

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO
TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2017

Patricie Ulvrová

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

KATEDRA BIOLOGICKÝCH A BIOCHEMICKÝCH VĚD

Studium antibakteriálního účinku přípravků intimní hygieny

Patricie Ulvrová

Bakalářská práce

2017

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

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Patricie Ulvrová**
Osobní číslo: **C14353**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název tématu: **Studium antimikrobiálního účinku přípravků intimní hygieny**
Zadávací 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 přípravky intimní hygieny.
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

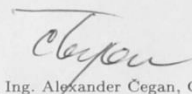
Datum zadání bakalářské práce: **28. listopadu 2016**

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 ze 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 náklad, 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. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

Podpis:

Poděkování

Touto cestou bych chtěla poděkovat především své vedoucí práce RNDr. Markétě Vydržalové, Ph.D. za odborné vedení, pomoc, věnovaný čas, za rady a trpělivost při zpracovávání této práce. Chtěla bych dále poděkovat svým přátelům a rodině, která mne v práci podporovala, a stála při mně v těžkých chvílích.

ANOTACE

Bakalářská práce má za úkol popsat fyziologický ekosystém pochvy ženy, a následně popsat patologii poševního prostředí, tedy častých poruch s uvedením možnosti léčby. Teoretická část práce je věnována oblasti použití vybraných vaginálních výplachů a jejich složení. Praktická část obsahuje informace o laboratorním testování vybraných vaginálních výplachů na *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*. Účinnost intimních přípravků – vaginálních výplachů je testována zřed'ovací neutralizační metodou.

KLÍČOVÁ SLOVA

Přípravky intimní hygieny, vaginální výplachy, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*.

TITLE

Study of the antibacterial effect of intimate hygiene products.

ANNOTATION

This thesis aims to describe the physiological ecosystem woman's vagina, and then describe the pathology of the vaginal environment, a frequent failures indicating the treatment options. The theoretical part is devoted to the use of selected vaginal flushes and their composition. The practical part contains information on the laboratory testing of selected vaginal washings to *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*. The effectiveness of intimate products - vaginal gels is tested by the dilution neutralization method.

KEYWORDS

Preparations intimate hygiene, vaginal douches, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*.

OBSAH

ÚVOD	11
TEORETICKÁ ČÁST	12
1. ANATOMIE ŽENSKÉHO POHLAVNÍHO ÚSTROJÍ.....	12
2. CHARAKTERIZACE FYZIOLOGICKÉHO POŠEVNÍHO EKOSYSTÉMU.....	13
2.1 VAGINÁLNÍ SEKRET.....	13
2.2 HORMONÁLNÍ REGULACE.....	13
2.3 MIKROBIÁLNÍ FLÓRA	15
3. PORUCHY POŠEVNÍHO EKOSYSTÉMU.....	17
3.1 ZÁNĚTY ZE VNÍŠNÍHO GENITÁLU.....	19
3.2 ZÁNĚT POCHVY	21
4. PŘÍPRAVKY INTIMNÍ HYGIENY.....	28
5. VAGINÁLNÍ VÝPLACHY	29
GINEXID VAGINÁLNÍ VÝPLACH	29
EVELLGYN +	31
ROSALGIN.....	33
AFLOVAG.....	34
CLOGIN VAGINÁLNÍ VÝPLACH.....	35
PRAKTICKÁ ČÁST	37
6. MATERIÁL.....	37
6.1 TESTOVANÉ KMENY	37
6.2 TESTOVANÉ PŘÍPRAVKY.....	37
7. PŘÍSTROJE A POMŮCKY	38
8. SLOŽKY PRO PŘÍPRAVU KULTIVAČNÍCH MÉDIÍ	38
9. TESTOVÁNÍ ANTIBAKTERIÁLNÍHO PŮSOBENÍ PŘÍPRAVKŮ INTIMNÍ HYGIENY	40
10. VÝSLEDKY A DISKUZE.....	43
10.1 TESTOVÁNÍ PŘÍPRAVKU AFLOVAG	43
10.2 TESTOVÁNÍ PŘÍPRAVKU EVELLGYN	45
10.3 TESTOVÁNÍ PŘÍPRAVKU ROSALGIN	47
10.4 TESTOVÁNÍ PŘÍPRAVKU GINEXID	48
10.5 TESTOVÁNÍ PŘÍPRAVKU CLOGIN	49
11. ZÁVĚR.....	51
12. BIBLIOGRAFIE.....	53
13. PŘÍLOHY	64

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1: Vnitřní pohlavní orgány ženy	12
Obrázek 2: Hormonální změny během ženského menstruačního cyklu	15
Obrázek 3: Chlorhexidin	31
Obrázek 4: Benzydamin	34
Obrázek 5: Terpinem-4-ol	36
Obrázek 6: Výpočet cfu/ml	41
Obrázek 7: Schéma testování vaginálních výplachů	42
Tabulka 1: Přehled nejčastěji se vyskytujících mikroorganismů v pochvě zdravé ženy	16
Tabulka 2: Hodnocení barevných nátěrů podle Jírovce, Petera, Málka	18
Tabulka 3: Vybraná kritéria hodnocení mikroskopického preparátu	19
Tabulka 4: Zastoupení jednotlivých druhů kvasinek ve vaginálních výtěrech pacientek s vulvovaginitidou	24
Tabulka 5: Testované kmeny	37
Tabulka 6: Testované přípravky intimní hygieny	37
Tabulka 7: Antibakteriální účinek přípravku AFLOVAG na testované mikroorganismy	43
Tabulka 8: Antibakteriální účinek přípravku EVELLGYN na testované mikroorganismy	45
Tabulka 9: Antibakteriální účinek přípravku ROSALGIN na testované mikroorganismy	47
Tabulka 10: Antibakteriální účinek přípravku GINEXID na testované mikroorganismy	48
Tabulka 11: Antibakteriální účinek přípravku CLOGIN na testované mikroorganismy	49

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

BHI	Infuze mozkové a srdeční tkáně (Brain Heart Infusion)
BV	Bakteriální vaginóza
C.	<i>Candida</i>
E.	<i>Escherichia</i>
G.	<i>Gardnerella</i>
KA	Krevní agar
L.	<i>Lactobacillus</i>
P.	<i>Pseudomonas</i>
S.	<i>Staphylococcus</i>
sp.	<i>Species</i>
St.	<i>Streptococcus</i>
TSA	Trypton sójový agar

ÚVOD

Ženské pohlavní ústrojí je v životě ženy nesčetněkrát vystaveno vlivům, které mohou zapříčinit rozvrat jeho fyziologických funkcí, které dále vedou k infekčním nemocem. K zabránění vzniku onemocnění slouží funkční systém obranných mechanismů, tvořící bariéru proti vniknutí nežádoucích mikroorganismů, a podílí se na udržení celkové rovnováhy ekosystému pochvy. Mezi obranné mechanismy je v první řadě řazen slizniční imunitní systém, který je dále doprovázen populací vaginálních mikroorganismů. V poševní sliznici je přítomno široké zastoupení aerobních mikrobů společně s anaerobními. Mikroorganismy produkují látky, které tvoří specifické vaginální prostředí, například některé mikroby z rodu *Lactobacillus sp.* jsou výjimečnými producenty kyseliny mléčné, která dále hraje roli v ovlivnění pH prostředí. Pokud je rovnováha prostředí narušena, nastává příležitost k proniknutí patogenních mikroorganismů, k jejich usídlení na sliznici a k množení. Při rozvratu prostředí je též pozorováno přemnožení mikroorganismů běžně se vyskytujících v genitálním ústrojí.

Pro ochranu před infekcí a pro obnovení rovnováhy ženského poševního ekosystému, bylo vyvinuto četné množství intimních přípravků. Běžně dostupné intimní přípravky obsahují účinnou chemickou látku, která má za úkol inhibovat mikrobiální růst, a dále obsahují přírodní látky, které tvoří doprovodnou vonnou složku.

Mezi základní vlastnosti intimních přípravků patří inhibice růstu patogenních mikroorganismů a obnova přirozeného poševního pH. Dále jsou tyto přípravky děleny na léčivé a preventivní.

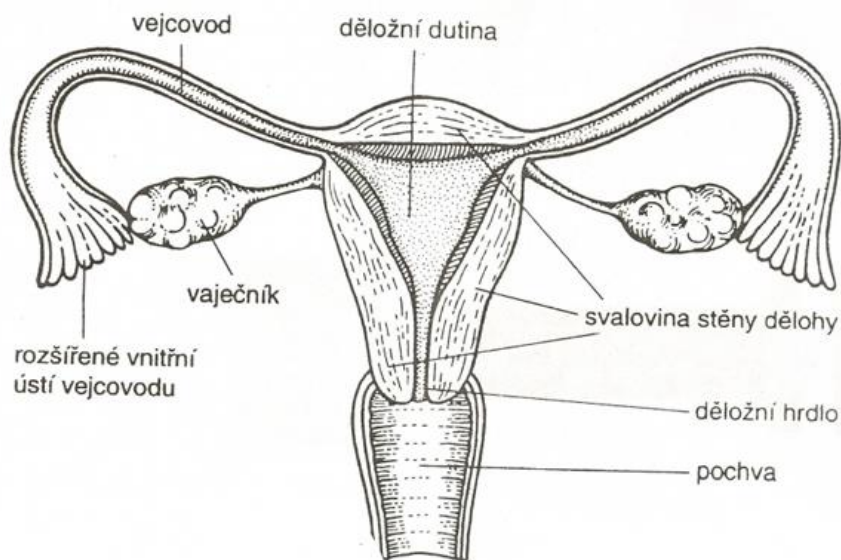
TEORETICKÁ ČÁST

1. Anatomie ženského pohlavního ústrojí

Ženské pohlavní ústrojí je děleno do dvou oddílů, orgány vnitřního a zevního genitálu. Vnitřní genitál je tvořen vaječníky, vejcovody, dělohou a patří k němu také pochva, která je spojníkem těchto dvou oblastí (obrázek č. 1).

Pochva, vazivově-svalový rourovitý orgán, tvoří součást měkkých porodních cest a spojuje dělohu se zevními rodidly (Špaček a kol., 2013). Tento ženský orgán je tvořen sliznicí, slizničním vazivem, svalovinou a poslední vrstva je zevní vrstva poševní stěny.

Struktura zevních pohlavních orgánů je konstruována do několika částí. Poševní vchod, Bartoliniho žláza, zevní ústí močové trubice, malé a velké stydké pysky, topořivá tělesa a poštváček (Roztočil, 2008).



Obrázek 1 Vnitřní pohlavní orgány ženy (Novotný, 2003)

2. Charakterizace fyziologického poševního ekosystému

Charakterizovat fyziologický poševní ekosystém je i přes dnešní dobu, dobu nových diagnostických technik, léčebných metod a klinických inovací, nesnadná záležitost. Poševní ekosystém má svoji vlastní dynamiku, a je třeba na něj pohlížet ne pouze jako na systém jehož rovnováha je dána výskytem dané mikrobioty, ale na systém, který může být ovlivněn zásahem jak z vnitřní oblasti, tak i z vnějšího prostředí. Mluvíme-li o poševním ekosystému a jeho rovnováze, měli bychom tento pojem rozvést o nové faktory, které mohou mít vliv na poruchu či nápravu stability poševního komplexního a dynamického systému. Mezi takové faktory můžeme zařadit vaginální sekret, hormonální regulaci, imunitu poševního prostředí, sexuální aktivitu a mikrobiální flóru (Buchta a kol., 2013).

2.1 Vaginální sekret

Normální poševní mok má svůj primární původ především v sekretu děložního hrdla a také transsudátu plasmy. Tento transsudát vzniká transsudací přes porózní štěrbinu a jeho množství je závislé na dostatečném prokrvení poševní stěny. Přes den se vytvoří asi 2-5 g toho transsudátu. Fyziologický poševní mok je viskózní, bílý a hromadí se v poševních klenbách. Obsahuje již zmíněný transsudát poševních stěn, odloupané epitelální buňky, které obsahují glykogen, polymorfonukleáry, bakterie a jejich produkty, dále cervikální hlen, reziduální menstruační tekutinu a sekret malých a velkých vestibulárních žláz. Poševní mok je neustále obnovován a jeho množství je závislé na hormonálních změnách při menstruačním cyklu.

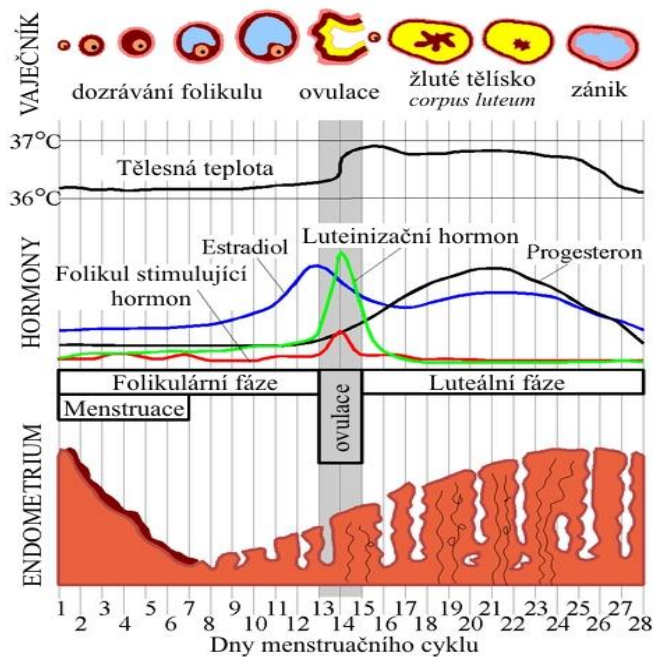
Vaginální sekret vytváří společně se slizničním imunitním systémem a nízkým pH základní biologickou ochranu proti vniknutí patogenních mikroorganismů do poševního prostoru (Kobilková a kol., 2005).

2.2 Hormonální regulace

Zásadní roli pro správnou funkci poševního systému ženy mají pohlavní hormony. Je-li hladina estrogenu nízká, nízká je i tvorba glykogenu, a poševní stěna má minimální tloušťku, tímto je snížen výskyt laktobacilů a pH v pochvě je spíše alkalické. Teprve v pubertálním věku ženy je zvýšená produkce estrogenu, která napomáhá zesílení poševní stěny a zvýšení obsahu glykogenu. Ženské pH je pro toto období vyšší, a vyšší je také množství vyskytujících se laktobacilů. Hormonální hladiny menstruačního cyklu řídí cyklické změny růstu, deskvamace a zrání nerohovatějšího dlaždicového epitelu, u kterého se mění mezibuněčné kanály a koncentrace lymfocytů.

Estrogeny jsou tedy hormony způsobující zesílení sliznice poševní. Maximální sekrece estrogeneru se objevuje v menstruačním cyklu ve fázi folikulární (obrázek č. 2). Pod vlivem progesteronu se rozšiřují mezibuněčné kanály. V pochvě nejsou přítomny lymfocyty, výjimkou je období menstruace, kdy se může prokázat jak přítomnost lymfocytů, tak i zastoupení makrofágů a granulocytů (Mašata a kol., 2004; Kolařík a kol., 2011).

V čase menopauzy poševní sliznice atrofuje a vytrácí se hormonální ochrana pochvy. Tím, jak se sliznice ztenčuje, stoupá pH a klesá zastoupení laktobacilů. Tento proces je spojen s vyčerpáním folikulů v ovariu, a celkovým následkem je poté nedostatek ovariálních steroidních hormonů, především estrogeneru. Tvorba hlavních druhů estrogeneru, estradiolu a estronu je značně snížena, tj. tvorba estradiolu je snížena o 90 % a estronu o 70 % ve srovnání s reprodukčním obdobím. Dochází také k poklesu ovariálních hormonů, androgenů. Jejich pokles z celkové produkce je minimální, jelikož jejich snížená produkce bývá nahrazena hormonální funkcí z nadledvin. Z hlediska snížení tvorby veškerých potřebných pohlavních hormonů je patrné, že se v této situaci jedná o narušení hormonální rovnováhy. Nestabilita s sebou nese vznik různorodých symptomů estrogenního deficitu, např. již výše zmíněná vaginální atrofie, dále jsou to změny nálad, bolesti hlavy nebo závažnější onemocnění jako jsou ateroskleróza či osteoporóza (Rychtaříková, 2009).



Obrázek 2 Hormonální změny během ženského menstruačního cyklu (*Menstruační cyklus* [online]. [cit. 27.6.2017]. Dostupný na WWW: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:MenstrualCycle_cs.svg)

2.3 Mikrobiální flóra

Přes padesát druhů mikroorganismů tvoří vaginální mikroflóru zdravé ženy ve fertlím období. Primární a též nejčtenějším zástupcem bakterií jsou bakterie rodu *Lactobacillus* (*L.*). Laktobacily jsou aerobní nebo fakultativně anaerobní a patří do grampozitivních pleomorfních nepohyblivých tyčinek (Kolařík a kol., 2011; Fashemi a kol., 2013). Doposud bylo objeveno více než 80 druhů laktobacilů. Nejznámější jsou *L. crispatus*, *L. iners*, *L. gasseri*, *L. buchneri* a *L. jensenii* (Slíva a kol., 2012). Laktobacily mají všeobecně schopnost rozkládat glykogen, který je obsažen v poševní sliznici, na volnou glukózu, která je dále fermentována a tvoří se kyselina mléčná. Takto se laktobacily podílejí na udržování kyselého pH vaginálního sekretu, které ve fertlím období nabývá hodnot 3,8 - 4,5. Největší hodnota pH je na počátku menstruačního cyklu v důsledku náhlého snížení obsahu glykogenu odcházejícího v menstruační krvi. Laktobacily vytvářejí lactacin B a acidolin. Jiné druhy jsou schopné vytvářet peroxid vodíku, který svým ochranným účinkem zamezuje kolonizaci patogenních mikroorganismů na sliznici.

V období mezi menarche a menopauzou je pochva osídlena nejen již zmiňovanými laktobacily, vyskytují se zde další druhy mikroorganismů, jejichž složení a množství je u jednotlivých žen odlišné. Populace mikrobů je tvořena směsí aerobních, fakultativně anaerobních a anaerobních druhů (Kolařík a kol., 2011). Přehled nejčastěji se vyskytujících mikroorganismů v pochvě žen je znázorněn v tabulce č. 1. V jednom mililitru poševního sekretu je za normálních okolností 100 milionů bakteriálních buněk (Slíva a kol., 2012).

Tabulka 1 Přehled nejčastěji se vyskytujících mikroorganismů v pochvě zdravé ženy (Kolařík a kol. 2011)

Aerobní mikroorganismy	Výskyt [%]	Anaerobní mikroorganismy	Výskyt [%]
<i>Lactobacillus</i>	17-97	<i>Lactobacillus sp.</i>	11-72
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	40-95	<i>Peptostreptococcus sp.</i>	12-40
<i>Gardnerella vaginalis</i>	40-43	<i>Bacteroides sp.</i>	0-50
<i>Mycoplasma hominis</i>	15-72	<i>Bifidobacterium sp.</i>	0-32
<i>Koryneformní tyčky</i>	18-83	<i>Eubacterium sp.</i>	0-36
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	7-67	<i>Bacterioides fragilis</i>	0-20
Streptokoky hemolytické	7-67	<i>Fusobacterium sp.</i>	0-18
Enterokoky	7-67	<i>Veillonella sp.</i>	0-17
Streptokoky nehemolytické	7-67	<i>Clostridium sp.</i>	0-17
<i>Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Streptococcus agalactiae</i>			

Během života ženy prochází poševní ekosystém mnohými změnami. Tyto změny jsou způsobené jak endogenními, tak i exogenními vlivy. Mezi vlivy nejvýznamnější patří samotné sexuální chování ženy (počet partnerů), hormonální stav (hormonální antikoncepce, těhotenství, stádium menstruačního cyklu), menstruace a její pravidelnost či nepravidelnost, cizí tělesa v pochvě (nitroděložní tělísko, tampón, pesar) a používání lokálních přípravků pro léčbu (antibiotika, antimykotika, vaginální výplachy a spermicidní látky). Například během menstruačního cyklu se může vaginální flóra pomnožit až 10 000krát (Mašata a kol., 2004).

Je pozoruhodné, že u žen zcela bez příznaků či jakýchkoliv obtíží, mohou být izolovány druhy, které byly dříve označovány za obligátní patogeny. Tedy, i běžně se vyskytující komenzál pochvy může vyvolávat nepříjemné potíže. Je zde fakt, že patogeny od komenzálů nelze zcela spolehlivě odlišit. U mnoha poševních zánětů může být výsledkem kultivace

stejné spektrum mikroorganismů, které je u zdravých žen jinak zcela běžné (Kolařík a kol., 2011).

3. Poruchy poševního ekosystému

Zánět pohlavních orgánů se vyskytuje častěji u žen nežli u mužů. Tento fakt je dán především odlišnou anatomickou stavbou a rozdílnou fyziologickou funkcí obou reprodukčních systémů. Záněty pochvy a záněty zevních rodidel se vyskytují často společně, přesto mají různou etiologii. Příčina zánětu může být způsobena nejen exogenními, ale i endogenními mikroorganismy, které jsou součástí poševní flóry. Záněty jsou děleny na infekční a neinfekční. Jde-li o zánět infekční povahy, vulvovaginitidy a vulvitidy bývají vyvolány gonokoky a dalšími bakteriemi např. stafylokoky, streptokoky, enterokoky. Častými původci onemocnění mohou být *Ureaplasma (U.) urealyticum*, *Mycoplasma (M.) hominis*, *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *G. vaginalis*, anaeroby a kvasinky (Hyman et al, 2005). Při zavedení nitroděložního tělíška mohou závažný zánět vyvolat také aktinomycety (Kobilková, 2005).

Záněty pochvy a zevních rodidel jsou klinicky charakterizovány především výtokem (*fluor genitalis*). Sekret je odebírán sterilním vatovým tamponem za pomoci poševních zrcadel ze sliznice pochvy a z děložního čípku. Vatovým tamponem je poté zhotoven nátěr na dvě podložní sklička. První nátěr se barví podle Grama, kde se poté prokazuje přítomnost bakterií a kvasinek, druhý nátěr se barví metodou dle Giemsky pro průkaz trichomonád (Donders, 2007). Takto zhotovený nátěr se nazývá mikrobiální obraz poševní (MOP) a je dále vyšetřován mikroskopicky. Základní rozdělení MOP je zobrazeno v tabulce č. 2. (Mašata a kol., 2004).

Tabulka 2 Hodnocení mikrobiálních obrazů poševních podle Jírovce, Petera, Málka (Mašata a kol., 2004).

MOP	Mikroskopický nález
I. (fyziologický)	Döderleinovy tyčky (laktobacily), epitelie, hlen
II. (nehnisavý)	smíšený obraz tyčinek a koků, leptotrichie, mobilunci (vibria), ojedinělé leukocyty a epitelie, bez laktobacilů
III. (hnisavý)	záplava kokoidních bakterií a leukocytů, laktobacily chybí, epitelii málo nebo chybějí
IV. (kapavčitý)	záplava leukocytů s nálezem diplokoků, laktobacily chybí, epitelii málo nebo chybějí
V. (trichomonádový)	<i>Trichomonas vaginalis</i> , smíšená bakteriální flóra, leukocyty, málo epitelii
VI. (kvasinkový)	oválná tělíška blastospor nebo mycelia, smíšená bakteriální flóra, hojné epitelie

Hodnocení mikroskopického preparátu

Mikroskopické zhodnocení poševního sekretu může poskytnout lékaři užitečné informace o patologii poševního prostředí, tedy další současné informace o výskytu zánětu. Díky nahlédnutí pod mikroskop a následnému vyhodnocení preparátu, může být dodatečně nastíněna diagnóza týkající se spojitosti mezi klinickými projevy zánětu, a hodnocením ze strany mikrobiologa. Hodnocení mikroskopického preparátu je specifikováno v tabulce č. 3. Toto hodnocení může pomoci k definitivnímu určení kauzálního agens. Představuje cenný zdroj informací, protože umožňuje lékaři rychlou orientaci v poševním terénu, a to následně vede ke včasnému zahájení správné terapie (Špaček a kol., 2013).

Tabulka 3 Vybraná kritéria hodnocení mikroskopického preparátu (Špaček a kol. 2013)

Položka	příklad/poznámka
velikost a tvar mikroba	<ul style="list-style-type: none"> • kulovité nebo tyčinkovité bakterie < 2 µm • ovoidní až protáhlé kvasinky • pravé nebo nepravé (pseudo) vláknité formy kvasinek
barvení mikroba	v případě Grama upřesňuje identifikaci bakterií, zviditelňuje kvasinky, včetně vláknitých forem
množství mikrobů	v závislosti na druhu projev přirozené, atypické nebo patologické mikrobioty
přítomnost leukocytů přítomnost epitelů	příznak zánětu (počítá se v zorném poli objektivu 40x a okuláru 10x; celkové zvětšení 400x) množství a stav estrogenizace, nezralé formy (atrofická vaginitida)
atypické buňky/ struktury	<ul style="list-style-type: none"> • klíčové buňky (bakterie adheované na epitel u BV) • parazitární buňky (aerobní vaginitida) • jádra epitelů (cytolytická vaginóza) • intracelulárně pohlcené bakterie (gonokoky) • chlamydiové inkluze

3.1 Záněty zevního genitálu

Vulva je pro své umístění, kdy sousedí s konečníkem, pochvou a močovou trubicí, vystavena působení infekce mnohem více než jiné části těla. Záněty zevních rodidel (vulvitidy) vznikají častěji v dětském věku a ve stáří. Mohou být způsobeny mechanickým poškozením epitelu, např. škrábáním při svědění (*pruritus vulvae*), které je způsobené potem u obézních žen nebo oxyuriázou u dětí. K zánětu může vést jak nedostatečná hygiena, tak i nadměrné používání mycích prostředků (Mašata a kol., 2004; Kobilková, 2005). Ženy postižené zánětlivým onemocněním vulvy trpí nepříjemným pálením při močení (pseudodysurie), potížemi při pohlavním styku nebo zde může nastat úporné svědění zevních rodidel (Citterbart a kol., 2001).

Impetigo

Toto onemocnění je způsobeno hemolytickými streptokoky nebo bakteriemi rodu *Staphylococcus* (Pereira, 2014). Onemocnění se projevuje tenkostěnnými puchýřky se zarudlým okrajem, které se po ruptuře mění v krustu. Impetigo je časté u dětí, u kterých postihuje především obličej, ruce a vulvu. Je doporučena izolace pacienta, incize a aseptické odstranění krust s antiseptickým oplachováním a lokální aplikací bacitracinu či neomycinu (Kobilková, 2005).

Folikulitida, furunkulóza, flegmóna

Záněty vulvy bakteriálního původu mohou probíhat ve formě ohraničené (folikulitida, furunkulóza) nebo neohraničené (flegmóna). Kůže vulvy je rudá a na dotek citlivá. Termín furunkl se označuje jako zánět vlasového váčku s hnisavou čepičkou na povrchu. Pokud je zánět infiltrován do hlubších vrstev podkožní tkáně, tvoří plošné bolestivé zduření, které se nazývá flegmóna (Itzhak, 2008).

Erysipel

Erysipel je kožní onemocnění, které vzniká napadením lymfatických povrchových cév β -hemolytickými streptokoky. Vulvální erysipel je vzácné onemocnění, které se může vyskytovat po traumatu nebo chirurgickém výkonu na vulvě. V případě erysipel dochází k zarudnutí vulvy, které je doprovázeno příznaky, například třesavkou, malátností a teplotou (Sunderkötter, Becker, 2015).

3.2 Zánět pochvy

Záněty vaginální jsou způsobeny nejen přítomností patogenních mikroorganismů, ale také oslabením samotného imunitního systému. Vliv na často opakované vaginální záněty má i složení bakteriální mikroflóry střeva. Důležitou roli zde může mít *Escherichia (E) coli*. Tato uropatogenní bakterie vyskytující se fyziologicky ve střevní mikroflóře, může kolonizovat vaginální sliznici v době, kdy je zvýšené pH okolí. Změna pH prostředí vede k adherenci *E. coli* k epiteliálním buňkám sliznice, jenž dále vede k zánětlivé reakci. V takovémto případě je nezbytné složení střevní mikroflóry upravit a následně posílit celkovou imunitu (Gaffney, Venegas, 1995).

Pokud je množství fyziologicky vyskytujících se mikrobů v pochvě sníženo, jedná se o stav vaginální dysmikrobie. Při tomto stavu je velmi vhodná doba pro přemnožení jiných mikroorganismů, což vede k zánětlivému onemocnění pochvy. Tento stav může nastat například při používání antibiotik, cílených na záněty vývodných cest močových a močového měchýře. Je dnes známo mnoho přípravků, které může žena použít, aby předešla této situaci. Používají se především probiotika s obsahem laktobacilů na obnovu fyziologické mikroflóry. Tyto přípravky zabraňují růstu patogenním organismům a zmírňují obtíže, spojené s výše zmíněnou dysmikrobií (např. svědění, pálení, výtok, zápach) (Dostálová, 2012).

Pro prevenci vaginální dysmikrobie jsou určeny přípravky intimní hygieny, ve formě vaginálních výplachů, gelů a globulí k zevnímu použití nebo ve formě intimních mýdel a gelů, které jsou určeny pro oplach zevních rodidel (Slíva a kol., 2012).

Bakteriální vaginóza

Bakteriální vaginóza (dále BV) je zjištěna u 40-50 % žen s výtokem (Hay, 2010). Za hlavní příčinu vzniku bakteriální vaginózy, byla považována *Gardnerella vaginalis*. Bylo poté zjištěno, že *G. vaginalis* je v pochvě přítomna u 40-60 % žen bez BV a přetrvává i po úspěšné léčbě (Hay, 2010). Toto onemocnění je charakterizováno poklesem aerobních laktobacilů, vzestupem anaerobních laktobacilů a obligátních anaerobů, gardnerel a mykoplasmat a převážně anaerobních bakterií, *Bacteroides sp.*, peptostreptokoků a *Mobiluncus sp.* (Rampersaud, et al., 2012). Bakteriální vaginóza je tedy stavem polymikrobiálním, při kterém se zvyšuje poševní pH, klesá počet laktobacilů a 100násobně i mnohokrát více se zvyšuje koncentrace jiných mikroorganismů.

Poševní pH je vyšší než 4,7, jsou zde přítomny klíčové buňky (clue cells) a test KOH je pozitivní (rybí zápach). Klíčové buňky (clue cells) jsou dlaždicové epiteliie, na okraji a na povrchu jsou nalepeny četné bakterie tak, že lze obtížně posoudit jejich strukturu (jsou jako zasypané pískem) (Kobilková a spol., 2005).

V současné klinické praxi je metodou volby lokální a systémová antibiotická léčba. V obou případech jsou preferovány přípravky obsahující metronidazol nebo klindamycin. Nadějnou lokální léčbu BV představují vaginální tablety obsahující dequalinium hydrochlorid (znám pod názvem Naxyl). Jedná se o antimikrobiální látku ze skupiny kvartérních amoniových solí (Špaček a kol., 2013).

Aerobní vaginitida

Aerobní vaginitida je popisována Mašatou a Poislovou (2010) jako vzácné infekční onemocnění, které většina lékařů nedokáže správně diagnostikovat. Podle současných poznatků je aerobní vaginitida jednou z forem bakteriálního zánětu pochvy, který je odlišen od bakteriální vaginózy. Hlavním vyvolavatelem jsou aerobní bakterie, a to především streptokoky skupiny B, *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli* (Cha, Wu, a kol., 2015). Tato infekce má nezávažnější formu, která se projevuje jako deskvamační zánětlivá vaginitida. Donders (2010) uvádí, že aerobní vaginitida může být také příčinou chorioamnionitidy a předčasného odtoku plodové vody.

Stejně jako u bakteriální vaginózy, i zde se prokazuje zvýšené pH (nad 4,6), aminový test je negativní. U nativního mikroskopického vyšetření není zaznamenána přítomnost klíčových buněk ani laktobacilů. Lze zde vidět četné zastoupení leukocytů.

Léčba dosud není standardizovaná. Sobel (1994) doporučuje 14denní cyklus lokální aplikace klindamycinu ve formě 2% krému, kdy je třeba každý večer aplikace 5 g. Ve své studii popisuje 30% výskyt relapsů. Pro znovuoobnovení poševní mikrobioty je doporučena lokální aplikace estrogenů. Estrogen zvýší kolonizaci laktobacilů.

Vulvovaginální kandidóza

Typicky prezentující podmíněný patogen zodpovědný za vznik kandidózy (kvasinkové infekce pochvy) je kvasinka *Candida albicans*. Zvýšená nabídka cukru (diabetes mellitus) a snížená imunitní obranyschopnost ženy, napomáhají rozvoji onemocnění (Citterbart a kol., 2001).

Předpokládá se, že 75 % žen v reprodukčním věku prodělalo alespoň jednou za život ataku vulvovaginální kandidové infekce. *Candida albicans* (C.) je druhým nejčastějším vyvolavatelem poševních infekcí a jejich výskyt je v poslední době nápadně zvýšen (Sobel, 2007). Kromě *Candida albicans* se na infekci podílejí i druhy tzv. non-albicans (*C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. crusei*, *C. parapsilosis*), jejich zastoupení ve vzorcích pacientek s vulvovaginitidou znázorňuje tabulka č. 4.

Nejen výše zmíněné osídlení mnoha mikroby je rizikovým faktorem pro vznik kandidózy. Dalšími rizikovými faktory jsou např. neléčené onemocnění *diabetes mellitus*, těhotenství, antibiotická léčba, léčba kortikoidy, přiléhavé syntetické spodní prádlo, terapie estrogeny, zvýšená frekvence pohlavních styků, pohlavně přenosné choroby, kontracepce (IUD, houbička, monoxynol, hormonální antikoncepce s vysokým obsahem estrogenů, pesar) (Horák, 2017).

Tabulka 4 Zastoupení jednotlivých druhů kvasinek ve vaginálních výtěrech pacientek s vulvovaginitidou (J. Julák, 2006)

Kvasinka	Zastoupení (%)
<i>Candida albicans</i>	75
<i>Torulopsis glabrata</i>	15
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3
<i>Candida stellatoidea</i>	2
<i>Candida tropicalis</i>	1
<i>Candida parapsilosis</i>	1
<i>Torulopsis holmi</i>	1
<i>Torulopsis inconspicua</i>	1
<i>Rhodotorula sp.</i>	1

Pro terapii těchto komplikací se používá celá řada lokálních antimykotik. Mezi nejčastěji používané řadíme azolová antimykotika s účinností 85-95 %. Ke zmiňovaným azolovým preparátům patří miconazol, clotrimazol, econazol, terconazol, butoconazol a jiné. Dalším vysoce účinným přípravkem pro léčbu kandidózy jsou perorální antimykotika. V České republice jsou dostupné dva preparáty, fluconazol (jednorázově 150 mg) nebo itraconazol (jednorázově 400 mg) (Doležal a kol., 2006).

Poševní laktobacilóza

Onemocnění popsané v roce 1994 Horowitzem a kol. má cyklický charakter. Laktobacilóza je provázena výtokem, který je spojen se svěděním, pálením a podrážděním zevních rodidel. Objevuje se během 7-10 dní před počátkem menstruace. Výtok dosahuje maxima těsně před menstruací, bývá hustý, bělavý, krémovitý nebo tvarohovitý. Po menstruaci obtíže vymizí a opět se obnoví před dalším počátkem ženského cyklu. Je tedy zřejmé, že poševní laktobacilóza navazuje na počátek menstruace. Bez léčebného zásahu obtíže s výtokem přetrvávají a spontánně nemizí. V nátěrech lze prokázat dlouhé filamentózní organismy, které jsou dobře viditelné v nativním preparátu (Mašata a kol., 2004). Pokud jsou zmíněné dlouhé filamenta viděna při vyšetření pod mikroskopem, mohou být mylně zaměněny za mycelia kandid. Organismy zachycené při laktobacilóze mají délku v průměru 60 µm (od 40 do 70 µm). Za průměrnou délku laktobacilů u zdravých žen je dána hodnota kolem 10 µm (5 až 15 µm).

Až 97 % přítomných anaerobních laktobacilů způsobuje svými glykolytickými proteolytickými fermenty rozpad buněčné membrány (cytolýzu). Všechny druhy laktobacilů jsou podobně citlivé na léčbu antibiotiky. První volbou pro výhru nad poševní laktobacilózou jsou penicilinová antibiotika (ampicilin, penicilin, amoxicilin), klindamycin a doxycyklin. Léčebným postupem bývá sedmidenní aplikace ampicilinu 4x500 mg nebo amoxicilinu 3x500 mg (Ventolini a kol., 2014).

Cytolytická vaginóza

Cytolytická vaginóza je relativně méně frekventovaný syndrom atypické mikroflóry. Tento stav nespočívá v úbytku laktobacilů, ale v jejich atypické morfologii, která je spojená s extrémní acidifikací poševního prostředí. Acidifikace nastává při menstruaci v luteální fázi. Cytologická vaginóza se od poševní laktobacilózy liší počátkem nástupu klinických projevů. U poševní laktobacilózy jsou klinické projevy zaznamenány na počátku menstruačního cyklu. Cytolytická vaginóza se objevuje v menstruačním cyklu ve fázi luteální. V této fázi převládá nízké pH (3,5-4,5). Následkem cytolytické vaginózy je rozrušení epitelů a přítomnost velkého počtu cytoplazmatických zbytků a jader. Cytologická vaginóza (dříve nazývaná Doderleinova cytolýza nebo syndrom přerůstání laktobacilů) má podobné příznaky jako kandidová infekce (pálení, bělavý výtok, pruritus) (Suresh a kol., 2009).

V odebraném materiálu můžeme pozorovat velké zastoupení protáhlých laktobacilů. Poševní obraz zde do určité míry může být zaměnitelný s vulvovaginální kandidózou. V tomto případě je kladen důraz na správné provedení mikroskopického vyšetření.

Pro léčbu je vhodné použít výplachy bikarbonátem sodným (30-60 g na 1 l teplé vody) 2 až 3krát v první a jedenkrát ve druhém týdnu po ovulaci (Cibley, 1991).

Trichomoniáza

Trichomoniáza se řadí do žebříčku k celosvětově nejčastějším sexuálně přenosným nemocem. Předpokladem celosvětového výskytu je 180 milionů případů ročně. Trichomonády vyvolávají zánětlivou infekci pochvy a na oblast děložního hrdla. *Trichomonas vaginalis* je pohyblivý 10-20 µm velký ovoidní prvek s anaerobním protozoárním organismem. Tento prvek opatřený bičíkem, dodávající pohyb, je přenosný sexuálním stykem, a to častěji z muže na ženu. Kobilková (2005) ve své studii uvádí časový interval onemocnění, kdy za 48 hodin po pohlavním styku onemocní přibližně 70 % mužů a 85 % žen. Trichomonády mají v oblibě pro svůj růst a množení nejen anaerobní podmínky, ale i zvýšenou koncentraci iontů železa, které jsou obsaženy ve velkém množství v menstruační krvi. Přestože se jedná o anaerobní organismy, mohou trichomonády přežívat po velmi krátkou dobu i ve vlhkém prostředí (např. toaletní sedátko, kohoutková voda, bazén). Nákaza je přenosná i tělesnými sekrety (moč, sperma, vaginální sekret).

Všechny pacientky a jejich sexuální partneři, u kterých je diagnostikována trichomonádová infekce, by měli být léčeni. Základem pro léčbu jsou 5-nitroimidazolové preparáty. V České republice jsou k dispozici dva nitroimidazolové preparáty, metronidazol a ornidazol. Metronidazol je doporučován v jednorázové perorální dávce 2 g (Mašata, Jedličková a kol.,2004).

Mykoplasmové infekce urogenitálního traktu

Mykoplasmové infekce urogenitálního traktu jsou častokrát sdruženy s jinými bakteriálními onemocněními, a to především s infekcemi vyvolanými *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoea* a *Streptococcus agalactiae*. Do známých patogenních druhů můžeme zařadit *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium* a také *Ureaplasma urealyticum*. Tyto mikroorganismy se vyskytují u poloviny populace v urogenitálním traktu, tedy v uretře a ve vagíně, buď asymptomaticky, ve větším množství pak při zánětlivých onemocněních. Častými záněty jsou negonokokové uretritidy (NGO), méně často vyvolané salpingitidy (zánět vejcovodu) a endometritidy (Taylor-Robinson, 1996).

Rappelli a kol. (2005) zkoumali patogenezi a dynamiku *M. hominis*. Uvádí, že tento mikroorganismus může přežívat a replikovat se v buňce *Trichomonas vaginalis*. V tomto symbiotickém vztahu bylo zjištěno, že přítomnost *M. hominis* může zvýšit virulenci *Trichomonas vaginalis*. Důkazem je přítomnost *M. hominis* při trichomoniáze (Fettweis a kol., 2014).

Druhy *Mycoplasma hominis* a *Ureaplasma urealyticum* jsou spojeny s celou řadou nežádoucích stavů těhotných žen. U gravidních žen mohou tyto mikroorganismy přispět k předčasnému porodu, k chorioamnionitidě a poporodní endometritidě. U novorozence se může vyvinout pneumonie, bakteriémie, meningitida, abscesy a chronické onemocnění plic (Waites a kol., 2005).

U. urealyticum bývá prokazováno ve vzorcích z urogenitálního traktu klinicky zcela zdravých osob. U žen to bývá dokonce až 80 % případů. *M. hominis* je prokázána u více než 50 % zdravých žen (Waites a kol., 2008). Druhy (*M. hominis* a *U. urealyticum*) jsou častěji přítomny u sexuálně promiskuitních osob. Ženy mohou být asymptomatickým rezervoárem (Holst, 1990).

V současné době je pro rychlou léčbu infekce užíván doxycyklin, z výběru moderních makrolidů to může být azitromycin nebo též klaritromycin. Pro terapii jsou účinná i chemoterapeutika, do kterých spadají fluorované chinolony IV. generace (Taylor-Robinson, 2014).

4. Přípravky intimní hygieny

Intimní hygiena ženy je velmi důležitá a hraje základní roli při ochraně a udržování rovnovážného pH vaginální flóry. Smyslem přípravků intimní hygieny je jednak ochránit ženu proti nepříjemným infekcím, zabránit vzniku neinfekčních výtoků a může poskytnout pocit čistoty. Mezi tyto přípravky patří gely, emulze, hygienické ubrousky, čípky a ostatní pomůcky pro bezpečnou ochranu po dobu menstruačního cyklu a těhotenství (Hawkins,2015).

Přiměřené používání intimních přípravků

Pohlavní ústrojí ženy má velmi dobré samočistící schopnosti, a proto by hygiena měla být přiměřená. Nelze dezinfekčním ani antimikrobiálním intimním přípravkům zcela upřít jejich kladnou pomocnou funkci, ale jako s každým léčebným či preventivním přípravkem, i zde by se nemělo s hygienou přehánět. Nadměrná hygiena hubí i přirozeně se vyskytující bakterie, a to má poté za následek změnu poševního pH, tento stav dává možnost průniku bakteriím z vnějšího prostředí, jejich přemnožení, kolonizaci a vznik dané infekce. Nejpřirozenější cestou je mytí se vodou nebo k intimní hygieně vhodně zvolenými přípravky (Koliba, 2013).

Není příliš snadné zvolit optimálně vhodný přípravek, aby neobsahoval chemická barviva, povrchové aktivní látky (tenzidy) ani konzervační látky. Jeden takový výrobek může být například speciální mycí olej pro intimní hygienu, který je hydrofilní, nenarušuje pH sliznice a jemně a účinně ji čistí. Éterické oleje mají své uklidňující a protizánětlivé účinky, které působí přímo na citlivé místo. Pokud jsou všeobecně intimní přípravky pravidelně používány (i dle doporučení gynekologa) přispívají k optimalizaci funkce sliznice a pomáhají k udržení rovnováhy symbiotických mikroorganismů (Kotrbová, 2007).

Přípravky proti kvasinkovým infekcím

Pro zvýšení odolnosti poševní sliznice vůči kvasinkám, je zdárnou cestou podpora symbiotických mikrobů a to tak, že se použijí preparáty, ve kterých jsou obsaženy laktobacily. To mohou být například krémy nebo speciální poševní tablety, které jsou k dostání v lékárně. U tohoto případu infekce kvasinkou je možné použít i některý přípravek z řady éterických olejů s protiplísňovými účinky. To je dobré použít i jako doplňkovou léčbu a dále jako samotnou prevenci kvasinkových zánětů pohlavního ústrojí. Mezi často užívané produkty patří čajovníkové, bergamotové a levandulové éterické oleje. Jejich další výhodou je snadná

aplikace při lokálních koupelích. Oleje zabraňují dalšímu množení plísní a zklidňují podrážděnou sliznici (Fait, 2007).

5. Vaginální výplachy

Vaginální výplachy jsou běžným nástrojem při léčbě vaginální infekce na podkladě bakteriálního diskomfortu při změně pH. Jsou přednostně užívány pro antibakteriální (baktericidní) účinek a také pro jejich široké spektrum dalšího využití (např. po pohlavním styku, po návštěvě bazénu, v období menstruačního cyklu, v období menopauzy, po porodu v období šestinedělí, po gynekologickém zákroku, při běžné hygieně). Složení výplachu je různé dle výrobců, základem je alespoň jeden přírodní vonný přípravek a účinná složka. Prostředků užívaných jako výplachy je celá řada. Z vaginálních výplachů je vhodný výplach na bázi čistících a přírodních výtažků z heřmánku, růže a vilínu. Mezi takoveto přípravky řadíme například Melprotect – vodný roztok s obsahem propolisu, Rosalgin – prášek pro přípravu roztoku pro gynekologické použití a Aflovag, který je v balení přepraven k přímému použití. Účinná látka benzydamin hydrochlorid vyznačující se komplexním protizánětlivým, lokálně anestetickým a antimikrobiálním účinkem. Pomáhá obnovit přirozené prostředí pochvy a přímo účinkuje proti škodlivým mikroorganismům. Díky svému znečistlivujícímu účinku okamžitě odstraňuje pocity bolesti a svědění (Kestřánek a kol., 2008).

Ginexid vaginální výplach

Výrobek Ginexid od firmy Farma-Derma je k dostání ve formě roztoku, ve třech lahvičkách po 100 ml společně se třemi jednorázovými aplikátory. Tento vaginální výplach je založen na složkách přírodního původu, které respektují křehkou fyziologii sliznice, a především pomáhají udržovat správnou rovnováhu poševní bakteriální flóry. Dále má přípravek Ginexid navíc zklidňující účinky a snižuje pálení, svědění, bolest a podráždění. Jeho použití je při zánětech vulvy a pochvy. Indikuje se v případech nadměrného vaginálního výtoku, po užití lokální antikoncepce, dále je používán pro intimní hygienu, pro běžnou hygienu, k výplachu a odstranění zbytků poševně podaných léků. Může být použit i v období šestinedělí pro zevní oplach hráze (Axonia.cz., *Ginexid vaginální výplach* [online]).

Složení: Destilovaná růžová voda, destilovaná heřmánková voda, destilovaná vilínová voda, levandulová esence, chlorhexidin diglukonát, kyselina mléčná, kokamidopropyl betain, hydrogenovaný ricinový olej (40)OE, butyl (26)OE(26)OP.

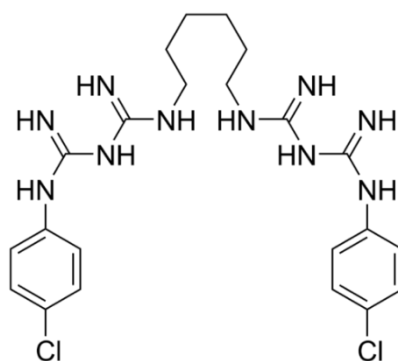
Účinnou látkou ve složení tohoto vaginálního výplachu je chlorhexidin (obrázek č.3). Chlorhexidin je chemické antiseptikum mající baktericidní účinek, tj. ničí grampozitivní a gramnegativní bakterie. Tato sloučenina patřící do skupiny kvartérních amoniových solí, má schopnost rozrušit buněčnou membránu a zastavit tak růst pozitivních i gram negativních bakterií, plísní i některých prvoků (Cassir, Thomas a kol., 2015).

Chlorhexidin není obsažen pouze ve výše zmíněném Ginexidu, ale můžeme se s ním setkat u ústní hygieny, kdy tvoří aktivní složku ústních vod (ničí zubní plak a jiné ústní bakterie) (Anderson a kol.,1997). Jeho další schopností je oslabovat adheenci mikroorganismů k podkladovému povrchu a bránit tvorbě růstu biofilmu. Přípravky na bázi chlorhexidinu se využívají při léčbě i prevenci onemocnění dásní (gingivitidy). Krom vnitřního použití, má toto antiseptikum i použití povrchové, a to pro obecné čištění kůže, k mytí rukou a pooperačního pole před chirurgickým zákrokem. Častěji se používá místo jodu, pro otření kůže před vpichem podkožní jehly (Sreenivasan a kol., 2002).

Galice a kol. (2006) testovali účinky chlorhexidinu na růst *Streptococcus agalactie* ATCC 13813 a na expresi cytolyzinu (tj. GBS β -hemolyzin). GBS β -hemolyzin je membránový toxin, který streptokok používá pro poškození lidských alveolárních epitelů a plicních kapilár endotelových buněk. V závěru bylo prokázáno, že chlorhexidin snižuje expresi bakteriálních faktorů virulence při 50% MIC. Důležité je, že tato minimální inhibiční koncentrace chlorhexidinu je schopna měnit parametry bakteriální virulence a může být užitečná při terapeutické aplikaci.

K záznamu účinků chlorhexidinu na kmen *Escherichia coli* byla použita tříelektrodová elektrochemická impedanční spektroskopie (EIS). Cílem bylo zachytit kinetiku chlorhexidinu při inhibici adheze bakterie na pevný povrch. Výsledek potvrdil, že chlorhexidin má antibakteriální účinky, které se podílejí na zastavení tvorby biofilmu (Borghol a kol., 2011).

Byly zkoumány účinky antibakteriální ústní vody s obsahem chlorhexidinu diglukonátu na aktivitu kmene *Candida albicans*, představující patogenní agens při tvorbě ústní kandidózy. *Candida albicans* byla získána z orálních izolátů od kuřáků, diabetiků, astmatiků užívajících steroidní inhalátory, od nositelů zubních protéz a od zdravých jedinců. Výtěr z úst byl testován přidavkem tří různých koncentrací chlorhexidinu. Ve výsledku testování bylo zjištěno, že chlorhexidin dokáže potlačit růst ústní kandidy a inhibovat tvorbu fosfolipázy (Ellepola a kol., 2014).



Obrázek 3 Chlorhexidin (MYKHAL. Chlorhexidin [online]. [cit. 15.6.2017]. Dostupný na WWW: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Chlorhexidin>)

Evellgyn +

Přípravek Evellgyn, tekutá desinfekce, poskytuje rychlou pomoc u specifických a nespecifických zánětů pochvy a vulvy mykotického a bakteriálního původu.

Účinnou látkou, která je obsažena v tomto roztoku je chlorid sodný. Evellgyn je užíváný pro svoji rychlost účinku. Do 20 minut po výplachu odstraňuje nepříjemné svědění, pálení, pomáhá proti výtokům a odstraňuje zápach. Tento vaginální výplach působí nejen proti bakteriím a kvasinkám, ale podporuje hojení chronických i akutních defektů tkáně po chirurgických výkonech. Další možností, jak přípravek Evellgyn použít je jako prevence po návštěvě bazénů, po a před pohlavním stykem, po menstruaci, před a po operačním gynekologickém zákroku (epiziotomie, zavádění pesarů), v období šestinedělí nebo během léčby antibiotiky (SÚKL., *Evellgyn roztok*, [online]).

Složení: voda 98,9%, kyselina chlorná 0,03%, chlornan sodný 0,03%, chlordioxid 0,001%, chlorid sodný 0,1 %.

McDonnell a kol. (1999) popisují činidla uvolňující chlór, která jsou obsažena v přípravku Evellgyn. Z těchto činidel byly popsány funkce chlornanu sodného, jehož roztok se používá pro dezinfekci tvrdých povrchů (bělidlo) a k likvidaci spor.

Vynikající chemické, fyzikální a antimikrobiální vlastnosti látek uvolňujících chlór popisují ve své studii Masaadeh a kol. (2009). Testovali účinky chlornanu sodného na *Escherichia coli* (ATCC 25922) a zjistili, že chlor uvolněný z chlornanu sodného má na testovaný mikroorganismus baktericidní účinek.

Kyselina chlorná obsažená v přípravku Evellgyn byla testována Dukanem a spol. (1996) na bakteriálním kmenu *E. coli*. Zjistili, že kyselina chlorná přímo narušuje strukturu bakteriální DNA. Dále se zabývali mutagenními účinky kyseliny chlorné v pitné vodě. Zjistili, že některé kmeny *E. coli* mohou být na kyselinu chlornou rezistentní, a to díky přítomnosti genů kódující rezistenci na peroxid vodíku.

Rosalgin

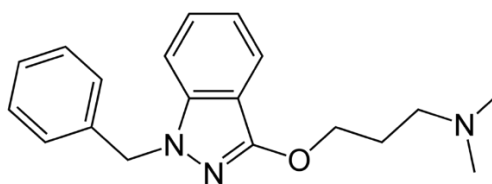
Rosalgin se používá k výplachům pochvy a oplachům zevních rodidel při zánětlivých onemocněních ženského pohlavního ústrojí a také k běžné ženské hygieně. Roztok je aplikován prostřednictvím Rosalgin irigátoru pro gynekologické použití. Tento výplach je určen k léčbě zánětlivých projevů (mikrobiálního, chemického a fyzikálního původu) pochvy, zevní části ženského pohlavního ústrojí a děložního hrdla. Dále je tento přípravek používán před a po operačním gynekologickém zákroku. Roztok je ženami využíván pro běžnou hygienu intimních partií a pro hygienu během šestinedělí. Tento pomocný přípravek je určen pro ženy starších 15 let (Pribalovy-letak.cz., *příbalový leták ROSALGIN* [online]).

Složení: Granula přípravku Rosalgin obsahují léčivou látku benzydamini hydrochloridum (500 g v 1 sáčku). Jako pomocné látky jsou zde cetrimonium-tosylát, povidon a chlorid sodný.

Účinky vaginálního výplachu Rosalgin, ve kterém je obsažena látka benzydamini hydrochlorid (obrázek č. 4.) jsou dokumentovány řadou klinických studií s více než 30 lety klinickými zkušenostmi. Benzydamini nachází své uplatnění jak v léčbě klinicky definovaných zánětlivých stavů, tak i při preventivním použití v rámci běžné hygieny. Klinické studie popisují jeho velmi rychlý účinek u vaginálních infekcí vyvolaných kandidami a trichomonádami s velmi příznivým ovlivněním lokálního diskomfortu již po první aplikaci (Lévy, 1987).

Pullé a Sturlese (2002) sledovali působení benzydaminu ve formě vaginálního výplachu u šestnácti žen s vaginitidou. Třetí den léčby došlo k potlačení subjektivních příznaků (svědění, pálení), ale i k potlačení příznaků objektivních (edém, erytém, exudace).

Denton a kol. (2003) ve své práci popisuje využití benzydaminu k léčbě akutních symptomů doprovázejících radiační léčbu v oblasti pánevní. Dále lze benzydamini využít k léčbě zánětu děložního čípku (Ventolini, Villa, Guerra, 1987).



Obrázek 4 Benzydamin (Benzydamine [online]. [cit. 15.6.2017]. Dostupný na WWW:
<https://en.wikipedia.org/wiki/Benzydamine>)

Aflovag

Vaginální výplach Aflovag je vyráběn z přírodních výtažků heřmánku, růže a vilínu (hamamelis). Tento přípravek je určen pro hygienické doplnění, tedy pro běžnou hygienu (1-2 výplachy týdně), dále pro intimní hygienu na konci menstruace, při nadměrném zvýšení poševního výtoků, po užití lokální antikoncepce, k výplachu a odstranění zbytků poševně podávaných léků a v období šestinedělí. Důležité je nejen informace o tom, že Aflovag má zklidňující účinky a snižuje překrvení, je vhodný i jako léčebný doplněk pro problematiku specifických i nespecifických zánětů vulvy a pochvy s kombinací lékařem doporučených léčiv. Přípravek obsahuje také kyselinu mléčnou, která se podílí na udržování přirozeného pH (Axonia.cz., *Aflovag intimní výplach a oplach*, [online]).

Složení: destilovaná růžová voda, destilovaná heřmánková voda, levandulová esence, destilovaná vilínová voda, kyselina mléčná, chlorhexidin diglukonát, kokamidopropyl betain, butyl (26)OE(26)OP, hydrogenovaný ricinový olej (40)OE.

Antibakteriální účinek chlorhexidinu je závislý na dávce. Chlorhexidin v nízkých koncentracích (0,02 % až 0,06 %) má bakteriostatickou aktivitu. Zatímco ve vyšších koncentracích (> 0,12 %) působí bakteriocidně (Jenkins a kol., 1988). Chlorhexidin je kationtová molekula, která se nespecificky váže na záporně nabitě membránové fosfolipidy bakterií. Při nízkých koncentracích ovlivňuje chlorhexidin změnu osmotické rovnováhy bakteriální buňky. To má za následek uvolňování draslíku, fosforu a dalších iontů (Karpiński a kol., 2015).

Při vysoké koncentraci chlorhexidinu nastává cytolýza, buněčná smrt. Cytolýzou se uvolní veškeré buněčné komponenty včetně nukleotidů. Dále dochází k nevratným změnám buněčného povrchu s modifikací strukturních proteinů bakterie (Varoni a kol., 2012). Chlorhexidin má silnou biocidní aktivitu především proti grampozitivním bakteriím, slabou aktivitu projevuje v reakci s gramnegativními bakteriemi (Emilson a kol., 1977). Je také aktivní proti kvasinkám a některým dermatofytům (Machado a kol., 2011).

Clogin vaginální výplach

Clogin je vaginální přípravek s pH 4,5 a kyselinou boritou. Výplach obsahuje koncentrovaný výtažek z čajovníku australského (Tea tree) (terpinem-4-ol), kyselinu hyaluronovou a gel z Aloe vera. Tento vaginální výplach od italského výrobce Sakura Italia je indikován jako doprovodná léčba k lokálním lékům (čípky, krémy, vaginální gely) při vaginálních problémech, především u vaginálních mykóz. Zároveň může být užit k intimní hygieně v případě dlouhodobě užívaného vaginálního pesaru (např. při poklesu dělohy, močové inkontinenci, prolapsu dělohy, oslabení svalů pánevního dna apod.) (Axonia.cz., *Clogin vaginální výplach*, [online]).

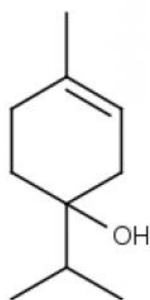
Složení: kyselina boritá, glycerol, terpinen-4-ol (výtažek z oleje čajovníku australského; *Melaleuca Alternifolia*), gel z Aloe vera, destilovaná voda z měsíčku lékařského, imidazolidinyl urea, sodná sůl metylparabenu, dvojsodná EDTA, kyselina mléčná, voda, sodná sůl karboxymethylcelulózy, polysorbát 20, hyaluronan sodný, Crema free CP1771C.

Součástí preparátu Clogin je výtažek z *Melaleuca alternifolia* neboli Kajeput střídavolistý, jehož listy obsahují olej, právě tento olej je proslulý svými antibakteriálními a fungicidními vlastnostmi (K. A. Hammer, C. F. Carson, T. V. Riley, 2004).

V oleji se nachází množství terpenoidních látek např. terpinen-4-ol (obrázek č. 5), pinen, cymen, cineol, thujen, terpinolen, sabinen, aromadendren, myrcen, α -phellandren, viridifloren, α -terpinen, α -terpineol, limonen, δ -cadinen nebo β -phellandren.

Francesco De Seta a kol. (2009) testovali účinky kyseliny borité, která je obsažena v testovaném přípravku Clogin. Kyselina boritá má dle testování na druh *Candida albicans* antifungální účinky. Mechanismus jejího účinku spočívá v inhibici metabolismu a virulence testovaného mikroorganismu.

Gel z Aloe vera je zastoupen ve složení testovaného přípravku Clogin. Alemdar a kol. (2009) testovali antibakteriální účinek šťávy z Aloe vera. Účinnost Aloe vera byla testována na kmenech *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* a *Candida albicans*. Bylo zjištěno, že šťáva z Aloe vera působí inhibičně pouze na grampozitivní bakterie. Testovaný kmen *C. albicans* byl na šťávu z Aloe vera nejvíce citlivý.



Obrázek 5 Terpinem-4-ol (EXTRASYNTHESE. Terpinen-4-ol [online]. [cit. 15.6.2017]. Dostupný na WWW: <https://www.extrasynthese.com/terpinen-4-ol.html>)

PRAKTICKÁ ČÁST

6. Materiál

6.1 Testované kmeny

Antibakteriální účinky přípravků intimní hygieny, byly testovány na referenčních kmenech, které jsou uvedeny v tabulce č.5.

Tabulka 5 Testované kmeny

Testované mikroorganismy	
Název	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213
<i>Streptococcus agalactiae</i>	CCM 6187
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231

6.2 Testované přípravky

Testováno bylo pět intimních přípravků – vaginálních výplachů, které je možné zakoupit bez lékařského předpisu. Číslo šarže každého přípravku a výrobce, jsou uvedeny v tabulce č.6.

Tabulka 6 Testované přípravky intimní hygieny

Testované vaginální výplachy		
Název přípravku	Číslo šarže	Výrobce
AFLOVAG	5A08	Farma-Derma s.r.l.
GINEXID	6A10	Farma-Derma s.r.l.
ROSALGIN	6477	Fine Foods & Pharmaceuticals N.T.M. S.p.A.
EVELLGYN	20162706	NewWaterMeaning s.r.o
CLOGIN	7058	SakuraItalia

7. Přístroje a pomůcky

Přístroje

Termostaty (BT 1E20 MR, EcoM s.r.o. Polná), digitální váhy (Kern), autokláv (STERILAB BMT), chladnička, plynový kahan, mrazicí box, počítačka eCount, třepačka (IKA MS3 basic), denzitometr (DEN-1B, MF – Units)

Pomůcky

Skleněné zkumavky se silikonovými špunty, automatické pipety (BioHit), špičky, skleněné Petriho misky, Erlenmayerovy baňky, odměrné válce, skleněné nádoby, železné stojany

8. Složky pro přípravu kultivačních médií

Pro kultivaci a následné testování byly použity tyto pevné a tekuté půdy:

BHI (Brain Heart Infusion) bujón (č. š. - 140607), výrobce-firma HiMedia

Pro přípravu tohoto tekutého média bylo naváženo 7,4 g BHI do 200 ml destilované vody, ponecháno v baňce a následně sterilizováno v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Bujón byl dále uchováván po určitou dobu v chladničce při teplotě 4 °C, nejdéle tři týdny.

Složení BHI bujónu: telecí mozková infuse, infuse z hovězího srdce, proteosový pepton, chlorid sodný, hydrogen fosforečnan (di)sodný a dextrosa.

MALT agar (č. š. - 145784), výrobce-firma HiMedia

Bylo naváženo 9 g MALT do 200 ml destilované vody a zahříváno do úplného rozpuštění. Připravovaný agar byl sterilizován v autoklávu při 118 °C po dobu 15 minut. Po zchladnutí jsme agar nalávaly do sterilních Petriho misek. Takto byla půda skladována v chladničce při teplotě 4 °C.

Složení MALT agaru: sladový extrakt a agar.

TSA agar (Trypton sójový agar) (č. š. - 220319), výrobce-firma HiMedia

Bylo naváženo 8 g TSA a převedeno do Erlenmaeyrovy baňky s 200 ml destilované vody. Rozpuštěný agar byl poté sterilizován v autoklávu. Po ochlazení TSA na pokojovou teplotu, byl nalit do sterilních Petriho misek a uchován pro další použití v chladničce při teplotě 4 °C.

Složení TSA: Trypton, sója, chlorid sodný a agar.

Neutralizační činidlo (Eugonic LT 100 Broth Base w/o Tween 80) (M1517)

Pro přípravu neutralizačního činidla bylo naváženo 6,4 g tohoto činidla a převedeno do 200 ml destilované vody, obsahující 1 g polysorbátu 80 (RM159 Tween 80). Poté bylo činidlo dále sterilizováno v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

Složení neutralizačního činidla: enzymatický hydrolyzát kaseinu, sójový pepton, chlorid sodný, L-cystin, siřičitan sodný, glukosa, vaječný lecitin a Triton X-10.

Krevní agar (KA)

Pro přípravu krevního agaru jsme rozpustily 8 g Blood Agar Base No. 2 (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd. č. š. 147000) ve 200 ml destilované vody. Tento roztok byl dále sterilizován v autoklávu 15 minut při teplotě 121 °C. Po zchlazení roztoku na pokojovou teplotu, bylo do něj asepticky přidáno 10 ml beraní krve. KA byl rozlit do připravených sterilních Petriho misek, a po ztuhnutí byly misky s agarem uchovány při teplotě 4 °C v chladničce.

9. Testování antibakteriálního působení přípravků intimní hygieny

Při testování bylo postupováno v souladu s Českou technickou normou EN ISO 13697 a EN 13624. Testování bylo provedeno dle normy ZŘEĐOVACÍ NEUTRALIZAČNÍ METODOU. Tato metoda slouží především pro průkaz antibakteriálních účinků mýdel a výplachů při časové kontinuitě. Antibakteriální schopnosti výplachu (mýdla) jsou ovlivňovány koncentrací v daném místě působení, a s časem se tato koncentrace snižuje (ředí se daná látka). Výplach je po čase z místa působení vypláchnut, stejně tak i mýdlo, je postupně oplachováno a vymýváno. Čím déle je populace mikroorganismů vystavena účinku mikrobicidního činitele, tím více je mikrobiálních buněk zlikvidováno. Doba, po kterou antibakteriální prostředek působí, je označována jako doba expoziční. Ke spolehlivému výsledku je třeba taková expoziční doba, která sníží pravděpodobnost přežití 10^{-6} a méně mikrobů. Jelikož v každém časovém intervalu je usmrcen stejný podíl mikrobiální populace, je ke snížení většího počtu mikrobů třeba delší doby. Nárůst kolonií mikrobů může být tak mohutný, že z daného chemického prostředku vyváže jeho veškerou aktivní složku, tudíž se jeho účinnost sníží (Votava a kol., 2003).

Pro testování účinnosti intimního přípravku byl zvolen postup, kdy bylo použito ředění suspenze testovaných kmenů tak, aby výsledná koncentrace mikroorganismu byla 10^6 CFU. Ze zkumavky s touto koncentrací bylo pipetováno dané množství, a očkováno na plotnu s připravenou vhodnou půdou. Půda s naočkovaným mikroorganismem byla inkubována v autoklávu při 37 °C po dobu 24 hodin.

Testování antibakteriálních schopností intimních přípravků – metoda zřed'ovací – neutralizační

Přípravky: Bakteriální suspenze, testovaný přípravek (výplach), neutralizační činidlo (Eugonic LT 100 Broth Base w/o Tween 80), BHI bujón, sterilní voda, půda pro kultivaci (krevní agar, TSA agar).

Do připravené zkumavky byl pipetován 1 ml BHI bujónu, do téže zkumavky bylo přidáno 1 ml připravené suspenze testovaného kmene o koncentraci 10^8 . Tento roztok byl promíchán na třepačce a dále bylo k němu přidáno 8 ml testovaného intimního přípravku, tato směs byla opět promíchána a ponechána minutu v klidu. Připravena k dalšímu použití.

Do druhé zkumavky bylo pipetováno 8 ml neutralizačního roztoku a 1 ml sterilizované vody. Tato směs byla dále promíchána a k jejímu obsahu byl přidán 1 ml roztoku z první zkumavky (obsahující suspenzi testované kultury, BHI bujón a testovaný přípravek). Vzniklá směs byla inkubována 5 minut při laboratorní teplotě.

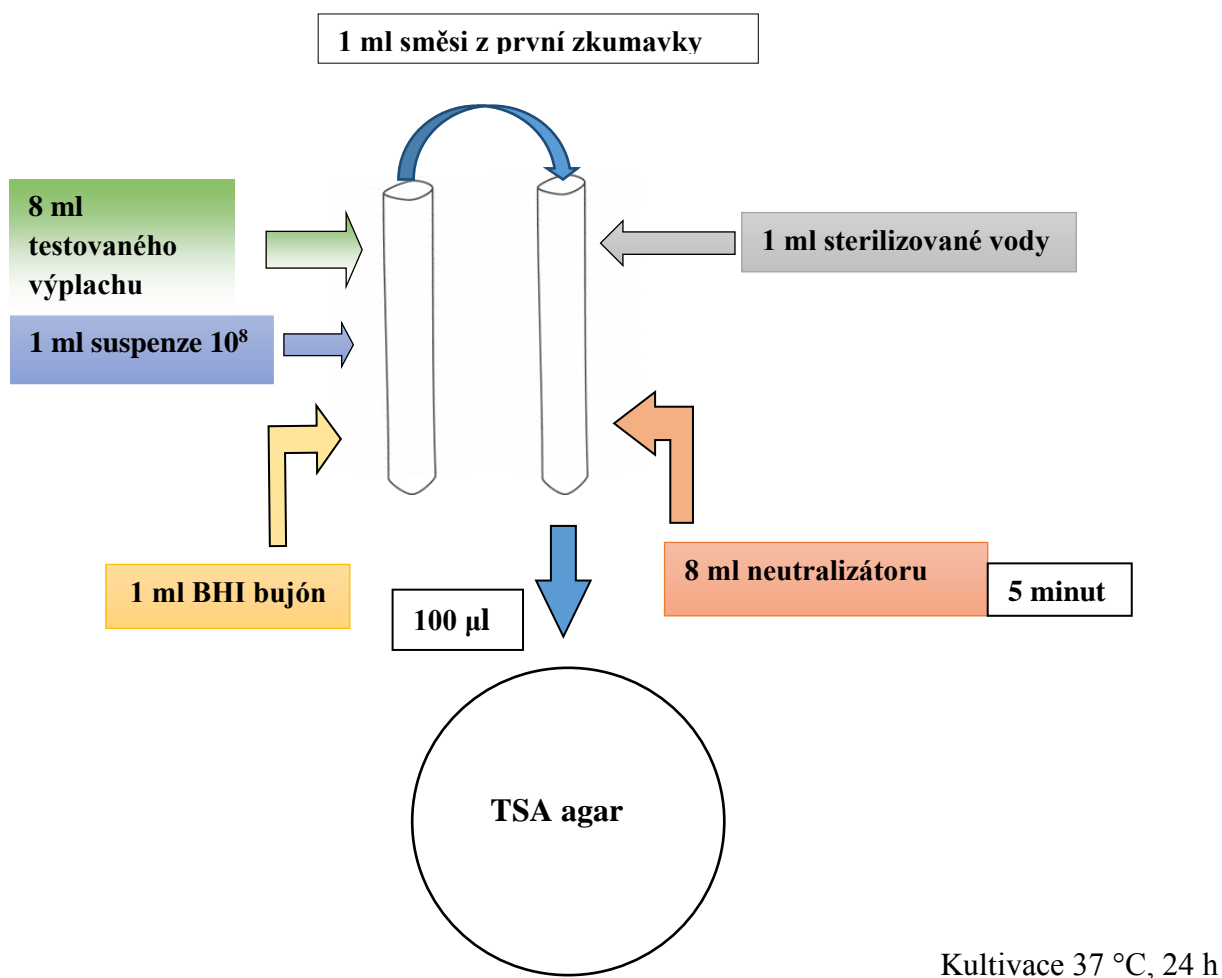
Z druhé zkumavky bylo 100 μ l napipetováno na kultivační médium a l-hokejkou rozetřeno. Plotna byla inkubována při 37 °C po dobu 24 hodin. Postup testování účinnosti intimních přípravků znázorňuje obrázek č.7.

Koncentrace připravené suspenze byla ověřena výpočtem cfu/ml prostřednictvím následujícího vzorce. Vypočítaná hodnota N udává počet přeživších buněk na 1 ml v testované suspenzi na konci kontaktní doby s testovaným přípravkem a před neutralizací.

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

- $\sum C$... 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 6 Výpočet cfu/ml (Česká technická norma EN ISO 13697)



Obrázek 7 Schéma testování vaginálních výplachů

Účinnost testovaných intimních přípravků byla zjišťována ověřením životaschopnosti mikroorganismů. Po dobu 24 h bylo možné zhodnotit pohledem na plotny, zda je či není zaznamenán nárůst kolonií daného mikroba. Počet kolonií narostlých na agarových médiích byl spočítán pomocí počítačky eCount. Za 24 h bylo možné hodnotit počet narostlých kolonií, mohly jsme se přesvědčit o postupném snížení růstu mikrobů, inhibici, jenž značí, že testovaný přípravek je účinný.

10. Výsledky a diskuze

Praktická část byla věnována testování antibakteriálního účinku pěti přípravků pro intimní ženskou hygienu. Testována byla citlivost pěti referenčních kmenů, *S. aureus*, *St. agalactiae*, *E. coli*, *P. aeruginosa* a *C. albicans*. Tyto mikroorganismy byly testovány na komerčně dodávané přípravky AFLOVAG, EVELLGYN, ROSALGIN, GINEXID a CLOGIN. Testování bylo prováděno metodou dle České technické normy EN ISO 13697 – Zředovací neutralizační metoda.

10.1 Testování přípravku Aflovag

V tabulce č.7, jsou uvedeny hodnoty cfu/ml testovaných mikroorganismů. Testovaný přípravek Aflovag inhiboval kmene *C. albicans*, *St. agalactiae*, *S. aureus* a *E. coli*. Odolnost k testovanému přípravku vykazoval kmen *P. aeruginosa*. Inhibice nárůstu kmene *P. aeruginosa* po naředění testovaným přípravkem byla $3,7 \times 10^7$ cfu/ml.

Tabulka 7 Antibakteriální účinek přípravku AFLOVAG na testované mikroorganismy

Testovaný přípravek	<i>S. aureus</i>	<i>St. agalactiae</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
AFLOVAG	<10 cfu/ml	<10 cfu/ml	<10 cfu/ml	<10 cfu/ml	$3,7 \times 10^7$ cfu/ml

Testovaný přípravek Aflovag obsahuje účinnou látku chlorhexidin. Chlorhexidin je Karpínskím a kol. (2015) popisován jako kationtová molekula, která se váže na záporně nabitě membránové fosfolipidy bakterií. Při nízkých koncentracích ovlivňuje chlorhexidin změnu osmotické rovnováhy bakteriální buňky. Účinkem chlorhexidinu jsou deformovány membránové proteiny bakteriální buňky a tímto mechanismem dochází ke změně propustnosti bakteriální buňky. Dlouhotrvající působení chlorhexidinu na bakteriální buňku vede k cytolyze.

Louise Thomas a kol. (2000) testovali odolnost kmene *P. aeruginosa* na stejnou účinnou látku. Jejich práce potvrzuje, že gramnegativní bakterie, zejména pseudomonády a *Proteus sp.* jsou na působení chlorhexidinu mnohem odolnější než bakterie grampozitivní. Práce předkládá vysvětlení odolnosti daného kmene na podkladě časové expozice, tj. čím déle látka na kmen působí, tím více se pseudomonáda dokáže přizpůsobit. Po delší době dochází u bakterie k progresivní mutaci, kdy se mění strukturní pozice lipopolysacharidů nebo fosfolipidů. Tímto mechanismem se bakterie brání před průnikem látky. Dalším předpokladem zvýšené odolnosti kmene, je existence tzv. efluxního mechanismu, který se nachází v intracelulárním prostoru buňky. Jeho funkcí je vytlačit baktericidní látku z vnitřního prostředí bakterie.

Antibakteriální aktivita chlorhexidinu proti grampozitivním bakteriím byla popsána Emilsonem a kol. (1977). Slabou aktivitu chlorhexidin projevuje při reakcích s gramnegativními bakteriemi.

Přípravek Aflovag byl testován v bakalářské práci Elišky Konopáčové (2015), a byl shledán účinným na testovaný kmen *Candida albicans* (CNCTC 49/64). I v tomto případě testování, byl produkt Aflovag účinný v reakci na *C. albicans* (CCM 8215).

10.2 Testování přípravku Evellgyn

Testované mikroorganismy *E. coli*, *C. albicans*, *St. agalactiae*, *S. aureus* a *P. Aeruginosa* byly přípravkem Evellgyn inhibovány. Výsledná hodnota všech testovaných kmenů byla <10 cfu/ml. Výsledné hodnoty účinnosti přípravku Evellgyn jsou zaznamenány v tabulce č. 8.

Tabulka 8 Antibakteriální účinek přípravku EVELLGYN na testované mikroorganismy

Testovaný přípravek	<i>S. aureus</i>	<i>St. agalactiae</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
EVELLGYN	<10 cfu/ml	<10 cfu/ml	<10 cfu/ml	<10 cfu/ml	<10 cfu/ml

Testovaný přípravek obsahuje aktivní látky jako je kyselina chlorná, chlornan sodný, oxid chloričitý a chlorid sodný. Veškeré výše uvedené sloučeniny se řadí mezi činidla uvolňující chlór (CRA). Kyselina chlorná má velmi dobrý antibakteriální účinek. Její vlastnosti popisují McKenna a Davies (1988). Kyselina chlorná narušuje svojí přítomností oxidační fosforylaci a jinou aktivitu spojenou s membránou buňky. Při testování kyselina chlorná plně inhibovala růst *E. coli*, kdy byla v průběhu 5 minut zastavena syntéza bakteriální DNA společně s proteinovou syntézou.

Barrette a kol. (1989) testovali kyselinu chlornou, která je obsažena v přípravku Evellgyn. Studovali její baktericidní mechanismus na kmenech *Escherichia coli* 25922, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, a *Streptococcus lactis* 7962. Hlavním principem mechanismu kyseliny chlorné je nevratné narušení metabolických drah bakteriální buňky, což je pro kteroukoliv buňku neslučitelné se životem. Účinek kyseliny chlorné byl pro testované kmeny shledán jako smrtící, kdy byla narušena bakteriální produkce ATP jak pro oxidační, tak fermentační proces, což vede k nevratným strukturním změnám mikrobiální buňky.

Pelgrift a kol. (2013) popisují mikrobicidní účinek kyselině chlorné (HClO) vůči kožním patogenům, zejména vůči *Staphylococcus aureus* při atopické dermatitidě (pruritus). Při testování reakce stafylokoka na HClO, byl jeho růst zcela potlačen.

Další studie, která byla provedena Gomesem a kol. (2016) se věnuje chlornanu sodnému, který je obsažen v testovaném přípravku Evellgyn. Testování této dezinfekční látky bylo cíleno k prozkoumání fyzikálně chemických vlastností chlornanu v reakci na mikroorganismy *Acinetobacter calcoaceticus* a *Stenotrophomonas maltophilia*, izolované z pitné vody. Při laboratorním testování bylo účinkem chlornanu sodného dosaženo celkového snížení životaschopnosti testovaných mikrobů. Dále byla potvrzena efektivní strategie chlornanu proti tvorbě biofilmů testovaných mikroorganismů.

Intimní přípravek Evellgyn také obsahuje oxid chloričitý, jehož účinky byly testovány Albayaty a kol. (2010). Oxid chloričitý byl testován na kmeny *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Escherichia coli* (ATCC 25922) a dále na kmeny, které jsou zodpovědné za tvorbu zubního biofilmu. Oproti testovanému hyaluronovému gelu, prokázal oxid chloričitý silnější antibakteriální účinek.

10.3 Testování přípravku Rosalgin

Přípravek Rosalgin byl účinný na mikroorganismus *C. albicans* <10 cfu/ml. Naopak neúčinný byl na ostatní testované mikroorganismy, *S. aureus* $3,6 \times 10^7$ cfu/ml, *St. agalactiae* $3,636 \times 10^6$ cfu/ml, *E. coli* $3,2 \times 10^7$ cfu/ml a *P. aeruginosa* 2.2×10^8 cfu/ml.

Tabulka 9 Antibakteriální účinek přípravku ROSALGIN na testované mikroorganismy

Testovaný přípravek	<i>S. aureus</i>	<i>St. agalactiae</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
ROSALGIN	$3,6 \times 10^7$ cfu/ml	$3,6 \times 10^6$ cfu/ml	<10 cfu/ml	$3,2 \times 10^7$ cfu/ml	2.2×10^8 cfu/ml

Účinnou látkou testovaného přípravku je benzydamin. Tuto látku testoval ve své práci Fanaki a kol. (1992). Prokázali její antibakteriální aktivitu testováním s 38 kmeny řadících se ke 12 mikrobiálním druhům obsahující bakterie, kvasinky a houby. Podle minimální inhibiční koncentrace benzydaminu (0,1 %), růstové křivky vybraných mikroorganismů, dále dle letální doby, bylo zjištěno, že testovaná látka má rychlý biocidní účinek. Tento účinek je zaznamenán v koncentracích, které jsou menší než koncentrace doporučené pro léčbu zánětlivých stavů.

O čtyři roky později byl znovu 0,1% benzydamin testován El-Nakeebem a kol. (1996). Tentokrát v kombinaci s ampicilinem, chloramfenikolem a tetracyklinem proti *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus*, mikroorganismům rezistentním na antibiotika. Na mikroorganismy bylo použito 114 kombinací benzydaminu s antibiotiky. Pouze 19 z nich bylo účinných. U těchto devatenácti kombinací byl zaznamenán synergismus, při kterém může být benzydamin použit jako pomocná látka při zvýšení propustnosti bakteriální buňky pro dané antibiotikum.

Výsledek testování přípravku Rosalginu prokazuje antifungální účinek benzydaminu, látky, která je obsažena v testovaném přípravku. Účinky této látky byly prověřeny Cidália Pina-Vaz a kol. (2000). Benzydamin byl testován se skupinou 20 kmenů rodu *Candida*, ve které byl zastoupen *Candida albicans*. Testování prokázalo účinek benzydaminu proti růstu zejména *Candida albicans*. Při nižší koncentraci projevoval benzydamin fungistatickou aktivitu proti

testovaným kvasinkám. Při zvýšení jeho koncentrace byla pozorována fungicidní aktivita. Benzydamin při vysoké koncentraci přímo poškozují buněčnou stěnu kvasinky.

10.4 Testování přípravku Ginexid

Testovaný přípravek Ginexid, byl účinný na kmeny *S. aureus*, *St. agalactiae*, *C. albicans* a *E. coli*. Pro tyto mikroorganismy byla hodnota <10 cfu/ml. Jediným testovaným kmenem, který byl na účinek přípravku Ginexid odolný, byl *P. aeruginosa* s hodnotou $4,5 \times 10^7$ cfu/ml. Tato odolnost byla sledována i v případě testování přípravku Aflovag, ve kterém je chlorhexidin též obsažen.

Tabulka 10 Antibakteriální účinek přípravku GINEXID na testované mikroorganismy

Testovaný přípravek	<i>S. aureus</i>	<i>St. agalactiae</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
GINEXID	<10 cfu/ml	<10 cfu/ml	<10 cfu/ml	<10 cfu/ml	$4,5 \times 10^7$ cfu/ml

Přípravek Ginexid obsahuje širokospektrální antiseptikum – chlorhexidin. Tuto látku testovala Galice a kol. (2006). V její práci bylo prokázáno, že chlorhexidin má inhibiční účinek na testovaný kmen *Streptococcus agalactie* ATCC 13813, a dále snižuje expresi bakteriálních faktorů virulence (cytolysin).

E. coli byla inhibována přípravkem Ginexid, obsahující stejnou látku jejíž účinky testoval Borghol a kol. (2011). Popsali kinetiku chlorhexidinu při inhibici adheze *Escherichia coli* na pevný povrch. Výsledek jejich práce ověřuje schopnost chlorhexidinu inhibovat růst *E. coli* a snižovat tvorbu bakteriálního biofilmu.

Testovaný přípravek Ginexid inhiboval růst kmene *C. albicans*. Stejný výsledek prokázali Molteni a kol. (2004). Testovali účinek chlorhexidinu, který byl podán 90 ženám s bakteriální vaginózou a vulvovaginální kandidózou. V této studii byl účinek chlorhexidinu porovnáván s účinkem běžné varianty léčivých přípravků (metronidazol, 2% klotrimazol). Bylo zjištěno, že u žen s bakteriální vaginózou léčených chlorhexidinem byla úspěšnost léčby 93,3 %, oproti tomu u žen léčených metronidazolem, byla úspěšnost 74,4 %. U žen s vulvovaginální

kandidózu byl pozorován srovnatelný efekt účinku chlorhexidinu a 2% klotrimazolu. Vzhledem k výsledkům u vaginálních mykóz, je na místě zvážit použití chlorhexidinu také u vaginálních mykóz s rezistencí na standardní antimykotickou léčbu.

10.5 Testování přípravku Clogin

Testovaný přípravek Clogin, který obsahuje antifungální látku terpinem-4-ol, byl neúčinný na všechny testované mikroorganismy - *S. aureus* $4,3 \times 10^7$ cfu/ml, *St. agalactiae* $1,6 \times 10^6$ cfu/ml, *C. albicans* $1,4 \times 10^8$ cfu/ml, *E. coli* $8,8 \times 10^5$ cfu/ml a *P. aeruginosa* $1,5 \times 10^5$ cfu/ml.

Tabulka 11 Antibakteriální účinek přípravku CLOGIN na testované mikroorganismy

Testovaný přípravek	<i>S. aureus</i>	<i>St. agalactiae</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
CLOGIN	$4,3 \times 10^7$ cfu/ml	$1,6 \times 10^6$ cfu/ml	$1,4 \times 10^8$ cfu/ml	$8,8 \times 10^5$ cfu/ml	$1,5 \times 10^5$ cfu/ml

Účinky stejné látky byly zkoumány Hammerem a kol. (2004). Hammer a jeho kolegové testovali látku terpinem-4-ol na třech kvasinkách - *Candida albicans*, *Candida glabrata* a *Saccharomyces cerevisiae*. Tyto kvasinky byly vystaveny působení koncentrovaného extraktu z čajovníku australského s přídavkem glukózy po dobu 6 hodin. Během této doby byly kvasinky obarveny methylenovou modří s postupným měřením absorpance barviva. Na konci testování bylo možné pozorovat změny propustnosti buněčné stěny kvasinky při měření změny hodnoty absorpance barviva. *C. albicans* změnila propustnost své stěny s reakcí na olej z čajovníku při koncentraci 0,25 %. Údaje z této studie podporují hypotézu, že olej z čajovníku a další komponenty, používají své antifungální vlastnosti ve směru narušení struktury a funkce buněčné stěny kvasinek.

Zhao a kol. (2016) testovali antibakteriální účinky stejné látky, která je obsažena v námi testovaném přípravku Clogin. Testovány byly účinky oleje z čajovníku australského (tea tree oil) na kmen *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213). Cílem studie bylo prokázat inhibiční účinky výtažku z čajovníku na růst *S. aureus*. Dále byl hodnocen účinek testované látky na produkci α -hemolysin a enterotoxinu A a B. S pomocí moderní techniky (PCR v reálném

čase, Western blot, hemolytický test) bylo prokázáno, že testovaná látka (tea tree oil) dokáže inhibovat jak samotný růst stafylokoka, tak i potlačit produkci α -hemolyzinu a stafylokokových enterotoxinů.

Staphylococcus aureus (ATCC 9144) byl testován Carsonem a kol. (2002) na stejnou látku obsaženou v intimním přípravku Clogin. Terpinem-4-ol změnil membránové struktury a propustnost cytoplazmatické membrány testovaného kmene.

Další se antibakteriálními účinky oleje z čajovníku australského (tea tree oil) zabýval Cox a kol. (2000). Ve své práci popsali antibakteriální aktivitu testované látky, která vyplívá ze schopnosti narušit propustnost membránových struktur mikroorganismů. Tento způsob účinku byl shledán stejným pro testované kmeny *E.coli*, *S. aureus* a *C. albicans*. Cox a kol. (2000) hodnotí v závěru své práce účinek tea tree oil na testované mikroorganismy jako podobný účinku jiných širokospektrálních dezinfekčních a konzervačních činidel (např. fenolové deriváty a chlorhexidin).

V případě testování antibakteriálního účinku přípravku Clogin (tabulka č.11), nebyly ve výsledku shledány takové hodnoty inhibice mikrobiálních kmenů, jaké bychom od toho přípravku očekávali. Studie uvedené výše popisují účinky látky, která je obsažena v přípravku Clogin, jako antibakteriální a antifungální. Samotný přípravek Clogin byl testován na kmeny *S. aureus*, *St. agalactiae*, *C. albicans*, *E coli* a *P. aeruginosa*. U všech pěti testovaných mikroorganismů nebyla vyhodnocena taková inhibice, jako u předešlých testovaných intimních přípravků. Cox a kol. (2000) zhodnotili mechanismus účinku látky tea tree oil, jako podobný účinkům látky chlorhexidinu. Toto tvrzení se neshoduje s naším testováním, neboť při testování přípravků obsahující chlorhexidin byla zjištěna větší schopnost inhibice mikroorganismů, než jaká byla hodnocena u Cloginu.

11. Závěr

Úkolem bakalářské práce bylo zjistit citlivost vybraných mikroorganismů na přípravky intimní hygieny. Použité přípravky v případě našeho testování byly vaginální výplachy, které jsou určeny pro doprovodnou léčbu vaginálních zánětů a mykóz. Aktivní látky, obsažené v testovaných přípravcích mají antibakteriální účinky, které byly zkoumány a potvrzeny mnohými studii.

Účinnost intimních přípravků AFLOVAG, EVELLGIN, GINEXID a CLOGIN byla testována na referenčních kmenech *S. aureus*, *St. agalactiae*, *E. coli*, *C. albicans* a *P. aeruginosa*. Pro postup našeho testování byla použita zředovací – neutralizační metoda. Po naředění bakteriální suspenze testovaným přípravkem, došlo k inhibici růstu v podobě sníženého počtu kolonií testovaného mikroorganismu. Všechny testované intimní přípravky projeví v reakci na použité mikroorganismy své antibakteriální účinky.

Je zde třeba uvést, že tyto i další podobně účinkující přípravky se od sebe liší především svým složením, které jinak ovlivňuje poševní prostředí. Pro výzkum účinků těchto produktů je podstatná informace, že populace poševních mikrobů není u každé ženy stejná. Proto není snadné (pokud neexistuje jednotná definice rovnováhy poševního prostředí), tyto produkty samostatně testovat. Můžeme mezi sebou porovnat sílu účinku vybraných produktů tak, že zhodnotíme jejich reakce na testované mikroorganismy.

Z pěti testovaných intimních přípravků byl nejúčinnějším vaginální výplach EVELLGIN. Sloučeniny chloru obsažené v tomto přípravku inhibovaly všech pět testovaných kmenů na hodnotu <10 cfu/ml.

Přípravky GINEXID a AFLOVAG od stejného výrobce Farma-Derma s.r.l. obsahují i stejnou účinnou látku, která v obou případech použitých přípravků snížila aktivitu všech testovaných kmenů, až na odolný kmen *Pseudomonas aeruginosa*.

Dalším testovaným přípravkem je ROSALGIN, jehož antibakteriální účinek nebyl v porovnání s předešlými produkty výrazný. Jediný mikroorganismus, jehož růst Rosalgin zcela potlačil, byl *Candida albicans*.

Jako nejméně účinný je hodnocen přípravek CLOGIN. Účinky látky obsažené v Cloginu byly studiem popsány jako antibakteriální a v případě kvasinek antifungální. Námí testovaný přípravek Clogin neměl takové účinky, které by byly srovnatelné s účinky předešlých testovaných přípravků.

Nejvíce odolným byl z řady testovaných mikroorganismů *Pseudomonas aeruginosa*. Jediný přípravek, který dokázal tento kmen zcela inhibovat, byl vaginální výplach EVELLGYN. Nejvíce citlivým mikroorganismem byla *Candida albicans*. Clogin jako jediný z testovaných přípravků, nedokázal zcela potlačit růst *Candida albicans*.

12. Bibliografie

Knižní zdroje

BEDNÁŘ, Marek; SOUČEK, Andrej; VÁVRA, Jiří. *Lékařská speciální mikrobiologie a parazitologie*, TRITON, 1994, ISBN 80-901521-4-7

CITTERBART, Karel a kol. *Gynekologie*. Na Bělidle 34, 150 00 Praha 5; Univerzita Karlova v Praze: Galén; Nakladatelství Karolinum, 2001, ISBN 80-7262-094-0 (GALÉN); 80-246-0318-7 (KAROLINUM).

HAWKINS, Joellen W., Diane M. ROBERTO-NICHOLS a J. Lynn STANLEY-HANEY. *Guidelines for Nurse Practitioners in Gynecologic Settings*. 11. Springer Publishing Company, 2015. ISBN 0826122833.

JULÁK, Jaroslav. *Úvod do lékařské bakteriologie*. 1. vydání. Praha: Karolinum, 2006, ISBN 80-2461-270-4.

KOBILKOVÁ, Jitka a kol. *Základy gynekologie a porodnictví*. Na Bělidle 34, 150 00 Praha 5; Univerzita Karlova v Praze: Galén; Nakladatelství Karolinum, 2005, ISBN 80-7262-315-X (GALÉN); 80-246-1112-0 (UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE).

KOLAŘÍK, Dušan, HALAŠKA, Michael, FEYEREISL, Jaroslav. *Repetitorium gynekologie*. 2., aktualiz. vyd. Praha: Maxdorf, 2011, ISBN 978-80-7345-267-4.

KOLETA, František. *Infekce a záněť v gynekologii a porodnictví*, Grada Publishing a.s., 1995, ISBN 80-7169-159-3

KONOPÁČOVÁ, Eliška. *Působení přípravků intimní hygieny na mikroorganismy genitálního ústrojí*. Univerzita Pardubice 2015, Bakalářská práce. Univerzita Pardubice, Vedoucí práce RNDr. Markéta Vydržalová, Ph.D., Signatura: D32408.

MAŠATA, Jaromír; JEDLIČKOVÁ, Anna a kol. *Infekce v gynekologii*, Praha 4, 142 00: MAXDORF, 2006, ISBN 80-7345-107-7

MAŠATA, Jaromír; JEDLIČKOVÁ, Anna a kol. *Infekce v gynekologii a porodnictví*. Praha 4, 142 00: MAXDORF, 2004, ISBN 80-7345- 038-0

NOVOTNÝ, Ivan. *Biologie člověka*. Praha: Fortuna, 2003. ISBN 80-7168-819-3.

ROZTOČIL, Aleš a kol. *Moderní porodnictví*. Praha: Grada Publishing a.s., 2008, ISBN 9788024719412.

SLÍVA, Jiří; FAIT, Tomáš. *Úvod do lékařské bakteriologie*, Maxdorf, 2012, ISBN 978-80-7345-282-7.

ŠPAČEK, Jiří; BUCHTA, Vladimír; JÍLEK, Petr a kol. *Vulvovaginální dyskomfort a poruchy poševního prostředí*. Grada Publishing a.s., 2013, ISBN 80-2478-626-5

VOTAVA, Miroslav, et al. *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1. vydání. Brno: Neptun, 2003, ISBN 80-902896-6-5.

Vědecké články

AL-BAYATY, F., T. TAIYEB-ALI, M. A ABDULLA a F. HASHIM. Antibacterial effect of chlorine dioxide and hyaluronate on dental biofilm. *African Journal of Microbiology Research*. 2010, **4**(14), 1525-1531. ISSN 1996-0808.

ALEMDAR, Suleyman Sema a Sema AGAOGLU. Investigation of In vitro Antimicrobial Activity of Aloe vera Juice. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2009, **8**(1), 99-102

ANDERSON, Gissela, Bernal BOWDEN, Jim MORRISON a Edith C CAFFESSE. Clinical effects of chlorhexidine mouthwashes on patients undergoing orthodontic treatment. *American Journal of Orthodontics & Dentofacial Orthopedics*. 1997, **111**(6), 606-612. ISSN 0889-5406.

BARRETTE JR, William C., Diane M. HANNUM a William D. WHEELER. General mechanism for the bacterial toxicity of hypochlorous acid: abolition of ATP production. *Biochemistry*. 1989, **28**(23), 9172–9178. DOI: 10.1021/bi00449a032.

BORGHOL, N., L. MORA, N. SAKLY a P. LEJEUNE. Electrochemical monitoring of Chlorhexidine Digluconate effect on polyelectrolyte immobilized bacteria and kinetic cell adhesion. *Journal Of Biotechnology*. 2011, **151**(1), 114-121. ISSN 0168-1656.

CARSON, C.F., B.J. MEE a T.V. RILEY. Mechanism of Action of Melaleuca alternifolia (Tea Tree) Oil on Staphylococcus aureus Determined by Time-Kill, Lysis, Leakage, and Salt Tolerance Assays and Electron Microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2002, **46**(6), 1914-1920.

CASSIR, Nadim, Guillemette THOMAS a Sami HRAIECH. Chlorhexidine daily bathing: impact on health care-associated infections caused by gram-negative bacteria. *Am J Infect Control*. 2015, **43**(6), 640-3. DOI: 10.1016/j.ajic.2015.02.010.

CIBLEY, L.J. Cytolytic vaginosis. *Am J Obstet Gynecol*. 1991, **165**, 1245–8.

COX, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, C.M. MANN, J.L. MARKHAM a H.C. BELL. The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*. 2000, **88**, 170–175. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2000.00943.x.

DE SETA, Francesco, Martin SCHMIDT a Bao VU. Antifungal mechanisms supporting boric acid therapy of Candida vaginitis. *Antimicrob Chemother*. 2009, **63**(2), 325-336. DOI: 10.1093/jac/dkn486.

DENTON, A. S. a E. J. MAHER. Interventions for the physical aspects of sexual dysfunction in women following pelvic radiotherapy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003, (1). DOI: 10.1002/14651858.CD003750.

DESSÌ, D., G. DELOGU, E. EMONTE, P.L. FIORI, P. RAPPELLI a M.R. CATANIA. Long-Term Survival and Intracellular Replication of Mycoplasma hominis in Trichomonas vaginalis Cells: Potential Role of the Protozoon in Transmitting Bacterial Infection. *Infection and Immunity*. 2005, **73**(2), 1180-1186. DOI: 10.1128/IAI.73.2.1180-1186.2005.

DOLEŽAL, Martin a Vladimír BUCHTA. Aktuální pohled na skupinu antimykotik. *Prakt. Lékař. 2006, 2*(1), 10-14.

DONDERS, G. The role of bacterial vaginosis, aerobic vaginitis, abnormal vaginal flora and the risk of preterm birth. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2010, **117**(1), 120-121. DOI: 10.1111/j.1471-0528.2009.02405.x. ISSN 1470-0328.

DONDERS, Gilbert G.G. Definition and classification of abnormal vaginal flora. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2007, **21**(3), 355-373. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2007.01.002>.

DUKAN, Sam. Hypochlorous Acid Stress in Escherichia coli: Resistance, DNA Damage, and Comparison with Hydrogen Peroxide Stress. *Journal of bacteriology*. 1996, **178**(21), 6145-6150.

ELLEPOLA, Arjuna N. B., Bobby K. JOSEPH a Z. U. KHAN. The postantifungal effect and phospholipase production of oral Candida albicans from smokers, diabetics, asthmatics, denture wearers and healthy individuals following brief exposure to subtherapeutic concentrations of chlorhexidine gluconate. *Mycoses*. 2014, **57**(9), 553-559. ISSN 0933-7407.

EMILSON, C.G. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. *Scand J Dent Res*. 1977, **85**(4), 255-265.

FAIT, T., Otázky intimní hygieny v ambulantní praxi. *Praktická gynekologie*. 2007; 3, 129-131. ISSN: 1211-6645; 1801-8750.

FANAKI, N.H. a M.A. EL-NAKEEB. Antimicrobial Activity of Benzydamine, a Non-Steroid Anti-Inflammatory Agent. *Journal of Chemotherapy*. 1992, **6**(4), 347-352. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/1120009X.1992.11739190>.

FETTWEIS, J.M. Huang B, M.G SERRANO a B. HUANG. An Emerging Mycoplasma Associated with Trichomoniasis, Vaginal Infection and Disease. *Balish MF, ed. PLoS ONE*. 2014, **9**(10). DOI: 10.1371/journal.pone.0110943.

GALICE, Denize Maria, Cibele BONACORS a Verônica SOARES. Effect of subinhibitory concentration of chlorhexidine on Streptococcus agalactiae virulence factor expression. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2006, **28**(2), 143-146. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2006.03.024. ISSN 0924-8579.

GALICE, Maria a Cibele BONACORSI. Effect of subinhibitory concentration of chlorhexidine on virulence factor expression. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2006, **28**(2), 143-146. ISSN 0924-8579.

GOMES, I.B., M. SIMÕES a L.C. SIMÕES. The effects of sodium hypochlorite against selected drinking water-isolated bacteria in planktonic and sessile states. *Science of the Total Environment*. 2016, **565**, 40-48. ISSN 0048-9697.

HALADA, MUDr Petr; KESTŘÁNEK, MUDr Jan., Současné trendy v léčbě vulvovaginálního diskomfortu. *Med. Pro Praxi* 2011, 8(2), 77–82.

HAMMER, K.A., C. F. CARSON a T. V. RILEY. Melaleuca alternifolia (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2004, (53), 1081–1085. DOI: 10.1093/jac/dkh243.

HAY, Phillip. Bacterial vaginosis. *Medicine*. 2014, 42(7), 359-363.

HOLST, E. Reservoir of four organisms associated with bacterial vaginosis suggests lack of sexual transmission. *Journal of Clinical Microbiology*. 1990, **28**(9), 2035-2039.

HYMAN, Richard W., Marilyn FUKUSHIMA, Lisa DIAMOND, Linda C. GIUDICE a Ronald W DAVIS. Microbes on the human vaginal epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005, **102**(22), 7952–7957. DOI: 10.1073/pnas.0503236102.

CHA, Han, Wu WENJUAN a Fan AIPING. Diagnostic and therapeutic advancements for aerobic vaginitis. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2015, **291**(2), 251-257. DOI: 10.1007/s00404-014-3525-9. ISSN 0932-0067.

ITZHAK, Brook. Microbiology and management of soft tissue and muscle infections. *International Journal of Surgery*. 2008, **6**(4), 328-338. DOI: 10.1016/j.ijssu.2007.07.001. ISSN 1743-9191.

JENKINS, S., M. ADDY a W. WADE. The mechanism of action of chlorhexidine. A study of plaque growth on enamel inserts in vivo. *Clin Periodontol*. 1988, **15**(7), 415–424.

KARPIŃSKI, T.M. Chlorhexidine--Pharmaco-Biological Activity and Application. *Eur Rev Med Pharmacol.* 2015, **19**(7), 1321-1326.

KEN, B. Waites, Robert L. SCHELONKA, Li XIAO, Peta L. GRIGSBY a Miles J. NOVY. Congenital and opportunistic infections: Ureaplasma species and Mycoplasma hominis. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2009, **14**(4), 190–199. DOI: 10.1016/j.siny.2008.11.009.

KESTŘÁNEK J. a kol. Problematika vulvovaginálního dyskomfortu z hlediska mezioborové spolupráce. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.* 2008, **57**(1), 23–27.

LÉVY, G. Value of benzydamine, the first anti-inflammatory vaginal solution. *Rev Fr Gynecol Obstet.* 1989, **84**, 779-81.

MACHADO, F.C, I.P. DE SOUZA a M.B. PORTELA. Use of chlorhexidine gel (0.2%) to control gingivitis and Candida species colonization in human immunodeficiency virus-infected children: a pilot study. *Pediatr Dent.* 2011, **33**, 153-157.

MASAADEH, Hani A. a Adnan S. JARAN. Determination of the Antibacterial Efficacy of Common Chemical Agents in Cleaning and Disinfection in Hospitals of North Jordan. *American Journal of Applied Sciences.* 2009, **6**(5), 811-815. ISSN 1546-9239.

MAŠATA, J., M. POISLOVÁ a A. JEDLIČKOVÁ. Modifikovaná klasifikace mikroskopického hodnocení poševních infekcí. *Česká gynekol.* 2010, **75**, 199-208.

MCDONNELL, Gerald a A. Denver RUSSELL. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1999, **12**(1), 147–179.

MCKENNA, S.M. a K.J. DAVIES. The inhibition of bacterial growth by hypochlorous acid. Possible role in the bactericidal activity of phagocytes. *Biochemical Journal.* 1988, **254**(3), 685-692.

MOLTENI, B., A. D'ANTUONO, P. BANDINI a G. SINTINI. Efficacy and tolerability of a new chlorhexidine-based vaginal gel in vaginal infections. *Current medical research and opinion.* 2004, **20**(6), 849-53. ISSN 0300-7995.

NADIM, Cassir a Thomas GUILLEMETTE. Chlorhexidine daily bathing: Impact on health care-associated infections caused by gram-negative bacteria. *American Journal of Infection Control*. 6553, **43**(6), 640-643.

PELGRIFT, Robert Y. a Adam J. FRIEDMAN. Topical Hypochlorous Acid (HOCl) as a Potential Treatment of Pruritus Current. *Dermatology Reports*. 2013, **3**(2), 181. ISSN 2162-4933.

PEREIRA, L.B. Impetigo. *Anais Brasileiros De Dermatologia*. 2014, **89**(2), 293-299. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20142283. ISSN 0365-0596.

PINA-VAZ, Cidália, Acácio Gonçalves RODRIGUES a Filipe SANSONETTY. Antifungal Activity of Local Anesthetics Against Candida Species,. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*. 2000, **8**(3-4), 124-137. DOI: 10.1155/S1064744900000168.

PULLÈ, C. a E. STURLESE. Clinical trial comparing the activity and efficacy of ibuprofen isobutanolammonium vs Benzydamine hydrochloride, applied as vaginal irrigations, in patients with vaginitis. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2002, **29**(3), 173-179.

RAMPERSAUD, Ryan Ratner, Adam J., Tara M. RANDIS a Adam J. RATNER. Microbiota of the upper and lower genital tract. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. DOI: 10.1016/j.siny.2011.08.006. ISSN 1744-165X.

SHI, Ce, Zhao XINGCHEN, Yan HAIYANG a Meng RIZENG. Effect of tea tree oil on Staphylococcus aureus growth and enterotoxin production. *Food Control*. 2016, **62**, 257-263. ISSN 0956-7135.

SOBEL, J.D. Desquamative inflammatory vaginitis: a new subgroup of purulent vaginitis responsive to topical 2% clindamycin therapy. *Am J Obstet Gynecol*. 1994, **171**(5), 1215–1220.

SOBEL, Jack D. Vulvovaginal candidosis. *Lancet*. 2007, **369**(9577), 1961–1971. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60917-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60917-9).

- SPACEK, J. a kol., Interakce kvasinek s hostitelem ve vztahu k urogenitálnímu traktu, vulvovaginální kandidóza, urologické aspekty mykotických onemocnění. *Česká Gynekologie*, 2003, 68(1), 432-439.
- SREENIVASAN, P. a A. GAFFAR. Antiplatelet biocides and bacterial resistance. *Journal of Clinical Periodontology*. 2002, **29**, 965–974. ISSN ISSN: 0303-6979.
- SUNDERKÖTTER, Cord ; a Karsten BECKER. Häufige bakterielle Infektionen der Haut- und Weichgewebe: Klinik, Diagnostik und Therapie. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*. 2015, **13**(6), 501-528. DOI: 10.1111/ddg.12721_suppl. ISSN 1610-0379.
- SURESH, A., A. RAJESH, R.M. BHAT a Y. RAI. Cytolytic vaginosis. A review. *Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases*. 2009, **30**(1), 48-50. DOI: 10.4103/0253-7184.55490.
- TAYLOR-ROBINSON, D. Diagnosis and antimicrobial treatment of mycoplasma genitalium infection: Sobering thoughts. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2014, **12**(6), 715-22. DOI: <http://dx.doi.org/10.1586/14787210.2014.919220>.
- TAYLOR-ROBINSON, David. Infections Due to Species of Mycoplasma and Ureaplasma: An Update. *Clinical Infectious Diseases*. 1996, **23**(4), 671–682.
- THOMAS, L., J.-Y. MAILLARD, R.J.W. LAMBERT a A.D. RUSSELL. Development of resistance to chlorhexidine diacetate in *Pseudomonas aeruginosa* and the effect of a 'residual' concentration. *Journal of Hospital Infection*. 2000, **46**(4), 297-303. ISSN 0195-6701.
- VARONI, E., M. TARCE, G. LODI a A. CARRASSI. Chlorhexidine (CHX) in dentistry: state of the art. *Minerva Stomatol*. 2012, **61**(9), 399–419.
- VENEGAS, M.F., R.A GAFFNEY, C. KANERVA, E.L. NAVAS, B.E. ANDERSON, J.L. DUNCAN a A.J. SCHAEFFER. Effect of vaginal fluid on adherence of type 1 piliated *Escherichia coli* to epithelial cells. *Journal of Infectious Diseases*. 1995, **172**(6), 1528-1535. DOI: 10.1093/infdis/172.6.1528. ISSN 00221899.

VENTOLINI, G., I. VILLA a A. GUERRA. A controlled clinical study on the efficacy of benzydamine in the topical treatment of non-specific cervicitis and vaginitis. *Int J Tissue React.* 1987, **9**(2), 157-67.

VENTOLINI, Gary, Caroline SCHRADER a Evelyn MITCHELL. Vaginal lactobacillosis. *Journal of Clinical Gynecology and Obstetrics.* 2014, **3**(3), 81-84.

WAITES, K.B., B. KATZ a R.L SCHELONKA. Mycoplasmas and Ureaplasmas as neonatal pathogens. *Clin Microbiol Rev.* 2005, **18**, 757-789.

Normy

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.

ČSN EN 13624 *Chemické dezinfekční přípravky a antiseptika – kvantitativní zkouška s použitím suspenze ke stanovení fungicidního účinku chemických dezinfekčních prostředků 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.

Elektronické zdroje

AXONIA.CZ. *Aflovag intimní výplach a oplach* [online]. [cit. 13.6.2017]. Dostupný na WWW: <http://eshop.axonia.cz/tehotenstvi-a-porod/aflovag-intimni-vyplach-a-oplach-3x100-ml>

AXONIA.CZ. *Clogin vaginální výplach* [online]. [cit. 13.6.2017]. Dostupný na WWW: <http://www.axonia.cz/cs/produkty/d/clogin-vaginalni-vyplach>

AXONIA.CZ. *Ginexid vaginální výplach* [online]. [cit. 13.6.2017]. Dostupný na WWW: <http://www.axonia.cz/cs/produkty/d/ginexid-vaginalni-vyplach>

Benzydamine [online]. [cit. 15.6.2017]. Dostupný na WWW: <https://en.wikipedia.org/wiki/Benzydamine>

DOSTÁLOVÁ, Zuzana; GERYCHOVÁ, Romana. Vulvovaginitidy-záněty vulvy a pochvy [online]. [cit. 12.6.2017]. Dostupný na WWW: <https://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2012/03/04.pdf>.

EXTRASYNTHESE. Terpinen-4-ol [online]. [cit. 15.6.2017]. Dostupný na WWW: <https://www.extrasynthese.com/terpinen-4-ol.html>

GULÁNOVÁ, Barbora; ŠIMALJAKOVÁ, Mária. *Diferenciálna diagnostika vaginálneho fluoru* [online]. [cit.15.6.2017]. Dostupný na WWW: www.solen.sk/pdf/fdd3a78eb3eaae44e3188af89b63e1e8.pdf

HORÁK, Petr. Vulvovaginální kandidóza, farmakoterapie a prevence [online] [cit. 12.6.2017] Dostupný na WWW: file:///C:/Users/Aspire/Desktop/Solen_lek-201102-0008.pdf

KOLIBA, Petr; KOLIBA, Petr jun. Vaginální dyskomfort, intimní hygiena [online] [cit.12.6.2017]. Dostupný na WWW: <https://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2013/03/12.pdf>.

KOLIBA, Petr; PŘÍHODOVÁ, Veronika. Možnosti farmaceuta v léčbě vulvo-vaginální kandidózy [online]. [cit. 12.6.2017]. Dostupný na WWW: <https://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2014/03/03.pdf>.

KOTRBOVÁ, Daniela. Intimní hygiena, Praktické lékařství. solen.cz [online]. 2007 [cit. 2017-06-12]. Dostupné na: <https://www.solen.cz/pdfs/lek/2007/05/16.pdf>

Menstruační cyklus [online]. [cit. 27.6.2017]. Dostupný na WWW: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:MenstrualCycle_cs.svg

MYKHAL. Chlorhexidin [online]. [cit. 15.6.2017]. Dostupný na WWW: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Chlorhexidin>

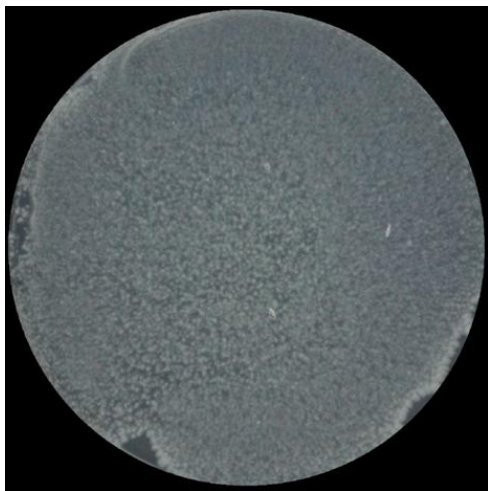
NEZNÁMÝ. *příbalový leták ROSALGIN* [online]. [cit. 13.6.2017]. Dostupný na WWW:
<http://www.pribalovy-letak.cz/1026-rosalgin>

SÚKL. *Evellgyn roztok* [online]. [cit. 13.6.2017]. Dostupný na WWW:
<http://www.sukl.cz/farmaceuticky-prumysl/evellgyn-roztok?highlightWords=EVELLGYN>

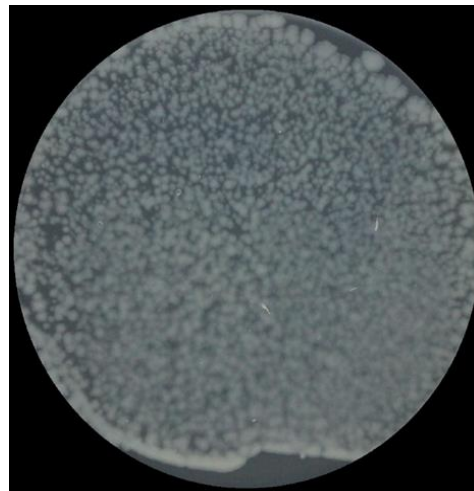
13. Přílohy

Příloha 1 Testování účinku vaginálního výplachu CLOGIN na růst *E. coli* (2. testování)

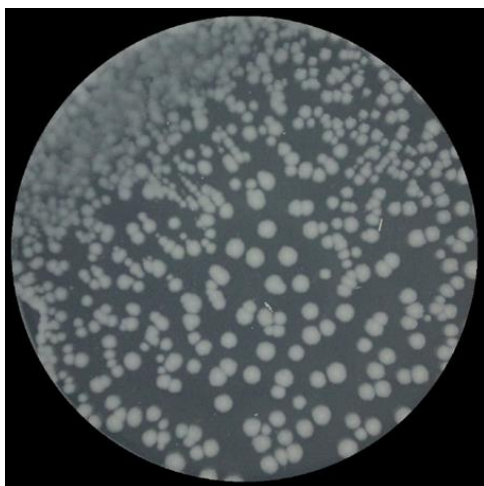
A. *E. coli* při ředění 10^6



B. *E. coli* při ředění 10^5



C. *E. coli* při ředění 10^4



D. *E. coli* při ředění 10^3

