

Šíření antibiotické rezistence u *Escherichia coli*

Zuzana Tomášová

Bakalářská práce
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie a mikrobiologie potravin
akademický rok: 2009/2010

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Zuzana TOMÁŠOVÁ**
Osobní číslo: **T07131**
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**

Téma práce: **Šíření antibiotické rezistence u Escherichia coli**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. **Escherichia coli.**
2. **Antibiotika a jejich rezistence.**
3. **EARSS databáze.**
4. **Šíření antibiotické rezistence podle EARSS.**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] LINCOVÁ, D., HASSAN, F. Základní a aplikovaná farmakologie. GALÉN Praha, 2007, s. 672, ISBN 978-80-7262-373-0.

[2] LÜLLMAN, H., MOHR, K., WEHLING, M. Farmakologie a toxikologie. GRADA PUBLISHING, 1999, s. 694, ISBN 80-7169-976-4.

[3] WALSH, C. Antibiotics : actions, origins, resistance. Washington: ASM Press, 2003. 335 s. ISBN 1-55581-254-6.

[4] KARMALI, M.A. Infection by verotoxin-producing Escherichia coli. Clin. microbiol. rev. vol. 2, 1989, s. 15-38.

Vedoucí bakalářské práce:

Mgr. Magda Doležalová, Ph.D.

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání bakalářské práce:

11. února 2010

Termín odevzdání bakalářské práce:

31. května 2010

Ve Zlíně dne 15. dubna 2010

doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. Ing. Jan Hrabě, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: ZUZANA TOMÁŠOVÁ

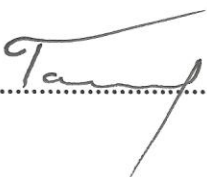
Obor: CHTP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 7. 5. 2010


.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Bakalářská práce teoreticky popisuje bakterii *Escherichia coli*, její výskyt a patogenitu. V práci jsou definovány antibakteriální látky se zaměřením na aminoglykosidy, aminopeniciliny, cefalosporiny a fluorochinolony. Další část se věnuje antibiotické rezistenci mikroorganismů ve vztahu k těmto antimikrobiálním látkám. Popisuje celosvětovou databázi pro antimikrobiální rezistenci - European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS). Obsahuje vyhodnocení šíření antibiotické rezistence dle EARSS v několika zemích. Antibiotická rezistence se stále šíří a důvody šíření jsou různé. Jedním z nich je špatné používání antibiotické léčby, dalším důvodem může být konzumace potravin živočišného původu obsahující rezidua antibiotik a v neposlední řadě je důvodem styk s volně žijícími zvířaty, které přenáší rezistentní kmeny *E. coli*.

Klíčová slova: antibiotika, antibiotická rezistence, aminoglykosidy, aminopeniciliny, cefalosporiny, fluorochinolony.

ABSTRACT

This bachelor's thesis deals theoretically with *Escherichia coli* bacteria, its incidence and pathogenesis. It defines antibacterial agents, specifically aminoglycosides, aminopenicillins, cephalosporins and fluoroquinolones. It also deals with antibiotic resistance of microorganisms in relation to antibiotics. It describes the European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS). It contains the evaluation of antibiotic resistance dissemination in several countries according to the EARSS. The thesis proves that antibiotic resistance still spreads. There are several reasons for its spreading: the wrong use of antibiotic treatment, the consumption of food of animal origin that contains the residue of antibiotics, and contact with wild animals that carry resistance genes of *E. coli*.

Keywords: antibiotics, antibiotic resistance, aminoglycosides, aminopenicillins, cephalosporins, fluoroquinolones.

Touto cestou bych chtěla poděkovat Mgr. Doležalové Magdě, Ph.D., za pomoc a rady, využití při zpracování tématu bakalářské práce. Také bych ráda poděkovala Dr. Max lékárně ve Zlíně (Čepkov), za poskytnutou literaturu.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 ESCHERICHIA COLI	12
1.1 VÝSKYT <i>ESCHERICHIA COLI</i>	13
1.2 PATOGENITA <i>ESCHERICHIA COLI</i>	13
1.2.1 Enteropatogenní kmeny <i>Escherichia coli</i> (EPEC)	14
1.2.2 Enterotoxigenní kmeny <i>Escherichia coli</i> (ETEC).....	15
1.2.3 Enteroinvazivní kmeny <i>Echerichia coli</i> (EIEC).....	15
1.2.4 Shiga-like toxigenní kmeny <i>Escherichia coli</i> (STEC).....	16
1.2.5 Enteroagregativní kmeny <i>Escherichia coli</i> (EAggEC)	16
1.2.6 Difuzně adherentní kmeny <i>Escherichia coli</i> (DAEC).....	16
1.2.7 Enterohemoragické kmeny <i>Escherichia coli</i> (EHEC).....	17
1.2.8 Uropatogenní kmeny <i>Escherichia coli</i> (UPEC)	17
1.2.9 Ostatní kmeny <i>Escherichia coli</i> působící mimo střevo.....	17
2 ANTIBAKTERIÁLNÍ LÁTKY	18
2.1 MECHANIZMUS PŮSOBENÍ ANTIBAKTERIÁLNÍCH LÁTEK.....	19
2.1.1 Inhibice syntézy buněčné stěny	19
2.1.2 Porušení plazmatické membrány.....	19
2.1.3 Inhibice syntézy bílkovin	20
2.1.4 Inhibice syntézy nukleových kyselin.....	20
2.1.5 Inhibice metabolismu bakteriální buňky	20
2.2 VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI NA ANTIBIOTIKA.....	20
2.3 ROZDĚLENÍ ANTIBIOTIK	21
2.3.1 Aminopeniciliny	21
2.3.2 Aminoglykosidy	23
2.3.3 Fluorochinolony	25
2.3.4 Cefalosporiny	26
2.3.4.1 3. generace cefalosporinů.....	27
3 ANTIBIOTICKÁ REZISTENCE	28
3.1 MECHANIZMY VZNIKU REZISTENCE	28
3.2 ROZVOJ REZISTENCE.....	29
3.3 TYPY REZISTENCE	30
3.4 DŮSLEDKY REZISTENCE PRO TERAPII	30
3.5 VZNIK REZISTENCE NA ANTIBIOTIKA Z DŮVODU PŘÍTOMNOSTÍ ANTIBAKTERIÁLNÍCH LÁTEK V POTRAVINÁCH	31
3.5.1 Definice reziduí a jejich přípustné hladiny.....	31

3.6	REZISTENCE VŮČI AMINOPENICILINŮM	32
3.7	REZISTENCE VŮČI AMINOGLYKOSIDŮM	33
3.8	REZISTENCE VŮČI FLOROCHINOLONŮM	34
3.9	REZISTENCE VŮČI CEFALOSPORINŮM.....	35
3.10	ANALÝZA CITLIVOSTI MIKROBIÁLNÍ POPULACE	35
4	EARSS DATABÁZE	37
4.1	EARSS DATABÁZE V ČR	38
5	ŠÍŘENÍ ANTIBIOTICKÉ REZISTENCE PODLE EARSS	40
5.1	TABULKY REZISTENCE NA ANTIOTBIOTIKA V LETECH 2000 AŽ 2008	40
5.2	ŠÍŘENÍ REZISTENCE.....	44
5.2.1	Šíření rezistence u 3. generace cefalosporinů	55
5.2.2	Šíření rezistence u fluorochinolonů.....	56
5.2.3	Šíření rezistence u aminoglykosidů.....	56
5.2.4	Šíření rezistence u aminopenicilinů	57
	ZÁVĚR	58
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	59
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	63
	SEZNAM OBRÁZKŮ	64
	SEZNAM TABULEK.....	65

ÚVOD

Escherichia coli je bakterie, která se běžně vyskytuje ve střevním traktu člověka a zvířat. Tato bakterie je prospěšná vzhledem k produkci některých vitamínů ve střevě, a to zejména vitamínu K. Působí jako bariéra pro ostatní mikroorganismy tím, že s nimi soutěží o živiny a kyslík. Nicméně *Escherichia coli* se řadí mezi podmíněně patogenní mikroorganismy a je schopna vyvolat různé typy infekcí. Mezi infekce způsobené touto bakterií patří onemocnění močových cest, nozokomiální infekce a průjemová onemocnění. Mimo střevo je skoro vždy patogenní.

Antibiotika jsou látky produkované živými organismy. Tyto látky mohou inhibovat růst jiných mikroorganismů. Jsou používány v lékařské a veterinární medicíně. V roce 1928 Alexander Fleming zjistil, že látky, které produkuje plíseň *Penicillium notatum*, mají schopnost usmrtit některé druhy bakterií. Antibiotika působí na mikroorganismy různými mechanismy a dají se rozdělit do několika skupin. Volba antibiotika by měla být založena na předcházejícím klinickém vyšetření citlivosti daného mikroorganismu.

Zejména nesprávné používání antibiotik má negativní vliv, a to na rozvoj rezistence mikroorganismů vůči nim. Rezistence může vznikat mnoha mechanismy a s vývojem vědy jsou objevovány další možnosti jejího vzniku.

The European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) je celosvětová databáze zaznamenávající údaje o rezistenci vybraných bakterií na antibiotika. Tato databáze má 33 členských zemí, které zaznamenávají údaje z kontrolních laboratoří. Česká republika je členem této databáze od roku 2000 a také se podílí na zvýšení informovanosti o rezistenci, a tím jejímu předcházení.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 *ESCHERICHIA COLI*

Escherichia coli patří do domény *Bacteria*, mezi bakterie s buněčnou stěnou gramnegativního typu, do kmene *Proteobacteria*, třídy *Gammaproteobacteria*, řádu *Enterobacteriales* a čeledi *Enterobacteriaceae*. Do čeledi *Enterobacteriaceae* patří tyčinky, které jsou rovné nepohyblivé nebo pohyblivé s bičíky [1]. Tyčinky mají velikost kolem 2 až 3 μm a jsou tlusté 0,5 až 0,8 μm [2]. Tyto bakterie netvoří endospory ani cysty. Jedná se o fakultativně anaerobní a chemoorganotrofní bakterie, mající jak respiratorní, tak i fermentatorní typ metabolismu, většina druhů roste při 37 °C, avšak některé druhy rostou lépe při nižší teplotě. Generační doba je velice krátká. Rostou téměř na většině běžných mikrobiologických půd, ale i na těch, jejichž selektivita je dána složkami vyskytujícími se ve střevě (žlučovými solemi). Dobře snášejí změny teplot a do jisté míry i vyschnutí [1].

Pozoruhodnou vlastností některých enterobakterií je schopnost vázat molekulární dusík, této schopnosti využívají v nouzi [2]. Bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae* zkvašují glukózu i řadu jiných cukrů a cukerných alkoholů, jsou většinou oxidáza negativní a kataláza pozitivní, převážně také redukují nitráty. Jsou celosvětově rozšířené, nacházejí se ve vodě, půdě, ovoci, zelenině, zrnech, rostlinách a stromech. Dále se vyskytují na živočiších, od cizopasných červů až po člověka. Mnoho druhů napadá intestinální trakt a způsobuje průjemová onemocnění [1]. Agar s masivně naočkovanými *E.coli* se používá k pěstování některých améb [2].

Escherichia coli patří do rodu bakterií *Escherichia*. Do tohoto rodu patří také druhy *Escherichia fergusonii* (humánní klinický materiál), *Escherichia hermanii* (humánní klinický materiál), *Escherichia vulneris* (humánní klinický materiál) a také nově popsaná *Escherichia albertii* [1,2,3]. Nejznámější a nejvíce zkoumaný je právě druh *Escherichia coli* [4].

Dnešní jméno je odvozeno od Theodora von Escherichia, rakouského lékaře a bakteriologa, který ji izoloval v roce 1885. Tato bakterie slouží jako důležitý modelový mikroorganismus, byla na ní prokázána bakteriální konjugace a replikace DNA [2].

Bakterie *E. coli* je pohyblivá tyčinka [2,4]. Vyskytující se jednotlivě nebo ve dvojicích, některé kmeny z klinického materiálu mohou tvořit pouzdra [1]. U *E. coli* dominuje ve fosfolipidové dvouvrstvě buněčné stěny fosfolipid fosfatidylethanolamin, a ten je především na vnitřní straně této dvouvrstvy [5]. Má pohyblivé nebo nepohyblivé bičíky. Na běžných půdách roste při teplotě 37 °C, biochemická aktivita je značná [1]. Za ideálních pod-

mínek dosahuje její generační doba 20 minut. Při růstu na Endově agaru je nápadná purpurová barva kolonií a jejich okolí [2].

Auxotrofní jsou ty druhy bakterií, které neumí vyrábět všechny růstové faktory svého těla a potřebují je. Například *E. coli* roste dobře na zcela anorganickém (minerálním) médiu s glukózou, a je tedy prototrofem, což znamená, že si dokáže vytvářet všechny stavební molekuly svého těla ze živin a nepotřebuje růstové faktory [5].

Glukózu a jiné sacharidy *E. coli* okyseluje s tvorbou plynu [1], dále tvoří indol a neštěpí močovinu. Některé kmeny, s opožděnou sacharolytickou aktivitou, se mohou chovat atypicky, na půdách se mohou jevit jako laktózanegativní [2]. Je oxidáza negativní, kataláza pozitivní, metylčerven pozitivní, citráty většinou negativní [1].

E. coli je citlivá ke kyselinám a louhům, které destrukují biomolekuly vysokou koncentrací H^+ resp. OH^- . Např. 0,01 M HCl zabije všechny buňky *E. coli* v suspenzi za 40 minut [5]. *E. coli* se používá pro fyziologické, biochemické a genetické výzkumy [3].

1.1 Výskyt *Escherichia coli*

Vyskytuje se jako normální flóra v koncové části střevního traktu živočichů (v případě *E. blattae* i švábů). Tato bakterie se běžně vyskytuje v trávicím ústrojí člověka a teplokrevných živočichů a je zde pro své hostitele užitečná [3]. Svým působením znemožňuje průnik patogenů, produkuje tzv. koliciny, které jsou pro některé bakterie toxické [2]. Tato bakterie syntetizuje v trávicím ústrojí důležité vitamíny, zejména vitamín K a přispívá k celkové rovnováze mikroorganismů přítomných ve střevech, neboť zabraňuje růstu škodlivých bakterií tím, že s nimi soutěží o živiny a kyslík [2,3].

1.2 Patogenita *Escherichia coli*

E. coli patří mezi podmíněně patogenní bakterie. Je schopna vyvolat onemocnění močových cest a průjmové infekce, zejména u kojenců a malých dětí a starých osob [2,3].

E. coli může také způsobovat nozokomiální infekce včetně septikémií a meningitid. Epidemiologicky patogenní kmeny jsou charakterizovány a identifikovány sérologicky na základě somatických, kapsulárních a bičíkových antigenů [1].

Mimo střevo je *E.coli* téměř vždy patogenní, ve střevě je patogenita možná, je-li kmen vybaven specifickými faktory virulence [2]. Jiné druhy rodu *Escherichia* se vzácně vyskytují jako oportunně patogenní, většinou ve spojitosti s infekcemi ran [1]. Tyto bakterie se dělí do několika skupin [3].

Přítomnost *E. coli* v potravinách nebo ve vodě ve vyšším množství je ukazatelem tzv. fekálního znečištění. Zpravidla se však místo samotné *E. coli* vyšetřuje celá skupina příbuzných bakterií, které jsou označovány jako koliformní bakterie. V rámci druhu *E. coli* se vyskytuje mnoho patogenních kmenů způsobujících střevní onemocnění [3].

Kmeny *E. coli* s produkcí shigatoxinů mohou vyvolat závažná onemocnění, jako je hemoragická kolitida nebo hemolyticko-uremický syndrom. Sérotyp O157:H7 je vysoce infekční [1]. Adheze *E. coli* ve střevech lze blokovat specifickou chemickou strukturou, například monosacharidem manózou. Termolabilní enterotoxin cholerae patří mezi intracelulární toxiny, které zvyšují produkci cAMP [5].

U hemoragické *E. coli* je toxinem verotoxin 1 a 2. Při rozvoji peritonitidy se uplatňují *E. coli*, které způsobí celkové příznaky a sepsi. *E. coli* může tvořit transientní flóru, což znamená, že je sliznice krátkodobě osídlena druhem, který nevyvolává patologické změny. Dlouhodobé přetrvávání transientní flóry může svědčit o změně fyziologických poměrů např. *E. coli* na tonsilách při poruchách fibronektinu [5].

Kmeny *Escherichia coli*, které produkují enterotoxin nebo jiné faktory virulence, způsobují průjemová onemocnění. *E. coli* může tvořit fimbrie, které se váží v močovém traktu (P fimbrie), v tenkém střevě člověka (CFAI, CFII, E8775), v tenkém střevě zvířat (K88, K99, 987P, F41) [5].

1.2.1 Enteropatogenní kmeny *Escherichia coli* (EPEC)

Kmeny EPEC disponují faktory virulence, které ne zcela objasněným způsobem vedou ke vzniku novorozeneckých průjmů, při kterých dochází k velmi rychlé dehydrataci organismu [2,3]. Nejznámější jsou antigenní typy O55, O111, O126, O86 a další [2]. V současné době se vyskytuje ve vyspělých zemích velmi zřídka, je však stále problémem. Z imunologického hlediska se jedná zvláště o sérotypy O55 a O111. U větších dětí a dospělých tyto bakterie žádné onemocnění nevyvolávají, jelikož enteropatogenní *E. coli* adhezuje pouze v tenkém střevě novorozenců, nikoliv dospělých [3,5].

U kmenů EPEC nebyla prokázána tvorba enterotoxinů. Patogenetickým mechanismem je těsná vazba bakterií s enterocyty střeva, při níž dochází k rozpouštění mikrokřků [3]. Z důvodu adheze na střevní sliznici jsou tyto kmeny někdy nazývány jako EAEC (enteroadherentní *E. coli*) [2]. Konečným důsledkem je poškození epitelového povrchu střev [3].

1.2.2 Enterotoxigenní kmeny *Escherichia coli* (ETEC)

Tento kmen při vstupu do trávicího ústrojí osídluje tenké střevo pomocí kolonizačních faktorů, proteinových fimbrií. Mohou vyvolat průjemy u dětí, ale i u dospělých osob. U onemocnění se zpravidla neobjevuje horečka. Výskyt této nemoci je nejčastější v teplých či tropických oblastech, například v Mexiku, Bangladéši nebo Egyptě. Do této skupiny onemocnění se zahrnují i tzv. průjemy cestovatelů [2].

ETEC kmeny mohou produkovat dva typy enterotoxinů, termolabilní enterotoxin podobný enterotoxinu *Vibrio cholerae* (choleragen) a enterotoxin termostabilní [3]. Tepelně stabilní enterotoxin ST má malou molekulovou hmotnost, vyskytuje se ve dvou třídách, jedna z nich aktivuje guanylátcyklázu s výsledkem zvýšení množství cAMP. Mechanismus druhé formy není jasný. Tepelně labilní toxin LT je zpravidla kódován v plazmidu a skládá se ze dvou podjednotek. Aktivuje membránově vázanou adenylátcyklázu, což vede k mohutné produkci cAMP buňkami, následkem je hypersekce vody a elektrolytů do lumen střeva. Tento enterotoxin je imunogenní [2]. Genetická informace pro tvorbu těchto toxinů je lokalizována v plazmidech [3].

1.2.3 Enteroinvazivní kmeny *Escherichia coli* (EIEC)

Vykazují stejný mechanismus patogenity jako shigely [3]. Disponují faktory invazivity, které umožňují invazi do střeva. Plazmid nese geny pro expresi proteinů vnější membrány, nezbytných pro invazi do sliznice. Následně bakterie způsobí, že aminokyseliny, které se k nim dostanou, jsou využity ve prospěch bakteriálního metabolismu namísto služby buňkám hostitele [2].

V patogenezi infekcí EIEC má význam také mannózarezistentní nefimbriální adhezín, zvaný hemaglutinující faktor (HAF). Nejběžnějším sérotypem je O124 [2]. Pronikají do buněk, kde se množí a vyvolávají dyzentrický syndrom. Charakteristickým nálezem je stolice s příměsí krve s vysokým obsahem bílých krvinek, zejména granulocytů [3].

1.2.4 Shiga-like toxigenní kmeny *Escherichia coli* (STEC)

Jsou to nejzávažnější patogenní kmeny. Struktura toxinu i průběh infekce jsou velmi podobné u některých kmenů shigel. Dříve se tyto kmeny nazývaly verotoxigenní. Vyvolávají krvácení ve střevě. Těžké průjmy s hemoragií bývají jen začátkem infekce. Zpravidla dochází k systematizaci infekce a vzniku hemolyticko-uremického syndromu. Nejběžnějším sérotypem je O157:H7 [2].

Zdrojem infekce je hovězí dobytek, vehikulem většinou maso, zejména tepelně málo opracované. Riziko nákazy zvyšuje nízká infekční dávka. Problematická je i léčba, jelikož antibiotická léčba vede k uvolnění toxinů z bakterie. Význam diagnostiky tohoto typu bakterií se zvyšuje, tyto kmeny se vyznačují neschopností štěpit sorbitol, čehož využívá McConkeyho agar, ve kterém je laktóza nahrazena sorbitolem. Na této půdě rostou v bledých koloniích [2].

Při zkoumání kmenů *E. coli*, izolovaných z výkalů jaků bylo zjištěno, že z 219 izolovaných *E. coli* mělo 63 (28,76 %) alespoň jeden gen virulence. 55,55 % kmenů neslo gen *stx1* a 80,9 % neslo gen *stx2* [6].

1.2.5 Enteroagregativní kmeny *Escherichia coli* (EAggEC)

Tyto bakterie se pravděpodobně také podílejí na cestovatelských průjmech. Byl nalezen gen *aggR*, jehož výskyt koreluje s výskytem virulence. Vyskytují se zřejmě především v asijských zemích [2]. U tohoto kmene *E. coli* byl izolován specifický lektin, bylo zjištěno, že tato bílkovina je schopna způsobit rozsáhlé morfologické změny v buňkách Hep-2. Toto působení bylo testováno u králíků. Jedná se o nový gen virulence určující enteroagregativní *E. coli* [7].

1.2.6 Difuzně adherentní kmeny *Escherichia coli* (DAEC)

Tyto bakterie mají tzv. alfa operon, přičemž jeho nejdůležitějšími produkty jsou AfaD invazin a AfaE adhezín, které se váží na hostitelský protein DAF [2]. V Brazílii bylo v roce 2000 zjištěno, že imunoglobuliny obsažené v mateřském mléce inhibují adheziny DAEC, což znamená, že pokud budou děti kojeny, složky lidského mléka mohou přispět k obraně dětí proti enteropatogenům [8].

1.2.7 Enterohemoragické kmeny *Escherichia coli* (EHEC)

Mají podobný způsob adherence jako kmeny enteropatogenní, vážou se však především v tlustém střevě. Produkují shiga-like-toxin, toxin podobný shigelovému zvaný také verotoxin, nejčastěji sérotyp O157 [2].

Kmeny EHEC působí tzv. hemoragickou kolitidu. U některých nemocných se může vyvinout hemolyticko-uremický syndrom. Onemocnění se vyskytuje v dětském věku a jeho průběh je většinou těžký. Zdrojem infekce je nejčastěji kontaminované maso. Produkce toxinů je determinována profágem přítomným v buňkách enterohemoragických kmenů *E. coli* [2].

1.2.8 Uropatogenní kmeny *Escherichia coli* (UPEC)

Tyto kmeny působí mimo střevo. UPEC jsou příčinou infekcí močových cest. Mají specifické faktory virulence (zejména adheziny k vazbě na epitelie močových cest), ale ne každý kmen *E. coli*, vyvolávající infekci močových cest, je UPEC. *E. coli* je vůbec nejčastějším původcem uroinfekcí. U infekcí ambulantního provozu tvoří tento mikrob 80 % z izolátů. U nemocničních infekcí je to méně, neboť zde nad escherichiemi převládají enterobakterie způsobující nozokomiální infekce, zejména klebsiely [2]. V USA bylo zjištěno, že tento kmen, který způsobuje infekce i u myši je schopen se pomocí bičíků dostat z močového měchýře do ledvin. Pokud jsou podány specifické protilátky, lze přechodu do ledvin zabránit [9].

1.2.9 Ostatní kmeny *Escherichia coli* působící mimo střevo

Kmeny způsobující dýchací infekce, sepse, infekce ran a další závažné infekce, včetně novorozeneckých meningitid nejsou jednoznačně definovány a pojmenovány. Týkají se zejména hospitalizovaných pacientů, u kterých normální obranné mechanismy selhávají a mikroby se šíří rychleji po celém těle [2].

2 ANTIBAKTERIÁLNÍ LÁTKY

Antibiotika jsou látky používané pro léčbu infekčních onemocnění a jsou mikrobiálního původu [5]. Cílem antimikrobiálních látek je zničit původce onemocnění, nebo alespoň omezit jeho růst a pokud možno při tom nepoškodit hostitelský organizmus [10]. To znamená, že musí splňovat požadavky selektivní toxicity, přičemž účinek na eukaryotní buňky musí být zanedbatelný nebo žádný. Avšak neexistuje antibiotikum pro makroorganizmus zcela neškodné, jelikož není tělu vlastní [5].

Antimikrobiální látky představují jednu z nejdůležitějších skupin farmak, protože v celé řadě ohledů mají zvláštní postavení ve farmakoterapii [11]. V současné době existuje okolo 150 druhů antibiotik [5]. Tyto látky jsou velmi často předepisovány, jsou ordinovány zbytečně a často nesprávně [11].

Jsou-li tyto látky uměle syntetizovány, mluvíme o chemoterapeutických, pokud jsou (alespoň primárně) produkty metabolismu mikroorganismů, nazývají se antibiotika. Bakteriostatickým působením antimikrobiálních látek se rozumí inhibice dalšího množení původce farmakonem. Baktericidním účinkem se rozumí usmrcení původce farmakonem. Různé mikroorganizmy jsou různě citlivé vůči různým antimikrobiálním látkám. Jedná se o spektrum účinnosti. Snahou je, aby proti konkrétnímu původci bylo vybráno co nejvhodnější chemoterapeutikum [10].

Podle spektra účinku se antibiotika dělí na antibiotika se širokým spektrem účinku a na antibiotika s úzkým spektrem účinku. Antibakteriální účinnost a také specifická účinku vůči určitému druhu původců infekčních onemocnění se zjišťuje testy *in vitro*. Dále jsou určovány koncentrace účinné látky, které již dostačují k tomu, aby potlačily, nebo usmrtily bakteriální agens. Jedná se o minimální inhibiční koncentraci (MIC). Farmakokinetika léčiva je ovlivňována fyzikálně chemickými vlastnostmi účinné látky. Dalším omezujícím faktorem pro používání látek je jejich toxicita, vyžaduje se co největší terapeutická šíře, rozestup mezi antibakteriálně působící dávkou a dávkou toxickou [10]. Orientačně lze sledovat účinek antibiotik na bakterie na agarové plotně, na kterou se vkládá disk nasycený antibiotikem o určité koncentraci. Poté je plotna inkubována v termostatu, antibiotikum difunduje radiálně do agarového gelu. Difundace závisí na molekulové hmotnosti a elektrickém náboji antibiotika, dále na koncentraci, viskozitě a kvalitě agaru [5].

Na agarové plotně lze také sledovat vzájemné ovlivnění účinků dvou antibiotik. Účinek dvou antibiotik může být buď synergický, nebo antagonický. Účinek antibiotika přímo závisí na jeho koncentraci. Kinetiku účinku lze sledovat stanovováním živých buněk, nebo měřením zákalu. Po odstranění mikroorganismu z prostředí pokračuje ještě inhibiční účinek i bez přítomnosti antibiotika a tento jev se nazývá postantibiotický efekt [5].

2.1 Mechanismus působení antibakteriálních látek

Mechanismus účinku antibiotika charakterizuje způsob zásahu antibiotika do syntézy makromolekul bakteriální buňky. Přes značný počet účinných látek lze počet míst zásahu, a tím i způsobu zásahu antibiotik rozdělit do skupin [11].

2.1.1 Inhibice syntézy buněčné stěny

Jedním z mechanismů účinku je inhibice syntézy buněčné stěny, která je podkladem baktericidního účinku antibiotika. V důsledku vazby antibiotika na enzymy bakteriální buňky podílející se na syntéze stěny buňky se bakteriální buňka přestane dělit a hyne [11]. Enzymy se uplatňují tím, že zpevňují peptidoglykan příčnými vazbami. Proteiny jsou schopny vázat penicilin a ostatní β -laktamy, označují se PBP (penicillin-binding protein). Umožnění vazby je dáno podobností β -laktamového kruhu a D-alanyl-D-alanyl-dipeptidu peptidoglykanu. PBP o malé molekulové hmotnosti jsou transpeptidázy nebo karboxypeptidázy. Zabránění dělení buňky má za následek vazba na PBP. [5]. Do této skupiny se řadí β -laktamová antibiotika, glykopeptidová antibiotika a bacitracin [11].

2.1.2 Porušení plazmatické membrány

Antibiotika působící tímto mechanismem účinku způsobují ztrátu selektivní permeability a integrity buněk, a tím jejich zánik. Účinek však není specifický pouze pro bakteriální buňky a může být podkladem nefrotoxicity. Do této skupiny se řadí polyenová antibiotika a imidazoly [11]. Některé látky působí na fosfolipidy jako detergenty, čímž porušují plazmatickou membránu, která ztrácí permeabilitu a integritu. Některá antibiotika se váží na steroly, které jsou obsaženy v membráně kvasinkových mikroorganismů a hub, na bakterie tedy nepůsobí. Se steroly vznikají komplexy a dochází k porušení plazmatické membrány, která je nakonec rozpuštěna. Imidazoly inhibují enzymy, které působí v konečné fázi syntézy ergosterolu. Nepřímo působí na propustnost plazmatické membrány [5].

2.1.3 Inhibice syntézy bílkovin

Třetím mechanismem účinku je inhibice syntézy bílkovin, která vzniká zásahem na různých místech ribozomu. Do této skupiny se řadí tetracykliny, aminoglykosidy, chloramphenicol, makrolidy, linkosaminy a mupirocin [11].

2.1.4 Inhibice syntézy nukleových kyselin

Inhibice syntézy nukleových kyselin může probíhat při replikaci DNA nebo transkripci. Zde se řadí chinolonová antibiotika a rifampicin [11]. U prokaryot se DNA gyráza skládá ze dvou podjednotek GyrA a GyrB, z nichž každá je determinována vlastním genem. Aktivní gyráza tvoří komplex s DNA, na tento komplex se váží například chinolony a zabráňují replikaci bakteriálního chromozomu. Pro tato antibiotika je hlavní průnik poriny. Například rifampicin inhibuje RNA a zabráňuje syntéze DNA-dependentní RNA polymerázy. Účinek nastupuje před počátkem transkripce a v jejím průběhu již nezasahuje [5].

2.1.5 Inhibice metabolismu bakteriální buňky

Posledním mechanismem účinku je inhibice metabolismu bakteriální buňky, ta je podkladem bakteriostatického účinku sulfonamidů, trimetoprimu nebo pyrimetaminu [11]. Sulfonamidy kompetitivně inhibují přeměnu kyseliny para-aminobenzoové na kyselinu dihydrolistovou. Bakterie nejsou schopny využívat kyselinu listovou, jsou tedy závislé na její syntéze z kyseliny para-aminobenzoové. Působení sulfonamidů je bakteriostatické. Trimetoprim a pyrimetamin inhibují reduktázu dihydrofolátu [5].

2.2 Vyšetření citlivosti na antibiotika

Tato vyšetření se provádí za účelem zjištění, zdali jsou mikroorganismy na dané antibiotikum citlivé. Metody mohou být kvalitativní nebo kvantitativní [5].

Kvantitativně se citlivost vyjadřuje minimální inhibiční koncentrací přímo, anebo nepřímo průměrem inhibiční zóny okolo disku. Minimální inhibiční koncentrací se rozumí nejmenší koncentrace antibiotika, která zabrání růstu naočkované kultury. Pro zjištění se používá diskový difúzní test, který je přesně standardizovaný, provádí se na Mueller Hinton agaru při pH okolo 7,2 až 7,4. Na naočkovanou plotnu se vloží šest různých disků a inkubuje se 18 až 24 hodin. Poté jsou měřeny průměry inhibičních zón [5].

Dále slouží ke zjištění minimální inhibiční koncentrace antibiotika diluční test v bujonu. Test je prováděn v mikrotitračních destičkách s dvanácti sloupci a osmi řadami jamek. Jamky jsou plněny 100 ml bujonu s příslušnou koncentrací antibiotika. Očkuje se 1-2 ml bakteriální suspenze o koncentraci 10^8 buněk v 1ml. Poté se provádí odečítání dle tabulek [5].

2.3 Rozdělení antibiotik

V následující kapitole jsou popsána antibiotika, na která se zaměřuje databáze EARSS, jedná se o aminopeniciliny, aminoglykosidy, cefalosporiny a fluorochinolony. U těchto antibiotik je prostřednictvím databáze sledováno šíření rezistence u kmenů *E. coli*.

2.3.1 Aminopeniciliny

Tato antibiotika se řadí do skupiny penicilinů, výchozí látkou pro tuto skupinu antibiotik je penicilin G, který produkuje plíseň *Penicillium notatum*. Aminopeniciliny jsou širokospektré peniciliny, jsou semisyntetické, mají širší antimikrobiální spektrum zahrnující oproti přirozeným penicilinům i některé gramnegativní bakterie [11].

Z hlediska chemické struktury se jedná o β -laktamová antibiotika. Inhibují syntézu buněčné stěny bakterií. Tato antibiotika se velice dobře snášejí, jediné nežádoucí účinky jsou alergie [10].

Dříve se peniciliny rozlišovaly příslušnými písmeny, např. penicilin G a penicilin V. Z kultur *Penicillium chrysogenum* lze získat kyselinu 6-aminopenicilinovou, která se stala výchozí látkou pro syntézu četných penicilinů se zvláštními vlastnostmi [10].

Mechanismem účinku je potlačení růstu a množení bakterií. Na proliferující bakterie působí peniciliny baktericidně. Řada mikroorganismů dokáže produkovat β -laktamázu, která štěpí penicilinový kruh antibiotik a tím je inaktivuje. Aminopeniciliny jsou citlivé vůči enzymu penicilináze. Podařilo se vyvinout inhibitory β -laktamázy, které chrání peniciliny před degradací, podávají-li se současně s nimi [10].

Nejčastějšími nežádoucími účinky penicilinů jsou alergické reakce. Organová toxicita penicilinů je mimořádně úzká. Působení antibiotika může vyvolat změny složení přirozené mikrobiální flóry, což může způsobit poruchy funkce trávicího ústrojí [10]. Aminopeniciliny patří do skupiny penicilinů odolných vůči stafylokokové penicilináze [11].

Antimikrobiální spektrum této skupiny je omezeno na stafylokoky a streptokoky. V kyselém prostředí nejsou hydrolyzovány [12]. Farmakodynamické a farmakokinetické vlastnosti aminopenicilinů jsou podobné základním penicilinům [11].

Do této skupiny se řadí amoxicilin a ampicilin. Ampicilin je acidorezistentní penicilin [11]. Vzniká substitucí benzylpenicilinu aminoskupinou, tyto chemické obměny rozšiřují antibakteriální spektrum hlavně o gramnegativní bakterie [10]. K tomuto antibiotiku jsou citlivé z grampozitivních bakterií pyogenní hemolytické streptokoky, viridující streptokoky, patogenní druhy rodu *Clostridium* a korynebakteria. Ve srovnání s penicilinem je citlivější *Streptococcus faecalis* a další enterokoky. Mezi citlivé také patří β -laktamáza negativní stafylokoky. Z gramnegativních bakterií jsou citlivé *Leptospira* spp., *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *A. suis*, *A. equuli*, *Pasteurella* spp., *Haemophilus parasuis*. Rozšířené spektrum zahrnuje *Helicobacter* spp., *Campylobacter* spp., *Moraxella bovis*, *Salmonella* spp., penicilináza negativní kmeny *E. coli*, penicilináza negativní kmeny *Klebsiella* spp. a *Proteus mirabilis* [12].

Po perorálním podání se vstřebává asi 30 % podané dávky, absorpce je kvantitativně snižována potravou, a proto je perorální léková forma ampicilinu opouštěna ve prospěch amoxicilinu. Nitrosvalově se podává ampicilin v dávkovacích intervalech po 6 hodinách [11].

Amoxicilin je 4-hydroxyderivát ampicilinu, který se podává perorálně a patří do skupiny derivátů se zlepšenou účinností po perorálním podání [10]. Má široké spektrum účinku a je účinný i na gramnegativní bakterie. Spektrum je téměř shodné se spektrem ampicilinu. Toto antibiotikum výrazněji účinkuje na bakterie z rodu *Enterococcus* a *Salmonella in vivo*. Účinky amoxicilinu zesiluje draselná sůl kyseliny klavulanové. Na mikroorganismy působí stejným mechanismem, jako působí benzylpenicilin. Amoxicilin se váže nejenom na PBP-1, ale i na PBP-3, toto má za následek tvorbu bakteriálních sféroplastů s následným úhynem. V kombinaci s draselnou solí kyseliny klavulanové se uplatňuje specifická inhibice β -laktamázy. Amoxicilin vykazuje lepší resorpci než ampicilin a v krevním séru vytváří hladinu dvojnásobnou. Například jeho biologická dostupnost u telat je šestkrát vyšší než u ampicilinu. Jeho použití se uplatňuje zejména u infekčních onemocnění trávicího, respiračního a urogenitálního traktu. Dále je možno ho použít u sekundárních bakteriálních infekcí i při infekcích kožních, ale i lokálně například při infekci dělohy. Ve srovnání s ampicilinem je možno ho dávkovat v nižších dávkách. U amoxicilinu se používají kombinace

s inhibitory β -laktamáz. Bylo dokázáno, že účinnost při pasteurelové pneumonii byla vyšší v kombinaci s kolistinem. Toto antibiotikum se nepodává perorálně přežvýkavcům. Trihydrát tohoto antibiotika není možno užívat u ovcí chovaných na mléko pro lidskou spotřebu. V žádných kombinacích se nesmí používat u králíků, morčat, křečků ani jiných býložravců. Při perorální aplikaci pro požitelné tkáně je ochranná lhůta 2-11 dní a pro mléko 24 hodin. Při injekčním podání pro tkáně je ochranná lhůta až 21 dní a pro mléko až 5 dní. Pokud se toto antibiotikum aplikuje do dělohy, není možno požívat tyto tkáně po dobu 7 dní a mléko po 48-60 hodin [12]. Ve srovnání s ampicilinem vytváří vyšší plazmatické koncentrace a jeho absorpce není nepříznivě ovlivňována potravou. Farmakokineticko-farmakodynamické vztahy poskytují podklady pro dávkování amoxicilinu v intervalech po 8 hodinách. Pouze při použití vysokých dávek je možné podávání po 12 hodinách [11].

Nežádoucí účinky aminopenicilinů jsou stejné, jako u penicilinu G. Častěji se vyskytují kožní reakce ve formě enantémů, které se většinou omezují na oblast trupu [10].

Kombinace s inhibitory β -laktamáz zesiluje účinek tohoto antibiotika. Ampicilin se kombinuje s kolistinem nebo kloxacilinem, jedná se o velmi účinnou kombinaci. Tato antibiotika se nesmějí používat u ovcí, jejichž mléko je určeno ke konzumaci lidmi, ani přežvýkavcům se perorálně nepodává. Ochranná lhůta u tohoto antibiotika je 4-6 dní u tkání požitelných po perorální aplikaci. U mléka je tato lhůta 6 dní, po aplikaci u tkání do svalů je třeba dodržet ochrannou lhůtu 30 dní [12].

Další možností kombinace aminopenicilinů s inhibitory β -laktamáz je kombinace amoxicilinu s kyselinou klavulanovou, spektrum tohoto antibiotika je rozšířené o kmeny bakterií s produkcí β -laktamázy, jako je například rod *Klebsiella* a *Proteus vulgaris*. Na tuto kombinaci je rezistentní *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter calcoaceticus*, bakterie z rodů *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, jedná se tedy o bakterie, které produkují inducibilní β -laktamázy. Vůči oxacilinu je rezistentní *S. aureus* [12].

2.3.2 Aminoglykosidy

Aminoglykosidová antibiotika patří mezi nejstarší, u nás jsou široce užívána v nemocnicích [11]. Získávají se z filtrátu kultur některých druhů *Streptomyces* a *Micromonospora* [10]. Aminoglykosidy byly široce používány v období od objevení streptomycinu v roce 1944 [13]. Na jejich příznivém postavení ve farmakoterapeutické praxi se podílí mimořádně rychlý baktericidní účinek vůči většině gramnegativních mikrobů. Jsou neurotoxické a oto-

toxické [11]. Ototoxicita je způsobena cheláty, které redukují kyslík na kyslíkové radikály a ničí buňky v uších [13]. Mají poměrně pomalý rozvoj rezistence. Z farmakologického hlediska jde o antibiotika s úzkým terapeutickým rozmezím [11].

Chemicky je základem aminoglykosidů hexózové jádro, na které jsou glykosidickými vazbami připojeny aminocukry [11]. Antimikrobiální účinnost aminoglykosidů je pravděpodobně na centrálním kruhu deoxystreptaminu. Látky zahrnuté do této skupiny mají podobnou stavbu, jsou složeny z glykosidycky spojených aminocukrů a jedná se většinou o trisacharidy. Streptomycin a neomycin B aminocukr neobsahují [10].

Fyzikálně-chemicky jsou aminoglykosidy hydrofilní látky, které špatně pronikají biologickými membránami. Mechanismus účinku spočívá v inhibici syntézy bílkovin, která vzniká zásahem na různých místech ribozomů [11]. Bakterie přijímají aminoglykosidy pomocí aktivního transportního mechanismu pro bazické oligopeptidy. Všechna antibiotika této skupiny obsahují aminokyseliny, které se při fyziologickém pH vyskytují v protonové formě. Tudíž může proběhnout záměna za bazické oligopeptidy na transportním systému bakterií [10].

Aminoglykosidy se reverzibilně vážou na receptor umístěný na 30S podjednotce a blokují vazbu aminoacyl-tRNA na akceptorové místo na komplexu mRNA s ribozomem. Mechanismus účinku aminoglykosidů je však podstatně složitější a není zcela objasněn [11]. Antimikrobiální spektrum aminoglykosidů zahrnuje řadu klinicky významných gramnegativních mikrobů: *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Serratia* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Morganella* spp., *Salmonella* spp., *Yersinia* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Alcaligenes* spp. Aminoglykosidy jsou účinné i na *Staphylococcus aureus* a další stafylokoky. Anaeroby jsou na aminoglykosidy přirozeně rezistentní [10].

Po perorálním podání se aminoglykosidy špatně vstřebávají, podávají se proto parenterálně, přednostně nitrožilně. Vazba aminoglykosidů na plazmatické bílkoviny je malá a klinicky nevýznamná. Průnik do tělních tekutin a tkání není dobrý, distribuční objem představuje asi jen 25 % celkové tělesné hmotnosti. Do cerebrospinální tekutiny aminoglykosidy nepronikají. Vylučují se ledvinami, přičemž se za jeden den vyloučí přibližně 90% podané dávky. Biologický poločas se pohybuje u aminoglykosidů okolo dvou hodin. Tato antibiotika mají mimořádně rychlý baktericidní účinek. Aminoglykosidy mají také postantibiotické

ký účinek. Mezi aminoglykosidy patří streptomycin, kanamycin, gentamicin, sisomicin, tobramycin, netilmicin, amikacin, isepamicin [11].

Streptomycin se používá zejména proti tuberkulóze, je také lékem první volby při léčbě tularémie. Toto antibiotikum se používá v kombinaci s penicilinem. Kanamycin se již klinicky nepoužívá. Gentamicin je širokospektré antibiotikum. Amikacin je antibiotikum, které bylo vyvinuto na léčbu infekcí vyvolaných kmeny rezistentními na gentamicin [11].

2.3.3 Fluorochinolony

Fluorochinolony patří mezi chinolonová chemoterapeutika, které tvoří malá skupina nefluorovaných chinolonů a podstatně větší skupina nových fluorochinolonů. Chemicky se jedná o 4-chinolony s četnými substitucemi. Tyto substituce vylepšují antimikrobiální účinek a také farmakologické vlastnosti jednotlivých derivátů. Chinolony jsou řazeny do skupin podle spektra účinku nebo farmakologických vlastností. Fluorochinolony jsou nazývány podle připojení atomu fluoru k základní molekule [10].

První generace fluorochinolonů představovala, dnes již nepoužívaná skupina preparátů pro léčbu infekcí močových cest, vyvolaných bakterií *Escherichia coli* nebo jinými gramnegativními tyčinkami. Do této první generace se řadí kyselina nalidixová, kyselina oxolinová, kyselina pipemidová a cinoxacin [10,11].

Druhou generaci představují preparáty s vyšší aktivitou, mají širší antimikrobiální spektrum a spolehlivou systémovou distribuci. K zástupcům této skupiny patří ciprofloxacin, ofloxacin, levofloxacin, pefloxacin [11].

Třetí generace má rozšířené spektrum na *Streptococcus pneumoniae* a zlepšené farmakologické vlastnosti. Do skupiny patří gatifloxacin, pazufloxacin, sparfloxacin, tosufloxacin [10,11].

Poslední, čtvrtá generace má zesílenou aktivitu proti grampozitivním kokům a některým anaerobům. Do této skupiny patří moxifloxacin a jiné přípravky, které nejsou v ČR registrovány. Fluorochinolony třetí a čtvrté generace mohou být někdy označovány jako respirační. V posledních letech je nárůst rezistence na tato antibiotika vysoký a při jejich používání se musí dodržovat pravidla antibiotické politiky [10,11].

Mechanismus účinku je založen na inhibici syntézy nukleových kyselin. Jsou inhibitory dvou topoizomeráz, a to DNA-gyrázy a topoizomerázy IV. Gyráza je bakteriální enzym,

který odpovídá za zřetězení a rozvolnění superhelikální DNA v průběhu replikace. Účinek je baktericidní. Antimikrobiální spektrum je široké, jsou výborně účinné na *Enterobacteriaceae* a řadu gramnegativních koků. Jsou také účinné proti intracelulárním patogenům [11].

Norfloxacin je baktericidní antibiotikum, jeho antimikrobiální spektrum zahrnuje *Enterobacteriaceae* a není účinný vůči atypickým mikroorganismům. Toto antibiotikum se používá u nekomplikovaných zánětů močových cest, dále lze použít u cestovatelských průjmů. Ofloxacin, ciprofloxacin a pefloxacin mají vyšší antimikrobiální spektrum, zahrnují jak gramnegativní, tak i grampozitivní mikroorganismy a jsou účinné i na atypické mikroorganismy. Mezi všemi fluorochinolony existuje zkřížená rezistence. Levofloxacin je L-izomer ofloxacinu, které má vyšší účinnost na pneumokoky [11].

2.3.4 Cefalosporiny

Cefalosporiny se spolu s peniciliny řadí do skupiny β -laktamových antibiotik [11]. Byly získány z plísně *Cephalosporium acremonium* [10]. Jejich základní chemickou strukturou je β -laktamový kruh [11]. Na rozdíl od β -laktamových antibiotik mají šestičlenný kruh. Základní strukturou je kyselina 7-aminocefalosporanová, ta je výchozí látkou pro polosyntetické cefalosporiny [10]. Mezi cefalosporiny se řadí i cefamyciny, které mají jinou strukturu [5].

Mechanismus účinku spočívá v inhibici syntézy buněčné stěny, zásahem do syntézy peptidoglykanu, který poskytuje mechanickou stabilitu buněčné stěně [11]. Snižují tedy aktivitu transpeptidáz při výstavbě bakteriální stěny [10]. Mají rychle nastupující baktericidní účinek [11]. Cefalosporiny mají v grampozitivním spektru bakterií účinky stejné jako peniciliny rezistentní vůči penicilináze, pokud jsou použity ve vyšším množství. V gramnegativním spektru bakterií jsou srovnatelné s účinky ampicilinu, přičemž některé cefalosporiny působí na více patogenů. Čím větší je antibakteriální spektrum, tím více klesá jejich účinnost vůči grampozitivním mikroorganismům [10].

Za dobu asi třiceti let bylo vyvinuto asi 70 cefalosporinů [5]. Cefalosporiny se rozdělují do čtyř generací. Do generací jsou rozděleny podle odolnosti vůči β -laktamázám, rychlosti průniku buněčnou stěnou a farmakologickými vlastnostmi jednotlivých antibiotik. Antimikrobiální spektrum cefalosporinů je široké. Účinnost vůči grampozitivním bakteriím je vzhledem k ostatním antibiotikům nepatrně horší. Cefalosporiny pronikají dobře do biolo-

gických tekutin, ale málo do buněk. Distribuční objem je relativně malý. Některé cefalosporiny se významně metabolizují, většina se vylučuje močí. Biologický poločas je krátký většinou 0,5-3 hodiny. Farmakodynamicky patří cefalosporiny mezi antibiotika s účinkem, který nezávisí na koncentraci. Cefalosporiny jsou velmi málo toxické [11]. Cefalosporiny, které jsou citlivé vůči cefalosporináze se používají při selhání penicilinů, které jsou rezistentní vůči penicilináze a dále při selhání penicilinů se širokým spektrem v oblasti gramnegativních patogenů. Cefalosporiny nejsou běžná antibiotika, jsou indikovány při necitlivosti na peniciliny, pouze na základě testů na jejich citlivost [10].

2.3.4.1 3. generace cefalosporinů

3. generace cefalosporinů se od ostatních generací odlišuje nízkou aktivitou proti stafylokokům, ale vyšší účinností na gramnegativní bakterie [11]. Na enterokoky cefalosporiny nepůsobí. V nízkých koncentracích inhibují i gramnegativní bakterie, na které většinou cefalosporiny 1. a 2. generace nereagují. Žádné z těchto antibiotik není vhodné k léčbě pseudomonádových infekcí [5].

Stabilita cefalosporinů 3. generace proti účinku β -laktamáz je vyšší než odolnost cefalosporinů 1. a 2. generace, takže účinkují i na některé bakteriální kmeny, které se staly na cefalosporiny nižších generací rezistentními. Přesto se již objevily β -laktamázy, které mohou působit i na 3. generaci cefalosporinů. Jedná se zejména o β -laktamázy ESBL (extended spectrum β -lactamases), které vytváří například *Klebsiella pneumoniae*, ale stále vyšší měrou i další enterobakterie, případně gramnegativní nefermentující tyčinky [11].

Cefalosporiny 3. generace mohou být inaktivovány prostřednictvím nadprodukce chromozomálně kódovaných β -laktamáz, dereprimovaných mutací *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens* případně *Providencia* spp. Tyto kmeny s vysokou produkcí příslušných enzymů se mohou objevit v průběhu léčby cefalosporiny 3. generace, jako následek selekce příslušným antibiotikem. Do této skupiny patří cefotaxim, ceftriaxon, ceftazidim, cefoperazon, co-cefoperazon, cefsulodin, pro parenterální podání a cefixim, ceftibuten, cefetamet pro perorální podání [11]. Do skupiny cefalosporinů účinných proti cefalosporináze patří cefuroximaxetil, ze kterého se po resorpci uvolňuje cefuroxim, který je proti cefalosporináze odolný [10].

3 ANTIBIOTICKÁ REZISTENCE

V posledních desítkách let bylo získáno tolik různých látek, že je dnes možné úspěšně léčit téměř všechny klasické infekční onemocnění. Bohužel se vlivem této léčby vyvinuly rezistentní kmeny, které se dříve nevyskytovaly. Jde přitom o původce, jejichž metabolismus antibakteriální léčiva neovlivňují (nebo již neovlivňují). Proto bude i v budoucnu nutné vyvíjet stále nové účinné látky [10]. Snadný vznik rezistence na antibiotika způsobuje omezený počet míst zásahu antibiotik. Vývoj rezistence je alarmujícím důvodem pro neustálé hledání nových látek či nových kombinací [11].

3.1 Mechanizmy vzniku rezistence

Rezistence bakterií vůči léčivu se může vyvinout několika způsoby:

- enzymatickou inaktivací léčiva v okolí bakterie nebo jejím nitru,
- snížením příjmu účinné látky do bakterií nebo zvýšením jejího transportu z nitra bakterie ven,
- znečitlivěním cílového místa nebo kompenzace metabolického defektu vyvolaného účinnou látkou [10].

Způsoby vyvinutí rezistence jsou uvedeny v následující tabulce (Tabulka 1).

Tab. 1. Mechanizmy rezistence [10].

Mechanismus rezistence	Příklady
Snížení intracelulární koncentrace antibiotika	
• zvýšení efluxu	tetracykliny chinolinová antibiotika
• snížení permeability zevní membrány	β -laktamová antibiotika chinolinová antibiotika
• snížení transportu plazmatickou membránou	aminoglykosidy
Inaktivace antibiotika (reverzibilní nebo ireverzibilní)	β -laktamová antibiotika aminoglykosidy fosfomycin chloramphenicol
Modifikace cílového místa	chinolinová antibiotika rifampicin β -laktamová antibiotika makrolidy glykopeptidy
Obchvat cílového místa	trimethoprim

3.2 Rozvoj rezistence

Jsou různé důvody, pro které mikrobiální kmen může být nebo se může stát necitlivým vůči dané látce:

- u přirozeně rezistentních kmenů antibiotikům buď nenachází biologický mechanismus, který by mohlo ovlivnit, nebo nemůže proniknout k intracelulárním strukturám,
- o adaptaci se hovoří v případě, kdy se mikroby beze změny genetického materiálu sžijí s antibiotikem, např. indukci enzymů (penicilin: penicilináza),
- k selekci dochází tehdy, když je již od počátku v populaci bakterií přítomno několik rezistentních jedinců, které se v přítomnosti antibiotika mohou nerušeně rozmnožovat: primárně získaná chromozomální rezistence,
- v průběhu terapie mohou vzniknout náhodné změny genetického materiálu, mutace s navazující selekcí pod vlivem antibiotika, tento proces může probíhat pomalu, ale také velmi rychle: sekundárně získaná chromozomální rezistence,
- parasexuálními mechanismy může dojít k přenosu genetického materiálu z rezistentních jedinců (jiného druhu) přenosem specifického plazmidu na citlivé jedince: „infekční“ extrachromozomální rozvoj rezistence [10].

Rezistence u *Streptococcus pneumoniae*, virudujících streptokoků, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitis*, *Haemophilus influenzae* k β -laktamovým antibiotikům je způsobena změněnou afinitou PBP k těmto ATB. Tento mechanismus rezistence je také u enterokoků, kde mají PBP nízkou afinitu k penicilinu a vůbec žádnou k cefalosporinům. Rezistence u *Neisseria gonorrhoeae* i *Neisseria meningitidis* je determinována genem *penA*, ten produkuje PBP2 s nízkou afinitou k penicilinu. Tento gen je složen z části genu přirozené rezistence k penicilinu *Neisseria flavescens*. U stafylokoků rezistentních k meticilinu nebo oxacilinu se syntetizuje přídatný protein PBP2a s nízkou afinitou. Když jsou za přítomnosti β -laktamových antibiotik PBP inaktivovány, PBPa přebírá jejich funkci. Gen *mecA*, který gen PBPa determinuje, představuje stafylokokům cizí polynukleoid. Gen *mecA* je kontrolován dalšími geny. Výsledný fenotypový efekt je rozmanitý, závisející na dalších regulačních genech [5].

Rezistence k rifampicinu je vyvolána genovou mutací v DNA dependentní RNA-polymeráze. Rezistenci k trimetoprimu způsobuje alterace dihydrofloát reduktázy. Sníže-

nou afinitu k sulfonamidům způsobuje bodová mutace v genu, který určuje syntetázu dihydropteroátu [5].

V Portugalsku byly zkoumány izoláty z výkalů brojlerů na jatkách. Byla sledována citlivost na 16 typů antibiotik. 85 % *E. coli* vykazovalo multirezistenci. V 31 případech ze 66 produkovala *E. coli* β -laktamázu, což je ve 46,9 %. [14].

3.3 Typy rezistence

Některé bakteriální druhy jsou k určitým antibiotikům přirozeně rezistentní. Znalost rezistence u konkrétních druhů je nutná a užitečná nejen k terapii, ale také jako znak identifikace mikroorganismu [5]. Jestliže se u bakterií rozvine rezistence, netýká se většinou jen jediného antibiotika, nýbrž celé skupiny, působící antibakteriálně stejným mechanismem. Taková rezistence se označuje jako zkřížená. Bakterie mohou rezistenci získávat, ale také ji ztrácet, když se určité chemoterapeutikum delší dobu nepoužívá. Jedná se o přechodnou rezistenci. Taková pro terapii příznivá situace však může nastat pouze tehdy, jestliže se antibiotika, na která se vyvinula rezistence, na delší dobu zcela stáhnou z používání [10].

Kmeny, které jsou rezistentní vůči více antibiotikům, jsou nazývány jako multirezistentní. Kombinace znaků rezistence u jednoho kmene je takzvaný profil rezistence (fenotyp rezistence). Profil rezistence je vhodným znakem pro epigemiologii nozokomiálních nákaz. Po vyšetření citlivosti lze zjistit, jednalo-li se o vzácný fenotyp rezistence. Tyto fenotypy mohou upozorňovat na nebezpečí výskytu epidemie. Vyšetření se používá k návrhům terapie [5].

Bylo dokázáno, že rezistence se u *E. coli* může dědičně dostat z matky na dítě. Tato rezistence byla zkoumána u tetracyklinu, ampicilinu, cefazolinu a trimetoprimu [15]. Při zkoumání vody ve dvou řekách v Jižní Africe bylo zjištěno, že v první řece bylo rezistentních na antibiotika 97,1 % izolovaných bakterií *E. coli* a 71,15 % v druhé řece. Bylo dokázáno, že pitím vody z těchto řek se mezi obyvateli Jižní Afriky šíří u *E. coli* informace o rezistenci na novobiocin [16].

3.4 Důsledky rezistence pro terapii

Všeobecná situace v rezistenci patogenních bakteriálních kmenů se neustále mění a vykazuje také velké místní rozdíly. Dokonce může nastat situace, kdy hrozí nebezpečí onemoc-

nění infekcí získanou v nemocnici. Proto je nutné kontinuální mikrobiologické sledování, které informuje o aktuální situaci i o jejím dalším vývoji. Při volbě chemoterapeutika se vychází ze znalostí aktuální situace v oblasti rezistence bakterií [10].

3.5 Vznik rezistence na antibiotika z důvodu přítomností antibakteriálních látek v potravinách

Riziko přenosu antibiotické rezistence na člověka, z důvodu konzumace potravin živočišného původu s obsahem reziduí antibiotik, je vysoké [17]. Studie, které byly provedeny na drůbežím mase, konkrétně u brojlerů, krocanů a slepic, ukazují, že k přenosu rezistentních klonů a rezistentních plazmidů z *E. coli* z drůbeže na člověka dojde, a to běžně. Tato rezistence byla zkoumána u chinolonového antibiotika ciproflaxacinu [18].

V čínské provincii Guangdong byla zkoumána rezistence k fluorochinolonům u prasat a drůbeže, a bylo zjištěno, že rezistence *E. coli* k antibiotikům vzniká v důsledku mutace *qnr* genů. Bylo zkoumáno okolo 232 izolátů *E. coli*, z čehož 27 bylo pozitivních na *qnr* geny [19].

Další případy rezistentní *E. coli* byly zaznamenány v USA a to konkrétně na antibiotikum trimetoprim-sulfametoxazol, který je používán k léčbě infekcí močového traktu. Ke vzniku této rezistence došlo v důsledku konzumace kontaminovaných potravin živočišného původu [20].

Jestliže jsou antibiotika používána u zvířat určených k výživě lidí, rezistence na tato antibiotika může být přenesena do běžné střevní flóry a výskyt rezistence se tedy šíří. K tomuto došlo například u enterokoků v Evropě v souvislosti s použitím a přerušením používání antibiotik podporujících růst [21]. V roce 2001 bylo u izolátů patogenní *E. coli* ze zvířat a lidí zjištěno, že se u obou typů vyskytuje multirezistence. Nejvíce byla *E. coli* odolná vůči ampicilinu, teracyklinu a sulfonamidu [22]. Informace o rezistenci *E. coli* na fluorochinolony používané u drůbeže se přenáší na člověka ve velké míře. V USA v roce 2000 bylo ze 169 izolovaných *E. coli* z drůbeže rezistentních 62 na tato antibiotika [23].

3.5.1 Definice reziduí a jejich přípustné hladiny

Reziduem se rozumí přítomnost původní látky nebo jejího produktu látkové výměny v potravinách, potravinových surovinách nebo na nich. Povolené množství reziduí se vyjadřuje

v mg/kg. Za původní látku je většinou považována výchozí účinná látka léčiva. Limity reziduí v potravinách jsou uvedeny v tabulce (Tabulka 2). Při překročení těchto limitů daných vyhláškou č. 273/2000 Sb. se nepovažuje daná potravina za zdravotně nezávadnou [24].

Tab. 2. Příklady povolených reziduí penicilinů v potravinách [24].

ATB	Druh živočichů	MLR (mg/kg)	surovina
amoxicilin	všechny druhy živočichů	0,050	maso, játra, ledviny, tuk
		0,004	mléko
ampicilin	všechny druhy živočichů	0,050	maso, játra, ledviny, tuk
		0,004	mléko
benzylpenicilin	všechny druhy živočichů	0,050	maso, játra, ledviny, tuk
		0,004	mléko
dikloxacilin	všechny druhy živočichů	0,300	maso, játra, ledviny, tuk
		0,030	mléko
kloxacilin	všechny druhy živočichů	0,300	maso, játra, ledviny, tuk
		0,030	mléko

3.6 Rezistence vůči aminopenicilinům

Přirozeně jsou na aminopeniciliny rezistentní bakterie z rodů *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Providentia*, *Serratia*, *Bacteroides*, *Aeromonas*, *Acinetobacter* a druhy *Y. enterocolitica*, *P. vulgaris* a *Clostridium difficile*. Rezistence vzniká na základě tvorby bakteriálních β -laktamáz je zprostředkována plazmidy i chromozomálně jak u gramnegativních

tak u grampozitivních bakterií. Rozhodující podíl mají mechanismy související s produkcí plazmidově kódovaných β -laktamáz a snížení reaktivnosti cíle. U grampozitivních bakterií byl dále popsán mechanismus přemostění cíle a u gramnegativních bakterií snížení permeability stěny. Kmeny, které získaly rezistenci k ampicilinu, jsou rezistentní křížově i k amoxicilinu a dalším penicilinům. Citlivé nejsou gramnegativní bakterie produkující penicilinázy, zejména *Escherichia coli* [12]. Při zkoumání rezistence v Portugalsku na izolátech *E. coli* z výkalů racků bylo k ampicilinu rezistentních 43,4 % izolátů a k amoxicilinu potenciovanému kyselinou klavulanovou pouze 1,9 % [25].

3.7 Rezistence vůči aminoglykosidům

Rezistence na aminoglykosidy se vyvíjí velmi pomalu. Existuje však řada dokladů, že racionální antibiotická politika výrazným způsobem ovlivňuje stav rezistence na aminoglykosidy. Součástí antibiotické politiky je i rotace antibiotik, v případě aminoglykosidů jde nejčastěji o preferenční používání gentamicinu, a až v případech rostoucí rezistence vůči gentamicinu se může spotřeba přesunout na amikacin, což může vést k obnově dobré citlivosti na gentamicin, ke kterému se dá po čase vrátit. Nedílnou součástí antibiotické politiky i zde musí být systematické sledování stavu citlivosti mikrobů v daném regionu. Vysoké hladiny rezistence enterokoků k aminoglykosidům zejména v nemocničním prostředí jsou celosvětovým problémem. Aminoglykosidy se používají k léčbě závažných enterokokových infekcí pouze v kombinaci s peniciliny. V případě výskytu vysokých hladin rezistence se pak tato synergie nemůže uplatnit [11].

U těchto antibiotik vzniká rezistence třemi základními způsoby, sníženou permeabilitou, alterací cílové struktury a alterací molekuly aminoglykosidů. Snížení průniku může vzniknout změnou bílkoviny zevní membrány, nebo alterací aktivního transportního systému. Změna ribozomové struktury vyvolá snížení vazby aminoglykosidu na 30S ribozom. Modifikujících enzymů je celá řada, některé se vyskytují často a jiné pouze výjimečně. Nejčastěji rezistenci způsobují enzymy, které acetylují aminoskupiny aminoglykosidů, jsou determinovány geny na chromozomu a vyskytují se u providencií, *Serratia marcescens* a *Enterobacterococcus faecium* [5].

Enzymy acetylující aminoskupiny aminoglykosidů jsou dvojího typu, jeden z nich udílí rezistenci amikacinu a druhý gentamicinu. Gen, který udílí rezistenci amikacinu, se může vyskytovat i u gramnegativních bakterií. Enzym, díky kterému vzniká rezistence na genta-

micin, nese více než 50 % bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae*. Nejčastější příčinou rezistence na kanamycin a neomycin je gen, který způsobuje fosforylaci hydroxylové skupiny. Enzymy jsou označovány jako APH I-VII [5].

Rezistence k aminoglykosidům se u gramnegativních tyčinek rozšiřuje po celém světě. Multirezistence k aminoglykosidům je dána současnou produkcí několika modifikujících enzymů nebo enzymů s dvojitou aktivitou, tento typ rezistence je rozšířen v Turecku, Řecku a Jižní Americe, dosahuje až 50 %. Dva enzymy jsou u 40 % klebsií, enterobakterů a citrobakterů. Tři enzymy se vyskytují u 6 % bakterií. Výsledkem navýšení rezistence, která je způsobená sníženou permeabilitou, je multirezistence ke všem aminoglykosidům včetně amikacinu. Tato rezistence dosahuje v Turecku, Řecku a Latinské Americe 97 %. V České republice je vysoká rezistence seracií ke gentamicinu, téměř 80 %, k amikacinu je to pouze 8 % [5]. Při zkoumání rezistence v Portugalsku na izolátech *E. coli* z výkalů racků bylo ke gentamicinu rezistentních 7,5 % izolátů a k amikacinu 5,7 % [25].

3.8 Rezistence vůči floroquinolonům

Rezistence na tato antibiotika vzniká třemi základními způsoby. Prvním z nich je alterace DNA-gyrázy nebo topoizomerázy IV, jedná se například o rezistenci *Pseudomonas aeruginosa*. Druhým způsobem je snížení permeability zevní membrány mikroorganismů [11]. Tyto mutace jsou postihovány genem *ompF*, determinující porin [5]. Posledním způsobem je eflux [11]. Jedná se o zvýšený únik chinolonů z buňky, vyskytuje se například u rezistentních stafylokoků nebo proteů [5].

Ojedinelá je rezistence zprostředkovaná inaktivujícími enzymy vázaná na plastidy, tato rezistence je prozatím nevýznamná [11]. Byly izolovány mutanty s MIC 128-1000, u nichž je mechanismus vzniku rezistence kombinovaný [5].

U gramnegativních tyčinek je rozvoj rezistence u nemocničních kmenů, a to více v Evropě než v Americe. Vysoký výskyt je u acinetobakterů. Rezistence se objevuje i mimo nemocnici. V České republice je rezistence k floroquinolonům u *Serratia marcescens* a *Pseudomonas aeruginosa* kolem 30 %, u acinetobakterů je to 20 % [5]. Při zkoumání rezistence v Portugalsku na izolátech *E. coli* z výkalů racků bylo k ciprofloxacinu rezistentních 18,9 % izolátů [25].

3.9 Rezistence vůči cefalosporinům

Rezistence na tuto skupinu antibiotik vzniká čtyřmi způsoby. Prvním způsobem je tvorba β -laktamáz, z nichž některé jsou chromozomálního původu a některé plazmidové, jde o nejdůležitější formu vzniku rezistence. Druhým způsobem je alterace (změna) vazebných proteinů na základě mutace genů. Třetí možností je snížení permeability zevní membrány buněčné stěny gramnegativních bakterií tím, že se zhoršuje, případně i znemožňuje přístup molekul β -laktamového antibiotika k cílovým enzymům. Poslední možností je eflux neboli aktivní transport antibiotika z bakteriální buňky, je zprostředkován systémy prostupujícími buněčnou stěnou a plazmatickou membránou, tzv. multidrug resistance pumps a tento transport často zahrnuje i několik nepříbuzných antibiotik [11]. Používání širokospektrých cefalosporinů vede k nárůstu rezistence mikroorganismů. Pravdou je, že rezistence u používaných antibiotik se bude neustále zvyšovat [13].

3.10 Analýza citlivosti mikrobiální populace

V citlivé populaci je distribuce MIC antibiotika unimodální. Ve smíšené populaci je tato distribuce bimodální. To znamená, že se populace rozpadá na dvě populace, s dvěma vrcholy frekvence MIC. K charakteristice populace proto není vhodná průměrná MIC, jelikož ta nevyovídá o rozložení. Byly zavedeny parametry MIC₅₀ a MIC₉₀. Tyto dvě hodnoty společně charakterizují rozložení MIC v mikrobiální populaci [5].

V dnešní době se vyskytují kmeny s vysokou frekvencí rezistence. Původ genů rezistence není objasněn. Rezistence se šíří pomocí přenosu genů na plazmidech nebo na transpozonech, což je nejčastější způsob šíření. Příkladem regionálního šíření je rozšíření několika rezistentních klonů pneumokoků na několik kontinentů [5].

V nemocnicích je nutné zaznamenávat případy rezistence a tato data vyhodnocovat. Cílem je rozpoznat pohyb rezistence a rezistentních kmenů v krátkém časovém úseku. Při výskytu některého fenotypu rezistence je možné zasáhnout tak, že se omezí podávání dotyčného antibiotika a toto antibiotikum se nahradí jiným antibiotikem. Dále se mohou zjistit také zdroje rezistence. Místní data se shromažďují v národním centru, kde je získáván přehled o situaci v zemi a srovnává se situace v různých nemocnicích. Data se z národních center předávají nemocnicím, laboratořím a také se mohou poskytovat do centra, které monitoruje rezistenci globálně [5].

Sledování rezistence má význam u původců respiračních onemocnění ambulantních pacientů. Světová zdravotnická organizace učinila první kroky ke globálnímu dohledu nad rozvojem rezistence. Rozvoj rezistence není rovnoměrný, závisí na oblasti, zemi nebo kontinentu. Hromadný výskyt plazmidů, transpozonů nebo klonů je základem epidemiologie rezistence. Dochází k tvorbě ohnisek, ze kterých se může rezistence šířit. Je důležité, aby všechny nové fenotypy rezistence byly včas zaznamenány. Na úrovni státu je monitorovací činnost nepostradatelná a samozřejmá. Rezistence se šíří pomocí plazmidů a transpozonů rychle a po pominutí selekčního tlaku se snižuje, až může vymizet. Rezistence se šíří globálně [5].

4 EARSS DATABÁZE

EARSS je největší z veřejně financovaných mezinárodních sítí národních systémů dozoru pro antimikrobiální rezistenci [26,28]. Tato databáze je schopna poskytnout oficiální, ověřené a srovnatelné údaje o antimikrobiální rezistenci. Tato síť není sama o sobě schopna zabránit rezistenci, ale přispívá k transparentnosti a analýze informací, které jsou potřebné ke zvýšení povědomí veřejnosti na problém, který by mohl zvrátit některé významné úspěchy v moderní medicíně. EARSS je financován z prostředků generálního ředitelství pro zdraví a ochranu spotřebitele (DG SANCO), dále je financován z veřejných zdrojů sítě pro sledování antimikrobiální odolnosti v evropském regionu [27]. Neřešení šíření antibiotické rezistence by mohlo vést k závažným problémům [26]. Systém má být schopen rychle identifikovat vznik nové antibiotické rezistence na území Evropy [28].

EARSS shromažďuje výsledky antimikrobiální citlivosti u izolátů pěti druhů bakterií, které slouží jako ukazatel šíření antimikrobiální rezistence v Evropě. Mezi tyto bakterie patří *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus pneumoniae*. Od roku 2005 je zde zahrnuta i *Klebsiella pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa* [27]. Zkoumané bakterie jsou izolovány od pacientů s invazivní infekcí. Dále se EARSS zabývá zlepšováním kvality metod zkoumání [26].

Systém EARSS byl zahájen v roce 1998 [26]. Antibakteriální rezistence je sledována sítí národních center 33 zemí, které jsou zaznačeny na mapě (Obr. 1). Tyto země systematicky hromadí informace z klinických laboratoří. Do roku 2009 zajišťoval koordinaci EARSS National Institute of Public Health and the Environment, Holandsko (RIVM). Od roku 2010 byl EARSS přejmenován na EARS-net (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network). Koordinaci EARS-net již neprovádí RIVM, ale byl převeden do systému dozoru TESSy (The European Surveillance System). Ten je koordinován Evropským centrem pro prevenci a kontrolu infekčních onemocnění (ECDC) [26,28].



Obr. 1. Mapa členských zemí EARSS.

Členy databáze EARSS je tedy Litva, Lotyšsko, Estonsko, Malta, Nizozemsko, Norsko, Polsko, Portugalsko, Rumunsko, Slovensko, Slovinsko, Španělsko, Švédsko, Švýcarsko, Turecko, Velká Británie, Rakousko, Belgie, Bulharsko, Bosna a Hercegovina, Chorvatsko, Česká republika, Dánsko, Estonsko, Finsko, Francie, Německo, Maďarsko, Island, Irsko, Itálie [26]. Členy jsou také Izrael a Kypr [26], které nejsou zaznačeny na mapě (Obr. 1).

4.1 EARSS databáze v ČR

Česká republika se dobrovolně připojila k EARSS v roce 2000 po vyzvání centrálního koordinátora EARSS. Od ledna 2000 sledují laboratoře CZ-EARSS původce invazivních infekcí způsobených *S. pneumoniae* (kód spn), od července roku 2000 bylo zahájeno sledování *S. aureus* (kód sau). V lednu 2001 bylo sledování rozšířeno na invazivní izoláty *E.*

coli (kód eco), *Enterococcus faecalis* (kód efa), *Enterococcus faecium* (kód efm). Od roku 2005 se sleduje *Klebsiella pneumoniae* (kód kpn) a *Pseudomonas aeruginosa* (kód pae). U *E. coli* se bakterie izolují z moku nebo krve. Kontrolu kvality identifikace izolátů a vyšetření AR (antibiotická rezistence) ve zúčastněných laboratořích kontroluje systém NEQAS. Koordinaci CZ-EARSS zajišťuje NRL (Národní referenční laboratoř) pro antibiotika při SZÚ (Státní zdravotní ústav), jejíž pracovníci sbírají údaje zaslané laboratořemi a kontrolují jejich kvalitu. U zaslaných kmenů bakterií vyšetřují jejich kvantitativní citlivost a provádějí další podrobná vyšetření, výsledky upravují na příslušný formát požadovaný EARSS a každé tři měsíce je zasílají do RIVM. V ČR jsou kódy pro 46 laboratoří CZ001-CZ051. Každá nemocnice ve spádové oblasti určité laboratoře je označena kódem této laboratoře a velkým písmenem abecedy [28]. V ČR jsou kmeny invazivních izolátů vesměs soustřeďovány v NRL pro antibiotika a hromadně vyšetřovány referenčními metodami. V roce 2000 se sběru účastnilo celkem 482 mikrobiologických laboratoří z 18 zemí Evropy. Na začátku projektu se v ČR v roce 2000 zapojilo do EARSS 33 mikrobiologických laboratoří, na konci tohoto roku počet laboratoří vzrostl na 36, nyní je celkový počet 46. Účastníci EARSS v ČR jsou členy Pracovní skupiny pro monitorování rezistence, která je součástí Poradního sboru pro dohled AR v ČR při SZÚ [26].

Laboratoře CZ-EARSS postupují podle rutinních metod při vyšetřování vzorků pacientů a určování citlivosti k antibiotikům. Laboratoře CZ-EARSS vyšetřovaly v roce 2000 vzorky od pacientů hospitalizovaných celkem v 65 nemocnicích, v roce 2001 počet sledovaných nemocnic vzrostl na 70 a příslušná spádová oblast zahrnovala téměř 80% obyvatel ČR. Národním koordinátorem českého EARSS týmu je RNDr. Pavla Urbášová, CSc., národním data manažerem je Mgr. Vladislav Jakubů, epidemiologem EARSS je MUDr. Barbora Macková a vedoucí NRL je MUDr. Helena Žemličková, Ph.D. Ve Zlíně je spolupracovníkem EARSS MUDr. Nataša Bartoníková z Krajské nemocnice T. Bati, a. s. [28].

5 ŠÍŘENÍ ANTIBIOTICKÉ REZISTENCE PODLE EARSS

5.1 Tabulky rezistence na antibiotika v letech 2000 až 2008

V následujících tabulkách (Tab. 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11), jsou data zaznamenaná podle databáze EARSS v letech 2000 až 2008. Jsou zde zaznamenány u každého antibiotika citlivé kmeny, intermediální kmeny a rezistentní kmeny. Do vyhodnocení byly zahrnuty tyto země: Bulharsko, Česká republika, Francie, Itálie, Maďarsko, Německo, Polsko, Rakousko Slovensko a Velká Británie. Není-li některá země v tabulce uvedena, příslušného roku nedodala informace do databáze EARSS.

Tab. 3. Rezistence *E. coli* vůči 3. generaci cefalosporinů, aminoglykosidům, fluorochinolonům a aminopenicilinům v roce 2000.

2000												
	3.generace cefalosporinů (%)			Aminoglykosidy (%)			Flourochinolony (%)			Aminopeniciliny (%)		
Země	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Německo	100	0	0	83,3	10	6,7	92,2	0	7,8	16,7	36,7	46,7

Tab. 4. Rezistence *E. coli* vůči 3. generaci cefalosporinů, aminoglykosidům, fluorochinolonům a aminopenicilinům v roce 2001.

2001												
	3.generace cefalosporinů (%)			Aminoglykosidy (%)			Flourochinolony (%)			Aminopeniciliny (%)		
Země	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Bulharsko	93,3	0	6,7	84,7	0	15,3	92,1	0	7,9	48,8	3,5	47,7
Česko	97,7	0	2,3	94,0	0	6,0	91,9	0	8,1	57,6	0	42,4
Maďarsko	98,1	1,5	0,4	91,7	4,3	3,9	94,2	0,8	5,1	47,9	5,7	46,4
Německo	99,0	0,3	0,7	89,0	6,1	4,9	88,7	0,1	11,2	33,6	20,9	45,6
Polsko	92,9	0	7,1	95,0	0	5,0	90,3	1,1	8,6	39,0	3,0	58,0
Rakousko	99,6	0,4	0	98,1	0,4	1,5	93,0	0	7,0	64,5	0,8	34,7
Slovensko	93,3	0	6,7	97,8	0	2,2	84,4	0	15,6	61,4	2,3	36,4
UK	98,5	0,3	1,2	97,3	0	2,7	93,8	0	6,2	49,2	0	50,8

Tab. 5. Rezistence *E. coli* vůči 3. generaci cefalosporinů, aminoglykosidům, fluorochinolonům a aminopenicilinům v roce 2002.

2002												
Země	3.generace cefalosporinů (%)			Aminoglykosidy (%)			Flourochinolony (%)			Aminopeniciliny (%)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Bulharsko	93,3	0	6,7	84,7	0	15,3	92,1	0	7,9	48,8	3,5	47,7
Česko	97,7	0	2,3	94,0	0	6,0	91,9	0	8,1	57,6	0	42,4
Maďarsko	98,1	1,5	0,4	91,7	4,3	3,9	94,2	0,8	5,1	47,9	5,7	46,4
Německo	99,0	0,3	0,7	89,0	6,1	4,9	88,7	0,1	11,2	33,6	20,9	45,6
Polsko	92,9	0	7,1	95,0	0	5,0	90,3	1,1	8,6	39,0	3,0	58,0
Rakousko	99,6	0,4	0	98,1	0,4	1,5	93,0	0	7,0	64,5	0,8	34,7
Slovensko	93,3	0	6,7	97,8	0	2,2	84,4	0	15,6	61,4	2,3	36,4
UK	98,5	0,3	1,2	97,3	0	2,7	93,8	0	6,2	49,2	0	50,8

Tab. 6. Rezistence *E. coli* vůči 3. generaci cefalosporinů, aminoglykosidům, fluorochinolonům a aminopenicilinům v roce 2003.

2003												
Země	3.generace cefalosporinů (%)			Aminoglykosidy (%)			Flourochinolony (%)			Aminopeniciliny (%)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Bulharsko	81,0	0,6	13,4	75,5	1,3	22,2	79,4	1,3	19,4	42,9	2,6	54,5
Česko	98,9	0	1,1	94,7	0,3	5,3	86,8	0	13,2	54,6	0	45,4
Francie	98,1	1,0	1,0	93,8	1,0	5,2	89,6	1,1	9,3	46,6	3,9	49,6
Itálie	93,4	0,4	6,2	89,8	0,3	5,9	74,8	0,4	24,8	46,6	1,1	52,3
Maďarsko	98,3	0,7	1,0	89,5	2,7	7,7	84,0	1,1	14,9	40,4	6,5	49,1
Německo	99,1	0,3	0,6	88,9	6,5	5,3	85,2	0,8	14,0	37,3	15,5	47,2
Polsko	95,9	0	4,1	89,5	0,8	9,7	93,4	0	6,6	47,2	3,3	49,6
Rakousko	98,2	0	1,8	94,2	1,0	4,8	85,6	0,3	14,1	56,6	2,8	40,7
Slovensko	99,2	0,4	0,4	93,7	0,4	5,9	79,4	0,4	20,2	59,7	6,7	53,5
UK	96,7	0	3,3	95,3	0,4	4,3	88,6	0,1	11,3	45,3	0	54,6

Tab. 7. Rezistence *E. coli* vůči 3. generaci cefalosporinů, aminoglykosidům, fluorochinolonům a aminopenicilinům v roce 2004.

2004												
Země	3.generace cefalosporinů (%)			Aminoglykosidy (%)			Flourochinolony (%)			Aminopeniciliny (%)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Bulharsko	78,4	0	21,6	79,4	0,6	20,0	73,6	2,5	23,9	33,5	2,5	64,0
Česko	98,3	0	1,7	95,0	0	5,0	84,1	0	15,9	53,0	0	47,0
Francie	98,2	0,9	1,0	95,2	0,7	4,1	89,7	2,1	8,2	50,9	2,3	46,8
Itálie	93,9	0,8	5,3	90,0	1,2	8,7	72,0	0,2	27,8	45,9	0,6	53,4
Maďarsko	96,7	0,1	3,2	87,3	3,0	9,7	79,9	0,7	19,4	36,4	9,0	54,6
Německo	97,4	0,7	1,9	85,1	10,6	4,3	74,9	0,8	24,3	31,6	13,8	54,6
Polsko	94,8	0	5,2	94,8	0	5,2	90,9	0,5	8,6	51,8	3,7	44,5
Rakousko	97,1	0,3	2,5	94,0	0,6	5,4	82,9	0,5	16,6	52,3	1,9	45,8
Slovensko	92,1	0,7	7,1	88,1	0,6	11,3	76,0	0	24,0	36,5	1,1	62,4
UK	96,6	0,2	3,2	93,6	0,2	6,2	85,8	0,1	14,2	47,2	0,3	52,5

Tab. 8. Rezistence *E. coli* vůči 3. generaci cefalosporinů, aminoglykosidům, fluorochinolonům a aminopenicilinům v roce 2005.

2005												
Země	3.generace cefalosporinů (%)			Aminoglykosidy (%)			Flourochinolony (%)			Aminopeniciliny (%)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Bulharsko	71,9	0	28,1	74,4	2,0	23,6	70,9	0,5	28,6	70,9	0,5	28,6
Česko	97,8	0	2,2	93,8	0	6,2	79,8	0	20,2	49,8	0	50,2
Francie	97,5	1,1	1,4	93,2	1,9	4,8	86,4	2,6	11,0	47,5	2,4	50,1
Itálie	90,7	0,8	8,5	87,8	0,8	11,4	71,2	0,5	28,2	44,5	0,7	54,8
Maďarsko	96,0	0,3	3,7	86,4	4,5	9,1	77,9	0,2	21,9	41,7	6,9	51,5
Německo	97,9	0,4	1,7	82,6	11,5	5,9	75,4	1,1	23,4	32,2	14,1	53,7
Polsko	95,5	0	4,5	92,6	0	7,4	80,1	0	19,9	43,8	0	56,3
Rakousko	95,8	0,1	4,1	93,9	0,7	5,5	80,4	0,3	19,3	50,5	1,0	48,4
Slovensko	91,8	0	8,2	91,0	1,5	7,5	85,6	0	14,4	38,1	3,1	58,8
UK	93,6	0,1	6,3	91,5	0	8,4	83,1	0	16,8	43,9	0,1	56,0

Tab. 9. Rezistence *E. coli* vůči 3. generaci cefalosporinů, aminoglykosidům, fluorochinolonům a aminopenicilinům v roce 2006.

2006												
Země	3.generace cefalosporinů (%)			Aminoglykosidy (%)			Flourochinolony (%)			Aminopeniciliny (%)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Bulharsko	71,4	0	28,6	71,1	0,5	28,4	72,3	1,6	26,2	54,5	1,7	63,8
Česko	91,7	0	8,3	94,9	0	5,1	76,8	0	23,2	44,4	0	55,6
Francie	96,6	1,4	2,0	41,4	2,5	6,1	83,6	2,6	13,8	44,4	2,8	52,9
Itálie	91,9	0,8	7,4	91,9	0,6	7,5	72,5	0,6	26,9	42,9	1,5	55,7
Maďarsko	95,0	0	5,0	85,2	2,4	12,4	72,5	0,9	26,6	41,7	5,1	53,2
Německo	95,0	0,7	4,2	83,8	6,4	9,9	70,6	0,1	29,3	29,0	10,7	60,3
Polsko	95,6	0	4,4	89,3	0	10,7	79,6	0	20,4	45,1	0	54,9
Rakousko	93,4	0	6,6	90,9	0,9	8,2	77,5	0,4	22,1	45,6	1,1	53,2
UK	42,2	0,2	7,7	92,8	0,6	6,6	79,9	0,2	19,9	43,1	0,1	56,8

Tab. 10. Rezistence *E. coli* vůči 3. generaci cefalosporinů, aminoglykosidům, fluorochinolonům a aminopenicilinům v roce 2007.

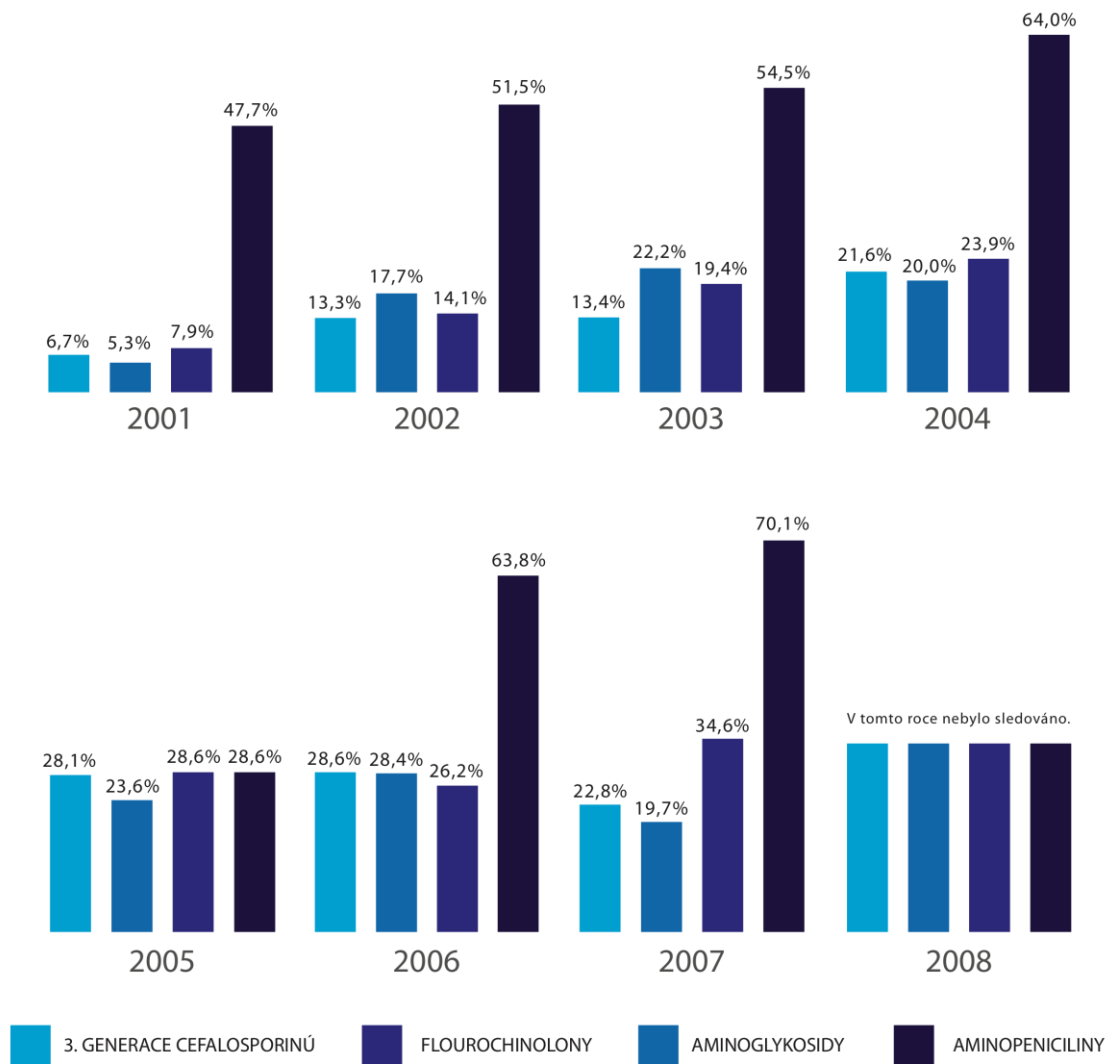
2007												
Země	3.generace cefalosporinů (%)			Aminoglykosidy (%)			Flourochinolony (%)			Aminopeniciliny (%)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Bulharsko	77,2	0	22,8	80,3	0	19,7	63,8	1,6	34,6	28,3	1,6	70,1
Česko	92,6	0	7,4	92,8	0	7,2	75,9	0	24,1	44,2	0	55,8
Francie	96,0	1,6	2,5	93,2	1,0	5,8	82,7	2,5	14,8	44,2	2,0	53,8
Itálie	88,0	0,6	11,3	84,9	1,1	14,0	68,1	0,4	31,5	40,5	1,6	57,9
Maďarsko	94,6	0	5,4	85,5	3,6	11,0	73,0	0,7	26,3	42,4	3,5	54,1
Německo	91,7	0,6	7,7	88,8	5,1	6,1	69,7	0,6	29,7	36,4	8,8	54,8
Polsko	97,7	0	2,3	93,8	0,4	5,9	86,7	0,4	12,9	44,1	0	55,9
Rakousko	90,9	0,3	8,8	91,5	0,9	7,6	74,0	0,4	25,6	45,6	1,5	52,9
UK	90,3	0,3	9,4	92,3	0,2	7,4	81,8	0,3	17,9	44,7	0,1	55,2

Tab. 11. Rezistence *E. coli* vůči 3. generaci cefalosporinů, aminoglykosidům, flourochinolonům a aminopenicilinům v roce 2008.

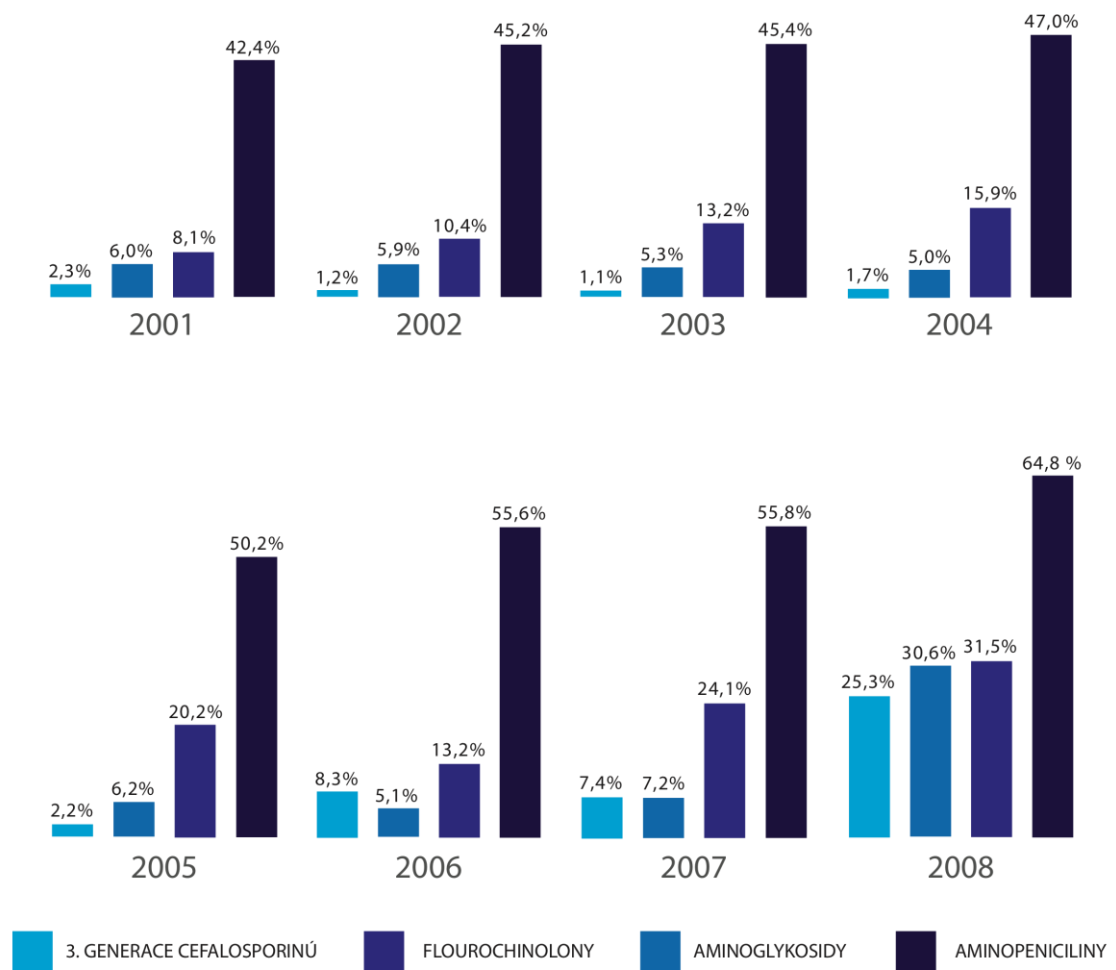
2008												
Země	3.generace cefalosporinů (%)			Aminoglykosidy (%)			Flourochinolony (%)			Aminopeniciliny (%)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Bulharsko	70,1	0,7	25,3	69,4	0	30,6	68,5	0	31,5	34,4	0,8	64,8
Česko	90,1	0	9,9	91,3	0	8,7	74,0	0	26,0	40,0	0	60,0
Francie	94,1	2,2	3,8	92,3	1,2	6,5	82,0	2,3	15,7	44,7	1,3	53,9
Itálie	92,9	1,2	5,9	84,9	1,4	13,7	62,3	0,1	57,5	37,5	0,7	61,6
Maďarsko	93,4	0,5	9,2	84,7	2,0	13,3	73,1	0,8	26,1	38,0	3,1	59,0
Německo	94,7	0,4	4,8	90,3	2,5	6,9	76,5	0,9	23,4	59,9	5,2	54,9
Polsko	97,6	0	2,4	92,9	0	7,1	46,4	0	53,6	79,8	0	20,2
Rakousko	92,4	0,3	7,3	91,9	1,2	6,9	76,7	0,4	22,5	48,1	1,6	5,3
UK	92,9	0,2	6,9	92,5	0,4	7,2	84,8	0,1	15,1	39,3	0,2	60,6

5.2 Šíření rezistence

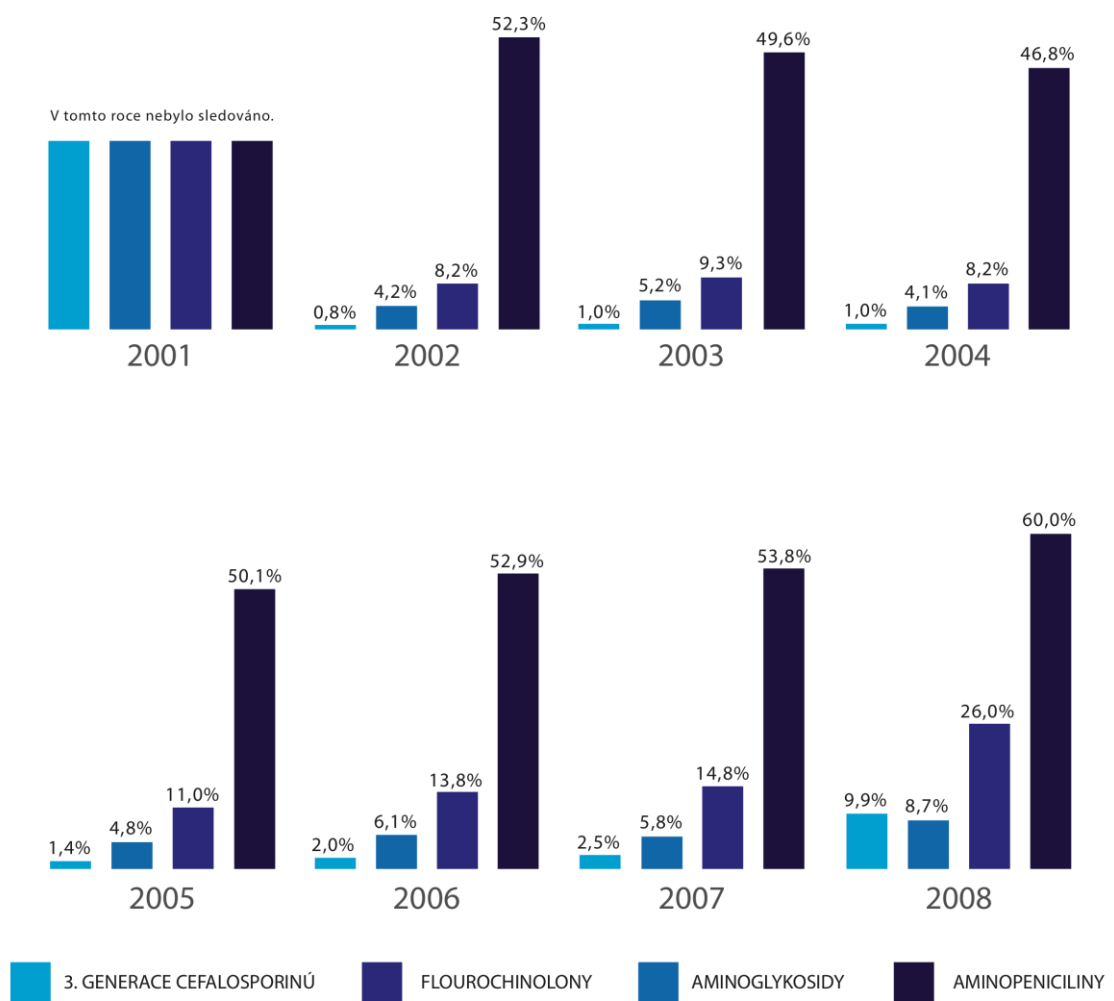
Záznamy z databáze EARSS jsou zpracovány v následujících grafech (Obr. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11). Ke každé zemi přísluší jeden graf, který zobrazuje procenta rezistentních izolátů *E. coli* v letech 2001 až 2008 u 3. generace cefalosporinů, flourochinolonů, aminoglykosidů a aminopenicilinů.



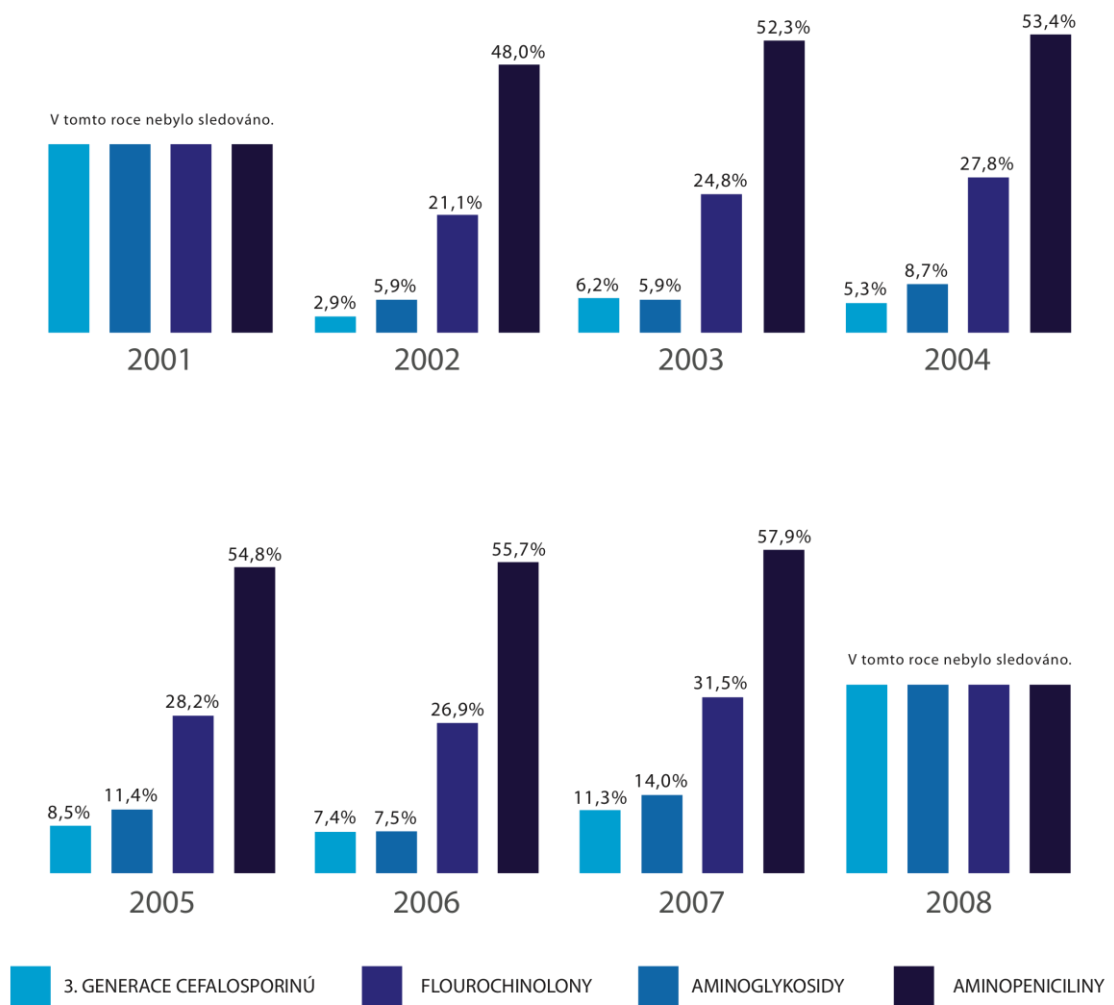
Obr. 2. Graf šíření antibiotické rezistence v Bulharsku.



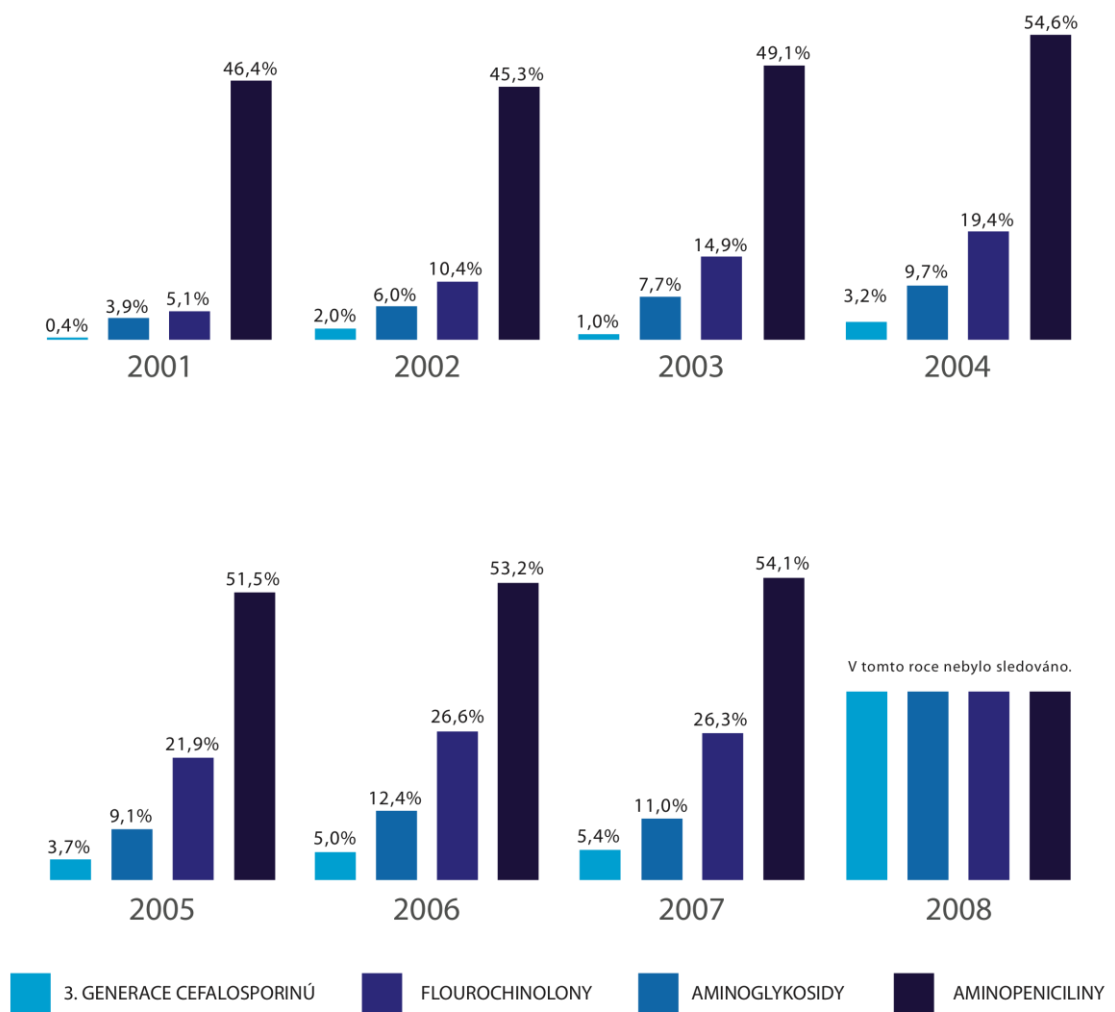
Obr. 3. Graf šíření antibiotické rezistence v České republice.



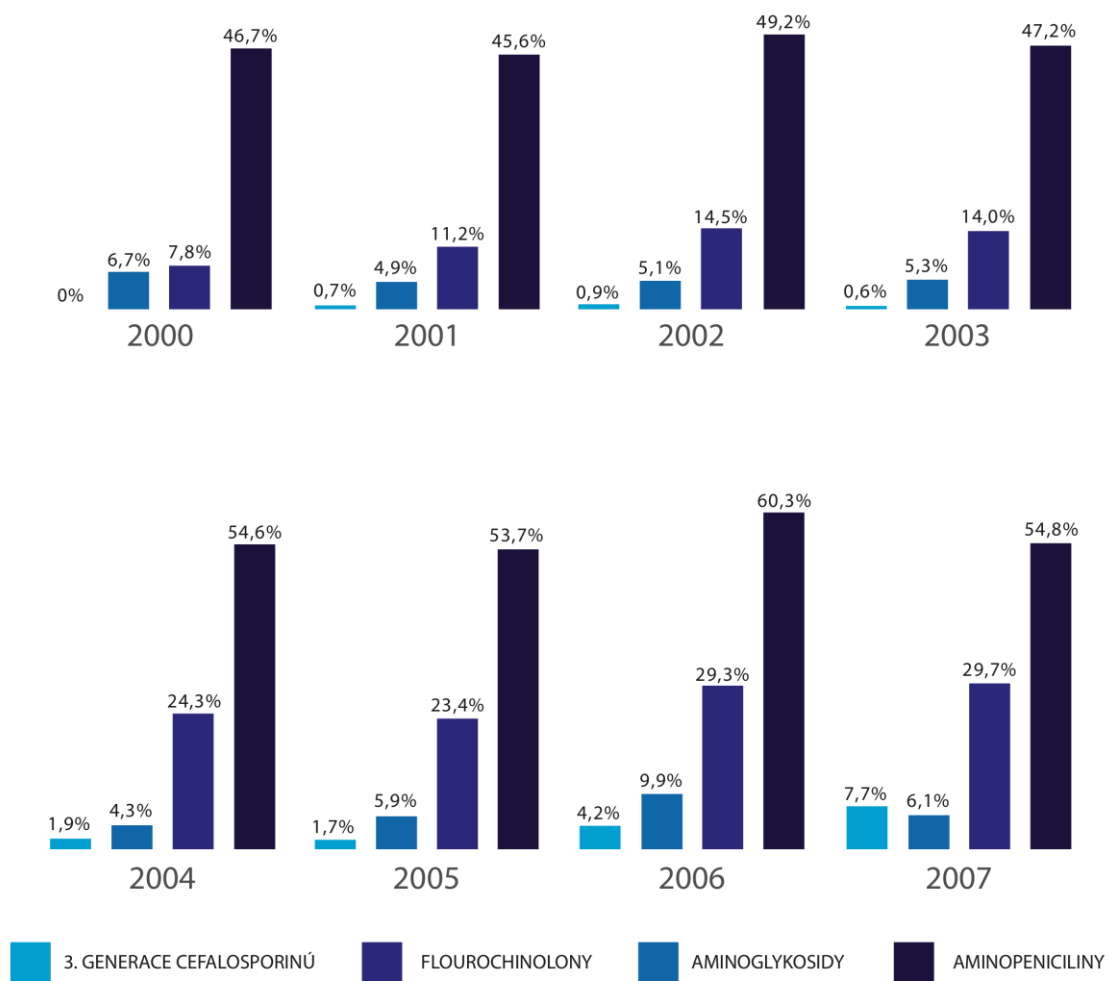
Obr. 4. Graf šíření antibiotické rezistence ve Francii.



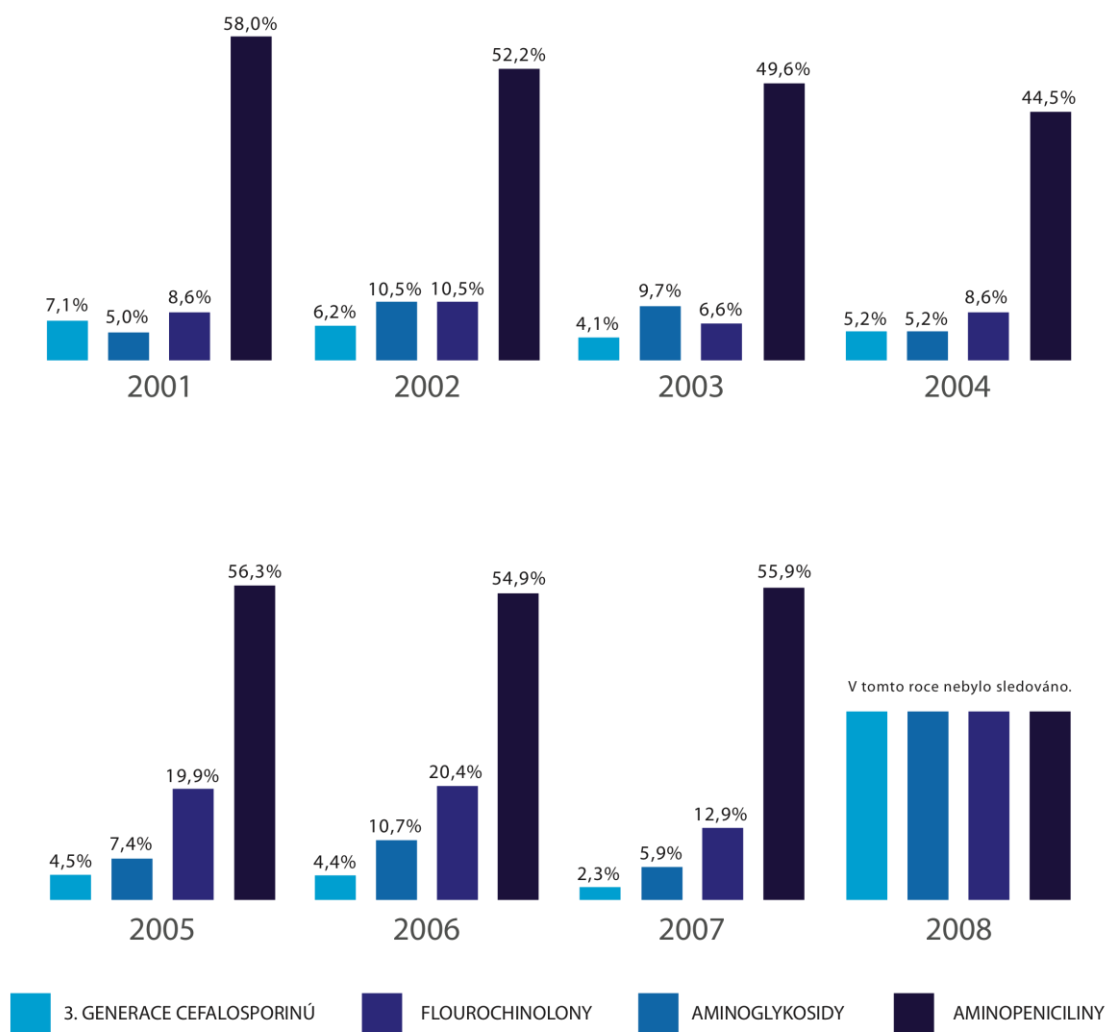
Obr. 5. Graf šíření antibiotické rezistence v Itálii.



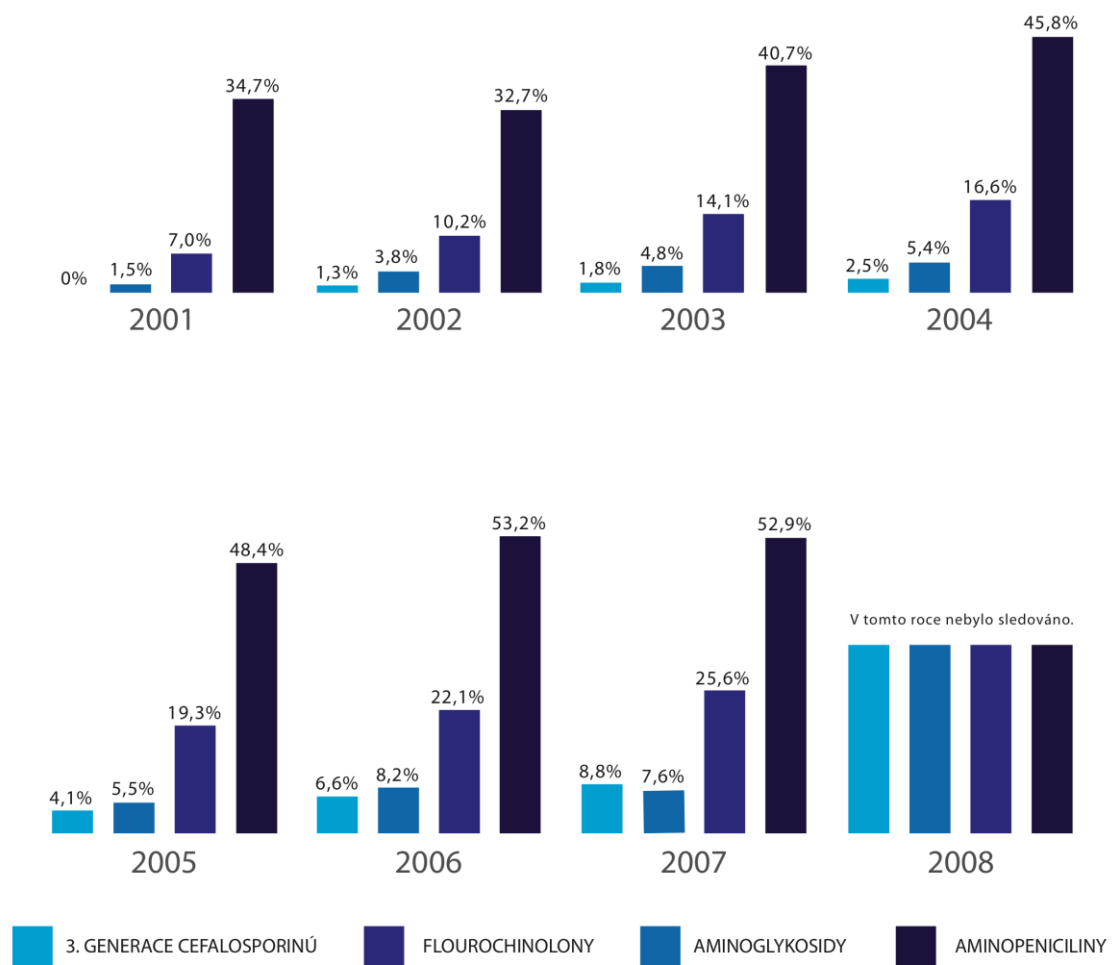
Obr. 6. Graf šíření antibiotické rezistence v Maďarsku.



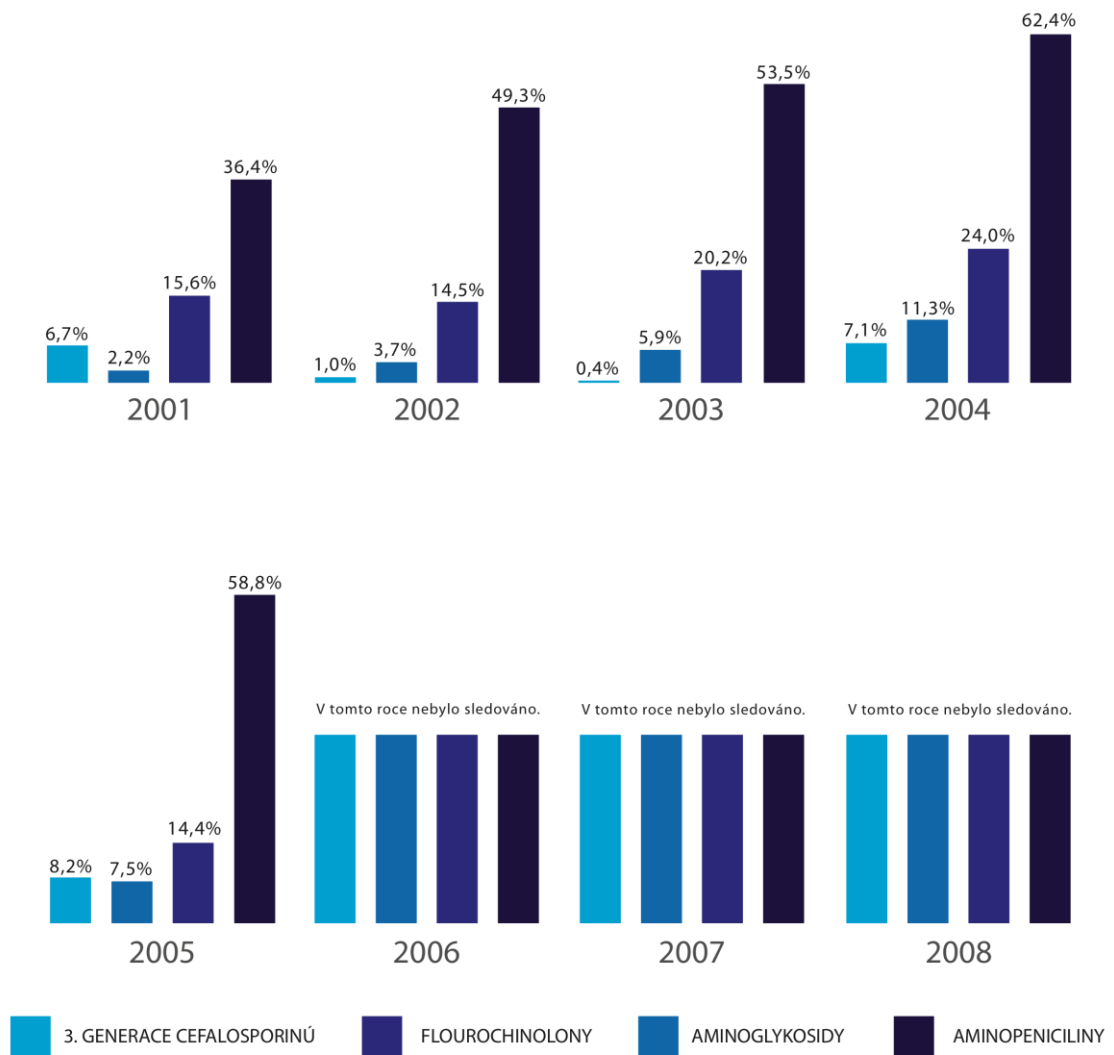
Obr. 7. Graf šíření antibiotické rezistence v Německu.



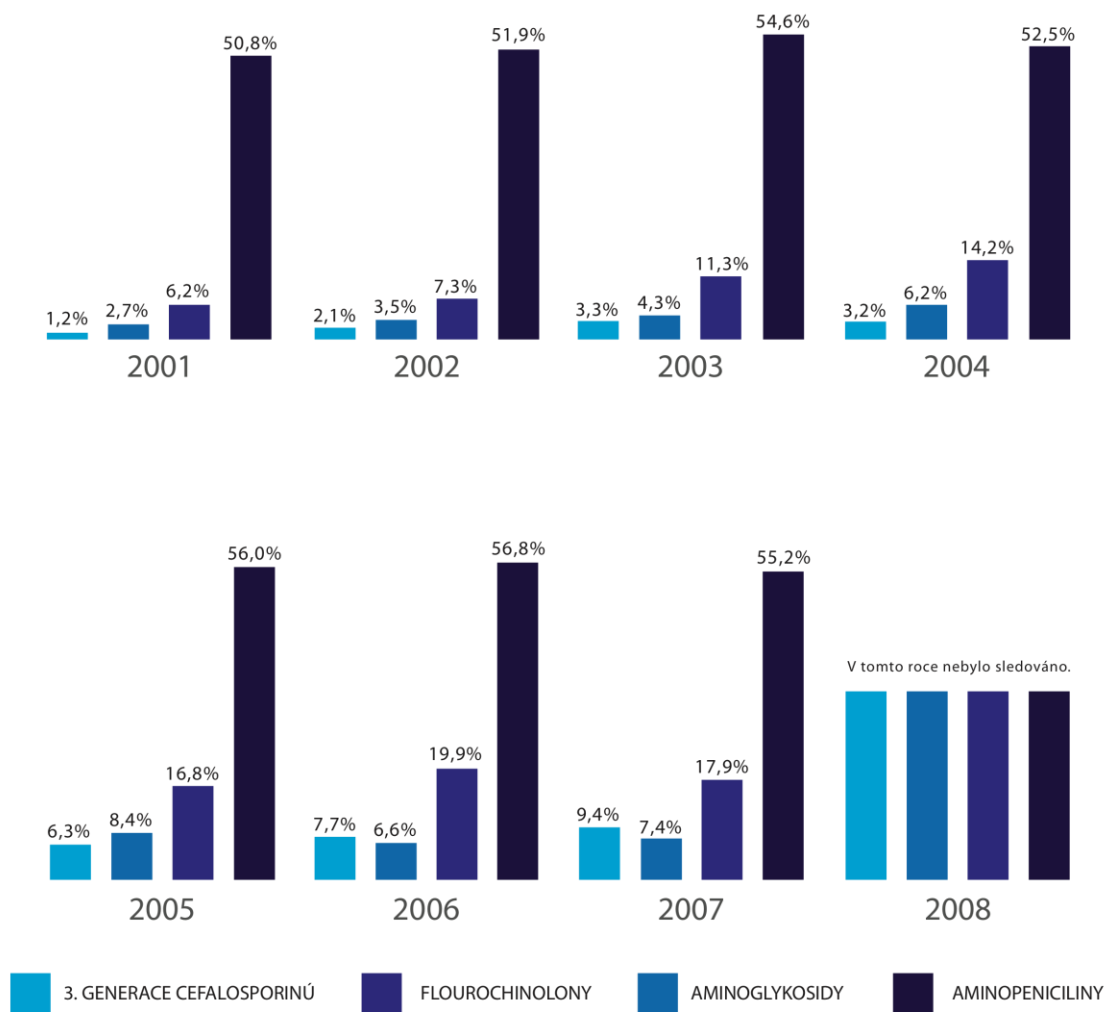
Obr. 8. Graf šíření antibiotické rezistence v Polsku.



Obr. 9. Graf šíření antibiotické rezistence v Rakousku.



Obr. 10. Graf šíření antibiotické rezistence na Slovensku.



Obr. 11. Graf šíření antibiotické rezistence ve Velké Británii.

5.2.1 Šíření rezistence u 3. generace cefalosporinů

Rezistence ke 3. generaci cefalosporinů u *E. coli* byla v Bulharsku nejnižší v roce 2001 (6,7 %) a nejvyšší v roce 2006, kdy dosáhla 28,6 %, což poukazuje na fakt, že rezistence má až na drobné výkyvy stále stoupající tendenci. V České republice byla rezistence na tato antibiotika v roce 2001 pouze u 0,4 %, z grafu je patrné, že do roku 2007 stoupla rezistence o 5 %.

Rezistence *E. coli* byla v České republice zkoumána v Troskotovicích a Šumicích na izolátech odebraných z telat, dospělých krav, býků a vrbců na farmách. Byly identifikovány geny *tetA*, *tetB*, *bla_{TEM}*, *strA*, *aadA*, *sul1*, *sul2*, *cat*, *floR*. U telat bylo rezistentních 40 % izolátů, 3 % u krav, 0 % u býků a 9 % u vrbců. Zkoumáno bylo 12 typů antibiotik. U telat byla rezistence největší, což bylo způsobeno přenosem skrze mlezivo [29].

Ve Francii rezistence také stále stoukala, až v roce 2008 dosáhla hodnoty 9,9 %. Kmeny *E. coli* s rezistencí nebo pozměněnou citlivostí na 3. generaci cefalosporinů byly zkoumány ve Francii. Kmeny vykazovaly přítomnost genů podmiňujících produkci β -laktamáz. Gen *ctx-m-1* byl nalezen u dobytka v sedmi případech, kdežto gen *ctx-m-15* byl nalezen pouze v 1 případě. Tyto geny byly lokalizovány na plazmidu a bylo prokázáno, že přispívají ke vzniku rezistence. Ve Francii je velkým problémem přenos rezistence mezi zvířaty, ale i na člověka, to vede k selhání veterinární, ale i humánní léčby [30].

V Itálii byla rezistence největší v roce 2007, a to 11,3 %. V Maďarsku bylo rezistentních 0,4 % *E. coli* v roce 2001, rezistence stále narůstala a v roce 2007 byla 5,4 %. V roce 2000 bylo v Německu zjištěno, že všechny izolované bakterie *E. coli* jsou k antibiotiku citlivé a jasným důkazem, že rezistence stále stoupá je hodnota rezistence v roce 2007 (7,7 %). Paradoxem je Polsko, ve kterém byla rezistence nejvyšší v roce 2001 (7,1 %) a od té doby klesala, až v roce 2007 bylo rezistentních 2,3 % izolátů. V Rakousku se za sedm let vyšplhala rezistence z 0 % na 8,8 %. Slovensko se zúčastnilo výzkumu pouze do roku 2005, v němž bylo rezistentních nejvíce bakterií *E. coli* (8,2 %). Ve Velké Británii u bakterií rezistence na toto antibiotikum narůstala a v roce 2007 bylo rezistentních 9,4 %. Na 3. generaci cefalosporinů je *E. coli* nejméně odolná, jedná se tedy o velmi perspektivní skupinu antibiotik.

5.2.2 Šíření rezistence u fluorochinolonů

V Bulharsku v roce 2001 nevykazovalo citlivost na fluorochinolony 6,7 % izolátů *E. coli*, nejméně citlivé byly bakterie v roce 2006 (71,6 %). V České republice byla rezistence nižší než v Bulharsku, nejvíce dosáhla 11 %. Ve Francii bylo odolných vůči těmto antibiotikům nejvíce 9,9 % izolátů, a to v roce 2008. V Itálii byla rezistence poměrně vysoká (14 %) v roce 2007. V Maďarsku se rezistence z 3,9 % v roce 2001 vyšplhala na 12,4 % v roce 2006 a poté nepatrně za rok klesla na 11 %.

V Německu bylo nejméně citlivých *E. coli* v roce 2006, a to 90,1 %. Při výzkumech v Německu v roce 2009 byly pozorovány izoláty *E. coli* odebrané z trusu dravých ptáků, pěvců a letců. Byla provedena PCR analýza rezistentních genů. Bylo odebráno 187 izolátů, z toho 9 (4,8 %) vykazovalo multirezistenci na β -laktamová antibiotika, aminoglykosidy, fluorochinolony, tetracykliny a sulfonamidy. Rizikem je předání informace o rezistenci z ptactva na člověka [31].

V Polsku rezistence mezi jednotlivými lety dosti kolísala, většinou přibližně o 5 %. Při výzkumu v Rakousku byla *E. coli* poměrně citlivá, rezistence byla ve všech letech do 10 %, stejně se chovala *E. coli* také na Slovensku a ve Velké Británii.

5.2.3 Šíření rezistence u aminoglykosidů

E. coli ve vztahu k aminoglykosidům dosáhla nejvyšší rezistence v roce 2007 v Bulharsku, kdy její hodnota byla 34,6 %, na tuto hodnotu se zvýšila ze 7,9 % v roce 2001. V České republice bylo k aminoglykosidům citlivých v roce 2001 celkem 94,9 % izolátů, v roce 2007 již pouze 73,7 %, tedy v průběhu 7 let stoupla rezistence zhruba o 20 %. Ve Francii bylo nejméně citlivých 74 % *E. coli* v roce 2008. Do databáze v Itálii byly nejvyšší hodnoty rezistence zapsány v roce 2007 (31,5 %). V Maďarsku stoupla rezistence v průběhu sedmi let o 21,2 %, v Německu ze 7,8 % v roce 2001 na 29,7 % v roce 2008. V Polsku nebyla rezistence vůči aminoglykosidům tak vysoká, nejvyšší hodnoty se pohybovaly okolo 20 %. Rakousko zaznamenalo do databáze nejnižší citlivost izolátů v roce 2007, a to 74,4 %.

Na Slovensku, kde záznam probíhal pouze do roku 2005, byla nejvyšší rezistence v roce 2004 (24 %). Po dobu posledních 10 let byla sledována rezistence na aminoglykosidy přírodovědeckou fakultou Univerzity Komenského v Bratislavě. Bylo zjištěno, že během posledních 10 let stoupla rezistence u gramnegativních tyčinek u tobramycinu o 1,1 %, u ne-

tilmicinu o 27,5 %, u amikacinu o 78,3 % a u isepamicinu o 81,9 %. Bylo zde detekováno 16 různých enzymů modifikujících aminoglykosidy [32].

Ve Velké Británii bylo rezistentních vždy maximálně 20 % bakterií. *E. coli* má poměrně dobrou schopnost vytvářet si rezistenci k aminoglykosidům, je k nim ovšem více citlivá než k aminopenicilinům.

5.2.4 Šíření rezistence u aminopenicilinů

Na aminopeniciliny je *E. coli* všeobecně nejvíce rezistentní. Hodnoty rezistence dosahují v databázi velmi vysokých hodnot. Rezistenci na tato antibiotika by měla být věnována nejvyšší pozornost. V roce 2008 bylo v Bulharsku citlivých k aminopenicilinům pouze 29,9 % izolátů, což je velmi málo. V České republice nebyla rezistence tak vysoká jako v Bulharsku, nejvyšší hodnota byla zjištěna v roce 2004 (54,6 %). Ve Francii dosáhla rezistence rovných 60 % v roce 2008, na tuto hodnotu stoupla v průběhu 7 let z 52,3 %. Itálie nejvyšší rezistenci zaznamenala v roce 2007, kdy dosáhla 57,9 %. V Maďarsku se rezistence v letech 2001 až 2007 pohybovala okolo 50 %. V Německu byla nejmenší citlivost k antibiotiku v roce 2006 a to pouze 39,7 % zkoumaných izolátů. V Polsku hodnoty naměřené rezistence od roku 2001 do roku 2004 klesaly, poté ale začaly opět stoupat. V Rakousku byla rezistence v roce 2001 poměrně nízká (34,7 %), v průběhu 7 let se zvýšila na 52,9 %. Na Slovensku byla *E. coli* nejméně citlivá k aminopenicilinům v roce 2004 (37,6 %). Ve Velké Británii bylo od roku 2001 až do roku 2007 odolných vždy okolo 50 % zkoumaných izolátů.

Ve Slovinsku byla v roce 2003 zkoumána rezistence u *E. coli* na izolátech od dětí a dospělých. Bylo dokázáno, že rezistence na trimetoprim souvisí s rezistencí na penicilin, a že nárůst spotřeby fluorochinolonů je spojen s vyšší rezistencí na chinolony. Rezistentních *E. coli* bylo více u dětí a méně u dospělých, což dokazuje, že rezistence se vyvíjí s častým používáním antibiotik u dětí. Rezistence se také může šířit z dítěte na dítě [33].

ZÁVĚR

Escherichia coli je gramnegativní bakterie, která je schopna vyvolat řadu onemocnění, jelikož je mimo střevo skoro vždy patogenní. Mezi nejzávažnější nemoci způsobené bakterií *Escherichia coli* patří meningitidy, septikémie a hemolyticko-uremický syndrom.

Antibiotika jsou léčiva se specifickým antimikrobiálním účinkem. Jejich stále častější používání vede k nárůstu rezistence, která patří mezi specifické nežádoucí účinky antibiotik. Rezistence je velkým problémem dnešní medicíny, je monitorována, údaje o ní jsou zaznamenávány do databází a nad rezistencí je udržován dohled.

V České republice stoupla rezistence v letech 2001 až 2008 o 5 % u cefalosporinů, o 7,1 % u 3. generace fluorochinolonů o 21,2 % u aminoglykosidů a o 7,7 % u aminopenicilinů. Problémem je, že antibiotika jsou ordinována zbytečně a většinou špatně, jelikož nejsou prováděny laboratorní vyšetření před podáním určitého antibiotika.

Celosvětová databáze, která zaznamenává údaje o rezistenci u *E. coli* a dalších bakterií a dohlíží nad ní, je EARSS. Česká republika je do tohoto systému sledování antibiotické rezistence zapojena od roku 2000 a podílí se na vyhodnocování a získávání údajů. Budou-li antibiotika dávkována správně, vhodně volena a jejich použití bude omezeno pouze na nutné případy, rezistence by se mohla začít snižovat.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] SEDLÁČEK, Ivo. *Taxonomie prokaryot*. 1. vyd. Brno : Masarykova univerzita, 2007. 270 s. ISBN 80-210-4207-9.
- [2] VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1. vyd. Brno : Neptun, 2003. 495 s. ISBN 80-902896-6-5.
- [3] KLABAN, Vladimír. *Ilustrovaný mikrobiologický slovník*. 1. vyd. Praha : Galén, 2005. 654 s. ISBN 80-7262-341-9.
- [4] ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 3. vyd. Praha : Academia, 2002. 363 s. ISBN 80-200-1024-6.
- [5] BEDNÁŘ, Marek, et al. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. 1.vyd. Praha : Marvil, 1996. 588 s.
- [6] BANDYOPADHYAY, S., et al. Virulence gene and antibiotic resistance profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* prevalent in captive yaks. *Veterinary Microbiology*. vol. 138, 2009, p. 403-404.
- [7] BASU, S., et al. A biologically active lectin of enteroaggregative *Escherichia coli*. *Biochimie*. vol. 86, 9-10, 2004, p. 657-666.
- [8] NASCIMENTO DE ARAÚJO A.; GIULIANO L. Human milk fractions inhibit the adherence of diffusely adherent *Escherichia coli* (DAEC) and enteroaggregative *E. coli* (EAEC) to HeLa cells. *FEMS Microbiology Letters*. vol. 184, 1, 2000, p. 91-94.
- [9] SCHWAN, W. R. Flagella allow uropathogenic *Escherichia coli* ascension into murrine kidneys. *International Journal of Medical Microbiology*. vol. 298, 5-6, 2008, p. 441-447.
- [10] LŮLLMAN, H.; MOHR, K.; WEHLING, M. *Farmakologie a toxikologie*. 15. vyd. Praha : Grada publishing, 2002. 696 s. ISBN 80-7169-976-4.
- [11] LINCOVÁ, Dagmar; FARGHALI, Hassan. *Základní a aplikovaná farmakologie*. 2. vyd. Praha : Galén, 2007. 672 s. ISBN 978-80-7262-373-0.

- [12] ŠIMŮNEK, J.; SMOLA, J. *Antibiotika, sulfonamidy a chinolony ve veterinární medicíně*. 1. vyd. Tišnov : Vydavatelství potravinářské literatury Last, 1998. 136 s. ISBN 80-900260-6-0.
- [13] WALSCH, Christopher. *Antibiotics: actions, origins, resistance*. 1st ed. Washington : ASM Press, 2003. 335 s. ISBN 1-555581-254-6.
- [14] COSTA, D., et al. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates in faecal samples of broilers. *Veterinary Microbiology*. vol. 138, 2009, p. 339-344.
- [15] PRELOG, M., et al. Tetracycline-resistant *Escherichia coli* strains are inherited from parents and persist in the infant's intestines in the absence of selective pressure. *Original Paper*. vol. 168, 2009, p. 1181-1187.
- [16] OLANIRAN, A.; NAICKER, K.; PILLAY, B. Antibiotic resistance profiles of *Escherichia coli* isolates from river sources in Durban, South Africa. *Original Paper*. vol. 25, 2009, p. 1743-1749.
- [17] JOHNSON, J., et al. Antimicrobial Drug-Resistant *Escherichia coli* from Humans and Poultry Products. *Emerging Infectious Diseases*. Vol. 13, 2007, p. 838-846.
- [18] BOGAARD, A. E., et al. Antibiotic resistance of fecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. vol. 47, 2001, p. 763-771.
- [19] YUE, L., et al. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance qnr genes in poultry and swine clinical isolates of *Escherichia coli*. *Veterinary Microbiology*. vol. 132, 2008, p. 414-420.
- [20] RAMCHANDANI, M., et al. Animal origin of Uropathogenic *E.coli*. vol. 40, 2005, p. 251-257.
- [21] PHILLIPS, I., et al. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. vol. 53, 2004, p. 28-52.
- [22] MAYNARD, C. et al. Heterogeneity among Virulence and Antimicrobial Resistance Gene Profiles of Extraintestinal *Escherichia coli* Isolates of Animal and Human Origin. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004, p. 5444-5452.

- [23] JOHNSON, J., et al. Isolation and Molecular Characterization of Nalidixic Acid-Resistant Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* from Retail Chicken Products. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2003, p. 2161-2168.
- [24] ANONYM. Sbírka zákonů ČR. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví ČR č. 273/2000 Sb., kterou se stanoví nejvyšší přípustné zbytky veterinárních léčiv a biologicky aktivních látek používaných v živočišné výrobě, v potravinách a potravinových surovinách. Částka 79, s. 3783, 3784, 3789, 3790.
- [25] RADHOUANI, H., et al. Antimicrobial resistance and phylogenetic groups in isolates *Escherichia coli* from seagulls at the Berlengas nature reserve. *Veterinary record*. Vol. 165, 2009, p. 138-142.
- [26] About EARSS. 2005. [cit. 2010-05-19]. Dostupný z WWW: <<http://www.rivm.nl/earss/about/>>
- [27] BRUINSMA, Nienke. European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS). 2005 [cit. 2010-05-19]. Dostupný z WWW: <http://www.epinorth.org/eway/default.aspx?pid=230&trg=Area_5328&MainArea_5260=5328:0:&Area_5328=5273:45141::0:5326:4:::0:0>
- [28] URBÁŠKOVÁ, Pavla. O EARSS v České republice. 2008 [cit. 2010-05-19]. Dostupný z WWW: <<http://www.szu.cz/tema/prevence/earss/o-earss-v-ceske-republice>>
- [29] DOLEJSKÁ, M., et al. Antimicrobial resistant *Escherichia coli* in cattle and house sparrows on two czech dairy farms. *Reserch of Veterinary Science*. vol. 85, 3, 2008, p. 491-494.
- [30] MEUNIER, D., et al. CTX-M-1 and CTX-M-15-type β -lactamases in clinical *Escherichia coli* isolates recovered from food-producing animals in France. *International Journal of Antimicrobial Agents*. vol. 28, 5, 2006, p.402-407.
- [31] GUENTHER, S., et al. Antimicrobial resistance profiles of *Escherichia coli* from common European wild bird species. *Veterinary Microbiology*. 2009. p. 94.
- [32] KALLOVÁ, J., KETTNER, M., MA, T. Aminoglycoside resistance. Enzymatic mechanisms in clinical bacterial strains in Slovakia during the last decade. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. vol. 19, 1, 1997, p. 89-94.

- [33] ČIŽMAN, M. The use and resistance to antibiotics in the community. *International Journal of Antimicrobial Agents*. vol. 21, 4, 2003, p.297-307.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AR	Antibiotická rezistence
ATB	Antibiotika
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
EAEC	Enteroagregativní kmeny <i>Escherichia coli</i>
EARSS	European Antimicrobial Resistance Surveillance System
EHEC	Enterohemoragické kmeny <i>Escherichia coli</i>
EIEC	Enteroinvazivní kmeny <i>Escherichia coli</i>
EPEC	Enteropatogenní kmeny <i>Escherichia coli</i>
ESBL	Extended spectrum β -lactamase
ETEC	Enterotoxigenní kmeny <i>Escherichia coli</i>
HCl	Kyselina chlorovodíková
MIC	Minimální inhibiční koncentrace (minimal inhibitory concentration)
PBP	Penicillin binding protein
RNA	Ribonukleová kyselina
STEC	Shiga-like toxigenní kmeny <i>Escherichia coli</i>
SZÚ	Státní zdravotní ústav
UPEC	Uropatogenní kmeny <i>Escherichia coli</i>
USA	Spojené státy americké (United States of America)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Mapa členských zemí EARSS.	38
Obr. 2. Graf šíření antibiotické rezistence v Bulharsku.	45
Obr. 3. Graf šíření antibiotické rezistence v České republice.	46
Obr. 4. Graf šíření antibiotické rezistence ve Francii.	47
Obr. 5. Graf šíření antibiotické rezistence v Itálii.	48
Obr. 6. Graf šíření antibiotické rezistence v Maďarsku.	49
Obr. 7. Graf šíření antibiotické rezistence v Německu.	50
Obr. 8. Graf šíření antibiotické rezistence v Polsku.	51
Obr. 9. Graf šíření antibiotické rezistence v Rakousku.	52
Obr. 10. Graf šíření antibiotické rezistence na Slovensku.	53
Obr. 11. Graf šíření antibiotické rezistence ve Velké Británii.	54

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Mechanizmy rezistence.....	28
Tab. 2. Příklady povolených reziduí penicilinů v potravinách	32
Tab. 3. Rezistence <i>E. coli</i> vůči 3. generaci cefalosporinů, aminoglykosidům, fluorochinolonům a aminopenicilinům v roce 2000.	40
Tab. 4. Rezistence <i>E. coli</i> vůči 3. generaci cefalosporinů, aminoglykosidům, fluorochinolonům a aminopenicilinům v roce 2001.	40
Tab. 5. Rezistence <i>E. coli</i> vůči 3. generaci cefalosporinů, aminoglykosidům, fluorochinolonům a aminopenicilinům v roce 2002.	41
Tab. 6. Rezistence <i>E. coli</i> vůči 3. generaci cefalosporinů, aminoglykosidům, fluorochinolonům a aminopenicilinům v roce 2003.	41
Tab. 7. Rezistence <i>E. coli</i> vůči 3. generaci cefalosporinů, aminoglykosidům, fluorochinolonům a aminopenicilinům v roce 2004.	42
Tab. 8. Rezistence <i>E. coli</i> vůči 3. generaci cefalosporinů, aminoglykosidům, fluorochinolonům a aminopenicilinům v roce 2005.	42
Tab. 9. Rezistence <i>E. coli</i> vůči 3. generaci cefalosporinů, aminoglykosidům, fluorochinolonům a aminopenicilinům v roce 2006.	43
Tab. 10. Rezistence <i>E. coli</i> vůči 3. generaci cefalosporinů, aminoglykosidům, fluorochinolonům a aminopenicilinům v roce 2007.	43
Tab. 11. Rezistence <i>E. coli</i> vůči 3. generaci cefalosporinů, aminoglykosidům, fluorochinolonům a aminopenicilinům v roce 2008.	44