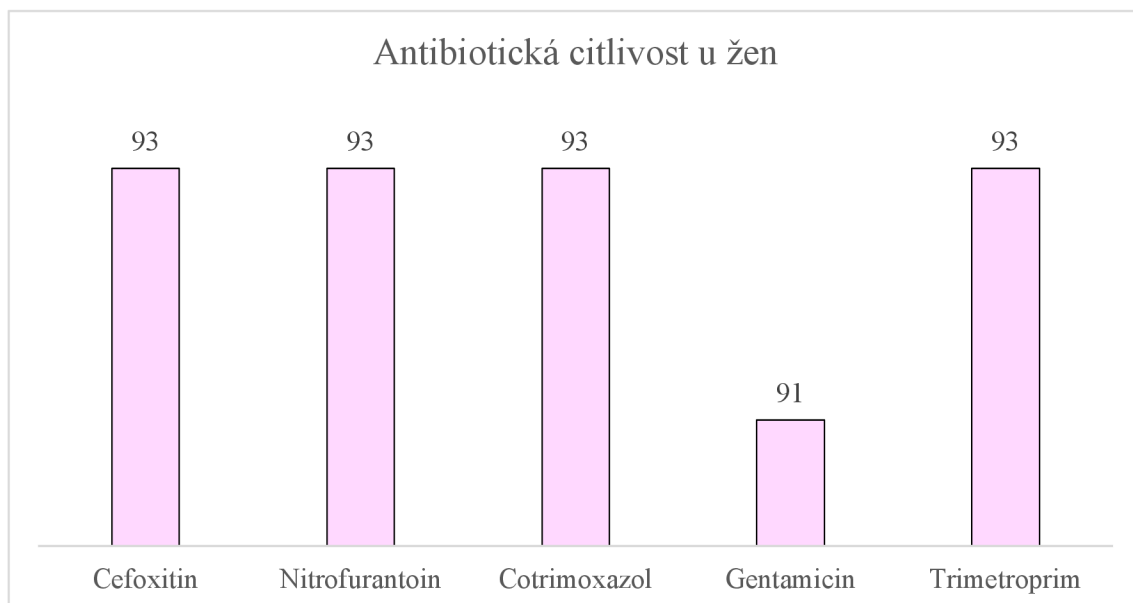
Obrázek č. 24: Nález leukocytů u žen (zdroj: vlastní)



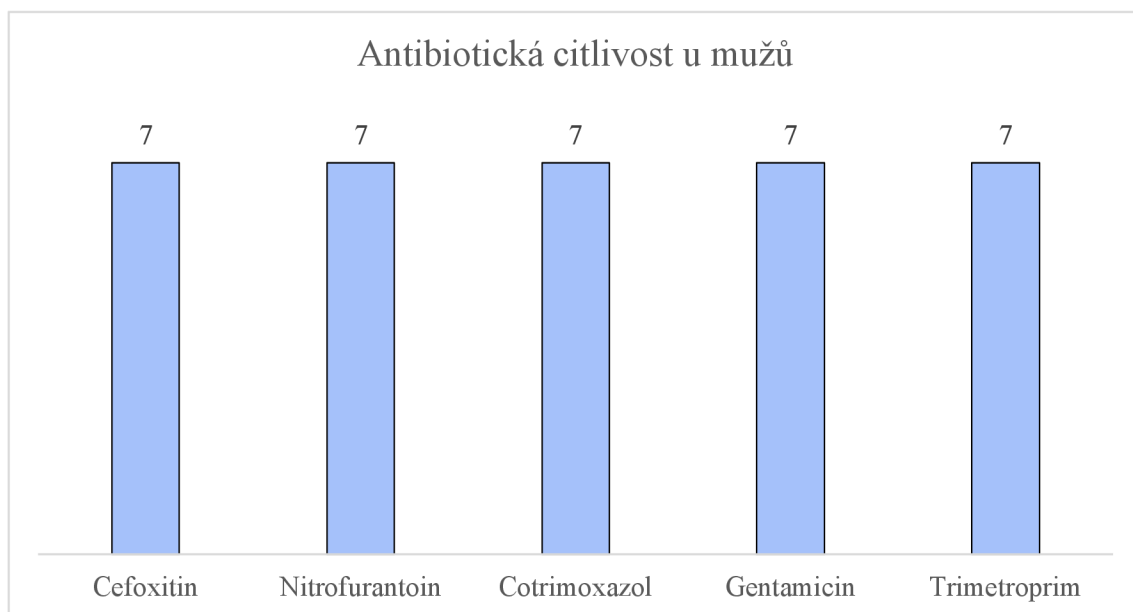
Obrázek č. 25: Nález leukocytů u mužů (zdroj: vlastní)

### 6.11 Citlivost *Staphylococcus saprophyticus* k antibiotikům u žen a mužů

V následujících 2 obrázcích s grafy byla vyhodnocena citlivost bakterie *Staphylococcus saprophyticus* k 5 různým antibiotikům jak u žen, tak u mužů. Z grafu na obrázku číslo 24 vyplývá, že jediné 2 vzorky vykazovaly rezistenci na antibiotikum gentamicin a ostatních 91 detekovaných bakterií bylo citlivých na všechny antibiotika. V případě mužů byla testována citlivost u 7 vzorků moče a všechny vykazovaly citlivost na veškerá použitá antibiotika.



Obrázek č. 26: Antibiotická citlivost u žen (zdroj: vlastní)



Obrázek č. 27: Antibiotická citlivost u mužů (zdroj: vlastní)



## 7 Diskuse

V bakalářské práci se vyhodnocovalo 100 vzorků moči pozitivních na bakterii *Staphylococcus saprophyticus* z roku 2021 a zjišťovala se věková distribuce pacientů. Zpracování vzorků probíhalo na Oddělení lékařské mikrobiologie v laboratoři Nemocnice České Budějovice, a.s. Podklady pro bakalářskou práci byly získány z databáze nemocničního systému.

Ze 100 vzorků z roku 2021, u kterých byla detekována bakterie *Staphylococcus saprophyticus*, tvořilo 93 % žen a 7 % mužů. Věková distribuce žen byla taková, že největší zastoupení bylo v rozmezí 16–25 let, které tvořilo celkem 42 vzorků žen. Další četnou skupinou byly ženy v rozmezí 26–35 let, která byla zastoupena celkem 22 ženami a dále rozmezí 36–45 let zastoupené 15 ženami. S růstem věku žen počet izolovaných bakterií postupně klesal. Ve věkové skupině 6–15 let byl pozitivní pouze jeden vzorek.

Dle studie, kterou provedl Wallmark et al. (1978), se naprostá většina infekcí močových cest vyskytuje u mladých sexuálně aktivních žen. Izolovali celkem 173 vzorků s bakterií *Staphylococcus saprophyticus* z celkového počtu 787 vzorků a došli k závěru, že nejvyšší míra infekce touto bakterií byla prokázána u žen ve věkovém rozmezí 16–26 let (42,3 %). Toto tvrzení potvrdil i výzkum prováděný Gupta et al. (1999), kteří na základě výzkumu tvrdí, že bakterie *Staphylococcus saprophyticus* je druhým nejčastějším vyvolavatelem akutní cystitidy, která je izolována především u mladých sexuálně aktivních žen. Další prováděný výzkum byl v západní Austrálii, kde Schneider a Riley (1996) shromažďovali 12 měsíců vzorky moči pozitivních na bakterii *Staphylococcus saprophyticus*. Opět potvrdili tvrzení, že tato bakterie je druhým nejčastějším vyvolavatelem infekce močových cest hned po bakterií *Escherichia coli* a to především u žen ve věkovém rozmezí 13–40 let.

Je všeobecně známo, že muži trpí na infekce močových cest méně často než ženy. Tato skutečnost je mimo jiné dána také tím, že muži mají mnohem delší močovou trubici, díky čemuž se bakterie nemohou tak snadno dostat do močového měchýře. Důkazem tohoto tvrzení je i to, že muži tvořili z celkového počtu pozitivních vzorků pouhých 7 %. Žádná věková skupiny nebyla nijak výrazně zastoupena a na rozdíl od žen ve věkovém rozmezí 16–25 let nebyl detekován žádný pozitivní vzorek. Studium detekované bakterie *Staphylococcus saprophyticus* u mužů se zabýval Bergman et al. (1989), kteří během jednoho roku izolovali celkem 17 vzorků s touto bakterií z celkového počtu 71 vzorků.

Studovali pacienty s podezřením na chronickou bakteriální prostatitidu a došli k závěru, že průměrný věk mužů pozitivních na bakterii *Staphylococcus saprophyticus* je 36,9 let.

Z celkového počtu sledovaných vzorků moče byla potvrzena koinfekce u 20 % případů. Mezi detekované bakterie patřila často bakterie *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus agalactie*, *Klebsiella pneumoniae* a ojediněle *Staphylococcus aureus*. Z celkového počtu vzorků s koinfekcí bylo 65 % vzorků odebráno ze zavedeného katétru, což by mohla být jedna z hlavních příčin vzniku kontaminace vzorku.

Všech 100 vzorků bylo barveno dle Grama a následně sledováno pod mikroskopem. Mezi sledované parametry patřila přítomnost epitelu, která byla ve většině případů hodnocena na 0 křížů. Tato skutečnost by mohla vypovídat o správně provedeném odběru středního proudu moče. Protože pacient není často dostatečně informován o správném odběru moče, dochází k tomu, že namísto středního proudu moče je zaslán na kultivaci vzorek první porce moče, ve které se následně nachází velké množství odloučeného epitelu z oblasti uretry.

Nález erytrocytů byl u žen ve většině případů hodnocen na 0 křížů, 19 vzorků na 1 kříž, 26 vzorků na 2 kříže a 1 vzorek na 3 kříže. Množství erytrocytů často vypovídá o míře poškození epitelu močových cest. Uvedené výsledky tedy svědčí spíše o malé agresivitě bakterie *Staphylococcus saprophyticus*.

Dalším sledovaným parametrem byl nález leukocytů, kdy největší počet vzorků žen byl hodnocen na 2 kříže a u mužů na 3 kříže. Leukocyturie bývá častá při infekci močových cest a nález leukocytů v močovém sedimentu bývá tedy běžný.

Posledním tématem výzkumné části bylo stanovení citlivosti detekovaných bakterií *Staphylococcus saprophyticus* k antibiotikům. Stanovila se citlivost celkem k 5 antimikrobním látkám, a to k cefoxitinu, nitrofurantoinu, cotrimoxazolu, gentamicinu a trimetoprimu. Všechny izolované bakterie od mužů byly citlivé ke všem testovaným antibiotikům. U žen tvořily výjimku 2 vzorky, které vykazovaly rezistentenci ke gentamicinu. Citlivost bakterie *Staphylococcus saprophyticus* sledoval také Hashemzadeh et al. (2021) v Ahvazu v Íránu. Sledovali celkem 43 izolátů této bakterie, kdy na cefoxitin vykazovalo rezistentenci 25 %, na cotrimoxazol 9 %, na gentamicin 37 %, na trimetoprim 9 % a na jediný nitrofurantoin vykazovaly citlivost všechny bakterie.

## 8 Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo seznámit čtenáře s infekcemi močových cest způsobených bakterií *Staphylococcus saprophyticus*. V teoretické části jsem se nejdříve zaměřila na obecné informace o infekci močových cest, zabývala jsem se jejím rozdělením, etiologií a následně její klasifikací. Dále jsem se věnovala rodu *Staphylococcus* a následně jsem přešla na konkrétního zástupce tohoto rodu, a to na bakterii *Staphylococcus saprophyticus*.

V praktické části jsem popisovala postup zpracování moče, kterým se řídí na Oddělení lékařské mikrobiologie v Nemocnici České Budějovice, a.s. Zpracovala jsem celkem 100 biologických vzorků moče. Součástí praktické části bylo semikvantitativní a kvantitativní zpracování vzorku moče, následná identifikace původce onemocnění a stanovení citlivosti k antibiotikům.

V metodické části jsem zpracovala a následně statisticky vyhodnotila celkem 100 pozitivních vzorků moče z roku 2021 na bakterii *Staphylococcus saprophyticus*. Podle statisticky vyhodnocených výsledků jsem došla k závěru, že bakterie *Staphylococcus saprophyticus* je nejčastěji detekována u žen ve věkovém rozmezí 16–25 let. Moji stanovenou hypotézu se tak podařilo úspěšně potvrdit.

Z celkového počtu vzorků byla ve 20 % prokázána koinfekce. Dle způsobu odběru biologického materiálu jsem zjistila, že většina těchto vzorků byla odebrána ze zavedeného katétru. Tento fakt by mohl dle mého názoru vést k závěru, že ne všechny vzorky byly správně asepticky odebrány, čímž došlo ke kontaminaci moče.

Posledním sledovaným parametrem byla citlivost detekovaných bakterií *Staphylococcus saprophyticus* k pěti druhům antibiotikům. Dle statistických výsledků bylo zřejmé, že všechny bakterie až na dva případy ze 100, vykazovaly citlivost k veškerým testovaným antibiotikům. Zbylé 2 případy byly rezistentní k antibiotiku gentamicin. Dle těchto informací lze usoudit, že citlivost bakterie *Staphylococcus saprophyticus* k antibiotikům je v České republice vynikající.

V závěru práce bych chtěla konstatovat, že by člověk neměl symptomatické příznaky infekce močových cest podceňovat a měl by neodkladně vyhledat lékařskou péči. Protože bakterie *Staphylococcus saprophyticus* je nejčastěji detekována u mladých sexuálně aktivních žen, měl by se brát zřetel na používání ochranných pomůcek při pohlavním styku a také na pravidelné dodržování důkladné hygieny intimních partií. Velmi důležitá

je také správná léčba infekce močových cest. Proto je racionální, aby lékař předepisoval pouze antibiotika užšího spektra a předešel tak vzniku rezistence.

## 9 Literatura

1. ALAO, F.O., SMITH, S.I., OMONIGBEHIN, E.A., ADELEYE, I.A., 2020. Prevalence of virulence genes in *Staphylococcus saprophyticus* isolated from women with urinary tract infections in Lagos State. *Scientific African* [online]. 10 [cit. 2022-11-19]. DOI: 10.1016/j.sciaf.2020.e00626. ISSN 24682276.
2. BALEJOVÁ, M., ŠŮS, D., *Laboratorní příručka* [online]. 2021 [cit. 2023-2-9]. Dostupné z:  
[https://www.nemcb.cz/upload/files/laboratore/lkmb/NCB\\_LKMB\\_SME\\_12\\_001\\_H\\_Laboratorni\\_prirucka\\_LKMB.pdf](https://www.nemcb.cz/upload/files/laboratore/lkmb/NCB_LKMB_SME_12_001_H_Laboratorni_prirucka_LKMB.pdf)
3. BARTONÍČKOVÁ, K., 2000. *Uroinfekce*. Praha: Galén. Folia practica. ISBN 80-726-2027-4.
4. BASHI, S.A.Q., 1988. The urethral syndrome. *International Urology and Nephrology* [online]. 20(4), 367-374 [cit. 2022-11-6]. DOI: 10.1007/BF02549569. ISSN 0301-1623.
5. BÉBROVÁ, E., *Infekce močových cest – mikrobiologická diagnostika* [online]. Praha, 2022 [cit. 2023-3-15].
6. BEDNÁŘ, M., 1996. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha: Marvil. ISBN 80-238-0297-6.
7. BELYAYEVA, M., JEONG., J.M., *Acute Pyelonephritis* [online]. Sep 18, 2022 [cit. 2022-11-7]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519537/>
8. BENEŠ, J., 2009. *Infekční lékařství*. Praha: Galén. ISBN 978-80-7262-644-1.
9. BERGMAN, B., WEDRÉN, H., HOLM, S.E., 1989. *Staphylococcus saprophyticus* in males with symptoms of chronic prostatitis. *Urology* [online].

34(5), 241-245 [cit. 2023-4-2]. DOI: 10.1016/0090-4295(89)90316-6. ISSN 00904295.

10. COKER, T.I.M.O.T.H.Y.J., DIERFELDT, D.A.N.I.E.L.M., Am Fam Physician: Acute Bacterial Prostatitis: Diagnosis and Management[online]. Jan 15, 2016, 114-120[cit.2022-11-6].

Dostupné z: <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2016/0115/p114.html>

11. DAVIS, N.G., SILBERMAN, M., Bacterial Acute Prostatitis [online]. July 19, 2022[cit.2022-11-6].

Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459257/>

12. EHLERS, S., MERRILL, S.A., Staphylococcus Saprophyticus [online]. [cit. 2022-11-6]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482367/>

13. FOSTER, T., Staphylococcus [online]. 1966 [cit. 2022-11-7]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8448/>

14. GÖTZ, F., BANNERMAN, T., SCHLEIFER, K.-H., 2006. The Genera Staphylococcus and Micrococcus. The Prokaryotes [online]. New York, NY: Springer US, 2006, 5-75 [cit. 2022-11-6]. DOI: 10.1007/0-387-30744-3\_1. ISBN 978-0-387-25494-4.

15. GUPTA, K., HOOTON, T.M., WOBBE, C.L., STAMM, W.E., The prevalence of antimicrobial resistance among uropathogens causing acute uncomplicated cystitis in young women. International Journal of Antimicrobial Agents [online]. 11(3-4), 305-308 [cit. 2023-4-2]. DOI: 10.1016/S0924-8579(99)00035-7. ISSN 09248579.

16. HASHEMZADEH, M., DEZFULI, A.A.Z., NASHIBI, R., JAHANGIRIMEHR, F., AKBARIAN, Z.A., 2021. Study of biofilm formation, structure and antibiotic resistance in *Staphylococcus saprophyticus* strains causing urinary tract infection in women in Ahvaz, Iran. *New Microbes and New Infections* [online]. 39(5), 241-245 [cit. 2023-4-2]. DOI: 10.1016/j.nmni.2020.100831. ISSN 20522975.
17. HAVLÍK, J., 1998. *Infekční nemoci: příručka pro praktické lékaře*. Praha: Galén. Folia practica. ISBN 80-858-2490-6.
18. HILTY, M.M. et al., 2012. Urinary tract infections caused by coagulase-positive staphylococci: epidemiology, clinical features, and treatment. *Clinical Microbiology Reviews*. *Clinical Microbiology Reviews*. 398-416.
19. HOOTON, T.M., GUPTA, K., Acute simple cystitis in women [online]. Mar 15, 2021 [cit. 2022-11-6]. Dostupné z: <https://www.medilib.ir/uptodate/show/8063>
20. CHEUNG, G.Y.C., BAE, J.S., OTTO, M., 2021. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence* [online]. 12(1), 547-569 [cit. 2022-11-6]. DOI: 10.1080/21505594.2021.1878688. ISSN 2150-5594.
21. JEŽEK, P. et al., 2016. *Staphylococcus saprophyticus* isolated from uncomplicated urinary tract infections in primary health care in the Czech Republic. *Biomed Research International* [online]. [cit. 2023-3-11]. DOI: doi: 10.1155/2016/1714295
22. JINDRÁK, V., HEDLOVÁ, D., URBÁŠKOVÁ, P., 2014. *Antibiotická politika a prevence infekcí v nemocnici*. Praha: Mladá fronta. Aeskulap. ISBN 978-80-204-2815-8.
23. JULÁK, J., 2006. *Úvod do lékařské bakteriologie*. Praha: Karolinum. ISBN 80-246-1270-4.

24. KHORAMIAN, B., JABALAMELI, F., NIASARI-NASLAJI, A., TAHERIKALANI, M., EMANEINI, M., 2015. Comparison of virulence factors and biofilm formation among *Staphylococcus aureus* strains isolated from human and bovine infections. *Microbial Pathogenesis* [online]. 88, 73-77 [cit. 2022-11-19]. DOI: 10.1016/j.micpath.2015.08.007. ISSN 08824010.
25. KOLÁŘOVÁ, L., [2020]. *Obecná a klinická mikrobiologie*. Praha: Galén. ISBN 978-80-7492-477-4.
26. KOURI, T.T. et al., 2000. Towards European urinalysis guidelines. *Clinica Chimica Acta* [online]. 297(1-2) [cit. 2022-12-4]. DOI: 10.1016/S0009-8981(00)00256-4. ISSN 00098981.
27. LEE, A.S. et al., 2018. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nature Reviews Disease Primers* [online]. 4(1) [cit. 2022-11-6]. DOI: 10.1038/nrdp.2018.33. ISSN 2056-676X.
28. LIPSKY, B. A., BYREN, I., HOEY, C. T., 2010. Treatment of Bacterial Prostatitis. *Clinical Infectious Diseases* [online]. 50(12), 1641-1652 [cit. 2022-11-6]. DOI: 10.1086/652861. ISSN 1058-4838.
29. LOOSOVÁ, J., MALINA, P., MALINKOVÁ, M., VÁLEK, T., VORLÍČKOVÁ, H., Pracovní postup preanalytické fáze laboratorního vyšetření krve [online]. 2018, 12 [cit. 2022-11-11].  
Dostupné z: <http://pouzp.cz/wp-content/uploads/2018/08/Pracovn%C3%AD-postup-preanalytick%C3%A9-f%C3%A1ze-laboratorn%C3%ADho-vy%C5%A1et%C5%A5en%C3%AD-krve.pdf>
30. LUDWIG, M., 2008. Diagnosis and therapy of acute prostatitis, epididymitis and orchitis. *Andrologia* [online]. 40(2), 76-80 [cit. 2022-11-6]. DOI: 10.1111/j.1439-0272.2007.00823.x. ISSN 0303-4569.
31. MAŠATA, J., JEDLIČKOVÁ, A., c2004. *Infekce v gynekologii a porodnictví a základy jejich antiinfekční léčby*. Praha: Maxdorf. ISBN 80-734-5038-0.



32. MEHRAJ, J. et al., 2016. Epidemiology of Staphylococcus aureus Nasal Carriage Patterns in the Community. How to Overcome the Antibiotic Crisis [online]. Cham: Springer International Publishing, 2016-7-2, 55-87 [cit. 2022-11-6]. Current Topics in Microbiology and Immunology. DOI: 10.1007/82\_2016\_497. ISBN 978-3-319-49282-7.
33. MURRAY, P.R., 2007. Manual of clinical microbiology. 9.th ed. Washington D.C.: ASM Press. ISBN 1-55581-371-2.
34. PEUTHERER, J.F., SLACK, R.C.B., GREENWOOD, D., 1999. Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie. Vyd. 1., čes. Praha: Grada. ISBN 80-716-9365-0.
35. PORŠOVÁ, M., Provádění, možnosti a interpretace mikrobiologických vyšetření: Mikrobiologické vyšetření moči [online]. 2017, 7 [cit. 2022-11-11]. Dostupné z: [http://www.klaudianovanemocnice.cz/assets/File.ashx?id\\_org=427004&id\\_dokumenty=1666](http://www.klaudianovanemocnice.cz/assets/File.ashx?id_org=427004&id_dokumenty=1666)
36. POTUŽNÍK, V., 1984. Vybrané kapitoly z lékařské mikrobiologie: Základy klinické mikrobiologie 1. část. Praha, 77 s.
37. RAZ, R., COLODNER, R., KUNIN, C.M., 2005. Who Are You--Staphylococcus saprophyticus?. Clinical Infectious Diseases [online]. 40(6), 896-898 [cit. 2022-11-6]. DOI: 10.1086/428353. ISSN 1058-4838.
38. SCHARFEN, J., 2013. Diferenciální diagnostika v klinické mikrobiologii. Praha: Nucleus HK. Mikrobiologie. ISBN 978-80-87009-32-1.

39. SCHNEIDER, P.F., RILEY, T.V., 1996. Staphylococcus saprophyticus urinary tract infections: epidemiological data from Western Australia. *European Journal of Epidemiology* [online]. 12(1), 51-54 [cit. 2023-4-2]. DOI: 10.1007/BF00144428. ISSN 0392-2990.
40. TAYLOR, S.N., 2015. Epididymitis: Table 1. *Clinical Infectious Diseases* [online]. 61(suppl 8), S770-S773 [cit. 2022-11-6]. DOI: 10.1093/cid/civ812. ISSN 1058-4838.
41. VESTERGAARD, M., NØHR-MELDGAARD, K., INGMER, H., 2018. Multiple pathways towards reduced membrane potential and concomitant reduction in aminoglycoside susceptibility in Staphylococcus aureus. *International Journal of Antimicrobial Agents* [online]. 51(1), 132-135 [cit. 2022-11-6]. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2017.08.024. ISSN 09248579.
42. VIDEČNIK ZORMAN, J., MATIČIČ, M., JEVERICA, S., SMRKOLJ, T., 2015. Diagnosis and treatment of bacterial prostatitis. *Acta Dermatovenerologica Alpina Pannonica et Adriatica* [online]. 24(2) [cit. 2022-11-6]. DOI: 10.15570/actaapa.2015.8. ISSN 1318-4458.
43. VOTAVA, M., 2003. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun. ISBN 80-902-8966-5.
44. VOTAVA, M., 2005. *Lékařská mikrobiologie obecná. 2. přeprac. vyd.* Brno: Neptun. ISBN 80-868-5000-5.
45. VOTAVA, M., c2010. *Lékařská mikrobiologie – vyšetřovací metody*. Brno: Neptun. ISBN 978-80-86850-04-8.

46. PAILHORIÈS, H. et al., 2017. Staphylococcus saprophyticus: Which beta-lactam?. International Journal of Infectious Diseases [online]. 65, 63-66 [cit. 2023-3-12]. DOI: 10.1016/j.ijid.2017.10.001. ISSN 12019712.
47. PORŠOVÁ, M., Provádění, možnosti a interpretace mikrobiologických vyšetření: Mikrobiologické vyšetření moči [online]. 2017, 7 [cit. 2022-11-11]. Dostupné z: [http://www.klaudianovanemocnice.cz/assets/File.ashx?id\\_org=427004&id\\_dokumenty=1666](http://www.klaudianovanemocnice.cz/assets/File.ashx?id_org=427004&id_dokumenty=1666)
48. WALLMARK, G., ARREMARK, I., TELANDER, B., 1978. Staphylococcus saprophyticus: A Frequent Cause of Acute Urinary Tract Infection among Female Outpatients. Journal of Infectious Diseases [online]. 138(6), 791-797 [cit. 2023-4-2]. DOI: 10.1093/infdis/138.6.791. ISSN 0022-1899.

## 10 Seznam obrázků a tabulek

Obrázek číslo 1: Poloautomatický systém HB&L UROQATRO, Zdroj: vlastní.....	30
Obrázek číslo 2: Příprava skleněných lahvíček, Zdroj: vlastní.....	31
Obrázek číslo 3: Příprava sedimentu na barvení dle Grama, Zdroj: vlastní.....	32
Obrázek číslo 4: Barvicí automat značky Polystainer, Zdroj: vlastní.....	33
Obrázek číslo 5: Sediment moče pod mikroskopem barvený dle Grama, Zdroj: vlastní.....	34
Obrázek číslo 6: Porovnání narostlých kolonií na CSB půdě, Zdroj: vlastní.....	34
Obrázek číslo 7: Kvantitativní stanovení STSA metodou tří ředění, Zdroj: vlastní.....	37
Obrázek číslo 8: Narostlé kolonie STSA na systému Uricult, Zdroj: vlastní.....	36
Obrázek číslo 9: Pozitivní reakce katalázového testu, Zdroj: vlastní.....	37
Obrázek číslo 10: Latexová aglutinace, Zdroj: vlastní.....	38
Obrázek číslo 11: Porovnání narostlých kolonií na půdě UriSelect <sup>TM</sup> 4, Zdroj: vlastní.....	39
Obrázek číslo 12: Antibiogram STSA, Zdroj: vlastní.....	41
Obrázek číslo 13: Pozitivita STSA vzhledem k pohlaví, Zdroj: vlastní.....	42
Obrázek číslo 14: Detekce STSA dle věku žen, Zdroj: vlastní.....	43
Obrázek číslo 15: Detekce STSA dle věku mužů, Zdroj: vlastní.....	43
Obrázek číslo 16: Způsob odběru vzorku u žen, Zdroj: vlastní.....	44
Obrázek číslo 17: Způsob odběru vzorku u mužů, Zdroj: vlastní.....	44
Obrázek číslo 18: Koinfekce, Zdroj: vlastní.....	45
Obrázek číslo 19: Koinfekce v závislosti na odběru vzorku, Zdroj: vlastní.....	45
Obrázek číslo 20: Nález epitelu u žen, Zdroj: vlastní.....	46
Obrázek číslo 21: Nález epitelu u mužů, Zdroj: vlastní.....	46
Obrázek číslo 22: Nález erytrocytů u žen, Zdroj: vlastní.....	47
Obrázek číslo 23: Nález erytrocytů u mužů, Zdroj: vlastní.....	47
Obrázek číslo 24: Nález leukocytů u žen, Zdroj: vlastní.....	48
Obrázek číslo 25: Nález leukocytů u mužů, Zdroj: vlastní.....	48
Obrázek číslo 26: Antibiotická citlivost u žen, Zdroj: vlastní.....	49
Obrázek číslo 27: Antibiotická citlivost u mužů, Zdroj: vlastní.....	49
Tabulka číslo 1: Vyhodnocení počtu bakterií.....	33
Tabulka číslo 2: Vyhodnocení narostlých kolonií.....	35

## 11 Přílohy

*Příloha 1: Přehled klinicky relevantních původců infekcí močových cest*

patogeny	Výskyt			
	častý (nad 10 %)	běžný (1–10 %)	vzácný (0,1–1 %)	výjimečný (pod 0,1 %)
<b>primární</b>	Escherichia coli	St. saprophyticus		salmonely leptosiry mykobakteria
<b>sekundární</b>		Klebsiella spp. Proteus mirabilis Enterobacter spp. Ps. aeruginosa enterokoky	Citrobacter spp. M. morganii P. vulgaris Serratia spp. St. aureus	Cor. urealyticum Haemophilus spp. pneumokoky
<b>nepravděpodobné</b>		Str. agalactiae kandidy KN stafylokoky	Acinetobacter spp. Pseudomonas spp. S. maltophilia	
<b>normální flóra</b>		$\alpha$ streptokoky G. vaginalis laktobacily	Bifidobacterium spp. difteroidní tyčinky	

*Zdroj: Jindrák at al., 2014*

Příloha 2: Koncentrace bakterií v moči považované za signifikantní

<b>KONCENTRACE BAKTERIÍ V MOČI POVAŽOVANÉ ZA SIGNIFIKANTNÍ</b>				
<b>Typ vzorku Přítomnost příznaků močové infekce</b>	<b>Minimální objem inokula</b>	<b>Typ mikroba</b>	<b>Počet druhů</b>	<b>Signifikantní počet bakterií (CFU/ml)</b>
<u>Střední proud moče</u>				
Ano	1 µl	I II	1–2 1	10 <sup>3</sup> 10 <sup>4</sup> (ženy) 10 <sup>3</sup> (muži)
Ne		III	2 1	10 <sup>5</sup> 10 <sup>5</sup>
Ano (mimořádné případy)	10 µl	I–III I	1 1–3	10 <sup>5</sup> 10 <sup>2</sup>
<u>Suprapubická aspirace</u>				
Ano i ne	100 µl	I–IV	1–2	10 <sup>1</sup>
<u>Cystoskopie, katetrizace močovodu</u>				
Ano i ne	10 µl	I–III	1–2	10 <sup>2</sup>
<u>Moč z trvale zavedeného katetru</u>				
Ano	1 µl	I–III	1–3	10 <sup>4</sup>
Ne	1 µl	I–III	1	10 <sup>5</sup>
<u>Vysvětlivky</u>				
Ano	=	pacient má příznaky		
Ne	=	pacient bez příznaků, příp. laboratoř o nich nemá údaje		
I	=	primární patogeny močového traktu ( <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus saprophyticus</i> , <i>Salmonella</i> spp.)		
II	=	sekundární patogeny (ostatní běžné enterobakterie, enterokoky, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Corynebacterium urealyticum</i> , koagula pozitivní stafylokoky (KPS, ale jen kmeny štěpící ureu nebo izoláty z permanentních katetrů), hemofily, pneumokoky		
III	=	druhy pochybné patogenity v močovém traktu ( <i>Streptococcus agalactiae</i> , kvasinky, ostatní KPS, acinetobaktery, ostatní pseudomonády a řada dalších)		
IV	=	příslušníci uretrální nebo genitální flóry ( $\alpha$ -streptokoky, gardnerelly, laktobacily, bifidobakteria, difteroidy aj.)		
Obvykle se určuje a na citlivost vyšetřuje jediný druh (vyroste-li alespoň 2–5 podobně vyhlížejících kolonií), výjimečně dva. Vyrůstou-li tři a více, vydá se výsledek typu „smíšená flóra“ a nález se považuje za kontaminaci.				

Zdroj: Votava, 2005

## 12 Seznam použitých zkratek

CBS – krevní agar

CRP – C – reaktivní protein

CT – výpočetní tomografie

DC půda – deoxycholát – citrátový agar

ESCO – *Escherichia coli*

i. m. – intramuskulární podání

IMC – infekce močových cest

KA – krevní agar

LIS – laboratorní informační systém

MC půda – MacConkey agar

MCV – MacConkey agar s krystalovou violetí

MIC – minimální inhibiční koncentrace

p. o. – perorální podání

STAU – *Staphylococcus aureus*

STD – sexuálně přenosné nemoci

STEP – *Staphylococcus epidermis*

STSA – *Staphylococcus saprophyticus*