



Zdravotně  
sociální fakulta  
Faculty of Health  
and Social Studies

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

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích  
Zdravotně sociální fakulta  
Katedra klinických a preklinických oborů

Bakalářská práce

# Urogenitální infekce

Vypracovala: Zdeňka Jůzová  
Vedoucí práce: MUDr. Miloš Velemínský, Ph.D.

České Budějovice 2016

## Abstrakt

Bakalářská práce se zabývá infekcemi postihujícími močopohlavní trakt žen ve fertilním věku.

Teoretická část je zaměřena na všechny původce urogenitálních infekcí způsobující komplikace ženám samotným, mezi něž patří celkový dyskomfort, jak už ze stránky sexuální, problémy při močení nebo pozánětlivé komplikace jako například neplodnost, ale také pojednává o nežádoucích účincích infekcí na průběh těhotenství a novorozence.

Praktická část byla provedena za odborné asistence zaměstnanců v laboratoři synlab czech s.r.o. v Českých Budějovicích. Zde jsem se naučila zpracovávat odebraný biologický materiál (vaginální/cervikální výtěr, moč), druhy používaných agarů ke kultivaci (UriSelect, KA, Sabouraudův agar, GAR a MHA), jednotlivé metody identifikace k potvrzení mikroba, orientačně předurčeného lékařem mikrobiologem dle makroskopických znaků a preparátu barveného dle Grama, patří mezi ně Clumping faktor, latexová aglutinace, PYR – test, CAMP – test, IBK a přístrojová identifikace pomocí MALDI – TOF. Dále jsem provedla kultivační stanovení na přítomnost *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* a testování přítomnosti antigenu *Chlamydia trachomatis* pomocí metody ELISA. Na závěr jsem provedla stanovení citlivosti na antimikrobiální látky pomocí diskového difúzního testu.

Zpracováním výsledků jsem zjistila, že u 148 žen za období 1. – 18. 9. 2015 byly ve vzorcích nejčastěji nalézány bakteriální agens, konkrétně *Staphylococcus species* koaguláza negativní, *E. coli* a *Streptococcus agalactiae*. Ve vybraném souboru žen jsem v žádném vzorku nenalezla *Chlamydie trachomatis*, pouze v 1 vzorku jsem vyizolovala *Mycoplasma hominis* a *Ureaplasma urealyticum* byla u 5 žen.

**Klíčová slova:** urogenitální infekce, *Staphylococcus species* koaguláza negativní, vaginální výtěr, *Chlamydia trachomatis*, *Mollicutes*

## Abstract

Bachelor thesis deals with infections affecting the urogenital tract of women in fertile age.

The theoretical part is focused on all producers of urogenital infections causing complications for women, which include the total discomfort as in sex, difficulty in urination or postinflammatory complications for example infertility, but also discusses the adverse effects of infections on pregnancies and newborns.

The practical part was conducted with professional assistance of staff in the microbiology laboratory synlab czech s.r.o in České Budějovice. There I learned to process sampled biological material (vaginal / cervical swab, urine), types of used agars to cultivation (UriSelect, KA, Sabouraud agar, GAR and MHA), various identification methods to confirm the microbe predetermined Dr. microbiologist according to macroscopic features and preparation with Gram-staining, among them Clumping factor, latex agglutination, PYR - test CAMP - test, IBK and instrument identification by MALDI - TOF. Then I made the cultivation for the presence of *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* and testing for the presence of antigen *Chlamydia trachomatis* by ELISA. And finally I performed the antimicrobial susceptibility testing with disk diffusion method.

From processing of the results I found that among 148 women over a period of 1 to 18 September 2015 were most often found in samples of bacterial agens, particularly coagulase - negative *Staphylococci*, *E. coli* and *Streptococcus agalactiae*. I didn't find of *Chlamydia trachomatis* in any sample the selected group of women, *Mycoplasma hominis* was isolated only from one sample and *Ureaplasma urealyticum* was among five women.

**Key words:** urogenital infections, coagulase - negative *Staphylococci*, vaginal swab, *Chlamydia trachomatis*, *Mollicutes*

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

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

V Českých Budějovicích dne 3. května 2016

.....

(Zdeňka Jůzová)

## **Poděkování**

Děkuji panu MUDr. Milošovi Velemínskému, Ph.D. za vedení mé bakalářské práce. A především děkuji laborantkám z oddělení mikrobiologie synlab czech s.r.o., České Budějovice, za jejich ochotu, trpělivost a cenné rady.

# Obsah

Seznam použitých zkratk	9
1 Úvod	10
2 Teoretická část	11
2.1 Vztah mezi makroorganismem a mikroblem	11
2.2 Urogenitální infekce u žen	11
2.3 <i>Staphylococcus aureus</i> (STAU)	12
2.4 Koaguláza negativní stafylokoky (STKN)	13
2.5 <i>Streptococcus pyogenes</i> (STPY)	13
2.6 <i>Streptococcus agalactiae</i> (STAG)	14
2.7 Viridující streptokoky (VIST)	14
2.8 Rod <i>Enterococcus</i> (ENSP) a <i>Enterococcus faecalis</i> (ENFA)	14
2.9 <i>Escherichia coli</i> (ESCO)	15
2.10 <i>Enterobacter cloacae</i> (ENCL)	16
2.11 <i>Proteus mirabilis</i> (PRMI)	16
2.12 Gramnegativní nefermentující tyčky	16
2.13 Rod <i>Lactobacillus</i> (LACT)	17
2.14 <i>Gardnerella vaginalis</i> (GAVA)	17
2.15 <i>Chlamydia trachomatis</i>	17
2.16 Třída <i>Mollicutes</i>	18
2.17 Mykózy	19
2.18 Anatomie urogenitálního traktu ženy	20
2.18.1 Poševní sliznice	21
2.19 Infekce močových cest (IMC)	21
2.19.1 Uretritida	22
2.19.2 Cystitida	22
2.19.3 Pyelonefritida	23
2.20 Záněty reprodukčního systému	23
2.20.1 Vulvitida	24
2.20.2 Vaginitida	24

2.20.3	Cervicitida.....	24
2.20.4	Zánět dělohy .....	25
2.20.5	Adnexitida.....	25
2.20.6	Záněty malé pánve .....	26
2.20.7	Pánevní zánětlivá nemoc (PID) .....	26
2.21	Vybraná onemocnění.....	27
2.21.1	Bakteriální vaginóza (BV).....	27
2.21.2	Aerobní vaginitida (AV).....	27
2.21.3	Vulvovaginální kandidóza .....	28
2.21.4	Laktobacilóza.....	28
3	Cíle práce a výzkumné otázky.....	29
4	Metodika výzkumu .....	30
4.1	Zkoumaný soubor .....	30
4.2	Odběr vzorku .....	30
4.2.1	Moč .....	30
4.2.2	Stěry a výtěry .....	31
4.2.3	Transport a laboratorní preanalytická fáze .....	32
4.3	Zpracování vzorků.....	33
4.3.1	Kultivační vyšetření moči pomocí metody UriSelect™ 4 Medium .....	33
4.3.2	Vyšetření výtěrů kultivačně a pomocí barvení dle Grama .....	34
4.3.2.1	Krevní agar.....	35
4.3.2.2	Sabouraudův glukózový agar.....	35
4.3.2.3	Gardnerella agar (GAR).....	36
4.3.2.4	Barvení dle Grama .....	36
4.3.3	Mycoplasmy a Ureaplasmy (Sada Mycoplasma IST 2) .....	37
4.3.4	Chlamydie (sada IDEIA PCE Chlamydia) .....	39
4.4	Identifikace mikroorganismů.....	40
4.4.1	Test produkce vázané plazmakoagulázy a latexová aglutinace.....	41
4.4.2	PYR – test .....	42

4.4.3	CAMP – test.....	42
4.4.4	Izolační biochemický klín (Švejcarova plotna, IBK) .....	43
4.4.5	Hmotnostní spektrofotometrie .....	44
4.5	Diskový difúzní test – stanovení citlivosti mikrobů.....	46
4.6	Interpretace výsledků.....	48
5	Výsledky .....	49
5.1	Celkový mikrobiologický nález za období 1. – 18. září 2015.....	49
5.2	Prevalence pozitivního mikrobiálního nálezu za období 1. 9 - 18. 9. 2015 .....	50
5.3	Druhové zastoupení ve vzorcích obsahujících bakterie vyjma třídy <i>Mollicutes</i> .....	50
5.4	Vyšetření třídy <i>Mollicutes</i> z vybrané populace žen.....	51
5.5	Vyšetření na <i>Chlamydia trachomatis</i> z výtěru .....	52
5.6	Vyšetření moče kultivačně a na stanovení chlamydií .....	52
5.7	Rozdělení pozitivního mikrobiálního nálezu dle věkových skupin .....	53
5.8	Přehled o hojnosti výskytu urogenitálních infekcí .....	53
6	Diskuze .....	55
7	Závěr .....	58
8	Použitá literatura.....	59
9	Přílohy.....	64



## Seznam použitých zkratk

AC.sp. – <i>Acinetobacter species</i>	OFL – ofloxacin
ATB – antibiotika	PID – pánevní zánětlivá nemoc
AV – aerobní vaginóza	pPROM – předčasný odtok plodové vody před ukončeným 37. týdnem těhotenství
AZI – azitromycin	PRI – Pristinamycin
BETC – beta hemolytický streptokok skupiny C	PRMI – <i>Proteus mirabilis</i>
BV – bakteriální vaginóza	PROM – předčasný odtok plodové vody po ukončeném 37. týdnu těhotenství
CFU – kolonie tvořící jednotku	STAG – <i>Streptococcus agalactiae</i>
CIP – Ciprofloxacin	STAU – <i>Staphylococcus aureus</i>
CLA – Klaritromycin	STKN – <i>Staphylococcus species</i> koaguláza negativní
DOT – Doxycyklin	STPY – <i>Streptococcus pyogenes</i>
ENCL – <i>Enterobacter cloacae</i>	TET – Tetracyklin
ENFA – <i>Enterococcus faecalis</i>	Uu – <i>Ureaplasma urealyticum</i>
ENSP – <i>Enterococcus species</i>	VIST – viridující streptokoky
ESCO – <i>Escherichia coli</i>	
GAR – agar pro kultivaci <i>Gardnerell</i>	
GAVA – <i>Gardnerella vaginalis</i>	
IBK – izolační biochemický klín	
IMC – infekce močových cest	
JOS – josamycin	
KA – krevní agar	
KVAS – kvasinky	
LACT – <i>Lactobacillus</i>	
Mh – <i>Mycoplasma hominis</i>	
MHA – Mueller-Hintonův agar	

# 1 Úvod

Urogenitální infekce u žen jsou velmi časté, mají různou etiologii a také nepříznivý vliv na sexuální život. V této bakalářské práci se zabývám aktuální problematikou urogenitálních infekcí u žen, etiologii infekcí, nejčastějším agens, metodami detekce a způsoby léčby.

Objektem výzkumu jsou ženy ve věku 18 – 45 let, u kterých se z vaginálních a cervikálních výtěrů zjišťuje frekvence bakteriálních, mykotických a mollicuteálních agens vyvolávající urogenitální infekce.

Cílem práce je tedy provést mikrobiologické vyšetření vaginálních stěrů eventuelně stěrů z hrdla děložního a v případě požadavku gynekologa na mikrobiologické vyšetření moče i tuto metodu zahrnout do výzkumu. Tímto výzkumem bych dále chtěla získat přehled o hojnosti výskytu urogenitálních infekcí ve vybrané populaci žen.

## **2 Teoretická část**

### **2.1 Vztah mezi makroorganismem a mikrobem**

Kolonizace je stav osídlení nepatogenními mikroorganismy na površích těla. V případě, že se na povrchu těla usídí patogen nevyvolávající příznaky choroby, jedná se o nosičství. Patogenita je schopnost mikroorganismu vyvolat onemocnění. Striktně patogenní pro člověka jsou třeba původci pohlavně přenosných nemocí. Infekce neboli nákaza je vztah mezi makroorganismem a mikroorganismem schopným vyvolat onemocnění. Bakterie, viry, kvasinky či plísňe a prvoci jsou etiologickým agens neboli původci infekce. Infekce je stav, kdy agens pronikne do organismu a zde se množí nebo se usídí na sliznicích, případně kůži, na něž má negativní dopad (Votava et al., 2010).

### **2.2 Urogenitální infekce u žen**

Jedná se o patologické procesy u žen současně postihující močové cesty a reprodukční systém.

Původci urogenitálních infekcí jsou především oportunní patogeny nebo mikroorganismy kolonizující močovou trubici a pochvu. V případě onemocnění dolních močových cest často ve vaginálních výtěrech nalézáme kvasinky, anaeroby, grampozitivní i gramnegativní mikroby. Rezervoárem uroinfekcí u žen je vagina a to především její bezpříznakové občasné bakteriální osídlení. Je tedy nutné v první řadě vyšetřit výtěr z pochvy, aby se zachytil původce onemocnění, protože v moči se vyvolávající patogen často nezachytí. Vznik infekcí postihující urogenitální trakt žen je způsoben např. nadměrnou hygienou zevního genitálu, kdy dochází k mechanickému poškození sliznic, změně pH a narušení přirozené mikroflóry. Také při pohlavním styku dochází k mechanickému přesunu bakteriálního osídlení zevního genitálu a vagíny do

uretry, k tomu může přispět i používání kondomů a spermicidních látek, kondom mechanicky dráždí sliznice a spermicidy snižují pH vagíny, obojí pak může mít negativní dopad na odolnost sliznice. Dalším faktorem jsou sexuálně přenosná onemocnění, kdy dochází k přímému přenosu onemocnění ze sexuálního partnera, to má za následek vznik zánětu vagíny a močové trubice (Bartoníčková, 2000).

Velkou roli v tom také hraje promiskuita. I časté orogenitální a anální sexuální praktiky riziko infekcí navyšují (Weiss et al., 2010).

Uroinfekce a infekce genitálu jsou nežádoucí v graviditě, protože jsou spojovány s předčasnými porody, nízkou porodní váhou a zvýšenou mortalitou novorozenců (Teplan et al., 2004; Velemínský et al., 2005). Při infikování plodu dochází ke zvýšené produkci Interleukinu 6, který má sklon k předčasnému vypuzení plodu z nepříznivého prostředí. Po porodu pak tito novorozenci často trpí sepsí s poruchou dýchání a neonatální hypoxií nebo novorozeneckou meningitidou, tato onemocnění se klinickým obrazem velmi podobají, ovšem liší se škálou vyvolavatelů a klinickým průběhem. Nejčastějšími původci těhotenských komplikací jsou *Streptococcus agalactiae*, poté *E. coli*, *Staphylococcus aureus* a koaguláza negativní *Staphylococcus species* (Velemínský et al., 2005).

### **2.3 *Staphylococcus aureus* (STAU)**

Patří mezi pyogenní koky, tedy takové, které vyvolávají hnisání. Je to G+ kok, tvořící shluky. Jméno získal podle žlutavé barvy kolonií, které tvoří. Tvoří ale i bílé a šedavé kolonie. *Staphylococcus aureus* vytváří celou skupinu hemolyzinů, z nichž nejhlavnější je  $\alpha$  - hemolyzin, který narušuje cytoplasmatickou membránu eukaryot. Pv - leukocidin narušuje celistvost membrány leukocytů, v membráně vznikají drobné póry a tím dojde k usmrcení leukocytu. Dalším toxinem je exfoliatin, který způsobuje epidermolýzu. Toxin TSST1 zapříčiňuje syndrom toxického šoku, projevující se horečkou, symptomy šoku a poškozením orgánů. Tento stafylokok má až deset typů

enterotoxinů. Každý kmen nemusí obsahovat stejné zastoupení toxinů, je to závislé na přítomnosti daných genů (Schindler, 2010).

Očkuje se mimo jiné na krevní agar s 10 % chloridem sodným. Mezi základní určení STAU patří koagulace krevní plazmy. Největší potíží jsou kmeny tzv. MRSA, neboli methicilin/oxacilin rezistentní druhy *Staphylococca aurea* (Votava et al., 2010).

## **2.4 Koaguláza negativní stafylokoky (STKN)**

Je skupina grampozitivních koků, mikroskopicky stejných jako STAU. Osidlují kůži a sliznice. Způsobují infekce urogenitálního traktu. STKN je celá řada, patří mezi ně např. *Staphylococcus epidermis*, *S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus* a jiné. Často bývají citlivé na novobiocin (Votava et al., 2010). K odlišení od STAU se využívá metoda stanovení Clumping faktoru, tedy schopnosti koagulace plasmy, u STKN nedochází ke koagulaci plasmy jako je tomu u *S. aurea*.

## **2.5 *Streptococcus pyogenes* (STPY)**

Je striktní patogen, který je řazen do skupiny A. Tvoří  $\beta$  - hemolýzu okolo malých až slizovitých kolonií. Produkuje protein T a na svém povrchu vlastní bílkovinu M, činitele virulence (Schindler, 2010). *Streptococcus pyogenes* je grampozitivní, fakultativně anaerobní kok, tvořící dvojice či řetízky. Nejúčinnější léčbou na streptokokové infekce je penicilin. Diagnostika se provádí latexovou aglutinací a PYR testem (Votava et al., 2010).

## **2.6 *Streptococcus agalactiae* (STAG)**

Řazen do skupiny B, často přítomen na sliznici poševní, většinou bez příznaků infekce. Nebezpečí hrozí v těhotenství, kdy novorozencům může přivodit meningitidu či sepsi (Schindler, 2010). Proto se kolem 36. týdne těhotenství provádí screening a v případě nálezu se provede antibiotická léčba.

Tvoří neúplnou  $\beta$ -hemolýzu. K diagnostice se používá CAMP - test, při kterém pomocí STAU dojde k zesílení hemolýzy STAG a vytvoří se motýlový efekt. K léčbě infekcí jím vyvolaným se volí většinou ampicilin (Votava et al., 2010).

## **2.7 Viridující streptokoky (VIST)**

Jsou na sliznicích horních dýchacích cest (Schindler, 2010). Označují se též jako ústní streptokoky a většinou se řadí mezi druhy alfa - hemolytické. Způsobují zubní kazy. VIST jsou relativně odolné vůči spoustě antibiotikům a jejich rezistence stále stoupá (Votava et al., 2010).

## **2.8 Rod *Enterococcus* (ENSP) a *Enterococcus faecalis* (ENFA)**

*E. faecalis* je G+ kok tvořící řetízky. V buněčné stěně obsahuje C - polysacharid, čímž se řadí do skupiny D. Fyziologicky se vyskytuje v tlustém střevě. Citlivost k antibiotikům je snižena. Rezistence k vankomycinu u ENFA má v ČR prozatím malý výskyt (Schindler, 2010). *Enterococcus faecalis* bývá původcem vaginitid (Kramář, 2007).

K léčbě urogenitálních infekcí způsobených enterokoky se používá ampicilin, nitrofurantoin nebo co - amoxicilin. Pro diagnostiku se používá Slanetz - Bartleyho půda, jedná se o speciální diagnostickou půdu s  $\text{NaN}_3$ , tetrazolinem a glukózou. Enterokoky na této půdě vytváří růžové kolonie. Pro dourčení *E. faecalis* poslouží biochemické testy, ENFA tvoří pyruvát a nekvasí arabinózu (Votava et al., 2010).

## 2.9 *Escherichia coli* (ESCO)

Přirozeně se vyskytuje v tlustém střevě, do močopohlavního traktu se spíše dostanou špatnou hygienou. *E. coli* se přes hráz dostává od konečníku do uretry nebo dále do pochvy, kde vyvolá infekci (Schindler, 2010). Jako komenzál ve střevní mikroflóře je velmi prospěšná, zamezuje průniku patogenů do sliznice střeva nebo se účastní produkce vitamínů, hlavně vitamínu K. Jedná se tedy o podmíněně patogenní mikroorganismus, takže se může negativně projevit i ve střevě. Nejčastějším původcem uroinfekcí je právě *E. coli*. Mezi závažné infekce, které způsobuje, je novorozenecká meningitida. *E. coli* vytváří indol, neštěpí močovinu a při štěpení glukózy tvoří plyn. Štěpí i další sacharidy. Po vyočkování na Endův agar je ESCO typická tvořením tzv. prasátek, kdy kolonie mají kovový lesk, takže již takto ji lze často diagnostikovat. Pro potvrzení poslouží aglutinace na sklíčku, kdy se prokazuje antigenní struktura *E. coli* (Votava et al., 2010).

K léčbě se volí např. ampicilin, gentamicin nebo chloramfenikol. ESCO je rezistentní k benzylpenicilinu. Rezistenci k dalším antibiotikům může získat s příjmem plazmidu s geny rezistence, poté se setkáváme i s druhy, které jsou rezistentní k běžně voleným antibiotikům pro léčbu infekcí jimi způsobenými (Greenwood et al., 1999).

## **2.10 *Enterobacter cloacae* (ENCL)**

Obsažen v tlustém střevě. U starých lidí a novorozenců způsobuje sepsi nebo meningitidu (Schindler, 2010). Jedná se o gramnegativní, nesporulující, pohyblivé tyčky. Složitě se odlišuje od klebsiel, ty jsou ale nepohyblivé (Votava et al., 2010).

## **2.11 *Proteus mirabilis* (PRMI)**

Je typický charakteristickým plazivým růstem a nepříjemným zápachem. Je častým původcem infekcí močového traktu (Schindler, 2010). *Proteus mirabilis* produkuje H<sub>2</sub>S a štěpí ureu (Kramář, 2007). Je součástí mikroflóry střev. Plazivé kmeny se prokazují snadno, neplazivé kmeny většinou prozradí zápach a rezistence na kolistin (Votava et al., 2010).

## **2.12 Gramnegativní nefermentující tyčky**

Je skupina bakterií podobného tvaru a velikosti, mají bičík, který jim slouží k pohybu. Patří mezi aeroby, nejsou tedy schopné růst bez přístupu vzduchu (Schindler, 2010). Mezi Gramnegativní nefermentující tyčky patří rody, jako např. *Bordetella*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* a *Moraxella*, spojuje je společná vlastnost neschopnosti kvasit glukózu. Biochemické určení se provádí za pomoci dvou zkumavek s polotuhou půdou obsahující indikátor pH, obě zkumavky se naočkují a do jedné se kápne sterilní minerální olej. Takto dojde k rozlišení aerobního (oxidace) a anaerobního (fermentace) štěpení glukózy, protože kvašením se okyselí obsah zkumavky a to vede ke změně barvy indikátoru (Votava et al., 2010).



## 2.13 Rod *Lactobacillus* (LACT)

LACT jsou grampozitivní, mikroaerofilní ztlustělé tyčky, které mnohdy tvoří řetízky. Fyziologicky osidlují ústní dutinu, trávicí trakt a pochvu. Jsou jen výjimečně patogenní, např. byly popsány v případech novorozenecké meningitidy. Nejfrekventovaněji izolovaným druhem je *Lactobacillus acidophilus*, dříve nazývaný jako Döderleinův bacil. U žen ve fertilním věku, jsou laktobacily největší složkou poševní mikroflóry. Brání vzestupnému pronikání infekce do dělohy. Laktobacily využívají glykogen uvolněný z rozpadajícího se epitelu pochvy a dávají vzniku kyseliny mléčné, která udržuje kyselé prostředí vagíny a to brání v osidlování patogeny (Votava et al., 2010).

## 2.14 *Gardnerella vaginalis* (GAVA)

Je kapnofilní gramlabilní krátká tyčka až kokobacil. Často adhezuje na epitelie pochvy. Kultivace *Gardenell* je náročnější, inkubuje se na dvouvrstevném krevním agaru (beraní + lidské erytrocyty) za vyšší tenze CO<sub>2</sub>. Růst GAVA na této půdě je typický malými koloniemi s jemnou hemolýzou. Patogenita je prozatím nejasná, bývá nalézána i u žen bez klinických potíží. Často identifikována při diagnóze bakteriální vaginóza (BV), vždy ale pouze ve smíšené infekci (Votava et al., 2010). Nelze vyloučit, zda může vyvolávat též močové infekce. Dříve byl tento druh řazen mezi hemofily jako *Haemophilus vaginalis* (Bednář et al., 1996).

## 2.15 *Chlamydia trachomatis*

Je intracelulární nepohyblivá bakterie ve tvaru koku. energii získává pouze parazitickým způsobem života. Často je průběh onemocnění po dlouhou dobu bez

příznaků, proto člověk ani nemusí vědět, že je nakažen. U žen mohou způsobovat chlamydie až velmi závažné onemocnění všech pánevních orgánů. Laboratorní diagnostika se provádí buď kultivací ve žlutkovém vaku, buněčné kultuře nebo PCR testem. Sérologicky se může dokazovat několika imunofluorescenčními metodami (Schindler, 2010). Případně se detekuje antigenní struktura *Chlamydia trachomatis*. Množí se jedinečným růstovým cyklem. Pomocí elementárního tělíška se dostává do buňky, kde se transformuje na retikulární tělíško, během 24 hodin se binárně dělí a poté se přeměňují zpět na elementární tělíško. Dochází k prasknutí nakažené buňky a rozsevu infekčních částic, které infikují další buňky. Při chlamydiových infekcích dochází k destrukci buněk sliznice a k následnému zjizvení, které vede k neplodnosti u vazivových srůstů ve vnitřním genitálu. Nejčastějšími bakteriálními sexuálně přenosnými nemocemi jsou urogenitální infekce způsobené právě *Chlamydií trachomatis*. Incidence je 50 miliónů nových infekcí ročně, nejčastěji u lidí do 30 let (Votava et al., 2010).

Prokázalo se, že u 15 - 40 % žen s infekcí způsobenou *Chlamydií trachomatis* postihující děložní čípek se vyvine PID, z nichž cca 17 % trpí chronickou pánevní bolestí, u 9 % dojde k mimoděložnímu těhotenství a 17 % jich je neplodných (Hájek et al., 2004).

Léčba probíhá více možnými způsoby např. podáním jedné perorální dávky 1g azitromycinu nebo dvakrát denně po dobu 7 dní se podává perorálně 100 mg dávka doxycyklinu (Horák et al., 2013).

## **2.16 Třída *Mollicutes***

Řadí se mezi nejmenší bakterie. Nemají buněčnou stěnu, což je příčinou rozmanitosti tvarů mykoplazmat. Dělíme je na dva rody *Mycoplasma* a *Ureaplasma*. V močopohlavním ústrojí se vyskytují 2 zástupci *Mycoplasma genitalium* a *Ureaplasma urealyticum* (Schindler, 2010). Jsou častěji nalézány u žen s diagnostikovanou

bakteriální vaginózou než u zdravých žen. Proto je jim připisována spoluúčast na vzniku BV společně s jinými bakteriemi. U několika případů byla *Mycoplasma hominis* pravděpodobným původcem PID. Neplodnost ale očividně nezpůsobuje, protože byl proveden výzkum na primátech, kdy k poškození vejcovodů nedošlo. Ze samovolně potracených plodů, byla izolována *Ureaplasma urealyticum*, bylo tedy prokázáno, že mohou vyvolat potrat, neví se však, zda ureaplazma pronikne do plodu a ten usmrtí anebo dojde k úmrtí plodu a poté do něj prostoupí mikroorganismy. Existuje domněnka, že mykoplazmy a především ureaplazmy zapříčiňují nízkou porodní váhu nově narozených dětí. U novorozenců s velmi nízkou porodní hmotností někdy způsobují respirační infekci, která vede k dvakrát většímu riziku úmrtí než je tomu u dětí bez mykoplazmové infekce (Greenwood et al., 1999). Má se za to, že *Ureaplasma urealyticum* je původcem infekčních močových kamenů, protože vytváří ureázu, která zapříčiňuje krystalizaci moče.

Mykoplazmata jsou odolná vůči glykopeptidům a  $\beta$ -laktamovým antibiotikům. Léčba se provádí například tetracyklinem, erytromycinem, azitromycinem, fluorochinolony a dalšími (Schindler, 2010).

Na kultivaci je třeba speciálně obohacených půd kvasničným extraktem, koňským sérem, penicilinem pro inhibici ostatních bakterií, fenolovou červení, v případě *Ureaplasmy* je navíc urea a u *Mycoplasmy* arginin. Patogenita není příliš jasná, objevuje se totiž i u žen bez klinických příznaků (Votava et al., 2010).

## 2.17 Mykózy

Jsou onemocnění způsobená nejčastěji kvasinkami a také plísněmi, které se uplatňují především jako původci sekundární infekce. Mykózy vznikají aktivací oportunních infekcí nebo přemnožením komenzálů při oslabení imunity (Jedličková, 2006).

Kvasinky rodu *Candida* se v menší míře mohou vyskytovat jako komenzální flóra sliznic a kůže zdravého jedince, při zvýšení jejich virulence pak ale invadují do tkáně a to se projeví propuknutím onemocnění (Ryšková, 2001). V mykologických laboratořích jsou nejčastěji zachycenými druhy *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis* (Jedličková, 2006). Přímo *Candida albicans* je nejčastěji izolována z klinického materiálu, protože patří k nejvíce patogenním druhům mezi kandidami. Na Sabouradově agaru tvoří velké neprůhledné krémově zbarvené kolonie s matným povrchem o typické chlebové vůni (Votava et al., 2003).

Typizace kvasinek se však koná ve specializovaných mykologických laboratořích pouze na popud lékaře (Bartoníčková, 2000). Většinou ošetřujícímu lékaři postačí potvrzení přítomnosti kvasinek ve vzorku a citlivost.

Slizniční mykóza postihující genitál žen je *colpitis mycotica* (Kod'ousek, 2003), neboli mykotický zánět vagíny, jinak známý jako vulvovaginální kandidóza.

## **2.18 Anatomie urogenitálního traktu ženy**

Ženské pohlavní orgány se dělí na vnitřní a zevní. Vnitřní část je umístěna v malé pánvi, patří mezi ně vaječníky, vejcovody, děloha a pochva. Zevní část neboli vulva je uložena v urogenitální oblasti a skládá se z malých a velkých stydkých pysků, předsíně poševní, klitorisu, stydkého pahorku a velkých předsíňových žláz (Grim et al., 2005 a Čihák et al., 2013).

Močový trakt je složen z párových ledvin, ledvinových kalichů a pánviček, ureterů a nepárového močového měchýře a močové trubice. Uretra je dlouhá 3 - 4 cm, může být široká až 6 mm a vychází z močového měchýře (Čihák et al., 2013). Ústí močové trubice leží 2 - 3 cm od klitorisu, těsně před poševním vchodem. Stěna uretry je tvořena sliznicí, hladkou svalovinou (nerohovějící mnohvrstevný dlaždicový epitel a terminální část rohovovějící dlaždicový epitel) a vazivem. Krátká trubice je výhodná při

vyprazdňování, její nevýhodou je však větší náchylnost k vzestupným močovým infekcím (Grim et al. 2005).

### **2.18.1 Poševní sliznice**

Sliznice pochvy je složena z pěti vrstev lišících se buněk. Směrem od poševní dutiny se skládá ze tří vrstev: superficiální, přechodná a intermediální. Všechny vrstvy jsou složené z dlaždicových buněk zhruba o 10 řadách. Na nich jsou přilehlé vrstvy parabazální a bazální, tvořené dvěma řadami buněk kolumnárních, které přisedají k bazální membráně. Sliznice pochvy je závislá na menstruačním cyklu, ten výrazně ovlivňuje její vzhled. Ve sliznici se nachází systém mezibuněčných kanálů, sloužící k transportu tekutin, molekul a buněk imunitního systému (např. Langerhansovy buňky, makrofágy, eosinofily a lymfocyty).

Povrch poševní sliznice je kolonizován laktobacily. Kolonizace je ovlivněna estrogenní stimulací, která řídí vlastnosti epitelu a s ním související odlupování svrchní vrstvy do lumenu, kde se podílí za pomoci laktobacilů na tvorbě kyseliny mléčné, která udržuje kyselé prostředí a tak vytváří podmínky pro mikrobiální kolonizaci a zároveň je zpětně ovlivňována bakteriální flórou a zevními faktory (Mašata et al., 2006).

## **2.19 Infekce močových cest (IMC)**

Znakem infekce močových cest je výrazná bakteriurie ( $\geq 10^5$  bakterií/ml). IMC mohou mít jak symptomatický tak i nesymptomatický průběh. Hlavní formami jsou uretritida, cystitida a pyelonefritida. Fyziologicky jsou močové cesty sterilní, to zajišťuje pH moče, hlen, odtok moči a patrně i IgA. Ústí močové trubice je osídleno střevní a kožní mikroflórou. Tyto gramnegativní bakterie mohou způsobovat infekce, které ascendentně můžou pronikat až do ledvin. Po propuknutí infekce se v moči

vyskytují leukocyty. Nejčastějším původcem močových infekcí je *E. coli*, na druhém místě *Klebsiella pneumoniae* a na třetím *Proteus mirabilis* a *Enterococcus species*. Mezi dalšími původci se může objevit třeba i *Staphylococcus saprophyticus*, nalézáný především u mladých žen. Pro terapii močových infekcí se používají obvykle antibiotika jako např. aminopeniciliny, kotrimoxazol, ciprofloxacin aj. (Schindler, 2010).

### **2.19.1 Uretritida**

Uretritida neboli zánět močové trubice se projevuje tzv. dysurií, což je pálení a řezání při močení, případně hnisavým výpotkem (Vokurka et al., 2004).

Objevuje se často po pohlavním styku nebo při opakovaném prochladnutí. Mezi sexuálně přenosné patří uretritidy způsobené např. *Chlamydia trachomatis* nebo *Candida albicans* (Schindler, 2010).

### **2.19.2 Cystitida**

Cystitida neboli zánět močového měchýře je převážně bakteriálního původu. Mezi projevy patří polakisurie (nutkání na močení) a dysurie. Bývá častěji u žen, kvůli anatomické stavbě močové trubice (Vokurka et al., 2004).

Nejčastějším původcem je *E. coli*, poté s menším výskytem jiné gramnegativní tyčky, *Proteus mirabilis* aj.

Toto onemocnění může nastat po prochladnutí, pohlavní styku nebo při změně životosprávy (Schindler, 2010).

### 2.19.3 Pyelonefritida

Je hnisavý zánět ledvin. Projevuje se bolestí v zádech, horečkou, nevolností a obtížemi při močení (Vokurka et al., 2004).

*E. coli* je původcem převážně akutní pyelonefritidy. Subakutní a chronické onemocnění často způsobují např. *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis* a *Staphylococcus aureus*. Pyelonefritida může vést až k selhání ledvin (Schindler, 2010).

## 2.20 Záněty reprodukčního systému

Množství a druhové zastoupení mikrobiální flóry pochvy je dáno fyzikálními a chemickými vlastnostmi poševního epitelu. V průběhu menstruačního cyklu dochází k hormonálním změnám a tedy i změnám mikrobiální flóry, jak kvantitativním, tak kvalitativním. Poševní sliznice je kolonizována různými druhy bakterií. U zdravých žen můžeme najít nejen aerobní a anaerobní laktobacily, ale např. u 0 – 12 % žen se vyskytuje *Staphylococcus aureus*, u 0 – 93 % žen jsou  $\beta$  - hemolytické streptokoky, 4 – 44 % žen má poševní sliznici kolonizovanou enterokoky, 0 – 28 % žen má *E. coli*, 40 – 43 % žen má *Gardnerella vaginalis* a dokonce 15 – 72 % žen má pochvu kolonizovanou *Mycoplasma hominis* a 40 – 95 % *Ureaplasma urealyticum*. Všechny součásti mikroflóry pochvy musejí být v dynamické rovnováze, pokud dojde ke změně jednoho faktoru, dojde ke změnám ostatních součástí. Při narušení rovnováhy pak může propuknout infekce jak exogenní tak endogenní z řad komenzálů (Mašata et al., 2006).

Anatomická stavba urogenitálního traktu žen zapříčiňuje častější výskyt zánětů nežli u mužů. Je to dáno také fyziologickou funkcí, mezi niž patří pohlavní styk, menses, porod a šestinedělí. Mezi další příčiny zvyšující rizika zánětu patří potraty, interrupce a jiné intrauterinní zákroky. Záněty reprodukčního systému většinou zanechávají trvalé následky, mezi něž patří např. funkční poruchy, neplodnost a pánevní bolesti. Původci zánětů jsou převážně bakteriálního či virového původu a poté v menší

míře původu mykotického nebo parazitárního. Dále můžeme gynekologické záněty dělit podle projevů, klinického průběhu a délky trvání a nakonec lokalizace. Podle projevů je dělíme na alterativní, kdy dochází k rozpadu buněk a místo se hojí jizvou, exudativní projevující se různými druhy výpotků (např. hnisavý, serózní a fibrinózní) a poslední proliferativní je charakteristický rychle se množícími buňkami neboli hyperplazií (Mašata et al., 2004).

### **2.20.1 Vulvitida**

Jinak také jako zánět zevních rodidel, je často spojen se zánětem pochvy. Vulva díky svému umístění je často vystavena infekcím nejen z kolonizovaného okolí, ale také kvůli vlhké zapářce (Mašata et al., 2004).

### **2.20.2 Vaginitida**

Vaginitida, kolpitida nebo vaginóza je zánět pochvy způsoben především bakteriemi. Dochází k tomu při změně pH v pochvě v období menstruace, hormonálních poruchách nebo průnikem infekční agens do pochvy např. úrazem, pohlavním stykem nebo výplachy. Projevuje se pálením, pocity tlaku v podbřišku, výtokem, polakisurií a sexuálním dyskomfortem, mezi který patří např. pociťování bolesti při pohlavním styku (Vokurka et al., 2004).

### **2.20.3 Cervicitida**

Nebo také endocervicitida je zánět děložního hrdla, projevuje se bolestmi v podbřišku nebo kříži, zarudnutím cervixu a výtokem. Může přejít až v PID (Vokurka et al., 2004).



Toto onemocnění je často vyvoláno smíšenou hnisavou bakteriální flórou (Mašata et al., 2004).

#### **2.20.4 Zánět dělohy**

Nebo také endometritida, myometritida či perimetritida se nejčastěji objevuje po porodu nebo potratu (Mašata et al., 2004).

Je doprovázen výtokem, bolestmi, zvýšenou teplotou, poruchami menzes a koitálními obtížemi. Terapie se provádí dostatečnými dávkami antibiotik, aby se zamezilo nezvratnému poškození, tedy neplodnosti (Vokurka et al., 2004).

#### **2.20.5 Adnexitida**

Neboli zánět děložních přívěšků, můžeme dále rozdělit na salpingitidu (zánět vejcovodů) nebo oophoritidu (zánět vaječnicků). Jednou z možností vzniku je vzestupný průchod infekce skrz dělohu (Mašata et al., 2004). Mohou se však šířit i ze slepého střeva (Vokurka et al., 2004). Riziko salpingitidy nastává, když není léčena, přechází poté do chronické formy zánětu, to vede k ohromným srůstům, které mohou vést až k děloze, apendixu a střevním kličkám. Tento komplex se nazývá zánětlivý adnexální tumor. K srůstům dochází i u oophoritidy. Následkem obou nemocí je neplodnost, proto je velmi důležitá včasná léčba, která může těmto následkům zabránit (Mašata et al., 2004).

### **2.20.6 Záněty malé pánve**

Vznikají prostupem infekce skrz vejcovody nebo poraněné děložní hrdlo. Dochází zde k mnoha následkům jako např. vychýlení dělohy, slepení střevních kliček aj. Může při tom dojít ke vzniku zánětlivého infiltrátu, který způsobuje bolest (Mašata et al., 2004).

### **2.20.7 Pánevní zánětlivá nemoc (PID)**

Jedná se o zánět vejcovodů a vaječníků, často postihující i okolní tkáň. Je to celosvětový problém jak po zdravotní, sociální nebo ekonomické stránce, díky nežádoucím následkům jako jsou např. tubulární sterilita a mimoděložní těhotenství. Pro zamezení poškození je nutná včasná diagnostika a léčba, což není vždy jednoduché, protože počáteční stádia např. chlamydiové infekce někdy probíhají poměrně asymptomaticky (Mašata et al., 2004).

PID je většinou způsobován polymikrobiální smíšenou aerobní i anaerobní mikroflórou. Mezi příznaky patří např. lehce zvýšená teplota až horečka, bolest v podbříšku vystřelující do stehien a beder, výtok, špinění až krvácení, bolest při močení, nutkání na zvracení a bolestivý pohlavní styk. Diagnostika se provádí palpačním vyšetřením (pacientka pociťuje bolestivost v oblasti cervixu, dělohy a děložních přívěšků), ultrazvukem (pro vyloučení jiné příčiny než PID), laboratorně (průkaz leukocytózy v krevním obrazu, zvýšená sedimentace a hladina C - reaktivního proteinu, vyšetření moči a kultivační vyšetření z endocervixu) a laparoskopicky (Slezáková et al., 2011).

Při terapii se musí počítat s přítomností smíšené bakteriální infekce, proto antibiotikum volby musí být takové, aby účinkovalo na všechny patogeny přicházející v úvahu. Lék první volby bývá většinou doxycyklin nebo kombinace klindamycinu s gentamicinem případně ještě s amoxilinem (Roztočil et al., 2011).

## 2.21 Vybraná onemocnění

### 2.21.1 Bakteriální vaginóza (BV)

Je syndrom objevující se u 40 – 50 % žen, které mají výtok. BV je charakterizována vzestupem vaginálního výtoku bez klinických příznaků zánětu a přítomnosti leukocytů. Toto onemocnění je provázeno sníženým výskytem aerobních laktobacilů a naopak ve zvýšené míře jsou nalézány anaerobní laktobacily, striktně anaerobní bakterie, *Gardnerella vaginalis*, mykoplazmata a některé fakultativně anaerobní bakterie. Jedná se tedy o polymikrobiální stav, při kterém se zvyšuje pH v pochvě. Nejčastějším symptomem je zápachající výtok, svědění či pálení vulvy. Avšak tyto příznaky se u 50 % patientek vůbec nemusejí vyskytovat. Přiřazení diagnózy BV je pouze za přítomnosti klíčových buněk, což jsou epitely s nerovným okrajem na které je přilnuto velké množství bakterií, a při pozitivním KOH testu, kdy při smíchání KOH s vaginálním výtokem s BV dává rybí zápach. K terapii BV se nejčastěji používá metronidazol, v případě gravidity či nesnášenlivosti tohoto antibiotika se volí klindamycin (Mašata et al., 2004).

### 2.21.2 Aerobní vaginitida (AV)

Způsobují jí aerobní bakterie, *S. agalactiae* a *E. coli*. Na rozdíl od rybího zápachu, který se objevuje u bakteriální vaginózy, má aerobní vaginitida hnilobný zápach a poševní pH nad 4,6. AV může způsobovat předčasný odtok plodové vody. Diagnostika se provádí na základě pH, vysokého množství leukocytů a v nativním preparátu nejsou přítomné klíčové buňky. Léčba probíhá klindamycinem, buď perorálně dvakrát denně 300 mg nebo pomocí vaginálního krému (Valha, 2010).

### 2.21.3 Vulvovaginální kandidóza

Kvasinky jsou na druhém místě, co se týče vyvolávání infekcí v pochvě. Výskyt vulvovaginální kandidózy se v poslední době zvyšuje a nejsou zcela jasné všechny příčiny tohoto onemocnění. Podle odhadů 75 % žen ve fertilním věku prodělá kvasinkovou infekci a zhruba u 40 – 50 % žen se toto onemocnění zopakuje. Faktory navyšující výskyt kandidózy jsou např. antibiotická terapie, těhotenství, přiléhavé neprodyšné spodní prádlo nebo zvýšená sexuální aktivita. Z 85 – 90 % kandidové infekce jsou způsobovány kmeny *Candida albicans*, zbytek je způsobován např. *C. glabrata* nebo *C. tropicalis*. Symptomy vulvovaginální kandidózy jsou svědění, pálení, zrudnutí a otok v místě vulvy, dyskomfort při pohlavním styku, pálení a řezání při močení a poševní výtok. Typický je tzv. tvarohovitý výtok, nemusí se však objevit u všech pacientek. V posledních letech se přiklání k lokální terapii s vysokým dávkováním antimykotika a zkrácenou délkou užívání, tedy 1-3 dny. K nejčastěji používaným preparátům pro tuto léčbu se používají imidazoly jako např. klotrimazol (Mašata et al., 2004).

### 2.21.4 Laktobacilóza

Způsobují jí anaerobní laktobacily, které se liší od aerobních svou délkou. Obtíže se většinou opakují a často mají nejvyšší progresi v době před menstruací. Svými příznaky a hustým vaginálním výtokem se může zaměnit za kandidózu. Proto se nejprve musí vyloučit přítomnost kvasinek. Léčba probíhá po dobu 7 dnů, variantami buď čtyřikrát denně 500 mg ampicilinem, třikrát denně 500 mg amoxicilinem, dvakrát denně 300 mg klindamycinem nebo dvakrát denně 100 mg doxycyklinem (Valha, 2010).

### 3 Cíle práce a výzkumné otázky

Cíle bakalářské práce:

1. Provést mikrobiologické vyšetření vaginálních stěrů ev. stěrů z hrdla děložního na 100 vzorcích od žen ve věku 18 - 45 let.
2. Získat přehled o hojnosti výskytu urogenitálních infekcí u této vybrané populace žen.
3. Zjistit frekvenci bakteriálních, mykotických a molicuteálních agens, vyvolávající tyto infekce.

Do výzkumu jsem zahrnula výzkumné otázky, které se během zpracování bakalářské práce ve vybraném souboru žen pokusím zjistit.

1. Jaké je nejčastější agens způsobující urogenitální infekce?
2. Jaká je frekvence infekcí urogenitálního traktu u žen?

Nejprve zjistím frekvenci bakteriálních, mykotických a molicuteálních agens a poté určím rod popřípadě i druh nejčastěji se vyskytujících mikrobů, které zapříčiňují urogenitální infekce.

Nakonec se pokusím zjistit četnost výskytu urogenitálních infekcí u vybrané skupiny žen.

## **4 Metodika výzkumu**

V praktické části výzkumu popisují výběr zkoumaného souboru, postupy odběru vzorků, vyšetření moče a výtěrů z pochvy či cervixu, identifikaci mikrobů, stanovení citlivosti na antimikrobiální látky a interpretaci výsledků.

### **4.1 Zkoumaný soubor**

Objektem výzkumu byly ženy ve věku 18 až 45 let, tedy rok narození 1970 až 1997. Hlavním kritériem bylo provést vyšetření vaginálních eventuelně cervikálních stěrů od 100 žen a v případě požadavku lékaře i vyšetření moče.

### **4.2 Odběr vzorku**

#### **4.2.1 Moč**

Odběr moče na běžné bakteriologické vyšetření probíhá tak, že nejprve dojde k důkladnému omytí zevní části močopohlavního ústrojí vodou a mýdlem. Do sběrné sterilní nádoby se zachytí pouze střední proud moče. První a poslední porce moče se odmočí do toalety. Pro transport do laboratoře se zachycená moč přelije do jiné odběrové nádoby k tomu určené (Votava et al., 2010). Nejlépe sterilní odběrová zkumavka s červenou zátkou (Laboratorní příručka synlab czech s.r.o.). Pro lépe hodnotitelný odběr je dobré, aby pacientka před odběrem alespoň jeden a půl hodiny nemočila (Bartoníčková, 2000). Odběr musí být proveden nejlépe ráno a bezprostředně před zahájením antimikrobiální léčby (Teplan et al., 2004).

Provedení odběru moče na stanovení chlamydií je téměř totožné, liší se v tom, že se odebírá 20 ml první porce moče, kde je nejvyšší možná koncentrace k záchytu mikroba, do kontejneru na sputum.

#### 4.2.2 Stěry a výtěry

Stěry a výtěry se provádí z ústí močové trubice, pochvy či cervixu. Jedná se o odběr vatovým tampónem na dřevěné nebo plastové tyčince či drátku. Vatový tampón může být buď suchý (průkaz antigenu) nebo ponořený do transportního média. Na běžné bakteriologické vyšetření se využívá půd Amiesových nebo Stuartových. V gynekologii na vyšetření kvasinek slouží většinou souprava C. A. T.. Na chlamydie jsou potřeba speciální transportní média (Votava et al., 2010). V této laboratoři se však, jak na bakteriologické vyšetření, tak na vyšetření kvasinek, používá stejný odběrový materiál, tedy výtěrová zkumavka s Amiesovým médiem (viz Obr. č. 1).

*Obrázek č. 1: Výtěrová zkumavka s Amiesovým médiem*



Odběr z pochvy nebo cervixu se provádí pomocí poševních zrcadel, sterilním tampónem se udělá stěr z požadovaného místa a tampón se vloží do transportního média (Laboratorní příručka synlab czech s.r.o.). Poševní zrcadla zabrání kontaminaci z jiného místa odběru.

Při odběru na stanovení chlamydií je důležité, aby se odebraly sloupcovité nebo cylindrické buňky epitelu, které jsou zdrojem chlamydií. Proto při odběru z uretry se tampon zasune do močové trubice a jedním směrem se s ním otočí o 360°, pár sekund se

zde ponechá a nakonec se tampón vloží do zkumavky. To samé je i u odběru z cervixu, akorát se před odběrem otře přebytečný hlen z endocervixu a jeho okolí (příbalový leták IDEIA PCE Chlamydia).

*Obrázek č. 2: Odběrová sada IDEIA™Chlamydia – vatový tampón a zkumavka s transportním médiem*



Obdobný způsob odběru chlamydií je i odběr na mykoplazmy, které jsou těsně přilehlé ke stěnám sliznice.

#### **4.2.3 Transport a laboratorní preanalytická fáze**

V moči je nutné zamezit pomnožení mikroorganismů, proto by měl být vzorek doručen do laboratoře do dvou hodin od odběru. V případě, že tak nelze uskutečnit, musí se vzorek moče vložit do chladničky (Votava et al., 2010).

U výtěrů, pro stanovení na chlamydie, se vzorky uchovávají ve speciálním transportním médiu po dobu 7 dnů v chladu. U moči se to trochu liší, nezpracovaná moč je uskladnitelná pouze po dobu 3 dnů v chladu, dobu uchování lze prodloužit na 7 dnů tak, že se odstředí a močový sediment se rozpustí ve speciálním transportním médiu na



chlamydie (Příbalový leták IDEIA PCE Chlamydia). Tento postup se provádí v synlab czech s.r.o., jelikož je tato metoda stanovení drahá a nedělá se rutinně, počet vzorků je malý, proto se vzorky skladují a zpracovávají pouze jednou týdně.

Výtěry na bakteriologické vyšetření se mohou uchovávat při pokojové teplotě, zpracovány pak musejí být do 15 hodin nebo při 4 – 8 °C do 48 hodin (Laboratorní příručka synlab czech s.r.o.).

Vzorek se žádankou (formulář žádanky viz Příloha č. 1) je dopraven do laboratoře, zde jsem zkontrolovala údaje na žadance, zda se shodují s údaji na zkumavce, aby nedošlo k případné záměně vzorku. Tomuto vzorku byl poté systémem přidělen kód a v nejkratší možné době jsem vzorek zpracovala.

## **4.3 Zpracování vzorků**

### **4.3.1 Kultivační vyšetření moči pomocí metody UriSelect™ 4 Medium**

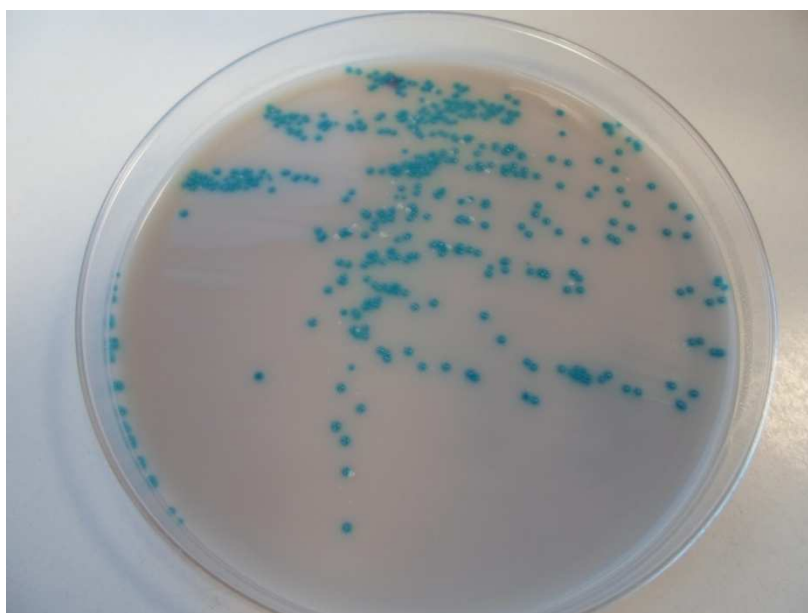
Půda UriSelect patří mezi chromogenní půdy, kdy pomocí barvy lze orientačně určit, o jaký mikroorganismus by se mohlo jednat.

UriSelect jsem inokulovala 10 µl kalibrovanou kličkou namočenou do vzorku moče, kdy jsem provedla jednu čáru uprostřed agaru a svisle proti této čáře jsem vynesla klikatou čáru na celou plochu Petriho misky. Plotny jsem inkubovala při 37 °C po dobu 24 hodin.

Hodnotí se kvantita podle škály ( $10^3$  –  $10^7$  bakterií/ ml moče) znázorněné v příručce a poté se identifikují kolonie pomocí barvy (barva udává biochemickou aktivitu kolonií) a sledováním pod mikroskopem nebo biochemickými testy (Brožura UriSelect™ 4 Medium). Biochemické testy se nahrazují identifikací pomocí přístroje MALDI – TOF, tento postup se též využívá v případě nejasností.

Na kultivačním vyšetření (viz Obr. č. 3) jsem z moče u pacientky vyizolovala *Enterococcus species* (tyrkysově modré zbarvení kolonií), který byl následně potvrzen mikrobiologem pod mikroskopem.

Obrázek č. 3: UriSelect s koloniemi *Enterococcus species* (modré)



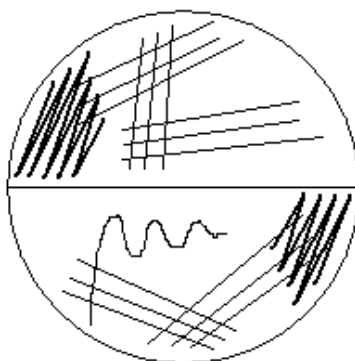
#### 4.3.2 Vyšetření výtěrů kultivačně a pomocí barvení dle Grama

Výtěr jsem vždy rozočkovala na ½ krevního agaru a ¼ Sabouraudova agaru. Ke každému z těchto vzorků jsem provedla preparát barvený dle Grama. Při požadavku na kultivaci *Gardnerelly vaginalis* jsem výtěr rozočkovala na GAR, to je speciální půda s přidavkem lidské krve určená pro kultivaci právě těchto mikrobů.

### 4.3.2.1 Krevní agar

Na ½ KA jsem udělala inokulum vatovým tampónem s výtěrem, rozočkovala jej (jeden ze dvou způsobů dle **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**) a přidala disk nasycený 10 mg gentamicinem (potlačuje růst bakterií, které svým růstem zamezují růstu G - tyček). Vyočkované agary jsem vložila do termostatu na 37 °C na 24 hodin. Druhý den ráno lékař odečetl nález, při výskytu kolonií jsem provedla postup navržený mikrobiologem tedy konkrétní identifikační test a stanovení citlivosti diskovým difúzním testem. Plotny jsem znovu vložila do termostatu na dalších 24 hodin při 37 °C. Následující den lékař znovu prováděl odečet a v případě nového nálezu, jsem dodělávala identifikaci a citlivost.

Obrázek č. 4: Techniky očkování



### 4.3.2.2 Sabouraudův glukózový agar

Celou ¼ Sabouraudova agaru jsem potřela pacientčíným výtěrem (viz Obr. 5). Agary jsem poté vkládala do termostatu na 24 hodin také při 37 °C. Následující den, lékař odečetl nárůst kolonií a v případě přítomnosti kvasinek jsem dodělala citlivost. Tato půda slouží ke kultivaci kvasinek pro vyšetření mykóz.

V gynekologické praxi nemá kultivace kvasinek zásadní význam, protože většina případů je způsobena *C. albicans*, která je citlivá ke všem komerčně užívaným

antimykotikům, slouží tedy především k ověření nebo upřesnění diagnózy (Špaček et al., 2013).

Obrázek č. 5: Sabouraudův agar se čtyřmi vzorky (2 pozitivní na přítomnost kvasinek)



#### 4.3.2.3 Gardnerella agar (GAR)

Výtěr jsem křížovým roztěrem rozočkovala na GAR a do inokula vpíchl disk napuštěný 500  $\mu\text{g}$  gentamicinem. Naočkované Petriho misky jsem uzavřela společně s vyvíječem do speciální nádoby, kde vzniklo požadované prostředí se zvýšeným obsahem  $\text{CO}_2$ , a vložila ji do termostatu. Po 48 hodinách byl odečten nárůst. Narostlé kolonie *Gardnerelly* mají podobný vzhled jako *Lactobacillus*.

#### 4.3.2.4 Barvení dle Grama

Podstatou barvení dle Grama je rozdíl ve stavbě buněčné stěny a její schopnost přijímat anilinové barvivo. Tímto barvením se zjistí velikost, tvar a uspořádání, ale především dochází k rozdělení bakterií na 2 základní klasifikační skupiny – **grampozitivní (G+)** a **gramnegativní (G-)**. Můžeme se však setkat i s pojmem

**gramlabilní** ( $G_{\pm}$ ), kdy se bakteriální stěna nezbarví vůbec, případně se barví špatně, to jsou např. acidorezistentní tyčky nebo některé spirochéty (Votava et al., 2010).

Pro barvení dle Grama jsem na podložní sklíčko nanasla vzorek, nechala uschnout, poté fixovala plamenem a po vychladnutí jsem postupovala podle Tabulky č. 1. V mnoha zdrojích se časy a složení jednotlivých činidel často liší, tento postup byl používán přímo v této laboratoři. Ponovu se zde preparáty barví v barvicím automatu, kdy princip metody je stejný, akorát už se nemusí dělat ručně. Obarvené preparáty mikrobiolog sleduje v mikroskopu přes kapku imerzního oleje.

*Tabulka č. 1: Barvení dle Grama*

Činidlo	Doba trvání
<b>Krystalová violet'</b>	1-3 minuty
<b>Lugolův roztok</b>	1 minuta
<b>Aceton</b>	do odbarvení
<b>Voda</b>	oplach
<b>Karbofuchsin</b>	20-30 vteřin

Buněčná stěna gramnegativních bakterií získá červené zbarvení po karbofuchsinu, jelikož dochází k vymytí komplexu violeti s Lugolovým roztokem. Grampozitivní mají modré zbarvení po komplexu Lugolu s violetí. Buněčná stěna grampozitivních bakterií je tvořena silnou vrstvou peptidoglykanu a skrz ni procházejících řetězců kyseliny teichoové, kde se pevně uchytí komplex jódu a violeti. Buněčná stěna gramnegativních bakterií je tenčí a složitější než je tomu u grampozitivních. Je složena z fosfolipidové dvouvrstvy, ve které jsou póry a zakotvené molekuly polysacharidů. Pod ní je tenká vrstva peptidoglykanu (Votava et al., 2010).

### **4.3.3 Mycoplasmy a Ureaplasmy (Sada Mycoplasma IST 2)**

Zkumavku R1 se vzorkem jsem protřepala na míchadle vortex, 3 ml přepipetovala do zkumavky R2 a obsah opět zvortexovala. Z R2 jsem napipetovala 55 µl bujónu do všech políček stripu použité sady. Do každé jamky jsem ještě přidala 2 kapky minerálního oleje. Hotové stripy jsem vložila do termostatu na 37 °C na 48 hodin. Poté byly výsledky odečteny.

Obrázek č. 6: Zkumavka R1(bílý uzávěr) a zkumavka R2(červený uzávěr)



Strip se dělí na 3 části: identifikace, počet a test citlivosti. Při negativním nálezu je políčko 0 žluté, v tomto případě se jiné jamky neodečítají. Při pozitivním nálezu jsou jamky v části identifikace oranžové až červené, poté se vyhodnocují i ostatní části stripu. Odečet u počtu se provádí tak, že pokud má jamka červené zbarvení, *Ureaplasma urealyticum* a/nebo *Mycoplasma hominis* je ve vzorku v množství větší nebo rovno  $10^4$  CFU. Pokud tomu tak není, ale přesto je pozitivita prokázána v části identifikace, množství je interpretováno jako  $10^2$  CFU. U testů citlivosti se interpretují výsledky citlivý (obě políčka ředění jsou žlutá), středně citlivý (méně koncentrované ATB je oranžové až červené a více koncentrované ATB je žluté) a rezistentní (obě políčka ředění jsou oranžová až červená). U pristinamicinu s jednou koncentrací antibiotik se výsledek interpretuje pouze jako citlivý (žlutá jamka) nebo rezistentní (oranžová až červená jamka) viz Obr. č. 7 a 8 (Příbalový leták Mycoplasma IST 2).

Obrázek č. 7: Negativní výsledek *Mycoplasma IST 2*



Obrázek č. 8: Pozitivní výsledek na *Ureaplasma urealyticum* v množství  $\geq 10^4$  CFU a *Mycoplasma hominis* v množství  $10^2$  CFU, citlivé na doxycyklin, josamycin, tetracyklin a pristinamycin



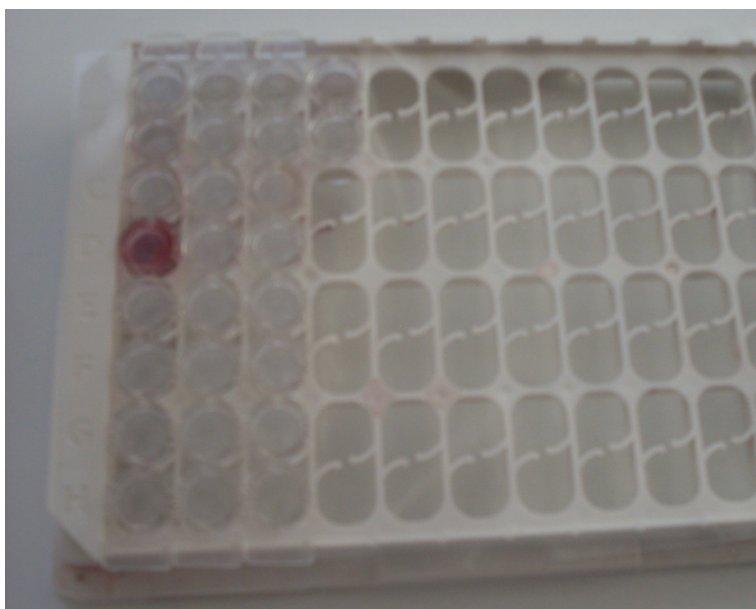
#### 4.3.4 Chlamydie (sada IDEIA PCE Chlamydia)

Tento kit slouží ke stanovení chlamydiového antigenu ve výtěrech z endocervixu nebo v moči. Princip tohoto testu je založený na metodě ELISA, kdy na mikrotitrační jamku je adsorbována monoklonální protilátka, na níž se váže antigen ze vzorku. Poté se přidá konjugovaná monoklonální protilátka, která se naváže na zachycený chlamydiový antigen. K odstranění přebytečných volných komplexů se provádí mytí. Po přidání substrátu dochází k enzymatické reakci provázené barevnou změnou, která

indikuje pozitivitu na přítomnost chlamydiového antigenu (příbalový leták IDEIA PCE Chlamydia).

U této metody je důležitá příprava vzorku, kdy je nutné rozvařit buňky epitelu, čímž dojde k uvolnění chlamydiového antigenu, který jsem poté stanovovala metodou ELISA. Výsledky byly odečteny pomocí fotometru. Na obrázku č. 9 je možné vidět, jak všechny vzorky vyšly negativně, kromě pozitivní kontroly, která je zbarvená do ruda.

Obrázek č. 9: Mikrotitrační jamky se vzorky na průkaz *Chlamydia trachomatis*



#### 4.4 Identifikace mikroorganismů

Zahrnuje různé postupy k určování rodů a druhů mikroorganismů. V identifikaci se hlavně jedná o srovnávání charakteristických znaků a vlastností vyšetřovaných mikrobů s mikroby již přesně definovanými. Nejprve se hodnotí makroskopické znaky (velikost, barva kolonie, konzistence, změny krevního agaru kolem kolonií, tvar a povrch kolonie). Poté se přechází k identifikaci pomocí mikroskopu nebo biochemických testů. Biochemické testy jsou specifické pro každou skupinu bakterií a sestavují se do tzv.



diagnostických tabulek či klíčů (Klaban, 2001). V současnosti se diagnostika často provádí i pomocí přístroje MALDI – TOF.

Odečty provádí mikrobiolog, který dle makroskopických znaků a preparátu barveného dle Grama orientačně určí rod a druh mikroorganismu a navrhne postup k potvrzení této domněnky.

#### **4.4.1 Test produkce vázané plazmakoagulázy a latexová aglutinace**

Průkaz plazmakoagulázy jsem provedla na podložním sklíčku, kde jsem do kapky plazmy kličkou převedla zkoumanou kolonii.

Při pozitivním průkazu (viz Obr. 10) došlo k vyvločkování fibrinu a tím pádem se v kapce objevily bílé partikule, tato metoda se též označuje jako Clumping faktor (Kramář, 2007).

*Obrázek č. 10: Pozitivní Clumping faktor*

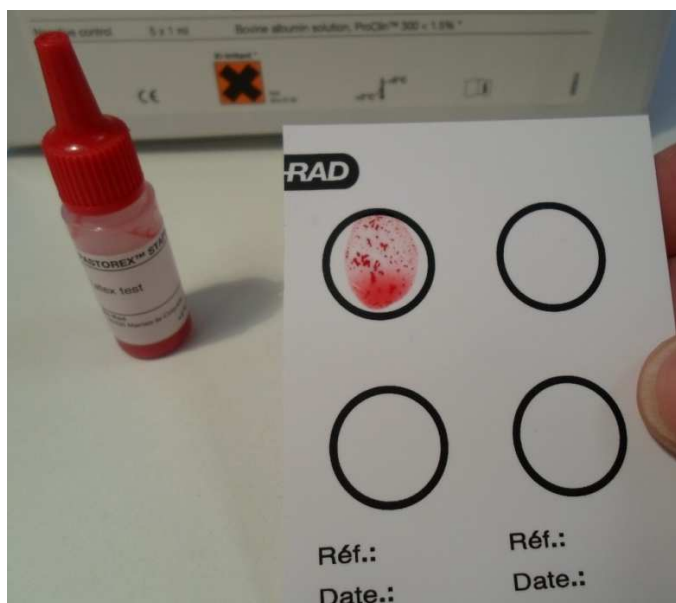


Latexový test je modernější metoda, pomocí níž se prokazuje jak volná tak i vázaná koaguláza (Kramář, 2007). Patří však mezi dražší metody. Za přítomnosti antigenu aglutinují latexové částice, na jejichž povrchu jsou navázány specifické protilátky namířené proti zkoumanému antigenu (Greenwood et al., 1999). Na testovací kartičku jsem kápla kapku latexové suspenze, do které jsem pomocí kličky přimíchala testovaný

kmen. Kývavými pohyby testovací kartou jsem u pozitivních kmenů pozorovala vznikající aglutinaci (viz Obr. 11).

Pomocí obou těchto metod se prokazuje *Staphylococcus aureus*.

Obrázek č. 11: Pozitivní latexový test



#### 4.4.2 PYR – test

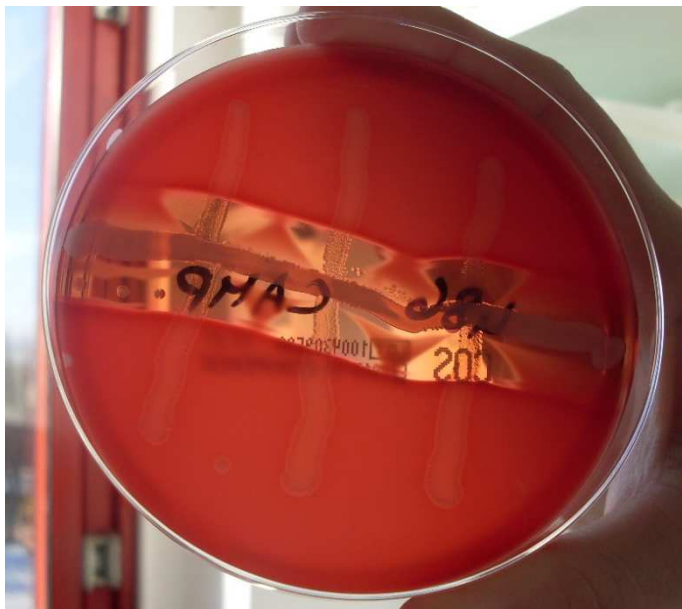
Slouží k potvrzení *Streptococcus pyogenes*, testovanou kolonii jsem otiskla na testovací proužek, vyčkala 5 – 10 minut, poté přikápla činidlo a hodnotila zbarvení testovací zóny. Červené zbarvení dává pozitivní výsledek, tedy že testovaná kolonie je kolonií *Streptococcus pyogenes*. Žluté je negativní.

#### 4.4.3 CAMP – test

Pro potvrzení *Streptococcus agalactiae* se používá tzv. CAMP – test. Na KA jsem kličkou nanasla tři čáry se zkoumanou kolonií, přes ně udělala jednu čáru kličkou se

*Staphylococcus aureus*. Pokud zkoumaná kolonie byla STAG, na krevním agaru se vytvořily zóny připomínající mašličky (viz Obr. 12).

Obrázek č. 12: CAMP – test



#### 4.4.4 Izolační biochemický klín (Švejcarova plotna, IBK)

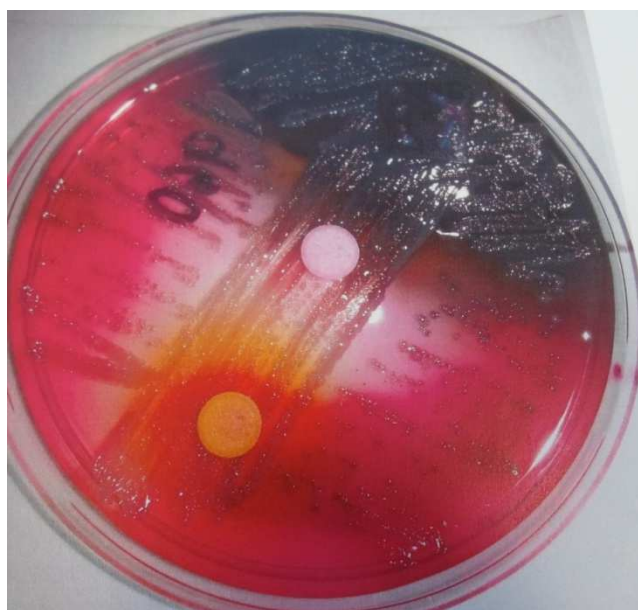
Slouží k detekování více biochemických reakcí najednou. Petriho miska je zhruba do poloviny zalita biochemickým klínem a zbytek je vyplněn Endovým agarem. Švejcarova plotna umožňuje sledovat fermentaci glukózy (zežloutnutím klínu), tvorbu sulfanu (černání biochemického klínu alespoň v místech vpichu), tvorbu plynu (bublinky pod sklíčkem), tvorbu ureázy (zmodráním biochemického klínu), štěpení laktózy (změna barvy Endova agaru na purpurovou) a mezi poslední reakce patří štěpení tablet manitolu se sacharózou, tu značí purpurová zóna kolem štěpené tablety (Votava et al., 2010).

Postup očkování je následující, nejdříve jsem očkovala klín, poté jsem kolmo ke klínu vytvořila úzký pruh ve středu Endo agaru, zbylý prostor vyplnila klikatou čarou,

do biochemického klínu vytvořila několik vpichů, na které jsem přiložila sklíčko a na rozočkovaný tenký pruh položila dvě tablety, manitol a sacharózu.

Tato půda dobře poslouží např. ke stanovení *E. coli* nebo *Proteus mirabilis*. Metoda patří mezi levnější, ale bohužel není moc mikrobiologů, kteří z ní umějí odečítat. Já měla to štěstí, že v synlab czech s.r.o. tuto metodu používají.

Obrázek č. 13: Švejcarova plotna



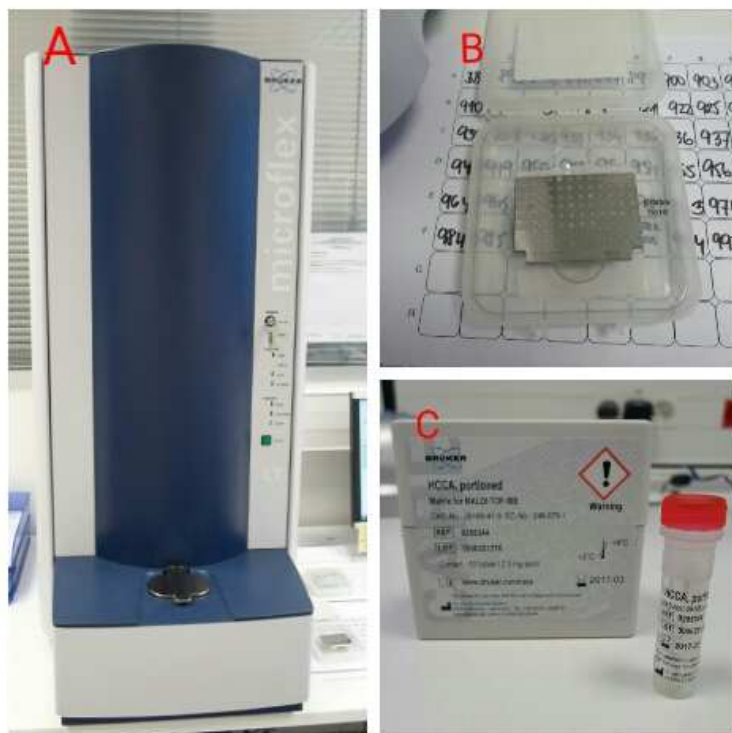
#### 4.4.5 Hmotnostní spektrofotometrie

Princip hmotnostní spektrofotometrie je v rozdělení nabitých částic podle hmotností molekul za pomoci elektrického nebo magnetického pole. Konkrétně metoda MALDI – TOF, využívá ionizaci laserem v matrici a detektor doby letu. Metoda porovná nalezené specifické bílkoviny kmenu s databází mikrobů a nález vyhodnotí. Metoda MALDI – TOF je velmi přesná, omezením je však to, že se musí pracovat pouze s čistými kmeny. Směs mikrobů nedokáže určit (Votava et al., 2010).

Pomocí párátky se přenese izolovaná kolonie do terčíku nosiče, vytvoří se směs kolonie s matricí, usuší se a vkládá se do hmotnostního spektrofotometru MALDI – TOF. Celý tento postup provádí pouze pověřené osoby, nebylo mi proto umožněno si tuto metodu vyzkoušet, mohla jsem pouze přihlížet.

Tato metoda se využívá k diagnostice vyizolovaných čistých kolonií nebo v případě pochybností již určených mikroorganismů.

*Obrázek č. 14: A - Hmotnostní spektrofotometr MALDI – TOF, B - nosič s terčíky, C - matrice*



## 4.5 Diskový difúzní test – stanovení citlivosti mikrobů

Řadí se mezi kvalitativní metody ke zjišťování citlivosti mikrobů na antimikrobiální látky (Votava et al., 2010).

Zkoumanou kolonii jsem přenesla do zkumavky se sterilním fyziologickým roztokem, obsah zvortexovala a proměřila na denzitometru (hodnota zákalu musí být 0,5 stupně McFarlanda). V případě bakterií jsem získanou suspenzi buď hustě rozočkovala nebo rozlila na celou plochu půdy (přebytek se slije) Mueller – Hintonova agar obohaceného krví. V případě kvasinek jsem celý postup aplikovala na MHA s přídavkem glukózy a methylenové modři. Na povrch vyočkované půdy jsem kladla papírové disky nasycené antimikrobiální látkou pomocí dispenzoru (viz Obr. č. 15) či bodce.

Obrázek č. 15: Dispenzor pro G- tyčky



Při stanovení citlivosti u bakteriálních infekcí jsem používala disky nasycené antibiotiky (viz Tab. 2) a u citlivosti při kvasinkových infekcích disky s antimykotiky

v kombinaci nystacin, ketokonazol, flukonazol, itrakonazol a bifonazol. Poté jsem plotny kultivovala 24 hodin při teplotě 37 °C.

Tabulka č. 2: Kombinace antibiotik

MIKROB/ SKUPINA MIKROBŮ	ANTIBIOTIKUM
<i>S. aureus</i>	erytromycin, kotrimoxazol, oxacilin, cefazolin, augmentin, tetracyklin
<i>E. faecalis</i>	ampicilin, kotrimoxazol, chloramfenikol, tetracyklin, ciprofloxacín, erytromycin
<b>G- tyčky</b>	tetracyklin, kotrimoxazol, ampicilin, cefazolin, cefuroxim, augmentin
<i>S. agalactiae</i>	erytromycin, kotrimoxazol, penicilin, ampicilin, cefazolin, tetracyklin

Při kultivaci dochází k difundování antimikrobiální látky do půdy a to zabraňuje růstu mikroba kolem disku, tato zóna se nazývá inhibiční. Druhý den se odečítají velikosti inhibičních zón, které se porovnávají s hodnotou udanou výrobcem. Pokud je měřená hodnota menší než referenční, mikrob je rezistentní. V případě že je zóna větší, je mikrob citlivý na antimikrobiální látku (Votava et al., 2010).

Obrázek č. 16: Antibiogram *S. agalactiae*



## 4.6 Interpretace výsledků

Po dokončení laboratorního vyšetření se výsledky nálezů zároveň s doporučenou terapií zasílají elektronicky a v tištěné podobě ošetřujícímu lékaři, který díky tomu může např. upravit diagnózu či léčbu.

Ošetřující lékař totiž musí terapii nasadit okamžitě, jinak se zpožděním hrozí zhoršení průběhu nemoci. A jelikož laboratorní testy mohou trvat až 3 dny, musí lékař nasadit léčbu i přes to, že nezná původce, který nemoc způsobil. Volbou léku bývají většinou širokospektrá antibiotika, která neřeší cílený účinek daného problému. Může tak dojít k použití chybného antibiotika a tím i mimo jiné k podpoře vzniku rezistentního bakteriálního kmene (Lang-Ernst, 2005).



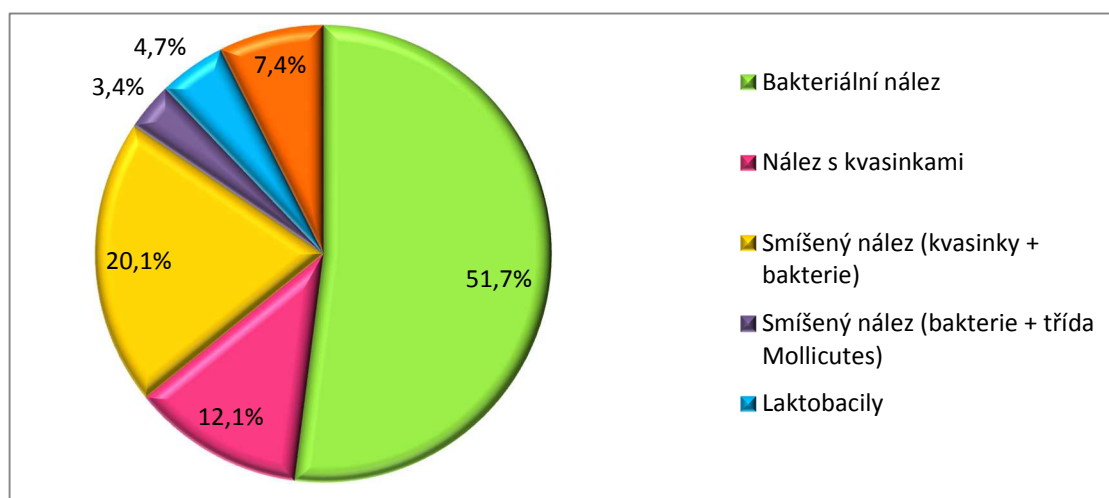
## 5 Výsledky

Výsledky jsou získány z databáze pracoviště mikrobiologie v synlab czech s.r.o., České Budějovice. Objektem jsou ženy ve věku 18 až 45 let. Hodnoceny jsou vzorky od 148 žen za období 1. září až 18. září 2015, tento soubor je získán vyšetřením vaginálních stěrů eventuelně stěrů z hrdla děložního, k tomuto souboru poté byla dohledána mikrobiologická vyšetření moče, stanovení chlamydií, mykoplazem a ureaplazem.

### 5.1 Celkový mikrobiologický nálezn za období 1. – 18. září 2015

U 148 žen bylo za 3 týdny ve vaginálních výtěrech, cervikálních výtěrech a moči nalezeno 77 případů (51,7 %) s pozitivním nálezem na přítomnost bakteriální agens, 18 případů (12,1 %) s kvasinkami, 30 případů (20,1 %) se smíšeným nálezem, jenž obsahoval kvasinky a bakterie, u 5 případů (3,4 %) byly nalezeny bakterie i s třídou *Mollicutes*, 7 žen (4,7 %) mělo negativní nález a 11 (7,4 %) jich mělo ve výtěru z pochvy rod *Lactobacillus*.

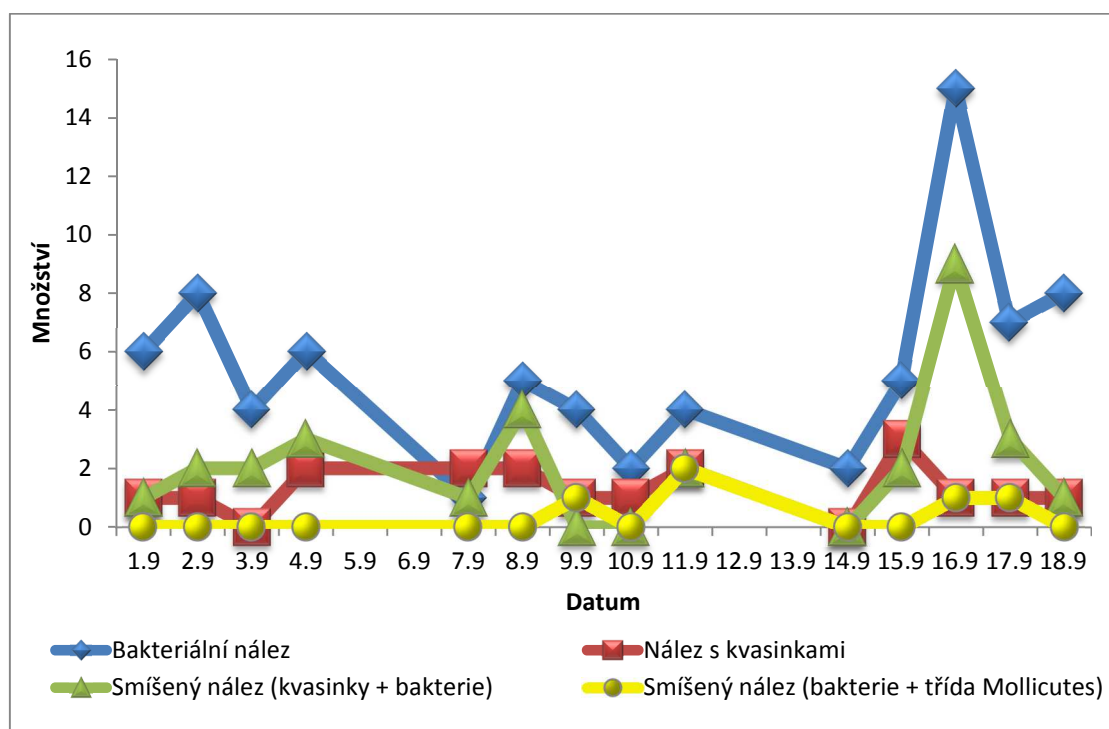
Graf č. 1: Celkový mikrobiologický nález za období 1. – 18. září 2015



## 5.2 Prevalence pozitivního mikrobiálního nálezu za období 1. 9 - 18. 9. 2015

Ve sledovaném období byla nejvyšší prevalence smíšeného nálezu tvořeného bakteriemi a kvasinkami a bakteriální nález 16. 9. Čistě kvasinkový nález měl nejvyšší výskyt 15. 9. Bakteriální nález s třídou *Mollicutes* byl nejvíce přítomný ve vzorcích 11. 9. 2015

Graf č. 2: Prevalence pozitivního mikrobiálního nálezu za období 1. 9. – 18. 9. 2015

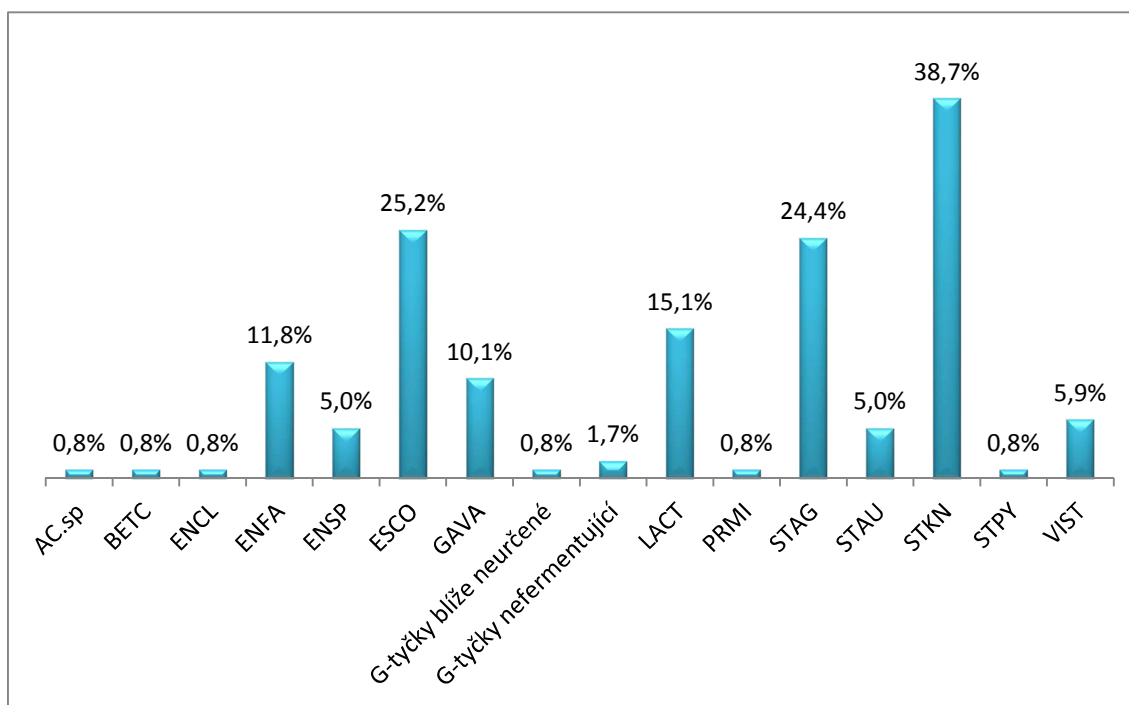


## 5.3 Druhové zastoupení ve vzorcích obsahujících bakterie vyjma třídy *Mollicutes*

U 148 žen byly v největším zastoupení nacházeny bakterie, a to tedy ve 119 vzorcích, ve formě monokultur nebo směsných kultur. Nejvyšší frekvence byla u koaguláza negativních stafylokoků (STKN), kteří byli ve 46 vzorcích (38,7 %). Druhý nejvyšší

výskyt byl u *E. coli* (ESCO), ty byly ve 30 vzorcích (25,2 %). *Streptococcus agalactiae* (STAG) byl ve 29 vzorcích (24,4 %), *Lacobacillus* (LACT) v 18 vzorcích (15,1 %), *Enterococcus faecalis* (ENFA) ve 14 vzorcích (11,8 %) a *Gardnerella vaginalis* (GAVA) ve 12 vzorcích (10,1 %). V menších zastoupeních pak byly nalézány viridující streptokoky (VIST), enterokoky (ENSP), *Staphylococcus aureus* (STAU), gramnegativní tyčky (nefermentující a blíže neurčené), rod *Acinetobacter* (AC.sp), beta hemolytický streptokok skupiny C (BETC), *Enterobacter cloacea* (ENCL), *Proteus mirabilis* (PRMI) a *Streptococcus pyogenes* (STPY).

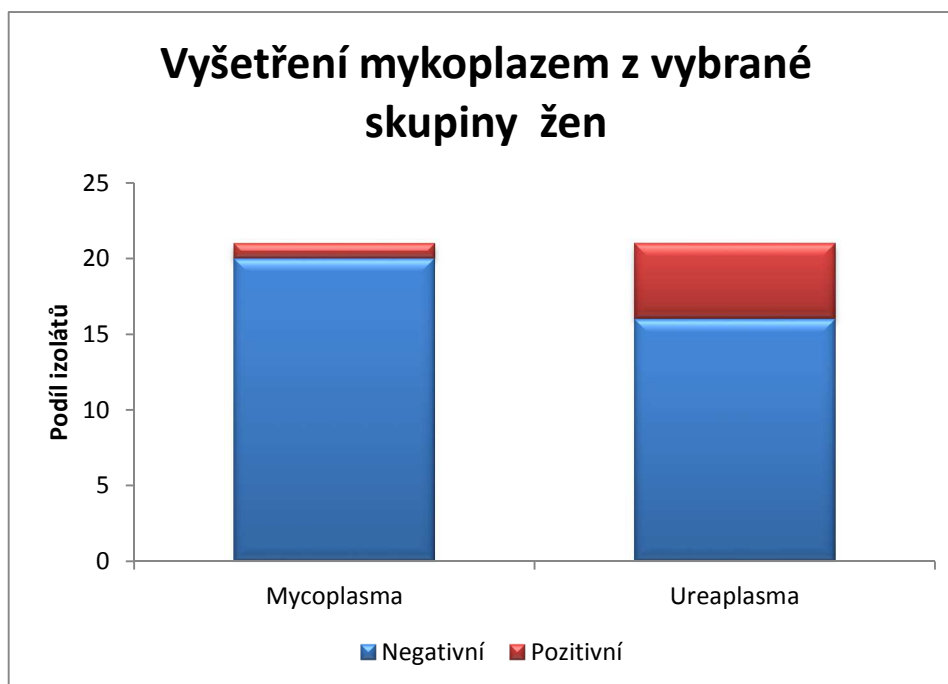
Graf č. 3: Druhové zastoupení ve vzorcích obsahující bakterie



## 5.4 Vyšetření třídy *Mollicutes* z vybrané populace žen

U vybrané populace žen byly vyšetřovány bakterie třídy *Mollicutes* pouze u 21 z nich, přičemž *Mycoplasmy* byly prokázány u 1 ženy a *Ureaplasmy* u 5 žen.

Graf č. 4: Vyšetření třídy Mollicutes u vybrané populace žen



## 5.5 Vyšetření na *Chlamydia trachomatis* z výtěru

Testy na přítomnost *Chlamydia trachomatis* se ve vybrané populaci prováděly pouze u 13 žen, z nichž ani jedna neměla pozitivní nález.

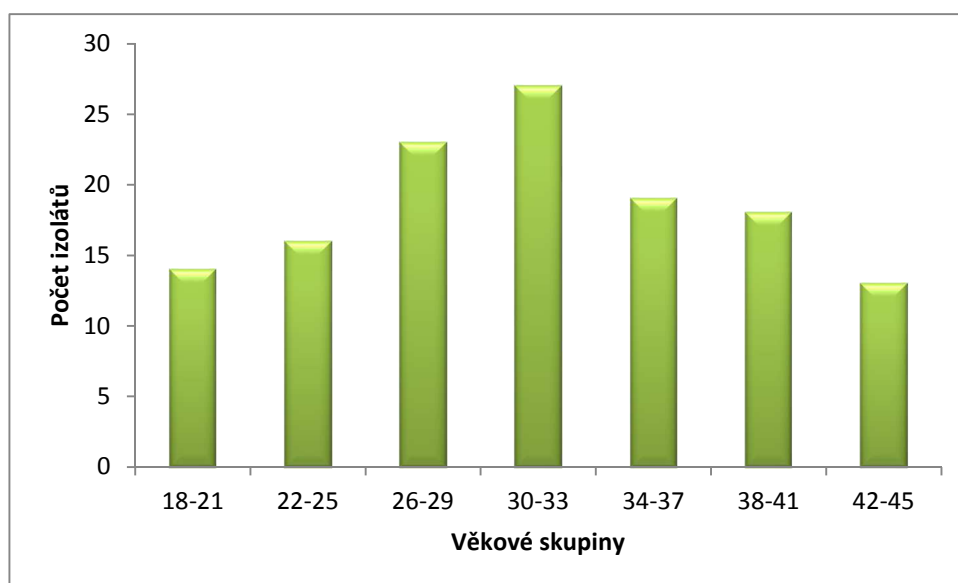
## 5.6 Vyšetření moče kultivačně a na stanovení chlamydií

Kultivační vyšetření se provádělo jen u 3 žen z vybrané populace, z čehož 1 nález byl pozitivní, ze vzorku moče byly izolovány enterokoky v počtu  $10^3$ / ml moče. Moč na stanovení chlamydií byla testována pouze 1 a nález byl negativní.

## 5.7 Rozdělení pozitivního mikrobiálního nálezu dle věkových skupin

Ze sloupcového grafu vyplývá, že četnost pozitivních mikrobiálních nálezů má u mladých žen vzrůstající charakter s nejvyšším dosaženým vrcholem ve věkové skupině 30 – 33 let, od této časové osy pak dochází k postupnému poklesu.

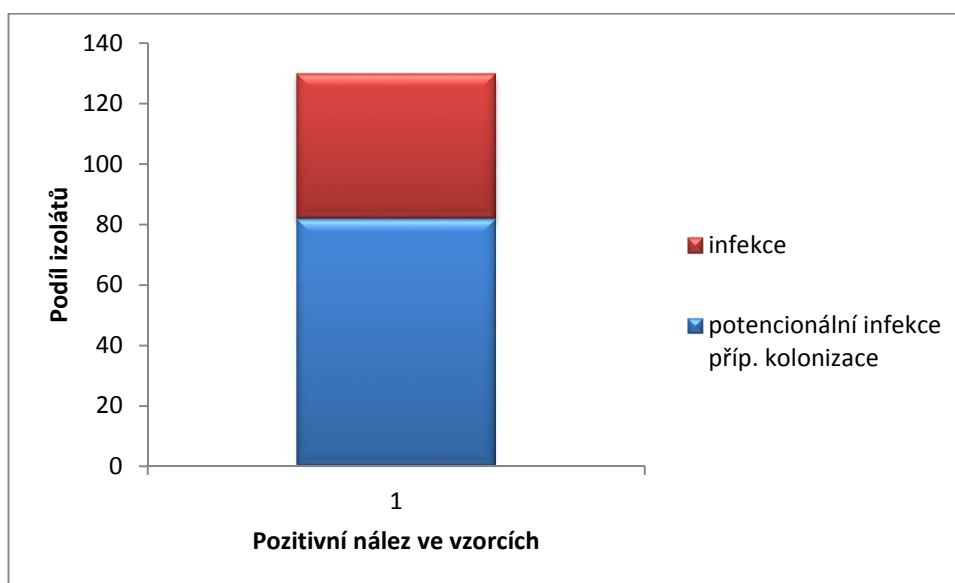
Graf č. 5: Sledování četností pozitivního nálezu dle věkových skupin



## 5.8 Přehled o hojnosti výskytu urogenitálních infekcí

Ze 130 žen s pozitivním mikrobiálním nálezem lze pouze u 48 (36,9 %) z nich, s jistotou říci, že se jedná o infekci. Kultivačním vyšetřením byl zjištěn masivní nárůst mikrobů, který ji značí. U zbylého počtu žen se jedná o potencionální infekci nebo kolonizaci.

Graf č. 6: Přehled o hojnosti výskytu urogenitálních infekcí



## 6 Diskuze

Vaginální infekce jdou většinou ruku v ruce s uroinfekcemi. Je to dáno především anatomickým umístěním, poševní vchod a vývod močové trubice jsou od sebe vzdálené pouze pár centimetrů, proto snadno dochází k přenosu z jedné části na druhou např. špatnými hygienickými návyky nebo pohlavním stykem. K infikování dochází i z konečníku, který je umístěn nedaleko urogenitálu. Při nechráněném pohlavním styku může docházet k přenosu infektu přímo ze sexuálního partnera.

Cílem této bakalářské práce bylo především naučit se zpracovávat vzorky moče, vaginálních a cervikálních výtěrů a metody pro diagnostiku jednotlivých mikroorganismů v laboratoři mikrobiologie v synlab czech s.r.o.

Zkoumaný soubor žen pro tento výzkum, měl původně čítat číslo sto, ale tento počet nezahrnoval výsledky za celé dny, proto jsem výzkum rozšířila až do konce třetího týdne, tedy od 1. do 18. září 2015. V konečné fázi jsem pro svůj výzkum získala výsledky od 148 žen.

Vaginální výtěry se většinou nedělají screeningově, ale až v případě potíží. Nelze tak z těchto dat spolehlivě zjistit frekvenci infekcí urogenitálního traktu. Došlo by tak ke zkreslení výsledků a prevalence by byla téměř stoprocentní. Osobně si myslím, že je velká chyba, že se výtěry z pochvy a/nebo z cervixu nedělají rutinně, na rozdíl od cytologie děložního čípku. Určitě by se tím předešlo přenosu přinejmenším alespoň několika sexuálně přenosných chorob.

V mém výzkumu jsem zjistila, že nejčastějším agens nalézáným ve vzorcích byly bakterie. Hacer et al. (2012), podporuje toto tvrzení, protože ve své studii uvádí, že převládající příčinou zánětu pochvy je bakteriální vaginóza, tedy bakteriální agens. S tímto tvrzením nesouhlasí výzkum Mulu et al. (2015), který naopak tvrdí, že nejčastější vaginální infekce patří kandidóza, tedy kvasinkové agens. Tato neshoda může být dána, např. nesouměrem ve věku skupiny. Hoffmann et al. (2014), totiž tvrdí, že se stoupajícím věkem klesají infekce způsobené *Candida sp.* a naopak stoupají

vaginální infekce způsobené bakteriemi. Mohla proto tato skupina zapadat např. do kategorie mladších žen. Nebo naopak, se stoupající volně dostupnou léčbou mykotických infekcí, pacientky s tímto problémem již tolik nevyhledávají lékařskou pomoc a pak může docházet ke statistické chybě, která ukazuje na nízkou prevalenci mykotických infekcí.

Tímto bych chtěla navázat na typizaci kandidových agens. Pro urogenitální infekce ji shledávám zcela bezvýznamnou, i podle výzkumů Alfouzan et al., Ogouyèmi-Hounto et al. a Mahmoudi Rad et al., jsou nejčastěji ve vzorcích s *Candida species* izolovány *Candida albicans* a *Candida grabata*, přičemž převážná většina je tvořena právě *C. albicans*. Lze tedy říci, že ji můžeme považovat za hlavního původce všech kandidóz. Ve svém výzkumu mám pouze jeden vzorek dourčený a i ten je diagnostikován jako *Candida albicans*. Tak jako tak podle Alfouzan et al., jsou všechny druhy jak *C. albicans*, tak *non - albicans* citlivé na většinu komerčně dostupných antifungálních látek.

Prevalence pozitivních mikrobiálních nálezů je podobná vývojové meteorologické křivce (viz Příloha č. 2) za stejné časové období. Proto si myslím, že má na výskyt nálezů počasí vliv. Především kolísání teplot, v chladnějších dnech se objevuje méně pacientek, než když teploty nečekaně stoupnou. Je dost možné, že to má spojitost i s oblékáním. Při kolísání teplot se často stane, že nepočítáme s tím, když den předtím bylo chladno, že následující den bude horko, proto pak býváme nepřiměřeně oblečené a snadno tak dojde např. k vlhké zapánce, která je rájem pro mikroorganismy.

V druhovém zastoupení ve vzorcích obsahující bakterie, jsem zjistila, že třemi nejčastějšími druhy jsou koaguláza negativní stafylokoky, *E. coli* a *Streptococcus agalactiae*. Toto tvrzení potvrzuje i výzkum Tansarli et al., který tvrdí že tyto mikroorganismy patří mezi nejčastěji izolované patogeny. I Velemínský jr. a Tošner ve svém výzkumu vztahu vaginální mikroflóry na PROM a pPROM a s nimi spojenými riziky neonatální sepse uvádějí, že u 152 těhotných žen nejčastěji nalézali *Staphylococcus* koaguláza negativní.



Testování třídy *Mollicutes* a *Chlamydie trachomatis*, podle mého názoru měl můj výzkum malý záchyt z důvodu malého množství testovaných vzorků. Jsem přesvědčená, že pokud by se toho vyšetření provádělo častěji, určitě by se odhalil mnohem vyšší výskyt. Podle výzkumu Choi et al. (2014), mají *Chlamydia trachomatis* a *Ureaplasma urealyticum* podíl na cytologických abnormalitách cervixu, proto doporučuje, aby se testy na tyto mikroorganismy prováděli screeningově. Já se s tímto názorem ztotožňuji.

Vyšetření moče, kultivačně ani na stanovení chlamydií, se u urogenitálních infekcí skoro neprovádí. Bartoníčková (2000) ve své knize tvrdí, že původce urogenitálních infekcí se většinou v moči stejně nezachytí. Nalezený *Enterococcus species*, ještě není považován za původce infekce, bakteriurie je hodnocená až od počtu kolonií  $10^5$ /ml moče.

Rozdělení četností pozitivního mikrobiálního nálezu dle věkových skupin, od 18 do 33 let věku má pozitivní mikrobiální nález vzrůstající charakter, od 34 let pak postupně klesá. Jistě nález ovlivňuje sexuální aktivita žen, ve vyšším věku ubývá četnost pohlavních styků a s tím spojený výskyt infekcí. Důvodů proč mají nejčastěji problémy pacientky právě ve věkové skupině 30 – 33 let, může být jistě mnoho. Já se domnívám, zdali to nemůže mít spojitost s plánovaným rodičovstvím. Ve vyšším věku už není vždy tak snadné otěhotnět, na ženy tlačí čas a z pohlavního styku se pak může stát spíše povinnost než potěšení, nedochází tak k dostatečnému vzrušení a zvlhčení, s čímž je spojené vyšší podráždění sliznic, které pak může vést spíše k infekci než k těhotenství.

Odhalit, zda se skutečně jedná o urogenitální infekci nebo pouze o kolonizaci, je myslím si občas tvrdý oříšek. Z pozitivního poševního nálezu nelze vždy hned s jistotou říci, že se jedná o infekci. Pochva není sterilní orgán, může být tedy kolonizována rovnou několika druhy mikrobů najednou (Mašata et al., 2006). Uvážit, zda se o infekci jedná, je potom na klinikovi, který prováděl vyšetření pacientky a za pomoci symptomů stanovuje, případně upravuje diagnózu.

## 7 Závěr

V tomto výzkumu jsem provedla vyšetření moče, vaginálních a cervikálních stěrů, u 148 žen ve věku 18 až 45 let za období 1. – 18. 9. 2015 v laboratoři synlab czech s.r.o. České Budějovice. Ve vybraném souboru žen, jsem zjistila, že nejčastěji vyizolovaným agens jsou bakterie, konkrétně koaguláza negativní *Staphylococcus species*, *E. coli* a *Streptococcus agalactiae*. U žádné z žen jsem nezjistila přítomnost *Chlamydia trachomatis*. Pouze u 5 byla ve vzorcích zachycena třída *Mollicutes*. V moči byl nalezen *Enterococcus species* v počtu kolonií  $10^3$ / ml moče. Dále jsem zjistila, že pozitivní mikrobiální nález byl nejčastěji nalezen u žen ve věkové skupině 30 – 33 let. Z pozitivního mikrobiálního nálezu, však nelze říci, že se u všech jedná o infekci, toto tvrzení by bylo krajně zavádějící. Průkazné z výsledků izolace je to pouze u 48 ze 130 nalezených, zbylý nález u 82 žen je pouze podezřelý z vyizolování původce urogenitálních infekcí.

## 8 Použitá literatura

1. ALFOUZAN, W., R. DHAR, H. ASHKANANI, M. GUPTA, C. RACHEL a Z.U. KHAN. Species spectrum and antifungal susceptibility profile of vaginal isolates of *Candida* in Kuwait. *Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology* [online]. 2015, 25(1), 23-28 [cit. 2016-04-24]. DOI: 10.1016/j.mycmed.2014.10.021. ISSN 11565233. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1156523314002844>
2. BARTONÍČKOVÁ, Kateřina. *Uroinfekce*. 1. vyd. Praha: Galén, 2000, 79 s. Folia practica. ISBN 80-726-2027-4.
3. BEDNÁŘ, Marek, Věra FRAŇKOVÁ, Jiří SCHINDLER, Andrej SOUČEK a Jiří VÁVRA. *Lékařská mikrobiologie: Bakteriologie, virologie, parazitologie*. 1 vyd. Praha: Marvil, 1996. ISBN 80-2380-297-6.
4. ČIHÁK, Radomír, Miloš GRIM a Oldřich FEJFAR. *Anatomie*. 3., upr. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2013. ISBN 978-80-247-4788-0.
5. GREENWOOD, David, Richard C SLACK a John F PEUTHERER. *Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie*. 1. české vyd. Praha: Grada Publishing, 1999, 686 s. ISBN 80-7169-365-0.
6. GRIM, Miloš a Rastislav DRUGA. *Základy anatomie*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2005, 163 s. ISBN 80-7262-302-8(3).
7. HACER Haltas, Bayrak REYHAN, Yenidunya SIBEL. To determine of the prevalence of *Bacterial Vaginosis*, *Candida sp*, mixed infections (*Bacterial Vaginosis + Candida sp*), *Trichomonas Vaginalis*, *Actinomyces sp* in Turkish women from Ankara, Turkey. *Ginekol Pol.* 2012;83:744–8 [ [PubMed](#) ].
8. HÁJEK, Zdeněk. *Rizikové a patologické těhotenství*. Vyd. 1. české. Praha: Grada, 2004. ISBN 80-247-0418-8.
9. HOFFMANN, J. N., H. M. YOU, E. C. HEDBERG, J. A. JORDAN a M. K. MCCLINTOCK. Prevalence of Bacterial Vaginosis and *Candida* among

- Postmenopausal Women in the United States. *The Journals of Gerontology Series B: Psychological Sciences and Social Sciences* [online]. 2014, **69**(Suppl 2), S205-S214 [cit. 2016-04-03]. DOI: 10.1093/geronb/gbu105. ISSN 1079-5014. Dostupné z: <http://psychsocgerontology.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1093/geronb/gbu105>
10. HORÁK, Ladislav. *Praktická proktologie*. Vyd. 1. Praha: Grada, 2013. ISBN 978-80-247-3595-5.
11. CHOI, Yuri a Jaesook ROH. Cervical Cytopathological Findings in Korean Women with Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis, and Ureaplasma urealyticum Infections. *The Scientific World Journal* [online]. 2014, **2014**, 1-5 [cit. 2016-04-06]. DOI: 10.1155/2014/756713. ISSN 23566140. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/tswj/2014/756713/>
12. IDEIA PCE Chlamydia - příbalový leták
13. Informační stránky Českého hydrometeorologického ústavu. *Český hydrometeorologický ústav* [online]. [cit. 2016-04-02]. Dostupné z: [http://www.infomet.cz/index.php?id=tabulka&iidd=11546&vypsati=1440968400&tabulka\\_datum=30.08.2015%2023.00&tabulka\\_datum\\_form=30.08.2015%2023.00](http://www.infomet.cz/index.php?id=tabulka&iidd=11546&vypsati=1440968400&tabulka_datum=30.08.2015%2023.00&tabulka_datum_form=30.08.2015%2023.00)
14. JEDLIČKOVÁ, Anna. *Systémové mykózy: průvodce ošetřujícího lékaře*. Praha: Maxdorf, 2006, 130 s. ISBN 80-7345-101-8.
15. KLABAN, Vladimír. *Svět mikrobů: ilustrovaný lexikon mikrobiologie životního prostředí*. 2. rozš. a přeprac. vyd. Hradec Králové: Gaudeamus, 2001. ISBN 80-7041-687-4.
16. KOĐOUSEK, Rostislav. *Mykózy: lékařsky významná mykotická onemocnění člověka*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého, 2003, 199 s. ISBN 80-244-0649-7.
17. KRAMÁŘ, Radim. *Lékařská mikrobiologie*. 1. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. Zdravotně sociální fakulta, 2007, 72 s. ISBN 978-80-7394-021-8.
18. Laboratorní příručka synlab czech s.r.o.


19. LANGE-ERNST, Maria-Elisabeth. *Antibiotika: omyly a pravda : šance, rizika, alternativy*. Olomouc: Fontána, 2005. ISBN 80-733-6202-3.
20. MAHMOUDI RAD, Mahnaz, Ameneh Sh ZAFARGHANDI, Maryam AMEL ZABIHI, Mahkam TAVALLAEE a Yasaman MIRDAMADI. Identification of Candida Species Associated with Vulvovaginal Candidiasis by Multiplex PCR. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology* [online]. 2012, **2012**, 1-5 [cit. 2016-04-24]. DOI: 10.1155/2012/872169. ISSN 10647449. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/ido/2012/872169/>
21. MAŠATA, Jaromír a Anna JEDLIČKOVÁ. *Infekce v gynekologii a porodnictví a základy jejich antiinfekční léčby*. Praha: Maxdorf, 2004, 371 s., xxii s. barev. obr. příl. ISBN 80-734-5038-0.
22. MAŠATA, Jaromír a Anna JEDLIČKOVÁ. *Infekce v gynekologii*. Praha: Maxdorf, 2006, 154 s. Farmakoterapie pro praxi. ISBN 80-734-5107-7.
23. MULU, Wondemagegn, Mulat YIMER, Yohannes ZENEBE a Bayeh ABERA. Common causes of vaginal infections and antibiotic susceptibility of aerobic bacterial isolates in women of reproductive age attending at Felegehiwot referral Hospital, Ethiopia: a cross sectional study. *BMC Women's Health* [online]. 2015, **15**(1), - [cit. 2016-04-03]. DOI: 10.1186/s12905-015-0197-y. ISSN 1472-6874. Dostupné z: <http://www.biomedcentral.com/1472-6874/15/42>
24. Mycoplasma IST 2 – příbalový leták
25. OGOUYÈMI-HOUNTO, A., S. ADISSO, J. DJAMAL, R. SANNI, R. AMANGBEGNON, B. BOKOU-BANKOLE, D. KINDE GAZARD a A. MASSOUBODJI. Place des candidoses vulvo-vaginales au cours des infections génitales basses et facteurs de risque associés chez les femmes au Bénin. *Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology* [online]. 2014, **24**(2), 100-105 [cit. 2016-04-24]. DOI: 10.1016/j.mycmed.2014.01.003. ISSN 11565233. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1156523314000043>
26. ROZTOČIL, Aleš a Pavel BARTOŠ. *Moderní gynekologie*. 1. vyd. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-2832-2.

27. RYŠKOVÁ, Olga. Základy lékařské mikrobiologie a imunologie: učební texty pro bakalářské studium. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2001, 130 s. ISBN 978-80-246-0135-9(1).
28. SCHINDLER, Jiří. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. 1. vyd. Praha: Grada, 2010, 223 s., [24] s. barev. obr. příl. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-3170-4.
29. SLEZÁKOVÁ, Lenka. *Ošetřovatelství v gynekologii a porodnictví*. 1. vyd. Praha: Grada, 2011. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-3373-9.
30. ŠPAČEK, Jiří, Vladimír BUCHTA a Petr JÍLEK. *Vulvovaginální dyskomfort a poruchy poševního prostředí*. 1. vyd. Praha: Grada, 2013. ISBN 978-80-247-4554-1.
31. TANSARLI, G. S., E. K. KOSTARAS, S. ATHANASIOU a M. E. FALAGAS. Prevalence and treatment of aerobic vaginitis among non-pregnant women: evaluation of the evidence for an underestimated clinical entity. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* [online]. 2013, **32**(8), 977-984 [cit. 2016-04-06]. DOI: 10.1007/s10096-013-1846-4. ISSN 09349723. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10096-013-1846-4>
32. TEPLAN, Vladimír. *Infekce ledvin a močových cest v dospělém a dětském věku*. 1. vyd. Praha: Grada, 2004, 252 s. ISBN 80-247-0566-4.
33. UriSelect™ 4 Medium – brožura
34. VALHA, Petr. Vulvovaginitidy. *Postgrad Med*. 2010, 2010(02), 222-231.
35. VELEMÍNSKÝ, Miloš, Petr ŠVIHOVEC a Miloš VELEMÍNSKÝ. *Infekce plodu a novorozence*. Vyd. 1. Praha: Triton, 2005, 414 s. ISBN 80-7254-614-7.
36. VELEMÍNSKÝ, M. jr., TOŠNER, J., Relationship of vaginal microflora to PROM, pPROM and the risk of early-onset neonatal sepsis. *Neuro Endocrinol Lett.*, 2008, vol. 29, no. 2, p. 205-21. ISSN 0172-780X, **IF 1,42**
37. VOKURKA, Martin a Jan HUGO. *Velký lékařský slovník*. 4. aktualiz. vyd. Praha: Maxdorf, 2004. ISBN 80-7345-037-2.
38. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, 2010, 495 s. ISBN 978-80-86850-04-7.

39. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902-8966-5.
40. WEISS, Petr. *Sexuologie*. Vyd. 1. Praha: Grada, 2010. ISBN 978-80-247-2492-8.

# 9 Přílohy

## Příloha č. 1: Žádanka



laboratorní služby

Císlo pojistkence: \_\_\_\_\_  
 Příjmení: \_\_\_\_\_  
 Jméno: \_\_\_\_\_  
 Pohlaví: \_\_\_\_\_  
 DG: \_\_\_\_\_  
 Adresa pacienta: \_\_\_\_\_  
 Kontakt na pacienta: \_\_\_\_\_  
 Pojistkova: \_\_\_\_\_ Samoplátce:   
 Datum a čas odběru: \_\_\_\_\_ : \_\_\_\_\_ : \_\_\_\_\_  
 Jak vyplívat:  Správně  Chybně   
 IČP, odbornost \_\_\_\_\_  
 Razítko a podpis lékaře \_\_\_\_\_  
 Celkem vyžádáno vyšetření: \_\_\_\_\_  
 Datum a čas přijetí laboratorní: \_\_\_\_\_ : \_\_\_\_\_ : \_\_\_\_\_  
 Primární vzorek:  krev  jiný \_\_\_\_\_

**Výkon zdanovaný DPH**  
 Výkon slobodním dleml nebo dleml kóde zdravotní od DPH osvobozen podle §38 zákona č. 235/2004 Sb., o daní z příjmu. Pro uspokojení této podmínky je výkon zdanovaný DPH. NEZDAŇOVANÉ: laboratorní vyšetření pro sledování DPH. Pokud požadujete zdanové laboratorní vyšetření osvobozené zdanováním, vyplňte prosím dvě samostatná objednávky.

**Odběrový materiál vzhledem na zádnice:**  
 žilný uzavř (EBU)  žilný uzavř (neú)  
**URGENTNÍ METODY JSOU UVEDENY ČERVENOU BARVOU**  
 1) pro upřesnění odběru volejte zelenou linku  
 2) o schématu vyšetření rozhoduje laborator  
 JM - jiný materiál

www.synlab.cz

### OBJEDNÁVKA LABORATORNÍCH VYŠETŘENÍ

Call centrum: 800 800 234

ZDE NALEPTE ŠTÍTEK

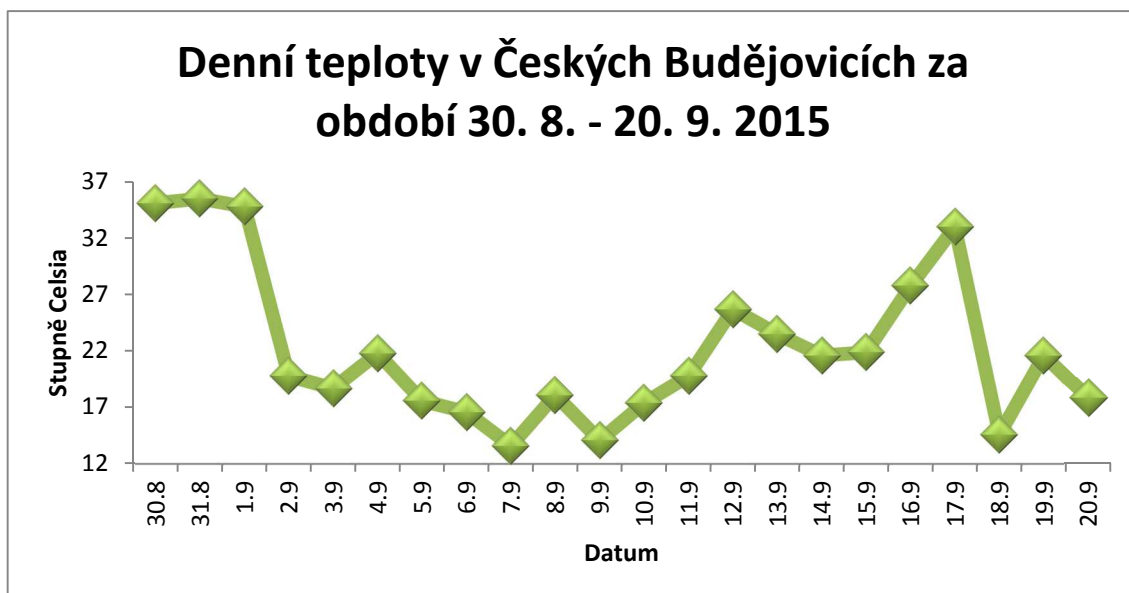
Průkaz protilátek - vyšetření ze séra (pokud není uvedeno jinak)			
Hepatitidy	Neuroinfekce	Gastrointestinální infekce	
<input type="checkbox"/> Hepatitida A (IgM + totál)	<input type="checkbox"/> KIBřová encefalitida (IgG, IgM)	<input type="checkbox"/> JM	<input type="checkbox"/> H. pylori (IgA, IgG)
<input type="checkbox"/> Hepatitida B: celý panel	<input type="checkbox"/> Borrelia (IgG, IgM)	<input type="checkbox"/> JM	<input type="checkbox"/> H. pylori - cag A (IgA, IgG)
<input type="checkbox"/> HBsAg	<input type="checkbox"/> - při pozitivitě doplnit WB		<input type="checkbox"/> Pepsinogen 1+2
<input type="checkbox"/> anti HBC total	<input type="checkbox"/> Borrelia afzelii (IgG, IgM)		<input type="checkbox"/> Yersinia (IgA, IgG, IgM) <sup>2)</sup>
<input type="checkbox"/> anti HBC IgM	<input type="checkbox"/> Borrelia garinii (IgG, IgM)		<input type="checkbox"/> Campylobacter (IgA, IgG, IgM) <sup>2)</sup>
<input type="checkbox"/> HBeAg/anti HBe	<input type="checkbox"/> Borrelia WB (IgG, IgM)	<input type="checkbox"/> JM	<input type="checkbox"/> Widal (Salmon. paratyphi, typhi)
<input type="checkbox"/> anti HBS	<input type="checkbox"/> Coxsackie A+B		
<input type="checkbox"/> Hepatitida C	<input type="checkbox"/> ECHO virus		<b>Respirační infekce</b>
<input type="checkbox"/> Hepatitida C (knifmaza)	<input type="checkbox"/> West Nile Virus (IgG, IgM)		<input type="checkbox"/> Respir. viry (RSV, ADV, Infl.)
<input type="checkbox"/> Hepatitida D			<input type="checkbox"/> ADV
<input type="checkbox"/> Hepatitida E (IgG, IgM)			<input type="checkbox"/> RSV
	<b>Herpesviry</b>		<input type="checkbox"/> Viry Influenza A (H1N1, H3N2) + B
	<input type="checkbox"/> Paul-Bunnell / JM test / OCH		<input type="checkbox"/> Parainfluenza 1, 2, 3
	<input type="checkbox"/> EBV (VCA IgG, EA IgG, EBNA IgG)		<input type="checkbox"/> Mycoplasma pneumoniae (IgA, IgG, IgM)
<b>Otitovány</b>	<input type="checkbox"/> EBV WB (IgG, IgM)		<input type="checkbox"/> Chlamydia (IgA, IgG) <sup>2)</sup>
<input type="checkbox"/> Hepatitida A (anti HAV otk)	<input type="checkbox"/> CMV (IgG, IgM) <sup>2)</sup>		<input type="checkbox"/> IgM
<input type="checkbox"/> Hepatitida B (anti HBs)	<input type="checkbox"/> CMV avidita		<input type="checkbox"/> C. trachomatis (IgA, IgG)
<input type="checkbox"/> KIBřová encefalitida (IgG)	<input type="checkbox"/> HSV 1+2 (IgG, IgM) <sup>2)</sup>		<input type="checkbox"/> C. pneumoniae (IgA, IgG) <sup>2)</sup>
<input type="checkbox"/> Tetanus (IgG)	<input type="checkbox"/> HSV WB (IgG, IgM)		<input type="checkbox"/> C. psittaci (IgA, IgG, IgM)
<input type="checkbox"/> Difterie (IgG)	<input type="checkbox"/> VZV (IgG, IgM) <sup>2)</sup>		<input type="checkbox"/> ChSP 60 (IgG)
<input type="checkbox"/> Rubella (IgG)	<input type="checkbox"/> HHV 6 (IgG, IgM)		<input type="checkbox"/> C. trachomatis, pneumoniae WB (IgA, IgG)
<input type="checkbox"/> Parotitida (IgG)	<input type="checkbox"/> HHV 8 (IgG, IgM)		<input type="checkbox"/> Chlamydia IF (IgA, IgG, IgM) <sup>2)</sup>
<input type="checkbox"/> Morbilli (IgG)	<input type="checkbox"/> HHV 9 (IgG)		<input type="checkbox"/> B. paratuberculosis / pertussis
<input type="checkbox"/> H. influenzae typ b (Hb) (IgG)			<input type="checkbox"/> B. pertussis - toxin (IgA, IgG, IgM)
<input type="checkbox"/> S. pneumoniae (IgG)	<b>Antropozoonózy</b>		<input type="checkbox"/> Legionella pneumophila (IgG)
<input type="checkbox"/> HPV 6, 11, 16, 18 (IgG)	<input type="checkbox"/> Toxoplasma gondii <sup>2)</sup>		<input type="checkbox"/> Pneumococci (IgG, IgM)
<input type="checkbox"/> VZV (IgG)	<input type="checkbox"/> (Ab otk., IgA, IgG, IgM, IgE, IgG - avidita)		
	<input type="checkbox"/> Toxocara canis <sup>2)</sup> (IgG, IgE - avidita)		
<b>Pohlavně přenosné infekce</b>			<b>Exantémová onemocnění</b>
<input type="checkbox"/> HIV anti-HIV 1, 2, p24	<input type="checkbox"/> Listeria monocytogenes		<input type="checkbox"/> Rubella (IgG, IgM)
<input type="checkbox"/> HIV mezinárodní certifikát	<input type="checkbox"/> Francisella tularensis		<input type="checkbox"/> Rubella avidita
<input type="checkbox"/> Syfilis (aetep. + trepon. test)	<input type="checkbox"/> Bartonella henselae / quintana (IgG, IgM)		<input type="checkbox"/> Parvovirus B19 (IgG, IgM)
<input type="checkbox"/> Chlamydia (IgA, IgG) <sup>2)</sup>	<input type="checkbox"/> Ehrlichia - HGE (IgG, IgM)		<input type="checkbox"/> Parotitida (IgG, IgM)
<input type="checkbox"/> C. trachomatis (IgA, IgG)	<input type="checkbox"/> Leptospira 9 (menit)		<input type="checkbox"/> Morbilli (IgG, IgM)
<input type="checkbox"/> C. trachomatis, pneumoniae WB (IgA, IgG)	<input type="checkbox"/> Q-horečka		
<input type="checkbox"/> Neisseria ureth. / Neisseria hum. (IgG, IgM)	<input type="checkbox"/> Listeria monocytogenes / conorii		<b>Mykotická agens</b>
<input type="checkbox"/> Chlamydia trachomatis (Ag)	<input type="checkbox"/> E. histolytica - amebóza		<input type="checkbox"/> Aspergillus fumigatus (Ab) (Ag)
	<input type="checkbox"/> Leishmania - viscerální		<input type="checkbox"/> Candida albicans (Ab) (Ag)
	<input type="checkbox"/> Echinococcus sp.		
	<input type="checkbox"/> Dengue (IgG, IgM)		
	<input type="checkbox"/> Hantavirus (IgG, IgM)		

©2015 synlab czech s.r.o.

Bakteriologie		Gastrointestinální onemocnění	
<b>Primární vzorek:</b>	<input type="checkbox"/> moč	<input type="checkbox"/> Rotavirus (IgG)	
<input type="checkbox"/> krk	<input type="checkbox"/> pochva / nitroděložní tělísko	<input type="checkbox"/> ADV (IgG)	
<input type="checkbox"/> nos	<input type="checkbox"/> uretra	<input type="checkbox"/> Norovirus (Ag)	
<input type="checkbox"/> ucho	<input type="checkbox"/> hnis	<input type="checkbox"/> Clostridium difficile GDH + toxin A/B (Ag) <sup>2)</sup>	
<input type="checkbox"/> oko	<input type="checkbox"/> rána	<input type="checkbox"/> Clostridium difficile - toxin A/B DNA (knifmaza)	
<input type="checkbox"/> sputum	<input type="checkbox"/> punkčát	<input type="checkbox"/> Helicobacter pylori (Ag)	
<input type="checkbox"/> rectum základní		<b>TBC a Mykobakterie</b>	
<input type="checkbox"/> rectum základní vs. Gampylobacter (přímé)		<input type="checkbox"/> TBC a Mykobakterie	
<input type="checkbox"/> stolice na Helicobacter pylori - antigen		<input type="checkbox"/> Kultivace a mikroskopie	
<b>Podávané vyšetření:</b>		<input type="checkbox"/> PCR Mycobacterium TBC komplex	
<input type="checkbox"/> mikroskopie	<input type="checkbox"/> kultivace na B. pertussis		
<input type="checkbox"/> kultivace aerobní	<input type="checkbox"/> Kapavka (GC) kultivačně	<input type="checkbox"/> Zhotovení bakteriální autovakcíny	
<input type="checkbox"/> kultivace anaerobní	<input type="checkbox"/> Gardnerely	<input type="checkbox"/> určení bakteriální kmeny	
<input type="checkbox"/> citlivost na ATB	<input type="checkbox"/> Mykoplasma / Ureaplasma	<input type="checkbox"/> (opakovány název) a adresu pacienta	
<input type="checkbox"/> ATB kavanitativně (MIC)	<input type="checkbox"/> Kultivace na N. meningitidis	<input type="checkbox"/> Injekční	
<input type="checkbox"/> Průkaz MRSA	<input type="checkbox"/> Chlamydia trachomatis	<input type="checkbox"/> P. O.	
	<input type="checkbox"/> Chlamydia trach. z moče	<input type="checkbox"/> Nosní kapky	
	<input type="checkbox"/> Screening Str. agalactiae bez citlivosti		
<b>Jiná vyšetření:</b>			
		<b>POZNÁMKY (přičtko ab. křba, lokaliza...)</b>	
<b>Primární vzorek:</b>		<b>Molekulární biologická vyšetření PCR</b>	
<input type="checkbox"/> kůže	<input type="checkbox"/> vously	<b>Neuroinfekce a jiné</b>	<b>Urogenitální infekce, aj.</b>
<input type="checkbox"/> vlasy	<input type="checkbox"/> nehty	<input type="checkbox"/> Borrelia DNA	<input type="checkbox"/> kung
<b>Podávané vyšetření:</b>		<input type="checkbox"/> Leptospira sp. DNA	<input type="checkbox"/> moč
<input type="checkbox"/> mikroskopie		<input type="checkbox"/> Name. Spm. Hb DNA	<input type="checkbox"/> v. lo
<input type="checkbox"/> kultivace na kvasinky		<input type="checkbox"/> N. meningitidis DNA	<input type="checkbox"/> křpako
<input type="checkbox"/> citlivost na antimykotika kvalitativně		<input type="checkbox"/> N. meningitidis séro skupiny DNA	
<b>Jiná vyšetření:</b>		<input type="checkbox"/> S. pneumoniae DNA	
		<input type="checkbox"/> H. influenzae DNA	
		<input type="checkbox"/> Listeria monocytogenes DNA	
		<input type="checkbox"/> Enterovirus RNA	
		<input type="checkbox"/> Influenza A RNA	
<b>Primární vzorek:</b>		<input type="checkbox"/> HSV 1/2 DNA	
<input type="checkbox"/> stolice	<input type="checkbox"/> pochva	<input type="checkbox"/> CMV DNA	
<input type="checkbox"/> rectum		<input type="checkbox"/> EBV DNA	
<b>Podávané vyšetření:</b>		<input type="checkbox"/> VZV DNA	
<input type="checkbox"/> stolice základní	<input type="checkbox"/> kultivační vs. na trichomonády		
<input type="checkbox"/> stolice nadstavbová	<input type="checkbox"/> MCP (mikrobiální obraz poševní) vyšetření na svrab	<input type="checkbox"/> Atypická pneumonie	<input type="checkbox"/> BAL
<input type="checkbox"/> otkik na roupy		<input type="checkbox"/> Chlamydia pneumoniae DNA	<input type="checkbox"/> sputum
		<input type="checkbox"/> Mycoplasma pneumoniae DNA	<input type="checkbox"/> KED
<b>Malsrie</b>			
<b>Jiná vyšetření:</b>			
		<b>POZNÁMKA</b>	
		na vyšetření metodami PCR dodávejte samostatnou zkumavku krve	



**Příloha č. 2:** Graf vývoje denních teplot v Českých Budějovicích od 30. 8. do 20. 9. 2015



Data jsou získána z Informačních stránek Českého hydrometeorologického ústavu.