

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Mikrobiologický nález bakterií v moči psů trpících urolitiázou

Bakalářská práce

2021

Kateřina Poláková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Kateřina Poláková**
Osobní číslo: **C17202**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Mikrobiologický nález bakterií v moči psů trpících urolitiázou**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Podrobně popište onemocnění urolitiázu.
2. Zaměřte se na klinické příznaky onemocnění u zvířat.
3. Uveďte možnosti léčby onemocnění u zvířat.
4. Z dostupné literatury uveďte nejčastější mikroorganismy vyskytující se v moči při onemocnění.
5. Bakalářskou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPa č. 7/2019: Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací.

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

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Iveta Brožková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2019**
Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2020**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

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

V Pardubicích dne 28. února 2020

Prohlašuji:

Práci s názvem Mikrobiologický nález bakterií v moči psů trpících urolitiázou 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., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 23.7.2021

Kateřina Poláková v.r.

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat mé vedoucí Ing. Ivetě Brožkové, Ph.D., které bych chtěla vyjádřit vděk za chápavý přístup a ochotnou pomoc při psaní bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat MVDr. Martině Kolářové, která mě přivedla k nápadu vytvořit bakalářskou práci na toto téma. Díky patří i mé sestře, která mi poskytla podporu při tvorbě této práce.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zaměřuje na problematiku infekčních urolitiáz. Popisuje druhy bakterií, které infekci nejčastěji způsobují, typy kamenů a faktory, které onemocnění mohou vyvolat či komplikovat. Onemocnění je popsáno komplexně od etiologie tvorby kamene, přes klinické příznaky, diagnostiku až po terapii. Práce je věnována hlavně problematice uroinfekcí, které jsou u litiáz navíc komplikovány impregnací bakterií do konkrementu.

KLÍČOVÁ SLOVA

urolitiáza, uroinfekce, konkrementy, urologie, mikrobiologie, nefrologie

TITLE

Microbiological detection of bacteria in the urine of dogs suffering from urolithiasis

ANNOTATION

This bachelor thesis focuses on the issue of urolithiasis infections. It describes the types of bacteria that most often cause infection, the types of stones and the factors that can cause or complicate the disease. The disease is described comprehensively the etiology of stone formation, clinical symptoms, diagnosis, and therapy. The thesis deals with the issue of urinary tract infections, which are further complicated in lithiasis by impregnation of bacteria into the stone.

KEYWORDS

urolithiasis, urinary tract infections, stones, urology, microbiology, nephrology

OBSAH

Seznam obrázků a tabulek.....	10
Seznam použitých zkratk.....	10
Úvod	11
1 Popis urolitiázy	12
2 Vznik močového kamene.....	14
2.1 Hypersaturace moče a nukleace	14
2.2 Agregace.....	15
2.3 Inhibitory	15
2.3.1 Citráty	16
2.3.2 Hořčík.....	16
2.3.3 Tammův – Horsfallův protein	16
2.3.4 pH	16
2.4 Promotory.....	17
2.4.1 Dehydratace.....	17
2.4.2 Farmaka	17
3 Složení močových konkrementů.....	18
3.1 Typ močového kamene	18
3.1.1 Struvit	19
3.1.2 Oxalát	20
3.1.3 Urát a kyselina močová	21
4 Vyšetření moče	23
4.1 Odběr.....	23
4.1.1 Spontánní močení	23
4.1.2 Manuální komprese	23
4.1.3 Katetrizace.....	23
4.1.4 Cystocentéza.....	23

4.2	Chemické parametry	24
4.2.1	Standartní biochemické vyšetření	24
4.2.2	Speciální parametry pro biochemické vyšetření moče při urolitiáze	25
4.3	Mikroskopie	25
4.3.1	Krystaly	26
4.4	Kultivace a nové metody diagnostiky	27
4.4.1	Uchovávání vzorků.....	27
4.4.2	Vlastní kultivace.....	27
4.4.3	Nová metoda diagnostiky pomocí qPCR	29
5	Vyšetření krve.....	30
6	Vyšetření močových kamenů.....	31
6.1	Makroskopické vyšetření	31
6.2	Chemická analýza	31
6.3	Mikroskopické vyšetření	31
6.4	Další významné instrumentální analýzy konkrementů	32
7	Výskyt urolitiázy u psů a koček.....	33
8	Faktory ovlivňující urolitiázu u psů.....	34
8.1	Věk	34
8.2	Pohlaví.....	34
8.3	Plemeno.....	34
9	Lokalizace urolitiázy.....	35
10	Uroinfekce.....	36
10.1	Infekční urolitiáza.....	36
10.1.1	Faktory ovlivňující vznik konkrementů u infekční litiázy	37
11	Významné infekční agens při urolitiáze	38
11.1	Rod <i>Proteus</i>	38
11.2	Rod <i>Pseudomonas</i>	39

11.3	Rod <i>Corynebacterium</i>	40
11.4	Rod <i>Ureaplasma</i>	41
11.5	Rod <i>Enterococcus</i>	41
11.6	Rod <i>Escherichia</i>	42
12	Terapie	43
12.1	Konvenční terapie infekční urolitiázy	43
12.2	Dietetická terapie	44
12.2.1	Struvitová litolýza	44
12.2.2	Urátová litiáza	44
12.2.3	Kalcium oxalátová litolýza.....	44
12.3	Chirurgická terapie	45
12.3.1	Urocystolitiáza.....	45
12.3.2	Nefrolitiáza	45
12.3.3	Ureterolitiáza	45
12.4	Antibiotická terapie	46
12.4.1	Beta-laktamy	46
12.4.2	Glykopeptidy a lipoglykopeptidy	46
12.4.3	Polymyxiny	46
12.4.4	Nitrofurantoin.....	46
13	Závěr	47
14	Literatura.....	48

SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

Obrázek 1 Přehled typů krystalů (Kovaříková, 2014)26

Tabulka 1 Souhrn chemických a mineralogických názvů (Dubanský, 1994) 18

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

Ca^{2+} – vápenatý kation

CFU – kolonie tvořící jednotka

CLED –cystin-laktázový elektrolyticky deficitní agar

NH_4^+ – amonný kation

Mg^{2+} – hořečnatý kation

MRSA – methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*

NaCl – chlorid sodný

UPEC – uropatogenní *Escherichia coli*

XLD – xylóza-lyzin-deoxycholátový agar

ÚVOD

S urolitiázou jsem se často setkávala ve veterinární ambulanci paní doktorky Martiny Kolářové, kdy mě zaujala diverzita projevů a tím i odlišnost vedení terapií vůči tomuto onemocnění. Shodou okolností jsem musela řešit otravu etylenglykolem u svého kocoura, a tak jsem mohla své poznatky využít k prevenci vzniku oxalátové litiázy v praxi. Mikrobiální infekční agens jsou navíc pro močový trakt jedinečné v tom, že musí vydržet podmínky, které nejsou standartní pro běžné patogeny

Prostředí, ve kterém nalézáme bakterie infekční litiázy, bývá hyperosmotické, chudé na běžné živiny jako je glukóza a s pH, které kolísá v řádech jednotek, přesto zde dochází k množení bakterií. Toto jinde v organismu nenalézáme. Zároveň se však na urolitiázu musíme dívat komplexně, jelikož bývá vyústěním jiného, obvykle metabolického onemocnění.

Cílem mé práce proto bylo podrobně popsat tyto jevy, které při vzniku konkrementů mohou nastat. Dále popsat klinické příznaky a diagnostiku ve veterinární praxi, která je mnohdy složitější, protože první příznaky bývají majiteli přehlédnuty. Práce shrnuje různé přístupy k léčbě.

1 POPIS UROLITIÁZY

Urolitiáza je stav, při kterém se v ledvinách a vývodných cestách močových tvoří močové kameny (Křížek a Sadílek, 1990).

Ledvinové onemocnění jsou nejčastěji způsobeny zadržováním odpadních látek, poruchou elektrolytické rovnováhy nebo vodního hospodářství. Při urolitiáze musíme rozlišovat místo vzniku močových kamenů a krystalů, protože lokalizace a příčiny vzniku mají velký vliv na průběh onemocnění, léčbu i prevenci (Kaňková, 2009).

Onemocnění postihuje močovou soustavu tvorbou kamenů z koncentrovaných odpadních látek fyziologických i nefyziologických. O urolitiáze hovoříme při nálezu konkrementu v moči nebo v močové soustavě. Výskyt kamenů může být lokalizován v ledvinách nebo ve vývodných cestách močových.

Tvorbu kamenů provází významný nález krystalů dané látky v močovém sedimentu, avšak pouhý nález vysoké četnosti krystalů neukazuje na tvorbu močových kamenů. Urolitiázu lze diagnostikovat po průkazu solidního kamene (Stejskal a Sadílek, 2007).

Z hlediska diagnostiky nám solidní krystalické konkrementy poskytují především krystalický materiál k biochemické analýze. Matrix bílkovinné povahy však poskytuje informace o vzniku konkrementu, a to především o místě vzniku a povaze krystalické látky. Při neinfekčních urolitiázách tvoří pouze 2-2,5% celkové hmotnosti kamene, pokud dojde k masivní infekci, jsou kameny tvořeny proteiny a glykoproteiny bakteriálního původu s celkovým zastoupením až 65% hmotnosti kamene.

Urolitiázu můžeme kromě složení kamene rozdělit i dle místa vzniku. Většina konkrementů vzniká v ledvinách a následně má descendentní postup vylučovacím systémem. Kromě gravitace se na posunu částic podílí i peristaltika, která může vyvolávat prvotní symptomy o vznikající obstrukci vývodných cest močových (Hanuš a Novák, 2008).

Pokud jsou postiženy ledviny, projevuje se poškození i v biochemii krve, pokud však močové kameny vznikají až v močovodech nebo v močovém měchýři, je diagnostika závislá na vyšetření moči, když je močení možné. Pokud je obstrukce natolik závažná, že nelze pacienta ani katetrizovat, je diagnostika závislá na zobrazovacích metodách, sonografii, a především rentgenovém zobrazení (Kaňková, 2009).

Urolitiáza bývá projevem metabolické nerovnováhy organismu, proto lze toto onemocnění považovat za multifaktoriální. Obvykle urolitiáza doprovází primární chorobu

a její příčina koreluje s příčinou primárního onemocnění. K úplnému pochopení příčin urolitiázy a správnému nastavení terapie je zapotřebí spolupráce více oborů, a to zejména v oblasti biochemie metabolických procesů (Stejskal a Sadílek, 2007).

Je třeba zvážit vliv na výskyt konkrementů především faktory jako příjem tekutin, složení stravy, dědičnost, věk, pohlaví nebo močové infekce. Močové kameny mohou vést k renálním kolikám nebo postižení funkce ledvin, pokud je krystaly poškozen parenchym ledviny (Křížek a Sadílek, 1990). Funkční defekty nefronů mohou při včasné a správné terapii regenerovat. Pokud jsou nefrony zvláště sekundární ascendentní infekcí zničené, hojí se tkáň zjizvováním, hypertrofií nepoškozených nefronů organismus kompenzuje nároky metabolismu na detoxikaci (Kaňková, 2009). Terapie tohoto onemocnění je tedy komplexní a mnohdy zcela závislá na terapii primárního onemocnění (Stejskal a Sadílek, 2007).

2 VZNIK MOČOVÉHO KAMENE

Utváření močového kamene je reakcí na zvýšené množství odpadní látky produkované ledvinami, která přesáhla mez své disociace. Samotná tvorba kamene se skládá z několika fází, nejprve se musí moč plně nasytit rozpuštěnou látkou budoucího konkrementu – mluvíme o supersaturaci. Nastává nukleace krystalu, kdy se z přesyceného roztoku moče začínají srážet prvotní krystaly. Přirozeně dochází k nárůstu krystalu, ale v tomto momentu ještě nelze mluvit o močovém kameni. Poslední fází je agregace již vzniklých krystalů. Agregáty se stávají monolitickými, kdy se vytváří natolik velké pevné látky, že již hovoříme o kamenech (Hanuš a Novák, 2008).

Litiáza je ve většině případů způsobena látkami v moči se vyskytujícími fyziologicky. Nelze proto provádět preventivní vyšetření predikující výskyt urolitiázy před utvořením močového kamene. Ani hladiny rozpuštěných minerálních látek v moči neposkytují dostatečné informace k diagnostice a preventivní terapii litiázy, protože ani při hypersaturaci nemusí k tvorbě močového kamene dojít. Vznik konkrementu závisí na několika faktorech, které podněcují nebo naopak omezují vznik konkrementu (Rinkardt a Houston, 2004).

2.1 HYPERSATURACE MOČE A NUKLEACE

Látky obsažené v moči se mohou formovat na základě přesycení roztoku. Mohou tak vznikat čistě homogenní krystaly, jejich vznik označujeme jako homogenní nukleaci. Tento proces je velmi podobný krystalizaci *in vitro*. V hypersaturovaném roztoku vzniká nukleační krystal dle disociační konstanty dané urolitogenní látky. Začíná se formovat pro danou sloučeninu typická krystalická mřížka. Homogenní krystaly s relativně souměrnou krystalickou mřížkou se však ve většině případů nedokážou dostatečně rychle krystalizovat na to, aby utvořili urolit. Jsou proto z těla vyloučeny jako písek či pouhé krystaly.

Heterogenní nukleace nastává mnohem častěji. Fyziologicky odloučené buňky epitelii močového ústrojí nebo organické jádro tvořené bakteriemi, mukoproteinem, erytrocyty a dalšími patologicky vzniklými buněčnými drti, dávají vzniknout nukleačnímu jádru. Hypersaturace není nutná po celou dobu formování krystalu. Proto dokáže vznik konkrementu podnítit jen pouhá dehydratace. K formaci zárodků dochází nejvíce v papile ledviny (Kawaciuk, 2009).

Na vzniku se podílí zpravidla organická matrix, to zejména u struvitu a oxalátů. Naopak kyselina močová a cystin mohou poskytovat nukleační zárodky sami a tím lépe na sebe krystalizují. Ty jsou dále obalovány krystaly precipitujícími z přesyceného roztoku moči.

Krystaly se v moči vyskytují fyziologicky v malém množství. Ani zvýšený počet krystalů nemusí nutně dát vzniknout močovým kamenům, ale odráží již metabolickou poruchu či nerovnováhu projevující se nejčastěji močovými kameny. To vede při chronickém přesycení ke tvorbě konkrementů (Stejskal a Sadílek, 2007).

2.2 AGREGACE

Další fází po utvoření krystalů a přesyceného roztoku moče je shlukování neboli agregace. Je to jeden ze zásadních kroků vzniku močového kamene, protože krystalizace je v podmínkách *in vitro* odlišná od krystalizace *in vivo*, kde se na utváření konkrementu podílí proudění moči nebo tubuly produkované enzymy a proteiny. Průtok sekundární moče vývodními ledvinnými kanálky je odhadován na 5-7 minut, k mineralizaci rozpuštěné látky na povrch již vzniklého krystalu stačí 1 minuta. Na agregaci se proto významně podílí retence moči či přilnutí krystalu na stěnu tubulu. Jejich retence může v menší míře probíhat i v močovodech. Již v ledvině tedy mohou vznikat závažné koliky formací prvních kamenů, které nazýváme mikrolity. Ve vzácnějších případech se vznikající kámen usadí na povrchu stěny kanálku a vzniká tak papilární plak.

Na agregaci se významně podílí infekce, nejvíce při formaci kalcium fosfátových močových kamenů. Bakteriální buňky adhují na stěnu již vzniklého zárodku močového kamene a tvoří vhodný povrch pro další krystalizaci a agregaci krystalů. Struvity pak mívají znatelné centrické uspořádání s typickými vrstvami agregace (Kawaciuk, 2009).

2.3 INHIBITORY

Inhibice vzniku močových kamenů má největší význam při agregaci, ale některé látky ovlivňují i samotnou krystalizaci, kdy se může omezit vylučování urolitických látek ledvinami, nebo přítomnost inhibitorů zamezí precipitaci (Stejskal a Sadílek, 2007).

Řízená inhibice je však možná pouze pro kalcium fosfátové konkrementy, a to pomocí citrátu, hořčíku, pyrofosfátu a nefrokalcinu. Kalcium oxalátové močové kameny dokážou inhibovat tyto látky jako je citrát, pyrofosfát, glykosaminoglykany a Tammův-Horsfallův protein. Uráty nelze nijak inhibovat. Princip inhibice je postaven na tvorbě rozpustných

komplexů s urolitickými látkami. Již utvořené krystaly se z pravidla nerozpouští (Hanuš a Novák, 2008).

2.3.1 CITRÁTY

Citráty se v moči vyznačují důležitým podílem na inhibici kalcia a z něj tvořících se močových kamenů. Při dostatečném množství vitamínu D se v moči citráty zvyšují. Dalším faktorem ovlivňujícím hladinu citrátu v moči jsou hormony jako je růstový hormon, parathormon a estrogeny, které podněcují vylučování citrátu do moči. Lze proto pozorovat menší incidenci urolitiázy u žen ve fertilním věku. Naopak při metabolické acidóze, hypokalémii, hypomagnézii nebo působením androgenů lze zaznamenat pokles citrátů v moči. Především u acidóz dochází k poklesu citrátů díky metabolické spotřebě této látky v mitochondriích v renálních buňkách.

2.3.2 HOŘČÍK

Hořčík je při kalcium oxalátové litiáze brán jako látka snižující vznik oxalátových kamenů. Naopak při struvitové litiáze se na vzniku kamene podílí. Jeho množství v moči i v séru je proto vhodné při litiázách sledovat (Kawaciuk, 2009).

2.3.3 TAMMŮV – HORSFALLŮV PROTEIN

Tento protein je produkován tubulárními buňkami v ledvině v tlusté vzestupné Henlyho kličce. Fyziologicky se podílí na sodíkové rovnováze a tím zabraňuje tvorbě krystalů. Pomáhá regulovat tlak v ledvinách a sekundárně může zabraňovat zánětlivým procesům způsobených infekcemi v močovém traktu. Kromě jeho podílu v imunitní obraně proti bakteriálním infekcím se nově prokázal i obecný protizánětlivý účinek, který pomáhá zprůchodnit vývodné kanálky a tím pomáhá zabránit stagnaci moče. Molekula tohoto proteinu obsahuje vysoké procento cysteinu, špatně se rozpouští v neutrálním pH. Pokud však moč dosáhne alkalických hodnot, stává se z Tammova – Horsfallova proteinu gelovitá látka. To vytvoří na povrchu kanálků ochrannou vrstvu, za cenu zvýšení viskozity, a tedy snížení rychlosti prostupu. Pokud dojde k přílišné tvorbě proteinu, může se sám stát promotorem agregace močových kamenů (Tsai-Hung *et al.*, 2018).

2.3.4 pH

Složení kamene závisí na pH moči. Pokud je prostředí kyselé, nenacházíme většinou žádný výrazný výskyt bakterií v moči, tvoří se uráty a krystaly kyseliny močové. Oproti tomu

se v alkalické moči nachází bakterie, které podněcují vznik tripelfosfátového kamene – struvitu (Stejskal a Sadílek, 2007).

Kyselina močová se při pH 5,0 téměř nerozpouští (0,89mmol/l), ale již při pH 7,0 její rozpustnost stoupá o dva řády. Je tedy silně závislá na pH v ledvinách, na rozdíl od kalcium fosfátu, který je závislý spíše na jiných inhibitech. Fosfáty precipitují při pH vyšším jak 7,0. Cystin se oproti tomu začíná rozpouštět při pH 8,0 (Hanuš a Novák, 2008).

Při infekční urolitiáze se v moči vytváří amoniak a bikarbonát ury. To má za následek alkalizaci moči a tím se vytvoří lepší podmínky pro další růst bakterií. Při takovém to stavu nalézáme při diagnostice vysoké pH moči (Stejskal a Sadílek, 2007).

2.4 PROMOTORY

Promotory se podílejí na zvýšené tvorbě konkrementů především zvyšováním saturace. Při kalciové litiáze se nejvíce projevuje jako promotor natrium urát. Dále jsou sole sodíku a jejich hypersaturace v moči promotorem vzniku kamenů u cystinové, urátové a infekční urolitiázy (Hanuš a Novák, 2008).

2.4.1 DEHYDRATAČE

Nízký příjem tekutin má za následek přílišné zkoncentrování moče, které vede k hypersaturaci jinak fyziologického množství vylučovaných urolitických látek, které následně krystalizují. Na produkci močových kamenů se nepřímo může podílet i strava, zejména bílkovinného původu, cukry a kvasinky (Hora, 2020).

2.4.2 FARMAKA

Při lékové litiáze, někdy hovoříme o iatrogenní litiáze, je tvorba konkrementů v moči sekundární symptom, který nemá jinou příčinu vzniku nežli nevhodnou terapii jiného onemocnění či vlastní primární urolitiázy s infekční agens.

Mezi léky podporující urolitiázu se řadí sulfonamidy a jejich deriváty. Jsou velmi špatně rozpustné, a tak mohou poskytovat počáteční krystal na tvorbu. Antacida jako je na příklad hydrogenuhličitan sodný mohou při dlouhodobých vysokých dávkách navodit alkalickou moč, díky které se rozvine fosfátová litiáza. Některá antibiotika, mohou potencovat tvorbu kamene *per primam*. Kortikoidy se podílejí na vzniku kalciové litiázy. Diuretika a hypotenziva při dlouhodobém podávání zvyšují pH moči a tím dochází k tvorbě kalcium fosfátů (Křížek a Sadílek, 1990).

3 SLOŽENÍ MOČOVÝCH KONKREMENTŮ

V humánní i veterinární lékařské praxi se často používají triviální či mineralogické názvy močových kamenů. Nejčastěji se rozlišují na oxalát, urát a fosfát. Dále se mohou dělit na anorganické (kalcium oxalát, kalcium fosfát nebo magnézium-amonium fosfát) a organické (kyselina močová, urát, cystin a xantin). Smíšené a exogenní konkrementy se vyskytují ojediněle při léčbě urolitickými terapeutiky (Křížek a Sadílek, 1990).

Chemický název	Mineralogický název
kalciumoxalát monohydrát	whewellit, oxalát
kalciumoxalát dihydrát	weddelit, oxalát
karbonátapatit	dahlit
oxid křemičitý	křemen
kyselina močová	urát
fosforečnan vápenatý	apatit
xantin	-
cystin	-
fosforečnan hořečnato-amonný hexahydrát	struvit
hydrogenfosforečnan vápenatý dihydrát	brushit
močan amonný	urát
fosforečnan hořečnato-amonný monohydrát	dittmarit
fosforečnan hořečnatý oktahydrát	bobierrit

Tabulka 1 Souhrn chemických a mineralogických názvů (Dubanský, 1994)

Kationty, které se podílejí na vzniku močových kamenů, nejčastěji jsou Ca^{2+} , Mg^{2+} , NH_4^+ , méně časté jsou pak Na^+ , K^+ , Zn^{2+} a jiné. Anionty jsou nejčastěji oxalátové, fosfátové a urátové. Méně často jsou přítomny sulfáty. Při tvorbě konkrementu v organismu je nepravděpodobné, aby vznikající krystal a tím i konkrement měl izomorfní krystalickou mřížku. Tento fakt komplikuje identifikaci daného kamene, ačkoliv jeho vzhled je z makroskopického hlediska obvykle pro dané složení typický.

Pokud by byl konkrement podroben hlubší chemické analýze, zjistilo by se, že z pravidla žádný močový kámen není tvořen čistě z jedné chemické látky, ale obsahuje i stopové podíly jiných krystalů v moči obsažených (Dubanský, 1994).

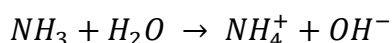
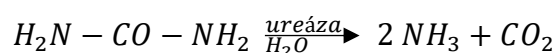
3.1 TYP MOČOVÉHO KAMENE

Výskyt látky minerálního charakteru musí být v rozmezí 80–100 %. Monominerální konkrement se vyskytuje u subakutních a akutních urolitiáz, kde je podíl převládající složky urolitické látky natolik velký, že inhibuje vznik krystalů jiných látek. Tento stav nastává u výrazných metabolických poruch. Při analýze smíšeného kamene se při makroskopickém

popisu setkáváme s velmi častým bizarním utvářením, kdy jsou časté vypouklé části a výběžky. Příčina je skryta v nerovnoměrném nárůstu jednotlivých složek konkrementu. U takového typu kamene lze dobře rozlišit jádro i jeho obalové vrstvy (Kučera *et al.*, 2007).

3.1.1 STRUVIT

Tento typ kamene je tvořen fosforečnanem hořečnato-amonným ($MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$). Vyskytuje se převážně u infekční urolitiázy, kdy je jeho vznik podmíněn enzymatickým štěpením urey bakteriemi produkující ureázu. Dochází k uvolnění amonného kationtu a hydroxylového aniontu. Díky zvyšujícímu se pH dochází k precipitaci fosfátů. (Teplan, 2006)



Neinfekční struvitová litiáza je proto z pravidla způsobena metabolickou poruchou, jakou je hyperparathyreoidismus nebo renální tubulární acidóza, kdy fosfáty v těle slouží jako pufr. Ledvinná sekrece fosfátů však neodráží pouze změny pH v organismu, ale i příjem potravou dokáže fosfátové litiázy způsobit. Nedostatek vitamínu D má za následek zvýšení hladin hořčíku v moči, a to může vést k tvorbě struvitu bez infekčních příčin (Kawaciuk, 2009).

Na saturaci a utváření struvitu má velký podíl vysoké pH moče. Kromě bakterií, které tvoří zásadité prostředí vhodné pro precipitaci se na utváření může podílet i metabolická acidóza, při které se amonný iont podílí na kompenzaci vylučováním do moči. Přesto je nejvýznamnější příčinou infekce. Z bakterií jsou to nejčastěji rod *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, rod *Klebsiella* a *Yersinia*. Mnohdy se prokáže i přítomnost *Escherichia coli*, která je brána za obvyklou sekundární infekci. V posledních letech sběr dat veterinářů ve vyspělých zemích ukazuje na častější infekce bakteriemi z rodu *Streptococcus* nežli rodem *Proteus*, což je zcela opačný závěr oproti trendu v humánní medicíně. Je však prokázáno, že se tyto dva rody mohou na vzniku struvitu podílet současně a v průběhu onemocnění se jejich poměr může měnit. Mykoplasmata mají pouze jednoho zástupce, který je schopen se podílet na tvorbě konkrementu za pomoci rozkladu močovinou pomocí ureázy. Je jím rod *Ureaplasma*, avšak na rozdíl od humánní medicíny, která ji považuje za příčinu struvitické infekční litiázy se ve veterinární medicíně zatím bere jako sekundární přidružená infekce. Hlavní podíl na tomto rozporu má její vymizení z močového systému psů a koček po odstranění struvitu z močové soustavy (Kučera *et al.*, 2007).

Struvity mají šedobílý vzhled, konzistence je většinou křehká. Neutváří velké konkrementy, ale vyskytují se spíše ve formě písku a malých kamenů. Struvitové krystaly se obalují okolo jiných objektů. Složení proto tvoří z velké části organická matrix, nejčastěji jim poslouží jako nukleační jádra bakterie (Halouzka a Krinke, 2000).

3.1.2 OXALÁT

Oxaláty jsou tvořeny v těle při produkci kyseliny askorbové, tryptofanu či oxidace glyoxalátu. Dietetické podmínky zvyšující výskyt oxalátové urolitiázy nejsou tak významným faktorem. Ledviny očisťují organismus od endogenně vzniklých oxalátů. Patologické stavy jsou proto záležitostí závažných enzymatických defektů. Při nedostatku pyridoxinu lze však oxalátovou litiázu léčit pouhou suplementací tohoto vitamínu. Na vzniku oxalátu se však mohou podílet i léčiva. Je zaznamenána oxalátová litiáza u denní dávky 1 g vitamínu C. Dříve často využívané inhalační anestetikum metoxyfluran při déle trvajících operacích způsobil dočasnou litiázu. Otravy ethylenglykolem jsou typické svojí tvorbou krystalů, a to nejenom v moči, ale při pitvě se oxalátové krystaly mohou nalézat ve všech tkáních. Oxalátovou litiázu je potřeba vyloučit při přetrvávajících průjmových onemocněních z důvodu malabsorpce žlučových a mastných kyselin ze střeva, které zvyšují svojí následnou přítomností prostupnost oxalátů do krve, ze které musí být následně vyloučeny ledvinami. Při těchto případech se k oxalátům může přidružit i urátová litiáza (Teplan, 2006).

Problémem při řešení oxalátových konkrementů nastává pro jejich nízkou rozpustnost. Oxaláty jsou ve střevě rozkládány pomocí bakterií *Pseudomonas oxalaticus* a *Oxalobacter formigenes*. Při jejich absenci lze pozorovat zvýšenou hladinu oxalátů v moči. Dalším faktorem podporující vznik oxalátů je vazba oxalátů s draslíkem, kdy vzniká jejich kalium – oxalátový konkrement, který je v moči jen obtížně rozpustný (Kawaciuk, 2009).

Hyperkalciurie může být způsobena sníženou resorpcí v renálních tubulech, kdy nedostatkem vitamínu D vzniká propouštění vápníku do moče a v neposlední řadě může být způsobena hyperparathyreózou. Toto má za následek tvorbu oxalátu v moči a jeho snadnou precipitaci po vazbě s vápníkem (Letavernier a Daudon, 2018)

Hyperoxalurie naopak bývá zjištěna u metabolizování kyseliny askorbové, glykolátu, tryptofanu, fenylalaninu a hydroxyprolinu. Absorpční hyperoxalurie je způsobena patologickým vstřebáváním metabolitů ze střeva mezi nimi i oxalátů. Kromě výše uvedených patologií je v poslední době pozorován nejen v humánní, ale i ve veterinární medicíně,

vzrůstající trend oxalátové litiázy v souvislosti s nadužíváním antibiotik a tím narušení střevního mikrobiomu (Kučera *et al.*, 2007).

Oxalátové kameny se makroskopicky vyznačují bílou až lehce nažloutlou barvou. Povrch je drsný s tendencí krystalizace do hrotů. Při dlouhodobější krystalizaci však nabývají z pravidla oválnějšího tvaru. Jsou tvrdé a obsahují jen velmi malé množství organické hmoty. Mikroskopickým vyšetřením lze rozpoznat pro ně typickou krystalovou strukturu jehlicových dvojlomných krystalů. Dříve byl obvyklý záchyt oxalátů u ovcí, nyní se setkáváme s nárůstem onemocnění u psů (Halouzka a Krinke, 2000).

3.1.3 URÁT A KYSELINA MOČOVÁ

Kyselina močová je konečným produktem metabolismu purinů, můžeme proto někdy hovořit o purinové litiáze. Samotná kyselina močová vzniká třemi způsoby, a to syntézou *de novo*, dietetickými přeměnami z přijatých bílkovin nebo tkáňovým metabolismem. Ketony a kyselina mléčná se pak podílejí na sekreci kyseliny močové (Teplan, 2006).

Na metabolismu purinů se významně podílí xantinoxidáza, která proměňuje hypoxantin na xantin a ten následně na kyselinu močovou. Člověk a dalmatinský kočárový pes se řadí mezi jedny z mála živočichů, kteří nejsou schopni produkovat enzym urikázu, která přeměňuje kyselinu močovou na ve vodě rozpustný allantoin. Kromě volné kyseliny močové se však může v moči vyskytovat i sodná sůl kyseliny močové. Nazýváme ho močan sodný, a jeho rozpustnost v moči je až dvacetkrát vyšší, proto ve většině případů jsou krystaly tvořeny pouze kyselinou močovou. Její sekrece v ledvinách je prováděna již při glomerulární filtraci, ale část je zpětně resorbována v proximálním tubulu. V distálním kanálku však probíhá sekundární sekrece, která již tvoří součást výsledné moče. Konkrementy jsou z pravidla doprovázeny vysokou koncentrací kyseliny močové v krvi (Kawaciuk, 2009).

Kromě plemene dalmatinů lze u psů a koček nalézt spíše močanové kameny. V močovém systému nacházíme močan amonný a močan sodný, který je méně častý, díky jeho vyšší rozpustnosti. U močanové urolitiázy se na jejím vzniku podílí nízké pH moči, hyperamonie a hyperurikémie. Zvýšené hodnoty kyseliny močové u dalmatinů však nezpůsobují urolitiázu ve všech případech, lze proto brát tuto genetickou predispozici jako rizikový faktor. U nefrolitiatických dalmatinů však byla zjištěna i nižší exkrece Tamm-Horsfallova mukoproteinu. Z celkového množství se pak asi u 10 % vyvine druhotná litiáza, nejčastěji struvitová následovaná oxalátovou a cystinovou. (Kučera *et al.*, 2007)

Od výše uvedených konkrementů je lze odlišit již vizuálně, kdy jsou na rozdíl od bílých krystalů jasně žlutavé až okrové barvy. Při drcení nevykazují vysokou denzitu a postrádají jasnou krystalickou strukturu. Povrch může být hladký i hrboletý. Chemickou analýzou zjištěné složení může být močan sodný i zároveň močan amonný. Analyzovat v urátu psů a koček můžeme v menším množství i kyselinu močovou a fosfáty (Halouzka a Krinke, 2000).

4 VYŠETŘENÍ MOČE

Mezi volby prvních laboratorních vyšetření patří vyšetření moče. Jde o jedno z nejdůležitějších diagnostických vyšetření, které lze před odběrem konkrementu provést. Parametry nám kromě typu urolitiázy mohou také poskytnout náhled na stav ledvin a vývodných cest močových.

4.1 ODBĚR

Volba způsobu odběru by se měla zohledňovat nejen pro potřeby laboratoře ale i potřeby pacienta a jeho stav.

4.1.1 SPONTÁNNÍ MOČENÍ

Spontánní mikce je nejjednodušší způsob odběru vzorku. Obvykle ho u zvířat provádí sám majitel. Spontánní močení má pro biochemický rozbor dostačující požadavky a má vypovídající charakter o celé močové soustavě. Velmi vhodná je také pro vyšetření hematurie, kdy invazivní metody mohou poskytnout falešně pozitivní výsledek. Nevýhodou je kontaminace a nedokonalé zachycení pouze středního proudu moče.

4.1.2 MANUÁLNÍ KOMPRESSE

Manuální komprese se provádí pomocí tlaku prstu přes stěnu břišní na močový měchýř. Lze si načasovat odběr, u kterého výsledky znovu vykazují stav celého močového systému. Riziko iatrogenní infekce je minimální. Nevýhodou je riziko poranění, ruptury močového měchýře a nutnost mít pacienta v celkové anestezii. Při infekční cystitidě, pak může nastat ascendentní postup bakterií díky odběru (Kovaříková, 2014).

4.1.3 KATETRIZACE

Katetrizace je prováděna jako diagnostický i terapeutický zákrok. Močovou trubicí je vedena katetrizační kanyla, která má za úkol odvést moč z močového měchýře. K diagnostice je používána díky minimální kontaminaci moči mikroorganismy z uretry. Umožňuje posoudit její průchodnost. Z terapeutické indikace je vhodné zmínit zprůchodnění močové trubice, přímá aplikace léků do močového měchýře nebo zviditelnění uretry při chirurgickém zákroku (Kovaříková, 2014; Feneley *et al.*, 2015).

4.1.4 CYSTOCENTÉZA

Cystocentéza je jedinou volbou, pokud chceme zabránit kontaminaci z uretry. Jedná se o punkci, která je prováděna v leže skrze kůži v oblasti předem nahmataného močového

měchýře. Při cystocentéze velkých plemen psů je možno provádět punkci ve stoje. Obecně je zvířaty brána lépe nežli katetrizace. Před každou punkcí ať terapeutickou či diagnostickou by měl být močový měchýř dobře hmatný, tedy být dostatečně naplněn (Kučera *et al.*, 2007).

4.2 CHEMICKÉ PARAMETRY

Nejvyužívanější metodou k chemickému vyšetření se používají diagnostické proužky, kdy vyhodnocení může probíhat optometricky laborantem, ale dnes spíše probíhá spektrometricky pomocí přístrojů.

4.2.1 STANDARTNÍ BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ

Běžně vyšetřujeme pH moče, kdy u psů a koček se fyziologické rozmezí pohybuje okolo 5,5 až 7,5. Pro přesnější měření lze využít pH metr, zvláště u podezření na urolitiázu nebo její následné terapie. Acidurie může nastat i při metabolické acidóze, renálním selhání, horečkách, diabetické ketoacidóze, katabolismu proteinů či dietě s vysokým obsahem proteinů. Alkaliurie naopak může nastat při infekcích ureáza-pozitivních bakteriích, metabolické alkalóze, zvracení nebo renální tubulární acidóze (Moe *et al.*, 2011; Thornton *et al.*, 2018).

Fyziologicky se bílkoviny v moči zvířat vyskytují do 30 mg/kg/den. Test je nejvíce citlivý na albumin. Při extrémních hodnotách pH může být test na bílkoviny nepřesný. U zvířat nesmíme zapomenout, že je jejich moč koncentrovanější, nežli je tomu u lidí (Kovaříková, 2014). Fyziologická hodnota glukózy v moči je běžnými testy nedetekovatelná, proto ji můžeme uvažovat za nulovou (Doležalová, 1995). Při makroskopické hematurii může dojít k falešně pozitivnímu výsledku. Ke ketonurii dochází při hladovění, diabetu nebo při nedostatečném přísunu sacharidů v dietě (Kotyza, 2007). Konjugovaný bilirubin může procházet glomeruly, protože je rozpustný ve vodě. U psích samců byla zjištěna schopnost tvořit bilirubin v renálních tubulech fyziologicky. Psi proto nemají ledviny citlivé na bilirubin, a tak nevykazují žádné patologie ani v hodnotách pro člověka zcela patologických. Naopak kočky jsou k bilirubinurii citlivé a jakýkoliv nálezný v moči je považován za patologický. Výskyt hemoglobinu v moči má dvě možné příčiny, prostup krevního barviva skrze glomerulus nebo rozpad erytrocytů již v moči obsažených. Při makroskopické hematurii lze pouhým okem postřehnout cca 0,5 ml krve v 1 l moče. To odpovídá 2 500 erytrocytům v 1 μ l (Kovaříková, 2014). Makroskopickou hematurii mnohdy doprovází i koagula, které značí krvácení v horních cestách močových. Občas díky koagulaci může dojít až k renálním kolikám. Při hematurii lze v moči často nalézt i signifikantní proteinurii. Pokud je vyšetření pozitivní na hemoglobin je potřeba mikroskopicky zjistit, zda jsou přítomny erytrocyty (Hora, 2020).

4.2.2 SPECIÁLNÍ PARAMETRY PRO BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ MOČE PŘI UROLITIÁZE

Při průkazu urolitiázy se dále musí určit typ močového kamene, pokud není možno zkoumat samotný kámen, je potřeba vyšetřit alespoň vzorky moče. Speciální vyšetření se mohou vést i po diagnostice, a to z důvodu sledování terapeutického postupu. Důležité je sledovat promotory krystalizace, kterými jsou metabolity kyseliny močové, vápníku, fosfor, kyselina šťavelová nebo třeba cystin. Stejně důležité jsou vyšetření inhibitorů vzniku konkrementů, kdy nejčastěji vyšetřujeme citrát a magnézium v moči. Novější výzkumy běžně zařazují do sledování i Tamm-Horsfallův protein, fragmenty RNA, troponin a další. Z minerálů je vhodné sledovat sodík, draslík, kalcium, magnézium, fosfor a chloridy. Výsledky se zanesou do speciálních programů společně s rutinním vyšetřením, kde je následně vypočítáno riziko krystalizace a agregace v závislosti na celkovém složení moče. Nukleaci lze měřit i v laboratorních podmínkách, ale k vzhledem k časové náročnosti a nízké frekvenci požadavků toto vyšetření běžné laboratoře nenabízejí (Stejskal a Sadílek, 2007).

4.3 MIKROSKOPIE

Při přípravě vzorku centrifugujeme obvykle 5 ml moči po dobu 5 minut při 3 000 otáčkách, aby došlo k sedimentaci, ale nikoli k lýze elementů a rozbití jiných částic. Výsledný sediment je obvykle desetkrát zakoncentrovaný. Pokud hodnotíme kvalitu, a tedy vyhodnocujeme pouze typ částic, stačí nám k vyšetření podložní a krycí sklíčko. Ke kvantifikaci používáme Bürkrovu komůrku nebo komerční destičky k odečítání počtu. Při nebarvených preparátech je vhodné mikroskopovat v zástínu. Většina urologů preferuje nebarvené preparáty, pokud je požadavek na cytologické barvení, je vhodné použít komerční kity Diff-Quick nebo Hemacolor (Kovaříková, 2014).

Mezi částice hodnocené při sedimentačním vyšetření patří přítomnost erytrocytů, které jsou nejčastějším nálezem v močovém sedimentu (Hora, 2020). Bílé krvinky jsou ve velmi malém množství obsaženy v sedimentu fyziologicky. Obvykle se jedná o neutrofilie. Patologické hodnoty vykazují stav nazývaný pyurie. Ploché epitelie jsou největší buňky zjišťované v močovém sedimentu (Michalec, 1988). Při bakteriurii by měl nález signifikantního množství bakterií při sedimentačním vyšetření indikovat kultivaci a následné mikrobiologické vyšetření (Kovaříková, 2014). Vznik válců je lokalizován v ledvině, kde je základní složkou pro tvorbu Tamm-Horsfallova proteinu, jeho precipitační mechanismus

v descendentních cestách močových zatím není zcela znám. Válce je potřeba centrifugovat velmi opatrně (Michalec, 1988; Brisbane *et al.*, 2016).

4.3.1 KRYSTALY

Faktory, které se podílejí na jejich tvorbě jsou shrnuty více. Při krystalurii ovlivňuje vyšetření teplota *in vitro*. Vzorek by se neměl kvůli pozdější precipitaci zmrazovat ani chladit. Krystaly se běžně pozorují pod zvětšením 400x. Většina krystalů je bezbarvá, a proto je vhodné volit zástin nebo polarizaci (Viggianno *et al.*, 2018; Shaikh *et al.*, 2019).



Obrázek 1 Přehled typů krystalů (Kovaříková, 2014)

Struvit je nejčastějším krystalem nacházejícím se u koček i psů. Jeho krystalické struktura vzhledem k vzniku v organismu nemusí být unifikantní. Nejčastěji však objevujeme struvitové krystaly bezbarvé šestiboké hranolovité. Někdy jsou pod mikroskopem pozorovány jako takzvané rakvičky. U koček můžeme pozorovat i tvar podobný kapradinám. Při poklesu teploty se velmi rád struvit formuje v alkalické moči *in vitro*. Pro jeho diagnostiku je typický obdélníkový tvar pozorovatelný v zástinu. Občas bývá tvar přirovnáván k žiletce (Kovaříková, 2014; Trimarchi *et al.*, 2015).

Kalcium oxalát je na rozdíl od jiných krystalů signifikantně menší. Typický tvar bývá zachován v jakémkoliv pH. Nacházíme vždy čtvercové útvary se spojenými protilehlými rohy,

keré tvoří tvar obálek. Trojrozměrnou strukturu si pak můžeme představit jako dvě pyramidy spojené svými základnami. K lepšímu získání přehledu o jejich struktuře je vhodné při mikroskopii proostřovat (Kovaříková, 2014; Queau *et al.*, 2020).

Uráty vznikají v kyselé, zásadité i neutrální moči. Na rozdíl od ostatních krystalů není bezbarvý. Jedná se o žlutohnědý až černý kulatý krystal s nepravidelnými výběžky. Při pomalé formulaci může být i bez výběžků. Někdy dokonce precipituje do amorfni hmoty. Kyselina močová se pak nejčastěji formuje do kosočtverců, které bývají bezbarvé nebo jen lehce nažloutlé (Kovaříková, 2014).

4.4 KULTIVACE A NOVÉ METODY DIAGNOSTIKY

4.4.1 UCHOVÁVÁNÍ VZORKŮ

Při preanalytické fázi je potřeba dbát na nestabilitnost moče, a to zvláště při vyšších teplotách a alkalickém prostředí. Doporučená doba, do které by měl být vzorek vyšetřen je 30 minut. Pokud není možné dodržet 30 minut, je nutné vzorek konzervovat. Chlazení vzorku na teplotu 2–8 °C udrží vzorek validní až po dobu 12 hodin. Erytrocyty a leukocyty jsou stabilní dlouhou dobu, ale změnou teploty může dojít ke krystalizaci, která poskytuje falešné výsledky. Mražení je ideální pouze pro biochemické vyšetření. Kyselina boritá funguje jako antimikrobiální konzervant v případě chemické, a hlavně sedimentační analýzy. Pro bakteriální vyšetření je nakonec nejlepší uchování při 4 °C (Kovaříková, 2014).

Z bakteriálního hlediska se při ponechání vzorku při pokojové teplotě může zvednout specifické hustota a pH. Bakterie obsažené ve vzorcích při odběru mohou odpovídat fyziologickým hodnotám. Pokud se však ponechají déle jak 30 minut při pokojové teplotě, lze pozorovat nárůst aerobních bakterií. Je proto důležité dbát na časnou konzervaci, a to především u vzorků odebraných spontánní mikcí, manuální evakuací moče nebo katetrizací. Při nedodržení správného postupu se nejvíce množí v moči *Proteus mirabilis*. Pro uchování vzorku k bakteriálnímu vyšetření pomocí qPCR lze vzorky mrazit na teplotu až -80 °C (Neumann *et al.*, 2020).

4.4.2 VLASTNÍ KULTIVACE

Vyšetření má za výsledek určení přesného druhu infekčního agens. Při určování typu bakterií způsobujících infekci močových cest se musí dbát na kontaminaci moče bakteriemi z uretry, kde se v malém množství vyskytují enterobakterie a grampozitivní koky. Z tohoto důvodu je vhodné provést i kvantifikaci (Čížek, 1999).

Bakteriologická kultivace je nezbytnou součástí vyšetření při urolitiázách. Mnohdy je kultivace moči negativní, ačkoliv se v krevním vyšetření jeví urolitiáza jako infekční díky zvýšeným leukocytům, proto je potřeba provést ještě kultivaci z močového kamene, který mnohdy obsahuje většinu živých bakterií, zatímco v moči se nenalézají životaschopné patogeny. Takovýto stav můžeme nalézt až u 20 % uroinfekcí (Kučera *et al.*, 2007).

Pokud nelze provést cystocentézu nebo je katetrizace provedena septicky, je možné ke kultivaci použít i moč, kterou kontaminoval mikrobiom uretry. V tomto případě je vhodné odečíst kultivaci moče s kultivací výtěru z močové trubice a u žen i z pochvy (Bartoníčková, 2000).

Pokud se prokáže bakterurie, je to stav, při kterém se v moči ze spontánní mikce nacházejí mikroorganismy přesahující 10^5 CFU/ml. O kontaminaci při katetrizaci mluvíme u 10^3 CFU/ml. Cystocentéza by fyziologicky neměla bakterie obsahovat. K dalšímu vyšetření se po nespécifické kultivaci může přistoupit ke stanovení citlivosti na antibiotika, kde se nanese na půdu bakterie a terčíky s antibiotiky. Pro následnou terapii je minimální inhibiční koncentrace velmi přínosná, protože léčba urologických infekcí i bez litiáz je velmi náročná. Kromě kultivace lze použít semikvantitativní testy, které jsou postaveny na selektivních půdách očekávaných mikrobů často způsobujících infekci urologické soustavy. Jedná se především o gramnegativní bakterie a enterokoky, u kterých se při průkazu odečítá barevná změna agarů. V moči lze kromě urolitických bakterií diagnostikovat i původce tuberkulózy *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* nebo kandidózy. V močovém ústrojí může být nalezena i *Trichomonas vaginalis* (Hora, 2020).

Kultivace nejčastěji probíhá na neselektivním kultivačním mediu CLED, které obsahuje cystin, laktózu a nedostatek elektrolytů, které brání překotnému růstu bakterií rodu *Proteus*. Toto medium je vytvořeno speciálně pro diagnostiku močových mikroorganismů. V porovnání s HiChrome agar je CLED výhodnější jak z hlediska ekonomického, tak z hlediska obecného růstu bakterií (Khalid, 2021).

Běžně se diagnostika provádí souběžně i na MacConkey agaru, který obsahuje žlučové soli, které brání grampozitivním bakteriím v růstu. Výjimku jsou enterokoky, které tvoří přesně ohraničené kolonie. Je vhodné uvažovat i průkaz *E. coli*, která může být kultivována na Endově agaru. Vzorek moči je vhodné před kultivací koncentrovat odstředěním. Následně vzorek přelijeme přes agarové plotny a zbytek necháme okapat. Kultivace probíhá klasicky při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin. Po inkubaci odečítáme počty kolonií jednotlivých bakterií, změnu

barvy agaru a navrhuje případný další postup mikrobiologického vyšetření (Kovaříková, 2014).

4.4.3 NOVÁ METODA DIAGNOSTIKY POMOCÍ qPCR

Metodika je určena k rychlé diagnostice a kvantifikaci *Pseudomonas aeruginosa*. Dokáže vyloučit falešně negativní výsledek při přítomnosti inhibitorů. Je metodou kvalifikační, jelikož lze určit bakteriální zátěž. Použití metody qPCR u rodu *Pseudomonas*, *Escherichia* a *Staphylococcus* je certifikováno pro humánní i veterinární užití. Metoda je velmi citlivá a zjištění bakteriální koncentrace se děje pomocí absolutní kvantifikace pomocí kalibrační křivky. Množství infekčního agens odpovídá jak živým, tak mrtvým bakteriálním buňkám, nelze proto z tohoto vyšetření vyvodit počet životaschopných bakterií, ale slouží k orientačnímu hodnocení bakteriální zátěže před začátkem terapie (Mikel *et al.*, 2015).

5 VYŠETŘENÍ KRVE

Vlastní močové kameny nemají na krevní parametry žádný vliv. Vyšetření se provádí za účelem zjištění primárního onemocnění vedoucího k tvorbě urolitiázy (Kučera *et al.*, 2007).

Krevní testy se zaměřují především na zjištění renální funkce, a to především pomocí plazmatické urey a kreatininu, podle kterého lze vypočítat glomerulární filtraci. Z hematologických vyšetření se sledují počty erytrocytů při podezření na anémii, leukocytózu a provádí se sedimentace erytrocytů (Hora, 2020).

Z minerálů lze stanovit inhibitory a promotory tvorby močových kamenů a jejich vyšetření je indikováno zvláště při zhodnocení dietetické terapie. Sledovanými parametry jsou fosfáty, draslík, hořčík, vápník a sodík. Při rozsáhlém poškození ledvin urolitiázou dochází k dysbalanci iontů i v krvi a značí ledvinné selhávání (Hanuš a Novák, 2008).

Při urátové litiáze pozorujeme anémii, mikrocytózu, alterace jaterních enzymů, a především hyperurikémie a hyperamonémie. Při cystinové litiáze se nachází v krvi zvýšené aminokyseliny. Kalcium oxalátová litiáza se vyznačuje hyperkalcemií, ale i zvýšenou aktivitou alkalické fosfatázy, doporučeno je i vyšetření na hyperadenokorticismus, který bývá primárním onemocněním (Kučera *et al.*, 2007).

6 VYŠETŘENÍ MOČOVÝCH KAMENŮ

Po vymočení či při chirurgickém vynětí kamene je vhodné provést rozbor jeho typu. Diagnostika urolitiáz se nejvíce opírá o vyšetření na základě přímého průkazu daného typu kamene. Následující vyšetření jsou založena na chemických i fyzikálních principech (Teplan, 2006).

6.1 MAKROSKOPICKÉ VYŠETŘENÍ

Mezi první postupy diagnostiky konkrementů se řadí makroskopický popis, kdy se posuzuje tvar, sktruktura, barva, konzistence, provádí se zkouška na přítomnost jádra a vrstev. Již zde můžeme objevit typické znaky pro daný typ močového kamene. Probíhá zde příprava na další vyšetření. Konkrement je drcen nebo mlet (Zvara a Revušová, 1988).

6.2 CHEMICKÁ ANALÝZA

Použití chemických analytických metod je spíše kvalitativního charakteru. Používá se pouze orientačně, protože na základní konkrement může krystalizovat jiná urolitogenní látka. Při potřebném drcení se navíc připravíme o materiál, který bychom mohli dále stanovovat, například mikroskopickým vyšetřením (Kawaciuk, 2009).

Z kvalitativních orientačních testů výsledky k diagnostice používají ještě dnes, na příklad v Německu, kde se vyšetření obvykle provádí pomocí komerčních kitů. Obecně se požaduje určení základního složení kamene (Kučera *et al.*, 2007).

Analytické metody dokážou chemicky prokázat důkaz NH_4^+ iontů při infekčních urolitiázách. Běžné vyšetření mohou být provedeny na ionty Ca^{2+} , Mg^{2+} , uhličitany, šťavelany, fosforečnany, kyselinu močovou, xantin, cystin nebo cholesterol (Michalec, 1988; Singh *et al.*, 2020).

6.3 MIKROSKOPICKÉ VYŠETŘENÍ

Klasická světelná mikroskopie se nejeví jako vhodná při určování typu kamene. Lze s ní odhalit drobná sekundární jádra konkrementů vzniklá agregací, které se především nachází u struvitů. Většinové zastoupení má polarizační mikroskopie a mřížková elektronová mikroskopie. Tyto metody dokážou kvalitně zobrazovat strukturu močového kamene, jejich krystalickou mřížku i matrix (Basiri *et al.*, 2012).

6.4 DALŠÍ VÝZNAMNÉ INSTRUMENTÁLNÍ ANALÝZY KONKREMENTŮ

Termogravimetrická analýza se dříve hojně využívala, protože nevyžaduje zvláště složitých metod. Dochází k ní k zahřívání konkrementů až k teplotám 1 000 °C a registrují se změny hmotnosti v průběhu navyšování teploty v čase. Nevýhodou je však velká nepřesnost, potřeba velkého množství analyzovaného materiálu a časová náročnost (Dubanský, 1994). Výhodou infračervené spektroskopie je nižší minimální požadovaná hmotnost vzorku. Hodnotíme absorbanci infračerveného spektra pro dané složky konkrementu. Absorbance je detekována spektrofotometrem (Zvara a Revušová, 1988). Při rentgenové difrakci bývá zachován konkrement v původním tvaru a podobě, nevýhodou je omezené použití pro méně časté typy močových kamenů. Nízká citlivost posunuje tuto metodu do semikvantitativních vyšetření. Výhodou je rychlé vyšetření, při kterém lze určit nejen čistě krystalické látky ale i amorfni. (Dubanský, 1994)

7 VÝSKYT UROLITIÁZY U PSŮ A KOČEK

Během života onemocní urolitiázou okolo 0,4 až 2,8 % psů. Někteří autoři uvádí až 3 %. U koček je urologický problém spíše hlenovitého charakteru, a tak nelze obstrukce brát jako pravou urolitiázu. Kočky totiž dokáží ve větší míře syntetizovat Tamm – Horsfallův mukoprotein. U psů se výskyt urolitiázy v posledních letech významně zvyšuje, a to především ve vyspělých zemích (Hunprasad *et al.*, 2019).

Z hlediska typů močových kamenů se u psů nejčastěji diagnostikuje struvitová litiáza, následovaná kalcium oxalátem. Některé statistiky uvádějí oxaláty jako převládající. Méně časté jsou pak urátové neboli purinové urolitiázy a nejméně byl zaznamenán výskyt cystinu. U koček se vyskytují pouze struvity a kalcium oxaláty (Kučera *et al.*, 2007).

Na rozdíl od menšího výskytu struvitů u lidí, je podíl zastoupení struvitové litiázy u psů okolo 55–58 % z celkového počtu případů tvorby močových konkrementů. Druhou nejčastější diagnostikovanou litiázou je oxalátová, ačkoliv u koček začíná převažovat právě ona. Snižující se trend struvitové litiázy u koček má příčinu v lepší dostupnosti z urologického hlediska acidických krmiv a krmiv terapeutických. K výraznému úbytku urolitiáz však nedošlo, pokles se vyváží nárůstem kalcium oxalátových urolitiáz. V mnohých případech se z krmiv proti struvitovým litiázám stává příčina oxalátových. Jedná se z pravidla o dietetické pochybení majitele, kdy se terapeutická krmiva dají sehnat na volném trhu a majitelé je za vidinou prodloužení zdraví svých mazlíčků zkrmuji bez nastavení dávky či laboratorních vyšetření (Kučera *et al.*, 2007).

8 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ UROLITIÁZU U PSŮ

8.1 VĚK

U tohoto onemocnění, kdy může být příčinou mnoho faktorů, se věkové rozmezí psů může pohybovat od 5 týdnů života, kdy je pravděpodobný výskyt geneticky podmíněné litiázy, jakými jsou ojedinělé cystinové, urátové a xantinové litiázy. Oxalátové litiázy a uroinfekční litiázy jsou zaznamenány až po geriatrický věk psa (Kučera *et al.*, 2007).

Průměrný věk, kdy propuká toto onemocnění, se pohybuje v rozmezí 5–8 let stáří psa. Se stoupající četností struvitové urolitiázy se však můžeme setkat se stále mladšími pacienty, a to již v juvenilním věku. U mladistvých psů lze uvažovat o původu z velkokapacitních chovů (Lulich *et al.*, 2016).

8.2 POHLAVÍ

Zatímco v raném věku psa lze pozorovat vysokou incidenci struvitové litiázy zejména u samců, se stoupajícím věkem se zvyšuje procento samic, to lze odůvodnit zvýšeným rizikem infekcí, díky kratší močové trubici a snižující se imunitní reakcí na její bakteriální osídlení. V dospělém věku je u samic vyšší prevalence k onemocnění oxalátovou litiázou. Z hlediska odlišné anatomie u psů a fen je při urolitiázách volena i terapie, kdy se obstrukce uretry může u fen řešit pouhou palpační evakuací. Naopak na lytickou dietetickou terapii často reagují samci lepšími výsledky rozpuštěných kamenů. Pokud je litolýza prováděna farmakou, lze ji aplikovat pouze u fen, u kterých byla vyloučena gravidita (Kučera *et al.*, 2007).

8.3 PLEMENO

V odborných kruzích je nejvíce spojováno s litiatickými problémy plemeno dalmatinských kočárových psů. U tohoto jediného plemene se lze velmi často setkat s tvorbou kamenů kyseliny močové. Vyšší výskyt bývá obvykle u samců. Purinová litiáza se v podobě urátových kamenů často vyskytuje u Jorkširských teriérů a kokršpanělů (Kučera *et al.*, 2007). Poslední výzkumy ukazují na hereditární dědičnost u cystinové a urátové litiázy u plemen jezevčíků, irského teriéra, baseta a anglického bulldoga. Zvýšený výskyt daného typu urolitiázy u plemen je však těžký průkazně dokázat, jelikož procenta daných plemen trpících urolitiázou jsou podmíněna i popularitou v dané zemi či lokalitě, kde jednotlivé průzkumy probíhají. (Burggraaf *et al.*, 2021). Genetická predispozice k tvorbě struvitu se zatím neprokázala a bere se jako výhradně záviselá na vnějších faktorech. Přesto je její výskyt zaznamenán ve větší míře u kokršpanělů, německých ovčáků, shi-tzu a čau-čau (Kučera *et al.*, 2007).

9 LOKALIZACE UROLITIÁZY

Pro diagnostiku pomocí klinických příznaků je velmi potřebné rozlišovat lokalizaci kamenů. Je však důležité neopomíjet fakt, že zárodky močových kamenů se formují již v ledvinách a poté postupují celým systémem, proto se musí brát v potaz i méně významné symptomy, které mohou vycházet z jiné než hlavní lokalizace (Kučera *et al.*, 2007).

Bolestivost při močení nastává již při prvních vznikajících konkrementech a bolest může být vyvolána i nadměrným množstvím krystalů iritujícím močové ústrojí. Přidružená nebo i primární infekce způsobuje palčivé pálení, které se u zvířat projevuje neochotou močit, delší dobou močení nebo náhlou plachostí. Obvykle nejsou výraznější projevy, a tak bývá prvním symptomem až renální kolika. Ta však může nastat i z plného zdraví (Kopečný *et al.*, 2021)

Bolest se nese podél močovodu do třísla a obvykle je jemnou palpací ihned lokalizována. U nekastrovaných samců si lze povšimnout zatahování varlat, což je důkaz silně se rozlévající bolesti. Od rozlišení náhlé příhody břišní lze kolikové bolesti rozlišit díky nepřítomnosti tachykardie. Koliky často doprovází neklid zvířete na lůžku. Velmi bolestivá bývá palpace ledviny, která bývá na pohmat tužší (Hora, 2020). Provádí se hned pod svalem bederním, ale někdy bývá bolestivé již sáhnutí na záda zvířete. Zvracení může doprovázet onemocnění především u koček (Kučera *et al.*, 2007).

Příznaky infekce horních cest močových jsou často přehlédnuty. Velmi výrazným symptomem je horečka, kdy se při 40 – 43 °C dostavuje třes a celková schvácenost (Kučera *et al.*, 2007). Silná bolestivost v oblasti infekce může v intervalech projíždět páteří a pacient se často kroutí do úlevové polohy. V ordinaci je velmi vhodné přistupovat opatrně k palpaci a dnes, když je ultrazvuk cenově dostupný i k sonografickému vyšetření (Bartoníčková, 2000). Nejčastěji je prvním příznakem pálení při močení. U zvířat je potřeba sledovat četnost močení a kontinenci. U fen je především potřeba sledovat výtok a jeho makroskopické vlastnosti jako barvu, konzistenci nebo zápach. Je vhodné u veterináře prohmatat močový měchýř (Lulich *et al.*, 2016).

10 UROINFEKCE

Fyziologicky se v močovém ústrojí nenachází žádné bakterie, dříve se bralo, že lze moč pokládat za sterilní. Ta je však při spontánním močení kontaminována bakteriemi nacházejícími se v uretře. Ta je osídlena v dolní části zcela fyziologicky a za normálních podmínek nezpůsobuje infekční zánět. Zjištěnou přílišnou kontaminací moče však lze předpokládat patologický proces (Kolářová, 2020; Beneš, 2009).

Onemocnění nejčastěji probíhá ascendentní cestou, tedy od ústí močové trubice do nitra močové soustavy. Přírodním rezervoárem je uretra zejména pro enterobakterie, pseudomonády, mikrokoky a streptokoky. Asymptomatické osídlení vagíny a genitálu, či bakterie fekálního původu mohou způsobit infekce při ascendentním postupu močovým traktem. Komunitní infekce jsou způsobeny 75 % *Escherichia coli* a dalšími gramnegativními bakteriemi (Bartoníčková, 2000).

Důležitým kmenem podílejícím se na urolitiáze, je *Proteus mirabilis*. Kdy pouhá infekce močových cest vede k tvorbě močových kamenů. Není zde nutná metabolická dysbalance a tím pádem odlišné chemické složení moči (Černohorská a Chvílová, 2011).

Dalším významným zástupcem je *Ureaplasma urealiticum*, což je mykoplazma, která dokáže štěpit ureázu a je běžnými vyšetřovacími kultivačními postupy nezachytitelná. Konkrementy mohou být kolonizovány jinými druhy bakterií, než jsou jejich původci, které poskytují prostředí pro tvorbu močových kamenů (Bartoníčková, 2000).

10.1 INFEKČNÍ UROLITIÁZA

Bakterie napadající močové cesty jsou nejčastěji gramnegativní, které dokážou štěpit močovinu. Tímto principem vzniká alkalické prostředí. Ureáza pozitivní mikroorganismy produkuje dvě molekuly amoniaku a jednu molekulu oxidu uhličitého z každé molekuly močoviny. Po krystalizaci struvitu vzniká trivalentní forma fosfátu a zdroj amoniaku. Mezi bakterie způsobující urolitiázu patří všechny kmeny *Proteus* sp., *Klebsiella* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Yersinia*, *Providentia alcalifaciens*, *Ureaplasma urealyticum*, *Corynebacterium urealiticum* (Stejskal a Sadílek, 2007).

10.1.1 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ VZNIK KONKREMENTŮ U INFEKČNÍ LITIÁZY

Bakteriální infekce může být jak příčinou, tak i následkem tvorby močových kamenů. Toxické poškození epitelů vedoucí k nekróze může způsobit ukládání fosfátu a tím vytváří základ pro tvorbu tzv. Randallových plátů. Bílkovinné sraženiny ze shluků mikrobů či epitelů jimi narušenými dávající další podnět v přesycené moči k tvorbě konkrementů. Peristaltika močových cest je narušena zánětem a působením bakterií, což umožňuje lepší vzestup mikroorganismů močovým ústrojím a tím dochází k rychlejšímu šíření infekce. V již přesycené moči fosfáty, tedy alkalické moči se pH ještě zvyšuje produkcí amoniaku. Díky tomu precipitují konkrementy, které nadále rychle rostou. Pokud je infekce sekundární, nastává zde smíšený kámen, který je tvořen v jádru oxalátem a povrch je tvořen fosfátem. Mikrobiální ureáza má toxický účinek na nefrony, kdy vznikají nekrózy tubulárních buněk při pokročilé infekci močových cest (Křížek a Sadílek, 1990).

11 VÝZNAMNÉ INFEKČNÍ AGENS PŘI UROLITIÁZE

11.1 ROD *PROTEUS*

Do rodu *Proteus* spadá osm hlavních druhů. Dříve byli pro svoje podobné vlastnosti do tohoto rodu řazeny i bakterie z rodu *Morganella* a *Providencia*. *Proteus* je však na rozdíl od nich charakteristický svým plazivým růstem připomínající vlny na moři. Odtud pochází jeho název. Tento jev je způsoben díky jeho výborné schopnosti pohybu. Agar, který omezuje plazivý růst je deoxycholátcitrátový agar. Pro tyto bakterie je specifická výrazná proteolytická aktivita. Mohou se proto mimo hostitele podílet na rozkladu odpadních látek bílkovinného charakteru. V hostiteli je pozorován výskyt ve střevě bez příznaku infekce a jako patogen je popisován jako přední infekční agens při uroinfekcích. Rány imunosuprimovaných a onkologických pacientů často obsahují bakterie rodu *Proteus* také (Julák, 2015).

Díky plazivému růstu *Proteus* netvoří jasně uzavřené ohraničené kolonie. Jejich výskyt je popsán na širokém rozpětí materiálů, a to nejenom živočišného původu, ale i na rostlinách. Při diagnostice slouží biochemické testy na štěpení močoviny, protože *Proteus* dokáže velmi dobře štěpit ureu díky ureáze. *Proteus* bývá pod mikroskopem popisován jako rovná gramnegativní tyčinka, nativně pohyblivá. Z běžných biochemických testů pak vyplývá, že rod *Proteus* produkuje katalázu nikoliv oxidázu. Z hlediska kultivace je nenáročný, a i na běžných mediích jako je krevní agar je dobře pozorovatelný jeho plazivý růst se změnou barvy z červené na čokoládově hnědou. Za charakteristický zápach může jeho produkce sirovodíku (Schaffer a Pearson, 2015).

Z hlediska kyslíkové potřeby bývá řazen mezi fakultativně anaerobní. Mimo hostitele pak pozorujeme zvýšenou tvorbu sirovodíku při rozkladných hnilobných procesech. Ten lze prokázat na selektivně-diagnostické půdě deoxycholátcitrátového agaru, kde tvoří zprvu bezbarvé kolonie s černajícím středem, postupně tmavnou i okraje. Nejvýznamnějšími druhy jsou *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* a *Proteus penerii*, které lze od sebe odlišit biochemickými testy, kdy *Proteus vulgaris* a *Proteus penerii* produkují indol a mohou zkvašovat maltózu. *Proteus mirabilis* toto neumí, ale naopak syntetizuje dekarboxylázu ornitinu (Klaban, 2001).

Morfologicky se *Proteus* podobá enterobakteriím, které však nemají takové množství bičíků. Vysoká patogenita je u protea způsobena ureázovou aktivitou, která tvoří amoniak, který dráždí sliznice a tím podněcuje k dalšímu bakteriálnímu osídlení. Kromě toho může způsobovat plazivý růst protea skrytí růstu jiných typů bakterií na plotnách tím, že je přeroste.

Proto je Raussův fenomén nežádoucí, a eliminuje se kultivací na MacConkey agaru (Kolářová, 2020).

Někdy jde u některých kmenů *Proteus vulgaris* a *Proteus mirabilis* pozorovat reakci antigen protilátka, kdy lze aglutinovat krev pacientů s riketiózou, protože jsou antigeny protea velmi podobné antigenům rikettcií (Beneš, 2009).

Proteus je schopen v organismu i mimo něj tvořit biofilm, kdy se vytváří tenká vrstva bakterií za zmenšení objemu svých buněk, díky tomu má vyšší schopnost adheze (Klaban, 2001). Virulence u bakterií rodu *Proteus* je vysoká hlavně z důvodu odolnosti v nepříznivém prostředí, jako je tomu v nemocnicích. Jeho invazivita je navíc usnadněna díky fimbriím, to umožňuje přilnutí a následný průnik a šíření organismem. *Proteus* adhuje k epitelům a to hlavně v horní části močových cest. Fimbrie jsou účinné při kolonizaci umělých povrchů jako jsou katetry, nejsou proto účastníky zánětlivých reakcí, ale podílejí se jen na vzniku iatrogenních infekcí močového traktu. Fimbrie jsou nejdůležitějšími činiteli infekční urolitiázy, kdy se přichycují k močovému měchýři a obsahem specifických receptorů zvyšují jejich virulenci. (Peroutková a Holá, 2011).

Proteus mirabilis poškozují mikroskopickou strukturu více nežli jiné druhy infekčních činitelů u urolitiázy. *Proteus* je schopen tvořit β -laktamázy, které snižují účinnost antibiotik. Kromě výskytu enzymů se tvoří biofilm, který navíc v nepříznivých podmínkách dokáže díky ureáze zkrystalizovat, což vytváří vhodnou matrix pro vznik kamenů. Jako zcela nevhodná antibiotika se jeví ampiciliny, ciprofloxacin a gentamicin (Černohorská a Chvílová, 2011).

11.2 ROD *PSEUDOMONAS*

Nejvýznamnějším druhem je *Pseudomonas aeruginosa*, která se dobře prokazuje biochemicky i antigeně. Výskyt v organismu může být jak v respiračním traktu, tak v močovém ústrojí (Mielko *et al.*, 2019).

Rod *Pseudomonas* je striktně aerobní, nedokáže sporulovat ani zkvašovat cukry. V barvení dle Grama pozorujeme červené zbarvení rovných mírně zahnutých tyčinek, je tedy gramnegativní. Snadná je kultivace na běžných půdách, kdy na krevním agaru hemolyzuje. Na ostatních půdách vykazuje kovový lesk, pigmenty produkované do půd, pak mohou nabývat modrozelené barvy u pyocyaninu a žlutého fluoresceinu. Je schopna růst v půdách obsahujících jako zdroj dusíku amonné soli a acetát jako zdroj uhlíku. Je velmi odolná proti vysokým koncentracím solí, dezinfekčním prostředkům a také velkému spektru antibiotik. Díky

slizovitému pouzdru může přežívat v nepříznivém prostředí, a navíc je schopna růst ve velkém teplotním intervalu 20–42° C (Julák, 2015). Z biochemických běžných testů vychází pozitivně výsledek na produkci oxidázy i katalázy (Mielko *et al.*, 2019).

Virulence je hlavně způsobena slizovitým pouzdrém, schopností pohybu, lipopolysacharidy u mukózních fází růstu navíc obsahují alginát, který slouží jako obal proti fagocytóze. Velkým problémem při léčbě je schopnost pseudomonád rychle vytvářet rezistenci vůči antibiotikům (Julák, 2015). Hlavním problémem s dezinfikováním povrchů a pomůcek ve veterinárních i humánních zařízeních je u pseudomonád tvorba velmi odolného biofilmu, který bývá často příčinou nozokomiálních nákaz. Z pravidla se na uroinfekcích podílí pouze jeden druh pseudomonád, a to *Pseudomonas aeruginosa* (Kolářová, 2020).

11.3 ROD *CORYNEBACTERIUM*

Do rodu *Corynebacterium* se řadí hodně heterogenních druhů bakterií, které sdílí společné znaky jako kyjovitý tvar, fakultativně anaerobní kyslíkové hospodářství nebo nemožnost sporulace. Při biochemických testech tvoří katalázu, výjimečně poskytují pozitivní výsledky na oxidázu. Odolnost vůči nepříznivému prostředí není tak výrazná jako u pseudomonád nebo protea, proto je bráno, že k infekci dochází z pravidla kontaktem s jiným nemocným, kdy se bakterie mohou nacházet jako součást mikroflóry kůže a sliznic u méně vnímavých jedinců (Kolářová, 2020).

Corynebacterium urealiticum je lipofilní povahy a tím lépe dokáže kolonizovat kůži. Jejich rezistence k penicilinům, cefalosporinům a aminoglykosidům z nich dělá terapeuticky obtížně léčitelné infekce (Beneš, 2009).

Na mikroskopickém vyšetření můžeme nalézt grampozitivní až gramlabilní tyčinky kyjovitě zahnutého tvaru, které jsou uspořádány do palisád nebo do tvaru písmene V. Lze je nalézt i jednotlivě (Kolářová, 2020). Kultivace je vhodná na krevním nebo čokoládovém agaru, kde nacházíme šedobílé kolonie (Salem *et al.*, 2015).

Složení buněčné stěny corinebakterií se liší obsahem kyseliny diaminopimelové, kyseliny mykolové, arabino galaktinem a menachinony. *Corynebacterium urealitikum* lze dobře kultivovat na krevním agaru. Běžně je součástí kožní mikroflóry, odkud se může dostat při urolitiáze a minerální dysbalanci do močového měchýře především. Podílí se aktivně na tvorbě kamenů a podporuje i inkrustaci měchýře (Sokol-Leszczynska *et al.*, 2019).

11.4 ROD *UREAPLASMA*

Tento rod patří do skupiny mykoplazmat, které jsou považovány za nejjednodušší bakterie, které neobsahují peptidoglykan. Jejich buněčná stěna obsahuje cholesterol, který je vhodný při jejich kultivaci dodávat půdou. Tvarem jsou kulovité koky, ale v případech tvoří i prstence nebo vlákna kvůli jejich měkké stěně, od toho je odvozen jejich společný název mykoplazmata. Membrána kromě cholesterolu obsahuje i velké množství bílkovin, to poskytuje bakteriím velkou stabilitu vůči osmotickým výkyvům. Při infekcích se *Ureaplasma* váže na povrch. Produkce peroxidu vodíku působí na buňky hostitele jako hemolyzin a cytotoxin. Amoniak se díky ureáze také podílí na rozpadu buněk u druhu *Ureaplasma urealiticum*, která dokáže produkovat i fosfolipázu. Kultivace se provádí na PPLO agaru, a to až po dobu 5 dní anaerobně. Proto je vhodnější diagnostikovat pomocí PCR průkazu (Julák, 2015).

Morfologie je díky absenci peptidoglykanu složitá, protože bakterie nedrží stálý tvar a záleží na stádiu růstu a druhu kultivace. Mykoplazmata nemůžeme barvit dle Grama, provádí se zvýraznění bakteriálních buněk dle Giemsky. Diagnostika infekcí *Ureaplasma urealiticum* závisí na přímém průkazu. Sérologie je v tomto ohledu nepřesná z důvodu nízké tvorby protilátek, jelikož se jedná o primární infekční agens pouze v případě imunosupresovaných pacientů. (Beneš, 2009)

11.5 ROD *ENTEROCOCCUS*

Enterokoky byli dříve považováni za streptokoky se specifickým antigenem D. Jejich uspořádání je však spíše do dvojic nebo jsou pozorovány jako malé řetízky. Bývají nenáročné na typ kultivačního média. Jsou schopni růst v širokém rozmezí kyselého i zásaditého prostředí, nevadí jim hyperosmotické roztoky a teploty v intervalu 10-45 °C. Na jejich virulenci se podílí vazba na buňky hostitele, kdy agregační substance, polysacharidové a kolagenní adheziny pomáhají k přilnutí na povrch buňky. Obsahují navíc toxin cytolyzin. (Kolářová, 2020)

V ojedinělých případech byli u enterokoků pozorovány bičíky. Díky fermentaci tvoří kyselinu mléčnou. Střevní komenzální enterokoky dokážou tvořit enterociny, které potlačují konkurenční bakteriální osídlení střevního mikrobiomu. U uroinfekcí nebyla tato tvorba prokázána, naopak byly detekovány adheziny, které mají vliv na virulenci v močovém traktu tvorbou biofilmu. Dále se patogenita projevuje tvorbou želatinázy, která hydrolyzuje kolagen či se podílí na úplné hemolýze. K detailní identifikaci je vhodné použít metodu PCR. (Julák, 2015)

Enterokoky mají přirozenou rezistenci vůči antibiotikům i dezinfekcím. Důležité je pro správnou terapii diagnostikovat určitý kmen enterokoků, jelikož *Enterococcus faecalis* je citlivý k aminopenicilinům, ale *Enterococcus faecium* je k nim zcela rezistentní. Další druhy pak vykazují rezistenci k vankomycinům, a to buď primární nebo sekundárně získanou. K identifikaci se od roku 2016 běžně používají En-coccus testy na biochemickém principu reakce. Nejčastější patologická infekce byla pozorována v močovém měchýři a dalších cestách vývodných, méně často v pohlavním ústrojí a skoro žádný výskyt nebyl zachycen na kůži. U kmenů z urogenitálních stěrů a kultivací z moče lze pozorovat kmeny rezistentní na nitrofurantoin a vankomycin. V letech 2007-2015 byl pozorován dvojnásobný záchyt infekcí těmito bakteriemi oproti letům předchozím. Jejich rezistence vůči antibiotikům je společně s faktorem infikování jedinců se slabší imunitou závažnou komplikací při léčbě. Je proto vhodné před začátkem terapie provést nejen specifikaci kmene, ale i jeho minimální inhibiční koncentraci k navrhovaným antibiotikům. (Kučerová, 2021)

11.6 ROD *ESCHERICHIA*

Rod *Escherichia* tvoří rovné gramnegativní tyčinky, které jsou pohyblivé kromě *Escherichia alberti* a *Escherichia blattae*. Tvoří pouzdra z polysacharidu. Jsou pozitivní při zkoušce na katalázu nikoliv oxidázu. *Escherichia coli* je nejrozšířenější druh. Má anaerobní aktivitu, je nenáročná na kultivační média. Dle kmenového sérotypu hemolyzuje na krevním agaru za tvorby šedobílých kolonií. Ze selektivně-diagnostických půd ji můžeme vykultivovat na Endově agaru za vzniku purpurového zbarvení, kolonie mívají zlatavý lesk. Na MacConkey agaru vyrůstá jako růžová kolonie. XLD agar poskytuje s *Escherichia coli* žluté zbarvení. Agar s brilantní zelení se po kultivaci zbarví žlutozeleně. Ve všech výše uvedených případech má kolonie shodnou barvu se zbarvením půdy jen je odlišná intenzita (Julák, 2015).

Escherichia coli tvoří významného patogena při uroinfekcích díky anatomicky dobrému urofekálnímu přenosu, zvláště u samic. Uropatogenní kmeny označované UPEC jsou stále častěji diagnostikovány, nejvíce v posledních letech typ O131 s vyšší virulencí a rezistencí k běžně užívaným antibiotikům. Patogeneze je navíc způsobena tvorbou adhezínů, které umožňují přichycení ke stěně močového měchýře. Kultivací na krevním agaru pak lze prokázat i hemolysin, který způsobuje destrukci erytrocytů. (Kolářová, 2020)

12 TERAPIE

12.1 KONVENČNÍ TERAPIE INFEKČNÍ UROLITIÁZY

Mezi nechirurgické léčebné postupy patří snížení dilatace močového měchýře katetrizací nebo cystocentézou. Urohydropropulze, což je proplachování močového měchýře a močové trubice, se provádí za účelem vyplavení konkrementů. Při infekčních urolitiázách lze použít k výplachu antiseptika nebo aplikovat antibiotika. Aby měl zákrok úspěch je potřeba ho opakovat (Svoboda *et al.*, 2001).

Palpace je jednou z nejprimitivnějších metod, kterou lze z anatomických důvodů při obstrukci močové trubice použít pouze u samic. Pohmatem se z pochvy či rekta zjistí poloha kamene v uretře a poté se manuálně přes stěnu střeva a uretry kámen evakuuje nebo je přemístěn dočasně zpět do močového měchýře (Kučera *et al.*, 2007).

Extrakorporální litotrypsy má za pomoci rázových vln vytvářených mimo tělo pacienta za úkol rozbít konkrementy (Musil *et al.*, 2014). Ve veterinární medicíně se zatím do praxe dostává tato neinvazivní léčba málo z důvodu vysoké pořizovací ceny a menší účinnosti na struvitové a kalcium oxalátové kameny (Kučera *et al.*, 2007).

Litolýza je ve veterinární medicíně nejčastější volbou léčby urolitiázy, kdy dochází k rozpuštění vzniklých kamenů. V humánní medicíně nedosahuje litolýza zdaleka takových výsledků jako je tomu u zvířat (Kučera *et al.*, 2007).

V první fázi je vhodná vysoká vodná diuréza, kdy se ředí koncentrace urolitických látek v moči. Zajistit ji lze infuzními roztoky, nejčastěji fyziologickou koncentrací NaCl nebo Ringerovým infuzním roztokem. Doporučeno je při pokračující terapii podávat minerální složky podílející se na inhibici močových kamenů. Pokud se povede zavést katetr, lze kameny rozpouštět na základě změny pH v neprospěch krystalizace urolitogenní látky (Stejskal a Sadílek, 2007).

Po majitelích je požadováno venčení minimálně pětkrát denně za účelem zvýšení frekvence močení. To vede k omezení stagnace moče a tím snížení precipitace (Kučera *et al.*, 2007).

12.2DIETETICKÁ TERAPIE

Jedná se o nejčastější terapii ve veterinární medicíně, pokud nenastává život ohrožující stav. Jejím cílem je metabolickými procesy při vstřebávání živin z trávicího traktu ovlivnit koncentraci urolitogenních látek omezením příjmu v potravě nebo zvýšením příjmu inhibitorů. Sestává se z terapeutických krmiv a léčiv podávaných *per os*. Jejich společným cílem je úspěšné zabránění recidiv, znemožnění pokračujícího růstu konkrementů a v ideálních případech i jejich rozpouštění (Rinkardt a Houston, 2004).

12.2.1STRUVITOVÁ LITOLÝZA

Struvitová litolýza přináší výsledky obvykle za 2 měsíce od zahájení terapie, poté co je průkazně diagnostikován typ konkrementu. U struvitů by se vždy před začátkem mělo provést antibiotické přeléčení infekce. Následná dieta může být kalkulolytická, kdy je v podávaném krmivu nízký obsah bílkovin, fosforu a hořčiku, což má za následek snížení koncentrace močoviny a nedostatečné přesycení moče stavebními látkami kamene. Dieta je vhodná dodržovat nejdéle půl roku. Krevní testy totiž vykazují při této terapii nízké hladiny albuminu (Kučera *et al.*, 2007). Novější metodou je podávání inhibitorů ureázy, kdy se aplikuje kyselina acetohydroxamová. Princip spočívá v podobné molekulární struktuře, jakou má močovina, a tak nastává kompetice v aktivním místě ureázových molekul. Toto vede k omezení tvorby kamenů, dávky potřebné k dosažení urolitolýzy jsou však toxické. Podání je kontraindikováno při březosti, kdy jsou terapeutické dávky teratotoxické (Mishina *et al.*, 2000).

12.2.2URÁTOVÁ LITIÁZA

Ve většině případů se uráty vyskytují jen minoritně v porovnání se struvity. Jako účinná léčba se jeví snížený příjem bílkovin, což má za následek zvýšenou diurézu, snížení koncentrace kyseliny močové a amoniaku v moči. Alkalizační efekt nastává za 14 dní až měsíc. Alkalizace však můžeme dosáhnout i podáváním hydrogenuhličitanu sodného nebo citrátu draselného (Kučera *et al.*, 2007).

12.2.3KALCIUM OXALÁTOVÁ LITOLÝZA

V praxi je neuskutečnitelná, protože je kalcium oxalát stabilní v širokém spektru pH. Obvykle je etiologie tohoto typu litiázy genetického nebo metabolického charakteru a díky tomu je dietetickými postupy neodstranitelná. Byli však zaznamenány případy výživových chyb ze strany majitelů, které vedli ke krátkodobé oxalátové litiáze. Oxaláty byly zaznamenány po podávání vitamínu C, černého čaje, čokolády a některých typů ovoce obsahujících vyšší dávky vitamínu C (Kučera *et al.*, 2007).

12.3 CHIRURGICKÁ TERAPIE

Samotné chirurgické úkony jsou vedeny dle přesné lokalizace močového kamene. Jejich pozici je vhodné ověřit dvěma metodami, nejčastěji je používán rentgen nebo ultrazvuk, palpace je vhodná při umístění kamene v uretře nebo močovém měchýři. Rentgenové vyšetření může pomoci i při diagnostice typu močového kamene, kdy se posuzuje prostup rentgenových paprsků kamenem. Pro potvrzení obstrukce je možné použít kontrastních látek. Počítačová tomografie je obvykle pro majitele cenově nedostupná. K operaci je vhodné přistoupit v případech, kdy je na zobrazovacích metodách zjištěn velký močový kámen nebo normálně zúžené cesty močové, na příklad při infekci (Hanuš a Novák, 2008).

12.3.1 UROCYSTOLITIÁZA

Chirurgické zákroky na močovém měchýři jsou méně komplikované, proto se při obstrukci uretry snažíme alespoň o přemístění kamene do močového měchýře. Z akutní obstrukce se stává pouze urocystolitiáza, která je snáze chirurgicky řešitelná. Při otevření močového měchýře musí být evakuovány všechny kameny a před uzavřením se musí kontrolovat s předchozí provedenou zobrazovací metodou počet nalezených močových kamenů (Kučera *et al.*, 2007).

12.3.2 NEFROLITIÁZA

Kameny v ledvinách způsobující ledvinné koliky jsou na tolik závažné, že mnohdy musí dojít k odebrání ledviny. Pokud je pacient postižen bilaterálně, nelze odebrat močové kameny z obou ledvin zároveň. Při postižení ledvin je vhodné vyšetřit jejich rozsah poškození biochemickými testy a zároveň zobrazovacími metodami (Teplan, 2006). Po chirurgickém vyjmutí je vhodné podávat diuretika a infúze z důvodu omezení tvorby krevních sraženin v tubulech a pánvičce ledvinné. Renální parenchym při infekcích nebývá tolik postižen, a proto je zde dobrá prognóza (Svoboda *et al.*, 2001).

12.3.3 URETEROLITIÁZA

Obstrukce močovodu je chirurgicky špatně řešitelná. Odstranění kamene je doprovázeno odstraněním postiženého lokusu močovodu. Přesto však často nastává výtok moče z operovaných míst nebo obstrukce přetrvává. Zvláště u psů je chirurgický zákrok na močovodech kontraindikován u infekční urolitiázy, neboť hrozí peritonitida a septický šok (Kučera *et al.*, 2007).

12.4 ANTIBIOTICKÁ TERAPIE

Při léčbě uroinfekcí je vhodné lokalizovat infekci a typ litiázy, protože je často podávání antibiotik u onemocnění dolních cest močových neúčinné a mnohdy tím pádem kontraproduktivní, zvláště u koček (Kučera *et al.*, 2007).

12.4.1 BETA-LAKTAMY

Dnes nejpoužívanější skupina antibiotik inhibuje syntézu peptidoglykanu, který je obsažen v bakteriální buněčné stěně. Do této skupiny patří peniciliny, jako na příklad ampicilin, benzylpenicilin, amoxicilin, které účinkují na streptokoky. Piperacilin je účinný při infekcích bakteriemi *Pseudomonas aeruginosa*. Beta-laktamázy obsahují i skupinu cefalosporinů, které se dělí do 4 generací (Kolářová, 2020). Dalším zástupcem beta-laktamáz je skupina karbapenemů, která působí na celé spektrum aerobních i anaerobních bakterií, bohužel s výjimkou *Pseudomonas aeruginosa* (Bush a Bradford, 2016).

12.4.2 GLYKOPEPTIDY A LIPOGLYKOPEPTIDY

Mezi nejvýznamnější terapeutika této skupiny patří vankomycin a teikolanin. Jejich použití je indikováno u enterokoků, streptokoků, stafylokoků a některých anaerobů (Kolářová, 2020). Učini bývají i k multirezistentním bakteriím jako je MRSA. Jsou proto vhodnou volbou až po vyčerpání možností nasadit jiná antibiotika. Vhodné je také zvážit nefrotoxicitu vankomycinu a v případě možného renálního selhání raději podávat teikoplanin. Lipidová forma glykopeptidů účinkuje podobně jen s rozdílem delšího účinku a tím nižší toxicity (Zeng *et al.*, 2016).

12.4.3 POLYMYXINY

Tyto polypeptidová antibiotika účinkují proti enterobakteriím, *Pseudomonas aeruginosa* a nefermentujícím tyčinkám. Princip účinku je na základě rozkladu bakteriální cytoplazmatické membrány. Nejpoužívanějším léčivem této skupiny je kolistin. Ten je však zvažován až poté, co ostatní antibiotická léčiva selžou. Velmi často je pak při těchto stavech nasazován u komplikovaných uroinfekcích (Trimble *et al.*, 2016)

12.4.4 NITROFURANTOIN

Vhodné použití tohoto přípravku nalézáme při nekomplikovaných infekcích dolních cest močových, profylaxi recidivujících uroinfekcí nebo při lokálních aplikacích na místo infekce jako je meditovaná urohydropropulze močového měchýře. (Kolářová, 2020)

13 ZÁVĚR

Urolitiáza je ve veterinární praxi velmi častým onemocněním, jehož výskyt je v posledních letech na vzestupu. Jedná se o multifaktoriální onemocnění, kdy se při řešení musí brát ohled i na metabolické stavy, plemenné predispozice, pohlaví a věk pacientů. Závažnost onemocnění je závislá na mnoha faktorech, jedním z nejdůležitějších jsou infekce, které mohou vést k život ohrožujícím stavům. Prognóza závisí na lokalizaci konkrementů a patogenů. Lze říct, že čím distálněji je v močové soustavě močový kámen a infekční agens lokalizován, tím mírnější budou příznaky a lepší prognóza.

Bakterie podílející se na vzniku močových kamenů, mají obvykle přirozenou nebo získanou rezistenci k antibiotikům, velmi často tvoří biofilm a jejich buňky bývají součástí organické matrix konkrementů. Vyšetření na citlivost infekčního kmene bakterií a určení, zda se jedná o primární infekční urolitiázu nebo přidruženou infekci, je proto nezbytné ke správnému nastavení terapeutického postupu. Důležité je rozeznat typ kamene, kdy lze predikovat bakteriologický nálezu u struvitů, jelikož se z pravidla podílejí na jeho vzniku. Lze předpokládat, že stále dostupnější vyšetřovací soupravy a metody pomohou dříve odhalit infekční litiázy.

Překvapivý rozdíl je mezi převládající humánní terapií endoskopického charakteru a veterinární medicínou preferovanou litolýzou pomocí dietetik a farmak. To má za výsledek menší nárazové uvolnění bakterií do vylučovací soustavy, což je z mikrobiologického hlediska šetrnější řešení.

Nové poznatky ukazují, že nelze při urolitiázách oddělit mikrobiologické vyšetření od vyšetření konkrementů, jelikož se vznik kamene a růst bakterií potencují. Terapie by proto měla být vedena proti infekčním agens a litogenním látkám současně.

14 LITERATURA

BANNASCH, D. a P. S. HENTHORN, 2009. Changing paradigms in diagnosis of inherited defects associated with urolithiasis. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice* [online]. 39(1), 17 [cit. 2021-6-21]. ISSN 111–125. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2008.09.006>

BARTONÍČKOVÁ, K., 2000. *Uroinfekce*. 1. vyd. Praha: Galén, 79 s.: ISBN 80-7262-027-4

BASIRI, A., M. TAHERI, a F. TAHERI, 2012. What is the state of the stone analysis techniques in urolithiasis? *Urology journal* [online]. 9(2), 10 [cit. 2021-6-21]. ISSN 445–454. Dostupné z: <https://journals.sbmu.ac.ir/urolj/index.php/uj/article/view/1469/644>

BENEŠ, J., 2009. *Infekční lékařství*. Praha: Galén, xxv, 651 s. ISBN 978-80-7262-644-1.

BEDNÁŘ, M., 1996, *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha: Marvil, 558 s. ISBN 80-238-0297-6.

BRISBANE, W., M. R. BAILEY a M. D SORENSEN, 2016. An overview of kidney stone imaging techniques. *Nature reviews. Urology* [online]. 13(11), 22 [cit. 2021-6-22]. ISSN 654–662. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nrurol.2016.154>

BURGGRAAF, N. D., D. B. WESTGEEST a R. J. CORBEE, 2021, Analysis of 7866 feline and canine uroliths submitted between 2014 and 2020 in the Netherlands. *Research in veterinary science* [online]. 137(1), 8 [cit. 2021-7-15]. ISSN 0034-5288. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.04.026>

BUSH, K. a P. A. BRADFORD, 2016, β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* [online]. 6(8), 22 [cit. 2021-6-21]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025247>

CHEGINI, Z., A. KHOSHBAYAN, M. TAATI MOGHADAM, , I. FARAHANI, P. JAZIREIAN, a A. SHARIATI, 2020, Bacteriophage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: a review. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials* [online]. 19(1), 17 [cit. 2021-6-21]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s12941-020-00389-5>

CRIVELLI, J. J., MITCHELL, T, KNIGHT, J., WOOD, K. D., ASSIMOS, D. G., HOLMES, R. P. a FARGUE, S., 2020, Contribution of Dietary Oxalate and Oxalate Precursors to Urinary Oxalate Excretion. *Nutrients* [online]. 62(1), 13 [cit. 2021-5-28]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu13010062>

ČERNOHORSKÁ, L. a E. CHVÍLOVÁ., 2011, Proteus mirabilis izolovaný z močí, jeho rezistence k antibiotikům a tvorba biofilmu. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*. roč. 17, č. 3, s. 81–85. ISSN 1211-264X.

ČÍŽEK, A. 1999 Praktika z veterinární bakteriologie a mykologie. 2. vyd. Brno: Ústav mikrobiologie a imunologie FVL VFU,

COE, F. L., EVAN, A. a WORCESTER, E., 2005, Kidney stone disease. *The Journal of clinical investigation* [online]. 115(10), 11 [cit. 2021-6-21]. ISSN 2598–2608. Dostupné z: <https://doi.org/10.1172/JCI26662>

DAUDON, M., JUNGERS, P., BAZIN, D. a J. C., Jr WILLIAM., 2018, Recurrence rates of urinary calculi according to stone composition and morphology. *Urolithiasis* [online]. 46(5), 22 [cit. 2021-7-15]. ISSN 459–470. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00240-018-1043-0>

DECÔME, M., B. CUQ, J. H. FAIRBROTHER, L. GATEL a B. CONVERSY. 2020. Clinical significance of Proteus mirabilis bacteriuria in dogs, risk factors and antimicrobial susceptibility. *Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire* [online]. 84(4), 7 [cit. 2021-6-13]. ISSN 252–258. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7490997/>

DOLEŽALOVÁ, V., 1995. Principy biochemických vyšetřovacích metod. 1. část. 2. vyd., opr. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, ISBN 80-7013-206-X.

DRACH, G. W., 1992, Common problems in infections and stones. St. Louis: Mosby year book, 350 s. ISBN 0-8151-2909-2.

FENELEY, R. C., I. B. HOPLEY a P. N. WELLS., 2015, Urinary catheters: history, current status, adverse events and research agenda. *Journal of medical engineering & technology* [online]. 39(8), 12 [cit. 2021-6-22]. ISSN 459–470. Dostupné z: <https://doi.org/10.3109/03091902.2015.1085600>

GILBOE, H. M, REIAKVAM, O. M, AASEN, L, TJADE, T, BJERNER, J., RANHEIM, T. E a GAUSTAD, P., 2021, Rapid diagnosis and reduced workload for urinary tract infection using flowcytometry combined with direct antibiotic susceptibility testing. *PloS one* [online]. 16(7), 21 [cit. 2021-7-15]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254064>

HANUŠ, T. a K. NOVÁK. 2008, *Nemoci močovodu*. Praha: Galén, 170 s. ISBN 978-80-7262-584-0.

HALOUZKA, R. a J. KRINKE. 2000, *Systémová veterinární patologie*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 119 s. ISBN 80-7305-389-6.

HESSE, A., FRICK, M., ORZEKOWSKY, H., FAILING, K. a NEIGER, R. 2018, Canine calcium oxalate urolithiasis: Frequency of Whewellite and Weddellite stones from 1979 to 2015. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne* [online]. 59(12), 6 [cit. 2021-7-15]. ISSN 1305–1310. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6237259/>

HUNPRASIT, V., SCHREINER, P. J., BENDER, J. B a LULICH, J. P. 2019, Epidemiologic evaluation of calcium oxalate urolithiasis in dogs in the United States: 2010-2015. *Journal of veterinary internal medicine* [online]. 33(5), 6 [cit. 2021-6-22]. ISSN 2090–2095. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/jvim.15613>

JULÁK, J. 2015, *Úvod do lékařské bakteriologie*. 2. vydání. Praha: Univerzita Karlova v Praze, nakladatelství Karolinum, 404 s. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 978-80-246-3210-0.

KAŇKOVÁ, K. 2009. *Patologická fyziologie pro bakalářské studijní programy*. 2. vyd. Brno: Masarykova univerzita, ISBN 978-80-210-4923-9.

KAWACIUK, I. 2009, *Urologie*. Praha: Galén, 531 s. ISBN 978-80-7262-626-7.

KHALID, M. 2021, Comparison of Chromogenic (HiCrome Urinary Tract Infection Agar) Medium with Cysteine Lactose Electrolyte Deficient Agar in a Resource-Limited Setting. In: *International Journal of Applied and Basic Medical Research* [online]. Riyadh: Kamal Medical, s. 6 [cit. 2021-6-23]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8025950/>

KLABAN, V. 2001, Svět mikrobů: ilustrovaný lexikon mikrobiologie životního prostředí. 2. rozš. a přeprac. vyd. Hradec Králové: Gaudeamus, 416 s. ISBN 80-7041-687-4.

KOLÁŘOVÁ, L. 2020, Obecná a klinická mikrobiologie. Praha: Galén, xxiii, 441 s. ISBN 978-80-7492-477-4.

KOPECNY, L., C. A. PALM, G. SEGEV, a J. L. WESTROPP. 2021 Urolithiasis in dogs: Evaluation of trends in urolith composition and risk factors (2006-2018). *Journal of veterinary internal medicine*, [online]. 2021, 35(3), 10 [cit. 2021-6-28]. ISSN 1406–1415. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/jvim.16114>

KOTYZA, J. 2007, Úvod do klinické biochemie a enzymologie pro studující lékařství: teorie a praktikum. Praha: Karolinum, 150 s. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 978-80-246-1350-5.

KOVAŘÍKOVÁ, S. 2014, Vyšetření moči psa a kočky v klinické praxi. Brno: B-V-M, 106 s. ISBN 978-80-905468-2-0.

KŘÍŽEK, V. a L. SADÍLEK. 1990, *Urolitiáza-etiopatogeneze, konzervativní terapie a prevence*. Praha: Avicenum, ISBN 80-201-0010-5.

KUČERA, J., M. VLAŠÍN a P. KOHOUT. 2007, Nefrologie a urologie u psa a kočky. 2. vyd. Brno: NOVIKO, 337 s. ISBN 978-80-86542-17-1.

KUČOVÁ, P., M. HTOUTOU SEDLÁKOVÁ, K. FIŠEROVÁ, K. HRICOVÁ, a M. KOLÁŘ. 2021, Enterokokové infekce a možnosti jejich léčby. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*. roč. 27, č. 1, s. 5–11. ISSN 1211-264X.

LETAVERNIER, E. a M. DAUDON. 2018, Vitamin D, Hypercalciuria and Kidney Stones. *Nutrients* [online]. 10(3), 11 [cit. 2021-6-22]. ISSN 2072-6643. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nu1003036>

LULICH, J. P., BERENT, A. C., ADAMS, L. G., WESTROPP, J. L., BARTGES, J. W a OSBORNE, C. A. ACVIM. 2016, Small Animal Consensus Recommendations on the Treatment and Prevention of Uroliths in Dogs and Cats. *Journal of veterinary internal medicine* [online]. 30(5), 11 [cit. 2021-6-21]. ISSN 1564–1574. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/jvim.14559>

MARSCHALL, E., CRYLE, M. J. a TAILHADES, J. 2019, Biological, chemical, and biochemical strategies for modifying glycopeptide antibiotics. *The Journal of biological chemistry* [online]. 117(49), 15 [cit. 2021-7-21]. ISSN 18769–18783. Dostupné z: <https://doi.org/10.1074/jbc.REV119.006349>

MIELKO, K. A., JABŁOŃSKI, S. J., MILCZEWSKA, J., SANDS, D., ŁUKASZEWICZ, M. a MŁYNARZ, P. 2019, Metabolomic studies of *Pseudomonas aeruginosa*. *World journal of microbiology & biotechnology* [online]. 35(11), 11 [cit. 2021-7-21]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2739-1>

MICHALEC, Č. 1953, Základy chemické a mikroskopické analýsy moči. Praha: Státní zdravotnické nakladatelství, 139 s.

MICHALEC, Č. 1988, Močový sediment a močové konkrementy. Praha: Avicenum, 162 s.

MILLER, A. W., CHOY, D., PENNISTON, K. L. a LANGE, D. 2019, Inhibition of urinary stone disease by a multi-species bacterial network ensures healthy oxalate homeostasis. *Kidney international* [online]. 96(1), 19 [cit. 2021-7-15]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.kint.2019.02.012>

MIKEL, P., I. BARTEJSOVÁ a P. KRÁLÍK. 2015, Detekce a kvantifikace *Pseudomonas aeruginosa* pomocí metody qPCR. Brno: Výzkumný ústav veterinárního lékařství, 12 nečíslovaných. Uplatněná certifikovaná metodika. ISBN 978-80-86895-69-7

MIKEL, P., I. BARTEJSOVÁ a P. KRÁLÍK. 2015, Detekce a kvantifikace *Staphylococcus aureus* pomocí metody qPCR. Brno: Výzkumný ústav veterinárního lékařství, 14 nečíslovaných. Uplatněná certifikovaná metodika. ISBN 978-80-86895-70-3.

MIKEL, P., I. BARTEJSOVÁ a P. KRÁLÍK. 2015, Detekce a kvantifikace verotoxigenní *Escherichia coli* (VTEC) pomocí metody qPCR. Brno: Výzkumný ústav veterinárního lékařství, 16 nečíslovaných. Uplatněná certifikovaná metodika. ISBN 978-80-86895-72-7.

MISHINA, M., WATANABE, T., FUJII, K., MAEDA, H. a WAKAO, Y. 2000, Medical dissolution of struvite nephrolithiasis using amino acid preparation in dogs. *The Journal of veterinary medical science* [online]. 62(8), 4 [cit. 2021-6-21]. ISSN 889–892. Dostupné z: <https://doi.org/10.1292/jvms.62.889>

MO, M., YANG, Y., ZHANG, F., et al. 2019, Rapid Antimicrobial Susceptibility Testing of Patient Urine Samples Using Large Volume Free-Solution Light Scattering Microscopy. *Analytical chemistry* [online]. 91(15), 17 [cit. 2021-7-15]. ISSN 0164–10171. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02174>

MUSIL, J., D. BULÍŘ a J. JANDEJSEK. 2014, Litotrypse extrakorporální rázovou vlnou: čtyřleté zkušenosti s elektromagnetickým litotryptorem Urontech URO-EM. *Česká urologie* [online]. 18(3), 6 [cit. 2021-6-21]. Dostupné z: <https://www.czechurol.cz/pdfs/cur/2014/03/07.pdf>

NEUMANN, S., K. FECHNER a C. P. CZERNY. 2020, Stability of canine urine samples under different storage conditions. *Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire* [online]. 2020 Oct(84), 6 [cit. 2021-6-23]. Dostupné z: doi:259-264

O'KELL, A. L., GRANT D. C. a KHAN, S. R. 2017, Pathogenesis of calcium oxalate urinary stone disease: species comparison of humans, dogs, and cats. *Urolithiasis* [online]. 45(4), 16 [cit. 2021-7-15]. ISSN 329–336. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00240-017-0978-x>

PANG, Z., RAUDONIS, R., GLICK, B. R., LIN, T. J. a CHENG, Z. 2019, Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology advances* [online]. 37(1) [cit. 2021-6-21]. ISSN 177–192. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013>

PEROUTKOVÁ, T. a V. HOLÁ. 2011, Faktory virulence u bakterií rodu *Proteus* izolovaných z močových infekcí: jejich detekce a význam (Virulence factors in *Proteus* spp. bacteria isolated from urinary tract infections: their detection and importance). *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*. vol. 17, No 4, p. 129-134. ISSN 1211-264X.

PRYWER, J. a TORZEWSKA, A. 2019, Aggregation of poorly crystalline and amorphous components of infectious urinary stones is mediated by bacterial lipopolysaccharide. *Scientific reports*, [online]. 9(1), 14 [cit. 2021-5-28]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53359-z>

PRYWER, J., TORZEWSKA, A. a PŁOCIŃSKI, T. 2012, Unique surface and internal structure of struvite crystals formed by *Proteus mirabilis*. *Urological research* [online].

40(6), 9 [cit. 2021-7-15]. ISSN 699–707. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00240-012-0501-3>

QUEAU, Y., E. S. BIJSMANS, A. FEUGIER a V. C. BIOUSSE. 2020, Increasing dietary sodium chloride promotes urine dilution and decreases struvite and calcium oxalate relative supersaturation in healthy dogs and cats. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 104(5), 1524–1530. <https://doi.org/10.1111/jpn.13329>. *Journal of animal physiology and animal nutrition* [online]. 104(5), 7 [cit. 2021-6-22]. ISSN 1524–1530. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/jpn.13329>

RINKARDT, N. E. a D. M. HOUSTON. 2004, Dissolution of infection-induced struvite bladder stones by using a noncalculolytic diet and antibiotic therapy. *Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire* [online]. 2004(45), 3 [cit. 2021-7-2]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC545988/>

SALEM, N., SALEM, L., SABER, S., ISMAIL, G. a BLUTH, M. H. 2015, *Corynebacterium urealyticum*: a comprehensive review of an understated organism. *Infection and drug resistance* [online]. 8(8), 17 [cit. 2021-6-21]. ISSN 129–145. Dostupné z: <https://doi.org/10.2147/IDR.S74795>

SCHAFFER, J. N. a PEARSON, M. M. 2015, *Proteus mirabilis* and Urinary Tract Infections. *Microbiology spectrum* [online]. 3(5), 66 [cit. 2021-6-21]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.UTI-0017-2013>

SCHWARTZ, D. J., ELWARD, A., STORCH, G. A. a ROSEN, D. A. 2019, *Ureaplasma urealyticum* pyelonephritis presenting with progressive dysuria, renal failure, and neurologic symptoms in an immunocompromised patient. *Transplant infectious disease: an official journal of the Transplantation Society* [online]. 21(2), 7 [cit. 2021-6-21]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/tid.13032>

SHAIKH, N., M. F. SHOPE a M. KURS-LASKY. 2019, Urine Specific Gravity and the Accuracy of Urinalysis. *Pediatrics* [online]. 144(5), 7 [cit. 2021-6-22]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1542/peds.2019-0467>

SINGH, V. K., JASWAL, B. S., SHARMA, J. a RAI, P. K. 2020, Analysis of stones formed in the human gall bladder and kidney using advanced spectroscopic techniques. *Biophysical*

reviews [online]. 12(3), 22 [cit. 2021-6-22]. ISSN 647–668. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12551-020-00697-2>

SOKOL-LESZCZYNSKA, B., LESZCZYNSKI, P., LACHOWICZ, D., et al. 2019, *Corynebacterium coyleae* as potential urinary tract pathogen. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* [online]. 38(7), 4 [cit. 2021-6-21]. ISSN 1339–1342. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03565-4>

STEJSKAL, D. a L. SADÍLEK. 2007. Urolitiáza: etiopatogeneze, diagnostika, primární a sekundární prevence. Praha: Grada, ISBN 978-80-247-2015-9.

SVOBODA, M., D. F. SENIOR, J. DOUBEK a J. KLIMEŠ. 2001. Nemoci psa a kočky. 2. díl. Brno: Noviko, ISBN 80-902595-3-7.

TEPLAN, V. 2006, Praktická nefrologie. 2. zcela přeprac. vyd. Praha: Grada, 496 s., [12] s. barev. obr. příl. ISBN 80-247-1122-2.

THORNTON, L. A., BURCHELL, R. K., BURTON, S. E., et al. 2018, The Effect of Urine Concentration and pH on the Growth of *Escherichia Coli* in Canine Urine In Vitro. *Journal of veterinary internal medicine* [online]. 32(2), 5 [cit. 2021-6-22]. ISSN 752–756. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/jvim.15045>

TRAN, T., LI, X., ADAMS-HUET, B. a MAALOUF, N. M. 2021, Impact of age and renal function on urine chemistry in patients with calcium oxalate kidney stones. *Urolithiasis* [online]. 49(2), 13 [cit. 2021-7-15]. ISSN 459–470. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00240-021-01254-6>

TRIMARCHI, H., F. LOMBI a P. YOUNG. 2015, Milky urine and struvite crystals. *Kidney international* [online]. 88(1), 1 [cit. 2021-6-22]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/ki.2014.314>

TRIMBLE, M. J., MLYNÁRČIK, P., KOLÁŘ, M. a HANCOCK, R. E. 2016, Polymyxin: Alternative Mechanisms of Action and Resistance. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* [online]. 6(10), 22 [cit. 2021-6-21]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025288>

TSAI-HUNG, Wu, Li KO-JEN, Yu CHIA-LI a Tsai CHANG-YOUH. 2018, Tamm-Horsfall Protein is a Potent Immunomodulatory Molecule and a Disease Biomarker in the Urinary System. *Molecules* [online]. 14(1) [cit. 2021-6-23]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6017547/>

VEGER, J. a D. BAUDIŠOVÁ. 1996, Bakterie z čeledi Enterobacteriaceae ve vodním prostředí. Praha: Výzkumný ústav vodohospodářský T.G.Masaryka, 99 s. Výzkum pro praxi. ISBN 80-85900-11-4

VIGGIANO, D., G. GIGLIOTTI, G. VALLONE, A. GIAMMARINO, M. NIGRO a G. CAPASSO. 2018, Urate-Lowering Agents in Asymptomatic Hyperuricemia: Role of Urine Sediment Analysis and Musculoskeletal Ultrasound. *Kidney & blood pressure research* [online]. 43(2), 10 [cit. 2021-6-22]. ISSN 606–615. Dostupné z: <https://doi.org/10.1159/000489145>

WOLFE, A. J. a BRUBAKER, L. 2015, "Sterile Urine" and the Presence of Bacteria. *European urology* [online]. 68(2), 5 [cit. 2021-7-15]. ISSN 173–174. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2015.02.041>

ZENG, D., DEBABOV, D, HARTSELL, T. L., CANO, R. J., ADAMS, S., SCHUYLER, J. A., MCMILLAN, R. a PACE, J. L. 2016, Approved Glycopeptide Antibacterial Drugs: Mechanism of Action and Resistance. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* [online]. 6(12), 16 [cit. 2021-6-21]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026989>

ZHAO, E., ZHANG, W., GENG, B, YOU, B, WANG, W a LI, X. 2021 Intestinal dysbacteriosis leads to kidney stone disease. *Molecular medicine reports* [online]. 23(3), 9 [cit. 2021-7-1]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11819>

ZVARA, V. a V. REVÚSOVÁ. 1988, Močové konkrementy. Bratislava: Veda, 266 s. ISBN 80-048-88