

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

KATEDRA BIOLOGICKÝCH A BIOCHEMICKÝCH VĚD

Studium antimikrobiálního účinku mýdel pro intimní hygienu

Hana Bartošová

Bakalářská práce

2017

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2016/2017

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Hana Bartošová**
Osobní číslo: **C14234**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název tématu: **Studium antimikrobiálního účinku mýdel pro intimní hygienu**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Charakterizujte fyziologický poševní ekosystém.
 2. Uveďte poruchy poševního ekosystému a možnosti léčby. Zaměřte se na využití přípravků intimní hygieny.
 3. Otestujte citlivost vybraných mikroorganismů na mýdla určená k intimní hygieně.
 4. Získané výsledky porovnejte s dostupnou literaturou.
-

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **RNDr. Markéta Vydržalová, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

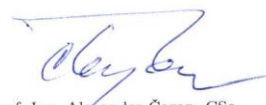
Datum zadání bakalářské práce: **28. listopadu 2016**

Termín odevzdání bakalářské práce: **7. července 2017**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2017

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnici Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 4. 7. 2017

Hana Bartošová

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala své vedoucí bakalářské práce RNDr. Markétě Vydržalové Ph.D. za odborné vedení a cenné rady při zpracování této práce a také za umožnění provedení praktické části a vedení při její realizaci.

Děkuji také paní laborantce Janě Halákové za poskytování pomoci při laboratorních pracích.

Své rodině děkuji za podporu.

ANOTACE

Teoretická část bakalářské práce je zaměřena na charakteristiku fyziologického poševního ekosystému, jeho poruchy, možnosti léčby a diagnostiku. Dále se tato práce zabývá intimní hygienou žen včetně popisu vybraných intimních mýdel a gelů a jejich účinnými složkami.

Praktická část se zabývá testováním antimikrobiálního účinku mýdel a gelů na mikroorganismy způsobující infekce reprodukčního systému žen.

KLÍČOVÁ SLOVA

intimní hygiena, poševní ekosystém, poševní infekce, intimní mýdla, mikroorganismy

TITLE

Study of antimicrobial activity of intimate soaps

ANNOTATION

The theoretical part of the thesis is focused on the characteristics of the physiological vaginal ecosystem, intimate disorders, possibilities of their treatment and their diagnostic. This study also deals with intimate hygiene of women, including a description of chosen intimate soaps and gels and their effective substance.

The practical part of the thesis deals with the testing of antimicrobial activity of intimate soaps and gels on microorganisms which cause the infections of women's reproductive system.

KEYWORDS

intimate hygiene, vaginal ecosystem, vaginal infections, intimate soaps, microorganisms

OBSAH

ÚVOD	11
1 TEORETICKÁ ČÁST	12
1.1 Charakterizace fyziologického poševního ekosystému	12
1.1.1 Poševní pH	13
Změny pH v průběhu menstruačního cyklu	14
Hormonální regulace v životních obdobích	14
1.1.2 Poševní imunitní systém	15
1.1.3 Endogenní poševní mikroflóra	17
1.2 Poruchy poševního ekosystému	21
1.2.1 Diagnostika poruch poševního prostředí.....	22
1.2.2 Záněty zevních rodidel a pochvy	25
1.2.3 Zánět močových cest.....	28
1.3 Intimní hygiena	29
1.3.1 Intimní hygiena žen.....	30
1.3.2 Gely a mýdla pro intimní hygienu	32
2 PRAKTICKÁ ČÁST	39
2.1 Materiál	39
2.1.1 Testované kmeny mikroorganismů	39
2.1.2 Testované intimní gely a emulze.....	39
2.1.3 Přístroje a pomůcky.....	39
2.1.4 Kultivační média	40
2.1.5 Pracovní roztoky a média.....	41
2.2 Testování gelů	41
2.2.1 Pracovní postup.....	42
3 VÝSLEDKY A DISKUSE	45
3.1 Testované intimní gely a emulze	45

4 ZÁVĚR	49
5 POUŽITÁ LITERATURA	51
6 PŘÍLOHY	57

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1: Anatomie dělohy.....	12
Obrázek č. 2: Ochranné mechanismy pochvy.....	17
Obrázek č. 3: Procentuální zastoupení běžných původců infekcí močových cest.....	29
Obrázek č. 4: Schéma ředící řady.....	42
Obrázek č. 5: Vzorec pro výpočet diluční neutralizační metody.....	43
Obrázek č. 6: Schéma postupu diluční neutralizační metody.....	44

SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1: Přehled vyskytujících se poševních mikroorganismů.....	18
Tabulka č. 2: <i>Lactobacillus acidophilus</i> komplex.....	19
Tabulka č. 3: Morfotypy poševní mikroflóry.....	21
Tabulka č. 4: Charakteristika poševního výtoku.....	22
Tabulka č. 5: Souhrn běžně dostupných intimních gelů a mýdel.....	31
Tabulka č. 6: Testované intimní gely a emulze.....	39
Tabulka č. 7: Citlivost vybraných mikroorganismů na přípravky intimní hygieny.....	45

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ATCC – Americká sbírka typových kultur (American Type Culture Collection)

AV – Aerobní vaginitida

BHI – Srdcová infuze (Brain Heart Infusion)

BV – Bakteriální vaginóza

CFU/ml – Jednotky tvořící kolonie/mililitr (Colony Forming Units)

DEA – Dienthanolamid

EDTA – Kyselina ethylendiaminotetraoctová

EN ČSN – Česká technická norma

G – Gram

IL-8 – Interleukin 8

McF – McFarlandova zákalová stupnice

μM – Mikromol

MOP – Mikrobiální obraz poševní

PEG – Polyethylenglykol

Spp – Poddruh (Subspecies)

ÚVOD

Poševní prostředí tvoří řada faktorů, které jsou na sobě závislé a navzájem se ovlivňují. Tyto faktory souhrnně vytváří poševní ekosystém. V případě narušení poševního ekosystému vzniká vaginální dysmikrobie, která je charakterizována nerovnováhou poševní mikrobioty.

Poševní mikroorganismy se podílejí na udržování kyselého poševního pH, které je zajišťováno přítomností kyseliny mléčné, která zamezuje osidlování poševní sliznice patogenními mikroorganismy. Za normálních okolností kyselá pH obstarávají a udržují poševní laktobacily a to díky jejich glukogenolytickým a proteolytickým fermentačním vlastnostem. Pokud dojde ke změně rovnováhy poševních mikroorganismů, může dojít k regulaci nebo vymizení mikroorganismů zajišťujících kyselá poševní pH, dojde ke kolonizaci sliznice patogeny z exogenního prostředí nebo přemnožení mikroorganismů, které se běžně v menší míře vyskytují v poševní sliznici a následnému vzniku infekce.

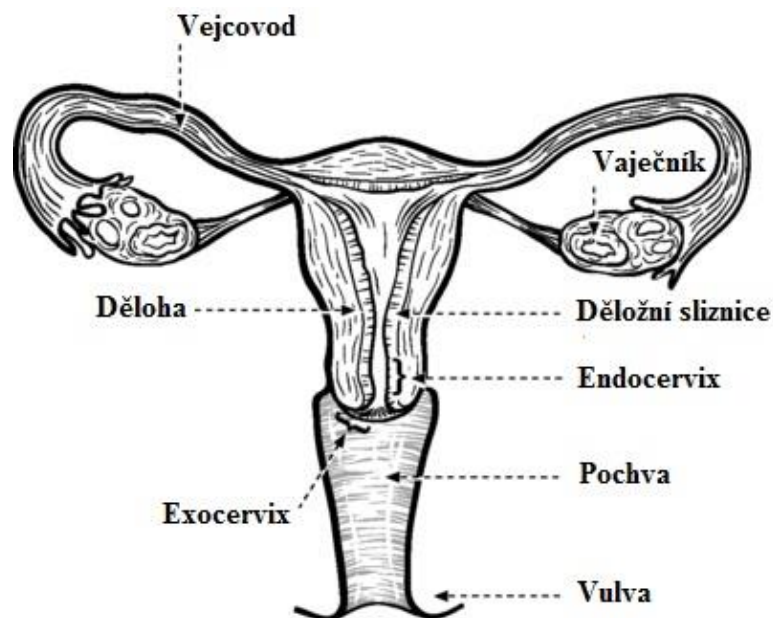
Ve složení poševní mikrobioty dochází v průběhu života ženy k výrazným změnám nejen v závislosti na hormonálních vlivech, ale také v závislosti na vnějších vlivech jako je stres, antikoncepce nebo pohlavní aktivita ženy. Každá žena je tedy za svůj život vystavena řadě rizikových faktorů, které ohrožují přirozenou poševní rovnováhu, a je tak ohrožena vznikem vaginálních infekcí. Dodržování správné intimní hygieny je klíčovým faktorem v prevenci vzniku těchto onemocnění, zabránění jejich recidivy nebo k podpoře léčby. Na trhu lze najít velké množství intimních prostředků určených pro každodenní intimní hygienu ženy, které díky kyselému pH napomáhají k udržení přirozené rovnováhy a prostřednictvím řady aktivních látek zabraňují vzniku infekce.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 CHARAKTERIZACE FYZIOLOGICKÉHO POŠEVNÍHO EKOSYSTÉMU

Přirozenou ochranu před zánětlivým onemocněním ženského genitálního ústrojí zajišťuje poševní ekosystém. Ekosystém tvoří několik vzájemně se ovlivňujících faktorů, které zahrnuje kyselé poševní pH, hormonální regulaci, slizniční imunitní systém a endogenní poševní flóru (Citterbart a kol., 2001).

Ženské reprodukční ústrojí lze rozdělit dle typu epitelu na dva hlavní oddíly. První oddíl tvoří pochva a exocervix, kde se nachází dlaždicový epitel nerohovatějšího typu. Tento epitel je velice odolný a za fyziologických podmínek je hojně osídlen bakteriální mikroflórou. Druhý oddíl se skládá z dělohy, endocervixu a vejcovodů. Nachází se zde jednovrstvý cylindrický epitel a za fyziologických podmínek se zde nenachází žádné mikroorganismy (Mašata a kol., 2014).



Obrázek 1: Anatomie dělohy

Převzato z: <https://obgynkey.com/diseases-of-the-cervix/> [16. 6. 2017]

Pochva je svalově-vazivový dutý orgán, který spojuje zevní a vnitřní ženské pohlavní orgány a který je také místem pohlavního spojení (Roztočil a kol., 2011). Pochva dále slouží k odvádění menstruační krve. Má nestejně dlouhé poševní stěny, přední 7–10 cm a zadní 10–12 cm. Na děložní hrdlo se pochva upíná poševními klenbami (Rob a kol., 2008).

Stěna pochvy je tvořena sliznicí, svalovinou a zevním vazivovým obalem. Nenachází se zde žádné žlázy, a proto se poševní sekret skládá převážně jen z mikroorganismů, produktů transsudance a odloupaných epitelů. Jeho množství je mezi 1–4 ml. Vlhkost pochvy je zajištěna pomocí sekretů ze žláz cervixu, malých vestibulárních žlázek a Bartholiniho žláz (Špaček a kol., 2013).

1.1.1 Poševní pH

Fyziologicky je v pochvě kyselé pH v rozmezí 3,8–4,5, které zajišťuje fyziologickou biocenózu a chrání tak před ascenzí patologických mikroorganismů, které se nejlépe množí v alkalickém prostředí.

Poševní pH je ovlivňováno zejména obsahem glykogenu v buňkách vaginálního epitelu, jehož množství podléhá cyklické hormonální činnosti vaječnicků. Při luteální fázi menstruačního cyklu dochází k odlučování buněk poševní výstelky a jejich cytolýze v důsledku glukogenolytického a proteolytického fermentu vaginálních laktobacilů, kterým se souhrnně říká Döderleinův laktobacil. Z cytoplazmy se tímto uvolňuje glykogen, který se dále rozkládá na maltózu a dextrózu. Tyto cukry se mění na kyselinu mléčnou, která v pochvě vytváří kyselé prostředí (Kobilková a kol., 2005).

Kyselina mléčná se v pochvě nachází v koncentraci od 10 do 110 μM . Přestože je to velmi slabá organická kyselina, tak má velký inhibiční účinek na řadu bakterií. Mechanismus tohoto účinku spočívá v acidifikaci cytosolu, zvýšení redox potenciálu a následné permeabilizaci cytoplazmatické membrány bakterie. Tyto procesy vedou k osmotickému stresu bakterií, ztenčení jejich membrány a mohou způsobit jejich smrt. Laktát má dále schopnost senzibilovat bakterie k bakteriocinům nebo lysozymu (Špaček a kol., 2013).

Poševní ekosystém je přesto velmi zranitelný a u některých žen mohou i dočasné změny pH zapříčinit vznik infekce (Koleta, 1995; Špaček a kol., 2013).

Změny pH v průběhu menstruačního cyklu

Zevní genitál spolu s pochvou patří mezi oblast, která je svým vývojem závislá na hladině cirkulujících estrogenů. Cyklické změny růstu, zrání, olupování epitelu, a tedy i změny pH, řídí zejména hormonální hladiny menstruačního cyklu (Špaček a kol., 2013).

Nejvyšší pH je během menstruace, a to z důvodu náhlého snížení obsahu glykogenu, a z důvodu přítomnosti menstruační krve (Citterbart a kol., 2001). Zvýšením pH se vytváří podmínky pro rozvoj aerobní flóry, která zahrnuje především enterokoky a stafylokoky, klesá počet laktobacilů a dochází ke zvýšení počtu bakterie *Gardnerella vaginalis* (Špaček a kol., 2013). Poševní pH se snižuje po menstruaci a v tomto období jsou velice aktivní streptokoky, bakteroidy a koliformní bakterie. Nejnižší pH je uprostřed cyklu a celý ekosystém je optimálně vyvážen. Hodnoty pH se začnou opět zvyšovat v období premenstruu. V této fázi jsou rizikovými mikroorganismy stafylokoky, enterokoky, *Gardnerella vaginalis*, *Escherichia coli* a kvasinky (Citterbart a kol., 2001).

Voss a kol. (1993) stanovili aerobní a fakultativně anaerobní vaginální mikroflóru u 242 zdravých žen v průběhu jejich menstruačního cyklu. V premenstruační fázi byly nejčastěji izolované mikroorganismy koaguláza negativní stafylokoky (61 %), enterokoky (25 %), *Gardnerella vaginalis* (19 %), difteroidy (12 %), streptokoky skupiny B (6,8 %), *Escherichia coli* (5,4 %) a *Candida sp.* (4 %). Zastoupení všech druhů se během menstruační fáze zvýšilo, s výjimkou kandid a *Gardnerella vaginalis*. Zastoupení bakterie *Staphylococcus aureus* bylo nejmenší před menstruací (0,9 %) a během menstruace došlo ke zvýšení výskytu (7,6 %).

Hormonální regulace v životních obdobích

V prepubertálním období dívek je hladina estrogenu velice nízká. Poševní stěna má proto minimální tloušťku a obsahuje pouze malé množství glykogenu. Z tohoto důvodu je pH pochvy spíše alkalické (Citterbart a kol., 2001). Výjimku tvoří novorozenci, kterým v krvi cirkulují mateřské a placentární hormony, které vyvolávají estrogenizaci organismu a vyvolávají tak typickou reakci na pohlavních orgánech novorozence. Stejně jako

v proliferační fázi menstruačního cyklu zralé ženy se v endometriu novorozence nachází vyzrálé povrchové epitelie, objevuje se zde Döderleinův laktobacil a pH pochvy je spíše kyselé. Množství mateřských estrogenů postupně klesá a jejich vliv odeznívá průměrně do 21 dní po narození (Kobilková a kol., 2005).

Vlivem nástupu estrogenu v pubertě dojde opět k zesílení poševní stěny, začnou se cyklicky odlupovat epitelové buňky pochvy, zvýší se obsah glykogenu a dojde k osídlení pochvy laktobacily (Špaček a kol., 2010; Citterbart a kol., 2001). V období dospívání je složení vaginální mikrobioty velice podobné mikrobiotě dospělé ženy.

Po menopauze se ztrácí hormonální ochrana, sliznice pochvy začíná atrofovat, dochází k vymizení laktobacilů, které jsou nahrazeny anaerobními bakteriemi a pH dosahuje neutrálních hodnot (Špaček a kol., 2013; Citterbart a kol., 2001). Atrofii poševní sliznice je možné léčit silikonovým vaginálním kroužkem, uvolňujícím malé dávky estrogenu. Smith a kol. (1993) studovali účinnost, bezpečnost a přijatelnost těchto kroužků u 222 postmenopauzálních žen. Došlo k výraznému zlepšení zralosti poševního epitelu, proliferace endometria nebyla zjištěna. Dále léčba zlepšila příznaky atrofické vaginitidy a u více jak 90 % žen došlo k vyléčení nebo zlepšení onemocnění. Přijatelnost byla také vysoká. Více jak 90 % žen nezaznamenalo žádné potíže s aplikovaným kruhem.

Burton a Reid (2002) sledovali a vyhodnocovali složení poševní mikroflóry u 20 postmenopauzálních žen. Výsledky ukázaly, že v prvním odebraném vzorku mělo 70 % žen střední stupeň Nugentova skóre nebo bakteriální vaginózu. Studie tímto ukázala, že bezpříznaková bakteriální vaginóza je u postmenopauzálních žen častější než se zdálo a že vaginální flóra je u těchto žen často atypická a často kolonizována potencionálními patogeny.

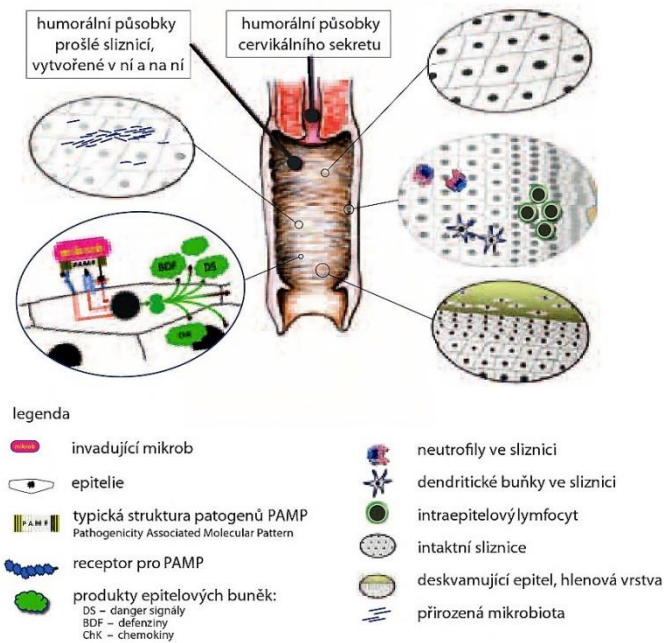
1.1.2 Poševní imunitní systém

Poševní imunita je nezávislá součást slizničního imunitního systému (obrázek č. 2). Rozdílnost oproti jiným sliznicím spočívá v chybějící organizované lymfoidní tkáni. Předpokládá se, že úlohu lymfoidní tkáně nahrazují nejbližší lymfatické uzliny. Mezi buňky zajišťující ochranu poševní sliznice patří buňky epitelu, dendritické Langerhansovy buňky, makrofágy, neutrofilny a lymfocyty.

Úloha buněk epitelu spočívá v tvorbě mechanicko-chemické bariéry, záchytu a předkládání antigenu a produkci cytokinů. Obdobnou funkci mají i dendritické Langerhansovy buňky a makrofágy (Špaček a kol., 2013).

Neutrofilny mají schopnost fagocytózy a chemotaxe. Fagocytární děj probíhá jako metabolické vzplanutí, při kterém dochází k tvorbě oxidujících mikrobicidních látek, mezi které patří například volné kyslíkové radiály. Těmito látkami neutrofilny usmrcují mikroorganismy. Neutrofilní činnost může být buď skrytá, nebo doprovázená zánětlivou reakcí. Při chemotaxi dochází k migraci po stimulu endogenních nebo exogenních chemotaxinů do sliznice nebo vaginálního sekretu. Mezi endogenní chemotaxiny patří například IL 8, u kterého je jeho množství ovlivňováno mikrobiálním osídlením pochvy. Ke snížení koncentrace IL-8 dochází v přítomnosti probiotických laktobacilů a ke zvýšení dochází naopak v přítomnosti kandid. Mezi umělé chemotaxiny patří i mikrobicidní přípravky, které se používají k intimní hygieně a zvyšují počet neutrofilů na poševní sliznici. Tímto může nastat situace, kdy žena kvůli intimním problémům použije mikrobicidní přípravek, ačkoli mikrobicidy vedou právě ke vzniku problému (Špaček a kol., 2013).

Specifickou imunitu v pochvě zajišťují lymfocyty. Pro jejich proliferaci jsou nezbytné dva signály. Po kontaktu lymfocytu s antigenem vzniká první signál a druhý signál vzniká po kontaktu antigenu s dalšími buňkami. Pokud vznikne pouze signál první a druhý signál chybí, lymfocyty zanikají anebo ztrácí svoji reaktivitu. Tímto se tvoří imunologická tolerance, která má zřejmě význam při soužití s přirozenou mikroflórou (Špaček a kol., 2013).



Obrázek 2: Ochranné mechanismy pochvy (Špaček a kol., 2013)

1.1.3 Endogenní poševní mikroflóra

V pochvě se nachází velké množství mikroorganismů, které jsou tolerovány slizničním imunitním systémem a nachází se zde v rovnovážném stavu. Přehled mikroorganismů, které se mohou vyskytovat na sliznici ženského genitálního ústrojí, je zobrazen v tabulce č. 1. Je velice těžké rozeznat komenzála od patogenního mikroorganismu. Pokud dojde k poruše fyziologických podmínek, změní se rovnovážný stav a normálně neškodný mikroorganismus se může po přemnožení stát patogenním a vyvolat tak onemocnění.

V 1 gramu poševního sekretu se nachází asi 10^6 bakterií. Složení endogenní poševní mikroflóry je rozdílné u každé ženy a závisí na mnoha exogenních a endogenních faktorech, kterými může být menstruační cyklus, hormonální antikoncepce, sexuální aktivita, užívání širokospektrých antibiotik, různé choroby a hygienické návyky (Citterbart 2001, Koleta 1995). Hygienické návyky žen negativně ovlivňují mikrobiální poměry v pochvě a jakýmkoliv zásahem zvenčí může dojít k narušení rovnováhy a vzniku zdravotních obtíží. Nejrizikovější je poševní výplach a používání spermicidů (Špaček a kol., 2013).

Tabulka 1: Přehled vyskytujících se poševních mikroorganismů (Špaček a kol., 2013.)

Aerobní a fakultativně anaerobní G+ koky	Viridující bakterie			Mykoplazmata	Intracelulární bakterie
	G+ tyčinky	G- koky	G-tyčinky		
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Corynebacterium spp.</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Citrobacter spp.</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Difteriodní tyčinky		<i>Enterobacter spp.</i>	<i>Ureaplasma urealyticus</i>	
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Lactobacillus spp.</i>		<i>Escherichia coli</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		
<i>Enterococcus faecium</i>			<i>Morganella morganii</i>		
<i>Streptococcus agalactiae</i>			<i>Proteus mirabilis</i>		
<i>Streptococcus bovis</i>			<i>Acinetobacter spp.</i>		
<i>Streptococcus canis</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>			<i>Gardnerella vaginalis</i>		
<i>Streptococcus pyogenes</i>					

Rod *Lactobacillus*

Dominantní složku poševní mikroflóry tvoří rod *Lactobacillus*, který svým počtem za normálních okolností převyšuje ostatní mikroorganismy přítomné v pochvě 100x až 1000x. Jedná se o G+, anaerobní tyčinky, tvořící často řetízky a řadící se do kmene *Firmicutes*. Většinu druhů laktobacilů hostí zažívací trakt člověka a u části z nich došlo v průběhu evoluce k adaptaci na poševní podmínky. Nachází se zde několik desítek druhů laktobacilů, ale jen několik z nich významně ovlivňují poševní poměry. Nejčastěji se vyskytující laktobacily znázorňuje tabulka č. 2. Laktobacily získávají energii homofermentativním kvašením, kdy je konečným produktem kyselina mléčná, a tímto procesem udržují kyselé poševní pH (Špaček a kol., 2013; Votava a kol., 2000).

Dlouho se předpokládalo, že hlavní zástupce laktobacilů představuje *Lactobacillus acidophilus*. V současnosti jsou ale dostupné techniky, které toto tvrzení vyvrátily a dokázaly, že pochvu u zdravých žen převážně osidlují *L. crispatus*, *L. jensenii* a *L. gasseri* (Mašata a kol., 2014).

Tabulka 2: *Lactobacillus acidophilus* komplex (Špaček a kol., 2013).

<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus gallinarium</i>
<i>Lactobacillus amylolyticus</i>	<i>Lactobacillus gasseri</i>
<i>Lactobacillus amylovorus</i>	<i>Lactobacillus iners</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Lactobacillus jensenii</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lactobacillus johnsonii</i>
<i>Lactobacillus cellobiosus</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Lactobacillus salivarius</i>
<i>Lactobacillus fermentum</i>	

Vlastností některých laktobacilů je tvorba H_2O_2 . H_2O_2 je nestabilní, silné oxidační činidlo, při jehož působení dochází ke vzniku vysoce účinných volných radikálů, které jsou pro některé bakterie toxické. Laktobacily nejsou k H_2O_2 imunní a tak se musí chránit produkcí extracelulární peroxidázy, která se aktivuje pomocí Fe^{3+} iontů. Všechny druhy poševních laktobacilů nemají schopnost tvořit H_2O_2 a převaha laktobacilů se schopností produkce poukazuje na zdravé vaginální poměry. Mezi silné producenty patří například *Lactobacillus crispatus* a *Lactobacillus jensenii*. Byla provedena řada bakteriálních experimentů, které dokázaly, že došlo k několikanásobnému poklesu výskytu bakteriální vaginózy u žen, které byly kolonizovány těmito druhy laktobacilů, v porovnání s *Lactobacillus gasseri* a *Lactobacillus iners*. Naopak v zánětlivém prostředí laktobacily chybí, anebo jsou nahrazeny laktobacily neprodukcující H_2O_2 . Přítomnost laktobacilů produkujících H_2O_2 je záporně ovlivněna častými poševními výplachy, střídáním sexuálních partnerů a vyšší frekvencí sexuálních styků (Špaček a kol., 2013).

Laktobacily mají také schopnost produkce bakteriocinu. Bakteriociny jsou antimikrobiální bílkoviny vyznačující se poměrně úzkým spektrem antimikrobiálního účinku. Úzké spektrum účinku je pozitivního charakteru, protože tak umožňuje specifickou aktivitu proti určitým patogenům a nenaruší tak přirozené poševní komenzály.

Účinek bakteriocinu spočívá v tvorbě pórů v cytoplazmatické membráně ovlivněním buněčných reakcí enzymatického charakteru nebo nukleázovou aktivitou, a tím inhibují různé bakterie (Wang a kol., 2014). Účinek bakteriocinu je prokázán pouze, když je vázán na povrchu laktobacilů. Volné molekuly bakteriocinu jsou nejspíše neúčinné (Rob a kol., 2008). Mezi další obranné mechanismy laktobacilů patří schopnost tvorby biofilmu na sliznici, soutěžení o živiny s jinými bakteriemi a obsazení receptorů pro adhezi (Votava a kol., 2000).

Hüt a kol. (2016) charakterizovali kmeny poševních laktobacilů a zjišťovali jejich vlastnosti jako je tvorba H₂O₂, tvorba kyseliny mléčné a jejich antagonistickou účinnost proti vybraným patogenním bakteriím. Byly prokázány 3 hlavní kmeny vaginálních laktobacilů, a to *L. crispatus* (56 %), *L. jensenii* (26 %), *L. gasseri* (18 %). U 89 % *L. crispatus* a 86 % *L. jensenii* byla prokázána produkce H₂O₂. Kmeny *L. crispatus* měly větší účinnost na patogenní bakterii *Escherichia coli* v porovnání s *L. jensenii*. U *L. gasseri* byla prokázána největší produkce kyseliny mléčné a kmeny této bakterie prokázaly výrazně menší antikandidovou aktivitu v porovnání se zbylými dvěma kmeny.

Studie, kterou provedl Ravel a kol. (2010) u 396 asymptomatických žen Severní Ameriky v reprodukčním věku, vyčlenila 5 základních morfotypů poševní mikrobioty. Tyto morfotypy shrnuje tabulka č. 3. K této studii byly vybrány ženy 4 etnických skupin: kavkazské, hispánské, asijské a africké. Ze studie vyplívá, že složení poševního mikrobiálního společenstva podléhá etnickým i geografickým vlivům. Vždy se předpokládalo, že dominantní složkou je u všech žen laktobacil. Proto bylo velice překvapující zjištění, že u části populace, zvláště u černošského etnika, nemusí tento bakteriální kmen nezbytně představovat normální vaginální mikroflóru a je zde nahrazen jinými fermentujícími bakteriemi. Například v jedné skupině se nachází převážně bakterie, velice podobného složení jako u bakteriální vaginózy. Tento výzkum také potvrdil fakt, že ve skupinách, kde jsou dominantní laktobacily, není přítomen pouze jeden druh této bakterie, ale hned několik druhů (Ravel a kol., 2010; Špaček a kol., 2013).

Tabulka 3: Morfotypy poševní mikroflóry (Špaček a kol., 2013).

	Skupina 1	Skupina 2	Skupina 3	Skupina 4A	Skupina 4B	Skupina 5
Hlavní mikroby	<i>L. crispatus</i>	<i>L. gasseri</i>	<i>L. iners</i>	<i>Anaerococcus</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Finegoldia</i> <i>Streptococcus</i>	<i>Atopobium</i> <i>Provetella</i> <i>Paryimonas</i> <i>Sneathia</i> <i>Gardnerella</i> <i>Mobiluncus</i> <i>Peptoniphilus</i>	<i>L. jensenii</i>
Vedlejší mikroby	<i>L. jensenii</i> <i>Prevotella</i>	<i>Prevotella</i>	<i>L. jensenii</i> <i>Prevotella</i>	<i>L. crispatus</i> <i>L. iners</i>	<i>Prevotella</i>	
pH	4,0-4,5	4,5-5,5	4,0-5,0	4,7-5,9	4,3-5,1	
Etnikum						
Kavkazské	+++	(+)	++	+		(+)
Hispánské	+	(+)	+++	+++		(+)
Asijské	++	(+)	+++	++		(+)
Africké	++	(+)	+++	+++		(+)

1.2 PORUCHY POŠEVNÍHO EKOSYSTÉMU

Záněty pohlavních orgánů postihují častěji ženy než muže. Důvodem je anatomická stavba ženských pohlavních orgánů a jejich fyziologická funkce, jako je pohlavní styk, menstruace, porod a šestinedělí. Zánětlivá onemocnění jsou většinou polymikrobiální a bývají častěji bakteriálního nebo virového původu než původu parazitárního nebo mykotického (Mašata a kol. 2014, Rob a kol., 2008, Kobilkova a kol., 2005).

Do skupiny aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů, které způsobují záněty, patří *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*, *Enterobacteriaceae* sp., *Candida albicans*, *Chlamydia trachomatis*, *Corynebacterium* sp., *Staphylococcus aureus*, Streptokoky skupiny B, *Escherichia coli*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mobiluncus*. Do skupiny anaerobních a mikroaerofilních patogenů patří *Trichomonas vaginalis*, *Bacteriodes* sp., *Mobiluncus* sp. (Donders, 2007).

1.2.1 Diagnostika poruch poševního prostředí

Základní postup u diagnostiky poruch poševního prostředí zahrnuje posouzení anamnézy pacientky, zhotovení a vyhodnocení nativního a barveného preparátu, test s KOH, kultivaci na kvasinkové mikroorganismy a na *Trichomonas vaginalis* (Mašata a kol., 2014). O probíhající infekci také informuje výtok, který je často prvním příznakem. Posuzuje se vzhled a pH výtoku. Charakteristiku vaginálních výtoků shrnuje tabulka č. 4. (Koleta, 1995; Špaček a kol., 2013).

Tabulka 4: Charakteristika poševního výtoku (Špaček a kol., 2013)

	Konzistence	Barva	Zápach	pH	Polymorfonukleární leukocyty
Fyziologická pochva	Řídká	Bezbarvá	Bez zápachu	3,8–4,5	≤ 5
Bakteriální vaginóza	Tekutá	Špinavě šedá	Rybina	≥ 5,0	≤ 5
Vulvovaginální kandidóza	Tvarohovitá	Bílá	Bez zápachu	≤ 4,5	≤ 5
Trichomonádová vaginitida	Zpěněná, tekutá	Žlutozelená až šedá	Rybina	≥ 5,0	> 5
Aerobní vaginitida	Bez charakteristiky	Žlutavá	Bez zápachu	> 4,5	> 10
Cytolytická vaginóza	Bez charakteristiky	Bez charakteristiky	Bez zápachu	< 4,5	≤ 5
Zánětlivá vaginitida	Tekutá, hojná	Žlutozelená až šedá	Bez zápachu	≥ 5,0	> 10

Stanovení pH

Stanovení pH je dostupná metoda prováděná pomocí indikačních papírků, které se přiloží na sliznici v horní třetině pochvy (Koleta, 1995; Špaček a kol., 2013).

KOH test

Test s KOH neboli čichový aminový test, se provádí na podložním skle, kde se výtok smíchá s 10% KOH. Pokud dojde k pozitivní reakci, tak se přítomné biogenní aminy alkalizací uvolní a vzniká typický zápach po rybině. Pozitivní reakce svědčí o přítomnosti patogenních anaerobních bakterií (Špaček a kol., 2011).

Nativní preparát

V nativním preparátu se hodnotí přítomnost leukocytů, která je typická pro probíhající zánět, počet epitelíí, a také přítomnost mikroorganismů včetně klíčových buněk (Špaček a kol., 2013, Mašata a kol., 2014). Klíčové buňky jsou poševní epitelální buňky masivně povlečeny různými bakteriemi. Masivní povlečení má za následek nemožnost rozeznání okrajů u těchto buněk (Votava, 2014). Klíčové buňky urychlují cytolýzu, zvyšují pH a množství poševního sekretu. Tím vytváří ideální prostředí pro anaerobní mikroorganismy (Rob a kol., 2008). Pokud se k nativnímu preparátu přidá kapka KOH, lze diagnostikovat i přítomnost kvasinek u vulvovaginální kandidózy. KOH rozpustí většinu forem mikroorganismů a svůj tvar si zachovávají pouze kvasinky díky rigidní buněčné stěně (Špaček a kol., 2013; Mašata a kol., 2014).

Barvený preparát

Barvení dle Grama a Giemsky patří k základním diagnostickým metodám a lze jim získat užitečné informace o poševním prostředí. Barvení dle Grama má omezenou užitečnost, protože nerozliší aerobní a anaerobní mikroorganismy. Používá se k hodnocení Nugentova skóre (Koleta, 1995; Špaček a kol., 2013). Nugentovo skóre se využívá pro hodnocení normální mikroflóry a bakteriální vaginózy. Hodnotí se přítomnost a počet laktobacilů, gardnerel a gramlabilních, zakřivených tyčinek, které ve většině případů představují rod *Mobiluncus*. Pokud je skóre vysoké, tak to značí atypickou mikroflóru, nízký počet laktobacilů a vyšší počet anaerobních bakterií. Pokud jsou hodnoty skóre rovny nebo větší než 7, tak se jedná o bakteriální vaginózu.

Mikrobiální obraz poševní

Informace o poševním prostředí také poskytuje systémem hodnocení mikrobiálního obrazu poševního, který vytvořili roku 1947 autoři Jírovec, Petera a Málek. Poševní sekret nanesený na dvě podložní sklíčka se obarví dle Grama, kde se poté hodnotí bakterie a kvasinky a dle Giemsky, kde se diagnostikuje přítomnost trichomonád (Votava, 2014). Hodnocení MOP dává často falešné nebo neúplné výsledky. Ačkoli mělo dříve velký přínos, tak se dnes považuje za obsoletní. Přesto se stále využívá k hodnocení mikrobiálních poměrů v pochvě (Špaček a kol., 2013). Hodnotí se počet epitelíí, leukocytů, laktobacilů a dalších mikroorganismů. Rozeznává se 6 základních obrazů MOP I – MOP VI.

MOP I je mikrobiální obraz poševní u zdravé ženy. Vyznačuje se převahou epitelíí, Döderleinových laktobacilů a není doprovázen výtokem.

MOP II je charakteristický nehnisavým mikrobiálním výtokem. V preparátu se nachází epitelie a různé bakterie s žádným nebo ojedinělým výskytem laktobacilů a leukocytů. Tento obraz se může vyskytovat i u zdravých žen, které mají ve své poševní mikroflóře pouze minimální množství laktobacilů. Za patologický stav se považuje MOP II, kde převažují rohlíčkovitě zahnuté gramnegativní tyčinky, gramnegativní koky nebo grampozitivní koky uspořádané v řetízcích.

MOP III doprovází hnisavý, hustý, bělavý až nažloutlý bakteriální výtok. Laktobacily chybí, epitelíí je malé množství. Nachází se zde převážně polymorfonukleáry a směsice bakterií včetně pyogenních bakterií, jako jsou například beta-hemolytické streptokoky, koliformní tyčinky, enterokoky, zlaté a jiné stafylokoky.

MOP IV je charakteristický pro akutní nebo chronickou kapavku, kterou doprovází výtok žlutozelené nebo žlutobílé barvy. U akutní kapavky je typická přítomnost gramnegativních diplokoků ve tvaru kávového zrna, které se buď nachází extracelulárně anebo fagocytují uvnitř leukocytů. Při chronické kapavce je možný nález i jiných bakterií a jsou přítomny epitelie a laktobacily.

MOP V s řídkým, bělavým a zpeněným výtokem se nachází u trichomonózy, kterou způsobuje prvok *Trichomonas vaginalis* barvitelný pouze dle Giemsky. Dále se zde nachází epitelie, leukocyty, laktobacily a další bakterie. Diagnostika tohoto obrazu vyžaduje delší zkušenost laboratorního pracovníka.

MOP VI představuje vaginální kandidózu, kdy se v preparátu nachází kvasinky. Možná je i přítomnost leukocytů, laktobacilů a dalších bakterií (Votava, 2014; Votava a Ondrovčík, 1998).

Laktobacilární stupeň

Laktobacilární stupeň posuzuje přítomnost a kvantitu laktobacilů. Tato klasifikace má tři stupně. Laktobacilární stupeň I, který představuje mikrobiotu s převahou laktobacilů, kteří indikují zdravou poševní sliznici, až laktobacilární stupeň III, který charakterizuje vymizení

laktobacilů, a to značí bakteriální vaginózu. Laktobacilární stupeň II je intermediární a značí malou přítomnost laktobacilů (Špaček a kol., 2013).

1.2.2 Záněty zevních rodidel a pochvy

Záněty zevních rodidel a pochvy jsou jedním z nejčastěji uváděných důvodů při návštěvě gynekologické ambulance (Kent, 1991). Příkladem je vulvovaginální kandidóza, která postihuje 75 % žen alespoň jednou za život (Bingham, 1995). Nejčastěji se setkáváme s vulvovaginitidou, tedy s infekcí, která postihuje vulvu i pochvu zároveň (Kobilková a kol., 2014). Vulvovaginitidy vznikají nejčastěji při poruše fyziologického poševního prostředí, kdy dochází k přemnožení mikroorganismů, které se normálně, ale v menším množství, nacházejí u zdravých žen. Tyto infekce jsou charakteristické vulvovaginálním diskomfortem, který se projevuje výtokem, pálením a svěděním zevních genitálií (Roztočil a Bartoš, 2011). Tato skupina infekčních onemocnění zahrnuje trichomonózu, vulvovaginální kandidózu, bakteriální vaginózu, aerobní vaginitidu, atrofickou vaginitidu, herpes genitalis a poševní laktobacilózu (Mašata a kol., 2014).

Trichomonóza

Trichomonóza je onemocnění, které patří k celosvětově nejčastěji sexuálně přenosným nemocem (Mašata a kol., 2014; Kobilková a kol., 2005; Špaček a kol., 2013). Způsobuje ji prvok *Trichomonas vaginalis*, který u žen žije pouze v pochvě a močové trubici. U mužů se nachází v uretře a někdy i v prostatě (Roztočil a Bartoš, 2011; Goering a kol., 2016). Přenáší se pohlavním stykem, častěji z muže na ženu, kdy po kontaktu s patogenem onemocní přibližně 85 % žen a 70 % mužů. U mužů dochází ke spontánnímu vymizení a to až u 33 % případů. Jeden z důvodů větší citlivosti žen na tuto bakterii je přítomnost specifické receptorů na bakteriích, zvláště pro estrogeny a androgeny. Optimální podmínky mají při vysokých hladinách estrogenů a naopak při nižších koncentracích dochází k vymizení infekce nebo k přechodu do latentního stádia (Špaček a kol., 2013). Průběh infekce je až u poloviny žen asymptomatický a je spojený se zvýšením poševního pH (Goering a kol., 2016). K symptomatickým projevům patří šedý, zpěněný výtok. K méně častým projevům patří svědění, krvácení a dysurie (Roztočil a Bartoš, 2011). K léčbě se používají nitroimidazolové preparáty, nejčastěji metronidazol a je nutné léčit všechny sexuální kontakty. Teprve poté je úspěšnost léčby až 95% (Špaček a kol., 2013; Mašata a kol., 2014).

Vulvovaginální kandidóza

Vulvovaginální kandidóza je onemocnění způsobené kvasinkami rodu *Candida*. Kvasinky jsou u 15–30 % žen běžnou součástí poševní mikroflóry bez jakýchkoli nežádoucích projevů (Špaček a kol., 2013). Jedná se o podmíněně patogenní mikroorganismy, které při optimálních podmínkách pučí a přecházejí na hyfální formu, ve které mají snazší průnik do jednotlivých vrstev vaginální sliznice (Roztočil a Bartoš, 2011; Rob a kol., 2008). Z 90 % se jedná o přemnožení *C. albicans*, ve zbylých 10 % *C. glabrata*. Častější výskyt onemocnění v těhotenství nebo při hormonální léčbě lze vysvětlit přítomností receptorů pro ovariální hormony, které se nachází na povrchu této bakterie. Estrogeny podporují množení kandid. K rozvoji onemocnění také přispívá zvýšená nabídka cukrů u diabetiček (Roztočil a Bartoš, 2011; Rob a kol., 2008). K typickým projevům patří svědivý, nezapáchající, dráždivý výtok a při akutním onemocnění se objevuje zarudnutí pochvy a tvarohovitý výtok. K léčbě se v současnosti používají azolová antimykotika, které mají 85–90% účinnost (Mašata a kol., 2014).

Online průzkum prevalence vulvovaginální kandidózy provedli Foxman a kol. (2013). Průzkumu se zúčastnilo 6 000 žen ve věku od 16 let z různých evropských a amerických zemí. Výsledky ukázaly, že u 29–49 % žen, byla aspoň jedenkrát za život diagnostikována vulvovaginální kandidóza a z těchto žen více jak 1/5 vykazovala rekurentní kandidózu, kdy se onemocnění vrátilo více jak 4x v rámci jednoho roku. Studie provedena Rylander a kol. (2004) na 219 sexuálně aktivních adolescentních dívkách prokázala pozitivní nález kandidy u 42 % dívek a z toho 15 % dívek bylo asymptomatických. U 22 % dívek byla kandidóza rekurentní. Nowakowaska a kol. (2014) provedla studii u těhotných žen s onemocněním diabetes mellitus. Klinicky zjevná bakteriální nebo mykotická vaginitida byla prokázána až v 71 %.

Bakteriální vaginóza

Bakteriální vaginóza je charakteristická komplexním narušením fyziologické vaginální mikroflóry, přemnožením zejména anaerobních a jiných mikroorganismů a úbytkem důležitých druhů laktobacilů (Pirota a kol., 2009). Jedná se o neznámou poruchu poševního prostředí a za rozvoj onemocnění je pravděpodobně zodpovědná hlavně fakultativně anaerobní bakterie *Gardnerella vaginalis* ale také například *Mycoplasma hominis*. *G. vaginalis* a ostatní bakterie způsobující bakteriální vaginózu produkují kyselinu sukcinovou a biogenní aminy, které se dokazují již zmíněným aminovým

testem. Dalším typickým znakem u tohoto onemocnění je přítomnost klíčových buněk. Bakteriální vaginóza vzniká v souvislosti se zvýšeným poševním pH, snížením antimikrobiální aktivity a poškozením imunitních cest (Cittebart a kol., 2008). Vysoká koncentrace anaerobních mikroorganismů při bakteriální vaginóze může mít negativní vliv na průběh těhotenství a zapříčinit poškození plodu (Hill, 1993). K léčbě se používá 7 denní dávka perorálního metronidazolu nebo vaginálního klindamycinu v těhotenství. U více jak 50 % žen je zaznamenána recidivita a to do 6 měsíců od léčby první infekce (Pirota a kol., 2009).

Aerobní vaginitida

Aerobní vaginitida je nově vyčleněné a popsané zánětlivé onemocnění, které je způsobeno aerobními bakteriemi, převážně streptokoky skupiny B, *Escherichia coli* nebo *Staphylococcus aureus*. Nález těchto bakterií v poševním prostředí je 3–5x častější u žen s aerobní vaginitidou, avšak samotná přítomnost nepotvrzuje diagnózu a není indikací k léčbě (Mašata a kol., 2014). AV se vyznačuje společnými projevy s bakteriální vaginózou. Patří sem snížený počet nebo nepřítomnost laktobacilů, zvýšené pH a přítomnost výtoku. Přesto existuje mezi těmito onemocněními několik zásadních rozdílů. U žen s BV není často přítomný zánět, zatímco ženy s AV se vyznačují zarudnutím a otokem zevních pohlavních orgánů. U BV je výtok bělavý až šedý, vodnaté konzistence, zatímco u AV je výtok žlutý až zelený. U žen s těžkou formou AV se často vyskytuje dyspareunie. Prevalence AV je 7–12%, převládá tedy méně než BV (Donders a kol., 2017). Klíčové buňky nejsou u AV přítomny, naopak je zvýšený počet leukocytů, koků a parabazálních buněk (Mašata a kol., 2014). Nejlepší léčba se doposud neurčila, musí však být přizpůsobená potřebám pacientky a mikroskopickému nálezu. Mohou se aplikovat antimikrobiální látky, probiotika, kortikosteroidy nebo místní estrogenní terapie pro podporu rekolonizace poševního prostředí laktobacily (Donders a kol., 2017; Mašata a kol., 2014).

Aerobní vaginitida může vést k infekci dělohy a může zapříčinit předčasný porod. Sun a kol. (2017) studovali účinnost kyselých pufrovaných laktátových, acetátových a citrátových gelů při pH 3,5, 5,0 a 6,0 na bakterie *E. coli* a *S. aureus*. Výsledek ukázal, že kyselá pufrovaná gely snižují poševní pH, mají vysokou antibakteriální aktivitu, zlepšují růst laktobacilů v pochvě a zmírňují aerobní vaginitidu.

Laktobacilóza

Poševní laktobacilóza je onemocnění vzniklé nezánettivým porušením fyziologické rovnováhy poševního prostředí, způsobené přemnožením vláknitých, až 75 mikrometrů dlouhých laktobacilů (Rob a kol., 2008). Klinický obraz je velice podobný vulvovaginální kandidóze a je těžké je od sebe rozeznat. Vyznačuje se hustým krémovitým nebo tvarohovitým výtokem, doprovázený svěděním a pálením zevních rodidel. Onemocnění má cyklický průběh, výtok se objevuje 7–10 dní před menstruací, po menstruaci vymizí a objeví se opět 7–10 dní před další menstruací. V nativním a barveném preparátu lze rozeznat dlouhé filamentózní mikroorganismy (Mašata a kol., 2014). Laktobacilóza se dále vyznačuje negativním aminovým testem a fyziologickými hodnotami poševního pH. Nejúčinnější je léčba amoxicilinem/klavulanátem po dobu 7 dnu. Horowitz a kol. (1994) uvedli, že po léčbě 500 mg amoxicilin-klavulanátu podávaného perorálně po 8 hodinách po dobu 7 dnů se až 86,3 % pacientů stalo asymptomatických. Po provedení vaginálních výplachů roztokem jedlé sody (30-60 g jedlé sody v 1 litru teplé vody) 2x až 3x týdně dochází ke zlepšení symptomů.

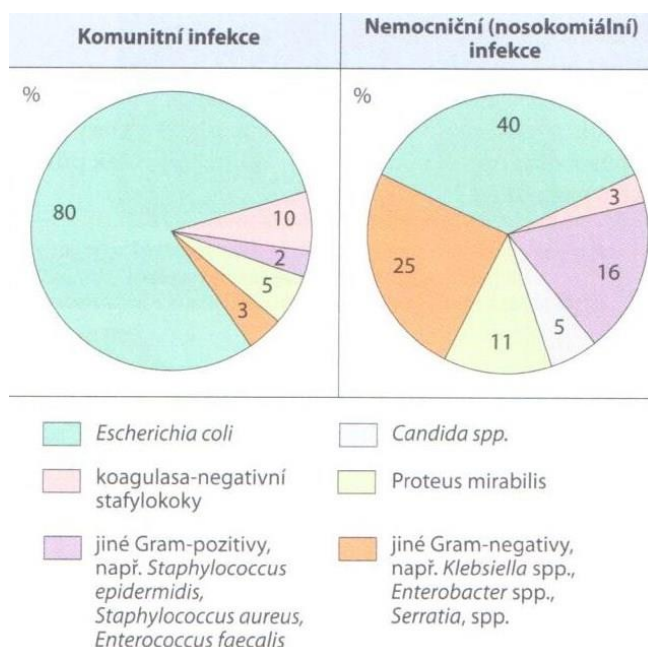
1.2.3 Zánět močových cest

Rekurentní infekci močového traktu prodělá během života 20-30 % žen, a proto je močový trakt místem s nejčtetnějším výskytem bakteriálního onemocnění. Urogenitální ústrojí je do jisté míry souvislé, a přestože se u žen rozlišuje cystitida, vaginitida a uretritida, tak se symptomy těchto infekcí mnohdy překrývají. Močové infekce se z epidemiologického hlediska dělí na komunitní a nozokomiální. Nozokomiální infekce jsou spojeny s katetrizací, nejsou tak časté jako komunitní, ale podílejí se na 40% všech nemocničních infekcí. Mezi klinické příznaky akutní infekce močových cest patří dysurie, zvýšená potřeba a frekvence močení. Moč může obsahovat krev, typická je bakteriurie a pyurie, která způsobuje zakalení moči. Podobné příznaky mohou mít i některé urogenitální infekce, a proto je nutné laboratorní vyšetření středního proudu moči (Goering a kol., 2016).

Mezi hlavní původce zánětu močových cest patří bakterie *Escherichia coli*. Schopnost kolonizovat močové cesty mají jen některé sérovary *E. coli*, které jsou označovány jako uropatogenní *E. coli* (UPEC) a jsou odlišné od sérovarů nacházejících se v zaživacím traktu. Rozdílnost je dána faktory virulence. UPEC obsahují geny v chromosomálních ostrůvcích patogenity, které se u fekálních sérovarů nevyskytují. Tyto geny jsou spojené s kolonizací periuretrální oblasti a umožňuje bakteriím adhezi k epitelu močové trubice a močového měchýře (Goering a kol., 2016).

Kromě *E. coli* se na vzniku infekcí podílejí i jiné patogeny. Přehled a procentuální zastoupení běžných původců ukazuje obrázek č. 3 (Goering a kol., 2016). K přenosu obvykle dochází ascendentní cestou a zdrojem jsou střevní bakterie kolonizující poševní sliznici, které se dostávají do jinak sterilních močových cest a způsobují tak uroinfekce (Horčíčka, 2009). Recidivita infekcí močových cest je často spojená s perzistentní kolonizací poševní sliznice bakterií *E. coli* (Gupta, 1998).

U nezávažných močových infekcí, dochází u 40 % pacientů, ke spontánnímu vyléčení v průběhu 4 týdnů. K eradikaci patogenů a k potlačení příznaků se mohou podat orální antibiotika. Doporučuje se pít velkého množství tekutin (Goering a kol., 2016).



Obrázek č. 3: Procentuální zastoupení běžných původců infekcí močových cest (Goering a kol., 2016).

1.3 INTIMNÍ HYGIENA

Každoročně kolem 10 % žen na celém světě prodělá genitální infekci včetně bakteriální vaginitidy a infekce močových cest. Mezi obvyklé rizikové faktory vzniku těchto infekcí patří špatná intimní hygiena nebo těhotenství (Geethu a kol., 2016). Hygienické zásady mají u dívek a žen specifický význam a jsou v jednotlivých obdobích života ženy rozdílné. Tato období se řídí hormonálními změnami, hlavně přítomností a nepřítomností estrogenu (Dostálová a kol., 2009).

1.3.1 Intimní hygiena žen

Ke každodenní intimní hygieně žen se doporučuje použití vhodného, nedráždivého a neparfemovaného intimního mýdla nebo gelu. pH těchto přípravků je od velmi kyselého (pH 3,8), přes kyselé (pH 4,5–5,2), po mírně alkalické (pH 7–8). Nejčastěji se používají intimní mýdla či gely s kyselým pH. Toto pH přípravků akceptuje fyziologické pH pochvy. V některých případech je ale vhodné použít intimní gel s mírně alkalickým pH, protože kyselý pH usnadňuje adhezi některých bakterií a kvasinek k poševnímu epitelu, a proto je u některých, zvláště kvasinkových, infekcí nevhodné. Za rozpuštění nečistot zodpovídají oleje nebo syntetické amfoterní detergenty. Parfemaci obstarávají éterické oleje nebo silice. Extrakty z léčivých rostlin zajišťují fungistatické a bakteriostatické účinky těchto přípravků. Seznam a účinek v ČR běžně dostupných intimních mýdel a gelů znázorňuje tabulka č. 5 (Fait, 2007).

Za nevhodné se považuje použití klasického mýdla. Je prokázána souvislost mezi recidivními kvasinkovými vaginitidami a používáním klasických mýdel. Recidivita může být také spojena s používáním kombinované, perorální, hormonální antikoncepce a prováděním poševních výplachů vodou. Nevhodná je přehnaná hygiena, která narušuje fyziologické prostředí pochvy a hráze (Fait, 2007).

Po omytí je důležité následné důkladné osušení intimních partií. Mezi některé vyvolavatele zánětů patří i střevní bakterie, a proto je nezbytné osvojit si správné otírání po stolici, které musí být vedeno od poševního vchodu směrem ke konečníku (Mazánková, 2005). Mezi *C. albicans* nacházející se ve střevě a *C. albicans* nacházející se v pochvě je prokázána přímá souvislost. Konečník je tedy možným rezervoárem této bakterie a může být důvodem opakovaných poševních infekcí (Koliba, 2014). Důležitý je také výběr vhodného spodního prádla, které by se mělo vyměňovat minimálně jednou za den (Mazánková, 2005).

Tabulka č. 5: Souhrn běžně dostupných intimních gelů a mýdel (Fait, 2007).

NÁZEV	FORMA OBJEM	VÝROBCE	PH	SLOŽENÍ	VLASTNOSTI
ALOE DERMAL INTIMOID	emulze 250 ml	ESI	4,5	Mentol, šalvěj, heřmánek, kyselina mléčná, esenciální oleje	Prevence podráždění a zánětů
CAREFREE	Gel	Johnson & Johnson	optimální	Aloe vera, 9-nonoxynol, pantenol	Antibakteriální, antimykotické, protizánětlivé
GYNTIMA	Pěna 150 ml	Herb Pharma			
CHILLY INTIMA	Gel 200 ml	Monethi- Roberts	5	Kyselina mléčná, triklosan	Bakteriostatický, prevence kvasinkové infekce, správná hydratace
CHILLY INTIMA DELICATE	Gel 200 ml	Monethi- Roberts	5	Kyselina mléčná, aloe, triklosan, hamamelis	
CHILLY INTIMA FRESH	Gel 200 ml	Monethi- Roberts		Kyselina mléčná, mentol, triklosan	
CHILLY INTIMA FREASHSOAP	Mýdlo 200 ml	Monethi- Roberts		Kyselina mléčná	
INTIM	Gel 100 ml	Mirra Lux		Oleje z kamélie japonské, kys.mléčná, mořská sůl, meduňka, heřmánek	Změkčuje, snižuje podráždění
INTIMA ALTERMED	Mýdlo 200 ml	Altermed	4,5	Kyselina mléčná, triklosan, Quinoa	Omezuje průnik bakterií, zklidňuje a zvláčňuje kůži
INTIMA	Hydrofilní olej	ATOK		Mandlový, sójový a jojobový olej, éterické oleje	Antibakteriální, antimykotický

NÁZEV	FORMA OBJEM	VÝROBCE	PH	SLOŽENÍ	VLASTNOSTI
INTIME	Emulze 150 ml	Cannaderm	Mírně kyselé	Konopný olej, šalvěj, tymián	Protizánětlivý
LACTACYD FEMINA DAILY WASH	Emulze 200 ml Pěna 150 ml	GlaxoSmith	5,2	Kyselina mléčná	Zmírňující projevy zánětu, posiluje obranyschopnost
SAFORELLE	Gel 100-500 ml	Laboratoires Prad	8	Extrakt z lopuchu	Protizánětlivý, bakteriostatický, mykostatiký, antipruriginózní
SEBAMED	Mýdlo 200 ml	Sebapharma	3,8	Aloe barbadensis, Alfabisabolol, organické deriváty tenzidů	Zklidňující a ochranné účinky
SIMPLY DELICATE	Gel 300 ml	Avon	vyrovnané		Antibakteriální, osvěžující

1.3.2 Gely a mýdla pro intimní hygienu

LACTACYD FEMINA PLUS

LACTACYD FEMINA PLUS je emulze se zvýšeným obsahem kyseliny mléčné a s velmi šetrným složením. Je doporučována pro intimní hygienu při podráždění. Zbavuje pálení a svědění při bakteriální infekci, a proto se používá i jako doplněk při léčbě gynekologických potíží. Emulze má snížené pH 3,5, které obnovuje narušenou rovnováhu poševní mikroflóry, a tím napomáhá urychlit doléčení. Přípravek neobsahuje složky jako mýdlo, parfém ani alkohol, které by mohly způsobit podráždění. Přípravek je doporučován k použití také v těhotenství, šestinedělí, při užívání hormonální antikoncepce, antibiotik, po menopauze nebo po gynekologických operacích (Informace na obalu LACTACYD FEMINA PLUS, <http://www.lactacyd.cz> [27. 4. 2017]).

Kyselina mléčná se objevuje ve většině intimních gelů a mýdel. Může být také používána k lokální aplikaci ve formě čípků a gelů. V tomto případě je ale většinou v kombinaci s jinými účinnými složkami, kterými bývají například laktobacily (Slíva a Fait, 2012). Kyselina

mléčná udržuje nízké poševní pH a zabraňuje tak přemnožení patogenních bakterií. Ve fyziologické koncentraci, která se pohybuje v rozmezí 50–110 μM , dokáže usmrtit anaerobní bakterie, které způsobují bakteriální vaginózu, a to bez jakéhokoliv negativního vlivu na přínosné laktobacily (Špaček a kol., 2013).

Bakterie mléčného kvašení, pomocí produkce kyseliny mléčné a dalších metabolitů potlačují filamentaci kvasinek, která je hlavním faktorem virulence u *Candida albicans* (Liang a kol., 2016).

Shokri a kol. (2017) provedli studii inhibičního účinku laktobacilů na tvorbu biofilmu kmene *Pseudomonas aeruginosa* rezistentního na antibiotika. Z 57 kmenů laktobacilů vykazovaly dva kmeny druhu *Lactobacillus fermentum* široké inhibiční, bakteriocidní účinky a zamezovaly tvorbě biofilmu u *Pseudomonas aeruginosa*. Po zkoumání inhibičního mechanismu se zjistilo, že hlavní inhibiční účinek *Lactobacillus fermentum* je tvorba organických kyselin, do kterých patří kyselina mléčná, octová a mravenčí.

Koagulační a antimikrobiální účinek vaginálních laktobacilů na urogenitální patogeny zjišťovala studie in vivo a in vitro provedená De Gregorio a kol. (2014). Většina testovaných kmenů laktobacilů zvýšila procento agregace u bakterie *Streptococcus agalactiae*. Ze všech testovaných laktobacilů měl pouze kmen *Lactobacillus reuteri* pozitivní vliv na agregaci *Staphylococcus aureus*, a žádný kmen laktobacilů neměl vliv na agregaci *Candida albicans*. Po 4 a 8 hodinách inkubace in vitro byla prokázána výrazná inhibice bakterie *Streptococcus agalactiae*. S inhibičními účinky bylo pozorováno paralelní zvýšení hladiny kyseliny mléčné a H_2O_2 .

Studii vlivu nízkého pH kyseliny mléčné na patogenní bakterie provedli Holst a Brandberg (1990). Po dobu šesti týdnů vaginálně aplikovali laktátový gel s nízkým pH deseti těhotným ženám s bakteriální vaginózou. Už po několika dnech léčby se u všech pacientek obnovila poševní mikroflóra s převažujícími laktobacily. Všem ženám vymizel výtok a zápach provázející bakteriální vaginózou. Jedná se o lokální léčbu, která obnovuje přirozenou kyselost poševního prostředí, napomáhá k rekolonizaci laktobacilů, a proto se může stát vhodnější léčbou v porovnání s orální antimikrobiální terapií, zejména u těhotných žen.

Naproti tomu ve studii Boeke a kol. (1993) se účinek lokálně aplikované kyseliny mléčné nepotvrdil. V této studii byl srovnáván účinek kyseliny mléčné, která byla lokálně aplikována 125 pacientkám s bakteriální vaginózou s působením metronidazolu, který byl podáván orálně. U části pacientek byl použit placebo efekt. Výsledkem bylo výrazně rychlejší vymizení příznaků bakteriální vaginózy u orální aplikace metronidazolu v porovnání s kyselinou mléčnou a placebem. U metranidazolu trvala doba do odeznění příznaků 21 dní a u placebo 80 dní. U kyseliny mléčné nedošlo u 50 % pacientek k vymizení příznaků ani po 90 dnech aplikace. Výsledky ukázaly, že čípky s kyselinou mléčnou jsou neúčinné při léčbě bakteriální vaginózy, metranidazol je naopak účinný.

Složení: Voda, lauryl glukosid, kokamidopropyl betain, kyselina mléčná, kokoglukosid, glyceryl oleát, glykol distearát, glycerin, methylparaben sodný (Informace na obalu LACTACYD FEMINA PLUS, <http://www.lactacyd.cz> [27. 4. 2017]).

IDELYN BELIEMA

IDELYN BELIEMA intimní gel je určený ke každodennímu použití a použití při zvýšeném riziku bakteriální nebo kvasinkové infekce, menstruaci, těhotenství nebo po porodu. Obsahuje antibakteriální látku chlorhexidin, která zastavuje růst bakterií a kvasinek, pomáhá obnovit poševní rovnováhu a pH a díky tomu snižuje recidivitu zánětů a kvasinkových infekcí. Speciální složení zmírňuje svědění a pálení. Hydrataci obstarává kyselina hyaluronová, obnovu pH zajišťuje kyselina mléčná a kyselina boritá, zklidňující účinky a potlačení pocitu svědění zajišťuje výtažek z měsíčku lékařského. Přípravek dále obsahuje komplex α -oligoglukanů BioEcolia, který pomáhá obnovení přirozené mikroflóry pokožky (Informace na letáku IDELYN BELIEMA, <https://www.idelyn.cz/About> [28. 4. 2017]).

Chlorhexidin je chemické antiseptikum, které má bakteriostatické a bakteriocidní účinky. Chlorhexidin bývá nejčastěji součástí ústních vod. Za předpokladu nízké koncentrace lze chlorhexidin použít i na ošetření poševní sliznice (Slíva a Fait, 2012).

Ve studii MacNeill a kol. (1997) byla porovnána účinnost 0,12% chlorhexidin glukonátu a tetracyklin hydrochloridu na životaschopnost a růst mikroorganismu *Candida albicans*. Testované subkultury na Sabouraudově agaru byly inkubovány 10 dnů a každý den byly odebírány vzorky pro zjištění životaschopnosti bakterie. Výsledky ukázaly, že tetracyklin

hydrochlorid neměl i ve vysokých koncentracích inhibiční účinky na růst *Candida albicans*, zatímco chlorhexidin silné inhibiční účinky prokázal.

Chlorhexidin také prokazuje profylaxní účinek na streptokoky skupiny B. *Streptococcus agalactiae* může být během porodu přenesen z matky na novorozence a způsobit invazivní neonatální infekce. Účinek profylaxe chlorhexidinu na toto onemocnění potvrdila studie provedená Adriaansem a kol. (1995), která měla za úkol vyhodnotit účinek vaginální dezinfekce chlorhexidinového gelu během porodu. Celkem 1 020 žen bylo rozděleno do tří skupin. Všem byla provedena kultivace z konečníku, poševního vchodu a děložního čípku. Poté bylo dvěma skupinám žen aplikováno 10 ml 0,3% chlorhexidinového gelu nebo placebo gelu. Aplikace byla zopakovaná po 10 hodinách. Třetí skupině nebyl aplikován žádný přípravek. Výsledky potvrdily nosičství streptokoka skupiny B u 19,4 % žen. Vertikální přenos této bakterie byl 52,4 % ve skupině žen, které byly ošetřeny chlorhexidinem, 71,4 % ve skupině s placebem a 66,7 % v kontrolní skupině. Výsledek naznačil, že vaginální dezinfekce chlorhexidinovým gelem během porodu může mírně snížit vertikální přenos bakterie *Streptococcus agalactiae* a snížit výskyt onemocnění streptokokové sepse v rané fázi o 2 – 32 %.

Přípravek IDELYN BELIEMA obsahuje také kyselinu boritou. Studium účinku kyseliny borité na mikroorganismus *Trichomonas vaginalis* se zabývali Brittingham a Wilson (2014). Trichomoniáza se standardně léčí nitroimidazolovými sloučeninami a intravaginální podání kyseliny borité začalo být doporučováno jako alternativní léčba. Proto byla provedena studie na potvrzení účinku kyseliny borité, kdy se zkoumala citlivost běžných laboratorních kmenů a klinických izolátů *T. vaginalis*. Výsledky potvrdily mikrobicidní účinek kyseliny borité na *T. vaginalis* a tento mikrobicidní účinek byl nezávislý na pH prostředí, ve kterém kyselina boritá působí. Na rozdíl od kyseliny mléčné a kyseliny octové účinkuje kyselina boritá v prostředí o širokém rozmezí pH.

Složení: Voda, glycerin, laurethsulfát sodný, kokoamfoacetát sodný, kokamidopropyl betain, laurylglukosid, kokoglukosid, 200-PEG hydrogenovaný glyceryl palmát, alfa-glukan oligosacharid, glyceryl oleátu, chlorhexidindiglukonát, prášek listové šťávy aloe barbadensis, kyselina boritá, kyselina mléčná, tokoferol, panthenol, hyaluronát sodný, kokosylglutamát sodný, lauryl glukosa karboxylát sodný, PEG-7 glyceryl kokoát, benzoát sodný, chlorid sodný, decylglukosid, sorbát draselný, kyselina citronová, polyquaternium-7, styren/akrylátový

kopolymer. (Informace na letáku IDELYN BELIEMA, <https://www.idelyn.cz/About> [28. 4. 2017]).

NIVEA INTIMO WASH LOTION MILD

NIVEA INTIMO WASH LOTION MILD je jemná sprchová emulze určená pro každodenní intimní hygienu. Obsahuje výtažek z heřmánku, bio jojobový olej zabraňující podráždění a kyselinu mléčnou, která chrání intimní partie před infekcí. Kyselé pH 4,6 respektuje fyziologické poševní pH. Přípravek neobsahuje barviva (Informace na letáku NIVEA INTIMO WASH LOTION, <https://www.nivea.cz/shop/sprchova-emulze-pro-intimni-hygienu-mild-40058085619190081.html> [28. 4. 2017]).

NIVEA INTIMO obsahuje extrakt z heřmánku pravého. Heřmánek pravý je pro své léčebné vlastnosti široce využívaná rostlina. Mezi léčebné vlastnosti patří protizánětlivý, antimikrobiální, antidepressivní, antikarcinogenní, hepatoprotektivní a antidiabetický účinek. Dále se využívá jako přírodní antioxidant a pomáhá při premenstruačním syndromu (Miraj a Alesaeidi, 2016).

Naopak studie provedená Mekonnen a kol. (2016) antimikrobiální účinnost esenciálního oleje z heřmánku pravého nepotvrdila. Olej z heřmánku pravého neprokazoval žádnou antimikrobiální aktivitu proti bakteriím zahrnujícím mimo jiné i druhy *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*.

Neúčinnost heřmánku pravého potvrdila i studie Rahman a Chandra (2015), která hodnotila antimikrobiální aktivitu různých koncentrací chlorhexidinového gelu a vodní báze z heřmánku pravého na kmenech *Candida albicans* a *Enterococcus faecalis*. Báze heřmánku lékařského v 15% koncentraci nebyla účinná ani na jeden kmen, 25% koncentrace vykazovala malou inhibiční aktivitu. Oproti tomu 2% chlorhexidin vykazoval vysokou inhibiční aktivitu na oba testované kmeny.

Složení: Voda, kokamidopropyl betain, laurethsulfát sodný, PEG-7 glyceryl kokoát, kyselina mléčná, bisabolol, extrakt z heřmánku pravého, jojobový olej, sójový olej, glycerin, tokoferon, chlorid sodný, PEG-40 hydrogenovaný ricinový olej, PEG-200-éter glycerylester mastné kyseliny mono/dilojové, benzoát sodný, citronellool, geraniol, alfa-Isomethyl Ionone, parfém

(Informace na letáku NIVEA INTIMO WASHLOTION, <https://www.nivea.cz/shop/sprchova-emulze-pro-intimni-hygienu-mild-40058085619190081.html> [28. 4. 2017]).

SAFORELLE

SAFORELLE gel je jemný mycí gel pro intimní hygienu a hygienu celého těla. Je určený pro citlivou a podrážděnou pokožku. Gel obsahuje utišující a hydratační látky a je vhodný pro každodenní použití. Složení je hypoalergenní a pH přípravku je na rozdíl od většiny jiných intimních gelů alkalické, a proto přispívá ke snížení rizika kandidózy (informace na obalu SAFORELLE). Aktivní složkou v tomto přípravku je extrakt z kořene lopuchu většího ve formě extraktu Dynaphytols. Extrakt obsahuje polyacetylenové kyseliny, které mají značný fungistatický a bakteriostatický účinek. Přípravek neobsahuje žádné barviva a konzervanty a příznivě působí při gynekologických zánětech, poranění pokožky, štípnutí hmyzem a hemoroidech (Fait, 2007).

Hlavní aktivní složkou SAFORELLE gelu je lopuch větší. Extrakt z kořene lopuchu většího má alkalické pH a snižuje adhezivitu kvasinek a jiných mikroorganismů k poševní sliznici (Slíva a Fait, 2012).

Přípravek vykazuje bakteriostatický účinek na bakterii *Pseudomonas aeruginosa* a *Enterococcus faecalis* a fungistatický účinek na *Candida albicans* (Fait, 2007). Účinek frakce z lopuchu většího na adhezi, tvorbu biofilmu a faktory virulence u bakterie *Pseudomonas aeruginosa* hodnotil Lou a kol. (2017). Zjistili, že frakce lopuchu většího zabraňuje tvorbě biofilmu, a to tím, že omezuje hydrofobicitu na povrchu bakterií, snižuje agregaci bakterií a snižuje pohyblivost bakterií.

De Oliveira a kol. (2014) vyhodnotili antimikrobiální účinek extraktu z lopuchu většího na mikroorganismy *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis* a *Candida glabrata*. Nejúčinnější koncentrace byla použita pro testování účinku na biofilmy těchto bakterií. Byla stanovena minimální inhibiční koncentrace s použitím koncentrací extraktu 0,4–250 mg/ml. Nejúčinnější byla koncentrace 250 mg/ml, která také podporovala výraznou redukci (log₁₀) biofilmu a snížení životaschopnosti studovaných mikroorganismů. Nejvíce u bakterie *S. aureus* (0,438), *S. epidermidis* (0,377), *S. mutans* (0,244) a *Candida albicans* (0,746).

Složení: Voda, kokamidopropyl betain, kokamide DEA, chlorid sodný, PEG-6 kaprylové/kaprinové glycerily, parfem, citronellol, kumarin, geraniol, limonen, linalool, propylenglykol, oxid stearaminu, octoxynol-12, olej z levandule úzkolisté, EDTA, polysorbát 20, hydroxid sodný, extrakt z kořene lopuchu většího, dimethyl stearamin (<http://saforelle.cz/> [30. 4. 2017]).

2 PRAKTICKÁ ČÁST

2.1 MATERIÁL

2.1.1 Testované kmeny mikroorganismů

Na testování přípravků intimních gelů jsme použili referenční kmeny *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 10231, *Streptococcus agalactiae* CCM 6187 a *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Kmeny odpovídají České technické normě EN ČSN 13624 a ČSN EN 13697.

2.1.2 Testované intimní gely a emulze

Testované intimní gely a emulze, u kterých jsme sledovali jejich antimikrobiální účinek na vybrané druhy mikroorganismů, jsou uvedeny v tabulce č. 6.

Tabulka č. 6: Testované intimní gely a emulze

PŘÍPRAVEK	TYP	ČÍSLO ŠARŽE	VÝROBCE
LACTACYD FEMINA PLUS	Emulze	M016	Omega Pharma Innovation & Development NV
IDELYN BELIEMA	Intimní gel	L16001	Walmark, a.s.
NIVEA INTIMO WASH LOTION MILD	Sprchová emulze	62856916	Beiersdorf spol. s. r. o.
SAFORELLE	Intimní gel	TS035	2014 Akacia Group s. r. o.

2.1.3 Přístroje a pomůcky

Přístroje:

Biologický termostat (BT 120), tužka pro počítání kolonií (Count^{TD}), autokláv (BMT a.s., PS20A), plynový kahan, chladnička, mikrotřepačka (IKA, MS 3 basic), denzitometr (DEN 1B, Biosan Ltd.).

Pomůcky:

Automatické mikropipety (Biohit), špičky, skleněné zkumavky, kovové zátky, plastové zkumavky, skleněné Petriho misky, skleněné nádoby, L hokeyky, odměrné válce, očkovací kličky.

2.1.4 Kultivační média

MALT agar

Kvasinku *Candida albicans* jsme kultivovali na MALT agaru (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., č. š. 0000145784). Na přípravu 1 000 ml této půdy je potřeba 45 g MALT agaru, který se rozpustí v 1 000 ml destilované vody. Pro naše testování, jsme si vždy připravili 400 ml této půdy a sterilizovali ji v autoklávu 15 minut při 118 °C. Sterilní agar jsme nechali zchladnout a poté jsme ho rozlévali do sterilních Petriho misek, které jsme po ztuhnutí uchovávali v chladničce při 4 °C.

Krevní agar

Na KA (Oxoid™, č. š. 1037003) jsme kultivovali bakterii *Streptococcus agalactiae*. Pro přípravu 1 000 ml krevního agaru je potřeba 40 g Blood Agar Base No. 2 rozpuštěného v 1 000 ml destilované vody. My jsme si vždy rozpustili 16 g Blood Agar Base No. 2 ve 400 ml destilované vody a dali sterilizovat do autoklávu na 15 minut při 121 °C. Poté co půda zchladla na pokojovou teplotu, jsme do půdy přidali za sterilních podmínek 20 ml beraní krve. Takto připravený krevní agar jsme rozlévali do sterilních Petriho misek a po ztuhnutí uchovávali v chladničce při 4 °C.

TSA agar

TSA agar (Oxoid™, č. š. 220319) byl potřeba pro kultivaci bakterií *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*. Tryptone Soya Agar (TSA) se připravuje rozpuštěním 40 g v 1 000 ml destilované vody. Pro naše účely jsme si rozpustili 16 g v 400 ml destilované vody a roztok jsme dali sterilizovat do autoklávu při 121 °C na 15 minut. Po vychladnutí na pokojovou teplotu jsme půdu za sterilních podmínek rozlévali do sterilních Petriho misek, nechali ztuhnout a uchovávali v chladničce při 4 °C.

BHI

Brain Heart Infusion Broth (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., č. š. 0000140607) je bujón určený pro pomnožení a kultivaci patogenních koků a nutričně náročných mikroorganismů. V 1 000 ml destilované vody jsme rozpustili 37 g BHI. Po promíchání jsme roztok dali sterilizovat v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Sterilní roztok jsme nechali vychladnout a skladovali v chladničce při 4 °C.

2.1.5 Pracovní roztoky a média

Neutralizační roztok

Neutralizační roztok jsme připravili přidáním 1 g polysorbátu 80 (RM159 Tween 80) do 200 ml destilované vody. Do takto připraveného roztoku jsme přidali 6,4 g neutralizačního činidla Eugonic LT 100 Broth Base w/o Tween 80 a roztok jsme zahřáli do úplného rozpuštění. Neutralizační roztok jsme sterilizovali v autoklávu 15 minut při 121 °C a po vychladnutí uchovávali v chladničce při 4 °C.

Fyziologický roztok

Pro přípravu 1 000 ml fyziologického roztoku jsme rozpustili 8,5 g NaCl v 1 000 ml destilované vody a dali sterilizovat v autoklávu při 121 °C na 15 minut. Po vychladnutí jsme roztok uchovávali v chladničce při 4 °C.

Sterilní destilovaná voda

1 000 ml sterilní destilované vody jsme sterilizovali v autoklávu 15 minut při 121 °C. Po vychladnutí jsme destilovanou vodu uchovávali v chladničce při 4 °C.

2.2 TESTOVÁNÍ GELŮ

K testování gelů jsme využili postupu v souladu s technickou normou ČSN EN 13697 a ČSN EN 13624. Kmeny bakterií *Escherichia coli* ATCC 25922, *Streptococcus agalactiae* CCM 6187, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 a *Candida albicans* ATCC 10231 jsme testovali diluční neutralizační metodou.

2.2.1 Pracovní postup

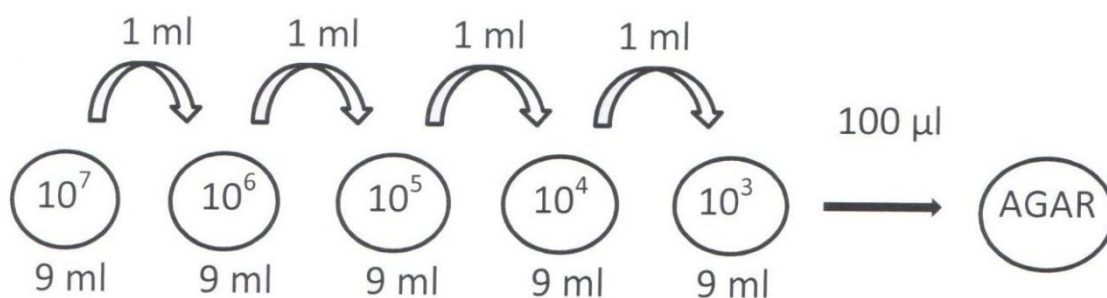
Účinnost přípravků intimní hygieny na všechny vybrané kmeny jsme testovali diluční neutralizační metodou. Před testováním jsme si všechny kmeny vyočkovali na KA, který jsme nechali inkubovat 24 hodin při 37 °C. Narostlou 24hodinovou kulturu jsme použili na samotné testování. V příloze č. 1 je umístěná fotografie se zkumavkami, které jsme si nachystali před každým testováním.

Příprava bakteriální suspenze

Na začátku testování každého bakteriálního kmene jsme si ve 3 ml fyziologického roztoku připravili bakteriální suspenzi testovaného kmene, která odpovídala 0,5 McFarlandovy zákalové stupnice a koncentraci 10^8 CFU/ml. Tuto suspenzi jsme dále používali k testování přípravku intimní hygieny. Hustotu připravené suspenze jsme po naředění a následné kultivaci ověřili stanovením hodnoty CFU/ml.

Příprava ředící řady

Do 5 sterilních zkumavek jsme napipetovali po 9 ml fyziologického roztoku a provedli desítkové ředění připravené bakteriální suspenze odpovídající 0,5 McF. Z nejnižší koncentrace, která odpovídala 10^3 CFU/ml, jsme odebrali 100 μ l, které jsme vyočkovali na příslušnou agarovou půdu. Tuto půdu jsme vybrali v závislosti na testovaném mikroorganismu. Suspenzi s kvasinkou *Candida albicans* jsme vyočkovali na MALT agar, *Streptococcus agalactiae* na KA, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* a *Escherichie coli* na TSA agar. Postup ředění je zobrazen na obrázku č. 4. Vyočkovaný objem jsme rozetřeli L hokejkou a nechali inkubovat 24 hodin při 37 °C. Narostlé kolonie nám sloužily jako kontrola správně připravené suspenze testovaných mikroorganismů.



Obrázek č. 4: Schéma ředící řady

Testování účinnosti

Do zkumavky jsme napipetovali 8 ml testovaného přípravku, 1 ml BHI a 1 ml suspenze testovaného mikroorganismu, která odpovídala 0,5 McF. Takto připravený roztok jsme nechali 1 minutu působit, a poté jsme 1 ml napipetovali do zkumavky, která obsahovala 1 ml sterilní vody a 8 ml neutralizačního roztoku. Po 5 minutách neutralizace jsme provedli desítkové ředění tohoto roztoku, který odpovídal koncentraci 10^6 na koncentrace 10^5 , 10^4 a 10^3 . Fotografie ředění je přiložena v příloze č. 2. Ze všech 4 koncentrací jsme vyočkovali 100 μ l na příslušné půdy a objem rozočkovali L hokejkou. Schéma testování znázorňuje obrázek č. 6. Půdy s naočkovanými mikroorganismy jsme nechali inkubovat 24 hodin při 37 °C. Hodnotili jsme všechny počítatelné kolonie a výsledná čísla jsme použili pro výpočet CFU/ml dle vzorce na obrázku č. 5. V příloze č. 3, 4 a 5 jsou umístěny fotografie příkladů nárůstu počítatelných kolonií.

$$N = \frac{\sum c}{V*(n_1+0,1n_2)*d}$$

Σ C... součet všech kolonií spočítaných na vybraných miskách

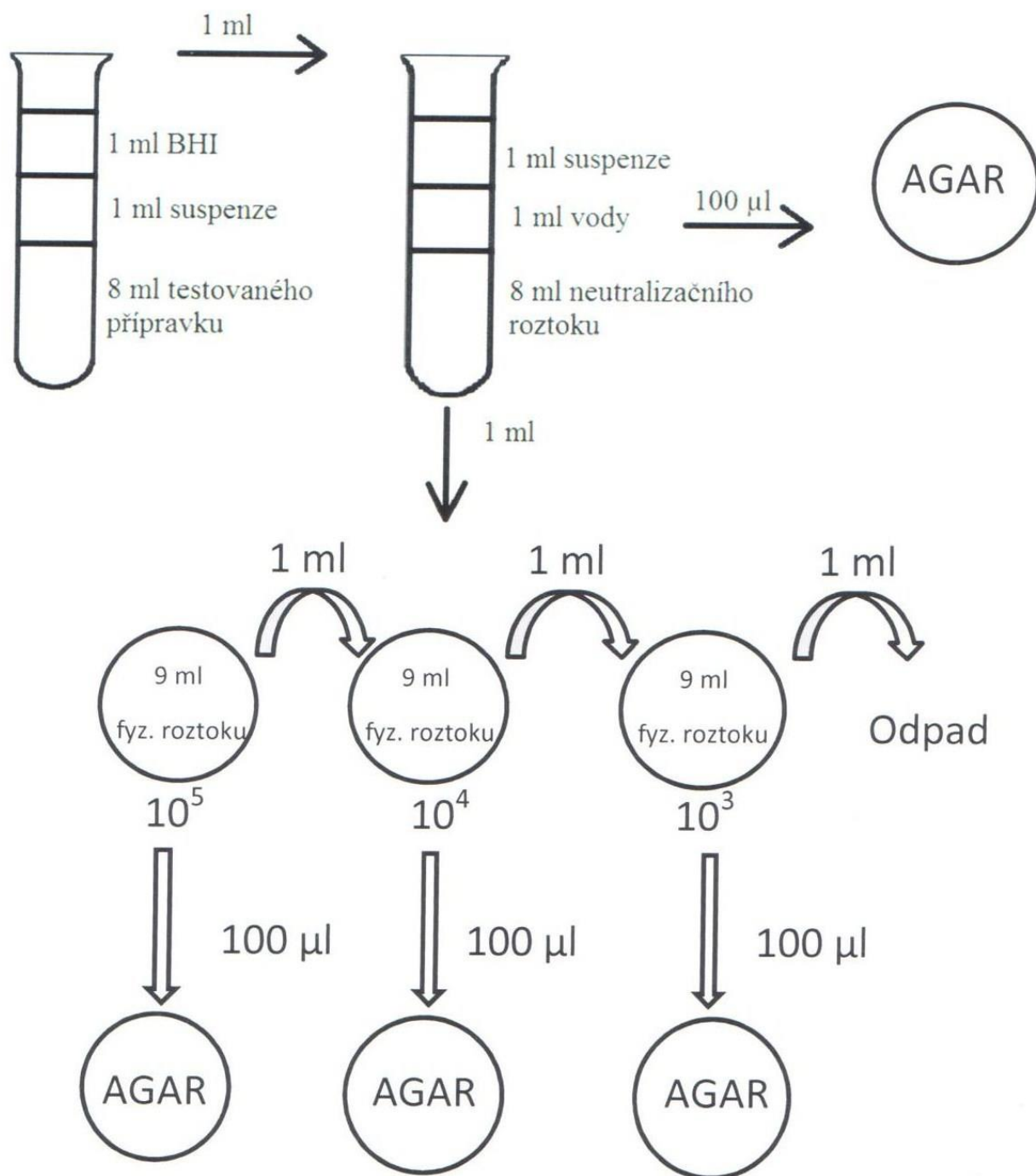
V... .. objem inokula v ml (zpravidla 1 ml)

n_1 počet misek použitých pro výpočet z prvního použitého ředění

n_2 počet misek použitých pro výpočet z druhého použitého ředění

d... .. faktor prvního pro výpočet použitého ředění

Obrázek č. 5: Vzorec pro výpočet diluční neutralizační metody (Česká technická norma EN 13697 a EN 13624)



Obrázek č. 6: Schéma postupu diluční neutralizační metody.

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

V praktické části bakalářské práce jsme zjišťovali antibakteriální a antimykotickou účinnost volně prodejných intimních mycích gelů na mikroorganismy, které často zapříčiňují vznik poševních zánětů. Intimní gely a emulze LACTACYD FEMINA PLUS, IDELYN BELIEMA, NIVEA INTIMO WASH LOTION MILD a SAFORRELE jsme otestovali na mikroorganismech *Escherichia coli* ATCC 25922, *Streptococcus agalactiae* CCM 6187, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 a *Candida albicans* ATCC 10231. Použili jsme k tomu diluční neutralizační metodu, kdy jsme nejprve nechali působit intimní gel či emulzi po stanovenou dobu a poté jsme roztok zneutralizovali, vyočkovali, naředili a každou koncentraci jsme vyočkovali na příslušné kultivační médium. Po 24hodinové inkubaci při 37 °C jsme vybrali počítatelné misky a z nich zjistili účinnost gelů a emulzí na základě počtu narostlých kolonií a příslušného vzorce.

3.1 TESTOVANÉ INTIMNÍ GELY A EMULZE

Tabulka č. 7: Citlivost vybraných mikroorganismů na přípravky intimní hygieny (CFU/ml).

	LACTACYD FEMINA PLUS	IDELYN BELIEMA	NIVEA INTIMO	SAFORELLE
<i>Escherichia coli</i>	4,1*10 ⁷	2,7*10 ⁷	5,6*10 ⁷	6,9*10 ⁷
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2,9*10 ⁸	<10	<10	2,6*10 ⁷
<i>Candida albicans</i>	1,2*10 ⁸	5,2*10 ⁷	8,3*10 ⁷	9,5*10 ⁷
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,6*10 ⁷	1,1*10 ⁷	1,5*10 ⁷	2,6*10 ⁷
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,7*10 ⁸	>3*10 ⁷	>3*10 ⁷	>3*10 ⁷

LACTACYD FEMINA PLUS

Hlavní účinnou složkou gelu LACTACYD FEMINA PLUS je kyselina mléčná, která by měla mít bakteriocidní účinky na anaerobní bakterie způsobující bakteriální vaginózu. Po provedení diluční neutralizační metody při testování intimního mycího gelu LACTACYD FEMINA PLUS nám po 24hodinové inkubaci vyrostlo na TSA agaru u *Pseudomonas*

aeruginosa $6,7 \cdot 10^8$ CFU/ml, na KA u *Streptococcus agalactiae* $2,9 \cdot 10^8$ CFU/ml, na MALT agaru vyrostlo u *Candida albicans* $1,2 \cdot 10^8$ CFU/ml, na TSA u *Escherichia coli* $4,1 \cdot 10^7$ a nejméně kolonií vyrostlo při testování bakterie *Staphylococcus aureus*, kde počet kolonií na TSA agaru byl $3,6 \cdot 10^7$ CFU/ml. Tyto výsledky naznačují neúčinnost gelu LACTACYD FEMINA PLUS na testované bakterie. Účinky gelu na všechny testované mikroorganismy, shrnuje tabulka č. 7.

Ve studii Boeke a kol. (1993) lokálně aplikovali kyselinu mléčnou u pacientek trpící bakteriální vaginózou. Nebyl zde prokázán žádný léčivý účinek kyseliny mléčné na bakteriální vaginózu. Výsledky našeho testování přípravku LACTACYD FEMINA PLUS s kyselinou mléčnou také nepotvrdily účinnost tohoto přípravku na testované bakterie.

Ve studii Shokri a kol. (2017) vykazovala kyselina mléčná inhibiční a bakteriocidní účinky na bakterii *Pseudomonas aeruginosa*. V našem testování byl počet kolonií u této bakterie $6,7 \cdot 10^8$ CFU/ml. Přestože u všech námi testovaných přípravků byl tento nárůst *Pseudomonas aeruginosa* nejmenší, stále tento výsledek nenaznačuje inhibiční nebo bakteriocidní účinky, a proto jsme přípravek vyhodnotili jako neúčinný na bakterii *Pseudomonas aeruginosa*. Naše výsledky jsou tak v rozporu se studií.

Studie De Gregorio (2014) prokázala inhibiční účinek kyseliny mléčné na bakterii *Streptococcus agalactiae*. V rozporu se studií je naše testování, kdy nebyl inhibiční účinek gelu LACTACYD FEMINA PLUS s obsahem kyseliny mléčné prokázán. Nárůst *Streptococcus agalactiae* byl $2,9 \cdot 10^8$ CFU/ml. Tento nárůst značí neúčinnost přípravku na tuto bakterii.

NIVEA INTIMO

Mycí emulze NIVEA INTIMO WASH LOTION MILD COMFORT obsahuje kyselinu mléčnou a extrakt z heřmánku pravého. Po provedení diluční neutralizační metody nám na TSA agaru po 24hodinové inkubaci vyrostlo $>3 \cdot 10^7$ CFU/ml *Pseudomonas aeruginosa*, na MALT agaru vyrostlo $8,3 \cdot 10^7$ CFU/ml *Candida albicans*, na TSA agaru $5,6 \cdot 10^7$ CFU/ml *Escherichia coli* a $1,5 \cdot 10^7$ CFU/ml *Staphylococcus aureus*. Tyto výsledky značí neúčinnost emulze NIVEA INTIMO na testované mikroorganismy. Z testovaných mikroorganismů byla emulze NIVEA INTIMO účinná na druh *Streptococcus agalactiae*, kdy počet kolonií byl <10 CFU/ml.

Ve studii provedenou De Gregorio a kol. (2014) byl prokázán pozitivní vliv kyseliny mléčné na agregaci bakterie *Streptococcus agalactiae* a na její inhibiční účinek. Inhibiční účinek kyseliny mléčné na *Streptococcus agalactiae* potvrzuje i naše testování. Výsledky všech testovaných mikroorganismů shrnuje tabulka č. 7.

V našem testování byl počet kolonií u bakterie *Pseudomonas aeruginosa* $>3 \cdot 10^7$ CFU/ml. Tento výsledek je v rozporu se studií Shokri a kol. (2017), kde kyselina mléčná prokázala inhibiční a bakteriocidní účinek na bakterii *Pseudomonas aeruginosa*.

IDELYN BELIEMA EXPERT INTIM GEL

U intimního gelu IDELYN BELIEMA jsou hlavní antimikrobiální složky kyselina mléčná, kyselina boritá a chlorhexidin. Nárůst *Pseudomonas aeruginosa* na TSA agaru byl po provedení diluční neutralizační metody a 24hodinové inkubaci $>3 \cdot 10^7$, u *Candida albicans* byl nárůst na MALT agaru $5,2 \cdot 10^7$ CFU/ml, u *Escherichia coli* byl nárůst na TSA agaru $2,7 \cdot 10^7$ CFU/ml, u *Staphylococcus aureus* byl nárůst $1,1 \cdot 10^7$ CFU/ml. Přestože tento výsledek značí neúčinnost přípravku, ze všech testovaných přípravků došlo právě u IDELYN BELIEMA k nejmenšímu nárůstu u mikroorganismů *Candida albicans*, *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*.

Růst u bakterie *Streptococcus agalactiae* byl inhibován a počet kolonií byl <10 CFU/ml. Účinnost přípravku IDELYN BELIAMA na bakterii *Streptococcus agalactiae* může být dána přítomností chlorhexidinu a kyseliny mléčné v přípravku. Účinnost látky chlorhexidin na tuto bakterii potvrzuje studie provedená Adriaanse a kol. (1995), která hodnotila účinnost profylaxe vaginální dezinfekce 0,3% gelu chlorhexidinu. Po aplikaci došlo ke snížení vertikálního přenosu bakterie *Streptococcus agalactiae*. Studie De Gregorio a kol. (2014) prokázala inhibiční účinek kyseliny mléčné na bakterii *Streptococcus agalactiae* a její pozitivní vliv na agregaci této bakterie.

Studie MacNeill a kol. (1997) prokázala inhibiční účinek chlorhexidinu na růst *Candida albicans*. U všech našich testovaných přípravků došlo k nejmenšímu nárůstu *Candida albicans* právě při testování gelu IDELYN BELIEMA, který chlorhexidin v malých koncentracích obsahuje. Po provedení neutralizační metody vyrostlo na MALT agaru $5,2 \cdot 10^7$ CFU/ml bakterie *Candida albicans*.

SAFORELLE

SAFORELLE gel neobsahuje kyselinu mléčnou a vyznačuje se alkalickým pH, které snižuje riziko mykotických onemocnění. Přípravek prokazuje bakteriostatický účinek SAFORELLE gelu na bakterii *Pseudomonas aeruginosa* a *Enterococcus faecalis* a fungistatický účinek na *Candida albicans* (Fait, 2007). Při testování účinku SAFORELLE gelu na vybrané mikroorganismy došlo k nárůstu $>3 \cdot 10^7$ CFU/ml u bakterie *Pseudomonas aeruginosa* a $9,5 \cdot 10^7$ CFU/ml u *Candida albicans*. Tento výsledek značí neúčinnost přípravku na tyto mikroorganismy a je v rozporu s tímto tvrzením.

Účinek frakce z lopuchu většího na adhezi, tvorbu biofilmu a faktory virulence u bakterie *Pseudomonas aeruginosa* hodnotili Lou a kol. (2017). V našem testování SAFORELLE byl počet kolonií *Pseudomonas aeruginosa* vypočítán na $>3 \cdot 10^7$ CFU/ml. Přípravek SAFORELLE neměl bakteriocidní účinek na bakterii *Pseudomonas aeruginosa*.

De Oliveira a kol. (2014) potvrdili účinnost extraktu z lopuchu většího, který se nachází v přípravku SAFORELLE na bakterii *Staphylococcus aureus*. Při našem testování došlo k nárůstu $2,6 \cdot 10^7$ CFU/ml *Staphylococcus aureus*, a to značí neúčinnost přípravku.

4 ZÁVĚR

V pochvě se nachází celá řada anaerobních a aerobních mikroorganismů. Jejich rovnováha je hlavním předpokladem zdravého poševního prostředí a svými mechanismy vytváří přirozenou obranu proti patogenním mikroorganismům. K udržení přirozené poševní rovnováhy napomáhá správná intimní hygiena. Intimní mýdla a gely určené pro intimní hygienu slouží nejen jako prevence proti vzniku infekčního onemocnění, ale jsou také důležitou součástí léčby při již probíhající infekci. Prospěšnost těchto přípravků je ve většině případů dána přítomností kyseliny mléčné, která obstarává kyselé pH mýdel a gelů a její následná aplikace nenaruší přirozeně kyselé pH pochvy. Při již probíhající mykotické infekci je naopak prospěšné spíše alkalické pH intimních mýdel a gelů, a proto je důležitý výběr správného intimního přípravku, který se tak může stát významnou součástí léčby. Kyselina mléčná a další pomocné látky obsažené v intimních mýdlech a gelech mají také bakteriocidní a fungicidní účinky na řadu patogenních organismů.

V praktické části jsme testovali účinek běžně dostupných intimních gelů a mýdel, určených pro každodenní hygienu, na mikroorganismy které způsobují nejčastější infekce ženského pohlavního ústrojí. Testována byla mycí emulze LACTACYD FEMINA PLUS, gel IDELYN BELIEMA, emulze NIVEA INTIMO a gel SAFORELLE na bakterie *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* a kvasinku *Candida albicans*.

U testované bakterie *Escherichia coli* nebyl jako účinný vyhodnocen ani jeden ze čtyř námi testovaných přípravků. Nejmenší nárůst po provedení diluční neutralizační metody byl u přípravku IDELYN BELIEMA s $2,7 \cdot 10^7$ CFU/ml. Naopak největší počet kolonií, a to $6,9 \cdot 10^7$ CFU/ml byl zaznamenán u přípravku SAFORELLE.

Jediný námi testovaný mikroorganismus, na kterém byla prokázána účinnost dvou testovaných přípravků je bakterie *Streptococcus agalactiae*. Jako účinné jsme vyhodnotili přípravky IDELYN BELIEMA a NIVEA INTIMO s počtem kolonií <10 CFU/ml. Naopak největší počet kolonií této bakterie byl $2,9 \cdot 10^8$ CFU/ml u přípravku LACTACYD FEMINA PLUS.

Při testování kvasinky *Candida albicans* jsme vyhodnotili všechny přípravky jako neúčinné. Nejmenší nárůst kolonií byl $5,2 \cdot 10^7$ CFU/ml u přípravku IDELYN BELIEMA, naopak největší nárůst byl u přípravku LACTACYD FEMINA PLUS s počtem kolonií $1,2 \cdot 10^8$ CFU/ml.

V případě bakterie *Staphylococcus aureus* byl po provedení testování stanoven nejmenší počet kolonií u přípravku IDELYN BELIEMA s $1,1 \cdot 10^7$ CFU/ml. Největší počet narostlých kolonií byl $3,6 \cdot 10^7$ CFU/ml u přípravku LACTACYD FEMINA PLUS. Přesto byly všechny přípravky vyhodnoceny jako neúčinné na tuto bakterii.

U bakterie *Pseudomonas aeruginosa* byl téměř u všech přípravků počet kolonií po provedeném testování vyhodnocen jako nepočítatelný $>3 \cdot 10^7$ CFU/ml. U přípravku LACTACYD FEMINA PLUS byl výsledek $6,7 \cdot 10^8$ CFU/ml.

Přestože intimní gely a mýdla obsahují řadu bakteriocidních a fungicidních složek, jejich hlavním úkolem je obnovení přirozeně kyselého poševního pH. V dnešní době je snaha minimalizace aplikace antibiotických preparátů a řada studií se proto zabývá hledáním alternativních zdrojů léčby ženských pohlavních infekcí. Ve spoustě studií antimikrobiálního účinků kyseliny mléčné, kyseliny borité, chlorhexidinu a dalších látek, které se nachází v námi testovaných přípravcích, došlo k bakteriocidnímu nebo fungicidnímu účinku na mikroorganismy, které byly součástí našeho testování nebo k jejich inhibici. V těchto studiích byly účinné převážně vysoké koncentrace těchto látek, a proto může být neúčinnost našeho testování dána menší koncentrací v intimních přípravcích, určených pro každodenní intimní hygienu. Pro zdokonalení techniky testování by také bylo vhodné delší působení těchto přípravků na testované mikroorganismy. Při dalším testování by bylo užitečné se zaměřit na intimní gely a mýdla, které jsou prvotně určeny k léčbě infekčních onemocnění, a je tedy u nich předpokládán větší účinek na patogenní mikroorganismy. Do těchto přípravků lze zařadit například MELPROTECT PROPOLIS INTIM GEL, SANAGEL PLUS, TEA-TREE VAGINAL GEL nebo VITAGYN C.

5 POUŽITÁ LITERATURA

1. ADRIAANSE, A. H., Kollée, L. A., Muytjens, H. L., Nijhuis, J. G., de Haan, A. F. a Eskes, T. K. Randomized study of vaginal chlorhexidine disinfection during labor to prevent vertical transmission of group B streptococci. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 1995, 61(2): 135-141.
2. BINGHAM, J. S. What to do with the patient with recurrent vulvovaginal candidiasis. *Sexually transmitted infections*. 1999, 75(4): 225.
3. BOEKE, A. J., Dekker J. H., van Eijk J., Kostense P. J. a Bezemer, P. D. Effect of lactic acid suppositories compared with oral metronidazole and placebo in bacterial vaginosis: a randomised clinical trial. *Genitourinary medicine*. 1993, 69(5): 388-392.
4. BRITTINGHAM, A. a WILSON, W. A. The antimicrobial effect of boric acid on *Trichomonas vaginalis*. *Sexually transmitted diseases*. 2014, 41(12): 718-722.
5. BURTON, J. P. a REID, G. Evaluation of the bacterial vaginal flora of 20 postmenopausal women by direct (Nugent score) and molecular (polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis) techniques. *Journal of Infectious Diseases*. 2002, 186(12): 1770-1780.
6. CITTERBART, K., Čech E., Donát J., Halaška M., Hořejší J., Kraus I., Kudela M., Kužel D., Lippert P., Pilka L., Rob L., Rokyta Z., Řezáčová J., Strnad P., Tošner J., Unzeitig V., Ventruba P. a Živný J. *Gynekologie*. 1. vyd. Praha: Galén, 2001. ISBN 8024603187.
7. ČSN EN 13697 Chemické dezinfekční přípravky a antiseptika - Kvantitativní zkouška na neporézním povrchu k vyhodnocení baktericidního a/nebo fungicidního účinku chemických dezinfekčních prostředků používaných pro potraviny, průmysl, domácnosti a veřejné prostory - Zkušební metoda a požadavky bez mechanického působení (fáze 2/stupeň 2). Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2015. Třídící znak 665209.
8. ČSN EN 13624, Chemické dezinfekční přípravky a antiseptika - Kvantitativní zkouška s použitím suspenze ke stanovení fungicidního účinku chemických dezinfekčních přípravků používaných pro lékařské nástroje - Metoda zkoušení a požadavky (fáze 2/stupeň 1). Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2014. Třídící znak 665212.

9. DE GREGORIO P. R., Tomás M. S. J., Terraf M. C. L. a Nader-Macías M. E. F. In vitro and in vivo effects of beneficial vaginal lactobacilli on pathogens responsible for urogenital tract infections. *Journal of medical mikrobiology*. 2014, 63(5): 685-696.
10. DE OLIVEIRA, J. R., de Aguiar Almeida, R. B., Vilela, P. D. G. F., de Oliveira, F. E., da Rocha, R. F., Jorge, A. O. C. a de Oliveira, L. D. Control of microorganisms of oral health interest with *Arctium lappa* L.(burdock) extract non-cytotoxic to cell culture of macrophages (RAW 264.7). *Archives of oral biology*. 2014, 59(8): 808-814.
11. DONDERS, G. G. G., Bellena, G., Grincevicienea, S., Rubana, K.,Vieira-Baptistad, P. Aerobic vaginitis: no longer a stranger. *Research in Microbiology*. 2017, 168 (5):395-502
12. DONDERS, G. G. G., Definition and classification of abnormal vaginal flora. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2007, 21(3): 355-373.
13. DOSTÁLOVÁ, Z., Rejdová i., Starý D., Husár M., Tůma J., Plánka L. Intimní hygiena u dětí. *Pediatric pro praxi*. 2009, 10(4): 220-223.
14. ESCHENBACH, D. A., Thwin, S. S., Patton, D. L., Hooton, T. M., Stapleton, A. E., Agnew, K., Winter, C., Meier, A. and Stamm, W. E. Influence of the normal menstrual cycle on vaginal tissue, discharge, and microflora. *Clinical Infectious Diseases*. 2000, 30(6): 901-907.
15. FAIT, T. Otázky intimní hygieny v ambulantní praxi. *Praktická gynekologie*. 2007, 11(3): 129-131.
16. FOXMAN, B., Muraglia, R., Dietz, J. P., Sobel, J. D. a Wagner, J. Prevalence of recurrent vulvovaginal candidiasis in 5 European countries and the United States: results from an internet panel survey. *Journal of lower genital tract disease*. 2013, 17(3): 340-345.
17. GEETHU C., Paul P. E., Thomas E. J., Pullan S. CH., Hemalatha S., Sivakumar T. Appraisal of menstrual hygiene management among women in a rural setting: a prospective study. *International Journal Of Community Medicine And Public Health*. 2016, 3(8): 2191-2196.
18. GOERING, V. R., Dockrell M. H., Zuckerman A. M. a Chiodini L. P., Julák, J., ed. *Mimsova lékařská mikrobiologie*. 5. vydání. Praha: Stanislav Juhaňák - Triton, 2016. ISBN 978-80-7387-928-0.
19. GUPTA, K., Stapleton E. A., Hooton M. T.,Roberts L. P., Fennell L. a Stamm C. W. Inverse association of H₂O₂-producing lactobacilli and vaginal *Escherichia coli*

- colonization in women with recurrent urinary tract infections. *Journal of infectious diseases*. 1998, 178(2): 446-450.
20. HILL, G. B. The microbiology of bacterial vaginosis. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1993, 169(2): 450-454.
 21. HOLST, E. a BRANDBERG, Å. Treatment of bacterial vaginosis in pregnancy with a lactate gel. *Scandinavian journal of infectious diseases*. 1990, 22(5): 625-626.
 22. HORČIČKA, L. Cystitis. *Aktuální gynekologie a porodnictví*. 2009, 1: 34-37.
 23. HOROWITZ, B., J., Mardh, P., H., Nagy, E., Rank, E., L., Vaginal lactobacillosis. *Am J Obstet Gynecol*. 1994, 170(3): 857-861.
 24. HÜTT, P, LAPP, E, ŠTŠEPETOVÁ, Š, Smidt, I., Taelma, H., Borovkova, Oopkaup, H., Ahelik, A., Rööp, T., Hoidmets, D., Samuel, K., Salumets, A. a Mändar R. Characterisation of probiotic properties in human vaginal lactobacilli strains. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 2016, 27.
 25. IDELYN, Idelyn Beliema [online] 2017, [cit. 2017. 04. 28]. Dostupné z <https://www.idelyn.cz/About>
 26. KENT, H. L. Epidemiology of vaginitis. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1991, 165(4): 1168-1176.
 27. KOBILKOVÁ, J., Jirásek E. J., Martan A., Mašata J., Živný J. *Základy gynekologie a porodnictví*. Praha: Galén, c2005. ISBN 80-7262-315-x.
 28. KOLETA, F. *Infekce a zánět v gynekologii a porodnictví*. Praha: Grada, 1995. ISBN 80-7169-159-3.
 29. KOLIBA, P. a Příhodová V. "Možnosti farmaceuta v léčbě vulvo-vaginální kandidózy." *Prakt. Lékáren*. 2014, 10(3): 95-98.
 30. LACTACYD. Lactacyd Femina [online] 2017, [cit. 2017-04-27]. Dostupné z: <http://www.lactacyd.cz/produkty/lactacyd/lactacyd-femina/>
 31. LIANG, W., Guan G., Dai Y., Cao C., Tao L., Du H., Nobile C. J., Zhong J. a Huang, G. Lactic acid bacteria differentially regulate filamentation in two heritable cell types of the human fungal pathogen *Candida albicans*. *Molecular Microbiology*. 2016, 102(3): 506-519.
 32. LOU, Z., Wang, H., a Tang, Y. The effect of burdock leaf fraction on adhesion, biofilm formation, quorum sensing and virulence factors of *P. aeruginosa*. *Journal of Applied Microbiology*. 2016, 122(3):615-624.

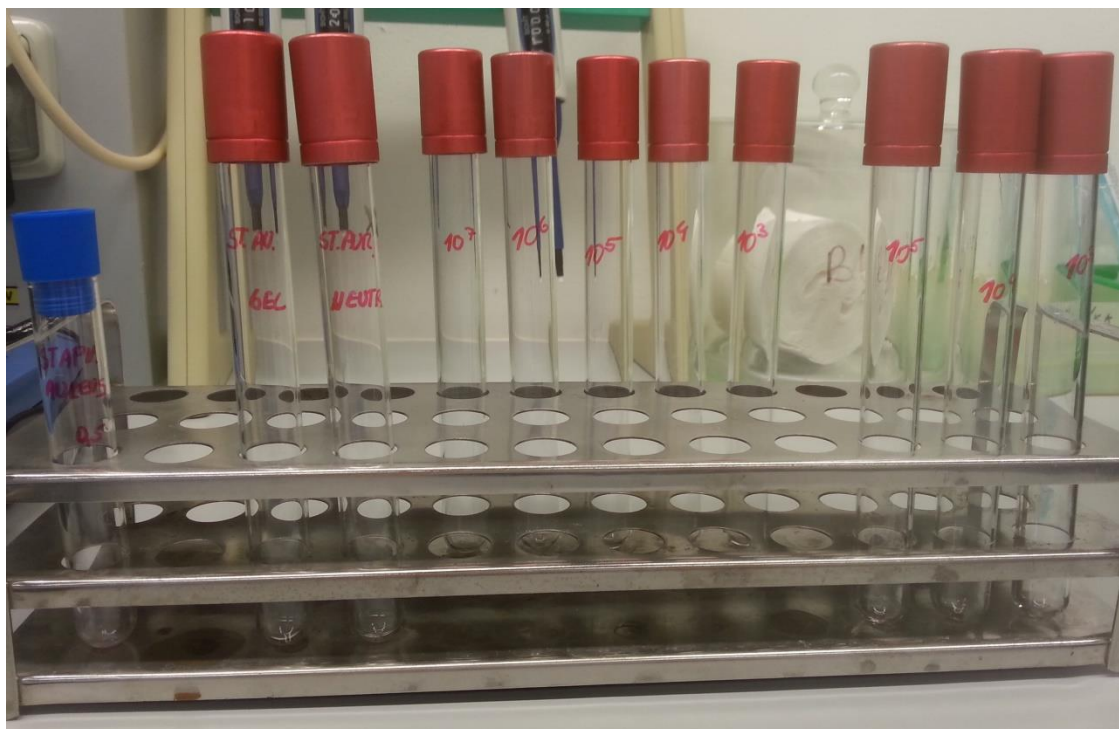
33. MACNEILL, S., Rindler, E., Walker, A., Brown, A. R. a Cobb, C. M. Effects of tetracycline hydrochloride and chlorhexidine gluconate on *Candida albicans*. *Journal of clinical periodontology*. 1997, 24(10): 753-760.
34. MAŠATA, J., Fait T., Jedličková A., Malíčková K., Martan A., Nosková P., Poislová M., Sláma J., Švabík K., Závada J. *Infekce v gynekologii*. 2., rozš. vyd. Praha: Maxdorf, c2014. Farmakoterapie pro praxi. ISBN 978-80-7345-380-0.
35. MAZÁNKOVÁ, E. Články. *Intimní hygiena dívek* [online]. 2005, 38. [cit. 20. 4. 2017] Dostupné z: <http://www.azrodina.cz/1009-intimni-hygiena-divek>
36. MEKONNEN, A., Yitayew, B., Tesema, A., a Taddese, S. In vitro antimicrobial activity of essential oil of *Thymus schimperi*, *Matricaria chamomilla*, *Eucalyptus globulus*, and *Rosmarinus officinalis*. *International journal of microbiolog.* 2016, 2016.
37. MIRAJ, S., a ALESAEIDI, S. A systematic review study of therapeutic effects of *Matricaria recuitta chamomile* (chamomile). *Electronic physician*. 2016, 8(9): 3024.
38. NIVEA. *Nivea Intimo Wash Lotion Mild* [online]. Beiersdorf 2017. [cit. 28. 4. 2017]. Dostupné z: <https://www.nivea.cz/shop/sprchova-emulze-pro-intimni-hygienu-mild-40058085619190081.html>
39. NOWAKOWSKA, D., Kurnatowska, A., Stray-Pedersen, B. a Wilczynski, J. Prevalence of fungi in the vagina, rectum and oral cavity in pregnant diabetic women: relation to gestational age and symptoms. *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica*. 2014, 83(3): 251-256.
40. OBGYN KEY. Fastest Obstetric, Gynecology and Pediatric Insight Engine. *Diseases of the Cervix* [online]. Gynekology, 2016. [cit. 16. 6. 2017]. Dostupné z: <https://obgynkey.com/diseases-of-the-cervix/>
41. PIROTTA, M., Fethers, K. A. a Bradshaw, C. S. Bacterial vaginosis: more questions than answers. *Australian family physician*. 2009, 38(6): 394.
42. RAHMAN, H. a CHANDRA, A. Microbiologic Evaluation of *Matricaria* and Chlorhexidine against *E. faecalis* and *C. albicans*. *Indian journal of dentistry*. 2015, 6(2): 60.
43. RAVEL, J., Gajer P., Abdo Z., Schneider G. M., Koenig S. K, Stacey L. McCulle, Karlebach S., Gorle R., Russell J., Tacket O C., Brotman M. R, Davis C. C., Ault K., Peralta L a Forney J. L. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011, 108(1): 4680-4687.

44. ROB, L., Martan A., Citterbart K., Crha I., Čech E., Čepický P., Druga R., Halaška M., Hořejší J., Kudela M., Líbalová Z., Pohanka M., Rešlová T., Rokyta Z., Řežábek K., Strnad P., Tošner J., Unzeitig V., Ventruba P., Živný J. *Gynekologie*. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, c2008. ISBN 978-80-7262-501-7.
45. ROZTOČIL, A. a BARTOŠ P. *Moderní gynekologie*. Praha: Grada, 2011. ISBN 978 80-247-2832-2.
46. RYLANDER, E., Berglund, A. L., Krassny, C., a Petrini, B. Vulvovaginal candida in a young sexually active population: prevalence and association with oro-genital sex and frequent pain at intercourse. *Sexually transmitted infections*. 2004, 80(1): 54-57.
47. SAFORELLE. Saforelle® jemný mycí gel na intimní hygienu a hygienu celého těla [online]. Akcia Group s. r. o., 2014. [cit. 30. 4. 2017]. Převzato z: <http://saforelle.cz/pro-dospele/jemny-gel-pro-intimni-hygienu/>
48. SHOKRI, D., Khorasgani M. R., Mohkam M., Fatemi S. M., Ghasemi Y. a Taheri-Kafrani A. The Inhibition Effect of Lactobacilli Against Growth and Biofilm Formation of *Pseudomonas aeruginosa*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2017, 1-9.
49. SLÍVA, J. a FAIT, T. *Samoléčba v gynekologii, aneb, Sama sobě gynekologem*. Praha: Maxdorf, c2012. ISBN 978-80-7345-282-7.
50. SMITH, P., Heimer, G., Lindskog, M. a Ulmsten, U. Oestradiol-releasing vaginal ring for treatment of postmenopausal urogenital atrophy. *Maturitas*. 1993, 16(2): 145-154.
51. SUN, X., Qiu H. a Jin Y. Highly efficient treatment of aerobic vaginitis with simple acidic buffered gels: The importance of pH and buffers on the microenvironment of vaginas. *International Journal of Pharmaceutics*. 2017, 525(1): 175-182.
52. ŠPAČEK, J., Buchta V., Jílek P. *Vulvovaginální dyskomfort a poruchy poševního prostředí*. Praha: Grada, 2013. ISBN 978-80-247-4554-1.
53. VOSS, A., Wallrauch-Schwarz, C., Milatovic, D., Braveny, I., Johannigmann, J. a Hanke-Baier, P. Quantitative study of vaginal flora during the menstrual cycle. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*. 1993, 53(8): 543-546.
54. VOTAVA, M a ONDROVČÍK, P. *Vybrané kapitoly z klinické mikrobiologie*. Brno: Masarykova univerzita, 1998. ISBN 80-210-1805-4.
55. VOTAVA, M. *Klinická mikrobiologie*. Brno: Masarykova univerzita, 2014. ISBN 978-80-210-7503-0.

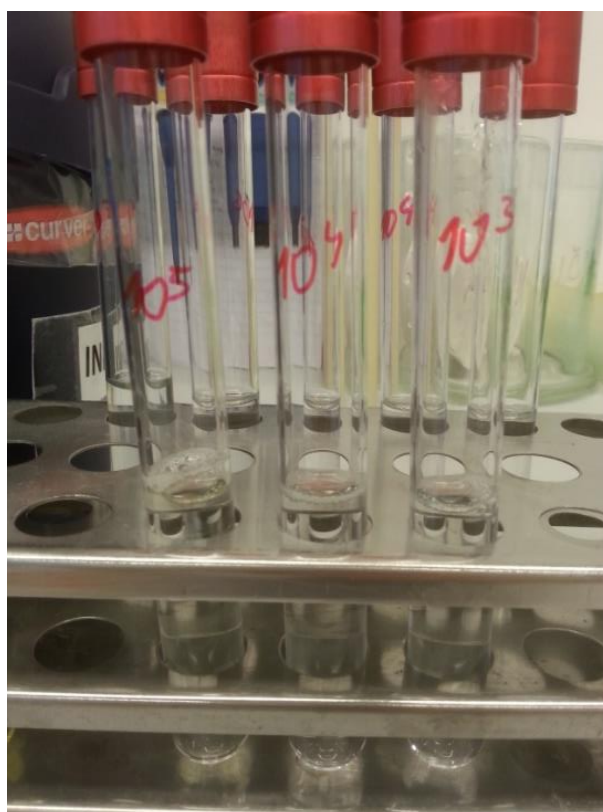
56. VOTAVA, M., Obdržálek V., Ondrovčík P., Růžička F., Zahradníček O., Woznicová V., *Lékařská mikrobiologie II: přehled vyšetřovacích metod v lékařské mikrobiologii*. Brno: Masarykova univerzita, 2000. ISBN 80-210-2272-8.
57. WANG, G., Abercrombie, J. G., Huang, G. a Tzeng, T. R. J. Enhanced fed-batch production, partial purification, characterization of jenseniin P, and discovery of a new bacteriocin-like substance produced by *Propionibacterium jensenii* B1264. *European Food Research and Technology*. 2014, 239(1): 79-86.

6 PŘÍLOHY

Příloha č. 1: Znárodnění kompletní přípravy zkumavek před každým testováním.



Příloha č. 2: Desítkové ředění roztoku po provedení neutralizace.



Příloha č. 3: *Nárůst Staphylococcus aureus na KA*



Příloha č. 4: *Kolonie bakterie Staphylococcus aureus na TSA agaru, vyočkované z ředící řady, odpovídající 10^3 CFU/ml, které slouží jako kontrola testovaných kolonií.*



Příloha č. 5: *Kolonie bakterie Staphylococcus aureus na TSA agaru po provedení diluční neutralizační metody, odpovídající ředění 10^3 CFU/ml.*

