



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

**Fakulta biomedicínského inženýrství
Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva**

Nejčastější původci infekcí močových cest u dětí

The most frequent causes of urinary tract infection in children

Bakalářská práce

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví
Studijní obor: Zdravotní laborant

Vedoucí práce: MUDr. Jan Langer

Pavla Hybšová

Kladno, květen 2018

Zadání bakalářské práce

Student: **Pavla Hybšová**
Obor: Zdravotní laborant
Téma: **Nejčastější původci infekcí močových cest u dětí**
Téma anglicky: The Most Frequent Causes of Urinary Tract Infection in Children

Zásady pro vypracování:

Předem bakalářské práce bude určení původců infekcí močových cest u dětí v závislosti na jejich věku, klinickém obrazu a lokalizaci infekce. Porovnání podílů jednotlivých původců infekce v závislosti na věku dítěte, na tom zda se jedná o děti s primoatakou či recidivou IMC, na tom zda se jedná o děti s normální morfologií močových cest nebo děti, které mají vrozené vývojové vady urogenitálního traktu. Dále se budu zabývat citlivostí vyvolavatelů bakterií ve stejných souvislostech. V další části obecného pojednání se budu zabývat definicí, nomenklaturou, výskytem a hlavně diagnostikou IMC.

Praktická část se bude pojednávat o způsobech odběru moče, metodice mikrobiologického a mikroskopického vyšetření moče - kvantitativní bakteriurie a stanovení antibiotické citlivosti jednotlivých původců.

Seznam odborné literatury:

- [1] SEEMAN, Tomáš, JANDA, Jan . Dětská nefrologie, Mladá fronta a.s., 2015, ISBN 978-80-204-3360-2
- [2] TEPLAN, V., HORÁČKOVÁ, M., JANDA, J. et al. , Infekce ledvin a močových cest v dospělém a dětském věku, Praha: Grada , 2004, ISBN 80-247-0566-4
- [3] JANDA, J., BÉBROVÁ, E., Jak vyšetřovat moč při podezření nebo již prokázané infekci močových cest, ed. Čes-slov Pediatr 2017, 72(1), 5-7, ISSN 1803-6597

Zadání platné do: 13.09.2019

Vedoucí: MUDr. Jan Langer

vedoucí katedry / pracoviště

děkan

V Kladně dne 25.10.2017

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem Nejčastější původci infekcí močových cest u dětí vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů, které uvádím v seznamu bibliografických odkazů.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon).

V Kladně dne 14.05.2018

.....
Pavla Hybšová

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala MUDr. Janu Langerovi, za odborné vedení mé bakalářské práce, za konzultace a cenné rady. Rovněž bych ráda poděkovala pracovníkům laboratoře klinické mikrobiologie a ATB centra ve Všeobecné fakultní nemocnici v Praze.

Abstrakt

Infekce močových cest (IMC) patří k velice častým infekcím dětského věku (až 8% dívek a 2% chlapců ve věku do 8 let). Infekce horních cest močových (např. akutní pyelonefritida) mohou vést k tvorbě jizev, hypertenzi a chronickému onemocnění ledvin. V této práci jsem se zabývala nejčastějšími původci infekcí močových cest u dětí s a bez vrozených vad uropoetického traktu. V naší studii jsme retrospektivně hodnotili diagnostiku, etiologii a antibiotickou terapii IMC v souboru 144 dětí hospitalizovaných na KDDL v letech 2016-2017. Nejčastějším původcem IMC je *Escherichia coli* (v souladu s publikací Edlin RS, 2013), následován *Pseudomonas aeruginosa* a *Klebsiella pneumoniae*.

Klíčová slova

Antibiotika, bakteriurie, diagnostika, infekce močových cest, kultivace, původci

Abstract

Urinary tract infections (UTIs) are one of the most common pediatric infections (up to 8 % of girls and 2 % of boys under the age of 8). Upper urinary tract infections (e.g. acute pyelonephritis) can lead to scarring, hypertension and chronic kidney disease. My thesis deals with the most common urinary tract infection agents in children born with and without congenital disorder of uropoetic system. In our study we have retrospectively evaluated diagnostics, etiology and UTIs antibiotic therapy in the group of 144 children hospitalized in pediatric and adolescent medicine clinic between 2016 and 2017. The most common etiologic agent of UTIs are *Escherichia coli* (according to Edlin RS publication, 2013), followed by *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*.

Keywords

Antibiotics, bacteriuria, diagnostics, urinary tract infections, cultivation, agents

Obsah

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | Úvod..... | 9 |
| 2 | Současný stav | 10 |
| 2.1 | Definice a terminologie..... | 10 |
| 2.2 | Výskyt IMC..... | 11 |
| 2.3 | Etiologie a patogeneze IMC | 11 |
| 2.4 | Klinický obraz IMC | 13 |
| 2.5 | Diagnostika..... | 14 |
| 2.5.1 | Anamnéza..... | 14 |
| 2.5.2 | Fyzikální vyšetření..... | 14 |
| 2.5.3 | Chemické vyšetření moči | 15 |
| 2.5.4 | Laboratorní vyšetření krve | 16 |
| 2.5.5 | Zobrazovací metody | 16 |
| 2.5.6 | Mikroskopické vyšetření..... | 18 |
| 2.5.7 | Kultivace moče..... | 20 |
| 2.6 | Léčba IMC..... | 21 |
| 2.7 | Nejčastější bakterie způsobující IMC..... | 23 |
| 2.7.1 | <i>Escherichia coli</i> | 23 |
| 2.7.2 | Rod <i>Klebsiella</i> | 24 |
| 2.7.3 | Rod <i>Enterobacter</i> | 24 |
| 2.7.4 | <i>Proteus mirabilis</i> | 25 |
| 2.7.5 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 25 |
| 2.7.6 | Rod <i>Staphylococcus</i> | 26 |
| 2.7.7 | Rod <i>Enterococcus</i> | 26 |

| | | |
|-------|--|----|
| 2.7.8 | Rod <i>Streptococcus</i> | 26 |
| 2.8 | Citlivost mikroorganismu na antimikrobiální látky..... | 27 |
| 2.9 | Rezistence mikroorganismu..... | 28 |
| 3 | Cíl práce..... | 29 |
| 4 | Metodika | 30 |
| 4.1 | Soubor pacientů | 30 |
| 4.2 | Vyšetření moče | 31 |
| 4.2.1 | Odběr a transport moče..... | 31 |
| 4.2.2 | Kultivace | 32 |
| 4.2.3 | Identifikace pomocí MALDI-TOF..... | 34 |
| 4.3 | Stanovení citlivosti mikroorganismů..... | 35 |
| 4.3.1 | Disková difúzní metoda..... | 36 |
| 5 | Výsledky..... | 37 |
| 5.1 | Zpracování dat | 37 |
| 6 | Diskuze | 48 |
| 7 | Závěr | 53 |
| 8 | Seznam použitých zkratk..... | 54 |
| 9 | Seznam použité literatury..... | 55 |
| 10 | Seznam použitých obrázků | 61 |
| 11 | Seznamu použitých tabulek | 62 |

1 ÚVOD

Infekce močových cest je druhá nejčastější bakteriální infekce diagnostikovaná jak v rámci ambulantní, tak lůžkové pediatrické praxe. Závažný je především zánět horního úseku močového traktu - akutní pyelonefritida (APN), která je spojená s celkovou zánětlivou odpovědí organismu, teplotou a může způsobit zejména při opakovaných zánětech ireverzibilní poškození ledviny v podobě jizvení parenchymu.

Pravděpodobnost tohoto poškození ledvin je větší u dětí mladších než 2 roky a u dětí s vrozenými anomáliemi ledvin, především s vezikoureterálním refluxem (VUR).

Cílem práce je určit nejčastější původce infekce močových cest (IMC) v dětském věku v závislosti na tom, zda se jedná o primoataku či recidivu IMC, zda se jedná o IMC komplikovanou (spojenou s vrozenou vývojovou vadou uropoetického traktu - VVV UPT), či nekomplikovanou, bez průkazu takové vady.

2 SOUČASNÝ STAV

2.1 Definice a terminologie

Jako infekci močových cest (IMC) označujeme bakteriální, nespecifický zánět v oblasti uropoetického traktu (UPT) ledviny, ledvinné pánvičky, močovodu, močového měchýře a močové trubice. (1) Hlavním atributem a diagnostickým kritériem IMC je přítomnost mikrobů (nejčastěji bakterií) v uropoetickém traktu, který je normálně sterilní. (4) Z praktického hlediska se jedná o nález významné bakteriurie, tedy počet bakterií v 1 ml moče v závislosti na způsobu odběru moče. (4) (viz. tabulka č. 1)

Tabulka 1: Odběry moče (5, upraveno)

| Odběr moči | Významná (signifikantní) BU |
|-------------------------------------|---|
| Střední proud | $\geq 10^5$ /ml |
| Cévkovaná moč | $\geq 10^4$ /ml |
| Suprapubická punkce | Jakékoliv množství bakterií je významné |
| Moč ze sterilního adhezivního sáčku | 10^{6-7} /ml v monokultuře, zvláště Pseudomonas a Enterokok, ale jen nouzové řešení |

IMC se podle lokalizace infekce a příznaků dělí na infekci dolních močových cest - cystitis, kde infekce je omezena na močový měchýř a ureteru. Infekci horních močových cest - pyelonefritis (PN), u které zánět postihuje parenchym ledvin. Oba mohou být akutní i chronické. (4)

Jako asymptomatická bakteriurie se označuje opak. Záchyt významné bakteriurie při bezpříznakovém průběhu a při normální anatomii a funkcí UPT. (4)

Akutní fokální bakteriální nefritida (AFBN) - diagnóza v podstatě sonografická – klinicky akutní PN a při sonografickém vyšetření průkaz kulovitěho hypoechogenního ložiska se sníženou krevní perfuzí. Jedná se o přechod mezi akutní PN a abscesem ledviny. (4)

Podle klinického hodnocení dělíme IMC na nekomplikované: normální anatomie a funkce ledvin a vývodných močových cest a komplikované:

- Přítomnost vrozené vývojové vady (VVV) UPT
- Poruchy odtoku moči (obstrukce anatomická či funkční)
- Stavy po operaci UPT, imunosuprimovaní pacienti (4)

2.2 Výskyt IMC

IMC je nejčastějším onemocněním UPT vůbec a u dětských nemocí je na 2. – 3. místě. (1) IMC před pubertou prodělá 3 – 5 % dívek a 1 – 2 % chlapců. (5, 6) Prevalence IMC u febrilních dětí pod 24 měsíců je 3 – 5 % v závislosti na věku a pohlaví dítěte. U chlapců pod 1 rok 3 %, nad 1 rok 2 %. Dívky pod 1 rok 7 % a nad 1 rok 8 %. (7) Pouze v prvních měsících věku jsou častěji postiženi chlapci než dívky, v dalším věku výrazněji převažuje postižení dívek. (16)

2.3 Etiologie a patogeneze IMC

Nejčastějšími vyvolavateli IMC u dětí jsou gramnegativní bakterie. (1) Z 80 % případů je IMC způsobena střevní bakteriální florou, a to především *Escherichia coli*. Další gramnegativní kmeny jsou *Proteus*, *Pseudomonas* a *Klebsiella*. (9) Méně často jsou přítomny grampozitivní *Staphylococcus saprophyticus* a streptokoky. U oslabených jedinců mohou IMC vyvolat i méně virulentní bakterie, například

Gardnerella vaginalis, *Haemophilus sp.*, *Acinetobacter sp.*. U zavedených močových katetrů bývají původci IMC gramnegativní bakterie a to rody *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Serratia* nebo grampozitivní *Staphylococcus aureus*. (10)

Podíl jednotlivých kmenů se liší především klinickým obrazem, zda se jedná o akutní, recidivující či chronickou IMC. Rezistentní a atypické kmeny (jiné, než *Escherichia coli*) jsou naopak častější u dětí s funkční či anatomickou poruchou odtoku (obstrukční uropatie, vezikoureterální reflux (VUR), neurogení dysfunkce dolních močových cest, pacienti s dlouhodobě zavedeným katetrem). Zde klesá podíl *Escherichia coli* a stoupá podíl ostatních patogenů. (12)

Vstupní branou pro bakterie je nejčastěji zevní ústí močové trubice odkud se dostávají ascendentní cestou přes močový měchýř, močovody až do pánvičky a parenchymu ledvin. U novorozenců a kojenců může infekce vzniknout cestou hematogenní. (1,3) U rizikových dětí se infekce močových cest vyskytuje mnohem více než u ostatních dětí. Rizikové skupiny mohou být děti s vrozenými vývojovými vadami močového ústrojí, s urolitiázou, s oslabenou imunitou a se špatnými hygienickými návyky. (16)

Okolí močového ústrojí je obvykle osídleno grampozitivními i gramnegativními mikroorganismy. (9) Za normálních okolností nejsou obsaženy v močovém měchýři. Po vniknutí mikroba do močového měchýře, kde je teplota 37 °C, se začnou okamžitě pomnožovat. Důvody vniknutí mikroba jsou různé. (1)

Nejčastější příčina vniknutí mikroba do močového měchýře je dysfunkce dolních močových cest, které jsou provázeny vysokým rizikem recidivující IMC. (3) Dysfunkce dolních močových cest způsobuje také nedokonalé vyprazdňování močového měchýře tak zvané postmikční reziduum a to má za následek možnost pomnožení bakterií bez účinné možnosti vyprázdnění již kontaminované moče.

(9) Při poruše vyprazdňování zde spolupůsobí i přestavbové procesy a ischemizace stěny při přetrvávajícím zvýšeným intravezikálním tlaku. (3)

Dalším nepříznivým faktorem, který se může podílet na zvýšeném výskytu IMC je porucha vyprazdňování stolice, začátek pohlavního života, vezikovaginální reflux u dívek. (13) Mezi nejrizikovější faktory patří vezikoureterální reflux, ten se vyskytuje až u 50 % dětí s recidivujícími infekcemi močových cest. (3, 13) Vezikoureterální reflux je patologický stav kdy se moč vrací z močového měchýře do ledvinné pánvičky, sběrných kanálek až do parenchymu ledviny - tak zvaný intrarenální reflux. (9)

Je prokázáno, že obřízky u chlapců snižují frekvenci IMC, protože *Escherichia coli* dokáže přichytit se k předkožce a tím lépe se dostat do močového měchýře. (1) Některé bakterie (protea) produkují ureázu, která uvolňuje amoniak z močoviny. Moč se tímto procesem stává alkalická a vytváří krystalizaci fosfátů. (42)

Při opakovaných akutních pyelonefritidách je vysoké riziko vzniku pospyelonefritických jizev. Čím častější akutní pyelonefritida, tím více stoupá frekvence jizev. Při první atace akutní pyelonefritidy má jizvy jen 5 – 10% dětí. (15) Děti se 4. a více atakami mají jizvy až v 60 %. (18)

2.4 Klinický obraz IMC

U starších dětí, které nám mohou popsat své obtíže je charakteristický údaj při IMC dolního segmentu – akutní cystitidě, dysurie, strangurie, polakisurie, mohou být bolesti v podbříšku a může se objevit sekundární enuréza. Popisované jsou také změny barvy, zápachu a zakalení moče. Teplota bývá normální, nebo jen zvýšená. Naopak u akutní pyelonefritidy je prakticky vždy charakteristickým příznakem teplota. Mohou být příznaky připomínající onemocnění gastrointerstinálního traktu – bolesti břicha, zvracením, průjem, bolesti v bederní krajině. Výjimku tvoří malí novorozenci, kde příznaky mohou být

nespecifické - může být naopak hypotermie, neklid, dráždivost, nebo naopak apatie a zhoršení icteru. (19)

2.5 Diagnostika

2.5.1 Anamnéza

U dětí s podezřením na IMC nám anamnestické údaje napomáhají ke správné diagnostice a léčbě. Důležité je rozpoznat, zda jde o primární problém nebo IMC, které jsou komplikace dalšího onemocnění. Anamnéza se rozděluje na rodinnou, osobní a sociální. Rodinná anamnéza může ukázat souvislosti se vznikem infekcí močových cest vyšetřovaného pacienta. Pátrá se po různých dědičných onemocnění související s ledvinami či močového ústrojí. Choroby predisponující pro IMC patří dědičná cystická onemocnění ledvin a anomálie vývodných močových cest, ale patří sem i genetická onemocnění, jako je diabetes mellitus, hyperurikemie spojená s hyperurikosurií a hypertenze vedoucí k poškození ledvinové tkáně. (1) Ví se, že i vezikoureterální reflux má genetickou predispozici a familiární výskyt. Riziko postižení dětí rodičů, kteří měli sami vezikoureterální reflux je 30-50%. (46) V osobní anamnéze se zajímáme o časovém údaji, věku a o přidružené chorobě, které mohou za vznik a přetrvávání IMC. Sociální anamnéza se zabývá hygienickými návyky dítěte. (1)

Při vedení anamnestických dat je potřeba vést co nejpřesnější výpovědi od prvního příznaku. (1)

2.5.2 Fyzikální vyšetření

U fyzikálního vyšetření moče posuzujeme barvu moči, čirost, zákal a zápach. Červená barva moči může být způsobena příměsí krve, ale může být způsobena požitím jídla jako například červená řepa, borůvky. Kalná moč s bublinkami v čerstvé moči poukazuje na infekci močového traktu. (9) Často jediným příznakem u malých dětí je teplota. Cíleně pátráme po pozitivitě tapotamentu,

bolestivost nad ledvinou při palpaci, bolestivost palpance nad symfýzou. (7) Pečlivě vyšetřujeme lumbosakrální oblast, zejména u recidivujících IMC, kde i malá patologie v této lokalizaci může budít podezření na procesy v kaudálním úseku míchy vedoucí k dysfunkci DMC a následně vyžadující další vyšetření a zobrazení. Stejnou pečlivost věnujeme genitálu – u dívek, synechie vulvy, vaginální fluor, známky vulvitidy, intertrigo, u chlapců pak stav předkožky – fimóza, konglutinace, balanitida, umístění a stav meatu. (9)

2.5.3 Chemické vyšetření moči

U dětí s podezřením na infekci močových cest se provádí chemické vyšetření moči. Chemické vyšetření patří mezi základní vyšetření. (3) Ambulantně se používají tzv. indikátorové (diagnostické) proužky. Toto vyšetření stanoví pH moči, přítomnost krve, bílkovin, urobilinogenu, ketonů a glukózy. Pro posouzení IMC nám napomáhá stanovení pH, přítomnost bílkovin a krve, ale to je nespecifické, typickým nálezem při infekci močových cest je:

a) pozitivní esterázová reakce (pyúrie)

b) pozitivní nitritová reakce (významná bakteriurie). (7)

- Leukocytární esterázový test má vysokou senzitivitu 67 - 94 % nižší specifita

- Dusitany - nižší senzitivita, 16 – 82 %, ale vysoká specifita 90 – 100 %

- Krev a bílkovina – nízká senzitivita i specifita (7)

V ambulancích se výsledek odečítá okem, v laboratořích se výsledek měří na principu reflexní fotometrie. (14)

2.5.4 Laboratorní vyšetření krve

Doporučuje se vyšetřovat u akutní pyelonefritidy – CRP, FW, prokalcitonin, KO, parametry renálních funkcí, iontogram. U malých dětí je vhodné také vyšetření hemokultury. (26)

Diferenciální diagnostika mezi akutní pyelonefritidou a cystitidou

Pro akutní pyelonefritidu je nutná horečka a jeden zvýšený parametr zánětu.(26)

1. Horečka nad 38 °C
2. a) Zvýšená sedimentace erytrocytů nad 25/hod.
b) Zvýšené CRP
c) Nebo leukocytóza s posunem do leva (26)

Všechny tyto testy jsou ale nespecifické. Senzitivita je kolem 80 – 100%, ale specifita pod 28%. (26) Jako vhodnější marker zánětu pro diagnostiku APN, se ukazuje prokalcitonin. (27, 28) Ten se pohybuje u APN $4,48 \pm 5,84$, zatím co u cystitidy $0,44 \pm 0,30$. (29) Jeho senzitivita je 95% a specifita prokalcitonin 74% ($<0,5$), zatím co specifita CRP 39% (< 20) a u sedimentace 48% (< 30). (30) Některé práce prokazují i závislost výšky prokalcitoninu na vzniku jizev se senzitivitou 79% a specifitou 50%. (31)

2.5.5 Zobrazovací metody

1. Ultrasonografické vyšetření (USG)

Nejšetnější, nejdostupnější a nejméně invazivní je ultrazvukové vyšetření ledvin a močových cest. Konvenční ultrazvukové vyšetření je pro přínos dg. APN málo citlivé, ale při použití vysokofrekvenčního přístroje spolu s dopplerovským vyšetřením lze prokázat akutní pyelonefritické změny v 87%. Jeho časná indikace

spočívá především v časném odhalení patologie v UPT či přítomnost AFBN a odlišení tak nekomplikované pyelonefritidy od komplikované. (32)

2. Statická scintigrafie ledvin

Pro detekci renálních kortikálních změn je statická scintigrafie ledvin pomocí ^{99m}Tc DMSA (kyselina dimerkaptojantarová) nejpoužívanější vyšetřovací metoda. Kvalitní zobrazení ledvin při tomto vyšetření je dáno fixačním mechanismem DMSA v parenchymu ledvin, kde setrvává delší dobu. Matematické zpracování umožňuje přesné stanovení poměru separované funkce ledvin. (33)

Indikací k vyšetření z hlediska infekce močových cest je detekce změn parenchymu při akutní pyelonefritidě (většinou k potvrzení diagnózy při nejasných nálezech). V těchto případech je tato metoda výrazněji citlivější než sonografické vyšetření a je senzitivitou srovnatelná s CT a MR vyšetřením. CT vyšetření má ale mnohonásobně vyšší radiační zátěž a u MR vyšetření je stále limitující jeho cena, relativní časová náročnost a nutnost sedace dítěte během vyšetření. (34, 35) Změny parenchymu prokazuje s citlivostí 86% a specifitou 91%. Většinou ale neodliší akutní změny parenchymu od chronických. Hlavním významem statické scintigrafie ledvin je ale zobrazení trvalých postpyelonefritických změn - jizev u chronického postižení ledvin (6 a více měsíců po akutním infektu). (36)

3. Dynamická studie ledvin

Za použití ^{99m}Tc -MAG3 (merkaptacetyltriglycin) je indikován především u tak zvaných obstrukčních uropatií. Umožňuje stanovení diferenciální – separované funkce ledvin a zhodnotit odtokové poměry. (37)

4. Mikční cystouretrografie (MCUG)

Je klasická metoda k průkazu vezikoureterálního refluxu (VUR). Současně umožňuje popis močového měchýře a při mikci pak i uretry. Její indikace byla v minulosti daleko častější než dnes. V současnosti neindikujeme vyšetření MCUG u primoatoky nekomplikované APN. (38)

Indikace k vyšetření je selektivní a jen u vybraných pacientů:

- Vždy u recidivy APN
- U primoatoky APN v případě patologické ultrasonografie (USG)
- U atypické APN (septický průběh infekce, opožděná odpověď na podané ATB delší než 48 hodin, infekce non *Echerichia coli* etiologie, zvýšený sérový kreatinin). (38)

Indikace vyšetření je buď časná, to je již během úspěšné léčby ATB s poklesem teplot a bakteriologicky negativních močí, nebo odložená po 4 - 6 týdnech po prodělané infekci. (38)

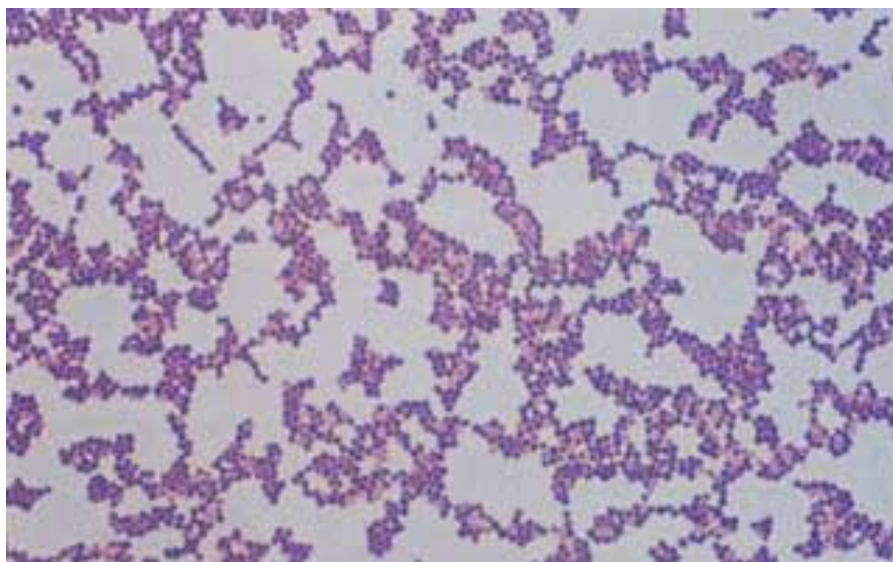
5. Magnetická rezonance (MR)

Vyšetření magnetickou rezonancí představuje nejdokonalejší a nejdetailnější zobrazení UPT. Na rozdíl od statické scintigrafie umožňuje odlišit jizvy renálního parenchymu již v časném stadiu. Problémem je dostupnost vyšetření, jeho cena a nutnost celkové anestezie u malých dětí. (39)

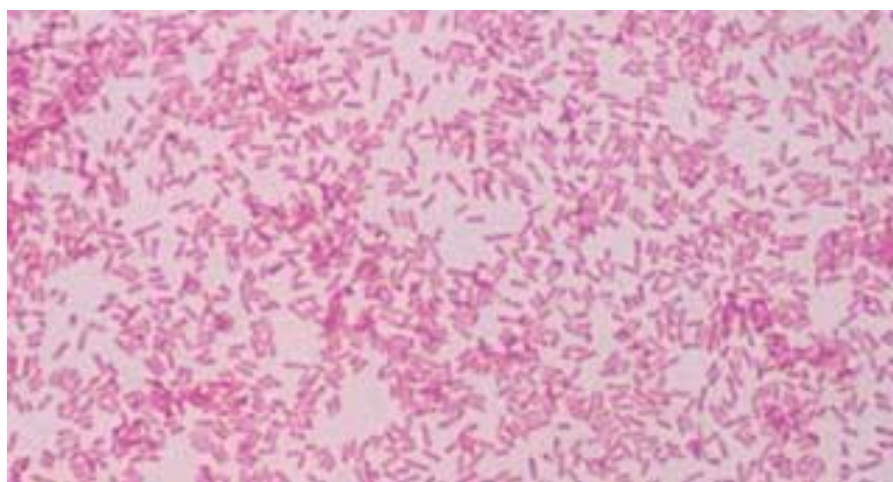
2.5.6 Mikroskopické vyšetření

Mezi další metody patří vyšetření močového sedimentu, který doplňuje informace získané z chemického vyšetření moče. Vyšetření v laboratoři se především provádí na automatických analyzátorech z nezahuštěných vzorků moče. Principem stanovení je buď průtoková cytometrie nebo softwarová analýza

digitálního mikroskopického obrazu vytvořeného digitální kamerou. Další metodou je klasické mikroskopické vyšetření prováděné po zahuštění centrifugací. Mikroskopování lze provádět s nativním vzorkem nebo po obarvení metodou barvení dle Grama. (14) Pomocí Gramova barvení dokážeme odlišit grampozitivní a gramnegativní bakterie. Mechanismus barvení spočívá v rozdílné rozpustnosti buněčné stěny grampozitivních a gramnegativních bakterií. (20) Výsledky barvení viz obrázek 1 a 2.



Obrázek 1: Grampozitivní bakterie (zdroj: 48)



Obrázek 2: Gramnegativní bakterie (zdroj: 48)

Mikroskopické vyšetření ukazuje počet elementů, přítomnost bakterií, krystalů a válců v 1 μ l. (2) Válce jsou obvykle ledvinového původu a přítomnost v moči svědčí o postižení ledvin. Vyšetření můžeme rozlišit na semikvantitativní vyšetření po odstředění moče a na kvantitativní vyšetření dle Hamburgera. U semikvantitativního vyšetření bereme fyziologický nález 1 - 2 erytrocytů, 0 - 5 leukocytů u žen a 0 - 1 leukocytů u mužů v jednom zorném poli. Vyšetření dle Hamburgera spočívá ve sbírání moči v časovém horizontu 3 hodin a do laboratoře se dodává celé množství. Podle Hamburgera se vyšetřuje počet elementů za 1 minutu. Hodnoty erytrocytů do 2000/min., leukocyty do 4000/min., válce do 60-70/min. Leukocyturie je charakteristická pro bakteriální intersticiální nefritidu nebo pro infekce močových cest. (17)

2.5.7 Kultivace moče

Kultivace patří mezi metody přímého průkazu bakterie. Cílem je izolovat původce v čisté kultuře, která je důležitá pro jeho identifikaci. Objevující se kolonie na pevné půdě značí přítomnost bakterií. Pro kultivaci jsou důležité dodržet podmínky kultivace. Optimální teplota pro kultivaci je 37 °C a délka kultivace je obvykle 18-24 hodin. Další podmínky pro kultivaci je vlhkost a atmosféra. (43)

Kultivační půdy se rozdělují na tekuté a tuhé půdy. Tekuté půdy slouží převážně k pomnožení bakterií. Tuhé půdy se rozdělují na diagnostické a selektivní půdy. Diagnostické půdy slouží k izolaci jednotlivých druhů bakterií a jejich k částečné identifikaci. Mezi diagnostické půdy řadíme krevní agar. Krevní agar nám napomáhá určit hemolytický charakter. Hemolýza se rozděluje na alfu, betu a gamu. Alfa hemolýza se vyznačuje nazelenalými zónami kolem kolonií, beta hemolýza projasnění agarů s jasnými obrysy kolem kolonií a gama hemolýza se nevyznačuje žádnou změnou. Selektivní půdy podporují růst určitých druhů

bakterií a potlačují nežádoucí bakterie. Mezi selektivní půdy řadíme například Endova půda, Löwensteinova-Jensenova půda. (44, 22)

Na závěr lze původce dourčit tzv. biochemickými testy popřípadě nejnovější metodou MALDI-TOF (viz. metodika). (44)

2.6 Léčba IMC

V případě podezření na infekci močových cest – zejména na APN by měla být léčba zahájena hned po odebrání vzorku moče na mikrobiologické vyšetření. Již jedna dávka antibiotika či chemoterapeutika může mít za následek kultivačně negativní moč i přes to, že je infekce přítomna. Cílem léčby je eliminace infekce. Je řada prací, které upozorňují na nezbytnost včasného zahájení antibakteriální léčby a souvislost s vznikem jizev, jejichž výskyt je přímo úměrný délce intervalu od objevení se teplot k zahájení léčby. (40, 41)

U malých dětí – novorozenců a kojenců je preferováno alespoň zahájení terapie parenterálním - intravenózním podání antibiotika. (9)

Parenterální podávání antibiotik je doporučeno u:

- Novorozenci a kojenci do 3 měsíců
- Zvracení, průjem
- Odmítání tekutin a stravy
- Podezření nebo průkaz VVV UPT nebo jeho funkční poruchy
- Nespolupráce rodiny/pacienta
- AFBN/absces ledviny (9)

Existují ale texty, podle kterých není rozdíl mezi:

- parenterální léčbou
- iniciální (3-4 dny) parenterální léčbou + per orální léčbou
- per orální léčbou (5)

V naprosté většině není před nasazením antibiotické léčby znám výsledek kultivace moče s citlivostí na daná antibiotika. Volba antibiotika je proto ve většině případů empirická a je možno jí následně upravit podle výsledků kultivace moče.

(2) Doporučená délka léčby je 10 – 14 dní. U novorozenců podáváme nitrožilně kombinaci gentamycinu a ampicilinu. Dávkování antibiotik záleží na váze a postnatálním věku. (1)

U některých pacientů s recidivujícími nebo chronickými IMC, nebo při VVV UPT se doporučuje dlouhodobá antibakteriální profylaxe menšími dávkami ATB nebo chemoterapeutik. (47)

Indikací k chemoprofylaxi jsou:

- kojenci a batolata při primotace akutní pyelonefritidy indikování k mikční cystouretrografie (MCUG)
- některé děti s VUR
- některé děti s recidivou IMC (47)

Podpůrná léčba spočívá především v rehydrataci, dle potřeby i parenterální a ve snižování teploty antipyretiky. U akutní pyelonefritidy má přednost paracetamol před nesteroidními antiflogistiky. Nesteroidní antiflogistika působí inhibicí cyklooxygenázy, které se používají na bolest se zánětlivou složkou nebo bez ní. Z hlediska léčby a i dlouhodobé prevence je nutná úprava pitného a mikčního režimu, léčba poruchy vyprazdňování, léčba dysfunkce, dysfunkce močových cest, probiotika, imunostimulace, u dívek kontrola hygienických

návyků při mytí. Mezi prevence dále patří účinná rostlinná barviva (flavonoidy, anthocyany) obsažená v brusinkách, která zabraňují adherenci organismů na urotel. (3)

2.7 Nejčastější bakterie způsobující IMC

Nejčastější původci IMC jsou enterobaktérie, pseudomonády, mikrokoky a streptokoky. (45)

Tabulka 2: Nejčastější patogenní bakterie močových cest. (45, upraveno)

| Gramnegativní bakterie | |
|------------------------|---|
| Enterobacteriaceae | <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i> <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>E. aerogenes</i> <i>Proteus mirabilis</i> , <i>P. stuartii</i> <i>Morganella morganii</i> <i>Citrobacter freundii</i> , <i>C. diversus</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>P. spp.</i> |
| Grampozitivní bakterie | |
| Micrococcaceae | <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> |
| Streptococcaceae | <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>E. faecium</i> <i>Streptococcus viridans</i> |

2.7.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli patří mezi gramnegativní fakultativně anaerobní tyčky. Kultivace této bakterie je snadná a roste na různých půdách. Na Endově agaru se vytvářejí purpurové kolonie. Dokáže rozkládat glukosu a laktózu a tvoří indol. *Escherichia coli* se nachází ve střevní mikroflóře zdravých lidí a přenáší se fekálně orální cestou. Mimo střevo se může stát patogenní bakterií, kde může způsobit chorobní stavy. Podílí se na tvorbě vitamínu K. (25)

Escherichia coli se rozděluje podle patogenního působení ve střevě. (25)

Dělí se na kmeny:

- EPEC (enteropatogenní)
- ETEC (enterotoxigenní)
- EIEC (enteroinvazivní)
- EHEC (enterohemorhagický)
- UPEC (uropatogenní) (25)

Všechny kmeny kromě UPEC způsobují průjmové onemocnění. Kmen UPEC působí mimo střevo a způsobuje močové infekce. Je nejčastější původce uroinfekce. (25) *Escherichia coli* má na povrchu fimbrie, které slouží k přilnutí k předkožce a tím může lépe vniknout do močového měchýře. (42) K léčbě se převážně používají cefalosporiny, chinolony a nitrofurantoin. (25)

2.7.2 Rod *Klebsiella*

Gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky, které jsou lépe adaptovatelné a řadí se mezi závažné nemocniční nákazy a jako druhý nejčastější původce IMC. Mohou způsobit i infekce dýchacích cest. Snadno se dostává do tělních otvorů. Pomocí barvicí techniky můžeme vidět pouzdra. V krevním agaru bývají kolonie bílé a mukózní. *Klebsielly* obsahují fimbrie, které stejně jako u *E. coli* napomáhají k adhezi na epitel střev nebo močového měchýře. Na kultivační půdě rostou bílé hlenovité kolonie. Diagnosticky je důležité prokázat produkce betalaktamas. Přenášejí se fekálně orální cestou a kontaktem. *Klepsiella* reaguje na cefalosporiny IV. generace, chinolony, trimoxalem, aminoglykosidy a tetracykliny. (25)

2.7.3 Rod *Enterobacter*

Enterobakterie patří mezi nejběžnější bakterie lidského střeva. Nejvýznamnější jsou *Enterobacter cloacae*, *E. aerogenes*, *E. sakazakii*. Jde o gramnegativní tyčinky,

dobře adaptovatelné na život ve střevě. Biochemicky jsou podobné rodu *Klebsiella*, jsou však pohyblivé. Mimo střevo jsou patogenní, často endogenně. Jejich diagnostika je založena na kultivaci a biochemických testech. (25)

2.7.4 *Proteus mirabilis*

Gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky, významné svou proteolytickou aktivitou a výrazným zápachem. Od enterobakterií se liší jen svou pohyblivostí, která je umožněna pomocí bičíků. Na kultivačních půdách se projevují plazivým růstem tzv. Raussův fenomén. Tento fenomén můžeme pozorovat na krevním i Endově agaru. *Proteus* tvoří jak indol, tak sirovodík. *Proteus* je ve střevě brána jako běžná flóra, kde při poruše rovnováhy může způsobit průjemy. Mimo střevo se stává patogenem a může způsobit infekce močových cest, infekce ran a u novorozenců sepsi. Přenáší se především fekálně orální cestou. *Proteus mirabilis* je citlivý na antibiotika především na cefalosporin, ale objevují se primární rezistence na nitrofurantoin. (25)

2.7.5 *Pseudomonas aeruginosa*

Gramnegativní nefermentující bakterie, která je nejčastější druh celého rodu. Vyskytuje se především ve vodách, v půdě a ve velkém množství v nemocnici, kde kontaminuje katétry, dýchací přístroje a infuzní roztoky. Zařazuje se mezi nosokomiální nákazy. Kultivace této bakterie je snadná. Mají typický vzhled: kovový lesk, beta-hemolýza, pigmentace, zápach. Z biochemické aktivity štěpí řadu cukrů a má oxidázovou, katalázovou a ureasovou aktivitu. *Pseudomonas aeruginosa* může způsobit infekci jakéhokoliv orgánu. Má schopnost přijímat geny od jiných mikrobů a předávat dalším kmenům, které způsobují rezistenci na antibiotika. K léčbě se používají především protipseudomonádové peniciliny, cefalosporiny III. a IV. generace, protipseudomonádové aminoglykosidy nebo fluorochinolony. (25)

2.7.6 Rod *Staphylococcus*

Grampozitivní koky ve velmi krátkých řetízích, v párech nebo jednotlivě uspořádané. V roce 2003 bylo nalezeno 47 existujících stafylokoků, které jsou rozděleny na dvě skupiny podle schopnosti koagulovat plazmu: koagulasapozitivní a koagulasanegativní. Mezi koagulasapozitivní řadíme *Staphylococcus aureus*. Zbylé další jsou zvířecího původu, které nalézáme jen výjimečně (například pokousáním psem). Jako koagulasanegativní stafylokoky řadíme *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. sciuri* a mnoho dalších. (25)

2.7.7 Rod *Enterococcus*

Grampozitivní, fakultativně anaerobní, oválné koky ve dvojicích, shlucích až řetízích. Rostou na krevním agaru v šedobílých koloniích se zónou viridace. Mají společný antigen D. Jsou součástí střevní flóry, způsobené infekce mohou být jak endogenní i exogenní, často nosokomiální. Infekce způsobené touto bakterií se objevují u dlouhodobě hospitalizovaných pacientů s močovým nebo intravaskulárním katétrem. Bakterie produkují bakteriociny – cytolysin, který zastavuje růst jiných grampozitivních bakterií. K léčbě se doporučuje ampicilin, fluorochinolony, nitrofurantoin. Identifikace je založena kultivací na krevním agaru a pomocí latexové aglutinace lze odlišit od streptokoků. (25)

2.7.8 Rod *Streptococcus*

Grampozitivní, fakultativně anaerobní koky, řadící se do dvojic až řetízků. Citlivé na vankomycin a hemolyzující na krevním agaru. Některé druhy jsou obligátně patogenní. Streptokoky dělíme podle hemolýzy, která může být alfa, beta a gama. Další rozdělení je podle velikosti kolonií a biochemických testů. Mezi významné streptokoky řadíme *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. pneumoniae*, *S. viridans*. Nejčastější vyvolavatel IMC jsou *S. agalactiae*, *S. viridans*, U dospívajících dětí a dospělých způsobují cystitidy a pyelonefritidy. (25)

2.8 Citlivost mikroorganismu na antimikrobiální látky

Antimikrobiální látky (AML) slouží k dlouhodobé léčbě nebo k terapii onemocnění. AML jsou dvojího druhu. Látky přírodního původu, dnes už synteticky vyráběna se nazývají antibiotika a látky chemicky připravena nazývají se chemoterapeutika. Působení antimikrobiálních látek může být:

- mikrobistatické – zastavují růst a množení mikroorganismů
- mikrobicidní – usmrcují mikroorganismy (24)

Mezi mechanismy mikrobiálních látek patří:

- porucha syntézy nukleových kyselin
- inhibice proteosyntézy
- inhibice syntézy buněčné stěny
- poškození syntézy cytoplasmatické membrány
- kompetitivní inhibice a antagonismus (24)

Stanovení citlivosti respektive rezistence na antimikrobiální látky dělíme na semikvantitativní a kvantitativní metody. Semikvantitativním stanovením se zabýváme v praktické části 4.4 Stanovení citlivosti mikroorganismů. Mezi kvantitativní metody zařazujeme tzv. diluční metody např. agarová diluční metoda, diluční mikrometoda nebo Etest. (24)

Diluční metody slouží ke stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC), tj. stanovení nejnižší koncentrace daného antibiotika, která zamezuje růst mikroorganismu. Výsledné hodnoty se porovnají s kritérii danými výrobcem a vyhodnotí se citlivost mikroorganismu k danému antibiotiku. Test se provádí na půdách, které obsahují zvolené koncentrace antibiotik, převážně antibiotik ředěna dvojnásobnou ředící řadou. Stanovení MIC slouží k určení léčebné dávky antibiotik. (24)

Diluční mikrometoda je podobná diluční metodě. Její výhodou je snadná příprava destiček s různými antibiotiky a jejich koncentracemi. (24)

Etest je kombinace diskové difúzní a diluční metodě. Etest je plastový proužek, na kterém je předdefinovaná koncentrace antibiotika v suchém stavu. Proužek se položí na inokulum, po umístění se antibiotikum postupně uvolňuje do agaru. Hodnota MIC se odečítá v místě překřížení inhibiční zóny se stupnicí na proužku. (24)

2.9 Rezistence mikroorganismu

Rezistence mikroorganismů k AML je celosvětový problém. Jako rezistenci označujeme schopnost mikroorganismu přežít účinek antimikrobiálních látek. Mikroorganismus může mít rezistenci přirozenou (primární) nebo získanou (sekundární). Primární rezistence je geneticky podmíněna a to za příčiny nepropustnosti zevní membrány gramnegativních bakterií pro danou látku, produkce enzymu schopný inaktivovat antimikrobiální látku nebo necitlivost k působení antimikrobiální látky. Více se setkáváme se získanou rezistencí, která vzniká při kontaktu s antimikrobiální látkou. Tato rezistence může vzniknout v důsledku ztráty specifických receptorových struktur. V dnešní době se setkáváme s multirezistencí, kdy je bakterie rezistentní na většinu antimikrobiálních látek. (24)

3 CÍL PRÁCE

Cílem teoretické části je definovat IMC, zhodnotit její výskyt v závislosti na pohlaví a věku dítěte. Dále diagnostika IMC, její etiologie a možnosti dalšího vyšetření dětí s IMC.

V praktické části je cílem určit nejčastější původce IMC v dětském věku, jejich procentuální zastoupení a porovnání etiologických agens u primoatak a recidiv IMC. Dále srovnání původců mezi dětmi s vrozenými vývojovými vadami urogenitálního traktu a dětmi s normální morfologií uropoetického traktu, a pokusit se zhodnotit citlivost původce na jednotlivá antibiotika.

4 METODIKA

4.1 Soubor pacientů

Do souboru jsme zařadili pacienty, kteří byli hospitalizováni na klinice dětského dorostového lékařství VFN a 1. LF UK s akutní pyelonefritidou (diagnóza akutní infekční tubulointersticiální nefritida, dle mezinárodní klasifikace nemocí, diagnóza N10) za období 2 let, v letech 2016 – 2017. Věkové rozmezí dětí bylo od 0 do 18 let. Veškerá mikrobiologická vyšetření byla provedena na pracovišti Všeobecné fakultní nemocnice v Praze v laboratoři klinické mikrobiologie a ATB centra. Soubor pacientů sčítá 144 dětí, z toho 93 dívek a 51 chlapců. Věkové zastoupení jednotlivých kategorií je uvedeno viz. obrázek 6. V našem souboru výrazně převažovaly děti do 1 roku.

Naprostá většina dětí splňovala kritéria pro diagnózu APN, a to jak klinická – teplota nad 38°C, tak i laboratorní – zvýšená zánětlivá aktivita (CRP nad 20 mg/l případně FW nad 25 mm/h), leukocyturie a signifikantní bakteriurie (10⁵ a více kolonií formujících jednotek v 1 ml moče). Do souboru jsme zařadili také 5% - celkem 9 pacientů, kteří sice měli negativní nález v močové kultivaci, ale bylo jim, podáno antibiotikum před odběrem moče. Jinak splňovali všechny námi stanovená kritéria.

Všechny vzorky močí byly testované na močových destičkách Krevní agar – UriSelect, dourčení pomocí MALDI a následně stanovena citlivost na ATB. U všech skupin pacientů je uveden způsob odběru moče (katetrizace, či odběr metodou středního proudu).

Pacienty jsme si rozdělili do 2 skupin – jednak děti s primoatakou akutní pyelonefritidou, jednak děti s recidivou akutní pyelonefritidou. Celkem bylo 46 recidiv u 37 dětí. Tyto 2 skupiny jsme rozdělili opět do 2. podskupin – na děti s primoatakou akutní pyelonefritidy s vrozenou vývojovou vadou ledvin

(10 dětí) a s normálním nálezem na ledvinách a močových cestách ledvin (celkem 110 dětí) a děti s recidivou bez vrozené vývojové vady a s vrozenou vývojovou vadou ledvin (celkem 34 dětí).

U všech skupin pacientů jsme hodnotili etiologické agens samostatně a srovnávali výsledky jednotlivých skupin. Jako celek jsme pak hodnotili citlivost jednotlivých mikrobů.

4.2 Vyšetření moče

V mikrobiologii je důležitý správný odběr moče a následná diagnostika původců infekce. Jako je izolace a identifikace, které jsou rozděleny do několika kroků. (44)

4.2.1 Odběr a transport moče

Pro vyšetření moče je důležité, aby moč byla nějakou dobu v močovém měchýři, kde se bakterie pomnožují. U dospívajících a dospělých lidí se obvykle vyšetřuje střední proud moče ještě před antimikrobiální léčbou. (1) Před odběrem se omyje okolí ústí močové trubice. U dívek se oddálí labia a u chlapců se přetáhne předkožka, aby se zamezilo kontaminaci moče.

Pro kojence a batolata je více možností. Buď se moč sbírá do sběrného sáčku, který je vhodný pro screeningová vyšetření. (2) Druhý způsob je kojence rozbalit před krmením a provést Perézův reflex. *„Perézův reflex – kojeneček se položí břichem na dlaň dospělé osoby, a druhou rukou se prsty přejíždí přes paravertebrální svalové skupiny.“* (1, s. 99) Při této činnosti by se kojeneček měl vymocit do předpřipravené sterilní nádoby. K tomuto odběru jsou ale třeba 3 osoby. (1)

Cévkovaná moč je vhodná u malých dětí, převážně u dívek. Je nutné, aby tuto metodu prováděl odborník. Provádí se vhodnou desinfekcí a povrchovou

neboli topickou anestezií. Moč se odebírá až po pár kapkách, protože první kapky mohou být kontaminované. (8)

Suprapubická punkce se provádí s minimálním rizikem kontaminace, ale v Evropě se nerozšířila. Provádí se vpichem jehlou do močového měchýře 1-2 cm nad symfýzou. (8)

Odběru, skladování a transportu moče se musí věnovat maximální péče a zabránit znečištění moče či smrti bakterií. Vzorek by měl být zpracován nejpozději do dvou hodin po odběru. Při delší časové prodlevě, musí být vzorek uchováván ve 4°C, aby se bakterie nepomnožily. (1)

4.2.2 Kultivace

V dnešní době se převážně používají tzv. močové destičky s chromogenní půdou. Na močových destičkách jsou dva druhy půd. Každá destička obsahuje tři pole UriSelectu a tři pole krevního agaru. Jedna močová destička postačí na tři stanovení. (22)



Obrázek 3: Močová destička s chromogenní půdou (zdroj: vlastní)

UriSelect je neselektivní agar pro identifikaci, izolaci a stanovení počtu původců infekcí močových cest. Je složen z bohatého nutričního základu, obsahující čtyři peptony, které podporují růst bakterií. Dále obsahuje dva chromogenní substráty pro detekci β -galaktosidázy, β -glukosidázy a tryptofan pro detekci produkce indolu. (22)

Krevní agar je složen z 5% beraní krve a Columbia agaru. Slouží jako médium ke kultivaci pro všechny typy vzorků. Přítomnost krve nám umožní průkaz hemolytické reakce bakterií. Půda obsahuje živiny, převážně směs peptonů, které podporují růst náročných bakterií. (22)

Pracovní postup:

Vezmeme si kalibrovanou 1 μ l kličku, ponoříme ji do zkumavky a následně naočkujeme jednu chromogenní půdu a jeden krevní agar. Inkubujeme 18-24 hodin při 37 °C. Po inkubaci destičku vyhodnocujeme. (22)

Vyhodnocení:

Na krevním agaru vyhodnocujeme vzhled kolonie a hemolytický charakter (viz kapitola 2.5.8 Kultivace moče). Na chromogenní půdě vyhodnocujeme jednotlivé rody, které mají svoji specifickou barvu:

E. coli: světle růžová

Enterococcus sp.: tyrkysová

Proteus sp.: oranžově – hnědá

Staphylococcus aureus: bílá

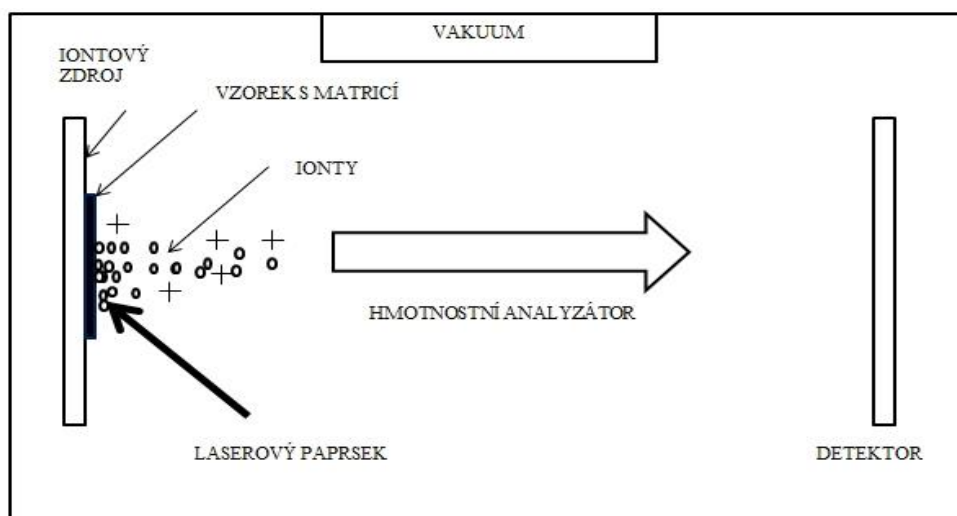
Skupina bakterií „KES*“: modro – fialová

* „KES“ – *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Serratia* sp. (22)

4.2.3 Identifikace pomocí MALDI-TOF

Principem MALDI-TOF je hmotnostní spektrofotometrie s laserovou desorpčí a ionizací s průletovým analyzátozem. Touto metodou dokážeme rychle a přesně identifikovat bakterie, plísně i kvasinky z izolovaného biologického materiálu. Pro identifikaci se používá kolonie mikroorganismu, které se nanese na ocelovou destičku. Tato metoda je velice přesná, rychlá, nákladově efektivní a použitelná pro širokou škálu mikroorganismů. (23,24)

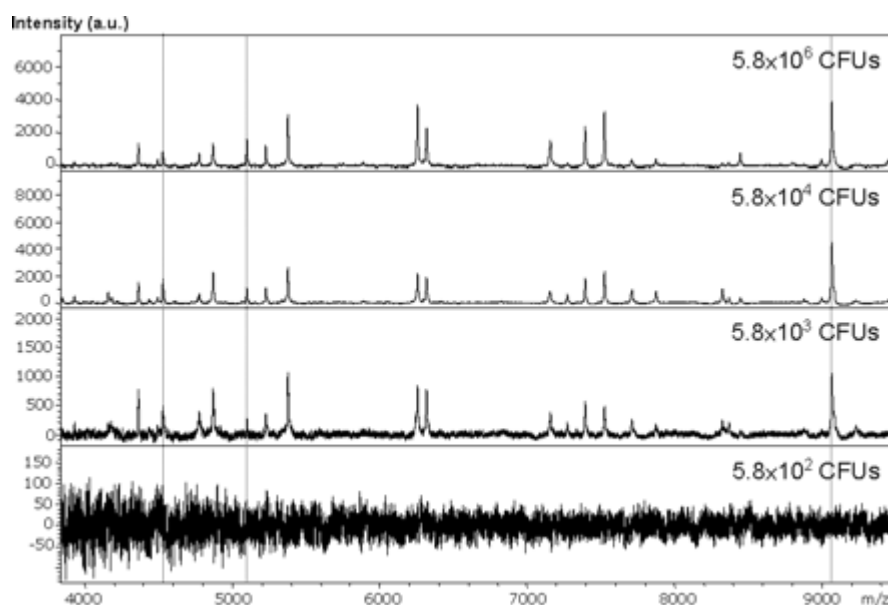
MALDI-TOF je ionizační metoda, kde molekuly jsou ionizovány pomocí matrice (např. 2,5-dihydroxybenzenoová kyselina). K ozáření iontů používáme především UV lasery o vlnové délce 337 nm. Laserovým paprskem se ozáří vzorek s matricí za vzniku kladně nabitých iontů. Vzniklé ionty jsou vnášeny do hmotnostního analyzátozu, kde se počítá doba průletu. Doba letu je úměrná molekulové hmotnosti a náboji iontů. (24)



Obrázek 4: Schéma MALDI-TOF hmotnostního spektrometru (zdroj: 23)

Každé hmotnostní spektrum je charakteristické pro jednotlivé mikroorganismy, které se následně srovnává s referenčními spektry kmenů v databázi MALDI Biotyper. K výsledku vyšetřovaného vzorku je přiřazena

hodnota skóre, která vyjadřuje shodu s referenčním indikátorem v databázi MALDI Biotyper. (24)



Obrázek 5: MALDI-TOF analýza na *E. coli* pro ředění sérii k určení detekční citlivosti (zdroj: 49)

Pracovní postup:

Pomocí párátko nebo špičky pro pipety rozetřeme malé množství biologického materiálu na ocelovou MALDI destičku a přikryjeme 1 μ l roztokem MALDI matricí. Destičku necháme uschnout, poté vložíme do analyzátoru a následně spustíme analyzátor. Hmotnostní spektrum nám identifikuje bakterii z vyšetřovaného vzorku. (22)

4.3 Stanovení citlivosti mikroorganismů

Semikvantitativní metody se uplatňují převážně při rutinním screeningu citlivosti organismů k antimikrobiálním látkám. Mezi semikvantitativní metody považujeme diskovou difúzní metodu. Hodnotí se inhibiční zóny vzniklých okolo disků, které jsou napuštěny antimikrobiální látkou. Mikroorganismy jsou rozděleny do třech kategorií, mezi citlivé, intermediálně rezistentní a rezistentní k AML (24).

4.3.1 Disková difúzní metoda

K určení citlivosti bakterií na antibiotika se používá Mueller Hinton agar, který se potře připravenou suspenzí z čisté kultury z neselektivního média. Na médium se umístí terčíky napuštěné jednotlivými antibiotiky, které difundují do agaru a tím dokážou inhibovat růst, který se projeví tzv. inhibiční zónou. Po inkubaci se provede změření zóny kolem terčíků a porovná se s kritériem výrobce. (11)

Pracovní postup:

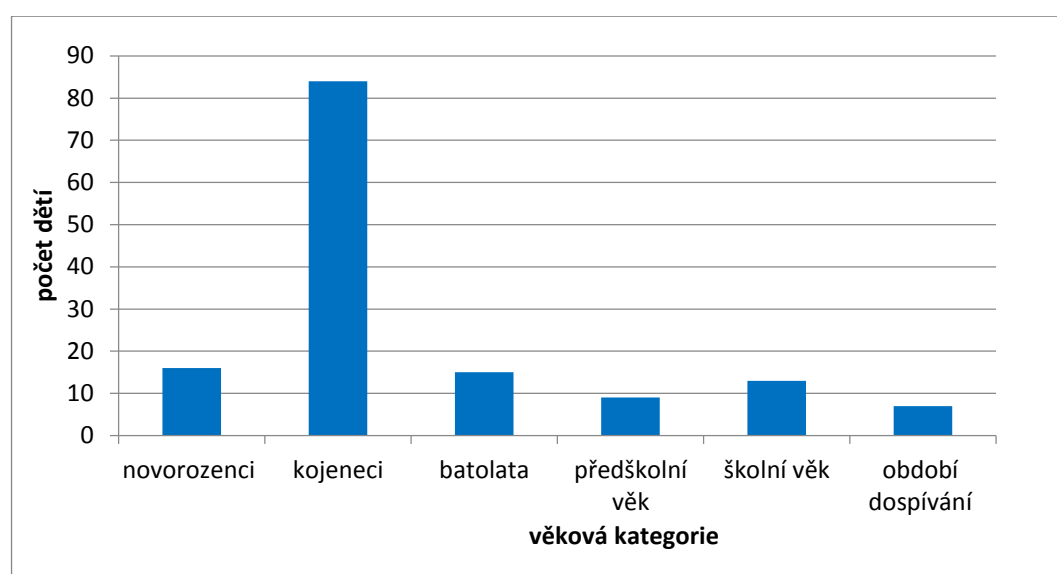
Uděláme si čistou kulturu a vytvoříme si suspenzi kolonií s fyziologickým roztokem o zákalu 0,5 McFarlandovy normy. Do suspenze ponoříme sterilní tampón a naočkujeme celý povrch agaru, tak aby došlo k rovnoměrnému rozočkování. Pomocí dávkovače aplikujeme terčíky napuštěné antibiotiky. Misky vložíme do inkubátoru o teplotě 35°C a inkubujeme 18 - 24 hodin. Následující den pomocí pravítka změříme inhibiční zónu a porovnáme je se zónami předepsanými výrobcem. (11)

5 VÝSLEDKY

5.1 Zpracování dat

Soubor našich pacientů čítá 144 dětí, z toho 93 dívek a 51 chlapců. Věkové zastoupení jednotlivých kategorií je uvedeno v obrázku 6 a v tabulce 3.

Vzorky byly testované na močových destičkách Krevní agar – UriSelect, dourčení pomocí MALDI a následně stanovení citlivost na ATB.

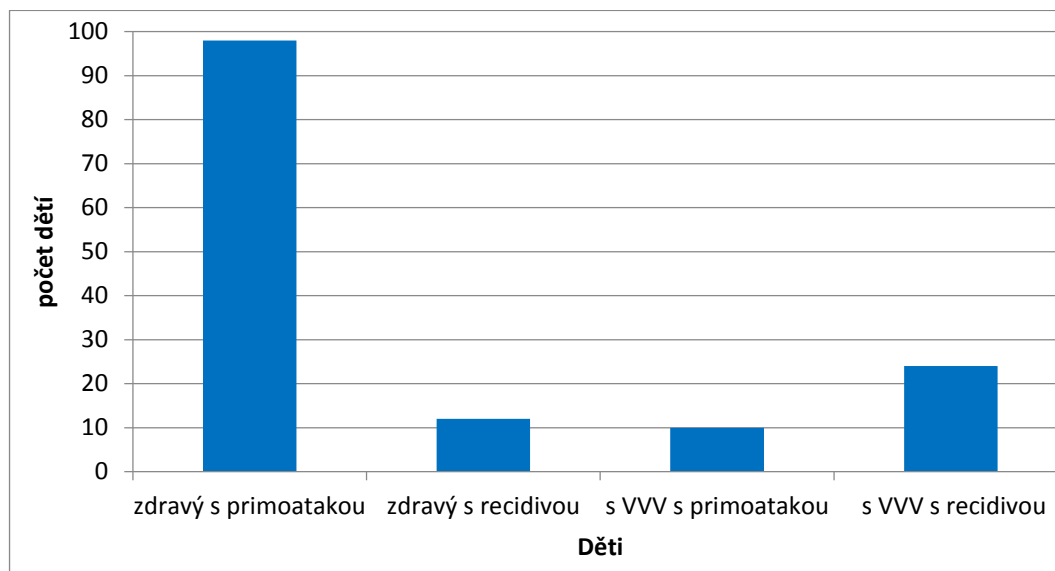


Obrázek 6: Zastoupení jednotlivých věkových skupin

Tabulka 3: Hranice věku jednotlivých kategorií

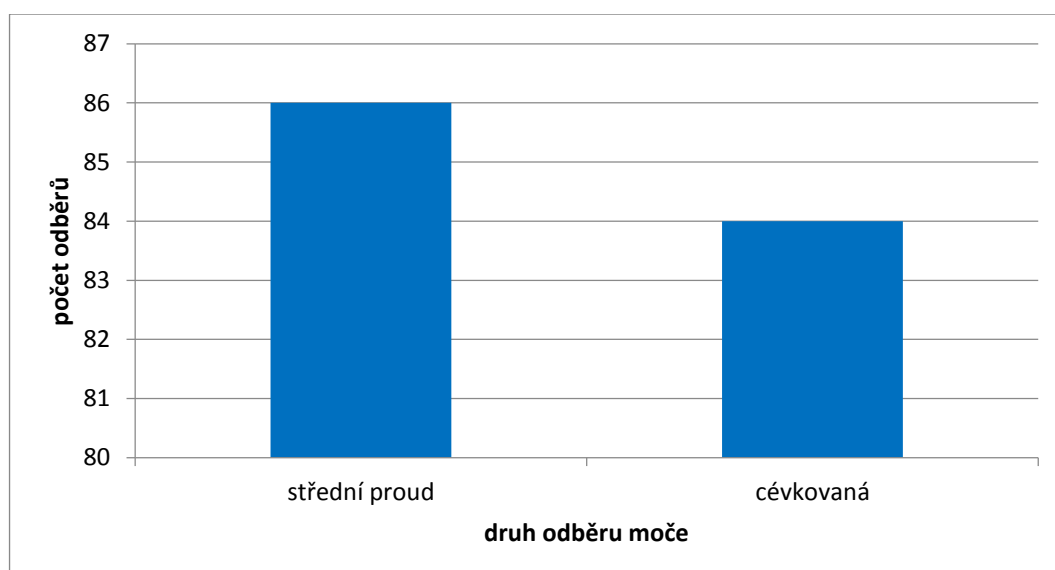
| věková kategorie | věk |
|------------------|-----------------------|
| novorozenci | do 1 měsíce |
| kojenci | od 1 měsíce do 1 roku |
| batolata | od 1 roku do 3 let |
| předškolní věk | od 3 let do 6 let |
| školní věk | od 6 let do 15 let |
| období dospívání | do 18 let |

Počet dětí s primoatakou APN bylo 108, recidiva APN byla u 36 dětí, u některých vícekrát. V souboru je 110 dětí s normálním nálezem na UPT a 34 dětí mělo prokázáno VVV UPT, viz. obrázek 7.

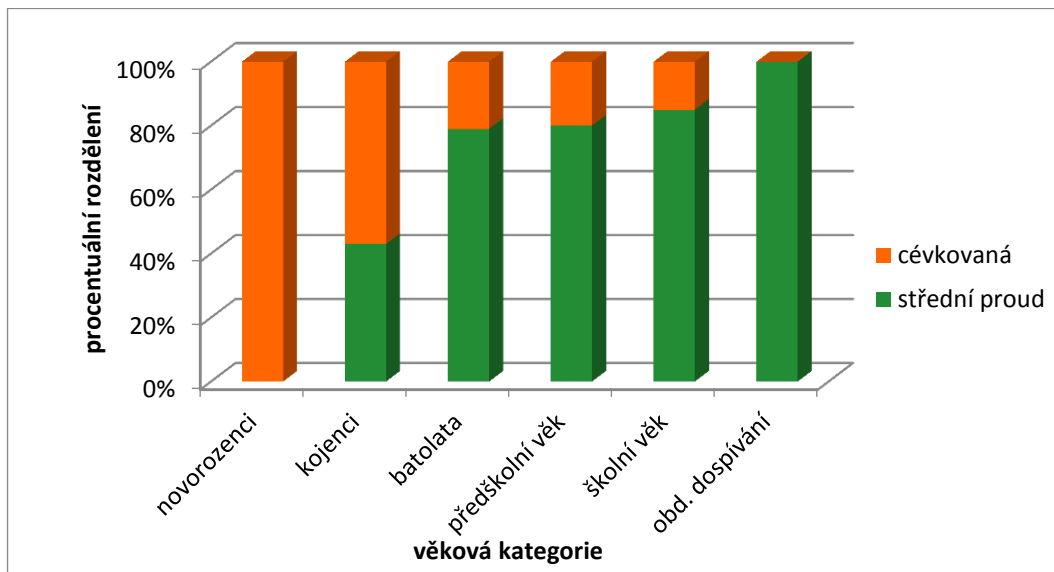


Obrázek 7: Rozdělení na primoataky a recidivy, dle přítomnosti VVV ledvin

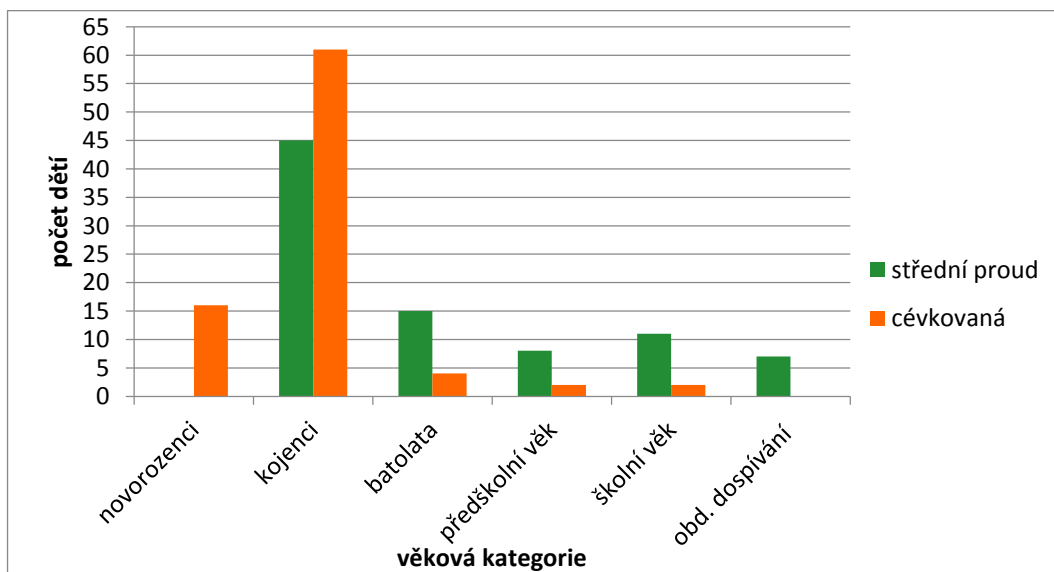
U většiny novorozenců a kojenců byl odběr cévkovanou močí. Naopak u starších, spolupracujících dětí převažoval odběr středním proudem, viz. obrázek 8



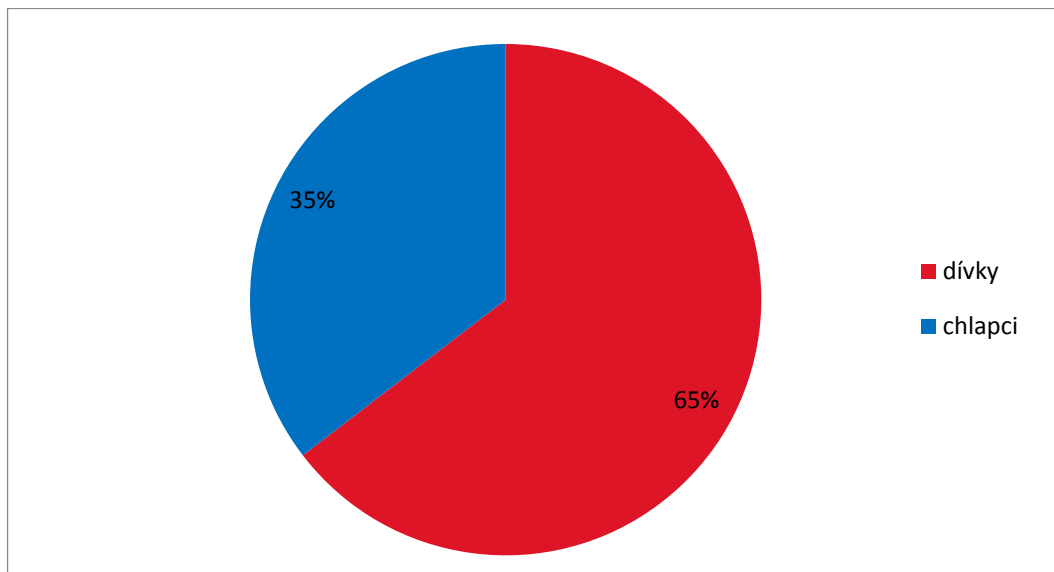
Obrázek 8: Rozdělení dle způsobu odběru moče u všech pacientů



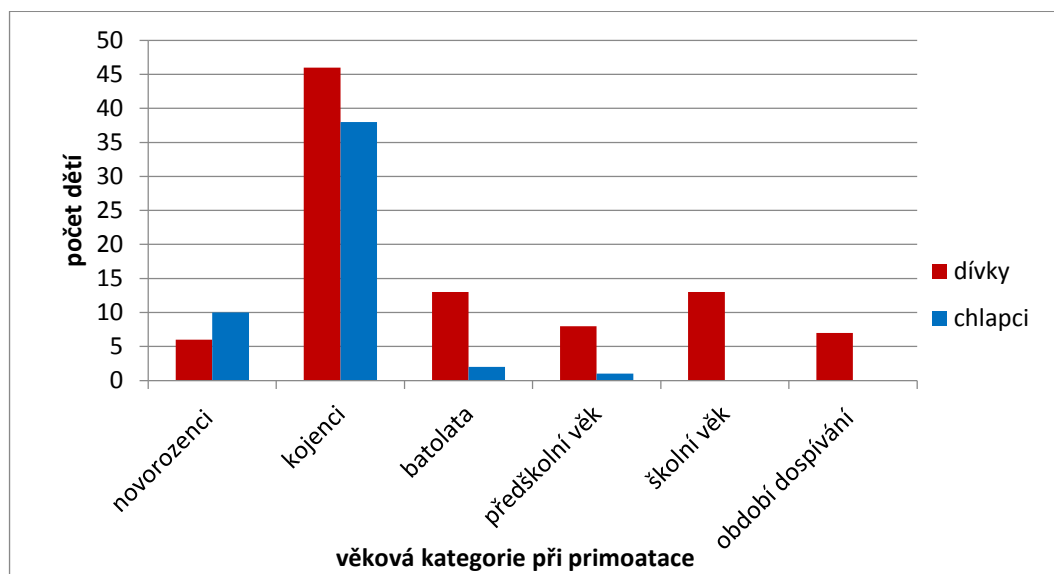
Obrázek 9: Rozdělení způsobu odběru moče podle věkové kategorie



Obrázek 10: Způsob odběru moče u jednotlivých věkových kategorií

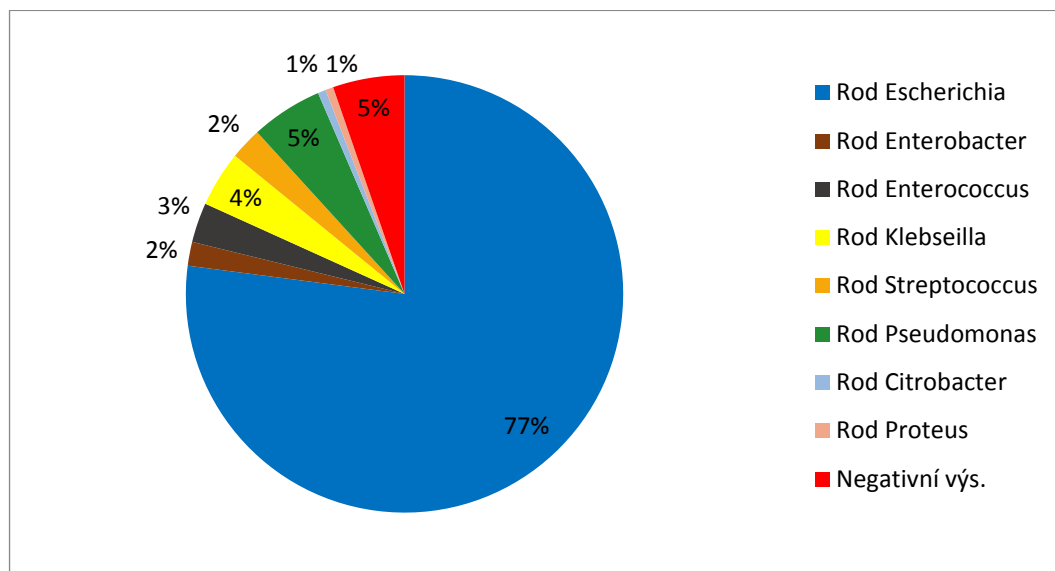


Obrázek 11: Poměr dívek a chlapců

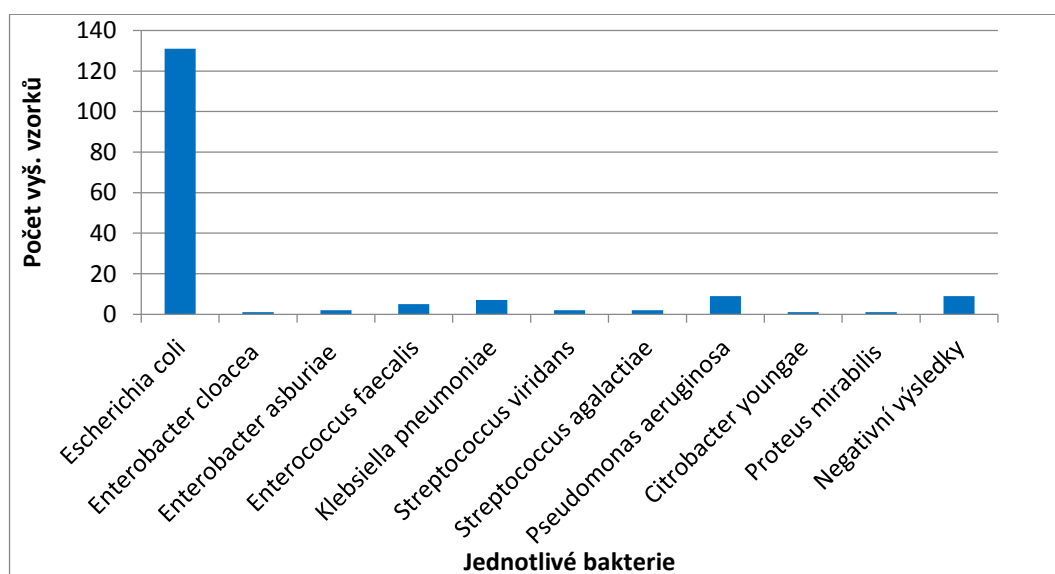


Obrázek 12: Rozdělení dívek a chlapců do jednotlivých kategorií v době primatecky

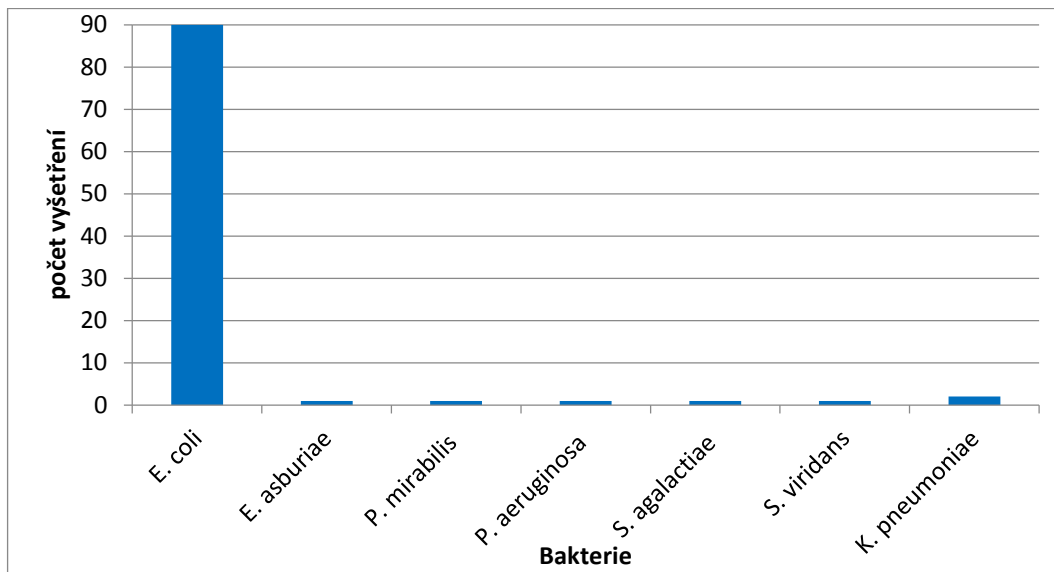
Výsledky mikrobiologických vyšetření moče jsou uvedeny v obrázku 13 a 14. Další grafy se týkají zastoupení jednotlivých patogenů v závislosti na tom, zda se jedná o primoataku či recidivu u dětí bez VVV UPT a u dětí s VVV UPT.



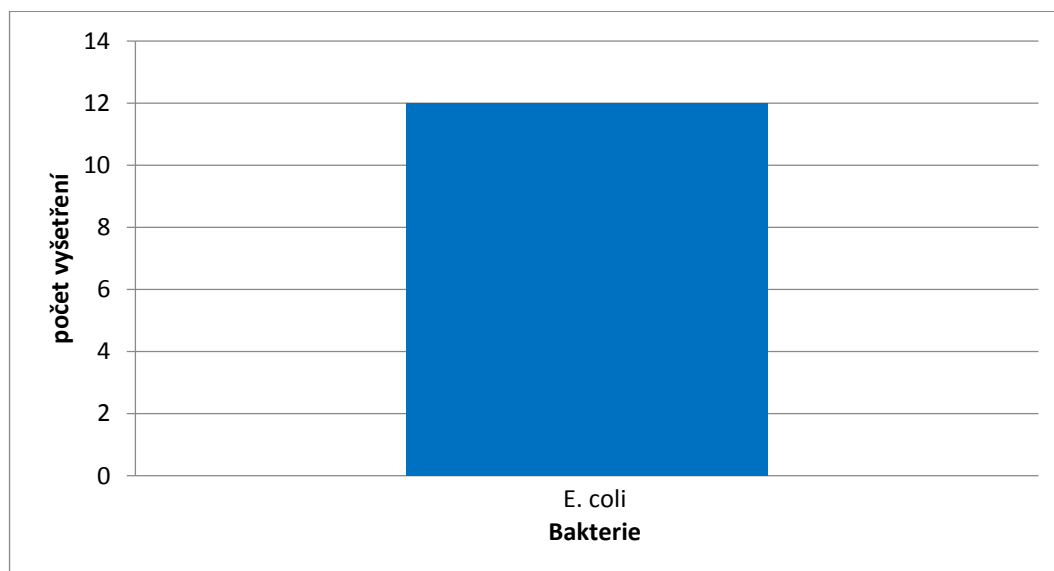
Obrázek 13: Procentuální zastoupení bakterií



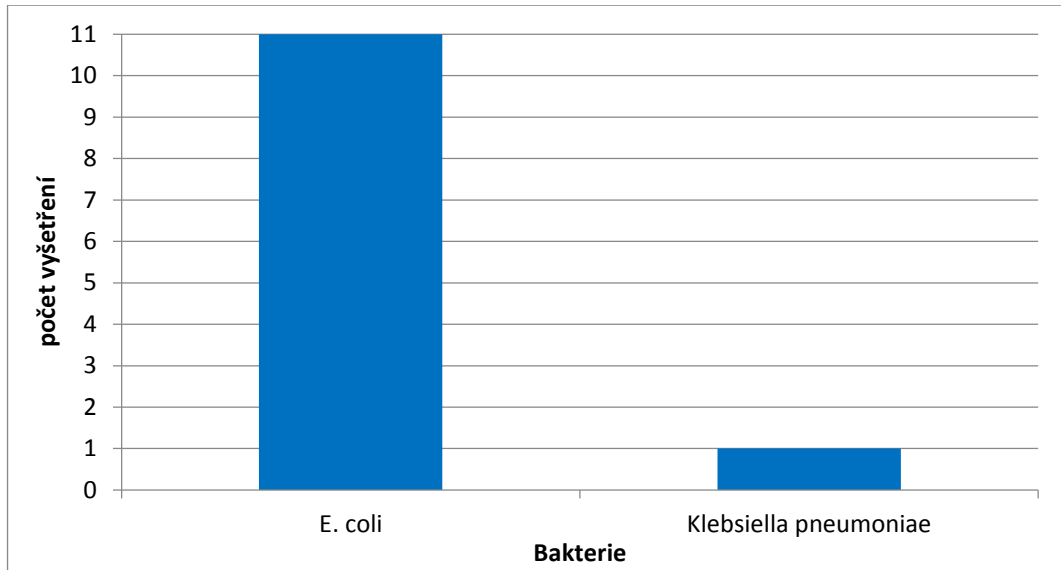
Obrázek 14: Souhrnný výskyt jednotlivých bakterií v souboru



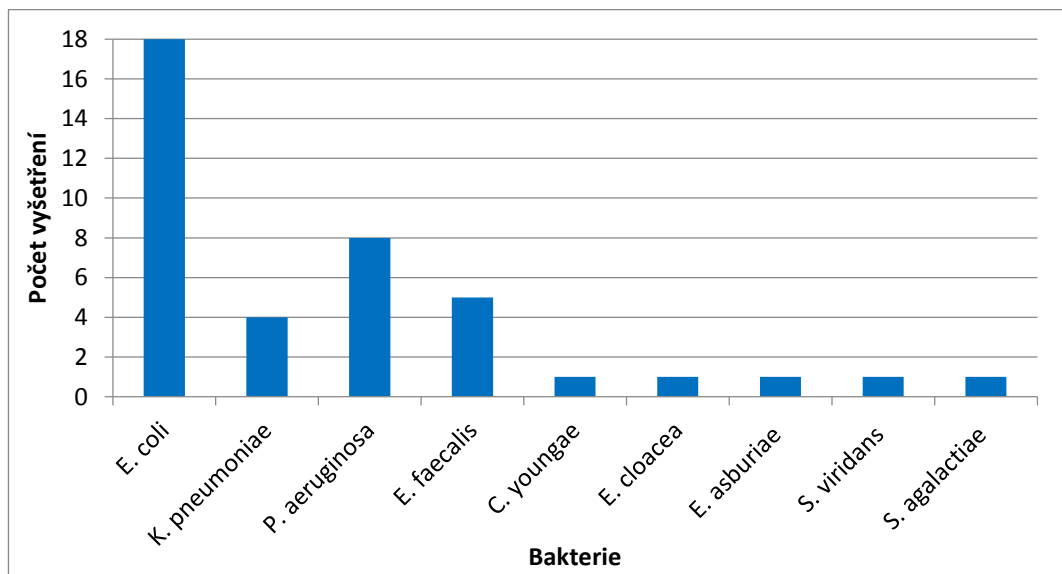
Obrázek 15: Původci infekcí u dětí s primoatakou APN bez VVV IPT



Obrázek 16: Původci infekcí u dětí s recidivou APN bez VVV IPT



Obrázek 17: Původci infekcí u dětí s primoatakou APN s VVV UPT



Obrázek 18: Původci infekcí u dětí s recidivou s VVV UPT

Jednotlivé zastoupení dětí ve skupinách souboru dětí s primoatakou bylo 75 %. Děti s VVV ledvin bylo 9 % a bez VVV 91 % z celkového počtu primoatak. Děti s recidivou bylo celkově 25 %. V podskupině recidiv s VVV ledvin bylo 67 % a bez VVV ledvin 33 %.

Tabulka 4: Rozdělení patogenů u dětí s primoatakou s VVV a bez VVV

| Děti s primoatakou bez VVV | Počet vzorků | v procentech % |
|----------------------------|--------------|----------------|
| <i>E. coli</i> | 91 | 92 |
| <i>E. asburiae</i> | 1 | 1 |
| <i>P. mirabilis</i> | 1 | 1 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 1 | 1 |
| <i>S. agalactiae</i> | 1 | 1 |
| <i>S. viridans</i> | 1 | 1 |
| <i>K. pneumoniae</i> | 2 | 2 |
| Celkový součet | 98 | 100 |

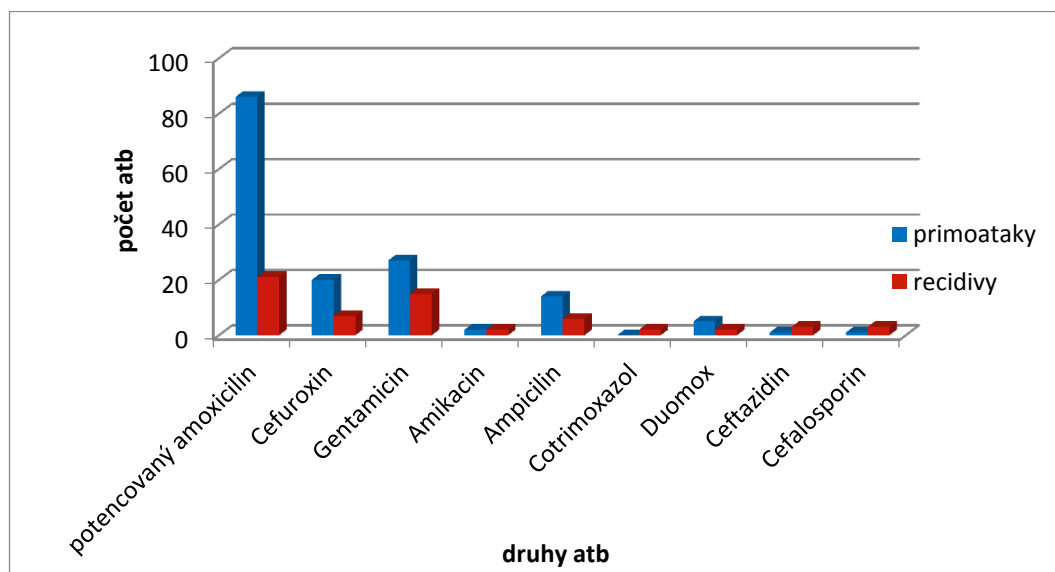
| Děti s primoatakou s VVV | Počet vzorků | v procentech % |
|------------------------------|--------------|----------------|
| <i>E. coli</i> | 11 | 92 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 1 | 8 |
| Celkový počet | 12 | 100 |

Tabulka 5: Rozdělení patogenů u dětí s recidivou s VVV a bez VVV

| Děti s recidivou bez VVV | Počet vzorků | v procentech % |
|--------------------------|--------------|----------------|
| <i>E. coli</i> | 12 | 100 |
| Celkový počet | 12 | 100 |

| Děti s recidivou s VVV | Počet vzorků | v procentech % |
|------------------------|--------------|----------------|
| <i>E. coli</i> | 17 | 43,6 |
| <i>K. pneumoniae</i> | 4 | 10,3 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 8 | 20,5 |
| <i>E. faecalis</i> | 5 | 12,8 |
| <i>C. youngae</i> | 1 | 2,6 |
| <i>E. cloacea</i> | 1 | 2,6 |
| <i>E. asburiae</i> | 1 | 2,6 |
| <i>S. viridans</i> | 1 | 2,6 |
| <i>S. agalactiae</i> | 1 | 2,6 |
| Celkový počet | 39 | 100 |

Nasazení léčby bylo téměř u všech pacientů empirické, před znalostí výsledků kultivace moče.



Obrázek 19: Zastoupení jednotlivých antibiotik v léčbě APN

Tabulka 6: Jednotlivé zastoupení použitých antibiotik

| Podávané atb | Počet dětí léčené atb | Zastoupení atb v % | Léčba dětí atb v % |
|------------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|
| Potencovaný amoxicilin | 107 | 49,3 | 74,3 |
| Cefuroxim | 27 | 12,4 | 18,8 |
| Gentamicin | 42 | 19,4 | 29,2 |
| Amikacin | 4 | 1,8 | 2,8 |
| Ampicilin | 20 | 9,2 | 13,9 |
| Cotrimoxazol | 2 | 0,9 | 1,4 |
| Duomox | 7 | 3,2 | 4,9 |
| Ceftazidim | 4 | 1,8 | 2,8 |
| Cefalosporin | 4 | 1,8 | 2,8 |

Citlivost bakteriálních kmenů na ATB viz tabulka 3.

Tabulka 7: Citlivost jednotlivých bakterií na ATB a její procentuální citlivost

| Citlivost: | Amoxicilin klavulanát | Ampicilin | Cefuroxim | Furantoin | Gentamicin | Kotrimo- xazol |
|---------------------------------|--------------------------|-----------|-----------|-----------------------------------|------------|-------------------|
| <i>Escherichia coli</i> | 112 | 80 | 129 | 117 | 123 | - |
| citlivost | | | | | | |
| procentuálně | 85 | 61 | 98 | 89 | 94 | - |
| <i>Enterobacter asburiae</i> | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| citlivost | | | | | | |
| procentuálně | 0 | 0 | 0 | 100 | 100 | 0 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | - | 5 | - | 5 | - | - |
| citlivost | | | | | | |
| procentuálně | - | 100 | - | 100 | - | - |
| <i>Klebsella pneumoniae</i> | 6 | 0 | 6 | 4 | 7 | 4 |
| citlivost | | | | | | |
| procentuálně | 86 | 0 | 86 | 57 | 100 | 57 |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| citlivost | | | | | | |
| procentuálně | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| <i>Citrobacter youngae</i> | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| citlivost | | | | | | |
| procentuálně | 0 | 0 | 100 | 0 | 100 | 100 |
| <i>Proteus krabilis</i> | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | - |
| citlivost | | | | | | |
| procentuálně | 100 | 0 | 100 | 0 | 100 | - |
| | | | | Piperacilin tazobactam | | |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 4 | 9 | 7 | 9 | | |
| citlivost | | | | | | |
| procentuálně | 67 | 100 | 78 | 100 | | |
| <i>Enterobacter asburiae</i> | 1 | 0 | 1 | 0 | | |
| citlivost | | | | | | |
| procentuálně | 100 | 0 | 100 | 0 | | |

Počet pacientů s VVV UPT byl v našem souboru 34. Zastoupení jednotlivých vývojových vad ukazuje tabulka 8.

Tabulka 8. Jednotlivé zastoupení vad

| Druhy vad | Počet dětí |
|--------------------|-------------------|
| VUR | 13 |
| Hydronefróza | 6 |
| Hypoplasie s CHRI | 1 |
| Duplicita | 9 |
| Megaureter bez VUR | 8 |
| Solitární ledvina | 1 |
| Dystopie | 1 |
| Litiáza | 2 |
| Dysfunkce | 2 |
| Zdvojená anomálie | 5 |

6 DISKUZE

Infekce horních močových cest patří mezi velmi častá onemocnění v pediatrii. U části pacientů recidivuje, u některých opakovaně a ti se pak stávají chronickými pacienty vyžadující dlouhodobou péči. Opožděná či nesprávná diagnostika, opožděné zahájení léčby, nebo nevhodně zvolené antibiotikum může vést ke komplikacím, k renálnímu jizvení a poškození ledvinných funkcí. Zejména u dětí s recidivujícími IMC a u dětí, které mají díky vrozené vadě ledvin a močových cest vyšší riziko k IMC.

Je prezentován soubor 144 dětí hospitalizovaných za dvouleté období pro IMC. Do souboru jsme zařadili pouze děti, které splňovaly klinická a laboratorní kritéria pro akutní pyelonefritidu (signifikantní bakteriurie, horečka a zvýšená či vysoká zánětlivá aktivita). Většinou se jednalo o děti nejnižších věkových kategorií, tedy o novorozence a především kojence, kterých bylo téměř 69%. Z tohoto čísla ale nelze dělat závěry o výskytu APN v jednotlivých věkových kategoriích. Jsou zde pouze hospitalizovaní pacienti a důvodem hospitalizace bývá především nízký věk dítěte a jeho klinický stav. U malých dětí bývají častěji přítomny i extrarenální příznaky jako zvracení, průjem, nízký perorální příjem případně dehydratace což je důvodem k hospitalizaci, parenterální aplikaci antibiotik a dle potřeby i parenterální rehydrataci. Práce také neukazuje objektivní informace o všech IMC u dětí, protože v souboru jsou pouze pacienti s IMC horního segmentu, kteří vyžadovali hospitalizaci a ne pacienti s IMC dolního segmentu. Ti jsou totiž v naprosté většině léčeni ambulantně a jejich dohledání v systému je prakticky nemožné.

Objektivní je, ale výskyt akutní pyelonefritidy v jednotlivých věkových kategoriích podle pohlaví. V našem souboru v novorozeneckém věku převažují dvojnásobně chlapci, u kojenců je poměr pohlaví téměř vyrovnaný (dívky 55%,

chlapci 45%), a ve všech dalších věkových skupinách již významně převažují dívky.

Také způsob odběru moče ke kultivačnímu vyšetření se výrazně mění podle věku. Všichni novorozenci v našem souboru měli odběr katetrizací močového měchýře, ve skupině kojenců je 57% odběrů moče katetrizací. V ostatních věkových kategoriích již převažuje odběr moče středním proudem. Důvodem odběru katetrizací u malých dětí je jednak jejich nespolupráce, ale také často dlouhé čekání na spontánní močení, které je ovlivněno současným nízkým perorálním příjmem, případně dehydratací. Dalším důvodem je snaha o včasné nasazení antibiotické léčby. APN je akutní stav a je prokázáno, že včasná léčba snižuje riziko jizvení renálního parenchymu. Naproti tomu již jedna dávka podaného antibiotika může být příčinou kultivačně negativní moče i při existenci bakteriálního zánětu. Odběr cévkou ve srovnání s odběrem středním proudem je také zatížen menším procentem kontaminačních nálezů.

U 144 dětí bylo odebráno celkem 170 vzorků moče (některé děti měly za sledované období jednu i více recidiv). V etiologii celého souboru se shodou s literárními údaji jasně převažovala *Escherichia coli* (77%), dále *Pseudomonas aeruginosa* (5%), *Klebsiella pneumoniae* (4%) a *Enterococcus faecalis* (3%), *Streptokoky*, *Proteus mirabilis*. Do souboru jsme zařadili také 5% dětí, které sice měly negativní nález v močové kultivaci, ale bylo jim podáno antibiotikum před odběrem moče. Jinak splňovaly všechny námi stanovená kritéria, k nimž jsme přidali ještě významnou leukocyturii v močovém sedimentu.

Pacienty jsme si rozdělili do 2 skupin – jednak děti s primoatakou akutní pyelonefritidou, jednak děti s recidivou akutní pyelonefritidou. Celkem bylo 46 recidiv u 37 dětí. Tyto 2 skupiny jsme rozdělili opět do 2. podskupin – na děti s primoatakou akutní pyelonefritidy s vrozenou vývojovou vadou ledvin – komplikovaná APN a děti s normálním nálezem na ledvinách a močových

cestách ledvin (celkem 110 dětí) a děti s recidivou bez vrozené vývojové vady a s vrozenou vývojovou vadou ledvin (celkem 34 dětí). Děti s primoatakou bylo z celkového počtu celkově 75%. U dětí s VVV ledvin (9%) a bez VVV (91%). U dětí s recidivou celkově 25%. V podskupině recidiv s VVV ledvin (67%) a bez VVV ledvin (33%). Je tedy jasné, že děti s VVV UPT mají častější recidivy než děti bez ní.

U dětí s nekomplikovanou primoatakou byla etiologie v 93% *E.coli* u recidiv byla původcem *E. Coli* ve 100%.

Celkem bylo 34 dětí s VVV ledvin (24% z celkového počtu), viz obrázek 7. Počet vad (celkem 48) je vyšší než počet pacientů (34). Tato diskrepance je způsobena současnou přítomností více vad u některých pacientů. (Např. děti se zdvojením kalchopánvičkového systému mohou mít VUR do dolního segmentu a obstrukční megaureter horního segmentu, některé děti s VUR vysokého stupně jsou současně hodnoceny jako reflektující megaureter). Primo infekce v této skupině byl z 92% etiologie *E.coli*, pak *Klebsiella pneumoniae* 8%. Naopak děti s komplikovanou APN u recidiv výrazně stoupá počet non *E. coli* etiologie 46%. *E. coli* 44%, *Klebsiella pn.* 10%, *Pseudomonas* 21%, a *Enterokok* 13%. ostatní patogeny byly pod 3%.

Antibiotická terapie byla ve skupině novorozenců vždy nasazena kombinací antibiotik: ampicilin, gentamicin a po znalosti citlivosti se léčba upravuje.

Nejčastěji nasazovaným antibiotikem byl v ostatních skupinách AMC/AMS (až 74%). Při později zjištěné rezistenci byla léčba změněna nebo byl do kombinace přidán gentamicin.

E. Coli (celkem vyšetřeno kmenů 131) byly v našem souboru nejcitlivější na cefuroxim (98%), gentamicin (94%), furantoin (89%), AMC/AMS (85%). *Enterokoky*

(5) v našem souboru byly citlivé na ampicilin a furantoin. U *Klebsielly pneumonniae* (7) byly 100% citlivý gentamicin, z 86% amoxicilin klavulanát a z 57% furantoin s cotrimoxazolem. *Pseudomonas aeuroginosa* (9) byla 100% citlivá na ceftazidin a piperacilin – tazobactam, ze 67% na amikacin a ze 78% na gentamicin, viz. tabulka 6.

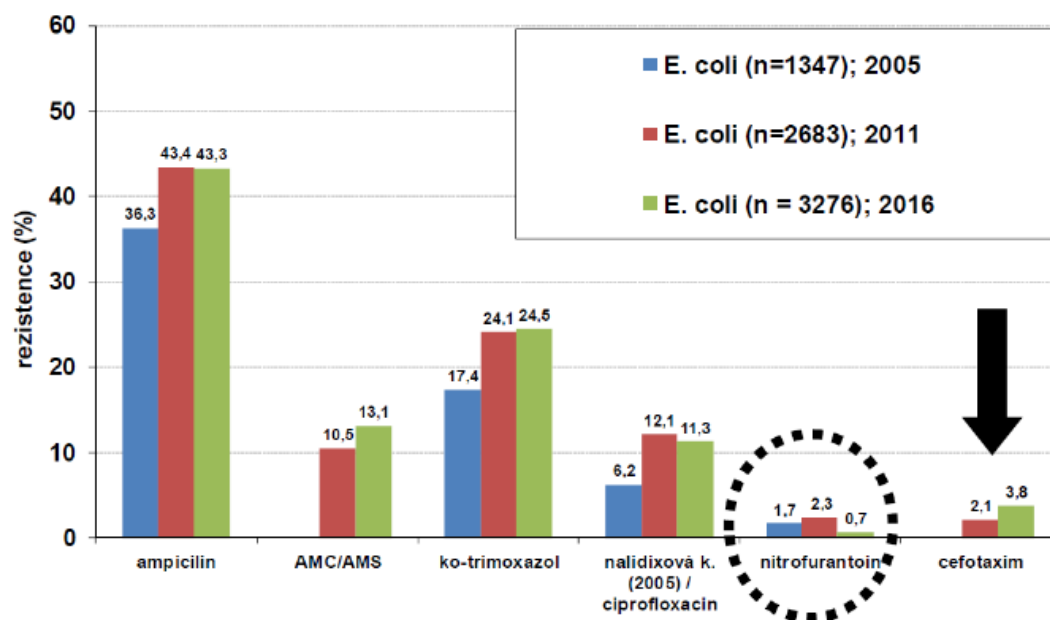
V našem souboru se ukazuje jistá významná rezistence *E. coli* k ampicilinu (61%). Dle literárních údajů asi i stoupající. Proto bývá v poslední době místo něj i u novorozenců doporučován spíše kombinovaný AMS spolu s gentamicinem.

Močová studie ATB rezistence-výsledky

Rezistence *E. coli* (%)

| Rok | AMP | AMC | COT | NAL | FUR | CTX |
|------|------|------|------|------|-----|-----|
| 2005 | 36,3 | NT | 17,4 | 6,2 | 1,7 | NT |
| 2011 | 43,4 | 10,5 | 24,1 | 12,1 | 2,3 | 2,1 |
| 2016 | 43,3 | 13,1 | 24,5 | 11,3 | 0,7 | 3,8 |

AMP-ampicilin, AMC-amoxicilin+klav kys./ampicilin+sulbactam, COT-kotrimoxazol, NAL-nalidixinová kys. 2005/norfloxacin 2011, FUR-nitrofurantoin, CTX-cefotaxim



Obrázek 20: Močová studie ATB rezistence – výsledky (zdroj: 50)

Vysoká citlivost *E. coli* je v našem souboru na cefuroxim. Obecně jsou však cefalosporiny selektory rezistentních kmenů a proto se je nedoporučuje požívat jako léky 1. volby. V našem souboru byly použity především při údaji alergické reakce na AMC/AMS nebo při změně atb léčby, z důvodů rezistence *E. coli*

k AMC/AMS. Ta také dle močové studie stoupá, přesto jsou asi stále lékem volby při léčbě APN u malých dětí, eventuálně při komplikovanějších případech v kombinaci s gentamicinem.

Vysoká citlivost *E.coli* zůstává na nitrofurantoin, ten je však k léčbě APN nevhodný. Má nejlepší výsledky v dlouhodobém antimikrobiálním zajištění dětí s recidivujícími IMC či vážnějšími VVV UPT. Bývá ale pro své časté nežádoucí účinky (bolesti břicha, průjem, dyspepsie, nauzea, zvracení, anorexie), u některých dětí i při nízké zajišťovací dávce špatně snášen. Dalšími léky pro antibakteriální zajištění je cotrimoxazol. Pokud je nutné antibakteriální zajištění v novorozeneckém věku, jsme nuceni zvolit po nízké dávce cefuroximu nebo potencovanému ampicilinu či amoxicilinu. (51, 52)

7 ZÁVĚR

Studie hodnotí 144 dětí hospitalizovaných pro akutní pyelonefritidu v letech 2016 – 2017. V souboru u novorozenců a malých kojenců převažuje výskyt APN u chlapců, v dalším věkovém období již převažují dívky.

Z výsledků není patrný rozdíl v etiologii ve skupině primoatak APN mezi dětmi s nekomplikovaným a komplikovaným průběhem. U všech převažuje významně *E.coli* jako původce infekce. U recidiv dětí s nekomplikovanou APN jde ve všech případech o *E. coli*. U recidiv dětí s komplikovanou APN je více než 50% původců non *E. coli* etiologie, v pořadí - *Pseudomonas aeruginosa* 21%, *Enterococcus faecalis* 13% a *Klebsiella pneumoniae* 10%. Na to by měl být brán zřetel při nasazování antibiotické terapie. U nekomplikovaných APN je stále lékem první volby AMC/AMS.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

| | |
|---------|---|
| AFBN | akutní fokální bakteriální nefritida |
| AMC/AMS | amoxicilin + klav. kys/ ampicilin+sulbactam |
| AML | antimikrobiální látka |
| APN | akutní pyelonefritida |
| ATB | antibiotika |
| CHRI | chronická renální insuficience |
| CRP | C reaktivní protein |
| CT | počítačová tomografie |
| DMC | dolní močové cesty |
| FW | sedimentace erytrocytů |
| IMC | infekce močových cest |
| IVU | intravenózní vylučovací urografie |
| KO | krevní obraz |
| MCUG | mikční cystouretrografie |
| MIC | minimální inhibiční koncentrace |
| MR | magnetická rezonance |
| PN | pyelonefritis |
| UPT | uropoetický trakt |
| USG | ultrasonografie |
| VUR | vezikoureterální reflux |
| VVV | vrozená vývojová vada |

9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. TEPLAN, Vladimír. *Infekce ledvin a močových cest v dospělém a dětském věku*. Praha: Grada, 2004. ISBN 80-247-0566-4.
2. ZIEG, Jakub a Eliška BÉBROVÁ. Diagnostika a léčba infekce močových cest u dětí z pohledu současných poznatků. *Pediatric pro praxi* [online]. 2015, 16(4), 238-242 [cit. 2017-11-15]. Dostupné z: <https://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2015/04/07.pdf>
3. DÍTĚ, Zdeněk. Infekce močových cest z pohledu urologa. *Pediatric pro praxi* [online]. 2010, 11(2), 92-98 [cit. 2017-11-15]. Dostupné z: <https://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2010/02/05.pdf>
4. KASS, EH a M FINLAND. Asymptomatic infections of the urinary tract. *J. Urol* [online]. 2002 Aug, 168(2), 420-424 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12131280>
5. HOBERMAN, A a ER WALD. Urinary tract infections in young febrile children. *Pediatr Infect Dis* [online]. 1997 Jan, 16(1), 11-17 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9002094>
6. HOBERMAN, A, HP CHAO a et al. Prevalence of urinary tract infection in febrile infants. *J Pediatr* [online]. 1993 Jul, 123(1), 17-23 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8320616>
7. DOWNS, SM. Technical report: urinary tract infections in febrile infants and young children. The Urinary Tract Subcommittee of the American Academy of Pediatrics Committee on Quality Improvement. *Pediatrics* [online]. 1999 Apr, 103(4), e54 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10103346>
8. JANDA, J. a E. BÉBROVÁ. *Jak vyšetřovat moč při podezření nebo již prokázané infekci močových cest*. 2017, 72(1), 5-7. ISSN 1803-6597.
9. SEEMAN, Tomáš, Jan JANDA a et al. *Dětská nefrologie*. Mladá fronta a. s., 2015. ISBN 978-80-204-3360-2.
10. TESAŘ, Vladimír. *Vnitřní lékařství*. Svazek IX, Nefrologie. Editor Pavel KLENER. Praha: Galén, 2003. Scripta. Malá řada. ISBN 80-7262-209-9.
11. *Pokyny k použití - média na miskách k okamžitému použití: BD Mueller Hinton II Agar*. 2011.

12. STROM, DW, SA KOFF a et al. In vitro analysis of the bactericidal activity of Escherichia coli Nissle 1917 against pediatric uropathogens. *J. Urol* [online]. 2011 Oct, 186(4 Suppl), 1678-1683 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21855931>
13. Subcommittee on Urinary tract infection a et al. Urinary tract infection: clinical practice guideline for the diagnosis and management of the initial UTI in febrile infants and children 2 to 24 months. *Pediatrics* [online]. 2011 Sep, 128(3), 595-610 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21873693>
14. RACEK, Jaroslav. *Klinická biochemie. 2., přeprac. vyd.* Praha: Galén, c2006. ISBN 80-7262-324-9.
15. COULTHARD, Malcom G, Heather J LAMBERT a Michael J KEIR. Occurrence of renal scars in children after their first referral for urinary tract infection. *BMJ* [online]. 11 October 1997, 315(7116), 918-919 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2127617/pdf/9361542.pdf>
16. STOŽICKÝ, František a Kateřina PIZINGEROVÁ. *Základy dětského lékařství.* Praha: Karolinum, 2006. ISBN 80-246-1067-1.
17. HORÁČKOVÁ, M. a R. ŠAFÁŘOVÁ. Močový sediment: vyšetřovací technika a interpretace nálezu klinickým nefrologem. *Aktuality v nefrologii* [online]. TIGIS, spol., 2006, (4), 118-127 [cit. 2018-02-02]. ISSN 1210-955X. Dostupné z: http://www.tigis.cz/images/stories/Aktuality_nefro/2006/04/04_horackova_a_vn_4-06.pdf
18. LARCOMBE, James. Urinary tract infection in children. *Clinical evidence* [online]. 1999 Oct 30, 319(7218), 1173-1175 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1116958/>
19. GARCIA, FJ a AL NAGER. Jaundice as an early diagnostic sign of urinary tract infection in infancy. *Pediatrics*[online]. 2002 May, 109(5), 846-851 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11986445>
20. ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, Jana. *Mikrobiologie v technologii vod.* Vyd. 2., přeprac. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008. ISBN 978-80-7080-676-0.
21. RAMAGE, IJ, JP CHAPMAN a et al. Accuracy of clean-catch urine collection in infancy. *J Pediatr* [online]. 1999 Dec, 135(6), 765-767 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10586183>

22. *Návod k použití: Krevní agar - Uriselect*. 2. VIAMAR international, 2011.
23. THANH HOUNG, Thrun, Markéta KOMÍNKOVÁ a Roman GURÁŇ. Identifikace mikroorganismů pomocí MALDI-TOF MS. *Journal of Metallomics and Nanotechnologies* [online]. 2014, (1), 64-66 [cit. 2018-02-25]. ISSN 2336-3940. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_239_nanotech/J_Met_Nano/0214/pdf/d-microbial_identification_by_maldi-tof_ms.pdf
24. BURSOVÁ, Šárka a et al. *Mikrobiologické laboratorní metody* [online]. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014 [cit. 2018-03-09]. ISBN 978-80-7305-676-6. Dostupné z: <http://www.vfu.cz/inovace-bc-a-navmgr/realizovane-klicove-aktivity/skripta/h2mlm-mikrobiologicke-laboratorni-metody.pdf>
25. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.
26. GARIN, EH, F OLAVARRIA a et al. Diagnostic significance of clinical and laboratory findings to localize site of urinary infection. *Pediatr Nephrol* [online]. 2007 Jul, 22(7), 1002-1006 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17375337>
27. SMOLKIN, V, A KOREN a et al. Procalcitonin as a marker of acute pyelonephritis in infants and children. [online]. *Pediatr Nephrol*, 2002 Jun, 17(6), 409-412 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12107804>
28. BENADOR, N, CA SIEGRIST a et al. Procalcitonin is a marker of severity of renal lesions in pyelonephritis. *Pediatrics* [online]. 1998 Dec, 102(6), 1422-1425 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9832579>
29. PECILE, P a E MIORIN. Procalcitonin: a marker of severity of acute pyelonephritis among children. *Pediatrics*[online]. 2004 Aug, 114(2), e249-254 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15286264>
30. SHAIKH, N, JI BORRELL a et al. Procalcitonin, C-reactive protein, and erythrocyte sedimentation rate for the diagnosis of acute pyelonephritis in children (Review). *Cochrane Library* [online]. 20 Jan 2015, 75 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <http://cochranelibrary-wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD009185.pub2/pdf>

31. LEROY, S, A FERNANDEZ-LOPEZ a et al. Association of procalcitonin with acute pyelonephritis and renal scars in pediatric UTI. *Pediatrics* [online]. 2013 May, 131(5), 870-879 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23629615>
32. MORIN, D, C VEYRAC a et al. Comparison of ultrasound and dimercaptosuccinic acid scintigraphy changes in acute pyelonephritis. *Pediatric Nephrology* [online]. April 1999, 219-222 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s004670050596>
33. TÁBORSKÁ, Kateřina. Současní trendy v provedení statické scintigrafie ledvin u dětí s akutní pyelonefritidou. *Ces Radiol* [online]. 2013, 67(4), 291-295 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: http://www.cesradiol.cz/dwnld/CesRad_1304_291_295.pdf
34. SINHA, MD, P GIBSON a et al. Accuracy of ultrasonic detection of renal scarring in different centres using DMSA as the gold standard. *Nephrol Dial Transplant*[online]. 2007 Aug, 22(8), 2213-2216 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17442740>
35. MAJD, M, AR NUSSBAUM BLASK a et al. Acute pyelonephritis: comparison of diagnosis with 99mTc-DMSA, SPECT, spiral CT, MR imaging, and power Doppler US in an experimental pig model. *Radiology* [online]. 2001 Jan, 218(1), 101-108 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11152787>
36. CRAIG, JC, DM WHEELER a et al. How accurate is dimercaptosuccinic acid scintigraphy for the diagnosis of acute pyelonephritis? A meta-analysis of experimental studies. *J Nucl Med* [online]. 2000 Jun, 41(6), 986-993 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10855622>
37. TAYLOR, A Jr a JV NALLY. Clinical applications of renal scintigraphy. *AJR Am J Roentgenol* [online]. 1995, 164(1), 31-41 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7998566>
38. MARKS, SD, I GORDON a K TULLUS. Imaging in childhood urinary tract infections: time to reduce investigations. *Pediatr Nephrol* [online]. 2008 Jan, 23(1), 9-17 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?cmd=search&term=Pediatr%20Nephrol%202008%3B23%3A9-17%5BIssue%5D>

39. CERWINKA, WH a AJ KIRSCH. Magnetic resonance urography in pediatric urology. *Curr Opin Urol* [online]. 2010 Jul, 20(4), 323-329 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20531092>
40. JANKÓ, V a L KOVÁCS. Včasná antibiotická terapia a riziko renálneho jazvenia u detí s prvou nekomplikovanou infekciou močových ciest. *Čes-slov Pediat* [online]. 2017, 72(1), 15-19 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: http://proflaszlokovacs.sk/wp-content/uploads/2018/01/CSPED__1_2017-3.pdf
41. HITZEL, A, A LIARD a et al. Quantitative analysis of ^{99m}Tc-DMSA during acute pyelonephritis for prediction of long-term renal scarring. *J Nucl Med* [online]. 2004 Feb, 45(2), 285-289 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14960649>
42. ROZSYPAL, Hanuš. *Základy infekčního lékařství*. V Praze: Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum, 2015. ISBN 978-80-246-2932-2.
43. MELTER, Oto a Annika MALMGREN. *Principy a praktika lékařské mikrobiologie*. Praha: Karolinum, 2014. ISBN 978-80-246-2414-3. Dostupné z: https://vydavatelstvi.vscht.cz/katalog/publikace?uid=uid_isbn-978-80-7080-676-0
44. SCHINDLER, Jiří. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. Praha: Grada, 2010. ISBN 978-80-247-3170-4.
45. BARTONÍČKOVÁ, Kateřina. *Uroinfekce*. Praha: Galén, 2000. Folia practica. ISBN 80-7262-027-4.
46. NORMAN NOE, H., Robert J. WYATT a et al. The Transmission of Vesicoureteral Reflux from Parent to Child. *J. Urol* [online]. December 1992, 148(6), 1869-1871 [cit. 2018-04-19]. Dostupné z: [http://www.jurology.com/article/S0022-5347\(17\)37053-2/fulltext](http://www.jurology.com/article/S0022-5347(17)37053-2/fulltext)
47. WHEELER, D., D. VIMALACHANDRA a et al. Antibiotics and surgery for vesicoureteric reflux: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Arch Dis Child* [online]. 2003 Aug, 88(8), 688-694 [cit. 2018-04-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1719586/pdf/v088p00688.pdf>
48. The Gram Stain. *Microbiology Lab Excercise 5 - The Gram Stain* [online]. [cit. 2018-05-04]. Dostupné z: <http://faculty.mc3.edu/jearl/ML/ml-5-2.htm>

49. *American Society for Biochemistry and Molecular Biology Contact MPC: Highly Efficient Classification and Identification of Human Pathogenic Bacteria by MALTI-TOF MS* [online]. [cit. 2018-05-04]. ISSN 1535-9484. Dostupné z: <http://www.mcponline.org/content/7/2/448/F5.expansion.html>
50. *Státní zdravotní ústav: Močová studie ATB rezistence* [online]. 2016 [cit. 2018-05-11]. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/atb/PSMR/mocova_studie/2016/Mocova_studie_ATB_rezistence_2016.pdf
51. WILLIAMS, G. a et al. Antibiotics for the prevention of urinary tract infection in children: A systematic review of randomized controlled trials. *J. Pediatr* [online]. 2001 Jun, 138(6), 868-874 [cit. 2018-05-11]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11391331>
52. CONWAY, Patrick H. a et al. Recurrent urinary tract infections in children: risk factors and association with prophylactic antimicrobials. *JAMA* [online]. July 11, 2007, 298(2), 179-186 [cit. 2018-05-11]. Dostupné z: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/207900>

10 SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

| | |
|--|----|
| Obrázek 1: Grampozitivní bakterie (zdroj: 48) | 19 |
| Obrázek 2: Gramnegativní bakterie (zdroj: 48)..... | 19 |
| Obrázek 3: Močová destička s chromogenní půdou (zdroj: vlastní) | 32 |
| Obrázek 4: Schéma MALDI-TOF hmotnostního spektrometru (zdroj: 23) | 34 |
| Obrázek 5: MALDI-TOF analýza na E. coli pro ředění série k určení detekční citlivosti (zdroj: 49)..... | 35 |
| Obrázek 6: Zastoupení jednotlivých věkových skupin | 37 |
| Obrázek 7: Rozdělení na primoataky a recidivy, dle přítomnosti VVV ledvin .. | 38 |
| Obrázek 8: Rozdělení dle způsobu odběru moče u všech pacientů | 38 |
| Obrázek 9: Rozdělení způsobu odběru moče podle věkové kategorie | 39 |
| Obrázek 10: Způsob odběru moče u jednotlivých věkových kategorií..... | 39 |
| Obrázek 11: Poměr dívek a chlapců | 40 |
| Obrázek 12: Rozdělení dívek a chlapců do jednotlivých kategorií v době primoataky | 40 |
| Obrázek 13: Procentuální zastoupení bakterií | 41 |
| Obrázek 14: Souhrnný výskyt jednotlivých bakterií v souboru..... | 41 |
| Obrázek 15: Původci infekcí u dětí s primoatakou APN bez VVV UPT | 42 |
| Obrázek 16: Původci infekcí u dětí s recidivou APN bez VVV UPT | 42 |
| Obrázek 17: Původci infekcí u dětí s primoatakou APN s VVV UPT | 43 |
| Obrázek 18: Původci infekcí u dětí s recidivou s VVV UPT | 43 |
| Obrázek 19: Zastoupení jednotlivých antibiotik v léčbě APN..... | 45 |
| Obrázek 20: Močová studie ATB rezistence – výsledky (zdroj: 50) | 51 |

11 SEZNAMU POUŽITÝCH TABULEK

| | |
|---|----|
| Tabulka 1: Odběry moče (5, upraveno)..... | 10 |
| Tabulka 2: Nejčastější patogenní bakterie močových cest. (45, upraveno) | 23 |
| Tabulka 3: Hranice věku jednotlivých kategorií | 37 |
| Tabulka 4: Rozdělení patogenů u dětí s primoatakou s VVV a bez VVV | 44 |
| Tabulka 5: Rozdělení patogenů u dětí s recidivou s VVV a bez VVV | 44 |
| Tabulka 6: Jednotlivé zastoupení použitých antibiotik | 45 |
| Tabulka 7: Citlivost jednotlivých bakterií na ATB a její procentuální citlivost.... | 46 |
| Tabulka 8. Jednotlivé zastoupení vad..... | 47 |

