

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Gardnerella vaginalis
Bakalářská práce

2022

Denisa Krpcová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Denisa Krpcová**
Osobní číslo: **C18247**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: ***Gardnerella vaginalis***
Téma práce anglicky: ***Gardnerella vaginalis***
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Prostudování odborné literatury a vypracování rešerše zaměřené na mikroorganismus *Gardnerella vaginalis*.
2. Charakteristika rodu *Gardnerella*.
3. Vyhodnocení vztahu *Gardnerella vaginalis* k bakteriální vaginóze.
4. Laboratorní průkaz *Gardnerella vaginalis* a citlivost na antibakteriální léčiva.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

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

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.
děkan

L.S.

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlášení:

Prohlašuji, že práci s názvem *Gardnerella vaginalis* jsem vypracovala samostatně. Veškeré 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., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, 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 směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 30. 6. 2022

Denisa Krpcová

PODĚKOVÁNÍ

Tímto chci poděkovat vedoucí mé bakalářské práce RNDr. Markétě Vydržalové, PhD. za její trpělivost, pomoc a podporu, kterou mi při psaní této práce poskytla.

ANOTACE

Tato bakalářská práce je věnována popisu bakterie *Gardnerella vaginalis*. Zahrnuje patogenезi tohoto mikroorganismu, dále onemocnění dávána do souvislosti s přítomností tohoto druhu v urogenitálním ústrojí žen, ale také onemocnění, u kterého *G. vaginalis* vyvolavatelem není. V neposlední řadě je také popsána terapie.

KLÍČOVÁ SLOVA

Gardnerella vaginalis, bakteriální vaginóza, zánětlivé onemocnění pánve, endometritida

TITLE

Gardnerella vaginalis

ANNOTATION

This bachelor thesis is devoted to description of the bacterium *Gardnerella vaginalis*. It includes the pathogenesis of this microorganism, diseases associated with the presence of this species in the female urogenital system, but also diseases in which *G. vaginalis* is not causer. In the last part, the therapy is also described.

KEY WORDS

Gardnerella vaginalis, bacterial vaginosis, pelvic inflammatory disease, endometritis

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ	8
SEZNAM TABULEK.....	8
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	9
ÚVOD.....	10
1. CHARAKTERISTIKA	11
1.1 Morfologie.....	11
1.2 Antigenní struktura a faktory patogenity	12
2. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA	14
2.1 Mikrobiální obraz poševní	14
2.2 Kultivace	16
2.3 Polymerázová řetězová reakce	17
3. EPIDEMIOLOGIE	19
4. MIKROFLÓRA UROGENITÁLNÍHO TRAKTU.....	21
4.1 Pohlavní ústrojí žen.....	21
4.2 Pohlavní ústrojí mužů	22
5. INFEKCE VYVOLANÉ GARDNERELLA VAGINALIS	24
5.1 Bakteriální vaginóza.....	24
6. ZÁNĚTLIVÁ ONEMOCNĚNÍ.....	27
6.1 Pánevní zánětlivé onemocnění	27
6.2 Endometritida	27
7. KOMPLIKACE V TĚHOTENSTVÍ.....	29
8. TERAPIE	30
9. ZÁVĚR	33
10. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	34

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obr. 1 Schéma patogeneze <i>Gardnerella vaginalis</i>	13
Obr. 2 Mikrobiální obraz poševní I s laktobacily (1500x)	15
Obr. 3 Mikrobiální obraz poševní II (1500x)	15
Obr. 4 Kolonie <i>Gardnerella vaginalis</i> na krevním agaru s 5 % lidské krve	17
Obr. 5 Znárodnění sexuálního přenosu bakterií mezi jednotlivci	20

SEZNAM TABULEK

Tab. 1 Hodnoty MIC pro 90 % testovaných kmenů <i>Gardnerella vaginalis</i>	31
Tab. 2 Hodnoty MIC pro 90 % testovaných kmenů <i>Gardnerella vaginalis</i>	31
Tab. 3 Hodnoty MIC pro 90 % testovaných kmenů <i>Gardnerella vaginalis</i>	31
Tab. 4 Hodnoty MIC pro 90 % testovaných kmenů <i>Gardnerella vaginalis</i>	32

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ANI	průměrná nukleotidová identita (Average Nucleotide Identity)
ARDRA	restrikční analýza amplifikované DNA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis)
BVAB	bakterie asociované s bakteriální vaginózou
CST	komunitní typ mikroorganismů ve vagíně (Community States Types)
FISH	fluorescenční in situ hybridizace
G.	<i>Gardnerella</i>
HIV	virus lidské imunitní nedostatečnosti (Human Immunodeficiency Virus)
L.	<i>Lactobacillus</i>
MALDI-TOF	laserová desorpce/ionizace za účasti matrice (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization, Time Of Flight)
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MOP	mikrobiální obraz poševní
NGU	negonokoková uretritida
PCR	polymerázová řetězová reakce (Polymerase Chain Reaction)
PID	zánětlivé onemocnění pánve (Pelvic Inflammatory Disease)
VMA	Vaginal Modified Agar

ÚVOD

Zánětlivá onemocnění genitálního ústrojí žen tvoří až polovinu všech gynekologických obtíží, které neohrožují ženu přímo, ale při nesprávné diagnostice, či neúčinné léčbě může přejít do chronického stádia a vyvolat řadu nežádoucích účinků, které mohou negativně ovlivnit kvalitu života.

Mezi typické potencionální patogeny se řadí *Gardnerella (G.) vaginalis*, druh mikroorganismu, vyskytující se především v urogenitálním ústrojí žen, ale i mužů. *G. vaginalis* bývá též součástí fyziologické poševní mikroflóry žen, při narušení tohoto prostředí však může dojít k přemnožení této bakterie a vzniku infekce. Nejvíce je spojována se zánětlivým onemocněním nazývaným bakteriální vaginóza, která se může jevit s konkrétními příznaky, zahrnující typicky zapáchající výtok a svědění, nebo může být také asymptomatická.

G. vaginalis je bakterie s mnoha faktory virulence, která vykazuje rezistenci na několik antibiotik, používaných při terapii. Výsledkem jsou časté, recidivující se infekce. Epidemiologie tohoto druhu je stále nejasná, nejvíce pravděpodobný je sexuální přenos a výskyt ovlivněný etnickým původem jedince.

1. CHARAKTERISTIKA

Mikroorganismus byl objeven Leopoldem v roce 1953. Pojmenoval ho však až Gardner a Dukes (1955) názvem *Haemophilus vaginalis*, a to hlavně kvůli podobnosti s hemofily, jako je vzhled gramnegativní tyčinky. Pro rod *Haemophilus* je charakteristický růst na kultivačních médiích, obsahujících růstové faktory X a V, na kterých tento mikrob nerostl. Navíc se objevily některé další rysy podobné korynebakteriím, proto Zinnemann a Turner (1963) nazvali mikroorganismus jako *Corynebacterium vaginale*. Další zkoumání odhalilo gramlabilitu mikroorganismu, z tohoto důvodu Greenwood a Pickett (1980) zavedli nový název *Gardnerella vaginalis* (Catlin, 1992).

V roce 1997 byla zavedena restriční analýza amplifikované ribozomální DNA (ARDRA), která byla použita pro klasifikaci podskupin *G. vaginalis*. Analýzy založené na sekvenování prokázaly, že se tento taxon skládá ze čtyř odlišných molekulárních podskupin, pravděpodobně různých druhů, založených na 473 genech společných 17 izolátů *G. vaginalis*. Sekvenováním oblasti 552 bp genu chaperonin-60 byly zjištěny podskupiny A–D (Schellenberg et al., 2016).

Vanechoutte et al. (2019) navrhli změnu u rodu *Gardnerella*, kdy definovali další tři nové druhy *Gardnerella swidsinskii*, *Gardnerella leopoldii* a *Gardnerella piotrii*. Tato změna byla zavedena na základě srovnání celogenomových sekvencí, biochemických vlastností a hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací za účasti matrice, tzv. MALDI TOF. Zároveň bylo definováno dalších devět druhů, které nebyly pojmenovány ani formálně popsány. *G. vaginalis* (druh genomu 1) odpovídá dříve popsané podskupině C. *G. swidsinskii* (druh genomu 6) a *G. leopoldii* (druh genomu 5) byly dříve seskupeny v podskupinu A a díky ANI, DNA-DNA hybridizace a MALDI TOF je lze dobře odlišit. *G. piotrii* (druh genomu 4) odpovídá podskupině B, tento druh lze odlišit od ostatních druhů, kromě výše zmíněných metod, také pozitivním sialidázovým testem. Podskupina D byla v posledních popisech rozmanitá a vyžaduje další analýzy pro přesnější charakterizaci (Hill et al., 2019).

G. vaginalis je kataláza a oxidáza pozitivní (Hurych et al., 2020).

1.1 Morfologie

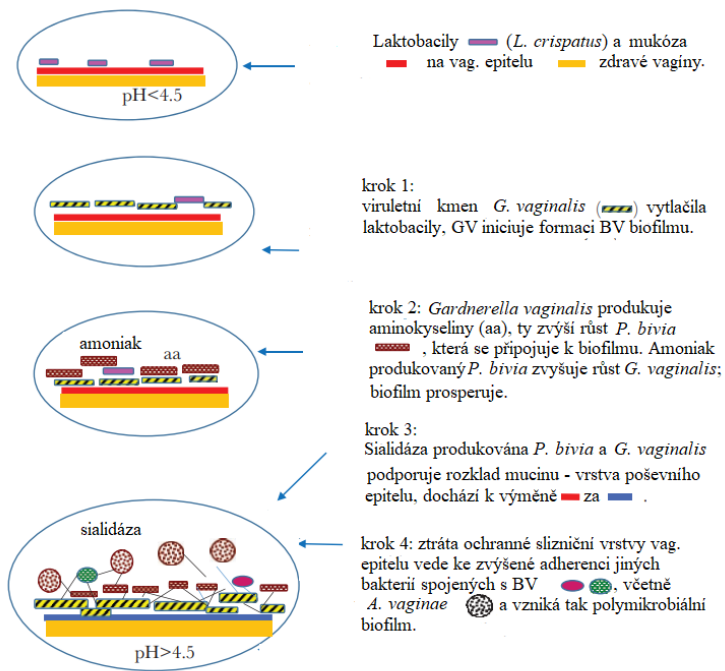
Bakteriální buňky jsou malé, nepohyblivé, neopouzřené tyčinky s rozměry $0,4 \times 1,5 \mu\text{m}$, které nevytvářejí spory. Z hlediska barvení dle Grama se jedná o gramlabilní bakterie, a to kvůli slabé vrstvě peptidoglykanu (Onderdonk et al., 2016).

1.2 Antigenní struktura a faktory patogenity

G. vaginalis je organismus s mnoha faktory virulence, které zahrnují velice dobrou adhezi na buňky, sklon k tvorbě biofilmu na poševní sliznici a sekreci vaginolysinu. Gardnerella má tendenci přilnout k epiteliálním buňkám ve formě shluků, poté začne vytvářet silný biofilm, který zapříčiní odolnost vůči imunitnímu systému a některým antibiotikům. Infekce spojené s tvorbou biofilmu jsou proto považovány za chronické nebo recidivující. Produkovány jsou také enzymy, které jsou schopny degradovat vaginální hlen, sloužící jako ochranný faktor sliznice (Patterson et al., 2010).

G. vaginalis existuje v různých virulentních formách. Obsahuje gen sialidázy A, kódující enzym sialidázu, která odděluje kyselinu sialovou z vrstvy glykoproteinů a na vaginální sliznici pak zanechává základní glykanovou strukturu, která slouží jako adherent pro *G. vaginalis*. Volné zbytky kyseliny sialové navíc poskytují výživu pro *G. vaginalis* a také začlenění do povrchu, čímž maskuje mikroba před imunitní odpovědí hostitele. Adherence, výživa a maskování pomáhá bakterii k proliferaci a následné degradaci a ztenčení ochranné slizniční bariéry vagíny (Kalia et al., 2020).

Jak už bylo výše zmíněno, *G. vaginalis* produkuje vaginolysin. Jedná se o cytolysin, vázající cholesterol, známý též jako hemolysin, podporující lýzu buněk prostřednictvím koloidního osmotického mechanismu, který vede k tvorbě pórů v epitelu. Dalším faktorem virulence je prolidáza, patřící mezi dipeptidázy, která degraduje prolin za vzniku aminového zápachu (Kalia et al., 2020).



Obr. 1 Schéma patogeneze *Gardnerella vaginalis*, kdy BV se rozumí bakteriální vaginóza (upraveno dle Muzny et al. 2019)

2. LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Mikrobiologické vyšetření slouží k průkazu přítomnosti mikroorganismu ve vyšetřovaném vzorku. Pro diagnostiku *G. vaginalis* se využívají metody přímého průkazu. Přímým průkazem se zkoumá přítomnost mikrobiálního agens přímo, to znamená, že se mikroorganismus pozoruje mikroskopicky nebo se může izolovat kultivací. Na základě vzhledu mikroorganismu, způsobu růstu na daných půdách a dalších potřebných testů, včetně biochemických a molekulárně biologických, se určí rod a druh mikroba (Hurych et al., 2020).

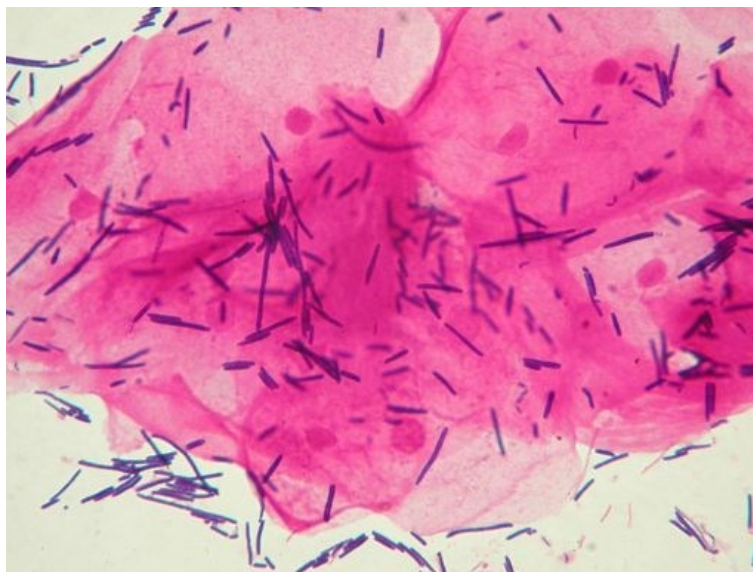
2.1 Mikrobiální obraz poševní

Mikrobiální obraz poševní (MOP) je metoda, která nás informuje o stavu poševního prostředí. Odběr sekretu se provádí sterilním vatovým tampónem ze sliznice pochvy nebo děložního čípku. Materiál se přenesení tampónem na tyčince na dvě podložní sklíčka. Preparáty se nechají zaschnout a poté se hned posílají do laboratoře, mohou se uchovat maximálně 48 hodin. V laboratoři se pak barví jedno podložní sklo podle Giemsy, pro diagnostiku trichomonád, a druhé podložní sklo podle Grama, pro diagnostiku ostatních bakterií.

Obarvené sklíčka se pozorují v mikroskopu a hodnotí se zastoupení jednotlivých bakterií, dále zda jsou přítomné leukocyty či epitelie, tzv. clue cells. MOP klasifikujeme do tříd podle typu nálezu v preparátu a podle typu výtoku:

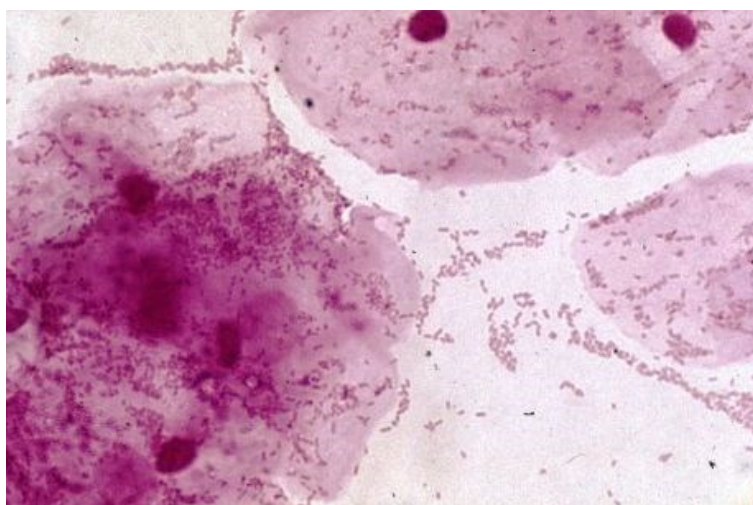
MOP 0	období premenarche nebo postmenopauzální, žádný výtok, bez laktobacilů
MOP I	fyziologický stav, žádný výtok, epitelie, hlen, laktobacily
MOP II	nehnisavý zánět, žlutavý výtok, různé bakterie (zejm. <i>G. vaginalis</i>), clue cells
MOP III	hnisavý zánět, hustý bělavý výtok, mnoho leukocytů
MOP IV	kapavka, hustý žlutobílý až žlutozelený výtok, mnoho leukocytů, G- diplokoků
MOP V	trichomonádová infekce, řídký, zpeněný výtok, trichomonády, bakterie
MOP VI	kvasinková infekce, tvarohovitý výtok, kvasinky, různé typy bakterií

G. vaginalis se vyskytuje u MOP II, kde adheruje na epitelové buňky, tzv. clue cells. MOP II je typický pro bakteriální vaginózu, dochází zde také ke změně vaginálního prostředí, které přispívá k absenci laktobacilů a pomnožení patogenních anaerobů (Hurych et al., 2020).



Obr. 2 Mikrobiální obraz poševní I s laktobacily (1500x)

Převzato z: <https://zuova.cz/Home/Page/Mikrobiaalni-obrazy-posevni>



Obr. 3 Mikrobiální obraz poševní II (1500x)

Převzato z: <https://zuova.cz/Home/Page/Mikrobiaalni-obrazy-posevni>

2.2 Kultivace

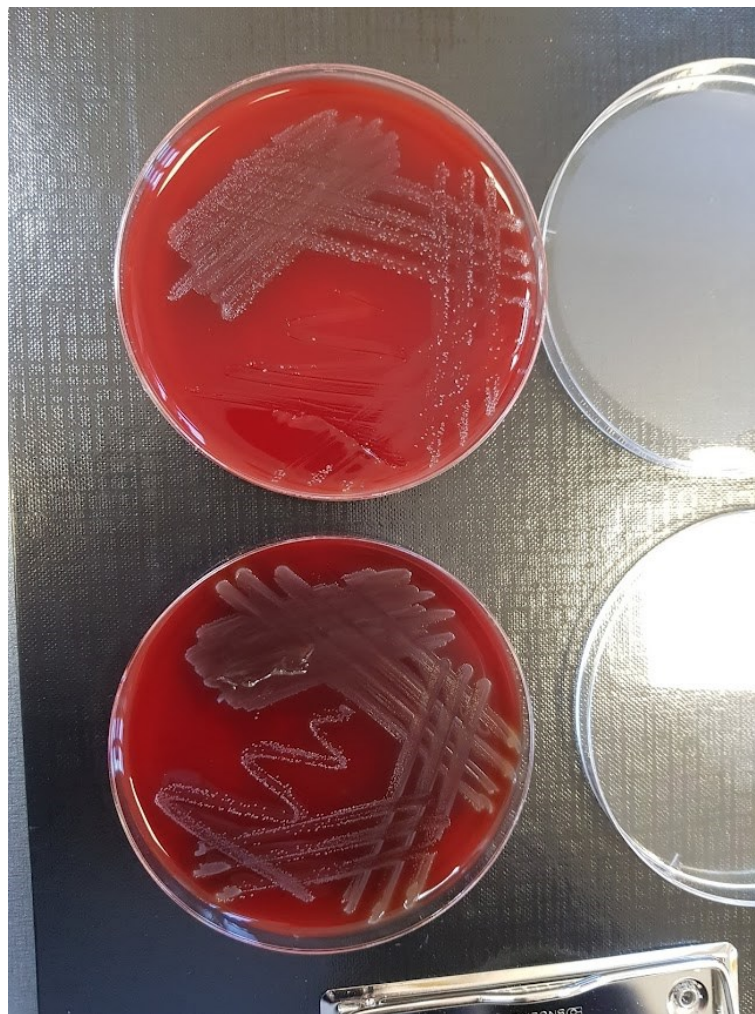
G. vaginalis je z hlediska potřeby kyslíku mikroaerofilní bakterie. Kultivuje se 2–3 dny, při 37 °C a používají se tyto půdy:

- Krevní agar s 5 % beraní krve: neprůhledné, lesklé kolonie, velké 0,5–1 mm, bez hemolýzy
- Krevní agar s 5 % lidské krve: drobné kolonie, úplná hemolýza
- Čokoládový agar: kulaté, hladké kolonie, velké 0,5–1 mm

K potlačení růstu nežádoucích MO se do živných médií přidává kolistin, kyselina nalidixová a amfotericin B (Mosio, 2012).

Greenwood et al. (1979) prokázali, že kultury *G. vaginalis* na agaru s 5 % beraní krve nevytváří hemolýzu, zatímco na agaru s 5 % lidské krve ano. Specifičnost pro lidské erytrocyty je způsobená vaginolysinem, který rozpoznává komplement CD59 na červených krvinkách (Turovskiy et al., 2011).

V laboratoři se jako selektivní půda využívá VMA (Vaginalis modified agar), která má jako základ Columbia agar, doplněný kyselinou nalidixovou, gentamycinem, amfotericinem B, proteózovým peptonem, 10% Tweenem a 5 % lidské krve. Inkubují se v anaerobním prostředí při teplotě 37 °C, 48-72 hodin a identifikují se jako malé kolonie s beta hemolýzou (Knupp de Souza et al., 2015).



Obr. 4 Kolonie *Gardnerella vaginalis* na krevním agaru s 5 % lidské krve (foto autor)

2.3 Polymerázová řetězová reakce

Dříve byla vaginální mikroflóra zkoumána pouze kultivačními a mikroskopickými metodami. Zjistilo se, že některé druhy patřící do vaginálního systému jsou takto obtížně detekovány. Proto se začaly využívat také molekulárně biologické metody, kterými lze lépe prokázat přísně anaerobní bakterie nebo bakterie s vysokými nároky na kultivaci (Diop et al., 2019). Nejběžnější cíl pro molekulární identifikaci bakterie je ribozomální podjednotka genu 16S rRNA. Tento gen se využívá proto, jelikož je přítomen ve všech bakteriích a má konzervované sekvence, které jsou označeny univerzálními nebo specifickými primery. Pokud se předpokládá diverzita organismů, budou použity univerzální primery, naopak při identifikaci konkrétního druhu jsou použity specifické primery. Jakmile je gen 16S rRNA sekvenován, mohou být variabilní oblasti použity pro kvalitativní nebo kvantitativní PCR.

Získané sekvence se porovnávají v databázích sekvencí 16S rRNA (Lamont et al., 2011). Vaginální mikroflóra je však v těchto databázích zastoupena málo ve srovnání s jinými ekosystémy, a proto některé druhy nemusí být identifikovány (Diop et al., 2019).

Kombinace molekulárních a kultivačních metod umožňuje širokou detekci vaginálních mikroorganismů, proto se též využívá metody identifikace bakterií prostřednictvím hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF. Jedná se o metodu, kde se využívá kultivace a hmotnostní spektrometrie, která rozšířila povědomí o vaginální diverzitě, jelikož bylo izolováno několik nových, kultivačně náročných, bakteriálních druhů (Diop et al., 2019).

3. EPIDEMIOLOGIE

G. vaginalis je u zdravých žen součástí fyziologické vaginální mikroflóry. Patologicky se může objevovat při bakteriální vaginóze, močových infekcích a také může způsobovat předčasný porod (Votava a kol., 2003).

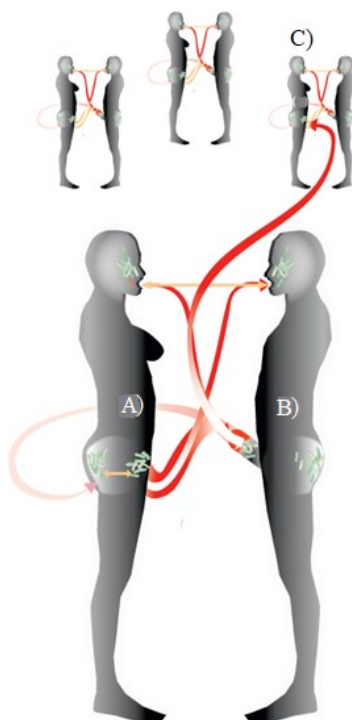
Pro epidemiologii *G. vaginalis* může být pozoruhodné srovnání prevalence bakteriální vaginózy, například na základě zeměpisné oblasti, ve které žijí jedinci s tímto onemocněním. Toto srovnání je omezené řadou faktorů, včetně rozdílů v odebrání vzorků nebo typu zkoumané populace, jako například věkové rozmezí, přesto jsou zde patrné určité trendy. Jedním z nejvýraznějších rysů epidemiologie je rozdíl u etnických skupin v rámci země. To bylo nejrozsáhleji zdokumentováno ve Spojených státech amerických. Průzkumy prevalence bakteriální vaginózy v průběhu 20let odhalily podobné zjištění, a to že nejvyšší je u černochů, nejnižší u bělochů a Asiatů, přičemž hispanci měli střední míru prevalence (Kenyon et al., 2013).

Byly sledovány i mezinárodní rozdíly v prevalenci bakteriální vaginózy:

- Subsaharská Afrika: vyšší v jihovýchodní Africe ve srovnání se západní Afrikou (na jihu 58,3 % v roce 2002, na západě, konkrétně Nigérie 14,2 % v roce 2005) (Coudray et al., 2020).
- Latinská Amerika a Karibik: spíše střední prevalence (20–30 %), dvě populace byly však výjimkou, a to Jamajka (49 % v roce 1999) a Peru (41 % v letech 1997–1998).
- Severní Amerika: nízká prevalence (rozuměno pod 20 %), s výjimkou černošské populace ve Spojených státech (29,2 % v letech 2001–2004).
- západní Evropa: nízká, výjimkou jsou tři země, Norsko (24 % v roce 1996), Turecko (23,2 % v roce 2002) a Polsko (28,5 % v roce 2001).
- Střední východ/ severní Afrika: poměrně nízká, avšak v Egyptě byla vyšší (33 % v roce 2001–2002), jelikož záměrně testovali rizikovou populaci, a to ženy, kterým hrozil předčasný porod a také v Íránu byly pozorovány vyšší hodnoty (40–50 % v roce 1996–1997), protože se jednalo o kočovné etnické skupiny.
- Asie a Austrálie: celkově nízká, až na dvě výjimky, a to Indonésie (32,5 % v roce 1999) a Čína, konkrétně tibetský region (52 % v roce 2007) (Kenyon et al. 2013).

G. vaginalis je popisována jako pohlavně přenosné agens. Kolonizace urogenitálního systému muže bakteriemi spojenými s bakteriální vaginózou může sloužit jako rezervoár pro reinfekci partnerek. Po pohlavním styku však *G. vaginalis* a další bakterie podílející se na bakteriální vaginóze nepřežijí dlouho na penisu muže. Pokud tedy dojde k nechráněnému pohlavnímu styku muže s ženou mající *G. vaginalis* a po delší době k dalšímu nechráněnému pohlavnímu styku tohoto muže s jinou ženou, je velká pravděpodobnost, že nedojde k přenosu bakterií k nové partnerce. Pokud však probíhá více vztahů najednou, pak může k tomuto přenosu docházet.

Na obrázku č. 5 je znázorněn možný sexuální přenos bakterií spojených s bakteriální vaginózou. Vaginální mikrobiom jednotlivce A je různými cestami spojen s jeho vlastním orálním a rektálním mikrobiomem, dále s orálním a penilním mikrobiomem jednotlivce B a vaginálním mikrobiomem jednotlivce C. Tyto cesty přenosu jsou podmíněny řadou faktorů, včetně frekvence pohlavních styků, pohlavím, obřízce, používáním bariérové antikoncepce a skutečností, že vztah mezi jednotlivci A a B probíhá souběžně se vztahem mezi B a C (Kenyon et al., 2014).



Obr. 5 Znázornění sexuálního přenosu bakterií mezi jednotlivci

Převzato z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25304606>

4. MIKROFLÓRA UROGENITÁLNÍHO TRAKTU

Mikroorganismy, které se vyskytují v urogenitálním traktu jsou důležité pro udržení zdraví a pro prevenci nemocí hostitele. Podstatnou roli hraje věk, hladina hormonů, hygienické návyky či sexuální praktiky (Borges et al., 2014).

4.1 Pohlavní ústrojí žen

V pochvě se brzy po narození objevují aerobní laktobacily, které přetrvávají tak dlouho, dokud pH zůstává kyselé. Po změně pH na neutrální, což trvá až do puberty, je přítomna smíšená flóra koků a bacilů. V pubertě se pak znovu objevují aerobní a anaerobní laktobacily, díky kterým je udržováno kyselé pH tím, že produkují kyselinu mléčnou ze sacharidů, konkrétně z glykogenu. Pokud jsou laktobacily potlačovány např. antibiotiky, dochází ke zvýšení počtu jiných bakterií, které mohou způsobit podráždění nebo zánět (Riedel et al., 2019). V období menopauzy v epitelu klesá glykogen, a tudíž dochází k úbytku laktobacilů (Borges et al., 2014).

Normální vaginální mikroflóra zahrnuje nejen laktobacily, ale v jisté míře i streptokoky, klostridie, *G. vaginalis*, *Prevotella spp.*, *Ureaplasma urealyticum*, *Listeria spp.* nebo *Mobiluncus spp.* (Riedel et al., 2019).

U žen v reprodukčním věku rozlišujeme 5 komunitních skupin mikroorganismů ve vagíně (CST). V CST-I, CST-II, CST-III a CST-V dominují laktobacily, konkrétně *Lactobacillus (L.) crispatus*, *L. gasseri*, *L. inerts* a *L. jensenii* ve stejném pořadí. CST-IV je charakterizován množstvím anaerobů a nízkou hladinou laktobacilů, dělí se ještě na dvě podskupiny CST IV-A, která obsahuje druhy rodů *Anaerococcus spp.*, *Peptoniphilus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Prevotella spp.*, *Fingoldia spp.* a *Streptococcus spp.* Druhou podskupinou je CST IV-B, kde jsou přítomny rody *Atopobium*, *Gardnerella*, *Sneathia.*, *Mobiluncus*, *Megasphaera* a další taxony řádu *Clostridiales*. Tento stav byl podle Nugentova skóre (vysvětleno níže) považován za dysbiózu vaginálního mikrobiomu, konkrétně bakteriální vaginózu, ale zároveň byl hlášen i u zdravých osob. Proto je stále diskutabilní, zda se jedná o asymptomatickou bakteriální vaginózu, nebo o zdravý stav (Kalia et al., 2020). Typy CST se výrazně liší také v závislosti na etnickém původu žen. U jedinců bílé a asijské populace je větší pravděpodobnost výskytu CST, kterým dominuje laktobacilus, na rozdíl

u populace černé a hispánské. Tato skupina žen měla větší pravděpodobnost výskytu CST s rozmanitou škálou anaerobů (Bengtson et al., 2014).

4.2 Pohlavní ústrojí mužů

Dříve byl mužský urogenitální trakt považován za sterilní, nebo pouze přechodně kolonizovaný mikroorganismy, s výjimkou můžu se sexuálně přenosnými infekcemi (Bengtson et al., 2014). Bylo však zjištěno, že močová trubice mužů a močový měchýř nejsou tak sterilní, jak se dříve předpokládalo, a mohou být zdrojem infekcí močových cest a jejich recidiv (Gottschick et al., 2017).

Mušská močová trubice může být také kolonizována bakteriemi, vyskytujícími se v ženském pohlavním ústrojí. Infekce močového systému způsobené *G. vaginalis* byly u můžu hlášeny velmi zřídka. Tyto infekce se většinou vyskytují současně s jiným onemocněním, jako například s uretrálním stentem, urolitiázou, diabetem, nebo nádorem či po transplantaci ledvin (Boyanova et al., 2021).

Složení uretrálního mikrobiomu je odlišné také u mužů s negonokokovou uretritidou (NGU), nebo bez NGU. Jeden nebo více aerobních bakterií, včetně *G. vaginalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium spp.*, *Lactobacillus spp.* a alfa-hemolytické streptokoky, byly kultivovány u >95 % NGU pozitivních a u 100 % NGU negativních mužů. Laktobacily, *G. vaginalis*, streptokoky a anaeroby byly častější u mužů bez NGU. Navíc bylo zjištěno, že aeroby byly častější u mužů bez uretritidy, než s NGU a *Prevotella spp.* se častěji vyskytovala společně s chlamydiovou uretritidou (Bengtson et al., 2014).

Díky sekvenování byly identifikovány tři skupiny močového mikrobiomu. Skupina jedna obsahovala vysoký podíl korynebakterií, propionové bakterie a stafylokoky, druhé skupině dominoval laktobacilus a třetí skupina obsahovala rozmanitější mikrobiom, zejména bakterie asociované s bakteriální vaginózou (Bengtson et al., 2014).

Mikrobiom mužského urogenitálního traktu může být ovlivněn také obřízkou. Dlaždicový epitel na penisu je silně keratinizovaný a nepropustný pro vlhkost, na rozdíl od buněk předkožky, rozhraní penisu s žaludem, jsou buňky keratinizované jen zlehka. Při mužské obřízce se chirurgicky odstraní předkožka, čímž se sníží vlhkost a podpoří se keratinizace žaludu. U neobřezaného penisu se mohou objevovat bakterie spojené s bakteriální vaginózou. Studie ukázaly, že před obřízkou byl penis kolonizován zástupci čeledi *Bifidobacteriaceae*, *Prevotellaceae*, *Veillonaceae* a klostridii, zatímco po obřízce

se počet anaerobů snížil a kolonizace byla méně různorodá, nahrazena především kožními bakteriemi, včetně stafylokoků a korynebakterií. Naproti tomu močová trubice je trvale vlhká a pokryta cylindrickým epitelem, obsahující žlázy, které vylučují muciny do močové trubice. Některé sexuálně přenosné patogeny cílí na odlišné oblasti penisu, což podporuje myšlenku, že penis má více nezávislých mikrobiomů (Bengtson et al., 2014).

Zastoupení mikroorganismů v mikrobiomu urogenitálního ústrojí muže je ovlivněno řadou faktorů, velkou roli v jeho ustálení hrají získané mikroorganismy z vaginální mikrobioty matky při porodu, životní prostředí, ve kterém muž žije a pohlavně přenosné mikroorganismy. Mikroorganismus *G. vaginalis* byl detekován u sexuálně neaktivního adolescenta, což naznačuje, že ke kolonizaci může docházet v průběhu puberty, bez sexuální aktivity (Bengtson et al., 2014).

5. INFEKCE VYVOLANÉ GARDNERELLA VAGINALIS

5.1 Bakteriální vaginóza

Bakteriální vaginóza je běžným vaginálním onemocněním žen reprodukčního věku (Riedel et al., 2019). Toto onemocnění je charakterizováno poklesem počtu laktobacilů, a naopak nárustem patogenních mikroorganismů, zejména anaerobů, ve vaginální mikroflóře. Jedná se především o *G. vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Mobiluncus mulieris*, *Prevotella bivia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Ureaplasma urealyticum* a *Mycoplasma hominis*. Pozoruhodným rysem je adheze *G. vaginalis* na vaginální epitel a následné vytvoření polymikrobiálního biofilmu na epiteliálních buňkách vagíny, který vede ke vzniku clue cells (Muzny et al., 2019). Náhrada laktobacilů *G. vaginalis* podporuje také změna pH ve vagíně, z kyselého na zásadité, které vytváří ideální prostředí pro bakterie spojené s bakteriální vaginózou (Bagnall et al., 2017). Biofilmy *G. vaginalis* totiž tolerují peroxid vodíku a kyselinu mléčnou, látky produkované laktobacily, které snižují vaginální pH a zabraňují kolonizaci patogenních anaerobů. Tento ochranný režim umožňuje bakteriím v biofilmu přežít v poměrně drsném prostředí (Muzny et al., 2019). U bakteriální vaginózy je typický mléčný, homogenní, zápachající vaginální výtok, který způsobuje vulvovaginální diskomfort a podráždění vulvy. Jedná se o nezápálivé onemocnění, indikované nepřítomností neutrofilů (Longo et al., 2018).

Byly popsány 3 skupiny bakterií, detekovány pomocí PCR a FISH, ve vaginální tekutině žen s bakteriální vaginózou. Jejich genové sekvence 16S rRNA nebyly nijak související s těmi doposud známými a byly nazvány jako bakterie asociované s bakteriální vaginózou (BVAB). Tři skupiny označené BVAB1, BVAB2 a BVAB3 obsahují bakterie řádu *Clostridiales*, konkrétněji kmen *Clostridium*. BVAB1 jsou tenké, zakřivené tyčinky, BVAB2 jsou kratší, tlustší tyčinky a BVAB3 se jeví jako dlouhé tyčinky, lancetového tvaru. Přestože je *Mobiluncus spp.* morfologicky podobný jako BVAB1, jejich geny 16S rRNA sdílejí pouze 80 % nukleotidové identity. BVAB1 byly zjištěny u 89-100 % žen s Nugentovým skóre 9 až 10 a jsou spojeny s pozitivním aminovým testem, poukazující na produkci polyaminů touto bakterií, které mohou zvýšit vaginální pH a tím podpořit další růst anaerobních bakterií. BVAB2 byly detekovány u 89 % a BVAB3 u 90 % žen s bakteriální vaginózou diagnostikovanou podle Nugentova skóre. BVAB1 a 2 zatím nebyly kultivovány, zatímco BVAB3 byl nedávno kultivován, biochemicky popsán a dostal nový název

Mageibacillus indolicus. Jedná se o grampozitivní, nepohyblivý, obligátně anaerobní mikroorganismus (Onderdonk et al., 2016).

Při diagnostice se využívá různorodých kritérií. Jedná se např. o Amselova kritéria:

- Tenký, bíložlutý výtok
- Vaginální výtok s pH > 4,5
- Po přidání 10% roztoku KOH aminový, rybí zápach
- Přítomnost tzv. clue cells

Musí být splněno alespoň 3 ze 4 kritérií, aby šlo o bakteriální vaginózu (Van den Munckhof et al., 2019). Jako další se při diagnostice může využít Nugentův skórovací systém, u kterého se hodnotí morfortypy bakterií, rozlišují se:

- Morfortyp *Lactobacillus*: G⁺ tyčinky, jedná se o normální nález v pochvě, nález na čtyři křížky znamená 0 bodů, pokud nejsou přítomny žádné laktobacily, pak dáváme 4 body
- Morfortyp *Gardnerella/anaeroby*: kratší, gramlabilní tyčinky, jedná se o bakterie, které se objevují při bakteriální vaginóze, pokud nejsou přítomny žádné takové bakterie, hodnotíme 0 bodů, pokud je nález na čtyři křížky, znamená to 4 body
- Morfortyp *Mobiluncus*: zahnuté G⁻ tyčinky, nepřítomnost bakterií se hodnotí 0 body, nález na dva křížky se naopak hodnotí 2 body

V tomto skórovacím systému lze získat až deset bodů, přičemž od pěti bodů a výš se pravděpodobně jedná o bakteriální vaginózu (Votava a kol., 2010).

Mezi rizikové faktory patří například černošské nebo hispánské etnikum, kouření, pravidelné výplachy, více sexuálních partnerů včetně pohlavního styku ženy s ženou, nebo nepoužívání prezervativů (Bagnall et al., 2017). Byly nalezeny metabolity nikotinu v cervikální sliznici kuřáček. Kouření podporuje antiestrogenové prostředí a předpokládá se, že tabák mění fyziologii a strukturu mikroflóry vagíny, zvyšující bakteriální virulenci. Používání komerčních výplachových produktů mění normální vaginální prostředí a vytváří prostředí, které je náchylnější k přerůstání patogenů. Bakteriální vaginóza je také podporována určitým sexuálním chováním. Časté střídání sexuálních partnerů a nechráněný pohlavní styk může znamenat přítomnost neznámých bakterií, které přispívají ke zvýšenému riziku. Prevalence bakteriální vaginózy u žen, které mají sexuální poměr s ženami může být až 50 % (Ellington et al., 2020).

Ženy, které používají orální antikoncepci mají nižší výskyt tohoto onemocnění. Předpokládá se, že estrogen obsažený v antikoncepční pilulce má vyživující účinek pro laktobacily v pochvě a může tedy vysvětlit nižší míru bakteriální vaginózy u těchto žen (Bagnall et al., 2017).

Komplikace způsobené recidivující bakteriální vaginózou zahrnují zvýšené riziko pohlavně přenosných chorob včetně HIV, zánětlivé onemocnění pánve (PID), předčasný porod a pooperační infekce (Ellington et al., 2020).

6. ZÁNĚTLIVÁ ONEMOCNĚNÍ

6.1 Pánevní zánětlivé onemocnění

Zánětlivé onemocnění pánve (PID) je onemocnění horní části ženského reprodukčního systému, způsobené vzestupnou infekcí. Akutní PID je způsobeno šířením mikroorganismů z pochvy a/nebo cervixu do endometria, vejcovodů a/nebo dalších přilehlých struktur. Mezi příznaky PID patří bolest břicha, postkoitální krvácení, krvácení mimo menstruaci, horečka, zvýšená frekvence močení, bolest dolní části zad a také nevolnost či zvracení (Jaiyeoba et al., 2014). PID způsobuje endometritidu, zánět vejcovodů a tvorbu tuboovariálního abscesu. Diagnóza PID je těžká, protože je nutno zvážit kombinaci faktorů. Oddálení léčby však může vést k nepříznivým stavům jako je neplodnost, mimoděložní těhotenství či chronická pánevní bolest (Chappell et al., 2012).

Bylo zjištěno, že PID má polymikrobiální povahu, protože bylo izolováno mnoho různých bakterií z horního genitálního traktu u žen s tímto onemocněním. Tyto bakterie se mohou rozdělit do dvou skupin: sexuálně přenosné patogeny a flóra nižšího genitálního traktu. Do první zmíněné skupiny patří *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* a *Mycoplasma genitalium*, které byly izolovány z děložního čípku, endometria a vejcovodů u žen s akutním zánětem vejcovodů. Ve vysokém procentu se u PID vyskytují též bakterie dolních pohlavních cest, jako je *G. vaginalis*, *Prevotella spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Escherichia coli* a *Haemophilus influenzae* (Chappell et al., 2012).

Mezi rizikové faktory PID se řadí mladší věk při prvním pohlavním styku, více sexuálních partnerů, nepoužívání bariérové antikoncepce a infekce způsobené chlamydiemi nebo kapavka (Chappell et al., 2012).

6.2 Endometritida

Endometritida je infekční a zánětlivá porucha endometria a může být definována jako infekce horního genitálního traktu včetně endometria, myometria a okolní tkáně. Většinou k tomu dochází po porodu, kdy mohou mít vaginální bakterie přístup k hornímu genitálnímu traktu. Poporodní endometritida je smíšená infekce, která zahrnuje jak aerobní tak i anaerobní bakterie včetně mykoplazmat a pohlavně přenosných mikroorganismů jako *Chlamydia trachomatis*. Incidence je u vaginálního porodu menší než u porodu císařským řezem. U vaginálního porodu dochází také k pozdějšímu nástupu endometritidy (2 dny až 6 týdnů), za který mohou anaerobní bakterie a *Chlamydia trachomatis*. Endometritida s

nástupem (většinou do 48 hodin) se děje u porodu císařským řezem a je dána v důsledku poškozené tkáně kolem šicí linie, jež predisponuje mikrobiálnímu růstu. Rozlišuje se chronická a akutní endometritida, kdy tvorba abscesů a infiltrace neutrofilů endometria se označuje jako akutní endometritida, která nemá žádný vliv na plodnost ženy. Projevuje se horečkou, pánevní bolestí a vaginálním výtokem. Chronická endometritida je charakteristická přítomností endometriálních stromálních plazmocytů a negativně ovlivňuje plodnost žen. Chronická endometritida má nespecifické příznaky jako pánevní nepohodlí a leukorea, která je většinou u pacientů opomíjená. Nalezené mikroorganismy v endometriu jsou druhy rodu *Streptococcus spp.*, *Ureaplasma spp.*, *Proteus spp.*, *G. vaginalis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa* (Mehta et al., 2022).

Mezi rizikové faktory poporodní endometritidy se řadí předporodní infekce streptokoku skupiny B, předčasný porod, předčasné prasknutí plodových obalů nebo též císařský řez (Mehta et al., 2022).

7. KOMPLIKACE V TĚHOTENSTVÍ

Bakterie doprovázející bakteriální vaginózu, včetně *G. vaginalis*, jsou spojené s komplikacemi při těhotenství, včetně potratu nebo předčasného porodu. Předpokládá se, že infekce stoupá z dolního genitálního traktu přes děložní čípek, což může zapříčinit zánět plodové vody nebo fetální infekci (Hay, 2004).

U žen, které porodí v termínu lze předpokládat vaginální mikroflóru s převažujícími laktobacily, konkrétně *L. crispatus*. Naopak ženy, které porodí předčasně, trvale vykazují zvýšenou rozmanitost bakterií ve vaginálním mikrobiomu. U mnoha pacientek bylo zjištěno, že vyčerpání *Lactobacillus spp.* je spojeno s rizikem spontánního předčasného porodu a předčasného prasknutí plodových obalů (Grewal et al., 2021).

8. TERAPIE

Metronidazol je nitroimidazolové antimikrobiální látka, používané od 80. let 20. století k léčbě bakteriální vaginózy s dobrými klinickými výsledky. Dvě náhodné studie (Hanson et al., 2000 a Ransom et al., 1999) porovnávaly způsob podání a zároveň účinnost antibiotik. Bylo zjištěno, že účinnost vaginálního a perorálního podání je podobná, avšak u vaginálního režimu byl menší výskyt gastrointestinálních potíží (33 % vs 52 %). V roce 1999 bylo prokázáno, že účinnost sedmi denního režimu podávání antibiotik je lepší, než jednorázové podání s kumulativní mírou vyléčení 3–4 týdny po dokončení léčby (82 % u 7denního a 62 % u jednorázového podání) (Menard, 2011).

Schwebke et. al. (2007) zkoumali, zda prodloužení doby podávání ATB nebude mít lepší účinek léčby. První návštěva, 7 dní po dokončení terapie, ukázala významný rozdíl vyléčení (měřeno podle Amselových kritérií) mezi pacienty. Ti, kteří dostávali metronidazol po dobu čtrnácti dní měli větší míru vyléčení (63 %), než ti, kterým byl podáván jen 7 dní (45 %). Při další kontrolní návštěvě, 21 dní po ukončení léčby, byly hodnoty vyléčení u obou skupin stejné, což naznačuje relaps, nebo reinfekci.

Jako další antimikrobiální látka se využívá clindamycin, patřící mezi linkosamidy. Podávání clindamycinu perorálně či vaginálně má podobnou míru vyléčení (Menard, 2011). Bylo provedeno několik studií pro porovnání účinku metronidazolu a clindamycinu v různých režimech, konkrétně clindamycinový krém s perorálním metronidazolem, jako další clindamycinové kapsle s perorálním metronidazolem, clindamycinové kapsle s metronidazolovým gelem a perorální clindamycin s perorálním metronidazolem. Následná kontrola však ukázala, že účinky mezi těmito dvěma antibiotiky jsou identické, bez ohledu na typu režimu. Dále bylo zjištěno, že u podání topického clindamycinu je sníženo množství nežádoucích účinků, než při podání metronidazolu perorálně (Oduyebo, 2009).

Novější studie ukázaly, že u *G. vaginalis* je míra rezistence na metronidazol v rozmezí 25–27 %, pokud definujeme rezistenci jako ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$. Naproti tomu u clindamycinu je rezistence definována jako ≥ 8 $\mu\text{g/ml}$, tudíž se jedná o vysokou citlivost *G. vaginalis* na clindamycin (tabulka č.1 a 2) (Petrina et al., 2017; Landlinger et al., 2022).

Tab. 1 Hodnoty MIC pro 90 % testovaných kmenů *Gardnerella vaginalis* (upraveno dle Petrina et. al, 2017)

	počet izolátů	rozmezí	MIC 90 % [$\mu\text{g/ml}$]	% rezistence
metronidazol	110	1->128	64	27
clindamycin	110	0,03-0,5	0,5	0

Tab. 2 Hodnoty MIC pro 90 % testovaných kmenů *Gardnerella vaginalis* (upraveno dle Landlinger et. al., 2022)

	počet izolátů	rozmezí	MIC 90 % [$\mu\text{g/ml}$]	% rezistence
metronidazol	8	8-64	64	25
clindamycin	8	0,06-0,5	0,5	0

Byla testována i účinnost antibiotik při tvorbě biofilmu *G. vaginalis*, kdy se zjistilo, že clindamycin je v tomto případě účinný, zatímco u metronidazolu vzniká poměrně rychlá rezistence na *G. vaginalis*. Jako potenciální kandidát pro léčbu pacientů s bakteriální vaginózou se v této studii osvědčil geneticky upravený endolysin PM-477, který zabíjí buňky ve vytvořeném biofilmu, neovlivňuje laktobacily a neumožňuje bakteriím, aby se staly tolerantními (Landlinger et al., 2022).

V jiné studii se testovala citlivost více druhů antibiotik vůči 204 izolátům *G. vaginalis*. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č.3. Všechny tyto izoláty byly citlivé na chloramphenicol, dále *G. vaginalis* ukazovala velkou citlivost na clindamycin. Jistá míra rezistence byla pozorována u ampicilinu (54,4 %), metronidazolu (59,8 %), tinidazolu (60,3 %) a na seknidazol vykazovala *G. vaginalis* největší rezistenci z testovaných antibiotik (71,6 %). Ampicilin se nevyužívá pro léčbu bakteriální vaginózy kvůli jeho neúčinnosti, způsobené nejspíše jeho inaktivací beta-laktamázi, produkovanými jinými anaeroby, nikoli specificky *G. vaginalis* (Knupp de Souza et al., 2016).

Tab. 3 Hodnoty MIC pro 90 % testovaných kmenů *Gardnerella vaginalis* (upraveno dle Knupp de Souza et al., 2016)

	počet izolátů	rozmezí	MIC 90 % [$\mu\text{g/ml}$]	% rezistence
metronidazol	204	2->1024	1024	59,8
clindamycin	204	0,0625-1024	0,5	6,9
tinidazol	204	1->64	>64	60,3
seknidazol	204	2->64	>64	71,6
ampicilin	204	0,0625-64	8	54,4
chloramphenicol	204	0,125-8	2	0

Dřívější studie (2006) se zabývaly citlivostí *G. vaginalis* na ATB metronidazol a tinidazol, kdy byla zjištěna 68% rezistence na metronidazol a 54% rezistence na tinidazol (tabulka č.4). Větší aktivitu proti *G. vaginalis* může mít tedy tinidazol, než metronidazol (Austin et al., 2006).

Tab. 4 Hodnoty MIC pro 90 % testovaných kmenů *Gardnerella vaginalis* (upraveno dle Austin et al., 2006)

	počet izolátů	rozmezí	MIC 90 % [$\mu\text{g/ml}$]	% rezistence
metronidazol	102	2–>256	>256	68
tinidazol	102	0,5–>256	>256	54

9. ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo podrobnější seznámení s mikroorganismem *G. vaginalis*, který je poměrně často spojována s onemocněním bakteriální vaginóza. Jedná se o dyskomfort vaginálního prostředí ženy, kdy dojde k potlačení laktobacilů a značnému růstu anaerobních bakterií, včetně *G. vaginalis*. Dále byly popsány komplikace v těhotenství, kdy je předčasný porod, či dokonce potrat spojován s bakteriální vaginózou. V diagnostice druhu *G. vaginalis* se uplatňují jak metody kultivační, tak metody molekulárně biologické. Vzhledem k mnoha faktorům virulence tohoto agens a schopnosti rezistence na antibiotika, je bakteriální vaginóza často přítomna jako recidivující onemocnění a je potřeba určit gynekologem správnou volbu antibiotik, případně i probiotik.

Závěrem lze říci, že v některých ohledech je *G. vaginalis* a onemocnění spojené s tímto druhem nedostatečně prozkoumáno. Projevy infekce lze ovlivnit vhodně zvolenou antibiotickou terapií.

10. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. AUSTIN, M.N., L.A. MEYN a S.L. HILLIER. Susceptibility of vaginal bacteria to metronidazole and tinidazole. *Anaerobe* [online]. 2006, **12**(5-6), 227-230. ISSN 10759964. Dostupné z: doi:10.1016/j.anaerobe.2006.06.002
2. BAGNALL, Paulette a Denise RIZZOLO. Bacterial vaginosis. *Journal of the American Academy of Physician Assistants* [online]. 2017, **30**(12), 15-21. ISSN 1547-1896. Dostupné z: doi:10.1097/01.JAA.0000526770.60197.fa
3. BENGTSON, Erika, Larry J. FORNEY a David E. NELSON. *The Human Microbiota and Microbiome*. Cardiff University, Cardiff: CABI Publishing, 2014. ISBN 9781780640495.
4. BORGES, Sandra, Joana SILVA a Paula TEIXEIRA. The role of lactobacilli and probiotics in maintaining vaginal health. *Archives of Gynecology and Obstetrics* [online]. 2014, **289**(3), 479-489. ISSN 0932-0067. Dostupné z: doi:10.1007/s00404-013-3064-9
5. BOYANOVA, Lyudmila, Yulia MARTEVA-PROEVSKA, Raina GERGOVA a Rummyana MARKOVSKA. Gardnerella vaginalis in urinary tract infections, are men spared?. *Anaerobe* [online]. 2021, **72**. ISSN 10759964. Dostupné z: doi:10.1016/j.anaerobe.2021.102438
6. CATLIN, B W. Gardnerella vaginalis: characteristics, clinical considerations, and controversies. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 1992, **5**(3), 213-237. ISSN 0893-8512. Dostupné z: doi:10.1128/CMR.5.3.213
7. COUDRAY, Makella S. a Purnima MADHIVANAN. Bacterial vaginosis—A brief synopsis of the literature. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* [online]. 2020, **245**, 143-148. ISSN 03012115. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejogrb.2019.12.035
8. DIOP, Khoudia, Jean-Charles DUFOUR, Anthony LEVASSEUR a Florence FENOLLAR. Exhaustive repertoire of human vaginal microbiota. *Human Microbiome Journal* [online]. 2019, **11**. ISSN 24522317. Dostupné z: doi:10.1016/j.humic.2018.11.002
9. ELLINGTON, Kelly a Scott J. SACCOMANO. Recurrent bacterial vaginosis. *The Nurse Practitioner* [online]. 2020, **45**(10), 27-32. ISSN 0361-1817. Dostupné z: doi:10.1097/01.NPR.0000696904.36628.0a

10. GOTTSCHICK, Cornelia, Zhi-Luo DENG, Marius VITAL, Clarissa MASUR et al. The urinary microbiota of men and women and its changes in women during bacterial vaginosis and antibiotic treatment. *Microbiome* [online]. 2017, **5**(1). ISSN 2049-2618. Dostupné z: doi:10.1186/s40168-017-0305-3
11. GREENWOOD, J R a M J PICKETT. Salient features of *Haemophilus vaginalis*. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. 1979, **9**(2), 200-204. ISSN 0095-1137. Dostupné z: doi:10.1128/jcm.9.2.200-204.1979
12. GREWAL, Karen, David A. MACINTYRE a Phillip R. BENNETT. The reproductive tract microbiota in pregnancy. *Bioscience Reports* [online]. 2021, **41**(9). ISSN 0144-8463. Dostupné z: doi:10.1042/BSR20203908
13. HAY, Phillip E. Bacterial vaginosis and miscarriage. *Current Opinion in Infectious Diseases* [online]. 2004, **17**(1), 41-44. ISSN 0951-7375. Dostupné z: doi:10.1097/00001432-200402000-00008
14. HILL, Janet E., Arianne Y. K. ALBERT a Denise MONACK. Resolution and Cooccurrence Patterns of *Gardnerella leopoldii*, *G. swidsinskii*, *G. piotii*, and *G. vaginalis* within the Vaginal Microbiome. *Infection and Immunity* [online]. 2019, **87**(12), e00532-19. ISSN 0019-9567. Dostupné z: doi:10.1128/IAI.00532-19
15. HURYCH, Jakub a Roman ŠTÍCHA. *Lékařská mikrobiologie: repetitorium*. Praha: Stanislav Juhaňák – Triton, 2020. ISBN 978-80-7553-844-4
16. CHAPPELL, CATHERINE A. a HAROLD C. WIESENFELD. Pathogenesis, Diagnosis, and Management of Severe Pelvic Inflammatory Disease and Tuboovarian Abscess. *Clinical Obstetrics & Gynecology* [online]. 2012, **55**(4), 893-903. ISSN 0009-9201. Dostupné z: doi:10.1097/GRF.0b013e3182714681
17. JAIYEoba, Oluwatosin, Gweneth LAZENBY a David E SOPER. Recommendations and rationale for the treatment of pelvic inflammatory disease. *Expert Review of Anti-infective Therapy* [online]. 2014, **9**(1), 61-70. ISSN 1478-7210. Dostupné z: doi:10.1586/eri.10.156
18. KALIA, Namarta, Jatinder SINGH a Manpreet KAUR. Microbiota in vaginal health and pathogenesis of recurrent vulvovaginal infections: a critical review. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* [online]. 2020, **19**(1). ISSN 1476-0711. Dostupné z: doi:10.1186/s12941-020-0347-4

19. KENYON, Chris R. a Kara OSBAK. Recent progress in understanding the epidemiology of bacterial vaginosis. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology* [online]. 2014, **26**(6), 448-454. ISSN 1040-872X. Dostupné z: doi:10.1097/GCO.0000000000000112
20. KENYON, Chris, Robert COLEBUNDERS a Tania CRUCITTI. The global epidemiology of bacterial vaginosis: a systematic review. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* [online]. 2013, **209**(6), 505-523. ISSN 00029378. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajog.2013.05.006
21. KNUPP DE SOUZA, Daniele Maria, Claudio Galuppo DINIZ, Didier Silveira Castellano FILHO, et al. Antimicrobial susceptibility and vaginolysin in Gardnerella vaginalis from healthy and bacterial vaginosis diagnosed women. *The Journal of Infection in Developing Countries* [online]. 2016, **10**(09), 913-919. ISSN 1972-2680. Dostupné z: doi:10.3855/jidc.7161
22. LAMONT, RF, JD SOBEL, RA AKINS, SS HASSAN et al. The vaginal microbiome: new information about genital tract flora using molecular based techniques. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* [online]. 2011, **118**(5), 533-549. ISSN 14700328. Dostupné z: doi:10.1111/j.1471-0528.2010.02840.x
23. LANDLINGER, Christine, Vera OBERBAUER, Lenka PODPERA TISAKOVA, Timo SCHWEBS et al. Preclinical Data on the Gardnerella -Specific Endolysin PM-477 Indicate Its Potential to Improve the Treatment of Bacterial Vaginosis through Enhanced Biofilm Removal and Avoidance of Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [online]. 2022, **66**(5), e02319-21. ISSN 0066-4804. Dostupné z: doi:10.1128/aac.02319-21
24. LONGO, Dan L., Jorma PAAVONEN a Robert C. BRUNHAM. Bacterial Vaginosis and Desquamative Inflammatory Vaginitis. *New England Journal of Medicine* [online]. 2018, **379**(23), 2246-2254. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMra1808418
25. MEHTA, Sumita a Anshul GROVER, ed. *Infections and Pregnancy* [online]. Singapore: Springer Singapore, 2022. ISBN 978-981-16-7864-6. Dostupné z: doi:10.1007/978-981-16-7865-3
26. MENARD, Jean-Pierre. Antibacterial treatment of bacterial vaginosis: current and emerging therapies. *International Journal of Women's Health* [online]. 2011, (3), 295-305. ISSN 1179-1411. Dostupné z: doi:10.2147/IJWH.S23814
27. MOSIO, Petra. *Atlas bakterií*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2012. ISBN 978-80-7395-467-3

28. MUZNY, Christina A, Christopher M TAYLOR, W Edward SWORDS, Ashutosh TAMHANE et al. An Updated Conceptual Model on the Pathogenesis of Bacterial Vaginosis. *The Journal of Infectious Diseases* [online]. 2019, **220**(9), 1399-1405. ISSN 0022-1899. Dostupné z: doi:10.1093/infdis/jiz342
29. NELSON, David E., Qunfeng DONG, Barbara VAN DER POL, et al. Bacterial Communities of the Coronal Sulcus and Distal Urethra of Adolescent Males. *PLoS ONE* [online]. 2012, **7**(5). ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0036298
30. ODUYEBO, Oyinlola O, Rose I ANORLU a Folasade T OGUNSOLA. The effects of antimicrobial therapy on bacterial vaginosis in non-pregnant women. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [online]. 2009, (3). ISSN 14651858. Dostupné z: doi:10.1002/14651858.CD006055.pub2
31. ONDERDONK, Andrew B., Mary L. DELANEY a Raina N. FICHOROVA. The Human Microbiome during Bacterial Vaginosis. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 2016, **29**(2), 223-238. ISSN 0893-8512. Dostupné z: doi:10.1128/CMR.00075-15
32. PATTERSON, Jennifer L., Annica STULL-LANE, Philippe H. GIRERD a Kimberly K. JEFFERSON. Analysis of adherence, biofilm formation and cytotoxicity suggests a greater virulence potential of Gardnerella vaginalis relative to other bacterial-vaginosis-associated anaerobes. *Microbiology* [online]. 2010, **156**(2), 392-399. ISSN 1350-0872. Dostupné z: doi:10.1099/mic.0.034280-0
33. PETRINA, Melinda A.B., Lisa A. COSENTINO, Lorna K. RABE a Sharon L. HILLIER. Susceptibility of bacterial vaginosis (BV)-associated bacteria to secnidazole compared to metronidazole, tinidazole and clindamycin. *Anaerobe* [online]. 2017, **47**, 115-119. ISSN 10759964. Dostupné z: doi:10.1016/j.anaerobe.2017.05.005
34. RIEDEL, Stefan, Jeffery A. HOBDEN a Steve MILLER, et al. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical mikrobiology*. 28th ed. McGraw-Hill Education, 2019. ISBN 978-1-260-01202-6.
35. SCHELLENBERG, John J., Teenus PARAMEL JAYAPRAKASH, Niradha WITHANA GAMAGE, Mo H. PATTERSON et al. Gardnerella vaginalis Subgroups Defined by cpn60 Sequencing and Sialidase Activity in Isolates from Canada, Belgium and Kenya. *PLoS ONE* [online]. 2016, **11**(1). ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0146510

36. SCHWEBKE, J. R. a R. A. DESMOND. A Randomized Trial of the Duration of Therapy with Metronidazole plus or minus Azithromycin for Treatment of Symptomatic Bacterial Vaginosis. *Clinical Infectious Diseases* [online]. 2007, **44**(2), 213-219. ISSN 1058-4838. Dostupné z: doi:10.1086/509577
37. TUROVSKIY, Y., K. SUTYAK NOLL a M.L. CHIKINDAS. The aetiology of bacterial vaginosis. *Journal of Applied Microbiology* [online]. 2011, **110**(5), 1105-1128. ISSN 13645072. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2672.2011.04977.x
38. VAN DEN MUNCKHOF, Ellen H. A., Rosalie L. VAN SITTER, Kim E. BOERS, et al. Comparison of Amsel criteria, Nugent score, culture and two CE-IVD marked quantitative real-time PCRs with microbiota analysis for the diagnosis of bacterial vaginosis. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* [online]. 2019, **38**(5), 959-966. ISSN 0934-9723. Dostupné z: doi:10.1007/s10096-019-03538-7
39. VOTAVA, Miroslav a kol. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5
40. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie – vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, c2010. ISBN 978-80-86850-04-8.