

Antibiotická rezistence u mikroorganismů významných v kosmetických prostředcích

Iveta Krpalová

Bakalářská práce
2012



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Iveta KRPALOVÁ**
Osobní číslo: **T09807**
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie výroby tuků, kosmetiky a detergentů**

Téma práce: **Antibiotická rezistence u mikroorganismů
významných v kosmetických prostředcích**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakteristika mikroorganismů vyskytujících se v kosmetice a na povrchu kůže
2. Přehled a charakteristika antibiotik
3. Mechanismy rezistence mikroorganismů k antibiotikům

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

1. **BEDNÁŘ, M, et al. Lékařská mikrobiologie. Praha : Marvil, 1996.**
2. **VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie obecná. Brno : NEPTUN, 2005. ISBN 8086850005.**
3. **MAREK, Josef, et al. Farmakoterapie vnitřních nemocí. Praha : GRADA Publishing, 2005. ISBN 8024708396.**
4. **STONE, T., DARLINGTONOVÁ, G. Léky, drogy, jedy. Praha: Academia, 2003. ISBN 80-200-1065-3.**

Vedoucí bakalářské práce:

doc. RNDr. Leona Buňková, Ph.D.

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání bakalářské práce:

24. února 2012

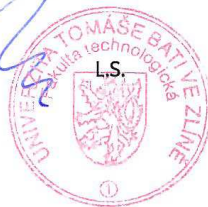
Termín odevzdání bakalářské práce:

21. května 2012

Ve Zlíně dne 24. února 2012



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan



doc. Ing. Rahula Janiš, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno:

Obor:

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

.....

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 nevdělečně 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). Odpirá-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

Práce je zaměřena na antibiotickou rezistenci, zejména na rezistenci na mikroorganismy kontaminující kosmetické prostředky. V práci je popsána základní charakteristika antibiotik, mechanismus jejich účinku a metody stanovení citlivosti na antibiotika. Hlavní část práce byla věnována problematice antibiotické rezistence na jednotlivé bakteriální kmeny mikroorganismů.

Klíčová slova: Antibiotika, antibiotická rezistence, *Propionibakterium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*

ABSTRACT

The thesis deals with the antibiotic resistance, mainly on resistance of the microorganisms contaminating cosmetics. The thesis describes basic characteristics of antibiotics, the mechanism of their effect and methods to determine the sensitivity to antibiotics. The main part is dedicated to problems of antibiotics resistance of individual bacterial microorganisms.

Keywords: Antibiotics, resistance, *Propionibakterium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*

Ráda bych věnovala poděkování doc. RNDr. Leoně Buňkové, Ph.D. za odbornou pomoc při psaní této bakalářské práce a za její cenné rady.

Rovněž děkuji celé své rodinně za morální i finanční podporu při studiu.

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

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 ANTIBIOTIKA	12
1.1 OBJEV BAKTERÍ.....	12
1.2 OBJEV ANTIBIOTIK	13
1.3 DEFINICE ANTIBIOTIK.....	15
1.4 MECHANISMUS ÚČINKU ATB	16
1.4.1 Inhibice syntézy buněčné stěny.....	17
1.4.2 Inhibice syntézy bílkovin	18
1.4.3 Inhibice syntézy nukleových kyselin	18
1.4.4 Porušení cytoplasmatické membrány.....	19
1.4.5 Inhibice syntézy kyseliny listové	19
1.5 ZÁKLADNÍ KLASIFIKACE ANTIBIOTIK	19
1.5.1 Beta-laktamová antibiotika	19
1.5.1.1 Peniciliny	20
1.5.1.2 Cefalosporiny.....	22
1.5.1.3 Ostatní β -laktamová antibiotika.....	23
1.5.2 Tetracykliny	24
1.5.3 Aminoglykosidy	25
1.5.4 Makrolidy	26
1.5.5 Linkosamidy.....	27
1.5.6 Polypeptidová antibiotika.....	27
1.5.7 Glykopeptidová antibiotika.....	27
1.5.8 Amfenikolová antibiotika.....	28
1.6 VYŠETŘENÍ CITLIVOSTI NA ANTIBIOTIKA.....	28
1.6.1 Kvalitativní metody.....	29
1.6.2 Kvantitativní metody.....	30
1.7 NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY ANTIBIOTIK.....	31
1.7.1 Toxické účinky antibiotik	31
1.7.2 Alergické účinky antibiotik.....	32
1.7.3 Biologické účinky antibiotik	32
2 CHARAKTERISTIKA NEJVÝZNAMNĚJŠÍCH KONTAMINANTŮ V KOSMETICE	33
2.1 ROD <i>PROPIONIBACTERIUM</i>	33
2.2 ROD <i>STAPHYLOCOCCUS</i>	34
2.3 <i>ESCHERICHIA COLI</i>	35
2.4 <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i>	36
2.5 <i>CANDIDA ALBICANS</i>	37
3 ANTIBIOTICKÁ REZISTENCE U VYBRANÝCH BAKTERIÍ.....	39

3.1	MRSA – METICILIN REZISTENTNÍ <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	40
3.2	VRE PATOGENY – ENTEROKOKY REZISTENTNÍ NA VANKOMYCIN.....	41
3.3	ANTIBIOTICKÁ REZISTENCE ZACHYCENÁ U <i>ACNE VULGARIS</i>	42
3.4	REZISTENCE KMENŮ <i>E. COLI</i>	43
3.5	REZISTENCE <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> NA ANTIBIOTIKA	44
	ZÁVĚR	47
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	48
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	52
	SEZNAM OBRÁZKŮ	53
	SEZNAM TABULEK.....	54

ÚVOD

Objev penicilinu a jeho uvedení do praxe ve čtyřicátých letech 20. století představoval významný mezník v medicíně. Od doby objevení antimikrobních látek bylo zaznamenáno významné snížení mortality pacientů, kteří dříve umírali na běžné bakteriální infekce.

V delším časovém období se avšak ukázalo, že nadměrné, mnohdy neuvážené a nekontrolované podávání antibiotik vedlo k výraznému vzestupu četnosti rezistentních bakteriálních kmenů. V současné době je celosvětově zvyšující se rezistence k antibiotikům vážným problémem při terapii infekčních onemocnění.

Situace je o to závažnější, že se tyto látky staly základním nástrojem moderního lékařství a je proto nutné dbát na zásady správné racionální preskripce a doporučeného postupu užívání antibiotik.

V posledních letech nabyla problematika antibiotické rezistence celosvětového významu a přístup k antimikrobiálním látkám musel být přehodnocen. Byly vypracovány zásady racionální antibiotické terapie, omezeno profylaktické užívání antibiotik a využívání těchto látek jako růstových stimulatorů. Přesto je však v současné době pozorován stále zvyšující se výskyt rezistentních bakteriálních kmenů k antibiotikům, který následně představuje vážný problém při terapii infekčních onemocnění i v epidemiologické praxi.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ANTIBIOTIKA

1.1 Objev bakterií

Za zakladatele moderní epidemiologie byl považován veronský lékař Girolamo Fracastoro. V roce 1546 vydal knihu *De contagione et contagiosis morbis et eorum curatione libri tres* (O nákaze a nakažlivých chorobách a jejich léčení) v níž popisuje způsoby přenosu a šíření bakteriální infekce. Fracastoro předpověděl existenci neviditelných živých částic a jejich vliv na přenos a vznik dané infekce. Předpokládal, že přenos je možný uskutečnit buď to přímým kontaktem s infekčním agens, nebo skrze kontaminované předměty [1]. Tento Fracasterův názor se shoduje s dnešním pohledem na bakterie a jiné mikroorganismy [2].

Velký zlom nastal v roce 1647, kdy holandský obchodník Antonie van Leeuwenhoek, zpozoroval ve svém mikroskopu miliony živých organismů. Tato drobná, čile se pohybující „zvířátka“ nazval *animalcules*. Svá pozorování popsal a zprávu opatřenou kresbami poslal v roce 1676 do Královské vědecké společnosti. Jeho objev otevřel všem oči a obrátil pozornost k existenci živé hmoty, která je pouhým okem neviditelná [3].

Začátkem 19. století Louis Pasteur prohlásil, že bakterie se spontánně nerodí, ale jsou přítomny ve vzduchu, osidlují živé tkáně a rozkládají je. Jeho dílo a teorii oficiálně přijala Francouzská akademie věd. Francouzský vědec tak svými nálezy orientoval zkoumání infekcí novým směrem a nakonec i celkově změnil pohled na nemoci vůbec. Poprvé tak mohl dát lékař do souvislosti obtíže pacienta, jež se předtím popisovaly jako různé druhy bolesti a nevolnosti s mikrobiální infekcí. Dále tyto poznatky vedly k revoluci v potravinářském průmyslu, neboť byla odhalena i role mikrobů v produkci potravin [3].

V roce 1881 rozšířil Robert Koch diagnostické možnosti stanovení bakterií. Zavedl pevné živné půdy, na kterých je bylo možno kultivovat a určovat. Předpokládal, a pak i dokázal, že jednotlivé bakteriální buňky se přichytí na tuhý povrch půdy, tam se pomnoží a po potřebné inkubaci vytvoří kolonie stovek miliónů buněk. Kochův přínos však tímto objevem nekončí. Německý lékař ve zkoumání pokračoval a ukázal, že izolovaný druh bakterie, znovu naočkovaný zvířeti, vyvolá stejné onemocnění, jež postihlo jedince, z nichž byl původně izolován [3].

1.2 Objev antibiotik

Po tisíciletí lidé užívali chemické látky k ničení bakterií, aniž by si to sami uvědomovali. Šafránový olej získaný z usušených blizen šafránu (*Crocus sativus*), obsahuje řadu sloučenin, které hubí bakterie. Pryskyřice z kůry myrhovníku zastavuje dělení bakterií. Staří Řekové i Římané užívali obě tyto látky k podpoře hojení ran [1]. S přijetím teorie o infekčním původu nemocí došlo kolem 19. století ke změně ve stanovení cíle léčby. Nastala doba, kdy lékaři a badatelé hledali léky, které by zabíjely původce nemocí, bakterie a parazity. Výsledkem tohoto hledání byl šťastný objev antibiotik. Ukázalo se, že antibiotické látky byly bezděčně užívány ještě předtím, než byly objeveny vědou. Ve starých rukopisech se uvádí, že se na rány z léčebných důvodů přikládaly tkaniny impregnované přírodními látkami nebo různými jinými organickými substancemi. Tyto prastaré léčebné prostředky pravděpodobně obsahovaly mikroby, které produkovaly antibiotika nebo přímo léčivo [3].

K objevu antibiotik velmi přispěl historický vývoj identifikace a stanovování počtu bakterií. Hlavním přínosem byla metoda používání agarových ploten, jež zavedl Robert Koch [3].

Roku 1889 Paul Vuillemi přišel jako první s teorií, že živí tvorové mohou produkovat látky, jež inaktivují nebo usmrcují jiné mikroorganismy [1].

Začátek éry chemoterapií je datován do roku 1910, kdy Paul Ehrlich usuzoval, že selektivita účinku barviv by mohla být klíčem k úspěchu odhalení látky, jež by tělo zbavila mikrobů a přitom by nepoškodila tělesné tkáně. Výsledkem byl objev salvarsanu, barviva obsahující molekulu arzenu [1]. Salvarsan si brzy získal uznání, neboť byl schopen léčit nemocné nakažené syfilitidou. Jako lék účinkoval, ale nikoli vždy. Kromě toho vedlejší toxické účinky arzenového preparátu způsobovaly pacientům bolesti. Přesto však salvarsan znamenal významný pokrok [3].

Na jeho úspěchy navázal Gerhard Domagk, který v roce 1935 objevil barvivo zvané červený prontosil (*Prontosil rubrum*). Barvivo bylo natolik účinné, že usmrcovalo streptokoky, aniž by narušovalo makroorganismus. Rozuzlení tohoto tajemství přišlo až později. Badatelé přišli na to, že účinná nebyla barevná část molekuly barviva, ale sulfonamidová část molekuly. Domagk v roce 1939 dostal Nobelovu cenu (NC) za medicínu [1].

V roce 1928 učinil Alexander Fleming historický objev. Zpozoroval, že jsou kolonie běžného mikroba lyzovány, a to pouze v místě výskytu plísně. Fleming usoudil, že plíseň tvoří

sloučeninu, která bakterie zabíjí. Zanedlouho dokázal, že plíseň skutečně produkuje látku s malou molekulou, která může difundovat agarem a lyzovat tyto kolonie. Později byla plíseň identifikována jako *Penicillium notatum*, a proto nazval tuto antimikrobiální látku penicilin. Roku 1940 Howard Walter Florey a Ernest Boris Chain se svými spolupracovníky vypracovali způsob extrakce této účinné látky. Množství takto získaného penicilinu však bylo značně omezené [3].

Éru antibiotik zahájila tragédie v Bostonu. V neděli ráno 22. listopadu 1942 otiskly noviny *Boston Herald* zprávu, že asi 450 návštěvníků nočního klubu COCOANUT GROVE zemřelo v plamenech. Po požáru došlo k velké události, která však znamenala důležitý mezník v masové produkci penicilinu. Penicilin byl přidělován z vládních zásob pro potlačení infekce popálenin u přeživších osob. Massachusettská všeobecná nemocnice obdržela omezené množství penicilinu, jež byl využit k testování účinnosti na výše zmíněných pacientech. U popálenin hrozí značné riziko porušení souvislosti kůže, stafylokoky proniknou do těla, pomnoží se v krevním oběhu, dostaví se vysoká horečka, šok a následně smrt. Před tragickým požárem v nočním klubu neexistoval na tuto bakterii žádný lék. Jakmile vznikla infekce, většina pacientů zemřela. Zkušební použití nového léku předurčilo jeho budoucí význam. Tuto zkušenost považovala vláda Spojených států za rozhodující pro podporu farmaceutických společností při velkovýrobě penicilinu a pověřila 21 chemických institucí jeho výrobou. V roce 1943 byl již penicilin ve velkém množství dodáván do armády k léčbě raněných vojáků. Za objev penicilinu obdržel Fleming celou řadu cen, dne 25. října 1945 získal, společně s Floreym a Chainem (obr. 1), Nobelovu cenu za medicínu [3].



Obr. 1 Zleva Sir Alexander Fleming, Ernest Boris Chain a Sir Howard Walter Florey [4]

Všeobecně známý úspěch sulfonamidů podnítil hledání dalších antibakteriálních látek. V devadesátých letech 19. století byl Robert Koch překvapen skutečností, že bakterie vpravené do půdy hynou. O půl století později se Selman Walksman a další půdní mikrobiologové k tomuto jevu vrátili a podrobně jej prozkoumali. V roce 1943 bylo nalezeno první důležité antibiotikum produkované půdními mikroorganismy *Streptomyces griseus*. Byl to právě streptomycin, jež usmrcoval *Mycobacterium tuberculosis*, původce tuberkulózy. Streptomycin však měl na rozdíl od penicilinu vedlejší účinky. V kumulovaných dávkách způsoboval poruchy funkce ledvin.

V roce 1939 René Dubos izoloval půdní mikroorganismus, jež vylučoval do kultivačního prostředí látku, inaktivující růst patogenů. Gramicidin překonal syntetické sulfonamidy, neboť byl přirozenou látkou s antibakteriálním účinkem. Měl však jednu nevýhodu, a to značnou toxicitu při intravenózním podání [3].

1.3 Definice antibiotik

Jako antimikrobiální látky (též antiinfektiva) označujeme léčiva používaná k profylaxi a terapii infekčních onemocnění. Častými producenty antibiotik (ATB) jsou plísňe, z bakterií pak zejména streptomycety. Látkám přírodního původu zůstává název antibiotika, i když je chemicky modifikujeme, případně vyrábíme synteticky. Antimikrobiálním látkám připraveným výhradně chemicky říkáme chemoterapeutika [5]. ATB jsou produkována četnými mikroorganismy (antibiotika mikrobiálního původu) nebo vyššími rostlinami, tzv. fytoncidy, jejichž růst netlumí, ale chrání před patogeny. Každé antibiotikum má účinky jen na určité, více méně charakteristické skupiny organismů tzv. antimikrobiální spektrum účinku. Mluvíme pak o mikroorganismech citlivých na určité konkrétní antibiotikum. Citlivost daného mikroorganismu k určitému antibiotiku není však stálou vlastností, neboť za určitých okolností mohou adaptací mikroorganismu vznikat rezistentní kmeny. Tyto kmeny jsou vybaveny indukovatelnými enzymovými systémy, které umožňují buď rozkládat antibiotika na neúčinné látky, nebo vytvářet náhradní metabolické dráhy, které nejsou příslušným ATB ovlivňovány [6].

Antibiotika je možné rozdělit dle různých hledisek: a to podle chemické struktury, spektra účinnosti a mechanismu působení [7]. Chemická struktura antibiotik je velmi různorodá. Přesto lze mnohé z nich řadit do skupin podle společných strukturních rysů [8].

Prvním požadavkem na ATB je, že nesmí poškozovat eukaryotní buňky. Musí tedy splňovat požadavek selektivní toxicity, přičemž účinek na eukaryotní buňky musí být zanedbatelný nebo nejlépe žádný. Žádné antibiotikum není pro makroorganismus zcela neškodné, neboť není tělu vlastní [9]. Selektivní toxicitu vyjadřuje chemoterapeutický index, což je poměr mezi dávkou toxickou pro hostitele a dávkou účinnou na mikroba. Čím je chemoterapeutický index vyšší, tím je látka pro makroorganismus méně toxická [5].

Dalším požadavkem je, aby účinkovalo v nízkých koncentracích, řádově v mg/l, a aby těchto hladin dosahovalo přiměřeně brzy [9]. Pro praxi je důležité rozlišovat látky s účinkem cidním a statickým. Mikrobicidní látky ovlivňují buněčnou stěnu mikrobů, usmrcují mikrobiální buňku, působí ireverzibilně. Z tohoto důvodu se klinický účinek dostavuje poměrně rychle, obvykle již do 48 hodin. Látky mikrobistatické jen reverzibilně zastavují růst a množení mikrobů, jejich klinický efekt bývá patrný až později [5]. Tyto látky mají též schopnost zasahovat do procesu tvorby bílkovin, čímž může docházet ke tvorbě defektních membránových proteinů, popřípadě mohou omezovat bazální metabolismus mikrobů [10].

Antimikrobiální účinnost ATB se měří podle jeho aktivity *in vitro* vůči danému mikroorganismu, vyjádřené hodnotou minimální inhibiční koncentrace (MIC). MIC je definovaná jako nejnižší koncentrace ATB, která je schopna zastavit množení mikroorganismu. Porovnáním se stanovenými hraničními hodnotami MIC se posuzuje, zda je daná látka vůči danému mikroorganismu *in vitro* účinná nebo nikoliv. Další důležitou veličinou charakterizující antimikrobiální účinnost je minimální baktericidní koncentrace (MBC), která je definovaná jako nejnižší koncentrace ATB, která je schopna daný mikroorganismus usmrtit. Rozdíl v hodnotě MIC a MBC určuje, zda je antimikrobiální účinek příslušného antibiotika převážně baktericidní nebo pouze bakteriostatický. Čím více se u citlivého mikroorganismu blíží hodnota MBC hodnotě MIC, tím je pravděpodobnější baktericidní účinek a terapeutický potenciál ATB je lepší [6].

1.4 Mechanismus účinku ATB

Antibiotika jsou svou chemickou povahou látky různorodé, a proto i jejich účinek v buňce je rozmanitý. Zasahují specifickým způsobem většinou do syntézy makromolekul buňky. I když je antibiotik velmi mnoho, způsobů, jimiž uplatňují svou aktivitu, je jen několik.

Omezený počet zásahových míst je příčinou snadného vzniku rezistence u původně přirozeně citlivých buněk. To má za následek omezené možnosti vývoje nových antibiotik [9].

Naprostá většina bakterií má na povrchu buněčnou stěnu, výjimku tvoří pouze mykoplasmata a skupina primitivních parazitických bakterií. Buněčná stěna bakterií je pevná, propustná pro soli a nízkomolekulární látky. Buněčná stěna uděluje buňce tvar, chrání ji před fyzikálními a chemickými vlivy vnějšího prostředí a zároveň také kompenzuje osmotický přetlak vytvořený uvnitř buňky. Podle charakteristických rozdílů ve stavbě buněčné stěny lze bakterie rozdělit na dva základní typy, tzv. gramnegativní a grampozitivní bakterie. Oba typy buněčné stěny obsahují mnohé shodné rysy. Základní stavební jednotkou obou typů buněčné stěny je peptidoglykan, někdy označovaný jako murein. Peptidoglykan tvoří polysacharidová vlákna skládající se z monosacharidových jednotek N-acetylglukosaminu a N-acetylmuramové kyseliny. Paralelně uložené řetězce polysacharidů jsou spojeny tetrapeptidy přes karboxylovou skupinu kyseliny muramové. Jednotlivé tetrapeptidové řetězky jsou mezi sebou propojeny a vytváří pevnou několikavrstevnou síťovou strukturu. Toto prokřížení dává peptidoglykanu pevnost [11].

Grampozitivní (G+) bakterie mají peptidoglykanovou vrstvu pevnější, vyztuženou teikoovými kyselinami. Základem teikoových kyselin jsou ve vodě rozpustné polymery glycerolfosfátu nebo ribitolfosfátu s glykosidicky vázanými cukry. Kromě teikoových kyselin jsou na povrchu peptidoglykanové vrstvy grampozitivních bakterií vázány také polysacharidy složené z glukósy, galaktósy popřípadě i dalších monosacharidů. Struktura těchto polysacharidů je specifická pro různé taxonomické skupiny G+ bakterií. Buněčná stěna G+ bakterií neobsahuje lipidy s výjimkou mykobakterií, korynebakterií či nokardií [11].

Peptidoglykanová vrstva gramnegativních (G-) bakterií je tenká a neobsahuje teikoové kyseliny. Nad touto vrstvou peptidoglykanu se nachází tzv. vnější membrána, která je složena zejména z fosfolipidů, bílkovin a lipopolysacharidů. Mezi peptidoglykanovou vrstvou a cytoplasmatickou membránou je tzv. periplasmatický prostor, ve kterém jsou umístěny některé enzymy [11].

1.4.1 Inhibice syntézy buněčné stěny

Jedním z mechanismů účinku je inhibice syntézy buněčné stěny, která je podkladem baktericidního účinku některých antibiotik [12]. Do skupiny antibiotik inhibujících syntézu buněčné stěny bakterií patří poměrně velká skupina prakticky netoxických β -laktamových anti-

biotik (peniciliny, cefalosporiny, monobaktamy a karbapenemy), dále glykoproteiny (van-komycin) a některá antituberkulotika [5].

V bakteriální buňce se β -laktamy vážou na enzymy (transpeptidasy, karboxypeptidasy atd.) účastníci se tvorby peptidoglykanu, který tvoří základní složku bakteriální buněčné stěny. Jde o vazbu na tzv. proteiny pro vazbu penicilinů (PBP - penicillin-binding proteins), které představují buněčné receptory. Tyto receptory jsou různé s různou afinitou k antibiotikům a každý může zprostředkovat odlišný způsob účinku. Beta-laktamová antibiotika acylují PBP, a tím je inaktivují. Inhibice syntézy bakteriální stěny je vyvolána blokadou transpeptidačních reakcí a následnou zábranou zpevnění peptidoklykanu ve stěně příčnými vazbami [12].

Dále k inhibici dochází vazbou na prekurzor stěnového pentapeptidu a v neposlední řadě inhibicí defosforylace undekaprenylfosforečnanu [12].

1.4.2 Inhibice syntézy bílkovin

Z látek, které potlačují proteosyntézu, působí baktericidně aminoglykosidy. Po průniku do bakteriální buňky se ireverzibilně vážou na ribosomální 30S podjednotku, což buď zne-možní start proteosyntézy, nebo dochází ke vzniku nefunkčních bílkovin [5].

U tetracyklinů je mechanismus účinku odlišný. Tetracykliny se vážou reverzibilně na re-ceptor umístěný na 30S podjednotce a blokují vazbu aminoacyl-tRNA. Dojde tak k zablokování aminokyselin pro syntézu peptidového řetězce [12].

Další inhibitory proteosyntézy působí pouze bakteriostaticky, aktivní místo syntézy je lo-kalizováno na větší podjednotce (50S) bakteriálního ribosomu. Mezi taková antibiotika řadíme makrolidy, linkosaminy a některé další antimikrobiální látky [5].

1.4.3 Inhibice syntézy nukleových kyselin

Inhibice syntézy nukleových kyselin může probíhat při replikaci DNA nebo transkripci (přepisu RNA) [12].

Chinolonová antibiotika inhibují enzym DNA-gyrasu potřebnou při replikaci DNA, čímž potlačují rozvolnění bakteriálního chromosomu a následnou ztrátu konstitučních vlastností při replikaci DNA [13].

Vazbou na specifický enzym RNA-polymerasu a blokováním její funkce dochází k inhibici transkripce a následné replikace bakteriálního chromosomu. Účinek těchto antibiotik na-

stupuje v iniciační fázi, do průběhu transkripce již nezasahuje. Jako přímý inhibitor působí antibiotikum rifampicin produkované *Streptomyces mediteranei* [12].

1.4.4 Porušení cytoplasmatické membrány

Antibiotika narušující cytoplasmatickou membránu podněcují změnu selektivní permeability a tím zapříčiní ztrátu osmotické integrity. Účinek však není specifický pouze pro bakteriální buňky a může být podkladem nefrotoxicity. Do této skupiny se řadí polyenová antibiotika a imidazoly. Některá polyenová antibiotika se vážou na steroly, které jsou umístěny v membráně kvasinkových mikroorganismů a hub, a detergentním účinkem porušují cytoplasmatickou membránu a způsobují tím její zánik. Tato antimykotika působí pouze na mikroorganismy s odpovídajícími sterolovými strukturami v buněčné stěně [12]. Imidazoly pak inhibují enzymy syntézy ergosterolu a nepřímo tak působí na propustnost cytoplasmatické membrány [9].

1.4.5 Inhibice syntézy kyseliny listové

Inhibice syntézy kyseliny listové je podkladem bakteriostatického účinku. Mezi takové antimikrobiální látky řadíme především sulfonamidy, trimetoprim a pyrimetamin. Protože bakterie nejsou schopny využívat preformovanou kyselinu listovou, jsou závislé na její syntéze [9]. Sulfonamidy brzdí syntézu kyseliny listové na základě kompetitivní inhibice kyseliny para-aminobenzoové. Sulfonamidy jsou proto účinné pouze na bakterie, které musí syntetizovat svoji kyselinu listovou. Trimetoprim a pyrimetamin se rovněž uplatňují v metabolismu kyseliny listové, ale v jiném místě metabolického řetězce [5].

1.5 Základní klasifikace antibiotik

1.5.1 Beta-laktamová antibiotika

Beta-laktamová antibiotika obsahují tak zvaný β -laktamový kruh, strukturu skládající se ze tří atomů uhlíku a jednoho atomu dusíku. Různé typy β -laktamů se liší složením dalšího kruhu připojeného na β -laktamový cyklus. V bakteriální buňce se β -laktamy vážou na enzymy účastníci se syntézy peptidoglykanu. Tyto enzymy katalyzují tvorbu peptidových a glycinových můstků spojující řetězce střídajících se molekul N-acetylglukosaminu a kyseliny N-acetylmuramové. Vazba β -laktamu na PBP zastaví v rostoucí bakterii tvorbu peptidoglykanové vrstvy a naopak podnítl tvorbu autolytických enzymů, které rozvolní již vzniklou buněčnou stěnu. Výsledkem je rozpad bakteriální buňky. β -laktamy působí bakte-

ricidně. Jejich klinická účinnost je tím vyšší, čím déle se dosažená hladina antibiotika udržuje nad hodnotou MIC. Většina β -laktamových antibiotik se poměrně rychle vylučuje močí, vykazují tedy krátký postantibiotický efekt, a proto se jednotlivé dávky musí podávat poměrně často. Toxicita β -laktamů je zanedbatelná, zato vedlejší účinky jsou časté. Jde hlavně o alergické reakce [5].

β -laktamy se dělí na peniciliny, cefalosporiny, monobaktamy, karbapenemy [5].

1.5.1.1 Peniciliny

Peniciliny jsou vysoce účinná antibiotika s extrémně nízkou toxicitou. Získávají se z kultury plísní *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium notatum* a dalších, které produkují kyselinu 6-aminopenicilinovou [5]. Známých je několik druhů penicilinů, které se liší chemickou strukturou bočního řetězce. Řada mikroorganismů se na přírodní peniciliny stává poměrně snadno rezistentní, neboť indukují systém enzymů, tzv. penicilinas, které štěpí β -laktamový kruh v molekule antibiotika, čímž dochází k jeho inaktivaci [14].

Farmakokinetika penicilinů je charakterizována poměrně dobrým průnikem do tělních tekutin a tkání, malým průnikem do buněk a převažujícím vylučováním ledvinami. Votava rozděluje peniciliny do následujících skupin [12].

1. Acidolabilní peniciliny

Benzylpenicillin (penicilin G)

Benzylpenicilin (obr. 2) je prvním přirozeným penicilinem s vysokou účinností vůči gram-pozitivním bakteriím a gramnegativním kokům. Pro svou nestálost při nízkém pH v žaludku je podáván pouze parenterálně [12]. Benzylpenicilin lze rozkládat působením některých enzymů, kterými některé druhy bakterií disponují. Patří sem především penicilinas, jež tvoří otevřením laktamového kruhu kyselinu benzylpenicilovou, a penicilinamidas, štěpící amidovou vazbu v bočním řetězci za vzniku kyseliny 6-aminopenicilanové [14].

Krystalický benzylpenicilin

Ve formě sodných nebo draselných solí se tato antibiotika podávají intravenózně a to převážně při závažných infekcích vyvolaných citlivými mikroby. Používá se především k léčbě meningokokové meningitidy, pneumokokové pneumonie a závažných infekcí vyvolaných kmeny *Streptococcus pyogenes* [12].

Prokain benzylpenicilin

Prokain benzylpenicilin je špatně rozpustná sůl, která se podává intramuskulárně a postupně v průběhu 24 hodin uvolňuje benzylpenicilin. Plasmatické hladiny jsou poměrně nízké, proto se dá použít pouze u infekcí vyvolaných *Streptococcus pyogenes* a dobře citlivými kmeny pneumokoků a aktinomycet. K nežádoucím účinkům patří syndromy vzniklé z proniknutí suspenze do krevního oběhu, tj. Hoigného syndrom a syndrom Nicolauův [5].

2. Acidostabilní peniciliny

Fenoxymetylpenicilin (penicilin V)

Fenoxymetylpenicilin (obr. 2) patří k nejčastěji předepisovaným antibiotikům. Jeho vysoká stabilita vůči kyselému prostředí v žaludku předurčuje penicilin V k perorálnímu podání. Antimikrobiální spektrum i farmakokinetické a farmakodynamické vlastnosti penicilinu V jsou shodné s ostatními základními peniciliny [5].

Ve snaze získat peniciliny s větší acidorezistencí nebo odolností vůči působení zejména penicilasy byla připravena řada tzv. biosyntetických penicilinů. Jsou to peniciliny získané mikrobiální fermentací za přítomnosti umělých prekurzorů přidávaných do živné půdy místo fenylacetamidu [14].

3. Peniciliny stabilní vůči β -laktamasám *Staphylococcus aureus*

Antimikrobiální spektrum této skupiny antibiotik je omezeno na stafylokoky a streptokoky. U nás je k dispozici oxacilin a cloxacilin. Bohužel stále častěji se vyskytují kmeny *Staphylococcus aureus* rezistentní na tyto peniciliny [5].

4. Aminopeniciliny

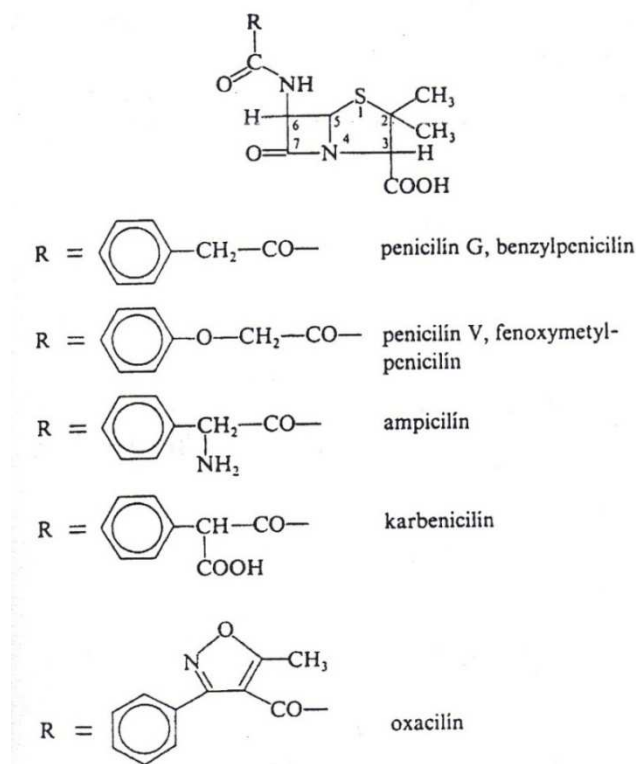
Aminopeniciliny jsou semisyntetické baktericidní peniciliny, které mají širší antimikrobiální spektrum zahrnující oproti přirozeným penicilinům i některé G- bakterie [12].

5. Ureidopeniciliny

Ureidopeniciliny jsou pouze parenterálně podávané přípravky se širokým spektrem účinkující i na *Pseudomona aeruginosa*. Jako ostatní β -laktamy působí baktericidně, ale jen na množící se bakterie [5].

6. Karboxypeniciliny

Vlastnosti karboxypenicilinů jsou do značné míry podobné ureidopenicilinům. Používají se na léčbu infekcí vyvolanými enterobakteriemi, *Pseudomonas aeruginosa*, hemofily, neiseriemi, streptokoky a anaeroby. Není účinný na enterokoky a klebsiely [5].

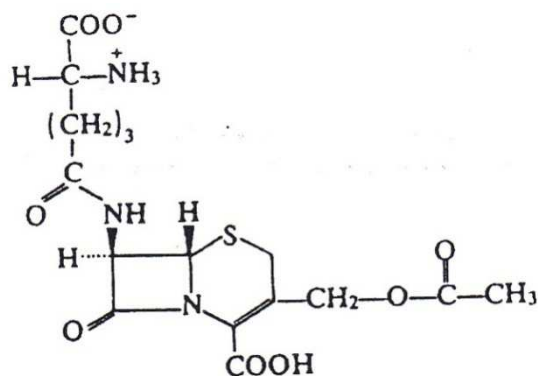


Obr. 2 Struktura některých penicilinů [15]

1.5.1.2 Cefalosporiny

Základem cefalosporinových ATB je kyselina 7-aminocefalosporanová (obr. 3), poprvé izolována z plísně rodu *Cephalosporium* [5]. Cefalosporiny se spolu s peniciliny řadí do skupiny β -laktamových antibiotik, jejich mechanismus účinku spočívá v inhibici syntézy buněčné stěny bakterií zásahem do syntézy peptidoglykanu, který poskytuje mechanickou stabilitu buněčné stěny mikroba. Celá rozsáhlá skupina cefalosporinů se obvykle rozděluje do čtyř generací podle určujících vlastností. Tyto vlastnosti zahrnují spektrum antimikrobiální účinnosti, odolnost vůči β -laktamasám a velikost a rychlost průniku cefalosporinových molekul buněčnou stěnou bakterií. Antimikrobiální spektrum cefalosporinů je široké, v rámci posloupnosti jednotlivých generací se poněkud zhoršuje odolnost vůči G+ patogenům, avšak podstatně stoupá účinnost vůči G- bakteriím. Poslední 4. generace spojuje vy-

sokou aktivitu na G+ i G- mikroorganismy. Cefalosporiny mají dobrý bezpečnostní profil, jsou velmi málo toxické. Nejčastějším nežádoucím účinkem jsou kožní alergické projevy, především ve formě makulopapulózního exantému, dále bolesti kloubů a léková horečka [12].



Obr. 3 Struktura cefalosporinu [14]

Rezistence vůči cefalosporinům vzniká čtyřmi základními způsoby: [12]

- Tvorbou β -laktamas, z nichž některé jsou chromosomálního původu a některé plasmidové, jde o nejdůležitější formu vzniku rezistence.
- Změnou vazebných proteinů na základě mutace genů.
- Snížením permeability zevní membrány buněčné stěny G- bakterií, tím se zhoršuje, případně i znemožňuje, přístup molekul β -laktamového antibiotika k cílovým enzymům.
- Eflux neboli aktivní transport antibiotika z bakteriální buňky je zprostředkován systémy prostupujícími buněčnou stěnou a cytoplasmatickou membránou, tento transport často zahrnuje i několik nepříbuzných ATB.

1.5.1.3 Ostatní β -laktamová antibiotika

Monobaktamy

Prakticky jediný z této skupiny je aztreonam. Aztreonam je baktericidní monobaktamové antibiotikum. Oproti ostatním širokospektrým beta-laktamovým ATB je účinný pouze na G- aerobní bakterie [9]. Mechanismus účinku spočívá v inhibici syntézy buněčné stěny

bakterií vazbou na specifické proteiny. Je relativně stabilní vůči části β -laktamas tvořených G- mikroby [12].

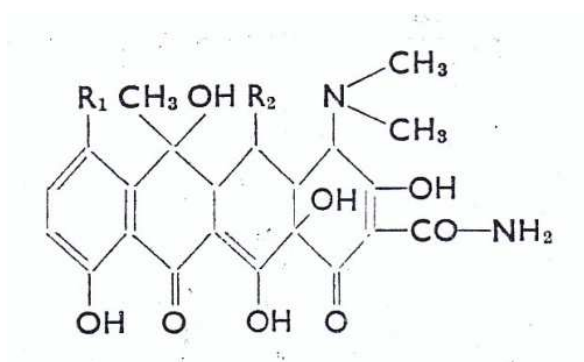
Karbapenemy

Imipenem a meropenem mají díky stabilitě vůči β -laktamasám velmi široké spektrum účinnosti [9]. Mechanismus účinku karbapenemů spočívá v inhibici syntézy buněčné stěny bakterií vazbou na specifické proteiny. Nežádoucí účinky karbapenemů představují alergické kožní projevy a gastrointestinální obtíže [12].

1.5.2 Tetracykliny

Molekula tetracyklinů obsahuje čtyři šestičlenné kondenzované cykly (obr. 4). Tetracykliny jsou bakteriostatická širokospektrá antibiotika působící mimo jiné na mykoplasmata, chlamydie, některé prvoky atd. Mechanismem účinku je inhibice proteosyntézy – tetracykliny brání vazbě komplexu aminoacyl-tRNA na příslušné místo ribosomu [6, 12]. Řada běžných bakterií je však dnes již na tetracykliny rezistentní, kdy hovoříme o rezistenci zkřížené a existují tři hlavní mechanismy jejího vzniku [5]. Podkladem je pokles akumulace tetracyklinů v důsledku buď sníženého průniku ATB do buněk, nebo aktivního vyčerpání ATB z buňky, dále snížený přístup tetracyklinů k ribosomům a v neposlední řadě enzymatická inaktivace ATB [12].

Vedlejší účinky tetracyklinů jsou časté a projevují se hlavně v gastrointestinálním (GIT) traktu. Nausea je dána přímým účinkem na sliznici, průjem potom spíše poruchou normální mikroflóry [5]. Tetracykliny se ukládají do kostní tkáň, nepříznivě tak ovlivňují růst kostí a působí žluté zbarvení zubů, jsou kontraindikovány u těhotných a u dětí mladších 8 let [12].

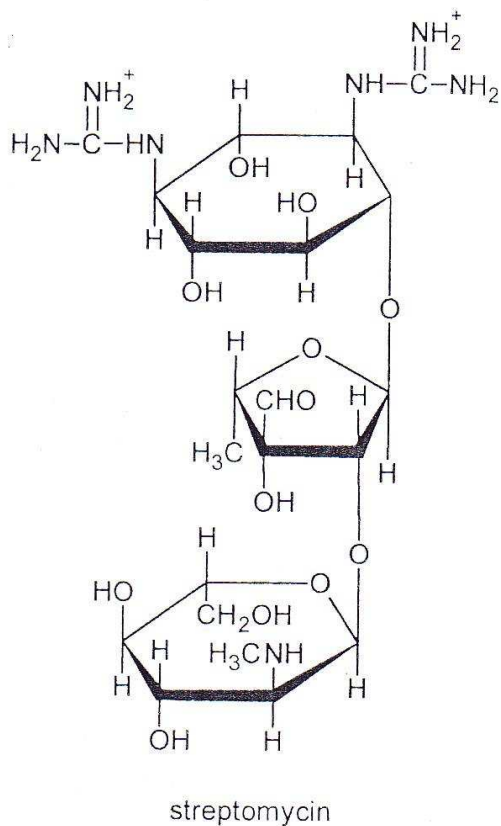


Obr. 4 Základní struktura tetracyklinů [16]

Z rozsáhlé skupiny tetracyklinů používaných od 50. let 20. století se dnes používají prakticky jen semisyntetické deriváty doxycyclin a minocyclin [12].

1.5.3 Aminoglykosidy

Aminoglykosidová antibiotika patří mezi nejstarší, u nás ale stále široce užívaná nemocniční antibiotika. Na jejich příznivém postavení ve farmakoterapeutické praxi se podílí mimořádně rychlý baktericidní účinek vůči většině G- mikrobů [12]. Většina aminoglykosidů jsou trisacharidy, které obsahují neobvyklé aminocukry (obr. 5). Základem molekuly těchto ATB je aminocyklitolový kruh, struktura odvozená od inositolu substituovaného různými aminoskupinami. K tomuto kruhu jsou pak glykosidickou vazbou připojeny další dva aminocukry [5]. Fyzikálně-chemicky jsou aminoglykosidy hydrofilní látky, které špatně pronikají biologickými membránami. Aminoglykosidy působí na ribosomech v samém počátku bakteriální proteosyntézy, ireverzibilně se vážou na receptor umístěný na 30S podjednotce a blokují tak vazbu aminoacyl-tRNA na ribosom [12].



Obr. 5 Struktura streptomycinu [17]

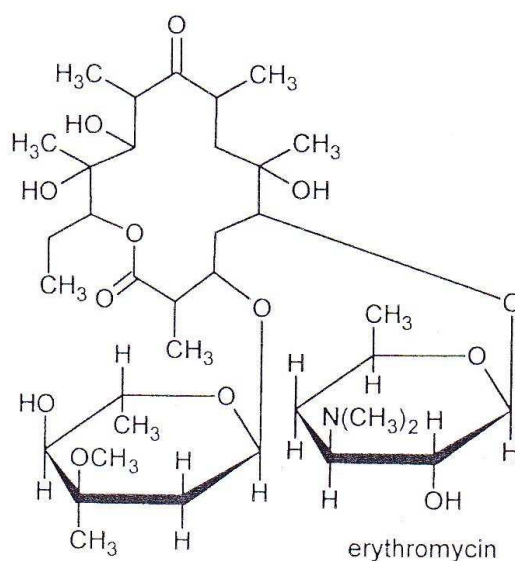
Nežádoucí účinky jsou dosti časté. Dostavují se při dlouhodobé léčbě a po aplikaci neredukovaných dávek pacientům s těžkým poškozením ledvin [10].

Rezistence na aminoglykosidy se vyvíjí velmi pomalu. Přirozená rezistence mikrobu k aminoglykosidům je dána zhoršeným průnikem ATB do buňky. Získaná rezistence pak spočívá v tvorbě enzymů, které modifikují strukturu proniknutého aminoglykosidu a inaktivují jeho účinek [5].

Nejstarší aminoglykosid, streptomycin, byl izolován roku 1944 Waksmanem z bakterie patřící mezi aktinomycety *Streptomyces griseum*. Streptomycin se používá k léčbě tuberkulózy, zápalu mozkových blan. Do této skupiny ATB dále řadíme gentamycin, neomycin, kanamycin [14].

1.5.4 Makrolidy

Po chemické stránce jsou makrolidy makrocyclické laktony, na které jsou glykosidicky navázány většinou dva méně obvyklé sacharidy [7]. Vážou se na ribosomální RNA a inhibují proteosyntézu. Výsledný efekt je pouze bakteriostatický [5].



Obr. 6 Struktura erytromycinu [17]

Antimikrobiální spektrum makrolidů zahrnuje grampozitivní i gramnegativní bakterie, anaeroby s výjimkou *Bacteroides fragilis* a spirochety. Rezistence na makrolidová antibiotika v důsledku nepříliš účelného používání narůstá. Rezistence mezi makrolidy je zkříže-

ná, určité rozdíly se mohou objevit mezi jednotlivými zástupci v závislosti na počtu uhlíků v laktonovém kruhu [12]. Typickým představitelem makrolidových antibiotik je erytromycin (obr. 6), jenž byl izolován z aktinomycety *Streptomyces erythreus* [14]. Erytromycin se většinou podává *per os*. Dobře proniká do buněk, kde nabývá vyšších hladin než v plasmě, takže může dobře zasáhnout intracelulárně uložené patogeny. I když je celkem málo toxický, často se dostavuje nevolnost a zvracení. Nesmí se kombinovat s β -laktamy nebo linkosamidy, protože se s nimi vzájemně antagonizuje. Do této skupiny antibiotik dále řadíme spiramycin, azithromycin atd. [5].

1.5.5 Linkosamidy

Jde o antibiotika se zvláštní chemickou strukturou. Linkosamid linkomycin získal název od produkčního kmene *Streptomyces lincolnensis*. Linkomycin je odvozen od aminokyseliny prolinu substituovaného amidy a aminocukrem [18]. Váže se na ribosomy, inhibuje peptidyltransferasu a brání tak vzniku peptidické vazby a tím prodlužování molekuly proteinu. Působí bakteriostaticky. Spektrum účinku zahrnuje citlivé streptokoky, stafylokoky, většinu anaerobů a některé prvoky. Toxicita linkomycinu je velmi nízká. K nežádoucím účinkům patří reakce v místě aplikace, průjem atd. [5]. Linkomycin výborně proniká do makrofágů a především do kostní tkáně. Rezistence na linkosamidy je zkřížená. Dalším ATB této skupiny je semisyntetický derivát klindamycin [18].

1.5.6 Polypeptidová antibiotika

Polypeptidová antibiotika jsou rozvětvené cyklické peptidy. Nejdůležitější z nich jsou polymyxiny, produkty *Bacillus polymyxa*, složené z 10 aminokyselin (AMK). Polymyxiny působí díky svým volným aminoskupinám jako kationické detergenty a rozrušují tak fosfolipidovou vrstvu cytoplasmatické membrány. Rezistence pak vzniká na základě zhoršeného průniku zevní membránou bakteriální buňky. Spektrum účinku polymyxinů zahrnuje výhradně G- bakterie, a to včetně *Pseudomonas aeruginosa* [5].

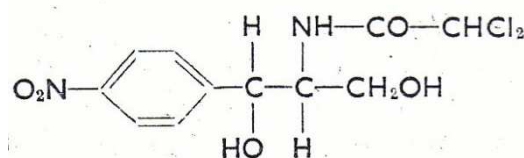
1.5.7 Glykopeptidová antibiotika

Glykopeptidy jsou baktericidní stěnová antibiotika s dominujícím účinkem na stafylokoky, streptokoky, enterokoky a korynebakterie [6]. Vážou se na terminální D-alanyl-D-alanin na konci peptidových řetězců a prostorově tak brání zesíťování tvořícího se peptidoglykanu. Klasickým peptidoglykanem je vankomycin původně izolovaný ze *Streptomyces orienta-*

lis. Jeho spektrum je omezeno pouze na některé G+ mikroorganismy a na spirochety. Toxicita je značná. Další ATB řazené do této skupiny je teikoplanin [5].

1.5.8 Amfenikolová antibiotika

Zatím jediným u nás dostupným antibiotikem z této skupiny je chloramfenikol (obr. 7). Původně byl izolován ze *Streptomyces venezuelae*, dnes se však připravuje synteticky. Ve shodě s jeho názvem obsahuje jeho poměrně jednoduchá molekula dva atomy chloru a nitrobenzenové jádro, které je pravděpodobně příčinou některých toxických problémů. Chloramfenikol blokuje působení peptidyltransferasy, čímž brání vzniku peptidických vazeb. Spektrum chloramfenikolu je široké, působí na aerobní i anaerobní G+ i G- mikroby. Jeho účinek je pouze bakteriostatický. Výborně proniká do tkání a do mozkomíšního moku. Pro svou toxicitu se uplatňuje jen jako antibiotikum druhé volby, nelze-li použít antibiotika jiná. Rezistence na chloramfenikol bývá nejčastěji následkem získání plasmidu, který kóduje acetyltransferasu. Tento enzym mění chloramfenikol na neúčinnou sloučeninu [5].



Obr. 7 Struktura chloramfenikolu [16]

1.6 Vyšetření citlivosti na antibiotika

Vyšetření citlivosti bakterií na ATB se provádí s cílem zjistit, zda vůbec nebo do jaké míry je mikrob na dané antibiotikum citlivý. Podle toho se volí buď metoda, jež dá odpověď kvalitativní nebo kvantitativní. Kvantitativně je citlivost přímo vyjádřena minimální inhibiční koncentrací nebo nepřímo, průměrem inhibičních zóny kolem disku. Minimální inhibiční koncentrace je nejmenší koncentrace ATB v živné půdě, která zabrání viditelnému růstu naočkované kultury [9].

1.6.1 Kvalitativní metody

Mezi kvalitativní metody řadíme diskový difúzní test.

Diskový difúzní test je standardní metoda pro stanovení citlivosti kmene k ATB. Diskový test musí být přísně standardizován, neboť jeho správný výsledek závisí na mnoha faktorech. Provádí se na MH agar (Müller-Hinton), nalitým do Petriho misky do vrstvy o standardní tloušťce. pH půdy nesmí překročit rozmezí pH 7,2 – 7,4. K testování se používají standardní antibiotické disky dodávané prověřenými výrobci. Disky se skladují v chladničce. Pro naočkování se v bujónu připraví suspenze kolonií. Porovnáním se zákalovým standardem se upraví koncentrace inokula, jež odpovídá koncentraci 10^8 bakterií / ml. Vatový tampon se zvlhčí suspenzí bakterií, přebytečná tekutina se vytírá o hranu zkumavky a tamponem se naočkuje povrch Müller-Hintonova agaru. Očkuje se rovnoměrným rozetřením po celém povrchu plotny. Na naočkovanou plotnu se nakladou disky s předepsaným množstvím antibiotika. Inkubuje se 18 – 24 hodin. Poté se změří průměry inhibičních zón a ty se interpretují podle tabulek hraničních hodnot pro dané antibiotikum a mikroba. Je bezpodmínečně nutno změřit inhibiční zóny (obr. 8), nebo alespoň je porovnat šablonou s hraničními hodnotami. Pouze odhadovat citlivost podle zóny je hrubá chyba [9, 19].



Obr. 8 Diskový difúzní test - citlivost *Staphylococcus aureus* [20]

1.6.2 Kvantitativní metody

Mezi kvalitativní metody lze zařadit diluční a kombinované metody:

Diluční test v bujónu

Cílem metody je stanovení minimální inhibiční nebo baktericidní koncentrace. Bujonový test se provádí ve zkumavkách nebo mikrotitračních destičkách. Mikrotitrační destičky naplníme v bujónu rozpuštěnou antimikrobiální látku, ředěnou geometrickou řadou. V každé destičce se většinou testuje 12 druhů antibiotik po 8 koncentracích. Jako růstové médium se používá MH bujón, který se zaočkovává suspenzí bakterií se stupnicí zákalu 1,5-3 stupně McFarlanda. V případě potřeby se dále ředí fyziologickým roztokem. Do každé jamky mikrotitrační destičky se očkuje stejné množství inokula (1-5 μ l). Po naočkování se destička z důvodu zamezení vyschnutí zakryje víčkem, a inkubuje podle druhu mikroba, většinou 18-20 hodin při 37 °C [21]. Po inkubaci se odečítá růst proti kontrole. Růst bakterií se projevuje zákalem jamky nebo sedimentem. MIC testovaného kmene se projeví v první nezakalené jamce, tj. jamce bez viditelného růstu. Interpretuje se podle tabulek obsahujících hraniční koncentrace pro jednotlivá ATB a mikroba [9].

Kombinované metody

E-test

E-test je metoda, která kombinuje difúzní a diluční principy. Je to tedy stanovení minimální inhibiční koncentrace difúzní metodou [21].



Obr. 9 E-test – kapkový tvar inhibiční zóny [22]

Jako médium používáme u většiny bakterií MH agar, při zvýšených nárocích půdu obohacujeme [21]. Na agar se přikládá kalibrovaný proužek obsahující diskontinuitní gradient koncentrací ATB. Na proužku je vyznačena stupnice s hodnotami MIC. Inhibiční zóna, která se vytvoří, má tvar protáhlé kapky, která svým ostrým koncem zasahuje právě do místa, kde je koncentrace antibiotika rovna MIC (obr. 9). Test je jednoduchý, nevýhodou je jeho vysoká cena [9].

1.7 Nežádoucí účinky antibiotik

Nežádoucí účinky antibiotik mohou být toxické, alergické a biologické.

1.7.1 Toxické účinky antibiotik

K toxickým účinkům dochází obvykle po předávkování vlivem vysokých plasmatických koncentrací, eventuálně při vyšší citlivosti hostitele nebo při opomenutí úpravy dávkování u pacienta s postižením jater nebo ledvin [5].

1.7.2 Alergické účinky antibiotik

Alergie jsou vyvolány po předchozí senzibilizaci i malou dávkou antibiotika. Projevy jsou pestré, například exantémy, kopřivka, edémy, horečka, fotodermatosy, záchvat bronchiálního astmatu až anafylaktický šok [23].

1.7.3 Biologické účinky antibiotik

Z biologických účinků antibiotik jsou nejzávažnější ty, které ovlivňují normální mikroflóru kůže nebo sliznic. Jsou zvláště časté při používání širokospektrých antibiotik. Příkladem jsou kvasinkové vulvovaginitidy, sepse, střevní dyspepsie. K nežádoucím účinkům z poruch mikroflóry patří též hypovitaminóza K s následným krvácením z tkání. Některá antibiotika potlačují proteosyntézu, což může snížit protilátkovou odpověď. Pravděpodobnější příčinou potlačení tvorby protilátek při antibiotické léčbě je rychlé odstranění mikroba a tudíž nedostatečná antigenní stimulace imunitního systému. V některých případech bylo popsáno závažné zhoršení stavu po aplikaci ATB. Jde o tak zvanou Jarischovu-Herxheimerovu reakci, která je způsobena masivním rozkladem mikroba a zaplavením organismu endotoxinem [5].

2 CHARAKTERISTIKA NEJVÝZNAMNĚJŠÍCH KONTAMINANTŮ V KOSMETICE

2.1 Rod *Propionibacterium*

Morfologicky se jedná o grampozitivní, anaerobní a nesporulující tyčinky kyjovitého tvaru. Příslušníci rodu jsou součástí běžné mikroflóry trávicího traktu, dutiny ústní a nosohltanu, povrchu kůže, jsou přítomny v mléce a mléčných výrobcích, v půdě, vodě atd. Rod *Propionibacterium* je původcem propionového kvašení, při kterém dochází k produkci kyseliny propionové. Díky svému metabolismu jsou tyto bakterie schopny syntetizovat kromě kyseliny propionové také kyselinu octovou a oxid uhličitý. Propionové bakterie se využívají při výrobě některých sýrů, k mikrobiologické výrobě vitamínu B₁₂. Mohou se podílet na vzniku anaerobních infekcí, vzácně sepsí [24]. Rozeznáváme více druhů propionibakterií, mezi nejvýznamnější druhy řadíme *P. acnes*, *P. avidum*, *P. granulosum*, *P. freundenreichii* [9].



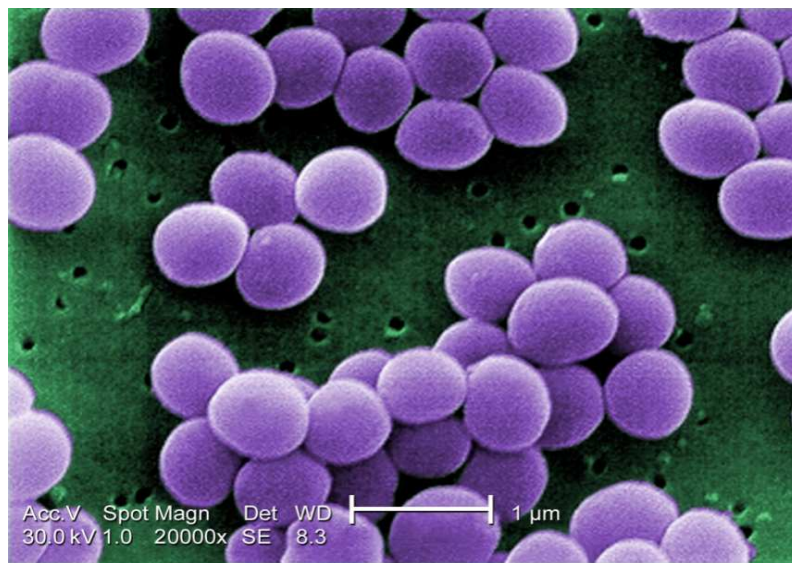
Obr. 10 *Propionibacterium acnes* [25]

Druh *Propionibacterium acnes* (obr. 10) je součástí běžné kožní mikroflóry a může se podílet na rozvoji kožního onemocnění *acne vulgaris* [9]. Jedná se o chronický zánět mazových žláz a vlasových folikulů projevující se tvorbou pupínků, těžší formy jsou provázené výsevem pustulek s obsahem hnisu. Kožní lipáza produkovaná propionibakteriemi štěpí triacylglyceroly, které jsou produkovány kožními žlázami v nadměrném množství především

v období puberty. Štěpením vznikají mastné kyseliny dráždivé kůži, což je jeden z hlavních příčin vzniku zánětlivých ložisek [24].

2.2 Rod *Staphylococcus*

Do rodu *Staphylococcus* bylo doposud zařazeno kolem 40 druhů a poddruhů, z nichž z hlediska patogenity mají největší význam rody *S. intermedius*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis* a *S. aureus* [9]. Stafylokoky jsou charakterizovány jako grampozitivní, nepohyblivé a většinou neopouzdržené koky o průměru zhruba 1 μm . Vyskytují se často ve shlucích, ale také jednotlivě, ve dvojicích, v tetrádách nebo dokonce ve velmi krátkých řetězcích. Z fyziologického hlediska se většinou jedná o fakultativně anaerobní bakterie, avšak v aerobním prostředí je jejich reprodukce značně urychlena. Obecně jsou stafylokoky velmi rozšířené v přírodním prostředí, kde primárně osidlují povrch těla člověka a zvířat, ale také sliznice ptáků a savců [24].



Obr. 11 *Staphylococcus aureus* charakteristické uspořádání bakteriálních buněk do typických útvarů [26]

Stafylokoky jsou do značné míry rezistentní k nepříznivým vlivům zevního prostředí. Odolávají vyšším teplotám, jsou odolné vůči vysychání i vyšším koncentracím NaCl. Tyto vlastnosti zřejmě umožňují přechodné nebo i rezidentní osídlení některými stafylokokovými druhy [9]. Některé druhy rodu *Staphylococcus* náleží mezi důležité původce závažných hnisavých procesů a alimentárních intoxikací. Mohou být také příčinou pooperačních komplikací [24].

Staphylococcus aureus (obr. 11) řadíme mezi biochemicky nejaktivnější bakteriální druhy. Produkuje řadu exoenzymů, toxinů a komplexních látek, z nichž mnohé se uplatňují jako faktory virulence. Je dobře adaptovaný na kolonizaci kůže a sliznic a spolu se streptokoky patří mezi nejčastější původce pyogenních infekcí [9]. Proto se také někdy označuje jako „*Staphylococcus pyogenes*“ nebo zlatý stafylokok a je považován za striktního patogena. Způsobuje hnisavé procesy v organismu člověka a zvířat od lokalizovaných onemocnění až po invazivní. Lokalizované onemocnění zahrnují folikulitidy, impetigo, infekce ran, záněty středního ucha, záněty mléčné žlázy a další [24].

2.3 *Escherichia coli*

Od počátku moderní mikrobiologie je *Escherichia coli* (*E. coli*) známa pod jménem *Bacterium coli*. Současný název je odvozen od Theodora von Escherichia, rakouského lékaře a bakteriologa, který ji izoloval roku 1885 [5]. Jedná se o tyčinkovitou, gramnegativní bakterii patřící do čeledi *Enterobacteriaceae* [24].

E. coli je běžný komenzál tlustého střeva, plní zde funkci jednak saprofytickou, ale také funkci symbionta. Fekálním znečištěním se dostává do vody, kde může přežít řadu dnů. Slouží jako nejběžnější indikátor fekální kontaminace pitné vody [9].

E. coli se podílí na tvorbě některých vitaminů, především vitaminu K a dále pak znemožňuje průnik patogenů. V zažívacím traktu se některé kmeny *E. coli* mohou uplatňovat jako podmíněně patogenní bakterie a mohou vyvolávat chorobné stavy. Mimo střevo je *E. coli* téměř vždy patogenní [5, 24].

Po stránce morfologické se *E. coli* významněji neodlišuje od ostatních enterobakterií. Je pohyblivá, kultivovatelná na široké škále půd, přičemž za ideálních podmínek dosahuje její generační doba 20 minut [5].

E. coli je pyogenní bakterie. V trávicím traktu se určité kmeny uplatňují jako patogeny různými mechanismy, podle kterých se skupiny těchto tzv. enteropatogenních kmenů *E. coli* označují následovně:

1. ETEC – enterotoxigenní *E. coli* jsou nejčastějším původcem průjmových infekcí v rozvojových zemích [24]. ETEC kmeny mohou produkovat 2 typy enterotoxinů, a to termolabilní enterotoxin (TL) a termostabilní enterotoxin (TS). Genetická informace pro tvorbu enterotoxinů je vázaná na plasmidech [5].

2. EPEC – enteropatogenní *E. coli* disponují faktory virulence, které ne zcela jasným způsobem vedou ke vzniku novorozeneckých průjmů [5]. U starších dětí a dospělých onemocnění nevyvolávají. Bylo prokázáno, že schopnost vyvolat tyto novorozenecké průjmy je vázána pouze na některé sérotypy, které kolonizují tenké a tlusté střevo. U EPEC kmenů nebyla prokázána tvorba enterotoxinů [9].

3. EIEC – enteroinvazivní *E. coli* přilne na sliznici vnější membrány, proniká do buněk a zde se pomnožuje, u postižených vyvolávají dysenterický syndrom. Charakteristickým nálezem je stolice s příměsí krve a hlenu [27].

4. EHEC – enterohemoragické *E. coli* mají podobný způsob adheze jako kmeny enteropatogenní, avšak vážou se především v tlustém střevě. Kmeny EHEC způsobují tzv. hemoragickou kolitidu s krvácením. Onemocnění se vyskytuje v dětském věku a jeho průběh je většinou závažný. Hlavním faktorem příčiny vzniku onemocnění je produkce tzv. verotoxinu nebo shigatoxinu [24].



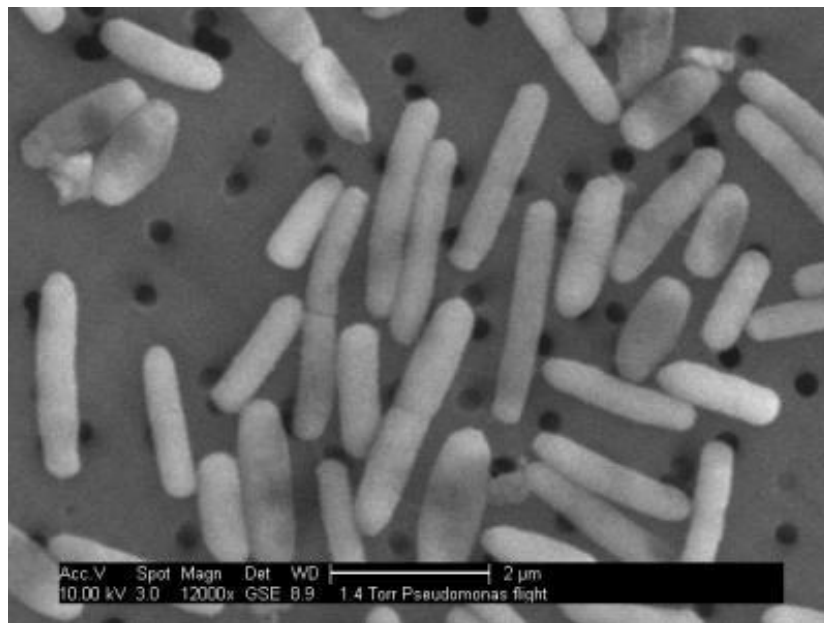
Obr. 12 *E. coli* [28]

2.4 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa (obr. 13) je z hlediska morfologie gramnegativní striktně aerobní rovná tyčinka. Vyskytuje se hojně v odpadních vodách, v půdě, ve stolici domácích zvířat [9]. *Pseudomonas aeruginosa* je relativně rezistentní k fyzikálním a chemickým vlivům, roste při teplotě 42 °C, přežívá v roztocích s nedostatečnou koncentrací dezinfekční látky i v roztocích s vyšší koncentrací solí [27]. Ve velkém množství může zamořovat nemocniční

prostředí, kde kontaminuje katetry, infuzní roztoky, dýchací přístroje a náleží tak k obávaným původcům nosokomiálních nákaz. Patogenita je dána strukturami vázanými na bakteriální buňku i tvorbou různých exolátů. U osob s porušenou imunitou, těžkým primárním onemocněním, popáleninami a lidí užívající širokospektrá antibiotika může zapříčinit rozvoj infekce orgánů či systému těla [5].

Terapie u pseudomonádových infekcí bývá často svízelná. *P. aeruginosa* je schopna přejímat geny kódující mnohočetnou rezistenci k antimikrobiálním látkám a předávat je dalším kmenům, což vede k šíření polyrezistentních kmenů [5].



Obr. 13 *Pseudomonas aeruginosa* [29]

2.5 *Candida albicans*

Kandidy jsou řazeny k dimorfním houbám [9]. Říše hub zahrnuje eukaryotní organismy, především saprofytické, případně parazitické. Většina hub má v buněčné stěně chitin, některé chitosan nebo manany. Další vlastností mikromycet je přítomnost steroidních látek v cytoplasmatické membráně [5].

Mikroskopický vzhled *C. albicans* závisí na charakteru prostředí. Je schopna tvořit blastokonidie, hyfy, pseudohyfy, chlamydokonidie a zárodečné klíčky (obr. 13). Blastokonidie jsou oválné či kulaté buňky, velikosti 3 – 5 μm . Pseudohyfa je tvořena pučícími buňkami, které se v jednom směru protahují a zůstávají spojeny. Chlamydokonidie jsou kulaté,

v nativním preparátu silně světlolomné útvary. Zárodečné klíčky se pozorují v prvních hodinách kultivace, jsou to tenké trubičkové útvary pučící z blastokonidií v místě, kde opouštějí mateřskou buňku [5].



Obr. 14 *Candida albicans* [30]

U člověka se *C. albicans* vyskytuje na kůži, v dutině ústní, ve vaginálních sekretech, v moči, stolici apod. *C. albicans* je původcem kandidóz. Nebezpečná je ve vodách bazénů. Na agaru tvoří bílé nebo nepatrně krémové kolonie, hladké a lesklé. Někdy se však mohou objevit kolonie nepravidelně zvrásněné a matné. Okraj kolonií je kruhovitý, celistvý [24].

3 ANTIBIOTICKÁ REZISTENCE U VYBRANÝCH BAKTERIÍ

Účinnost antibiotik může být vážně ohrožena narůstající bakteriální rezistencí. Rezistence na antibiotika představuje celosvětovou hrozbu pro zdravotní stav populace. Globálně narůstá rezistence významných bakteriálních patogenů k antibiotikům první volby i k lékům rezervním. Nekontrolovatelně se rozšiřují multirezistentní kmeny patogenních bakterií (MDR), které mohou vést ke vzniku obtížně léčitelných infekcí a prokazatelně tak mohou souviset s nárůstem morbidit a mortality. Ztráta účinnosti k antibiotikům ohrožuje další rozvoj moderní, technologicky orientované medicíny [31]. Výskyt antibiotické rezistence zůstával dlouho omezený na některá specializovaná nemocniční oddělení s vysokou spotřebou antibiotik. Výskyt antibiotické rezistence trvale narůstá u původců invazivních infekcí. V průběhu 80. let došlo k rychlému nárůstu rezistence u běžných bakteriálních patogenů. V 90. letech se situace v některých zemích stává kritickou a neexistují oblasti, v nichž by rezistence na antibiotika nepředstavovala reálnou hrozbu. V populaci jsou rezistencí zasaženi především bakteriální původci respiračních infekcí. Největší hrozbu představují pandemicky se rozšiřující pneumokoky rezistentní k penicilinu. Pandemicky se rozšiřující antibiotickou rezistencí lze ovlivnit intervencí zaměřenou na střídání používání antibiotik a důsledným zhodnocením infekcí. Rezistence narůstá u bakteriálních původců střevních infekcí, a to zejména u rodu *Salmonella*. Mimořádné nebezpečí představují také multirezistentní původci tuberkulózy. V nemocničním prostředí jsou nejvýznamnější rezistentní kmeny zejména meticilin rezistentní kmeny *Staphylococcus aureus* (MRSA), enterokoky a stafylokoky rezistentní ke glykopeptidům a multirezistentní G- tyčinky [31]. Vzestup antibiotické rezistence je vyvolán zvýšenou spotřebou ATB a zejména jejich zbytečným, nevhodným a neoprávněným užíváním.

Dle výsledků studií zaměřenou na praxi v předepisování ATB tvoří nevhodná preskripce až 80 %. Nevhodné používání ATB se postupně rozšířilo do oblastí léčby banálních infekcí i přesto, že ovlivnění jejich klinického průběhu antibiotickou léčbou je prokazatelně minimální nebo žádné. Ovlivňování vzniku a šíření antibiotické rezistence může být účinné pouze za předpokladu, má-li charakter preventivních opatření a efektivně snižuje potenciální rizika, jež jsou identifikována v systému surveillance. Bude-li nekontrolovatelně šířena antibiotická rezistence, je její ovlivnění intervenčními opatřeními nesnadné a v některých případech dokonce nemožné [31].

3.1 MRSA – meticilin rezistentní *Staphylococcus aureus*

Poprvé byl výskyt MRSA pozorován ve Velké Británii u hospitalizovaných pacientů. Jednalo se o kmen rezistentní k penicilinu, se sníženou citlivostí k semisyntetickým β -laktamovým ATB. Tyto bakteriální kmeny se globálně rozšířily zejména v 80. a 90. letech a jejich epidemiologický význam stále vzrůstá. V České republice jsou MRSA evidovány od roku 2001, kdy jich bylo hlášeno 6 %, v roce 2005 to bylo více než dvojnásobek. Kmeny MRSA způsobují ve zdravotnických zařízeních závažné problémy, často vykazují vícečetnou rezistenci k celé řadě antimikrobiálních látek a tím značně komplikují případnou léčbu pacientů. Počátkem 90. let byl poprvé popsán výskyt MRSA i mimo nemocniční zařízení v běžné populaci lidí [32].

Výskyt infekcí vyvolaných kmeny MRSA bývá nejčastěji pozorován v nemocničních zařízeních, kde dochází jak ke sporadickým výskytům MRSA infekcí, tak i k výskytu epidemickému. Epidemický výskyt se projevuje zvýšenou přítomností MRSA infekcí, než je v daném zdravotnickém zařízení nebo jeho části obvyklé. Mezi rizikové faktory řadíme především nemocniční oddělení s těžce postiženými pacienty, jako jsou jednotky intenzivní péče, popáleninová a transplantační oddělení, neurochirurgie, kardiovaskulární chirurgie atd. Specifické riziko hrozí pacientům v zařízeních pro léčbu dlouhodobě nemocných [33].

MRSA kmeny bakterií jsou jednou z nejčastějších příčin vzniku antibiotické rezistence a léčba těchto onemocnění je značně obtížná. V dnešní době začínají být kmeny MRSA sledovány také ve veterinárním lékařství, a to především u zvířat, která jsou určena k produkci potravin. Bylo dokázáno, že infikovaná nebo kolonizovaná zvířata se mohou snadno prosazovat při šíření těchto kmenů nejen na chovatele, ale i na potravinové suroviny [32]. Na základě epidemiologických a genetických charakteristik se MRSA kmeny rozdělují na nemocniční (hospital-acquired, HA-MRSA) a komunitní (community-associated, CA-MRSA). Zástupci obou skupin se od sebe liší především třemi znaky: genetickým původem, umístěním a velikostí chromosomální kazety (SCCmec) a v neposlední řadě přítomností genu *pvl* kódujícího tvorbu Panton-Valentinova leukocidinu (PVL). PVL je cytotoxin způsobující lyzi leukocytů, což vede k neschopnosti fagocytózy u pacientů se stafylokokovou infekcí [34]. Pro HA-MRSA je charakteristická přítomnost větších chromosomálních kazet SCCmec typu I, II nebo III. CA-MRSA nesou menší chromosomální kazety typu IV a V [32].

Kmeny CA-MRSA produkující *pvl* jsou všeobecně citlivější k antimikrobiálním látkám a jsou spojovány s povrchovými kožními infekcemi a infekcemi měkkých tkání. Byly však pozorovány případy úmrtí dětí s nekrotizující pneumonií vyvolanou kmeny CA-MRSA nesoucími gen *pvl*. Někteří autoři popisují, že u CA-MRSA dochází k častější k produkci PVL a exfoliativních toxinů, naopak u HA-MRSA bývá popisována spíše produkce enterotoxinů a syndromu toxického šoku [32].

3.2 VRE patogeny – enterokoky rezistentní na vankomycin

Enterokoky jsou grampozitivní bakterie, které se běžně vyskytují jako součást přirozené mikroflóry trávicího traktu člověka. Jsou značně odolné vůči zevnímu prostředí a přirozeně rezistentní k mnoha antimikrobiálním látkám i dezinfekčním prostředkům. Enterokoky rezistentní na vankomycin (VRE) byly poprvé zaznamenány v roce 1986 na hematologických odděleních, později i na odděleních s intenzivní péčí. Tento výskyt VRE je přisuzován nadměrné aplikaci vankomycinu a mnoha širokospektrých antimikrobiálních látek, kterým jsou enterokoky přirozeně rezistentní [35]. Tato ATB poruší přirozenou střevní mikroflóru a následně dochází k pomnožení VRE kmenů, jež kolonizují střevo pouze za normálních podmínek. V posledních letech jsou stále častěji identifikovány infekce vyvolávané VRE – jejichž léčba může být značně obtížná [36]. K exogennímu šíření VRE dochází kontaminovanými předměty, případně rukama zdravotnického personálu [37].

VRE patogeny se uplatňují jednak jako vyvolávající agens komunitních infekcí, ale sehrávají též významnou úlohu v etiologii nozokomiálních nákaz. Převážná část enterokokových infekcí je způsobena *Enterococcus faecalis*, jež vykazují dobrou citlivost k aminopenicilinům. V případě nálezu *E. faecalis* v biologickém materiálu a následném zjištění jeho rezistence na aminopenicilin je nutno v terapii využívat stále častěji semisynтетické glykopeptidy – především vankomycin [36].

V Evropě byly VRE izolovány ze stolice zdravých jedinců i zvířat, což mohlo být zapříčiněno dřívější masivní aplikací glykopeptidu avoparcinu jako přípravku podporující růst hospodářských zvířat. První záchyt VRE v České republice byl pozorován roku 1997 na klinice Fakultní nemocnice Olomouc (FNO). V následujících letech došlo k výskytu VRE i v jiných nemocničních zařízeních [38].

V současné době bylo zjištěno 5 fenotypů enterokoků rezistentních k vankomycinu (fenotypy A, B, C, D, E). Fenotyp A je podmíněn výskytem genu *vanA*, který se nachází na

transposomu nebo jiných pohyblivých elementech. Transposom se může šířit mezi jednotlivými kmeny enterokoků, případně z enterokoků na stafylokoky začleněním do konjugativních plasmidů. Je známo, že geneticky determinující fenotyp *vanB* se může taktéž vyskytovat na transposomech a může tak opět docházet k přenosu mezi různými enterokoky. Výskyt fenotypu *vanC* je podmíněn přítomností genu *vanC*. Zbylé typy fenotypů jsou konstitutivní a tedy nepřenosné [38].

Dle výsledků klinických materiálů pacientů FNO v období 1997 – 2002 byl v roce 1997 registrován náhodný záchyt VRE. Aktivní detekce VRE byla realizována až od roku 1998 - a to pravidelným bakteriologickým monitorováním pacientů hematologického oddělení FNO. Získané kmeny byly identifikovány na základě charakteristických růstových a biochemických vlastností.

Na základě získaných výsledků lze předpokládat snížený výskyt sledovaných kmenů v období 1997 – 2001 a následným vzestupem v roce 2002 [38].

Nejčastěji byl deklarován výskyt *E. faecium* genotypu *vanA* (78 %) s přirozenou rezistencí k aminopenicilinům a vysokou rezistencí k vankomycinu i teikoplaninu. Výbornou účinnost *in vitro* vykazoval také chloramfenikol. K tetracyklinu byla rezistentní alespoň polovina zkoumaných VRE kmenů, avšak díky svému bakteriostatickému efektu není toto ATB vhodné pro následnou terapii [38].

Citlivost těchto kmenů byla zaznamenána při použití vysokých koncentrací aminoglykosidů gentamycinu a streptomycinu. Jako slibné antibiotikum se jevil linezolid s minimálním výskytem rezistence a quinupristin/dalfopristin se 100 % účinností *in vitro* [38].

Kmeny *E. faecalis* *vanA* i *vanB*, zachycené ve zkoumaném vzorku s četností 5, resp. 10 %, měly zachovanou 100% citlivost k aminopenicilinům, které tedy představují lék první volby [38].

3.3 Antibiotická rezistence zachycená u *acne vulgaris*

Soubor 51 pacientů (Klinika chorob kožních a pohlavních, LF UP a FN Olomouc) s těžšími formami *acne vulgaris* byl podroben opakovanému klinickému i laboratornímu vyšetření na přítomnost patogenů v přesně definovaných intervalech. Podle typu aplikované terapie byli pacienti rozděleni do dvou skupin, jedna skupina byla léčena systémovými tetracyklinovými ATB, druhá perorální celobuněčnou vakcínou [39].

Na základě výsledků kultivačních vyšetření hnisu z aknézních eflorescencí nebyl zachycen významný rozdíl mezi oběma skupinami léčených. Nejčastěji byly zaznamenány koagula-sa-negativní stafylokoky (KNS, 91 %) a propionibakterie (78 %). Z nich pak byly většinou vykultivovány druhy *Staphylococcus epidermidis* (80 %) a *Propionibacterium acnes* (92 %) [39].

U všech izolátů byla provedena druhová identifikace a stanovení antibiogramu. Rezistence k ATB se vyskytla především u KNS a to především k erytromycinu, klindamycinu, penicilinu a tetracyklinu. *Staphylococcus aureus* byl zachycen pouze ve 13 případech, přičemž nebyla zaznamenána rezistence k oxacilinu. Z propionibakterií byla převážná část rezistentní k metronidazolu. V průběhu antibioterapie byl objeven statisticky významný nárůst rezistence KNS k tetracyklinu a klindamycinu [39].

3.4 Rezistence kmenů *E. coli*

Jedním z hlavních původců akutních infekcí močových cest v dětské i dospělé populaci mohou být kmeny *Escherichia coli*, které jsou příčinou více než 80 % akutních nekomplikovaných infekcí. Uroinfekce se vyskytují zhruba u 5 % dětské populace, a to nejčastěji v prvním roce života. V rozmezí od 3 do 10 let jsou močové infekce velkým rizikem pro vyvíjející se ledviny a je tedy vyžadována patřičná pozornost při jejich léčbě. V dospělosti se uroinfekce vyskytují častěji u žen. V graviditě přinášejí mnoho komplikací, přičemž neléčené formy těchto infekcí mohou vést k potratům, nižší porodní váze novorozence, popřípadě častějšímu výskytu uroinfekcí u dítěte [40].

Citlivost kmenů *E. coli* izolovaných u akutních nekomplikovaných infekcí močových cest byla zhodnocena v období listopad 2000 až červen 2001. Kmeny byly izolovány ve středním proudu necévkované moči u pacientů vyšetřovaných na území města Ostravy. Citlivost byla provedena diskovým difúzním testem dle doporučení národní referenční laboratoře (NRL) pro ATB: ampicilin, ampicilin/sulbaktam, cefalotin, ko-trimoxazol, trimetoprim, nitro-furantoin, kyselina oxolinová [40].

Celkem bylo vyšetřeno 397 kmenů *E. coli*, což představovalo 81 % všech izolovaných G-tyčinek. *Klebsiella pneumoniae* byla zjištěna v 10 % a záchyt ostatních patogenů se pohyboval v rozmezí 1-4 % [40].

Z výsledků studií vyplynulo, že byl zjištěn výskyt rezistence k ampicilinu. Oproti tomu cefalosporiny 1. generace vykazovaly dobrou účinnost v léčbě uroinfekcí. Kotrimoxazol a

trimetoprim byly často používány k léčbě akutních močových infekcí a jejich poměrně vysoká preskripce se projevila vyšší rezistencí, která byla přibližně na úrovni do 20 %. Citlivost si stále zachovává nitrofurantoin. Citlivost stanovená pro kyselinu oxolinovou platí rovněž pro norfloxacin. Tato chinolonová uroantiseptika vykazovala taktéž dobrou citlivost. Výraznější rozdíly v citlivosti kmenů *E. coli* izolovaných u dětí a dospělých byly nalezeny pouze u ampicilinu [40]. Podrobné výsledky jsou uvedeny v tabulce 1.

Tab. 1 Záchyt rezistence u kmenů *E.coli* v % [40]

Antibiotikum	Výskyt v populaci		
	Děti a dorost	Dospělí	Rezistentní kmeny
Ampicilin	32	56	42
Ampicilin/sulbaktam	2	4	3
Cefalosporiny 1. generace	8	8	8
Ko-trimoxazol	12	19	15
Trimetoprim 1	16	22	19
Nitro-furantoin	0,4	1,8	1
Kyselina oxolinová	0	5	2
Počet kmenů	237	160	397

3.5 Rezistence *Pseudomonas aeruginosa* na antibiotika

Pseudomonas aeruginosa je jedním z nejčastějších gramnegativních mikroorganismů, který je vykultivován u hospitalizovaných pacientů. Velmi často bývá spojován i s patogenními nálezy na kůži, sliznicích a souvisejících oblastech [41]. Tento patogen vyžaduje minimální nutriční podmínky pro růst a množení. *P. aeruginosa* je odolný a nebezpečný mikroorganismus způsobující 10 % všech nemocničních získaných infekcí [42]. V Bangladéši je na 3. místě a způsobuje široké spektrum infekcí [43]. V poslední době tato bakterie vykazuje stále častější rezistenci k antimikrobiálním látkám. S rozšiřujícím se použitím chinolinů, roste i rapidně rezistence na tuto patogenní bakterii. Za určité období byl pozorován vysoký nárůst *P. aeruginosa* v různých klinicky testovaných izolátech [44, 45]. Byla tedy provedena retrospektivní studie.

Klinické vzorky byly odebrány od hospitalizovaných pacientů Dhaka Medical College (DMC). Klinické vzorky byly odebrány z různých geografických oblastí těla a byly identi-

fikovány kultivací dle morfologie kolonie, mikroskopického vyšetření a příslušných biochemických testů. Antibiotická citlivost byla provedena difuzní diskovou metodou na různé druhy antibiotik [46].

Asi 95 % z celkového počtu vzorků byly kmeny *P. aeruginosa* izolovány z rány, moče, hnisu a ucha. Z toho téměř polovina (44 %) z ran, z toho 24 % bylo z chirurgie a traumatologie, 10 % z oddělení popálenin, a zbytek z jiných nemocničních oddělení [46].

Celkem bylo vyizolováno 209 kmenů *P. aeruginosa*, téměř všechny vyizolované kmeny (až 100 %) byly rezistentní k ciprofloxacinu, ceftazidimu, ceftriaxonu, cefiximu a amikacinu [46].

Odolnost k antimikrobiálním látkám *P. aeruginosa* se lišila dle druhu zkoušeného klinického vzorku. Organismy izolované z ran a hnisu byly odolnější vůči azitromycinu (100%), cefiximu (93,3 %), ceftazidimu (86,8 %), ceftriaxonu (86,1 %) a ciprofloxacinu (75,5 %). Nejnižší rezistence byla zjištěna u imipenemu (3,1 %). Mezi organismy izolované z dýchacích cest a z ucha byly značné rozdíly v rezistenci na testovaná antibiotika. Všechny vyizolované kmeny z průdušnice (100 %) byly rezistentní na ciprofloxacin, ceftazidim, ceftriaxon, cefixim a amikacin, u ostatních izolátů z horních cest dýchacích a ucha byla míra rezistence na testovaná antibiotika výrazně nižší, a to 9,7 % pro amikacin a 13,3 % pro ciprofloxacin. Účinnost kotrimoxazolu se pohybovala od 33 % do 94 % dle druhu klinického vzorku (tabulka 2) [46].

Tab. 2 Rezistence (%) *P. aeruginosa* z různých klinických vzorků [46]

Antibiotikum	Stěr rány	Moč	Ucho	Trachea	Hlen	ostatní
	129*	86*	31*	5*	3*	7*
Imipenem	3,1	9,5	N	0	0	0
Ciprofloxacin	75,5	72,2	13,3	100	0	33,3
Nalidixová k.	66,7	82,6	100	N	N	100
Ceftazidim	86,8	71,2	48,3	100	50	66,7
Doxycyklin	76,7	64,9	83,3	60	33,3	66,7
Gentamycin	71,3	77,3	63,5	48,0	80	33,3
Ceftriaxon	86,1	68,8	51,7	100	66,6	66,7
Cefixim	93,3	62,7	86,2	100	66,6	50
Ofloxacin	79,2	76,9	N	75	0	0
Amikacin	22,7	22,6	9,7	100	0	0
Azithromycin	100	100	N	N	N	100
Cotrimoxazol	93,5	86,5	85,2	80,0	33,3	66,6

* Počet testovaných *P. aeruginosa* zachycených z různých klinických izolátů

N...neprověřeno

ZÁVĚR

Předložená bakalářská práce shrnuje základní charakteristiky a rozdělení antibiotik, jejich mechanismus účinku a rezistenci na vybrané bakteriální kmeny.

Celosvětově se rozšiřující antibiotická rezistence představuje vážnou hrozbu. Nekontrolovatelně se rozšiřují multirezistentní kmeny patogenních bakterií, které mohou vést ke vzniku vážných bakteriálních infekcí. Největší hrozbu představují pandemicky se rozšiřující pneumokoky rezistentní k penicilinu.

Rezistence narůstá u bakteriálních původců střevních infekcí, a to zejména u rodu *Salmonella*. Mimořádné nebezpečí představují také multirezistentní původci tuberkulózy. V nemocničním prostředí jsou nejvýznamnější rezistentní kmeny zejména meticilin rezistentní kmeny *Staphylococcus aureus*, enterokoky a stafylokoky rezistentní ke glykopeptidům a multirezistentní gramnegativní tyčinky. Vzestup antibiotické rezistence je vyvolán zvýšenou spotřebou antibiotik a také nedostatky v oblasti prevence a kontroly infekcí usnadňující šíření rezistentních mikrobů ve zdravotnických zařízeních i v běžné populaci.

Ovlivňování vzniku a šíření antibiotické rezistence může být účinné pouze za předpokladu, má-li charakter preventivních opatření a efektivně snižuje potenciální rizika, jež jsou identifikována v systému surveillance. Bude-li nekontrolovatelně šířena antibiotická rezistence, je její ovlivnění intervenčními opatřeními nesnadné a v některých případech dokonce nemožné.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] STONE, T., DARLINGTONOVÁ, G. *Léky, drogy, jedy*. Praha: Academia, 2003. ISBN 80-200-1065-3.
- [2] *Girolamo Fracastoro and the invention of syphilis* [online]. [cit. 01-01-2012].
Dostupný z WWW:
http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010459702010000400002&script=sci_arttext&tlng=en
- [3] LEVY, B. *Antibiotický paradox*. Praha: Academia, 2007. ISBN 9788020014856.
- [4] Kolektiv autorů. *The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1945* [online]. [cit. 01-01-2012]. Dostupný z WWW: http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1945/
- [5] VOTAVA, M. *Lékařská mikrobiologie obecná*. Brno: NEPTUN, 2005. ISBN 8086850005.
- [6] MAREK, J., et al. *Farmakoterapie vnitřních nemocí*. Praha: GRADA Publishing, 2005. ISBN 8024708396.
- [7] MASÁK, J., PELECHOVÁ, J., PLACHÝ, J. *Speciální mikrobiální technologie*. Praha: VŠCHT, 1992. ISBN 8070801425.
- [8] ČERVINKA, O., BLÁHA, K., DĚDEK, V. *Chemie organických sloučenin: díl druhý*. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1987.
- [9] BEDNÁŘ, M, et al. *Lékařská mikrobiologie*. Praha: Marvil, 1996.
- [10] LULMANN, H., MOHR, K., WEHLING, M. *Farmakologie a toxikologie*. Praha: GRADA Publishing, 2004. ISBN 8024708361.
- [11] ČECHOVÁ, L., JANALÍKOVÁ, M. *Obecná mikrobiologie*. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2007. ISBN 9788073185169
- [12] LINCOVÁ, D., FARGHALI, H., et al. *Základní a aplikovaná farmakologie*. Praha: GALÉN, 2007. ISBN 9788072623730
- [13] ŠÍCHO, V., VODRÁŽKA, Z., KRÁLOVÁ, B. *Potravinářská biochemie*. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1981.
- [14] FERENČÍK, M. *Biochémiá*. Bratislava: Slovak Academic Press, 2000. ISBN 8088908582
- [15] VODRÁŽKA, Z. *Biochemie*. 2. vydání. Praha: Akademie, 1996. ISBN 8020006001
- [16] MODR, Z. *Antibiotika a chemoterapeutika, stručný přehled pro praxi*. 1. vydání. Praha: Lek pharma, 1995.

[17] KLOUDA, P. *Základy biochemie*. 1. vydání. Ostrava: Pavel Klouda, 2000. ISBN 8086369005.

[18] *Antibiotika* [online]. [cit. 08-02-2012].

Dostupný z WWW: www.lfhk.cuni.cz/klinmikrob/ppt/atb_skupiny.ppt

[19] *Antimikrobiální látky* [online]. [cit. 08-02-2012]. Dostupný z WWW: <http://mikrobiologie.unas.cz/soubory/atb.pdf>

[20] *Průkaz beta-laktamas širokého spektra (ESBL) a typu AmpC u enterobakterií*

[online]. [cit. 6-03-2012]. Dostupný z WWW:

<http://www.szu.cz/prukaz-beta-laktamaz-sirokeho-spektra-esbl-a-typu-ampc-u>

[21] *Stanovení citlivosti na antibiotika* [online]. [cit. 23-02-2012]. Dostupný z WWW:

<http://www.lf2.cuni.cz/info2lf/ustavy/ulm/praktika.htm>

[22] *E-test* [online]. [cit. 27-02-2012]. Dostupný z WWW:

<http://www.uniklinik-ulm.de/struktur/institute/medizinische-mikrobiologie-und-hygiene/home/diagnostik/leistungen/empfindlichkeitspruefung/verfahren.html>

[23] *Atc Antiinfektiva* [online]. [cit. 27-02-2012]. Dostupný z WWW:

http://www.szsmc.cz/admin/upload/sekce_materialy/ATC_Antiinfektiva.pdf

[24] KLABAN, V. *Svět mikrobů*. 2. Vydání. Hradec Králové: GAUDEAMUS, 2001. ISBN 8070416874

[25] *Propionibacterium acnes* [online]. [cit. 06-03-2012]. Dostupný z WWW:

http://www.visualphotos.com/image/1x3745937/propionibacterium_acnes_color_enhancement_of

[26] *Staphylococcus Aureus: Horizontal Gene Transfer Scaring Antibiotics* [online]. [cit.

06-03-2012]. Dostupný z WWW:

<http://triplehelixblog.com/2011/10/staphylococcus-aureus-horizontal-gene-transfer-scaring-antibiotics/>

[27] SCHINDLER, J. *Mikrobiologie*. 1. Vydání. Praha: Grada Publishing, 2010. ISBN

9788024731704

[28] *E.coli* [online]. [cit. 06-03-2012]. Dostupný z WWW:

http://bioweb.uwlax.edu/bio203/s2008/moder_just/

[29] *Spacebound bacteria inspire earthbound remedies* [online]. [cit. 06-03-2012]. Do-

stupný z WWW:

http://www.sciencecodex.com/spacebound_bacteria_inspire_earthbound_remedies

- [30] *Candida albicans* [online]. [cit. 06-03-2012]. Dostupný z WWW:
<http://www.doctorfungus.org/thefungi/img/candida.jpg>
- [31] *Národní program antibiotické politiky* [online]. [cit. 04-03-2012] Dostupný z WWW:
www.nemocnicepribram.cz/pdf/NAPAP_VR.pdf
- [32] *Nálezy meticilin rezistentních Staphylococcus aureus u zvířat* [online]. [cit. 04-03-2012] Dostupný z WWW:
http://www.vetweb.cz/Nalezny-meticilin-rezistentnich-Staphylococcus-aureus-u-zvirat__s1496x53933.html
- [33] *MRSA – Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* [online]. [cit. 4-03-2012] Dostupný z WWW:
<https://socv2.nidm.cz/archiv31/getWork/hash/52842bd4-7366-102c-aea7001e6886262a>
- [34] *Daší smrtelný případ pneumonie vyvolaný kmenem Staphylococcus aureus s produkcí Pantonova-Valentinova leukocidinu* [online]. [cit. 6-04-2012] Dostupný z WWW:
http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/Zpravy_EM/18_2009/1_leden/15_Staphylococcus_PVL.pdf
- [35] LECRELCG, R., DERLOT, E., DUVAL, J., COURVALIN, P. *Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in Enterococcus faecium*. N Engl J Med 1988
- [36] GRŮNEBERG, RN. *Changes in urinary pathogens and their antibiotic sensitivities*. 1971- 1992. J Antimicrob Chemother 1994; 33 (Suppl A): 1–8.
- [37] DE PAUW, B.E. *The sequence of infective event in prolonged neutropenia*. In Klas-tersky JA. Febrile neutropenia. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg 1997
- [38] *Možnosti terapie infekcí způsobených vankomycin-rezistentními enterokoky* [online]. [cit. 4-03-2012] Dostupný z WWW:
<http://www.klinickafarmakologie.cz/pdfs/far/2003/03/09.pdf>
- [39] *Uplatnění a využití propionibakterií a stafylokoků u acne vulgaris* [online]. [cit. 17-03-2012] Dostupný z WWW:
<http://www.dermatologiepropraxi.cz/pdfs/der/2008/02/16.pdf>
- [40] *Sledování citlivosti u kmenů E.coli pro léčbu akutních infekcí močových cest* [online]. [cit. 17-03-2012] Dostupný z WWW:
<http://www.internimedica.cz/pdfs/int/2001/10/11.pdf>

- [41] GRETA, G., ALVYDAS, P., VIOLETA, K. *The peculiarities of P. aeruginosa resistance to antibiotik and prevalence of serogroups*. Medicina (Kaunas) 2007
- [42] ALTOPARK, U., EROLS, S., AKCAY, MN., CELEBI, F., KANDALI, A. *Time related changes of antimicrobial resistance patterns and predominant bacterial profiles of burn wounds and body flora of burned patients*. Burns 2004
- [43] KAWSER, NM., KHAN, NK., RAHMAN, ASM., MONDOL, EA. *A study on nosocomial infections and antibiotic resistance pattern of the isolates in ICU patients*. BAFMJ 2002
- [44] COLLEE, JK., MILES, RS. *Tests for identification of bacteria*. In: Collee JG, Duguid JP, Faser AK, Mermoin BP, eds. Mackie & MacCartney practical Medical Microbiology, 13th ed. New York; USA: Churchill Livingstone; 1989
- [45] WADUD, A., RAHMAN, M., WASEY, AFSA. *Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa strains isolated from various clinical specimens*. AFMJ 2004
- [46] *Infections by Pseudomonas aeruginosa and Antibiotic Resistance Pattern of the Isolates from Dhaka Medical College Hospital* [online]. [cit. 11-04-2012]. Dostupný z WWW: http://www.bjmm.org.bd/volumn1_number2_july2007/Infection%20by%20Pseudomonas%20aeruginosa%20and.pdf

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

NC	Nobelova cena
ATB	Antibiotikum
MIC	Minimální inhibiční koncentrace
MBC	Minimální baktericidní koncentrace
G+	Grampozitivní
G-	Gramnegativní
PBP	<i>Penicillin-binding proteins</i> , Penicilin vázající protein
GIT	Gastrointestinální trakt
AMK	Aminokyselina
MH	Müller - Hinton agar
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
TL	Termolabilní enterotoxin
TS	Termostabilní enterotoxin
MDR	Multirezistentní kmeny patogenní bakterií
MRSA	Meticilin rezistentní kmeny <i>Staphylococcus aureus</i>
HA-MRSA	Nemocniční - meticilin rezistentní kmeny <i>Staphylococcus aureus</i>
CA-MRSA	Komunitní - meticilin rezistentní kmeny <i>Staphylococcus aureus</i>
PVL	Panton-Valentinův leukocidin
VRE	Enterokoky rezistentní na vankomyci
FNO	Fakultní nemocnice Olomouc
KNS	Koagulasa-negativní stafylokok
NRL	Národní referenční laboratoř
DMC	Dhaka Medical College

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1 Zleva Sir Alexander Fleming, Ernest Boris Chain a Sir Howard Walter Florey [4]</i>	14
<i>Obr. 2 Struktura některých penicilinů [15]</i>	22
<i>Obr. 3 Struktura cefalosporinu [14]</i>	23
<i>Obr. 4 Základní struktura tetracyklinů [16]</i>	24
<i>Obr. 5 Struktura streptomycinu [17]</i>	25
<i>Obr. 6 Struktura erytromycinu [17]</i>	26
<i>Obr. 7 Struktura chloramfenikolu [16]</i>	28
<i>Obr. 8 Diskový difúzní test - citlivost Staphylococcus aureus [20]</i>	29
<i>Obr. 9 E-test – kapkový tvar inhibiční zóny [22]</i>	31
<i>Obr. 10 Propionibacterium acnes [25]</i>	33
<i>Obr. 11 Staphylococcus aureus charakteristické uspořádání</i>	34
<i>Obr. 12 E. coli [28]</i>	36
<i>Obr. 13 Pseudomonas aeruginosa [29]</i>	37
<i>Obr. 14 Candida albicans [30]</i>	38

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1 Záchyt rezistence u kmenů E.coli v % [40]</i>	<i>44</i>
<i>Tab. 2 Rezistence (%) P. aeruginosa z různých klinických vzorků [46].....</i>	<i>46</i>