

UNIVERZITA KARLOVA  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ  
KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD



**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

# ***Streptococcus agalactiae***

**REZISTENCE K ANTIBIOTIKŮM**

**ANDREA DVOŘÁKOVÁ**

**Vedoucí bakalářské práce: PharmDr. Barbora Voxová**

**HRADEC KRÁLOVÉ, 2021**

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové dne: .....

.....

Andrea Dvořáková

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala paní PharmDr. Barboře Voxové za vedení práce, veškerý věnovaný čas a odborné rady při zhotovení mé bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině za podporu a pomoc při studiu.

## ABSTRAKT

*Streptococcus agalactiae* je významným patogenem způsobující závažná onemocnění především u novorozenců. Cílem práce bylo zjistit, do jaké míry je tento mikrob rezistentní k ATB (erytromycinu, clindamycinu, chloramfenikolu, trimethoprimu + sulfonamidu, nitrofurantoinu, penicilinu, tetracyklinu, vankomycinu a linezolidu). A to nejprve v rámci celé sledované skupiny pacientů, následně u gravidních žen a ostatních pacientů. V závěru experimentální části práce výsledky u gravidních žen porovnat s výsledky ostatních testovaných jedinců.

V letech 2018-2019 bylo na ÚKM FNHK izolováno 1619 kmenů od 1295 pacientů. Citlivost k ATB byla stanovena u 1355 vzorků od 1105 pacientů. V rámci celé sledované skupiny pacientů byla zjištěna následující rezistence: k erytromycinu u 34,17 %, k chloramfenikolu u 2,36 %, ke clindamycinu u 31,96 %, k trimethoprimu + sulfonamidu u 3,99 %, k nitrofurantoinu u 1,11 %, k penicilinu u 0,22 %, k tetracyklinu u 73,28 %, k vankomycinu a linezolidu u 0,00 % izolátů. U gravidních žen byla zaznamenána následující rezistence: k erytromycinu u 26,36 %, k chloramfenikolu u 2,33 %, ke clindamycinu u 22,87 %, k trimethoprimu a sulfonamidu u 3,49 %, k nitrofurantoinu u 0,45 %, k penicilinu u 0,39 % a k tetracyklinu u 74,42 % izolátů. Při porovnání výsledků rezistence u gravidních žen s výsledky od ostatních testovaných pacientů byla u gravidních žen prokázána nižší rezistence *S. agalactiae* k erytromycinu, chloramfenikolu, clindamycinu, trimethoprimu + sulfonamidu a nitrofurantoinu a vyšší rezistence k penicilinu a tetracyklinu.

**Klíčová slova:** *Streptococcus agalactiae*, rezistence k antibiotikům, rektovaginální výtěr, předporodní screening

## ABSTRACT

*Streptococcus agalactiae* is an important pathogen causing very dangerous illnesses, especially in newborns. The aim of this work was to find out how resistant this microbe is to ATB (erythromycin, clindamycin, chloramphenicol, trimethoprim + sulfonamide, nitrofurantoin, penicillin, tetracycline, vancomycin and linezolid). At first testing was conducted on all watched group and subsequently on pregnant women and other patients. After the experimental stage, results from the pregnant women were compared with results from other tested group.

In years 2018-2019, 1619 strains from 1295 patients in ÚKM FNHK were isolated. Sensitivity to ATB was measured in 1355 samples from 1105 patients. Within the all watched group of patients, resistance to each ATB was detected as follows: erythromycin (37,17 %), chloramphenicol (2,36 %), clindamycin (31,96 %), trimethoprim + sulfonamide (3,99 %), nitrofurantoin (1,11 %), peniciline (0,22 %), tetracycline (73,28 %) and to vancomycin and linezolid (0,00 %) of isolates. The resistance in pregnant women was detected as follows: erythromycin (26,36 %), chloramphenicol (2,33 %), clindamycin (22,87 %), trimethoprim + sulfonamide (3,49 %), nitrofurantoin (0,45 %), peniciline (0,39 %) and to tetracycline (74,42 %) of isolates. After comparing results of resistance from pregnant women with results from other tested patients, *S. agalactiae* showed lower resistance to erythromycin, chloramphenicol, clindamycin, trimethoprim + sulfonamide and nitrofurantoin and higher resistance to penicillin and tetracycline in pregnant women.

**Keywords:** *Streptococcus agalactiae*, antibiotic resistance, rectovaginal swab, predelivery screening

# OBSAH

1.	ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE .....	8
2.	ÚVOD .....	9
3.	TEORETICKÁ ČÁST .....	10
3.1	Rod <i>Streptococcus</i> .....	10
3.1.1	Charakteristika a dělení .....	10
3.1.2	Identifikační testy u jednotlivých skupin .....	10
3.2	<i>Streptococcus agalactiae</i> .....	12
3.2.1	Taxonomie .....	12
3.2.2	Základní popis .....	12
3.2.3	Historie .....	13
3.2.4	Složení sérotypů a jejich patogenita .....	14
3.2.5	Laboratorní diagnostika .....	14
3.2.6	Stanovení citlivosti k ATB .....	16
3.3	Onemocnění způsobená GBS .....	21
3.3.1	Neonatální infekce .....	21
3.3.2	GBS screening u gravidních žen .....	22
3.3.3	Prevence onemocnění GBS .....	23
3.4	Antibiotika .....	24
3.4.1	Úvod a mechanismus účinku .....	24
3.4.2	Historie .....	26
3.4.3	ATB vhodná k léčbě streptokokových infekcí .....	27
3.5	Antibiotická rezistence .....	32
3.5.1	Typy rezistence .....	33
4.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	35
4.1	Charakteristika souboru .....	35
4.2	Rezistence <i>S. agalactiae</i> k jednotlivým ATB v celém souboru .....	39
4.2.1	Počet vzorků a pacientů testovaných na citlivost k ATB .....	39
4.2.2	Vyhodnocení rezistence .....	40

4.2.3	Vyhodnocení rezistence po odebrání duplicitních vyšetření .....	41
4.2.4	Porovnání výsledků rezistence před a po odebrání duplicitních dat .....	42
4.3	Rezistence <i>S. agalactiae</i> k jednotlivým ATB v souboru pacientek vyšetřovaných v souvislosti s graviditou (sk. A) .....	44
4.3.1	Základní informace.....	44
4.3.2	Rezistence k ATB .....	46
4.4	Rezistence <i>S. agalactiae</i> k jednotlivým ATB v souboru ostatních vyšetřovaných pacientů (sk. B) .....	47
4.5	Porovnání výsledků rezistence.....	48
4.5.1	Porovnání výsledků rezistence sk. A s výsledky sk. B .....	48
5.	DISKUSE .....	50
6.	ZÁVĚR .....	52
7.	POUŽITÉ ZKRATKY .....	54
8.	SEZNAM TABULEK .....	55
9.	SEZNAM OBRÁZKŮ .....	56
10.	SEZNAM GRAFŮ .....	57
11.	POUŽITÁ LITERATURA A INTERNETOVÉ ZDROJE.....	58

# 1. ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE

Cílem teoretické části práce je seznámit se s rodem *Streptococcus*, konkrétně s druhem *Streptococcus agalactiae*, jeho laboratorní diagnostikou, nemocemi, které způsobuje, a především s antibiotiky, která se používají pro jeho diagnostiku a léčbu.

Praktická část zahrnuje zpracování výsledků, které byly zadány do laboratorního informačního systému (LIS) ve FNHK Ústavem klinické mikrobiologie v letech 2018-2019. Cílem této části je zjistit, do jaké míry byl *S. agalactiae* rezistentní k testovaným antibiotikům, a v závěru porovnat výsledky rezistence s údaji z jiných zdrojů.



## 2. ÚVOD

*Streptococcus agalactiae* je fakultativně anaerobní gram pozitivní kok vytvářející řetízky. Při kultivaci na krevním agaru vytváří beta-hemolýzu. *S. agalactiae* je běžně součástí vaginální mikroflóry u fertálních žen, dále pak může být součástí gastrointestinálního a močového traktu u všech dospělých jedinců. Nejzávažnější zdravotní komplikace způsobuje především u novorozenců, kde je původcem neonatální infekce. Novorozenec se nakazí během průchodu porodními cestami. Dále způsobuje zdravotní komplikace u imunokompromitovaných jedinců, které sužuje jiné primární onemocnění, například diabetes mellitus či rakovina. U těchto jedinců způsobuje zejména onemocnění kůže a měkkých tkání. Jedná se například o infekce močových cest či endokarditidu.

Začátek teoretické části bude zaměřen na popis rodu *Streptococcus*, jeho charakteristiku, dělení a používané identifikační testy u jednotlivých skupin. Další část bude věnována konkrétně druhu *Streptococcus agalactiae*, jeho popisu, historii, laboratorní diagnostice a patogenезi. Poslední kapitola teoretické části bude věnována základním informacím o antibiotikách (ATB), jejich historii, dělení, následně detailnějšímu popisu antibiotik, která jsou používána Ústavem klinické mikrobiologie (ÚKM) ve Fakultní nemocnici Hradec Králové (FNHK) pro léčbu streptokokových infekcí a antibiotické rezistenci.

V praktické části bude rozebrán excelový soubor, který poskytl ÚKM FNHK. Jedná se o soubor, který obsahuje veškerá vyšetření v letech 2018-2019, při kterých byl vykultivován *S. agalactiae*. Tato bakterie byla vykultivována například v moči, anaerobní a aerobní hemokultuře, ve výtěrech z laryngu, cervixu, vagíny, zvukovodu, oka, při vaginorektálním výtěru, ze stěru z bércového vředu et al. Cílem práce bude zjistit, u kolika mužů a žen byl zaznamenán pozitivní nález *S. agalactiae* ve vyšetřovaném materiálu a kolik jedinců / vzorků bylo vyšetřeno na citlivost k ATB. Poté zhodnotit výsledky rezistence u konkrétních ATB, která se používají pro diagnostiku a léčbu. V závěru experimentální části bude porovnána rezistence u izolátů od gravidních žen s rezistencí zjištěnou u izolátů od zbylých sledovaných jedinců.

## 3. TEORETICKÁ ČÁST

### 3.1 Rod *Streptococcus*

#### 3.1.1 Charakteristika a dělení

Streptokoky jsou fakultativně anaerobní gram pozitivní koky z čeledi *Streptococcae*, které jsou uspořádané do dvojic, tvořících řetízky. Jsou kataláza negativní, čímž se odlišují od stafylokoků, které jsou kataláza pozitivní. Kultivují se na krevním agaru (s ovčími erytrocyty), na kterém vytváří hemolýzu. Některé jsou součástí přirozené mikroflóry kůže a sliznic člověka, ty nazýváme oportunní. Obligátní streptokoky jsou patogenní a způsobují řadu závažných nemocí a infekcí (např. infekce ran, katérové sepse, meningitidu, infekce močových cest nebo jsou původci nozokomiálních nákaz).

Streptokoky dělíme do skupin dle typu hemolýzy na krevním agaru na alfa, beta a gama hemolytické. Dalším typem rozdělení je sérologické dělení dle Lancefieldové, a to na základě přítomnosti specifického polysacharidu C (stěnového antigenu). Toto dělení platí pouze pro streptokoky  $\beta$ -hemolytické. Streptokoky dělíme do skupin A-Z. Ze skupiny A je to *S.pyogenes*, ze sk. B – *S. agalactiae* a ze sk. D *S.bovis*. Mnoho streptokoků ze skupiny D bylo reklasifikováno do rodu *Enterococcus* (např. *S. faecalis*, *S. faciem*, *S. durans*). [1]

#### 3.1.2 Identifikační testy u jednotlivých skupin

Viridující neboli alfa-hemolytické streptokoky se vyznačují pouze částečnou hemolýzou, kdy redukují hemoglobin na zelený verdoglobin. Do této skupiny řadíme *Streptococcus pneumoniae* (původce meningitidy a pneumonie) a orální streptokoky, např. *Streptococcus mutans*, který se podílí na vzniku kazu. U alfa-hemolytických streptokoků se provádí test citlivosti k optochinu, který slouží k odlišení *Streptococcus pneumoniae* od ostatních alfa-hemolytických streptokoků. Na krevní agar se masivně naočkuje zkoumaný kmen a položí se na něj optochinový disk. Pokud se kolem disku vytvoří inhibiční zóna, jedná se o *Streptococcus pneumoniae*. Pokud není výsledek tohoto testu jednoznačný, používá se test rozpustnosti ve žluči. Tento test se může

provádět dvěma způsoby, a to ve zkumavce, nebo na plotně s narostlou kolonií. V pozitivním případě testu ve zkumavce dochází k projasnění zákalu a v případě testu, který se provádí přímo na plotně, dochází po zakápnutí deoxycholátem sodným k oploštění, či úplnému rozpuštění kolonie.

Beta-hemolytické streptokoky způsobují úplnou hemolýzu krevního agaru, při které dochází k rozrušení membrán erytrocytů a následně k projasnění agaru kolem kolonie mikroba (žluté zbarvení). Zástupci beta hemolytických streptokoků jsou např. *Streptococcus pyogenes* (původce faryngitis, tonsilitis) a *Streptococcus agalactiae*, kterému budou věnovány následující kapitoly. V laboratorní diagnostice této skupiny streptokoků se využívá citlivost k bacitracinu a PYR test. Test citlivosti k bacitracinu se využívá při odlišení beta-hemolytických streptokoků sk. A (např. *S. pyogenes*), jejichž růst je bacitracinem inhibován. Tento test probíhá stejně, jako test optochinový. Na krevní agar se masivně naočkuje suspenze se zkoumaným kmenem a položí se na ni bacitracinový disk. V pozitivním případě dochází k vytvoření inhibiční zóny kolem disku. Výsledky tohoto testu jsou často falešně negativní, a proto se využívá přesnější metoda určení – PYR test. Tímto testem prokazujeme přítomnost pyrolidonylpeptidázy. Diagnostický proužek se navlhčí destilovanou vodou a nanese se na něj zkoumaná kultura mikroba, po 10 min inkubace se přikápnou činidla a v případě pozitivní reakce se proužek zbarví oranžovo-červeně. Při diagnostice sk. B se využívá CAMP test, který bude podrobně popsán dále.

Gama-hemolytické streptokoky nevykazují na krevním agaru žádnou hemolýzu. Do této skupiny patří např. *Streptococcus bovis*, či *S. urinalis*. K diagnostice se využívá žluč-eskulinový test, který slouží k diagnostice streptokoků sk. D a enterokoků. Spočívá v naočkování zkoumaného kmene vpichem do půdy ve zkumavce, která obsahuje eskulin, žluč a citrát železitý. V případě pozitivní reakce dochází k hydrolýze eskulinu na eskuletin a glukózu. Vlivem citrátu dochází ke vzniku tmavě hnědé sraženiny.

Streptokoky lze diagnostikovat i pomocí biochemických testů, např. STREPTOtest 16 nebo STREPTOtest 24. V dnešní době se spíše upřednostňují modernější, ale hlavně rychlejší způsoby detekce mikroba, a to pomocí systému VITEK či MALDI-TOF.

## 3.2 *Streptococcus agalactiae*

### 3.2.1 Taxonomie

Doména: *Bacteria*

Říše: *Eubacteria*

Kmen: *Firmicutes*

Třída: *Bacilli*

Řád: *Lactobacillales*

Čeleď: *Streptococcae*

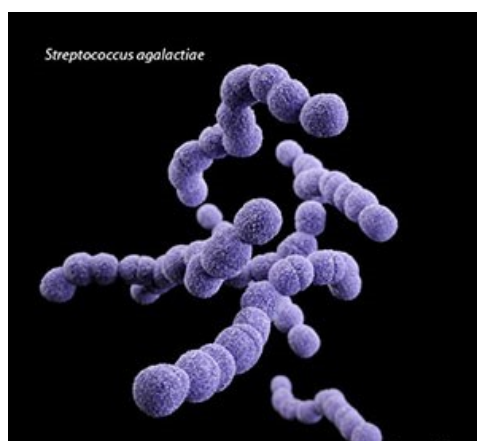
Rod: *Streptococcus*

Druh: *Streptococcus agalactiae*

[1]

### 3.2.2 Základní popis

*Streptococcus agalactiae* je fakultativně anaerobní, gram pozitivní kok o velikosti 0,6 až 1,2  $\mu\text{m}$ , který tvoří řetízky (Obr. 1). Na krevním agaru vytváří úplnou hemolýzu (beta-hemolýzu). Fermentuje glukózu, maltózu, sacharózu a nefermentuje inulin, manitol a sorbitol. [2]



**Obr. 1 *Streptococcus agalactiae* [3]**

Dle Lancefieldové je řazen mezi streptokoky skupiny B, jelikož na svém povrchu nese specifický antigen – polysacharid C. Kromě již zmíněného polysacharidu obsahuje

další virulentní faktory, a to hemolyziny, C5a peptidázu (pouze u lidských patogenů), hyaluronidázu a proteiny vážící imunoglobulin A. [4]

*Streptococcus agalactiae* je součástí běžné vaginální mikroflóry fertálních žen. Vyskytuje se u 3-30 % žen bez klinických příznaků. Problém nastává, pokud je žena gravidní a před blížícím se porodem má stále pozitivní nález tohoto streptokoka ve vagíně. Představuje to značné riziko pro novorozence, který se během porodu může nakazit. *Streptococcus agalactiae* také může kolonizovat gastrointestinální a močový trakt u dospělých zdravých jedinců, zdravotní komplikace činí u imunokompromitovaných osob. [5] Je také významným patogenem veterinárního lékařství, jelikož způsobuje mastitidu krav.

### 3.2.3 Historie

*Streptococcus agalactiae*, byl poprvé objeven na počátku 20. století, jako veterinární patogen, způsobující bovinní mastitidu. Byl izolován mléka krav, které touto nemocí trpěly. Názvy tohoto streptokoka byly různé. Z počátku se mu říkalo *S. nocardii*, poté *S. mastitidis*, odvozeno od nemoci, kterou způsoboval. Konečný název dal pan Brown a to roku 1947 – *S. agalactiae*. [2]

První výskyt *Streptococcus agalactiae*, jakož to lidského patogenu, byl zaznamenán v roce 1938, kdy byly popsány tři případy výskytu puerperální sepse. Až do šedesátých let devatenáctého století případy pozitivního nálezu *Streptococcus agalactiae* nebyly tak časté. [6] První výskyt neonatální sepse se objevil v roce 1964. Od této doby je *Streptococcus agalactiae* považován za nejčastějšího původce neonatální infekce, morbidit a mortality spojené s těhotenstvím. [7]

Po svém objevu ve 30. letech byl odlišen od ostatních streptokoků Rebeccou Lancefieldovou a zařazen do skupiny streptokoků B. Dnes je označován zkratkou GBS (Group B Streptococcus). Rebecca Lancefieldová na základě povrchového (kapsulárního), polysacharidového antigenu buněčné stěny v GBS definovala čtyři antigenní sérotypy Ia, Ib, II a III. Dnes je známo deset různých sérotypů: Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII a IX. Desátý sérotyp (sérotyp IX) byl popsán v roce 2007. [8]

### 3.2.4 Složení sérotypů a jejich patogenita

Všechny sérotypy jsou složeny z glukózy a galaktózy, kombinované s 2-acetamido-2-deoxyglukózou, rhamnosou nebo N-acetylglukosaminem, a s terminálně umístěnou kyselinou sialovou, která dává bakterii negativní náboj. [7]

Nejvýznamnějším sérotypem pro člověka z hlediska patogenity je sérotyp III a V. Sérotyp III je zejména příčinou neonatálních infekcí a sérotyp V způsobuje jiná invazivní onemocnění především u starších a imunokompromitovaných pacientů. Průzkum v USA v letech 2005-2006 ukázal, že nejběžnějším sérotypem, který se vyskytuje u dospělé negravidní populace je sérotyp V (29 %), po něm následovaly sérotypy Ia, II a III. Dominance sérotypů způsobujících onemocnění se liší jak na základě typu kolonizovaného izolátu, tak regionálně. [8]

### 3.2.5 Laboratorní diagnostika

#### 3.2.5.1 Odběr a kultivace

GBS může být vykultivován téměř z jakéhokoliv klinického vzorku. Mezi nejběžnější řadíme stěry (z pochvy, kůže, krku, ran apod.). Diagnostika může být však provedena i ze vzorku moči nebo stolice.

Vzorek je odebrán z příslušného místa výtěrovou tyčinkou. Pokud se jedná o vyšetření moče a stolice, vzorek je přenesen do zkumavky. Po odebrání je vzorek uchován v transportním médiu (netýká se odběru moči) a dopraven do laboratoře. *S. agalactiae* vyžaduje pro kultivaci půdy obohacené o sérum nebo krev (5 % beraní), proto se očkuje na krevní agar. Poté následuje kultivace při optimální teplotě růstu, a to 37°C. [2] V případě, že dojde k úplné hemolýze (projeví se žlutým prosvícením agaru kolem kolonie) se jedná o pozitivní reakci a prokázání výskytu beta-hemolytických streptokoků. U *S. agalactiae* pozorujeme větší kolonie bílého zbarvení s menší hemolýzou. Dále se pro důkaz *S. agalactiae* se provádí tzv. CAMP test.

### 3.2.5.2 CAMP test

CAMP test slouží k odlišení streptokoků skupiny B, a to konkrétně *S. agalactiae* od ostatních druhů. Je spolehlivý zejména u testování lidských kmenů streptokoků. Název tohoto testu je odvozen od vědců, kteří tento test popsali (Christie, Atkins, Munch-Petersen). Principem testu je synergistická reakce stafylokokového beta-hemolysinu a extracelulárního hemolytického proteinu (CAMP faktor), který je produkován *S. agalactiae*. [9] Pro reakci se používá jako zástupce stafylokoků *Staphylococcus aureus*. Na krevní agar se nejprve naočkuje testovaný kmen formou čáry. Poté se kolmo naočkuje kmen stafylokoka. Nechá se do druhého dne inkubovat při teplotě v rozmezí 35 °C–37 °C.



**Obr. 2 Pozitivní CAMP test (vlastní zdroj)**

CAMP faktor se váže na membránu erytrocytů a následně způsobuje jejich hemolýzu. Erytrocyty jsou mimo jiné také narušeny beta-hemolysinem *S. aureus*. Jeho vlivem namísto částečné hemolýzy vzniká hemolýza úplná. Podmínkou pro pozitivní reakci je navázání hemolysinů na membránu erytrocytů ve správném pořadí. [9] Poté můžeme pozorovat v místě překřížení naočkovaných čar charakteristické vytvoření zón úplné hemolýzy ve tvaru klínu (motýla) (Obr. 2). V případě negativní reakce k zesílení ani rozšíření zón nedochází.

Pozitivní reakce se ovšem vyskytuje také u *Listeria monocytogenes*, u některých zvířecích streptokoků sk. E, U, P, a dokonce i malé procento streptokoků sk. A, např. *Streptococcus pyogenes*, může být CAMP-pozitivní. [9]

### **3.2.5.3 MALDI-TOF**

GBS může být často identifikován také pomocí přístrojového vybavení, a to konkrétně pomocí hmotnostního spektrofotometru MALDI-TOF. Tento přístroj využívá měkkou ionizační techniku MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization) v kombinaci s analyzátozem doby letu (TOF-Time of Flight). Hmotnostní spektrofotometr se skládá ze tří částí: iontový zdroj, analyzátor a detektor. Kolonie mikroba, kterého chceme identifikovat, je nanesena na terčík kovové destičky. Poté je terčík zakápnut matricí a nechá se volně uschnout. Následuje vložení do přístroje, jehož prostor je vyplněný vakuem. Matrice absorbuje pulzní laserové záření a rozkládá se, což vede k ionizaci vzorku. Vzniklé ionty přechází do analyzátoru, kde putují různou rychlostí trubící k detektoru. Rychlost letu odpovídá jejich  $m/z$  (hmotnost/náboj iontu). Ionty s menší  $m/z$  dopadají na detektor dříve než ionty s větší  $m/z$ . Výsledkem jsou hmotnostní spektra, která jsou charakteristická pro daného mikroba. Ta se porovnávají s knihovnou spekter a stanovuje se shoda naměřeného hmotnostního spektra se spektry obsaženými v knihovně. Čím vyšší shoda, tím je vyšší pravděpodobnost, že se jedná o daného mikroba. Výsledek je zkontrolován a odsouhlasen vysokoškolským pracovníkem.

### **3.2.6 Stanovení citlivosti k ATB**

Je zcela běžné, že mikroby, které byly původně citlivé na některé antibiotikum jsou dnes vůči němu rezistentní. Léčba ATB by nezabrala a mikrob by se nadále množil a způsoboval komplikace. Proto je nutné nejprve zjistit, jestli daný mikrob obsažený ve vzorku je citlivý k určitému antibiotiku. Kvantitativní a kvalitativní stanovení citlivosti k ATB se provádí pomocí diskové difúzní metody, E-testu a stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC). Při využití diskové difúzní metody a E-testu se používá Müller-Hintonové agar (MHA). Měření citlivosti mikroorganismů na antimikrobiální



látky je nezbytné pro zjištění baktericidních a bakteriostatických vlastností ATB, ale má také velký význam při hodnocení nových léků a v epidemiologických studiích. [10]

MHA je kultivační, neselektivní a nediferencované médium, které se kromě stanovení citlivosti k ATB používá jako izolační médium pro druhy *Neisseria* a *Moraxella*. Tento agar byl vytvořen v roce 1941 Johnem Howardem Müllerem a Jane Hintonovou, s původním záměrem izolace meningokoků a gonokoků. [11] MHA se skládá z hovězího extraktu, škrobu, kaseinového hydrolyzátu, agaru a destilované vody. Do kultivační půdy se v případě stanovení citlivost ATB ke streptokokům přidává navíc 5 % ovčí krve a dinukleotid nikotinamid adenin. [12]

### **3.2.6.1 Disková difusní metoda**

Disková difusní metoda je metoda pro kvalitativní testování citlivosti k ATB. Petriho miska s MHA je naočkována (nebo přelita) suspenzí, vytvořenou zanesením inokula do 4 ml fyziologického roztoku. Na naočkovaný agar jsou pomocí jehly, nebo nyní preferovanější raznice kladeny antibiotické disky. Disky jsou vytvořeny z filtračního papíru, nasyceného specifickými ATB. Na jednu plotnu se klade maximálně 8 disků (např. erytromycin, clindamycin, doxycyklin, piperacin et al.). Následně je Petriho miska uložena do termostatu na 24 h., a poté se odečítají výsledky. Pokud je mikrob obsažený ve vzorku citlivý na dané ATB, tak kolem disku vzniká inhibiční zóna, u které se měří její průměr v mm. Na základě této hodnoty dokážeme odečíst, jestli je mikrob citlivý nebo rezistentní k ATB. Výsledky se porovnávají s hodnotami breakpoint. Rozmezí hodnot průměru inhibičních zón, kdy je k ATB mikrob citlivý a kdy rezistentní, je pro každý druh ATB jiné. Obecně platí, že pokud je velikost inhibiční zóny větší, než je hraniční hodnota mezi citlivostí a rezistencí, pak o mikrobu můžeme tvrdit, že je susceptibilní (značíme S) k danému ATB. Pokud je inhibiční zóna menší než hraniční hodnota, mikrob je rezistentní (R). V některých případech může být hodnota intermediární (I) a to tehdy, pokud je přesně na hranici mezi citlivostí a rezistencí. Jednou z možností, kde zjistit, jaké jsou breakpoint hodnoty susceptibility a rezistence pro námi vybrané ATB je webový portál EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

*S. agalactiae* je citlivý k penicilinovým (benzylpenicilin et al.) a často bývá rezistentní k makrolidovým ATB (erytromycin et al.). [8]

### 3.2.6.2 E-test

Dalším způsobem stanovení citlivosti je Epsilonometer test neboli E-test. Jedná se o kvantitativní metodu, která je založena na „exponenciálním gradientu“ a určuje antimikrobiální odolnost mikroba. Je kombinací diskového difúzního obrazce a stanovení MIC. [13] K testování slouží obdélníkový proužek se stupnicí, který je napuštěný postupně se snižující koncentrací daného ATB (ve směru od shora dolů). Stupnice udává hodnoty koncentrací ATB. Proužek je položen na MHA, který byl inokulován suspenzí vzorku. Z proužku začíná difundovat do agarů ATB a po 24 h. inkubaci při 37 °C dochází k vytvoření elipsovité inhibiční zóny podél proužku (Obr. 3). Stanovení MIC lze odečíst v místě průsečíku elipsy (v nejužším místě) s proužkem. Výsledné hodnoty se porovnávají s hodnotami breakpointu pro konkrétní ATB a konkrétního mikroba. Výsledek se uvádí v  $\mu\text{g} / \text{ml}$ .

E-test je použitelný pro širokou škálu testování mikroorganismů a léčiv. Je vhodný také pro určování citlivosti u náročných mikroorganismů, jako jsou např. *Streptococcus pneumoniae* nebo *Neisseria gonorrhoeae*. [10]



**Obr. 3 ETEST® Telavancin [14]**

### 3.2.6.3 Stanovení MIC

Posledním zmíněným způsobem je stanovení MIC, tedy nejnižší koncentrace léčiva zabraňující růstu a množení mikroba. Udává se v  $\mu\text{g/ml}$  nebo  $\text{mg/l}$ . MIC je nezbytná pro stanovení rezistence mikrobů na antimikrobní látky a sledování aktivity nových antimikrobiálních látek. [15]

Pomocí MIC je lékař schopen vybrat pacientovi konkrétní antibiotikum (nikoliv širokospektré) a stanovit dostatečnou koncentraci léčiva pro inhibici mikroba. Pokud by koncentrace byla příliš nízká, nedošlo by k inhibici a mohlo by vzniknout riziko rozvoje rezistence. Rezistence mikroba na ATB se vytváří také při podávání širokospektrých ATB. Čím je hodnota MIC nižší, tím méně léčiva je zapotřebí k inhibici růstu mikroba. Z toho vyplývá, že léčiva s nižší MIC jsou účinnějšími antimikrobními látkami. [16]

Hodnoty MIC mohou být stanoveny dvěma způsoby:

1. Diluční metoda v pevném kultivačním médiu (agarová plotna)
2. Diluční metoda v bujónu

Diluční metoda na pevném kultivačním médiu se provádí na Müller – Hintonové agaru. Každá plotna obsahuje specifickou koncentraci daného ATB, které testujeme. V případě, že provádíme testování streptokoků a pneumokoků, je nezbytné přidat do média 5 % defibrinovaných beraních erytrocytů. Vytvoříme suspenzi s testovanými mikrobi o koncentraci 0,5 McFarlanda a pomocí speciálního inokulátoru ji nanese na plotnu. Na jedné plotně může být naočkováno více kmenů současně. Poté se plotny inkubují při doporučené teplotě 37 °C 24 h.

Daleko praktičtější a dle mého názoru více používanou metodou je kvantitativní diluční metoda v bujónu. Lze ji provést dvěma způsoby: makrodilučně a mikrodilučně. Makrodiluční stanovení MIC se provádí ve zkumavkách, s minimálním požadovaným testovaným objemem 1 ml. Mikrodiluční stanovení probíhá v jamkách mikrotitrační destičky o objemu 0,1 ml. Jako růstové médium, ve kterém je rozmícháno inokulum bakterií, se používá Müller-Hintonové bujón. V praxi nachází větší uplatnění mikrodiluční metoda.

Postup stanovení je jak pro mikrodiluční, tak pro makrodiluční metodu identický, akorát s tím rozdílem, že při makrodiluční metodě pracujeme s většími objemy ATB a připraveného inokula. Dnes jsou již dostupné testovací panely s již připravenými koncentracemi ATB v jamkách a laboratoř si je může takto připravené zakoupit. Nebo si specifické koncentrace ATB může vytvořit sama. V takovém případě jsou koncentrace ATB připraveny tzv. dvojkovým ředěním (geometrickou řadou (0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8 et al.)) a aplikovány do zkumavek/jamek mikrotitrační destičky. Dále je provedena inokulace jehlovým inokulátorem. Inokulum by mělo mít koncentraci 0,5 McFarlanda. Poté následuje inkubace při teplotě 37 °C po dobu 24 h. Ve zkumavkách/jamkách, ve kterých nedošlo k inhibici mikroba se objeví zákal. Čirá zkumavky/jamky jsou známkou účinnosti antibiotika, které zabránilo růstu mikroba. Hodnotu MIC odečítáme z první zkumavky/jamky, ve které byl růst inhibován minimální koncentrací léčiva (čirá jamka). V případě mikrodiluční metody lze provést odečet MIC i spektrofotometricky.

Hodnotu MIC můžeme odečíst také pomocí E-testu, jak již bylo zmíněno výše.

Na závěr k metodám stanovení MIC je nezbytné zmínit, že musí být věnována pozornost také standardizaci testovacích podmínek, a to z důvodu možného vzniku chyb při stanovení. Musí být dodržena zejména teplota inkubace a její délka, dále pak například patřičná velikost inokula a správně zvolená půda, na které bude kultivace prováděna. [17]

### **3.3 Onemocnění způsobená GBS**

Základní informace o výskytu a patogenezi byly už okrajově zmíněny v předchozích částech této práce. *Streptococcus agalactiae* způsobuje řadu závažných onemocnění, naprostou většinu můžeme najít v oblasti perinatologie, a to až 80 %. Jedná se zejména o neonatální infekci. [2] Ta se může projevit například meningitidou, která vzniká v důsledku proniknutí GBS hematoencefalickou bariérou. To vede k možnému poškození centrálního nervového systému (CNS). [18] Další ohroženou skupinou jsou gravidní ženy, u nichž nákaza může vést k potratům, endometritidě případně jiným infekcím. [4]

V posledních dvaceti letech se začala zvyšovat incidence nakažených i mezi negravidní dospělou populací. Většinou se jedná o pacienty starší 65 let, pro které je onemocnění často smrtelné a tvoří největší procento zemřelých na nákazu GBS. *S. agalactiae* se vyskytuje jako oportunní patogen, a to především u imunokompromitovaných pacientů, které sužuje primární onemocnění, například meningitida, pneumonie, diabetes mellitus, nebo rakovina. Streptokokovou infekcí je často zasažena kůže a měkké tkáně. Jedná se například o infekce močových cest, pneumonii či endokarditidu. [2], [19]

#### **3.3.1 Neonatální infekce**

Neonatální infekce může mít bakteriální, virový nebo fungální původ. Mezi bakteriální původce patří streptokoky skupiny B (*S. agalactiae*), stafylokoky (*S. aureus*), *Klebsiella spp.* či *Pseudomonas spp.* [20] Ze streptokoků se jedná nejčastěji o *S. agalactiae* sérotyp III, jak již bylo zmíněné výše. Rizikovými faktory jsou předčasný porod, nízká porodní hmotnost, předčasné prasknutí plodových membrán a intrapartální horečka. Připouští se myšlenka, že prasknutí plodových obalů může zapříčinit samotný *S. agalactiae* prostřednictvím proteáz, které vylučuje. Neonatální infekci můžeme rozdělit na dva typy lišící se způsobem přenosu: časnou a pozdní. [4]

Časná infekce se projeví ihned po narození nebo nejdéle do prvních dvanácti hodin života. Způsobů nakažení je více. Pokud je matka *S. agalactiae* pozitivní, bakterie se může dostat do plodové vody, kterou novorozenec vdechne a nakazí se. Druhým

způsobem je nakažení při průchodu porodními cestami. U matky i novorozence se tak může rozvinout septikémie. Mezi počáteční symptomy patří například nespavost nebo cyanóza, v horších případech meningitida. Pokud není zahájena včasná léčba, dochází k rozvoji šoku a v nejhorších případech následuje smrt novorozence (dnes u méně než 10 %). [4]

Pozdní infekce se projeví nejdříve za 7 dní a nejdéle za 3 měsíce od narození dítěte. Daleko častěji se vyskytuje u novorozenců, kteří se narodili předčasně. V případě tohoto typu nedochází k nákaze skrz vaginální trakt matky, matka nemusí být *S. agalactiae* pozitivní. Novorozenec se může nakazit například od personálu porodnice (při nedodržení hygienickým opatření), kteří mají tuto bakterii na kůži, a vystupují jako přenašeči. Dalším způsobem přenosu infekce je prostřednictvím prostředků, používaných při kojení, které se používají opakovaně a sdílí je více novorozenců. Jedno z dětí může být *S. agalactiae* pozitivní, a při špatném hygienickém ošetření těchto prostředků, se dosud zdravé dítě může nakazit. Také se objevily případy, že se dítě nakazilo od matky, která trpěla mastitidou. Nejčastějšími symptomy, charakterizující pozdní infekci, jsou purulentní meningitida, konjunktivitida, endokarditida či septická artritida. [4]

### 3.3.2 GBS screening u gravidních žen

GBS screening se provádí u gravidních žen mezi 35. – 37. týdnem těhotenství (dále t.t.). Cílem vyšetření je zjištění přítomnosti *S. agalactiae* v porodních cestách (případně rektu) matky. Vyšetření se provádí formou vaginálního, nebo rektovaginálního stěru a následné kultivace na selektivní médium. Stěr je proveden pomocí vatového tampónu, kterým se vytře dolní třetina pochvy. V případě rektovaginálního stěru se tímto tampónem vytře následně i rektum. Spíše je preferován kombinovaný výtěr, a to z důvodu větší spolehlivosti. Pokud je odebrán pouze vaginální stěr, je tu riziko neodhalení přítomnosti *S. agalactiae*, a to až v 35 % případů. [21]

Při pozitivním nálezů GBS je nezbytné zahájit intrapartální chemoprophylaxi. Ženě je pravidelně intravenózně aplikováno ATB až do porodu. Používá penicilin G, případně ampicilin. Pokud by byla pacientka alergická na penicilinová ATB, lékař musí zvolit jiná.

Nejčastější alternativou je clidamycin nebo erytromycin. Pokud vůči těmto ATB vykazuje patogen rezistenci, tak lékem poslední volby je vankomycin. Aby léčba byla účinná, musí být první dávka ATB aplikována nejméně čtyři hodiny před začátkem porodu. Zavedení a účinnost léčby se osvědčila a riziko vzniku neonatální infekce významně pokleslo. [21]

Avšak pozitivní nález GBS není jediným důvodem pro zahájení včasné profylaxe. Preventivní zaléčení rodičky nastává také v následujících případech: GBS screening nebyl proveden v řádném termínu, porod před GBS screeningem (před 37. t.t.), bakteriurie GBS, zvýšení teploty rodičky (přes 38 °C) nebo pokud bylo předchozí dítě infikováno GBS. [21]

Statistiky v USA ukázaly, že 1/4 až 1/3 gravidních žen je kolonizována GBS. Pokud pacientky nemají žádné obtíže, nejsou až do doby porodu nijak léčeny. [22]

### **3.3.3 Prevence onemocnění GBS**

Mezi způsoby prevence vzniku onemocnění lze zařadit i výše zmíněný GBS screening. Novou naději však představuje streptokoková glykokonjugátová vakcína skupiny B, která by měla aplikována novorozencům, gravidním ženám a ohroženým věkovým skupinám jako prevence vzniku onemocnění způsobeném *S. agalactiae*. Vakcína stále prochází vývojem. [6]

Dnes jsou již známy a rutinně využívány glykokonjugátové vakcíny například proti *Haemophilus influenzae*, *Salmonella Typhi* či *Neisseria meningitidis*. [23]

## 3.4 Antibiotika

### 3.4.1 Úvod a mechanismus účinku

Antibiotika jsou látky, které produkují bakterie nebo houby. Také chemoterapeutika, která mají antibakteriální účinek lze dnes zařadit mezi ATB. Dají se získat z přírody, nebo vytvořit uměle. Mají tedy syntetický, nebo semisyntetický původ. V některých případech se jako lepší možnost léčby nabízí použití kombinace ATB, většinou dvou. Pozitivním efektem je zesílení farmakoterapeutického účinku a rozšíření působení antibiotika v širším spektru. [17]

ATB mají bakteriostatický (inhibující růst) nebo baktericidní (usmrcující) účinek, který spočívá v ničení struktur ribozomů, nukleových kyselin, cytoplazmatické membrány, buněčné stěny a změn její permeability et al. ATB mohou působit více mechanismy zároveň. Dochází tak např. k inhibici proteosyntézy bakteriálních ribozomů (působením chloramfenikolu nebo makrolidů). V případě penicilinu nebo cefalosporinu nastává inhibice syntézy buněčné stěny bakterií a zároveň produkce autolyzinů, které rozrušují strukturu buněčné stěny a způsobují její lýzi. [17] Vlivem ATB by však nemělo by docházet k poškození vlastních buněk organismu.

Některé bakterie se účinku ATB dokážou zdárně bránit, a to díky enzymům, které sami produkují. Jedná se o beta-laktamázy. Princip spočívá v hydrolytickém štěpení beta-laktamového kruhu, který obsahují laktamová ATB, pomocí těchto enzymů. Výsledný účinek ATB je tudíž nulový. Příkladem beta-laktamáz jsou například metaloenzymy, penicilinázy a cefalosporinázy. [17]

ATB se dále dělí za základě velikosti spektra jejich účinku (úzké, střední a široké spektrum účinku). V případě, že známe původce onemocnění je nejvhodnější užití antibiotik s úzkým spektrem. Při smíšené infekci, nebo když původce není znám se užívají širokospektrá ATB. [17]

Způsob aplikace ATB může být perorální nebo parenterální. Při parenterálním podání antibiotik se dosahuje vyšších plazmatických i tkáňových koncentrací léčiv. Z tohoto důvodu je vhodné při těžších infekcích aplikovat ATB intravenózně (ve formě infuze nebo injekcí) a teprve v případě zlepšení stavu pokračovat perorální formou



léčby. Rektální aplikace se příliš nepoužívá, protože tento způsob není dostatečně spolehlivý. [17]

Antibiotika mají jako většina jiných léčiv nežádoucí účinky. Mezi časté a platné pro všechna ATB patří například nauzea, zvracení, průjem, alergie et al. Další nežádoucí účinky mohou být typické zejména pro některé skupiny ATB. V případě linkosamidů je to riziko rozvoje pseudomembranózní kolitidy, která vzniká v důsledku „vybití“ střevní mikroflóry ATB a následného osídlení střeva bakterií *Clostridium difficile*. *Clostridium* se pomnoží a začne produkovat toxiny vyvolávající kolitidu. Vlivem fluorochinolonů hrozí předčasné uzavření chrupavek, což vede k zástavě růstu, nebo jejich deformaci. Tento druh ATB proto nesmí být předepisován dětským pacientům. V důsledku užívání aminoglykosidů může docházet k poruchám sluchu. Tato ATB jsou toxická pro sluchový nerv a mohou ho nenávratně poškodit. [24] Posledním nežádoucím účinkem je rozvoj antibiotické rezistence, který se může vyskytnout při nešetrném zacházení s ATB.

Mezi nejdůležitější skupiny ATB patří:

- Beta-laktamová ATB
  - Peniciliny (penicilin, ampicilin, amoxicilin et al.)
  - Cefalosporiny (cefadroxil, cefazolin, cefprozil et al.)
  - Karbapenemy (meropenem et al.)
- Tetracykliny (doxycyklin et al.)
- Linkosamidy (clindamycin et al.)
- Aminoglykosidy (streptomycin, neomycin, gentamycin et al.)
- Makrolidy (erytromycin, clarytromycin, et al.)
- Fluorhinolony (ciprofloxacin, ofloxacin, norfloxacin et al.)
- Amfenikoly (chloramfenikol et al.)
- Nitrofurany (nifuratel, nifuroxazid, et al.)
- Nitroimidazoly (metronidazol et al.)

- Glykopeptidy (teikoplanin, vancomycin et al.)
- Sulfonamidy (trimethoprim, sulfamethoxazol et al.)

[24]

### 3.4.2 Historie

Počátek éry antibiotik začíná objevením penicilinu, o který se zasloužil britský bakteriolog Sir Alexander Fleming. Během působení v londýnské bakteriologické laboratoři Saint Maryes Hospitals (Nemocnice sv. Marie) zjistil, že plísňová houba *Penicilium notatum* je schopná inhibovat růst bakterií, a dokonce je i usmrtit. Zpráva o novém zázračném léku byla poprvé zveřejněna v „British Journal of Experimental Pathology“ v roce 1929, avšak nevzbudila ve společnosti příliš velký zájem. Počátku své slávy se penicilin dočkal až o více než deset let později, a to během druhé světové války, kdy se používal k léčbě zraněných vojáků. V roce 1940 byl penicilin již pod statutem antibiotikum zaveden jako oficiální lék k léčbě infekcí. V roce 1945 obdržel Sir Alexander Fleming spolu s E. B. Chainem a Sirem Howardem Floreyem Nobelovu cenu za medicínu. [25]

V roce 1935 byla nezávisle na Flemingově výzkumu objevena schopnost sulfonamidu inhibovat růst bakterií. Následně bylo vyrobeno více než 600 derivátů sulfonamidu, u kterých byly testovány jejich antibakteriální vlastnosti. Postupem času se objevovala nová antibiotika, jako například chinolony nebo glykopeptidy. [25]

Lidstvo bylo přesvědčeno, že boj s bakteriemi má pevně pod kontrolou, a že je netřeba investovat do dalšího výzkumu a vývoje nových ATB. A tak v osmdesátých letech došlo ve farmaceutickém průmyslu ke stagnaci ve výzkumu. [25] Jenže podcenili schopnost bakterií se neustále přizpůsobovat vnějšímu prostředí. „Bakterie jsou vždycky o krok napřed než my.“ Tuhle větu jsme slychali nesčetněkrát na přednáškách ať už z mikrobiologie, nebo z jiného předmětu. Kdyby jim tuhle větu někdo řekl už tehdy, tak by nové antibiotické skupiny byly objeveny o mnoho dříve.

Před objevením ATB nebyli lékaři schopni léčit bakteriální infekční onemocnění, jako jsou například tuberkulóza, zápal plic et al. Po objevení ATB klesla úmrtnost

na infekční onemocnění v Evropě ze 30-35 % (1910) až na 1-4 % (1990). Dnes je na trhu k dispozici více než 1600 druhů ATB. [25]

### **3.4.3 ATB vhodná k léčbě streptokokových infekcí**

Následující kapitola bude věnovaná specifikaci jednotlivých ATB, která se používají k léčbě streptokokových infekcí. Standartně se používá sada o 5-9 ATB. U celkových život ohrožujících onemocnění, např. u sepse, se u pozitivní hemokultury testuje až 18 ATB.

#### **Penicilin**

Peniciliny jsou deriváty kyseliny 6-aminopenicilanové a řadí se do skupiny beta-laktamových ATB. Pokud se na aminoskupinu této kyseliny naváže určitý radiál, vzniká derivát penicilinu. Antibakteriální účinek je závislý na postranních řetězcích molekuly. Skupiny penicilinů mají rozdílné účinky na bakterie. Míra účinku je dána rozdílnou afinitou k vazebným proteinům, schopností pronikat skrz bakteriální buněčnou stěnu a schopností odolávat beta-laktamázám. Dalším důležitým parametrem je dostupnost penicilinových receptorů. [17] Peniciliny způsobují blokaci bakteriálních enzymů, které podporují syntézu peptidoglykanu. Dochází tak k inhibici syntézy buněčné stěny bakterií. [26] Penicilin G se používá nejčastěji u stafylokokových, streptokokových a pneumokokových infekcí. [17]

#### **Ampicillin**

Ampicillin je širokospektré ATB, které spadá do třídy aminopenicilinů patřících do skupiny beta-laktamových ATB. Používá se od roku 1961. [27] Předepisuje se k léčbě infekčních onemocnění způsobených bakteriemi, jako je například meningitida, endokarditida, salmonelóza, respirační infekce, infekce orgánů reprodukční, gastrointestinální a vylučovací soustavy. Může být použito také k prevenci streptokokových infekcí u novorozenců. Je jedním z antibiotik účinných k multirezistentním kmenům, jako jsou například *Enterococcus faecalis* a *E. faecium*. [28], [29]

ATB je aplikováno perorálně nalačno, ve formě kapslí, nebo ve formě suspenze intramuskulárně. Užívání ampicilinu může mít vedlejší účinky, jako jsou například nevolnost, zvracení, průjem, vyrážka et al. [28]

### **Erytromycin**

Erytromycin patří mezi makrolidová ATB. Používá se k léčbě kožních onemocnění, jako jsou akné a růžovka, často v kombinaci se zinkem (při akné). Dále pak při akutních infekcích močových cest, dýchacího traktu a dutiny ústní. Ve formě tablet se užívá nalačno, nebo po jídle. Při léčbě akné se používá roztok vzniklý smísením práškového antibiotika s alkoholem. Mezi možné nežádoucí účinky patří nevolnost, zvracení, průjem et al. [30]

### **Chloramfenikol**

Jedná se o širokospektré ATB. Ve vyšších dávkách má bakteriocidní účinky. Inhibuje proteosyntézu bakterií. Předepisuje se při meningokokové infekci, břišním tyfu, v některých případech i při léčbě akné et al. Aplikuje se parenterálně nebo perorálně. Nepoužívá se jako lék první volby z důvodu rizika rozvoje aplastické anémie. Tento negativní účinek byl prokázán v 70. letech a od té doby bylo užívání chloramfenikolu omezeno. Mezi další nežádoucí účinky patří nauzea, zvracení, poruchy kostní dřeně et al. [31]

Pokud je chloramfenikol podán novorozenci, může se objevit Grey baby syndrom, který vzniká z důvodu nedostatečně vyvinutého detoxikačního glukuronidázového systému u novorozence. Jelikož není UDP – glukuronyl transferáza dostatečně vyvinutá, nedokáže chloramfenikol metabolizovat. S tím souvisí nedostatečná exkrece léčiva ledvinami a dochází tak k akumulaci toxických chloramfenikolových metabolitů v organismu. Příznaky jsou zvracení, dechové obtíže, hypotenzi, popelavě šedé cyanóza, kardiovaskulární šok et al. [32]

## **Clindamycin**

Clindamycin patří do skupiny linkosamidů. Mechanismus účinku spočívá v inhibici proteosyntézy bakterií. Předepisuje se při těžkých infekcích, otravách krve, břišním abscesu, zánětech kostí, kloubů a zubů, zánětech pánevního dna u žen et al. Snadno proniká do kostí. ATB je aplikováno ve formě injekčního roztoku. Mezi časté nežádoucí účinky, které se objevují u většiny ATB (nauzea, zvracení či průjem), skupina linkosamidů způsobuje mimo jiné i pseudomembranózní kolitidu. [33]

## **Sulfonamid**

Sulfonamid je zástupcem skupiny sulfonamidů, jak již napovídá sám název. Jedná se o širokospektré antibiotikum používané k léčbě močových infekcí. Mechanismus účinku spočívá v blokaci bakteriálních enzymů, nezbytných pro tvorbu kyseliny listové (růstový faktor bakterií). Při nedostatku této kyseliny se bakteriální buňky nemohou množit. Častými vedlejšími účinky jsou alergie, průjem, závrať, vyrážka či bolest hlavy. Ve vážných případech pak ochablost svalů, leukopenie, poškození jater et al. Antibiotikum je předepisováno ve formě tablet, perorálního roztoku nebo injekcí. Není vhodné pro gravidní a kojící ženy. Sulfonamidy mohou způsobit nadměrný rozpad bilirubinu v krvi, což vede k rozvoji žloutenky. V horším případě ke vzniku bilirubinem indukované mozkové dysfunkce zvané kernicterus. [34]

## **Trimethoprim**

Trimethoprim patří do třídy sulfonamidů. Mechanismus účinku je stejný jako u předešlého sulfonamidu. Používá se taktéž zejména k léčbě močových infekcí, jako je například cystitida, ale i k léčbě akné. Existuje buď ve formě tablet, nebo roztoku. Ve formě roztoku je předepisováno v případě, že pacient není schopen tabletu polknout. Roztok se aplikuje perorálně buď nalitím na lžičku, nebo natažením do injekční stříkačky. Nežádoucí účinky, které může ATB způsobovat jsou stejné, jako u předešlého antibiotika. [35], [36]

### **Nitrofurantoin**

Nitrofurantoin je chemoterapeutikum patřící do skupiny nitrofuranů. Má širokospektré účinky. Je lékem první volby při léčbě močových infekcí (cystitidy, nefritidy et al.) způsobených *E. coli* nebo stafylokoky. Nitrofurantoin pravděpodobně inhibuje proteosyntézu a narušuje buněčnou stěnu bakterií. Mezi nežádoucí účinky patří gastrointestinální obtíže, v závažnějších případech dyspnoe et al. Užívá se perorálně ve formě tablet. Lze jej použít i lokálně ve formě pasty či suspenze při léčbě například bércových vředů. Ve formě vaginálních tablet a globulí je účinný proti původci urogenitálních infekcí *Trichomonas vaginalis*. [37]

### **Tetracyklin**

Jedná se o širokospektré ATB. Tetracyklin účinkuje na principu blokování začleňování aminokyselin do vznikajících peptidových řetězců. Dochází tak k inhibici syntézy proteinů. Na tetracyklin jsou citlivé stafylokoky, streptokoky, hemofyli, listérie, brucely, chlamydie et al. Antibiotikum je aplikováno perorálně nebo i.v. Jako nežádoucí účinky byly prokázány střevní a žaludeční obtíže, ezofagitida, poškození jater (jako následek překročení terapeutické dávky), zvýšení nitrolebního tlaku et al. [17]

### **Vankomycin**

Vankomycin řadíme mezi glykopeptidová ATB, která jsou účinná pouze proti grampozitivním bakteriím, gramnegativní bakterie jsou rezistentní. Účinek vankomycinu spočívá v inhibici syntézy mukopeptidu, který se podílí na stavbě buněčné stěny bakterií. Nejčastěji se podává i.v., jelikož při podání p.o. se vstřebává jen velmi málo. Používá se například při onemocněních způsobených streptokoky, pneumokoky, *Corynebacterium diphtheriae* a stafylokoky, které jsou rezistentní na meticilin (MRSA). Rezistence stafylokoků vůči tomuto ATB není příliš obvyklá, spíše se s ní setkáváme u enterokoků (VRE). Mezi časté nežádoucí účinky patří horečka či alergie, dále se pak setkáváme s exantémy nebo anafylaktickým šokem. Před nasazením léčby vankomycinem je nezbytné provést vyšetření funkce ledvin, z důvodu včasného diagnostikování renální insuficience, která by vedla ke kumulaci vankomycinu v organismu a možnému vzniku ototoxicity. [17]

## Linezolid

Linezolid patří do skupiny oxazolidinonů. Předepisují se zejména k léčbě infekcí způsobených grampozitivními patogeny, kteří vykazují rezistenci na široké spektrum antibiotik (např. VRE, VRSA, MRSA). Jsou tedy účinná proti enterokokům, streptokokům, stafylokokům (*Staphylococcus aureus*), mykobakteriím (*Mycobacterium tuberculosis*), *Listeria monocytogenes*, či *Moraxella catarrhalis*. Mechanismus účinku spočívá v inhibici syntézy bakteriálních proteinů. ATB je nejčastěji aplikováno perorálně. Méně závažnějšími nežádoucími účinky jsou zvracení, úbytek váhy et al. Anémie, trombocytopenie, neuropatie (při léčba infekcí způsobené mykobakteriemi) nebo myelosuprese jsou daleko závažnějšími nežádoucími účinky, které se objevují většinou jako následek dlouhodobé léčby oxazolidinony. [38]

### **3.5 Antibiotická rezistence**

Antibiotickou rezistenci lze charakterizovat jako přizpůsobení se a získání necitlivosti vůči určitému druhu antibiotika. Aby bylo antibiotikum účinné, musí proniknout do cílové bakteriální buňky. Tomu zabraňují určité mechanismy rezistence. Mezi ně řadíme například změnu struktury cílového receptoru, omezenou, či zcela znemožněnou schopnost penetrace do bakteriální buňky, nebo činnost bakteriálních enzymů, které inhibují účinek antibiotika nebo antibiotikum destrukují. [17]

Bakterie se přizpůsobují prostředí tím, že mění svůj genetický profil, jedná se například o chromozomální mutace. Tyto mutace vznikají samovolně a nejsou podmíněny přítomností antibiotika, na rozdíl od rezistence získané z extrachromozomální plazmidové informace. Plazmidy jsou malé molekuly DNA ve tvaru kruhu vyskytující se v cytoplazmě bakterií. Jsou nositelé genetických informací, včetně informace o rezistenci na ATB. Ve své struktuře mají fragmenty DNA, ve kterých jsou zakódovány například mechanismy rezistence. Přenáší se v rámci jednoho druhu i mezidruhově. [17]

V roce 1947 se objevily první zmínky o rezistenci na penicilin, a to nejspíše v důsledku masového používání u zraněných ve druhé světové válce. Je nezbytné, aby se s ATB zacházelo uvážlivě. Nesprávné zacházení je nešvarem dnešní doby a vede k rozvoji rezistence. Lehkomyslnost zacházení spočívá v tom, že je pacientům podávána příliš nízká nebo vysoká dávka, nebo je nasazeno chybné ATB (např. mikrob je k němu rezistentní). Častou příčinou je také předepisování širokospektrých ATB i v případě, kdy to není nezbytně nutné a pacientovi by mohla být dána ATB citlivá na konkrétního mikroba. Dalším problémem je, že ATB jsou předepisována i tehdy, když nejsou vůbec potřebná, a to v případě potlačení virových infekcí. Studie ve Spojených státech amerických prokázala, že třetina až polovina receptů, předepisujících konkrétní lék nebo ATB, je pro úspěšnou léčbu zcela nepotřebná, ba dokonce chybná. V rozvinutých průmyslových zemích hrozí předávkování ATB. Pacienti často naléhají na lékaře, aby jim předepsal ATB i přes to, že taková to léčba není nutná. V některých zemích jsou dokonce ATB volně prodejné. Časté, nebo dlouhodobé užívání stejného druhu ATB vede též k rozvoji rezistence. Lékařům je doporučováno, aby pacient užíval vhodné ATB



pouze krátkou dobu, avšak dostatečnou pro zničení mikroorganismů, včetně jejich zárodků. [25]

K rozvoji rezistence přispívá i rozsáhlé používání ATB v zemědělství. Antibiotika jsou u hospodářských zvířat využívána jako doplňky růstu a prevence infekce (v USA údajně až 80 % z podávaných ATB). Dochází tak ke zlepšení zdravotního stavu zvířete. Problém nastává při konzumaci živočišných výrobků člověkem (především masných). Dochází k transferu rezistentních bakterií ze zvířete na člověka. První případ byl popsán před více než 35 lety, kdy byla v intestinální flóře jak u hospodářského zvířete, tak u člověka prokázána antibiotická rezistence. Dalším způsobem transferu rezistentních bakterií je přenos prostřednictvím kontaminované podzemní vody močí či výkaly hospodářských zvířat, kterým byla ATB podávána. [39]

Nemusí se vždy nutně jednat o přenos ze zvířete na člověka. ATB jsou také součástí pesticidů (např. streptomycin nebo tetracykliny), které se používají v zemědělství i v ovocnářství. [39]

### **3.5.1 Typy rezistence**

Rozlišujeme rezistenci primární a sekundární. Sekundární můžeme dále rozdělit na přenosnou, zkříženou a mutační.

Rezistence přirozená neboli primární, je taková rezistence na určitý druh ATB, která je geneticky podmíněná. V takovém případě nezáleží na tom, jestli se bakterie už dříve setkala s antibiotikem, zkrátka ATB vůči ní není účinné. [17]

Sekundární rezistencí se rozumí rezistence vzniklá během léčby antibiotikem, nebo jako její následek. Rychlost rozvoje závisí na tom, s jakou frekvencí dochází k mutacím. [17]

Prvním typem sekundární rezistence je rezistence přenosná. Ta je zajišťována plazmidy. Bakterie si při konjugaci předávají plazmidy, ve kterých může být zaznamenána informace o rezistenci na ATB. Nejčastěji se s tímto typem rezistence setkáváme u gramnegativních bakterií. Mnohočetnou rezistenci například na sulfonamidy sledujeme u salmonel. Přenos informace o rezistenci probíhá mezi bakteriemi například ve střevě nebo na kůži. [17]

Zkřížená rezistence se vyznačuje tím, že bakterie není citlivá na více ATB současně. Většinou se jedná o ATB, která spadají do stejné skupiny, z hlediska chemické struktury nebo dle mechanismu, kterým na bakterie působí. Jsou známy dva typy zkřížené rezistence: oboustranně a jednostranně zkřížená rezistence. Oboustranně zkřížená rezistence se vyskytuje u ATB, která jsou příbuzná (patří do stejné skupiny), např. penicilin V a G. Bakterie je rezistentní vůči oběma zároveň. [17] „Při jednostranně zkřížené rezistenci se vyskytuje necitlivost na antibiotikum A (např. gentamicin) i B (např. amikacin) neúplně, tj. citlivost menšího počtu bakterií může být vůči jednomu z nich zachována“. [17]

Posledním zmíněným typem rezistence je rezistence mutační. Jak už sám název napovídá, jedná se o rezistenci, která vznikla na podkladě mutace (např. chromozomové). Množením bakterií se mutace šíří dál a v bakteriální populaci začínají převládat bakterie rezistentní vůči danému ATB. Tato mutace je většinou způsobena antibiotickou léčbou. Projeví se v jejím průběhu, nebo jako její následek. [17]

## 4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

V experimentální části je zpracován soubor získaný z ÚKM ve FNHK. Soubor obsahuje záznamy pacientů a jejich vyšetření, při kterých byl vykultivován *S. agalactiae* v letech 2018-2019. U vyšetřovaných vzorků je sledována citlivost tohoto mikroba k testovaným ATB. Získané procento rezistencí k jednotlivým ATB je porovnáno nejprve v rámci jednotlivých skupin pacientů a následně i s výsledky rezistencí z jiných zdrojů.

### 4.1 Charakteristika souboru

Soubor obsahuje celkem 1619 vyšetření vzorků odebraných od 1328 pacientů. U 33 pacientů bylo vyšetření prováděno v obou letech. Skutečný počet jedinců byl tedy 1295. V roce 2018 bylo odebráno celkem 754 (47 %) vzorků a v roce 2019 celkem 865 (53 %) vzorků (Tabulka č. 1 a Graf č. 1). V roce 2018 byly vzorky odebrány od 626 pacientů, z toho bylo 390 žen a 236 mužů. V roce 2019 od 702 pacientů, a to od 440 žen a 262 mužů (Tabulka č. 2 a Graf č. 2).

Počet vyšetřovaných vzorků v jednotlivých letech	
Rok	Celkem vzorků
2018	754 (47%)
2019	865 (53%)
<b>Celkem</b>	<b>1619 (100%)</b>

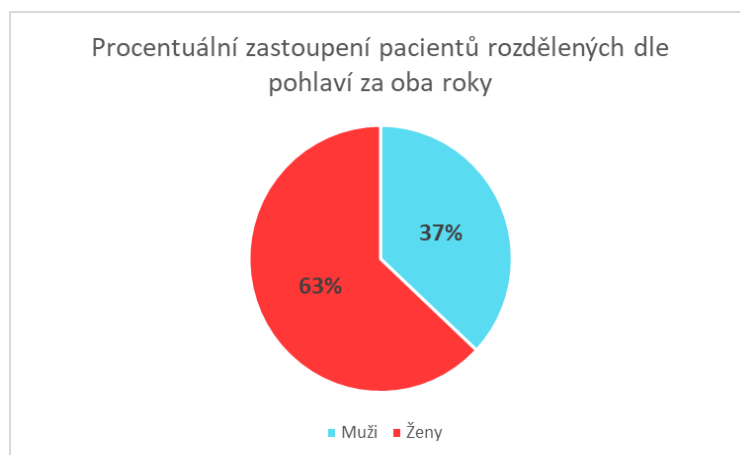
Tabulka č. 1: Počet vyšetřovaných vzorků v jednotlivých letech



Graf č. 1: Procentuální zastoupení počtu vzorků za jednotlivé roky

Rozdělení pacientů dle pohlaví			
Rok	Muži	Ženy	Celkem pacientů
2018	236	390	626
2019	262	440	702
Celkem	498 (37%)	830 (63%)	1328 (100%) (z toho 33 v obou letech)

**Tabulka č. 2: Počet pacientů v jednotlivých letech rozdělený dle pohlaví**



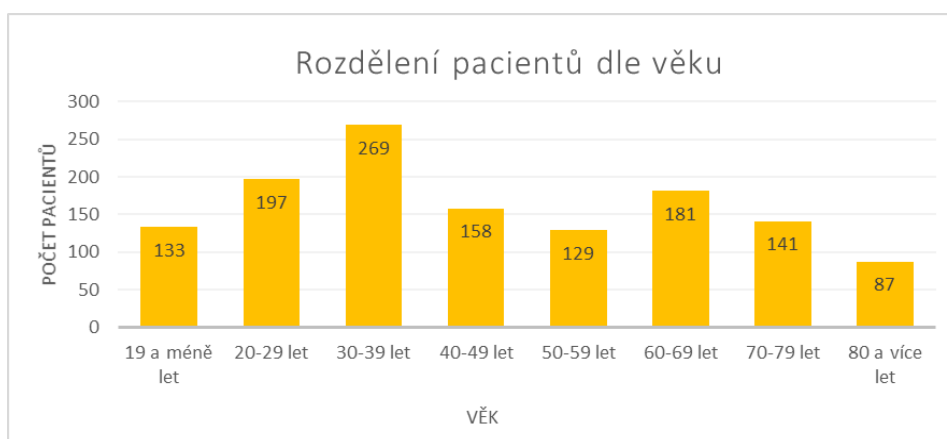
**Graf č. 2: Procentuální zastoupení pacientů rozdělených dle pohlaví za oba roky**

Z tabulky i grafu je patrné, že v roce 2019 bylo odebráno větší množství vzorků (53 %) než v roce 2018 (47 %). Většinu pacientů tvořily ženy, a to ze 63 %.

Dále byli pacienti rozděleni do osmi skupin dle věku, kterého dosahovali v momentě odběru vzorku. Ve věkové kategorii 19 a méně let to bylo 133 pacientů, v kategorii 20-29 let jich bylo více, a to 197. Věková skupina 30-39 let byla nejpočetnější skupinou tvořenou 269 pacienty. V kategorii 40-49 let bylo zaznamenáno 158 pacientů. 129 pacientů bylo zařazeno do skupiny 50-59 let. Do věkové kategorie 60-69 let bylo zahrnuto celkem 181 pacientů. Předposlední věková skupina zahrnovala 141 pacientů. Nejméně početnou skupinu tvořila poslední věková kategorie, 80 a více let, do které spadalo pouze 87 pacientů (viz Tabulka č. 3 a Graf č. 3).

Rozdělení pacientů do věkových skupin								
věk	19 a méně let	20-29 let	30-39 let	40-49 let	50-59 let	60-69 let	70-79 let	80 a více let
počet pacientů	133	197	269	158	129	181	141	87
procent	10,27%	15,21%	20,77%	12,20%	9,96%	13,98%	10,89%	6,72%

**Tabulka č. 3: Rozdělení pacientů do věkových skupin**



**Graf č. 3: Rozdělení pacientů dle věku**

Důvodem, proč je nevíce zastoupenou věkovou skupinou právě kategorie 30-39 let je fakt, že většinu tvoří gravidní ženy, kterým byl prováděn GBS screening.

Odebraný biologický materiál byl rozdělen do několika kategorií (viz Tabulka č. 4 a Graf č. 4).

Kategorii kožní vyšetření tvoří 210 odebraných vzorků, což činí 12,97 % z celkového počtu. Jednalo se o následující kultivace vzorků: kultivace z kůže, dekubitu, bércového vředu, defektu, rány, abscesu, výtěru z pravého nebo levého zvukovodu, stěru z pupku, stěru ke hemokultuře a aerobní a anaerobní kultivace z dekubitu nebo píštěle.

206 (12,72 % z celkového počtu) vzorků bylo zařazeno do kategorie vyšetření dýchací soustavy. Jedná se o kultivace sputa, tracheálního aspirát, tracheálního výtěru, bronchoalveolární laváže, výplachu z bronchu, výtěru z laryngu, nasopharyngu nebo nosu.

Kultivace moče, moče z nefrostomie, z katetru, cévkované moče, moče z permanentní cévky a kultivaci výtěru z uretry tvoří kategorii vyšetření vylučovací soustavy. V této kategorii bylo napočítáno nejvíce vzorků, a to 389, což tvoří 24,03 % z celkového počtu odebraných vzorků.

Kultivace výtěru z rekta pro své značné zastoupení tvoří samostatnou kategorii. Jedná se o běžnou, aerobní a anaerobní kultivaci výtěru z rekta a screeningové vyšetření výtěru z rekta. Bylo vykultivováno 199 odebraných vzorků tvořících 12,29 % z celkového počtu.

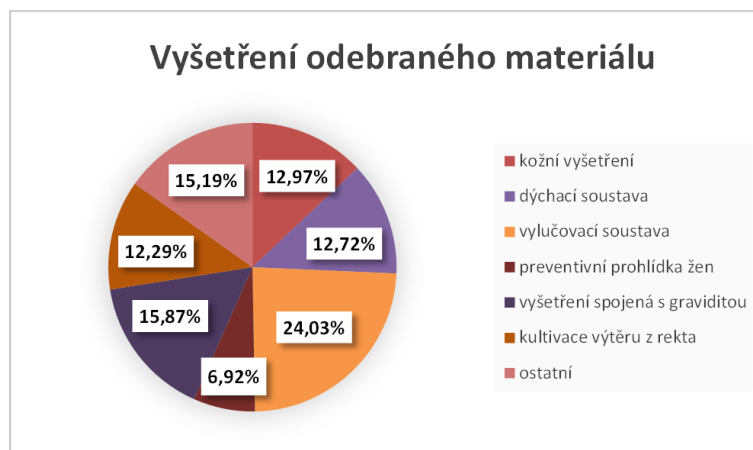
V kategorii preventivní prohlídka žen jsou zahrnuta vyšetření prováděná gynekologem. Jedná se o kultivace výtěru z cervixu a z vagíny. Kategorie obsahuje 112 vyšetřovaných vzorků, což odpovídá 6,92 %.

Do kategorie vyšetření související s graviditou a porodem byla zařazena kultivace výtěru z vagíny, cervixu, anaerobní a aerobní kultivaci plodové vody, kultivace stěru (např. z lochie, placenty et al.) a screening GBS. Obsahuje 257 vyšetřovaných vzorků. Jedná se o druhou nejpočetnější skupinu, která tvoří 15,87 % z celkového počtu.

Kategorie „ostatní“ zahrnuje zbylé kultivace, jako je dětská hemokultivace, aerobní a anaerobní hemokultivace u dospělých, kultivace jiného hemokultivačního materiálu, žaludeční laváže, punktátu, kloubního punktátu, likvoru, tekutiny blíže neurčené, hnisu, ejakulátu, ascites, savky, výtěru z oka, z laryngu, kultivace stěru blíže neurčeného, aerobní a anaerobní kultivace likvoru, screening MRSA a identifikace neznámého kmene. Celkový počet vyšetřovaných vzorků v této kategorie byl 246, což činí 15,19 % z celkového počtu.

<b>Vyšetření odebraného materiálu</b>			
<b>Název vyšetření</b>	<b>Počet</b>	<b>% z celkového počtu</b>	<b>Celkem</b>
kožní vyšetření	210	12,97%	1619
vyšetření dýchací soustavy	206	12,72%	
vyšetření vylučovací soustavy	389	24,03%	
preventivní prohlídka žen	112	6,92%	
vyšetření spojená s graviditou	257	15,87%	
kultivace výtěru z rekta	199	12,29%	
ostatní	246	15,19%	

**Tabulka č. 4: Vyšetření odebraného materiálu**



**Graf č. 4: Vyšetření odebraného materiálu**

## **4.2 Rezistence *S. agalactiae* k jednotlivým ATB v celém souboru**

Soubor vyšetření je nejprve zpracován jako celek. Dále je sledována rezistence *S. agalactiae* ve dvou skupinách. První skupinu tvoří ženy, které byly vyšetřovány v souvislosti s graviditou (sk. A). Druhá skupina zahrnuje ostatní vyšetřované pacienty (sk. B).

V letech 2018-2019 bylo odebráno a vyšetřeno celkem 1619 vzorků od 1295 pacientů. Jelikož někteří pacienti měli více odebraných vzorků, je potřeba zjistit, jestli má či nemá přítomnost duplicitních vyšetření zásadní vliv na vyhodnocení rezistence *S. agalactiae* k antibiotikům.

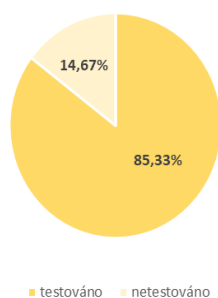
### **4.2.1 Počet vzorků a pacientů testovaných na citlivost k ATB**

Z celkového počtu odebraných vzorků (1619) byla stanovena citlivost mikroba k antibiotikům pouze u 1355 (83,69 %). Tyto testované vzorky pocházely od 1105 pacientů, což odpovídá 85,33 % pacientů z celkového počtu (Tabulka č. 5 a Graf č. 5).

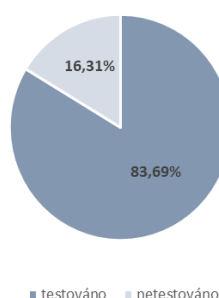
Počet a procentuální zastoupení pacientů a vzorků testovaných na citlivost k ATB				
Testování na citlivost	Pacienti	%	Vzorky	%
testováno	1105	85,33%	1355	83,69%
netestováno	190	14,67%	264	16,31%
celkem	1295	100,00%	1619	100,00%

**Tabulka č. 5: Počet a procentuální zastoupení pacientů a vzorků testovaných na citlivost k ATB**

Testování pacientů na citlivost k ATB



Testování vzorků na citlivost k ATB



**Graf č. 5: Testování pacientů (vlevo) a vzorků (vpravo) na citlivost k ATB**

#### 4.2.2 Vyhodnocení rezistence

Vykultivované kmeny *S. agalactiae* byly testovány k těmto ATB: erytromycin, chloramfenikol, clindamycin, kombinace trimethoprimu a sulfonamidu, nitrofurantoin, penicilin, tetracyklin, vankomycin a linezolid. Výsledky byly zpracovány do tabulky (viz Tabulka č. 6).

V případě erytromycinu byla citlivost sledována u všech 1355 vzorků. 463 (34,17 %) kmenů vykazovalo rezistenci k erytromycinu. Dalším použitým ATB byl chloramfenikol. Citlivost byla otestována u všech 1355 vzorků. Rezistenci vykazovalo 32 (2,36 %) vykultivovaných kmenů. Citlivost ke clindamycinu byla otestována u 1355 vzorků. Rezistence byla prokázána u 433 (31,96 %) kmenů. V případě kombinace ATB trimethoprimu a sulfonamidu vykazovalo rezistenci celkem 54 (3,99 %) kmenů ze 1355 testovaných. Rezistence k nitrofurantoinu byla prokázána u 8 (1,11 %) ze 721 testovaných kmenů. Citlivost k penicilinu byla sledována u 1355 vzorků. Rezistence byla prokázána u 3 (0,22 %) vykultivovaných kmenů.



V případě tetracyklinu bylo otestováno všech 1355 vzorků, z toho u 993 (73,28 %) kmenů byla zaznamenána rezistence. Posledními antibiotiky, jsou vankomycin a linezolid. Citlivost k vankomycinu byla testována pouze u 23 vzorků a k linezolidu u 28 vzorků. V případě obou antibiotik nebyla zaznamenána žádná rezistence.

Počet a procentuální zastoupení vzorků testovaných na citlivost k danému ATB - SOUHRN									
	erytromycin	chloramfenikol	clindamycin	trimethoprim+sulfonamid	nitrofurantoin	penicilin	tetracyklin	vankomycin	linezolid
citlivý	874	1323	922	1273	713	1352	289	23	28
rezistentní	463	32	433	54	8	3	993	0	0
intermediární	18	0	0	28	0	0	73	0	0
netestováno	0	0	0	0	634	0	0	1332	1327
celk. počet test. na dané ATB	1355	1355	1355	1355	721	1355	1355	23	28
z toho citlivých	64,50%	97,64%	68,04%	93,95%	98,89%	99,78%	21,33%	100,00%	100,00%
z toho rezistentních	34,17%	2,36%	31,96%	3,99%	1,11%	0,22%	73,28%	0,00%	0,00%
z toho intermediárních	1,33%	0,00%	0,00%	2,06%	0,00%	0,00%	5,39%	0,00%	0,00%

Tabulka č. 6: Počet a procentuální zastoupení vzorků testovaných na citlivost k danému ATB - SOUHRN

#### 4.2.3 Vyhodnocení rezistence po odebrání duplicitních vyšetření

Některým pacientům byla prováděna vyšetření stejného biologického materiálu opakovaně a ve spoustě případů i se stejným výsledkem citlivosti k antibiotikům. Takovéto shodné výsledky vyšetření lze považovat za duplicitní údaj, který při celkovém zhodnocení rezistence *S. agalactiae* k ATB může způsobit zkreslení, a proto je žádoucí duplicitní vyšetření odebrat a nezapočítávat jej do vyhodnocení. Jako příklad lze uvést skutečnost, že pacientovi bylo prováděno vyšetření moči šestkrát, z toho třikrát se stejným výsledkem citlivosti k ATB. Dva z těchto tří stejných výsledků byly považovány za duplicitní, a proto byly ze souboru dat odstraněny. Po odebrání duplicitních dat zůstalo pro vyhodnocení rezistence *S. agalactiae* k ATB celkem 1235 vzorků od 1105 pacientů (viz Tabulka č. 7).

V případě erytromycinu byla testována citlivost u všech 1235 vzorků, z toho u 414 (33,52 %) kmenů byla zaznamenána rezistence. Dalším použitým ATB byl chloramfenikol. Stanovení citlivosti bylo provedeno u všech 1235 vzorků, z toho 31 (2,51 %) kmenů vykazovalo rezistenci. V případě clindamycinu bylo otestováno všech 1235 vzorků. Rezistence byla zaznamenána u 387 (31,34 %) kmenů. Dále byla použita

kombinace ATB trimethoprimu a sulfonamidu. Ze 1235 otestovaných vzorků vykazovalo rezistenci 54 (4,37 %) kmenů. V případě nitrofurantoinu bylo otestováno celkem 642 vzorků. Rezistence byla zaznamenána u 8 (1,25 %) kmenů. Citlivost k penicilinu byla testována u všech 1235 vzorků. U 3 (0,24 %) kmenů byla prokázána rezistence. V případě tetracyklinu vykazovalo rezistenci 906 (73,36 %) kmenů ze 1235 testovaných. Posledními ATB, u nichž byla sledována citlivost, jsou linezolid a vankomycin. Citlivost k vankomycinu byla stanovena u 21 a v případě linezolidu u 26 kmenů. V obou případech nebyla zaznamenána žádná rezistence.

Počet a procentuální zastoupení vzorků testovaných na citlivost k danému ATB - BEZ DUPLICIT									
	erytromycin	chloramfenikol	dindamycin	trimethoprim+sulfonamid	nitrofurantoin	penicilin	tetracyklin	vankomycin	linezolid
citlivý	803	1204	848	1153	634	1232	259	21	26
rezistentní	414	31	387	54	8	3	906	0	0
intermediární	18	0	0	28	0	0	70	0	0
netestováno	0	0	0	0	593	0	0	1214	1209
celk. počet testovaných	1235	1235	1235	1235	642	1235	1235	21	26
z toho citlivých	65,02%	97,49%	68,66%	93,36%	98,75%	99,76%	20,97%	100,00%	100,00%
z toho rezistentních	33,52%	2,51%	31,34%	4,37%	1,25%	0,24%	73,36%	0,00%	0,00%
z toho intermediárních	1,46%	0,00%	0,00%	2,27%	0,00%	0,00%	5,67%	0,00%	0,00%

**Tabulka č. 7: Počet a procento vzorků testovaných na citlivost k danému ATB – BEZ DUPLICIT**

Důvodem, proč počet testovaných vzorků na citlivost k linezolidu a vankomycinu byl tak nízký je fakt, že tato ATB slouží pouze jako „rezervní“. Používají se pouze v případech, kdy mikrob vykazuje rezistenci k běžně používaným ATB, která lékař zvolí pro léčbu. Jedná se zejména o těžké infekce.

#### 4.2.4 Porovnání výsledků rezistence před a po odebrání duplicitních dat

Při porovnání procentuálních výsledků rezistence před a po odstranění duplicitních dat nebyla nalezena žádná hodnota převyšující hranici 1 % (viz Tabulka č. 8). Maximální rozdíl mezi dvěma porovnávanými hodnotami byl 0,65 %, a to v případě rezistence *S. agalactiae* k erytromycinu. Naopak nejmenší rozdíl hodnot (mimo hodnoty, u nichž nedošlo k žádné změně) byl zaznamenán v případě rezistence

k penicilinu, a to 0,02 %. Nulový rozdíl jsem zaznamenala v případě vankomycinu a linezolidu.

Porovnání procentuálních výsledků rezistence			
Antibiotikum	Před odstraněním duplicit	Po odstranění duplicit	Rozdíl
erytromycin	34,17%	33,52%	0,65%
chloramfenikol	2,36%	2,51%	0,15%
clindamycin	31,96%	31,34%	0,62%
trimethoprim+sulfonamid	3,99%	4,37%	0,38%
nitrofurantoin	1,11%	1,25%	0,14%
penicilin	0,22%	0,24%	0,02%
tetracyklin	73,28%	73,36%	0,08%
vankomycin	0,00%	0,00%	0,00%
linezolid	0,00%	0,00%	0,00%

**Tabulka č. 8: Porovnání procentuálních výsledků rezistence**

Závěrem tedy lze říct, že přítomnost duplicitních vzorků nehraje zásadní roli v ovlivnění výsledků rezistence *S. agalactiae* k uvedeným antibiotikům. Nebyly zaznamenány významné rozdíly mezi porovnávanými hodnotami. Pro další práci se souborem není tedy nezbytné odstranit duplicitní vyšetření.

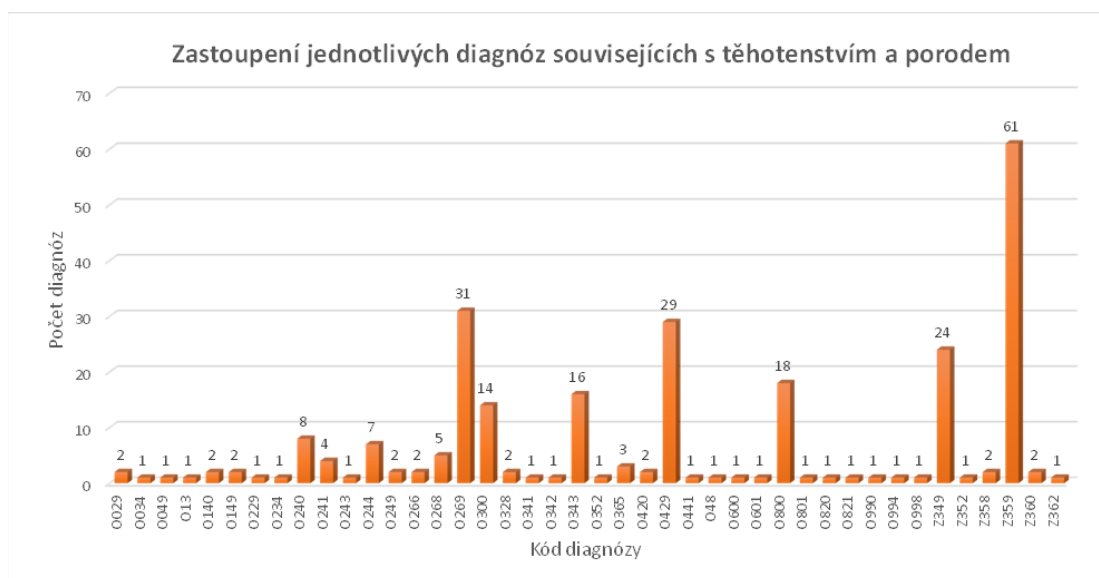
## 4.3 Rezistence *S. agalactiae* k jednotlivým ATB v souboru pacientek vyšetřovaných v souvislosti s graviditou (sk. A)

### 4.3.1 Základní informace

Do souboru byly zahrnuty všechny ženy s diagnózou týkající se těhotenství nebo porodu. Jedná se o diagnózy O029-O998 a Z349-Z362. Přehled jednotlivých diagnóz, jejich počet a procentuální zastoupení zobrazuje Tabulka č. 9 a Graf č. 6.

<b>Přehled a počet jednotlivých diagnóz souvisejících s těhotenstvím a porodem</b>			
<b>Kód diagnózy</b>	<b>Název diagnózy</b>	<b>Počet</b>	<b>Procenta</b>
O029	Jiné anomálie plodového vejce, NS	2	0,77%
O034	Neúplný potrat bez komplikací	1	0,39%
O049	Úplný nebo neurčený potrat bez komplikací	1	0,39%
O13	Gestační hypertenze bez významné proteinurie	1	0,39%
O140	Střední preeklampsie	2	0,77%
O149	Preeklampsie, NS	2	0,77%
O229	Žilní komplikace v těhotenství, NS	1	0,39%
O234	Neurčené infekce močové soustavy v těhotenství	1	0,39%
O240	Dříve existující diabetes mellitus, závislý na podávání insulínu	8	3,09%
O241	Dříve existující diabetes mellitus, nezávislý na podávání insulínu	4	1,54%
O243	Dříve existující diabetes mellitus, NS	1	0,39%
O244	Diabetes mellitus vzniklý v těhotenství	7	2,70%
O249	Diabetes mellitus v těhotenství, NS	2	0,77%
O266	Poruchy jater v těhotenství, při porodu a v šestinedělí	2	0,77%
O268	Jiné určené stavy spojené s těhotenstvím	5	1,93%
O269	Stavy spojené s těhotenstvím NS	31	11,97%
O300	Těhotenství dvojčetné	14	5,41%
O328	Péče o matku pro jinou rizikovou či patologickou polohu plodu	2	0,77%
O341	Péče o matku pro nádor těla děložního	1	0,39%
O342	Péče o matku pro jizvu dělohy po předcházející operaci	1	0,39%
O343	Péče o matku pro inkompetenci hrdla děložního	16	6,18%
O352	Péče o matku pro (podezření) vrozené nemoci plodu	1	0,39%
O365	Péče o matku pro nízkou hmotnost plodu	3	1,16%
O420	Předčasné porušení plodových blan se začátkem porodu do 24 hodin	2	0,77%
O429	Předčasné porušení plodových blan, NS	29	11,20%
O441	Placenta praevia s krvácením	1	0,39%
O48	Prodloužené těhotenství	1	0,39%
O600	Předčasný porod	1	0,39%
O601	Předčasný porod	1	0,39%
O800	Spontánní porod záhlavím	18	6,95%
O801	Spontánní porod koncem pánevním	1	0,39%
O820	Plánovaný císařský řez	1	0,39%
O821	Neodkladný (krizový) císařský řez	1	0,39%
O990	Anémie komplikující těhotenství, porod a šestinedělí	1	0,39%
O994	Nemoci oběhové soustavy komplikující těhotenství, porod a šestinedělí	1	0,39%
O998	Jiné určené nemoci a stavy komplikující těhotenství, porod a šestinedělí	1	0,39%
Z349	Dohled nad normálním těhotenstvím, NS	24	9,27%
Z352	Dohled nad těhotenstvím s jinou nepříznivou reprodukční porodnickou anamnézou	1	0,39%
Z358	Dohled nad jinými vysoce rizikovými těhotenstvími	2	0,77%
Z359	Dohled nad vysoce rizikovým (ohroženým) těhotenstvím, NS	61	23,55%
Z360	Přeporodní screening chromosomálních anomálií	2	0,77%
Z362	Jiný předporodní screening založený na amniocentéze	1	0,39%
<b>Celkem stanovených diagnóz</b>		<b>259</b>	<b>100,00%</b>

**Tabulka č. 9: Přehled a počet jednotlivých diagnóz souvisejících s těhotenstvím a porodem**



**Graf č. 6: Zastoupení jednotlivých diagnóz souvisejících s těhotenstvím a porodem**

V souboru vyšetřených vzorků bylo v letech 2018-2019 uvedeno u 248 žen celkem 259 diagnóz (42 druhů). Některým ženám bylo odebráno a vyšetřeno více než jeden vzorek. 11 žen bylo vyšetřeno v obou rocích. Nejčastěji zastoupenou diagnózou byla dg. Z359 – Dohled nad vysoce rizikových (ohroženým) těhotenstvím, NS, a to u 61 (23,55 %) případů.

Pacientkám byla provedena následující vyšetření: screeningové vyšetření GBS – vaginorektální screening, kultivace výtěru z cervixu, vagíny, laryngu, vyšetření moči, aerobní a anaerobní kultivace plodové vody, kultivace stěru (např. z placenty). Přehled a procentuální zastoupení provedených vyšetření zobrazuje Tabulka č. 10.

Počet a procentuální zastoupení provedených vyšetření		
Název vyšetření	Počet	Procentuální zastoupení
Screeningové vyšetření GBS – vaginorektální screening	197	76,06 %
Kultivace výtěru z vagíny	51	19,69 %
Kultivace výtěru z cervixu	1	0,39 %
Kultivace výtěru z laryngu	1	0,39 %
Vyšetření moče	1	0,39 %
Aerobní a anaerobní kultivace plodové vody	2	0,77 %
Kultivace stěru	6	2,32 %
<b>Celkem</b>	<b>259</b>	<b>100,00 %</b>

**Tabulka č. 10: Počet a procentuální zastoupení provedených vyšetření**

Nejčastějším prováděným vyšetřením byl vaginorektální výtěr, a to v 197 případech, což činí 76,06 % z celkového počtu prováděných vyšetření u těhotných žen a rodiček. Druhým nejčastějším vyšetřením byla kultivace výtěru z vagíny, a to u 51 (19,69 %) případů.

Vaginorektální screening na přítomnost *S. agalactiae* se rutinně provádí u gravidních žen ve 35-37. týdnu těhotenství, a to za účelem včasného zachytu tohoto mikroba v porodních cestách (a rektu). Screening GBS přispívá ke snížení rizika nákazy novorozence během porodu.

#### **4.3.2 Rezistence k ATB**

Citlivost k ATB byla sledována u 258 vzorků odebraných od 248 gravidních žen. Výsledky stanovení citlivosti k ATB v této skupině pacientek jsou zobrazeny v tabulce (viz Tabulka č. 11).

V případě erytromycinu bylo testováno všech 258 vzorků, z toho u 68 (26,36 %) kmenů byla prokázána rezistence. Na citlivost k chloramfenikolu byl otestován plný počet vzorků (258). Rezistenci vykazovalo 6 (2,33 %) kmenů. Třetím ATB, u kterého byla sledována citlivost, je clindamycin. Z celkového počtu otestovaných vzorků (258) byla u 59 (22,87 %) kmenů zaznamenána rezistence. V případě kombinace antibiotik trimethoprimu a sulfonamidu bylo otestováno celkem 258 vzorků, z toho u 9 (3,49 %) kmenů byla prokázána rezistence. Na citlivost k nitrofurantoinu bylo testováno pouze 220 vzorků. Rezistence byla zaznamenána pouze v 1 případě (0,45 %). Citlivost k penicilinu byla stanovena u všech 258 vzorků. Rezistenci vykazoval pouze 1 vzorek (0,39 %). V případě tetracyklinu bylo otestováno všech 258 vzorků, z čehož u 192 (74,42 %) kmenů byla zaznamenána rezistence.

Počet a procentuální zastoupení vzorků testovaných na citlivost k danému ATB - sk. A							
	erytromycin	chloramfenikol	clindamycin	trimethoprim+sulfonamid	nitrofurantoin	penicilin	tetracyklin
citlivý	190	252	199	246	219	257	54
rezistentní	68	6	59	9	1	1	192
intermediární	0	0	0	3	0	0	12
netestováno	0	0	0	0	38	0	0
celk. počet testovaných	258	258	258	258	220	258	258
z toho citlivých	73,64%	97,67%	77,13%	95,35%	99,55%	99,61%	20,93%
z toho rezistentních	26,36%	2,33%	22,87%	3,49%	0,45%	0,39%	74,42%
z toho intermediárních	0,00%	0,00%	0,00%	1,16%	0,00%	0,00%	4,65%

**Tabulka č. 11: Počet a procentuální zastoupení vzorků testovaných na citlivost k danému ATB – sk. A**

#### **4.4 Rezistence *S. agalactiae* k jednotlivým ATB v souboru ostatních vyšetřovaných pacientů (sk. B)**

Tento soubor zahrnuje data od všech pacientů, kromě pacientek vyšetřovaných v souvislosti s graviditou – sk. A. Citlivost byla stanovena u 1097 vzorků odebraných od 889 pacientů. Výsledky rezistence poslouží k porovnání s výsledky rezistencí u sk. A.

Na citlivost k erytromycinu bylo testováno 1097 kmenů, z toho u 395 (36,01 %) kmenů byla zjištěna rezistence. V případě chloramfenikolu byla zjištěna rezistence u 26 (2,37 %) kmenů, z celkového počtu 1097 testovaných. Dalším ATB používaným pro diagnostiku je clindamycin. V tomto případě bylo na citlivost testováno všech 1097 odebraných vzorků, z toho byla u 374 (34,09 %) kmenů prokázána rezistence. Na citlivost ke kombinaci ATB trimethoprimu a sulfonamidu byl testován plný počet vzorků. Rezistenci vykazovalo 45 (4,10 %) kmenů. V případě nitrofurantoinu bylo testováno pouze 501 kmenů. U 7 (1,40 %) kmenů byla prokázána rezistence. Rezistence k penicilinu byla zaznamenána pouze u 2 (0,18 %) kmenů, z celkového počtu 1097 testovaných. V případě tetracyklinu bylo otestováno plný počet vzorků. Rezistence byla prokázána u 801 (73,02 %) kmenů. Předposledním ATB používaným pro diagnostiku je vankomycin. Citlivost byla sledována pouze u 23 vzorků. Rezistence nebyla prokázána. V případě linezolidu bylo testováno pouze 28 kmenů, z nichž žádný nevykazoval rezistenci. Výsledky jsou zpracovány v tabulce (Tabulka č. 12).

Počet a procentuální zastoupení vzorků testovaných na citlivost k danému ATB - sk. B									
	erytromycin	chloramfenikol	clindamycin	trimethoprim+sulfonamid	nitrofurantoin	penicilin	tetracyklin	vankomycin	linezolid
citlivý	684	1071	723	1027	494	1095	235	23	28
rezistentní	395	26	374	45	7	2	801	0	0
intermediární	18	0	0	25	0	0	61	0	0
netestováno	0	0	0	0	596	0	0	1074	1069
celk. počet testovaných	1097	1097	1097	1097	501	1097	1097	23	28
z toho citlivých	62,35%	97,63%	65,91%	93,62%	98,60%	99,82%	21,42%	100,00%	100,00%
z toho rezistentních	36,01%	2,37%	34,09%	4,10%	1,40%	0,18%	73,02%	0,00%	0,00%
z toho intermediárních	1,64%	0,00%	0,00%	2,28%	0,00%	0,00%	5,56%	0,00%	0,00%

Tabulka č. 12: Počet a procentuální zastoupení testovaných vzorků na citlivost k ATB – sk. B

## 4.5 Porovnání výsledků rezistence

### 4.5.1 Porovnání výsledků rezistence sk. A s výsledky sk. B

Cílem této části je porovnat výsledky rezistence u gravidních žen (sk. A) a ostatních testovaných jedinců (sk. B) a zjistit, jestli existují významné rozdíly v rezistenci k jednotlivým ATB mezi těmito dvěma skupinami. V případě gravidních žen bylo odebráno 258 vzorků od 248 žen. Zbylé vzorky (1097) byly odebrány 889 pacientům. Přehled hodnot je zobrazen v tabulce (Tabulka č. 13).

Porovnání výsledků rezistence u gravidních žen s výsledky ostatních jedinců (v %)			
antibiotikum	gravidní ženy	ostatní	rozdíl
erytromycin	26,36%	36,01%	9,65%
chloramfenikol	2,33%	2,37%	0,04%
clindamycin	22,87%	34,09%	11,22%
trimethoprim+sulfonamid	3,49%	4,10%	0,61%
nitrofurantoin	0,45%	1,40%	0,95%
penicilin	0,39%	0,18%	0,21%
tetracyklin	74,42%	73,02%	1,40%
vankomycin	netestováno	0,00%	nelze vyhodnotit
linezolid	netestováno	0,00%	nelze vyhodnotit

Tabulka č. 13: Porovnání výsledků rezistence u gravidních žen s výsledky ostatních jedinců

Ve většině případů byl u gravidních žen zaznamenán nižší výskyt rezistence *S. agalactiae* k ATB než u ostatních pacientů, a to konkrétně v případě antibiotik erytromycinu, chloramfenikolu, clindamycinu, trimethoprimu + sulfonamidu



a nitrofurantoinu. Vyšší výskyt rezistence byl zaznamenán u penicilinu a tetracyklinu. Kmeny vykultivované u gravidních žen nebyly testovány na citlivost k vankomycinu a linezolidu. Z toho důvodu nemůžeme rozdíl v rezistenci vyhodnotit.

U většiny testovaných ATB rozdíl hodnot nepřekročil hranici 1 %. Nemůžeme tak s jistotou tvrdit, že by daná skupina pacientů vykazovala vyšší rezistenci ke konkrétnímu ATB. Pouze v případě erytromycinu a clindamycinu byl rozdíl hodnot značný (erytromycin 9,65 % a clindamycin 11,22 %). V tomto případě můžeme tvrdit, že kmeny získané od gravidních žen jsou méně rezistentní k erytromycinu a clindamycinu než kmeny nalezené u ostatních jedinců (sk.B).

## 5. DISKUSE

*Streptococcus agalactiae* je významným patogenem způsobující závažná onemocnění především u novorozenců. Cílem bakalářské práce bylo zjistit, do jaké míry je tento mikrob rezistentní k sledovaným ATB. A to nejprve v rámci celé sledované skupiny pacientů a následně u gravidních žen (sk. A) a ostatních testovaných pacientů (sk. B). V závěru experimentální části porovnat výsledky sk. A s výsledky sk. B.

Obsahem souboru získaného z ÚKM FNHK jsou záznamy vyšetřovaných pacientů, v jejichž odebraném materiálu byl vykultivován *S. agalactiae*. V letech 2018-2019 bylo vykultivováno 1619 kmenů od 1295 pacientů. Citlivost k ATB byla stanovena u 1355 vzorků od 1105 pacientů.

V rámci celé sledované skupiny pacientů byla zjištěna rezistence k erytromycinu u 34,17 %, k chloramfenikolu u 2,36 %, ke clindamycinu u 31,96 %, ke trimethoprimu + sulfonamidu u 3,99 %, k nitrofurantoinu u 1,11 %, k penicilinu u 0,22 %, k tetracyklinu u 73,28 %, k vankomycinu a linezolidu u 0,00 % izolátů.

V roce 2001 v Michiganu v USA bylo odebráno a testováno na citlivost k erytromycinu a clindamycinu 167 kmenů *S. agalactiae*. Rezistence byla prokázána v případě erytromycinu u 41,9 % a v případě clindamycinu u 40,7 % kmenů. [40] V porovnání s námi zjištěnými hodnotami jsou tyto hodnoty rezistence vyšší. V Německu byla od ledna do srpna roku 2001 zjišťována rezistence *S. agalactiae* k erytromycinu a clindamycinu. Rezistence k erytromycinu byla prokázána u 11 % kmenů a ke clindamicinu u 4,7 % kmenů. [41] Námi zaznamenaná rezistence byla vyšší. V průzkumu, který prováděla Mgr. Čekanová v Olomouci, byla zjištěna průměrná rezistence u vzorků vykultivovaných z vaginálních výtěrů a výtěrů z horních dýchacích cest za rok 2006. Zaznamenaná byla rezistence k erytromycinu u 25,8 %, u clindamycinu 24,1 % a v případě tetracyklinu u 82,9 % kmenů. [42] Námi zjištěné hodnoty rezistence k erytromycinu a clindamycinu byly vyšší, v případě tetracyklinu nižší (viz Tabulka č. 14).

V našem souboru v případě gravidních žen byla zjištěna rezistence k erytromycinu u 26,36 %, u chloramfenikolu 2,33 %, u clindamycinu 22,87 %, ke kombinaci antibiotik trimethoprimu a sulfonamidu u 3,49 %,

v případě nitrofurantoinu u 0,45 %, u penicilinu 0,39 % a k tetracyklinu u 74,42 % izolátů.

Od září roku 2001 do května roku 2002 probíhal výzkum nemocnicích v Českých Budějovicích a Praze. V rámci screeningu GBS bylo testováno 586 gravidních žen, z nichž u 172 byl prokázán pozitivní nález této bakterie ve vagině nebo rektu. U těchto žen byla zaznamenána rezistence k erytromycinu u 3,8 %, ke clindamycinu u 3,2 % a k tetracyklinu u 83,9 % vykultivovaných kmenů. [43] Námí zjištěná rezistence k erytromycinu a clindamycinu byla vyšší a k tetracyklinu nižší, v porovnání s hodnotami tohoto výzkumu. V Jimmě v Etiopii probíhala studie od července do prosince roku 2012. Během 35. – 37. týdnu těhotenství bylo testováno na přítomnost *S. agalactiae* ve vagině nebo rektu 126 pacientek, z čeho u 24 byl zaznamenán pozitivní nález. Byla zjištěna rezistence k erytromycinu u 6,5 %, ke clindamycinu u 3,2 % a k tetracyklinu u 45,2 % kmenů. [44] Rezistence ke všem sledovaným ATB byla nižší než hodnoty získané v našem výzkumu. Od května do srpna roku 2014 byl prováděn výzkum na třech zdravotnických klinikách (ALERT Center, Alem Bank a Woreda 03) ve městě Addis Ababa v Etiopii. 281 gravidních žen absolvovalo screening GBS. U 41 byl prokázán výskyt *S. agalactiae* ve vagině. Rezistence k erytromycinu u 7,5 %, ke clindamycinu u 26,8 % a k tetracyklinu u 90,2 % izolátů. [45] V porovnání s naším výzkumem byla rezistence u všech sledovaných ATB vyšší, kromě rezistence k erytromycinu (viz. Tabulka č. 14).

Porovnání výsledků rezistence				
Izoláty od celé testované populace				
Antibiotikum	Naše výsledky	Olomouc	Německo	Michigan (USA)
erytromycin	34,17%	25,80%	11,00%	41,90%
clindamycin	31,96%	24,10%	4,70%	40,70%
tetracyklin	73,28%	82,90%	netestováno	netestováno
Izoláty od gravidních žen (GBS screening)				
Antibiotikum	Naše výsledky	Č. Budějovice + Praha	Jimma (Etiopie)	Addis Ababa (Etiopie)
erytromycin	26,36%	3,80%	6,50%	7,50%
clindamycin	22,87%	3,20%	3,20%	26,80%
tetracyklin	74,42%	83,90%	45,20%	90,20%

Tabulka č. 14: Porovnání výsledků rezistence

## 6. ZÁVĚR

V rámci porovnání výsledků sk. A s výsledky sk. B nebyly ve většině případů zaznamenány významné rozdíly v rezistenci. Pouze v případě erytromycinu (ERY) a clindamycinu (CLI) byl rozdíl hodnot značný. Můžeme tak tvrdit, že kmeny izolované od gravidních žen jsou méně rezistentní k ERY a CLI než kmeny vykultivované od ostatních jedinců.

Při porovnání výsledků celkové rezistence u izolátů v našem souboru s výsledky rezistence průzkumů v ostatních laboratořích je patrné, že rezistence u izolátů z našeho souboru k erytromycinu a clindamycinu byla vyšší, a k tetracyklinu (TET) mírně nižší, oproti hodnotám z jiných průzkumů. Výjimku tvoří výzkum v Michiganu, kde byla zjištěna jak v případě ERY, tak CLI vyšší rezistence než v našem souboru.

V případě gravidních žen byla rezistence k ERY a CLI vyšší, v porovnání s výsledky ostatních průzkumů. Pouze v Addis Ababa (Etiopie) byla zjištěna vyšší rezistence ke CLI než při našem průzkumu. Vyšší rezistence k TET, než v našem průzkumu byla zjištěna v Č. Budějovicích + Praze a v Addis Ababa. Naopak nižší rezistence k TET byla zaznamenána v Jimmě (Etiopie).

Nejvyšší míra rezistence v rámci všech testovaných jedinců byla zjištěna u ERY a CLI v Michiganu (USA) v roce 2001, a u TET v Olomouci v roce 2006. V případě gravidních žen byla zjištěna nejvyšší rezistence k ERY během našeho průzkumu, ke CLI a TET v Addis Ababa (Etiopie) v roce 2014.

Při porovnání výsledků rezistence zjištěných v Olomouci, Českých Budějovicích + Praze s výsledky našeho průzkumu byla během let zaznamenána stoupající rezistence k ERY a CLI, a naopak klesající rezistence k TET, a to jak u izolátů od celé sledované skupiny jedinců, tak od gravidních žen.

I přesto, že známe konkrétní hodnoty rezistence z jednotlivých průzkumů, nemůžeme stanovit definitivní závěr o vyšší či nižší rezistenci při porovnání našich výsledků s výsledky z jiných zemí. Prvním důvodem je fakt, že výzkumy proběhly ve většině případů před více než 10 lety. Pro lepší porovnatelnost bychom museli znát aktuálnější data. Druhým důvodem je rozdílná antibiotická politika zemí. V některých

zemích se stále antibiotika předepisují i v případech, kdy to není nezbytně nutné, nebo jsou volně prodejná, což vede ke zvyšování antibiotické rezistence. Jako příklad lze uvést hodnoty rezistence k ERY a CLI zjištěné při výzkumu v Německu a Michiganu v roce 2001. V Michiganu (USA) byly prokázány znatelně vyšší hodnoty rezistence než v Německu. Z toho můžeme vyvodit závěr takový, že v USA je pravděpodobně horší antibiotická politika než v Německu. Rezistence k tetracyklinu zjištěná v Etiopii naznačuje, že je toto ATB nejspíše lékem první volby, tudíž rezistence dosahuje vysokých hodnot.

V rámci boje proti antibiotické rezistenci se každý rok pořádá Evropský antibiotický den připadající na 18. listopad. Cílem je více vzdělat veřejnost v oblasti antibiotik a poučit ji o jejich správném užívání. Další příčinou zvyšování rezistence je z dlouhodobého hlediska i přizpůsobení se kmenů okolnímu prostředí.

## 7. POUŽITÉ ZKRATKY

**LIS** – Laboratorní informační systém

**FNHK** – Fakultní nemocnice Hradec Králové

**GBS** – Group B Streptococcus – streptokok skupiny B

**USA** – Spojené státy americké

**ATB** – antibiotika

**MHA** – Müller-Hintonové agar

**MIC** – minimální inhibiční koncentrace

**ÚKM** – Ústav klinické mikrobiologie

**CNS** – Central Nervous System-centrální nervový systém

**MRSA** – Meticilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*

**VRE** – Vankomycin-rezistentní enterokok

**i. v.** – intravenózně-nitrožilně

**p. o.** – per os – ústy

**tj.** – to je

**tzv.** – tak zvaný

**např.** – například

**atd.** – a tak dále

**dg.** – diagnóza

**celk.** – celkem

**sk.** – skupina

**ERY** – erytromycin

**CLI** – clindamycin

**TET** – tetracyklin

## 8. SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka č. 1: Počet vyšetřovaných vzorků v jednotlivých letech .....</i>	<i>35</i>
<i>Tabulka č. 2: Počet pacientů v jednotlivých letech rozdělený dle pohlaví.....</i>	<i>36</i>
<i>Tabulka č. 3: Rozdělení pacientů do věkových skupin.....</i>	<i>37</i>
<i>Tabulka č. 4: Vyšetření odebraného materiálu .....</i>	<i>38</i>
<i>Tabulka č. 5: Počet a procentuální zastoupení pacientů a vzorků testovaných na citlivost k ATB.....</i>	<i>40</i>
<i>Tabulka č. 6: Počet a procentuální zastoupení vzorků testovaných na citlivost k danému ATB - SOUHRN</i>	<i>41</i>
<i>Tabulka č. 7: Počet a procento vzorků testovaných na citlivost k danému ATB – BEZ DUPLICIT .....</i>	<i>42</i>
<i>Tabulka č. 8: Porovnání procentuálních výsledků rezistence .....</i>	<i>43</i>
<i>Tabulka č. 9: Přehled a počet jednotlivých diagnóz souvisejících s těhotenstvím a porodem .....</i>	<i>44</i>
<i>Tabulka č. 10: Počet a procentuální zastoupení provedených vyšetření.....</i>	<i>45</i>
<i>Tabulka č. 11: Počet a procentuální zastoupení vzorků testovaných na citlivost k danému ATB – sk. A... </i>	<i>47</i>
<i>Tabulka č. 12: Počet a procentuální zastoupení testovaných vzorků na citlivost k ATB – sk. B .....</i>	<i>48</i>
<i>Tabulka č. 13: Porovnání výsledků rezistence u gravidních žen s výsledky ostatních jedinců.....</i>	<i>48</i>
<i>Tabulka č. 14: Porovnání výsledků rezistence .....</i>	<i>51</i>

## 9. SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1 Streptococcus agalactiae [3]</i> .....	12
<i>Obr. 2 Pozitivní CAMP test (vlastní zdroj)</i> .....	15
<i>Obr. 3 ETEST® Telavancin [14]</i> .....	18



## 10. SEZNAM GRAFŮ

<i>Graf č. 1: Procentuální zastoupení počtu vzorků za jednotlivé roky .....</i>	<i>35</i>
<i>Graf č. 2: Procentuální zastoupení pacientů rozdělených dle pohlaví za oba roky .....</i>	<i>36</i>
<i>Graf č. 3: Rozdělení pacientů dle věku .....</i>	<i>37</i>
<i>Graf č. 4: Vyšetření odebraného materiálu.....</i>	<i>39</i>
<i>Graf č. 5: Testování pacientů (vlevo) a vzorků (vpravo) na citlivost k ATB.....</i>	<i>40</i>
<i>Graf č. 6: Zastoupení jednotlivých diagnóz souvisejících s těhotenstvím a porodem .....</i>	<i>45</i>

## 11. POUŽITÁ LITERATURA A INTERNETOVÉ ZDROJE

- [1] SIEGRIST, Jvo. Streptococci-Overview of Detection, Identification, Differentiation and Cultivation Techniques. In: *Sigmaaldrich.com* [online]. [cit. 27.2.2020]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/analytix/streptococci-overview.html>
- [2] ROTTA, Jiří et al. *Patogenní streptokoky*. 1.vydání. Praha: Avicenum, 1983. 285 s. ISBN-2-0859.823.
- [3] CDC. Streptococcus Laboratory: *Streptococcus agalactiae* [foto]. 2018. In: *Centers for Disease Control and Prevention* [online]. [cit. 19.8.2020]. Dostupné z: <https://www.cdc.gov/streplab/groupb-strep/index.html>
- [4] GREENWOOD, David et al. *Medical microbiology* [pdf]. Eighteen edition. Amsterdam: Elsevier, 2012. p. 190-191. [cit. 20.4.2020] ISBN: 978-0-443-10209-7.
- [5] HORÁČEK, Jiří et al. *Základy lékařské mikrobiologie*. 1. vydání. Praha: Karolinum, 2000. ISBN 80-246-0006-4.
- [6] EDWARDS, Morven S. a BAKER, Carol J. Streptococcus agalactiae (Group B Streptococcus). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases* [online]. Eighth Edition. W.B. Saunders, 2015, p. 2340-2348 [cit. 27.3.2020]. ISBN 9781455748013. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781455748013002034>
- [7] LOW, Donald E. Nonpneumococcal Streptococcal Infections, Rheumatic Fever. *Goldman's Cecil Medicine* [online]. 24th Edition. New York: Saunders, 2012, p. 1823-1829 [cit. 27.3.2020]. ISBN 978-1-4377-1604-7. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781437716047002980>
- [8] RAABE, Vanessa N. a SHANE, Andi L. Group B Streptococcus (*Streptococcus agalactiae*). In: *Microbiology Spectrum* [online]. 2019, 7(2) [cit. 22.3.2020]. ISSN

2165-0497. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6432937/>

- [9] ARYAL, Sagar. CAMP Test-Principle, Procedure and Result Interpretation. *Microbe Notes-Online Microbiology and Biology Notes* [online]. 2017, [cit. 17.08.2020]. Dostupné z: <https://microbenotes.com/camp-test-principle-procedure-and-result-interpretation/>
- [10] SADER, Silva a PIGNATARI, Antonio Carlos Campos. E Test: a novel technique for antimicrobial susceptibility testing. *Sao Paulo Medical Journal* [online]. São Paulo, Oct./Dec. 1994, **112**(4) [cit. 20.8.2020]. ISSN 1806-9460. Dostupné z: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-31801994000400003](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-31801994000400003)
- [11] MUELLER, J. H. a HINTON, J. A. Protein-Free Medium for Primary Isolation of the Gonococcus and Meningococcus. *Experimental Biology and Medicine* [online]. 1941, **48**(1), p.330-333 [cit. 19.8.2020]. ISSN 1535-3702. Dostupné z: <http://ebm.sagepub.com/lookup/doi/10.3181/00379727-48-13311>
- [12] ARYAL, Sagar. Mueller Hinton Agar (MHA). *Microbe Notes-Online Microbiology and Biology Notes* [online]. August 2018 [cit. 19.08.2020]. Dostupné z: <https://microbenotes.com/mueller-hinton-agar-mha/>
- [13] ARYAL, Sagar. Epsilonometer test (E-test). *Microbe Notes-Online Microbiology and Biology Notes* [online]. February 2020 [cit. 20.08.2020]. Dostupné z: <https://microbenotes.com/epsilonometer-test-e-test/>
- [14] BIOMERIEUX. ETEST® Telavancin [foto]. In: *BIOMERIEUX* [online]. USA [cit. 20.8.2020]. Dostupné z: <https://www.biomerieux-usa.com/clinical/etest-tla>
- [15] ANDREWS, J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [online]. Oxford: Oxford University Press, July 2001, **48**(1), p.5-16 [cit. 24.8.2020]. ISSN 1460-2091. Dostupné z: [http://academic.oup.com/jac/article/48/suppl\\_1/5/24735/13/Determination-of-minimum-inhibitory-concentrations](http://academic.oup.com/jac/article/48/suppl_1/5/24735/13/Determination-of-minimum-inhibitory-concentrations)
- [16] Libre Texts. Minimal Inhibitory Concentration (MIC). *Microbiology (Boundless)* [online]. 2020, p. 672-674 [cit. 24.8.2020]. Dostupné z:

[https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Book%3AMicrobiology\\_\(Boundless\)/13%3A\\_Antimicrobial\\_Drugs/13.5%3A\\_Measuring\\_Drug\\_Susceptibility/13.5A%3A\\_Minimal\\_Inhibitory\\_Concentration\\_\(MIC\)](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Book%3AMicrobiology_(Boundless)/13%3A_Antimicrobial_Drugs/13.5%3A_Measuring_Drug_Susceptibility/13.5A%3A_Minimal_Inhibitory_Concentration_(MIC))

- [17] SIMON, Claus a STILLE Wolfgang. *Antibiotika v současné lékařské praxi*. Vyd. 1. čes. Praha: Grada, 1998. ISBN 80-716-9268-9.
- [18] NAGAO, Prescilla E. *Streptococcus agalactiae (Group B Streptococci)*. TANG, Yi-Wei, SUSSMAN, M a kol. In: *Molecular Medical Microbiology* [online]. Second Edition. Academic Press, 2015, p. 1751-1767 [cit. 4.11.2020]. ISBN 978-0-12-397169-2. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123971692000998>
- [19] PEIROTTI, M.G. et al. Group B Streptococcal Infections in Adults, Excluding Genital Infections. *Revista Argentina de Microbiología* [online]. Oct.-Dec. 2002, **34**(4), p.226-229 [cit. 20.3.2020]. ISSN: 0325-7541. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12600008/>
- [20] DESSI, A. et al. Neonatal sepsis. *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine* [online]. Hygeia press, 2014, **3**(2) [cit. 17.12.2020]. ISSN: 2281-0692. Dostupné z: <https://doi.org/10.7363/030273>
- [21] MACKO, J. a ZACH, J. Postup péče o novorozence *Streptococcus agalactiae* (GBS) negativních, pozitivních nebo nevyšetřených matek [pdf]. *Doporučené postupy v neonatologii – Česká neonatologická společnost České lékařské společnosti J.E.Purkyně*. 2006 [cit. 4.11.2020]. Dostupné také z: <http://www.neonatology.cz/upload/www.neonatology.cz/Legislativa/Postupy/gbsfinal.pdf>
- [22] HAEFNER, Hope K. a CRUM, Christopher P. Benign Conditions of the Vagina- Group B Streptococcus. *Diagnostic Gynecologic and Obstetric Pathology* [online]. Third Edition. Elsevier, 2018, p. 258-274 [cit. 4.11.2020]. ISBN: 978-0-323-44732-4. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/streptococcus-agalactiae>
- [23] CARBONI, F. a ADAMO, R. Structure-based glycoconjugate vaccine design: The example of Group B Streptococcus type III capsular polysaccharide. *Drug*

*Discovery Today: Technologies [online]*. Siena (Italy): Elsevier, 2020, p. 1-2 [cit. 17.12.2020]. ISSN 1740-6749. Dostupné z:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S174067492030024X#bib0030>

- [24] ŠTEFÁNEK, Jiří. Antibiotika-nežádoucí účinky. *Medicína, nemoci, studium na 1. LF UK* [online]. 2010 [cit. 23.9.2020]. Dostupné z: <https://www.stefajir.cz/antibiotika-nezadouci-ucinky>
- [25] LANGE-ERNST, Maria-Elisabeth. *Antibiotika: omyly a pravda: šance, rizika, alternativy*. Olomouc: Fontána, 2005. ISBN 80-733-6202-3.
- [26] VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. Brno: Neptun, 2001, s. 247. ISBN 80-902896-2-2
- [27] RAVIÑA, Enrique. *The evolution of drug discovery: from traditional medicines to modern drugs* [online]. Weinheim: Wiley-VCH, 2011, p.262 [cit. 2020-09-22]. ISBN 9783527326693. Dostupné z: <https://web.archive.org/web/20160809201757/https://books.google.ca/books?id=iDNy0XxGqT8C&pg=PA262>
- [28] American Society of Health-System Pharmacists. Ampicillin. In: *MedlinePlus: Trusted Health Information for you* [online]. Maryland, 2018, [cit. 21.9.2020]. Dostupné z: <https://medlineplus.gov/druginfo/meds/a685002.html>
- [29] MAGDESIAN, K. Gary. *Equine Pharmacology, an Issue of Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* [online]. Elsevier Health Sciences, 2017, p.59 [cit. 22.9.2020]. ISBN 978-0-323-52438-4
- [30] STEWART, Michael. Erythromycin: Erythrocin, Erythrolar, Erythroped. In: *Patient* [online]. UK, 2019 [cit. 22.9.2020]. Dostupné z: <https://patient.info/medicine/erythromycin-erythrocin-erythrolar-erythroped>
- [31] LINCOVÁ, Dagmar a FARGHALI, Hassan. *Základní a aplikovaná farmakologie*. 2. dopl. a přepracované. vyd. Praha: Galén, 2007. ISBN 978-80-7262-373-0.
- [32] LANGEROVÁ, Petra et al. Nežádoucí účinky léků specifické pro dětský věk [pdf]. *Klinická farmakologie a farmacie* [online]. Solen, 2011, **25**(3),

- s. 137-141 [cit. 23.9.2020]. ISSN 1803-5353. Dostupné z: <https://www.klinickaafarmakologie.cz/pdfs/far/2011/03/08.pdf>
- [33] ŠTEFÁNEK, Jiří. Clindamycin. In: *Medicína, nemoci, studium na 1. LF UK* [online]. 2010 [cit. 23.9.2020]. Dostupné z: <https://www.stefajir.cz/clindamycin>
- [34] OGBRU, Omudhome PharmDr. et al. Sulfonamides. In: *MedicineNet* [online]. 2019 [cit. 2.10.2020]. Dostupné z: <https://www.medicinenet.com/sulfonamides-oral/article.htm>
- [35] NHS. Trimethoprim. In: *NHS* [online]. UK, 2018 [cit. 30.9.2020]. Dostupné z: <https://www.nhs.uk/medicines/trimethoprim/>
- [36] ŠTEFÁNEK, Jiří. Triprim. In: *Medicína, nemoci, studium na 1. LF UK* [online]. 2010 [cit. 30.9.2020]. Dostupné z: <https://www.stefajir.cz/?q=triprim>
- [37] MLYNÁŘ, Petr Mgr. et al. Nitrofurantoin v současné terapii. *Educafarm FarmiNews* [online]. Praha: Edukafarm, 2010, **3**(2), s. 10-11 [cit. 2.10.2020]. ISSN 1213-1717. Dostupné z: <http://www.edukafarm.cz/soubory/farminews-2010/2/010-nitrofurantoin.pdf>
- [38] ROGER, C. et al. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Oxazolidinones. *Clinical Pharmacokinetics* [online]. 2018, **57**, p. 559-567, [cit. 15.12.2020]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s40262-017-0601-x>
- [39] VENTOLA, C.L. The Antibiotic Resistance Crisis: Part 1: Causes and Threats. *Pharmacy and Therapeutics* [online]. 2015, **40**(4), p. 277-283 [cit. 17.12. 2020]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4378521/>
- [40] BORCHARD, S.M. et al. Frequency of antimicrobial resistance among invasive and colonizing Group B Streptococcal isolates [pdf]. *BMC Infectious Diseases* [online]. BioMedCentral, 2006, **6**(57) [cit. 14.4.2021]. ISSN: 14712334. Dostupné z: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1471-2334-6-57.pdf>

- [41] SCHOENING, T.E. et al. Prevalence of erythromycin and clindamycin resistance among *Streptococcus agalactiae* isolates in Germany [pdf]. *Clinical Microbiology and Infection* [online]. ESCMID, 2005, **11**(7) p. 579-582 [cit. 14.4. 2021]. Dostupné z: <https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/action/showPdf?pii=S1198-743X%2814%2962180-7>
- [42] ČEKANOVÁ, L. a ZBOŘIL, V. Rezistence komunitních kmenů *Streptococcus agalactiae* k makrolidovým antibiotikům [pdf]. *Klinická Farmakologie a Farmacie* [online]. Solen, 2008, **22**(2), s. 55-57, [cit. 14.4.2021]. ISSN 1803 5353. Dostupné z: <https://www.klinickafarmakologie.cz/pdfs/far/2008/02/02.pdf>
- [43] MOTLOVÁ, J. et al. Vaginal & rectal carriage of *Streptococcus agalactiae* in the Czech Republic: Incidence, serotypes distribution & susceptibility to antibiotics. *The Indian journal of medical research* [online]. 2004, **119**, p. 84-87 [cit. 14.4.2021]. ISSN: 0971-5916. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/8476912\\_Vaginal\\_rectal\\_carriage\\_of\\_Streptococcus\\_agalactiae\\_in\\_the\\_Czech\\_Republic\\_Incidence\\_serotypes\\_distribution\\_susceptibility\\_to\\_antibiotics](https://www.researchgate.net/publication/8476912_Vaginal_rectal_carriage_of_Streptococcus_agalactiae_in_the_Czech_Republic_Incidence_serotypes_distribution_susceptibility_to_antibiotics)
- [44] MENGIST, A. et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of anorectal and vaginal group B *Streptococci* isolates among pregnant women in Jimma, Ethiopia [pdf]. *BMC Res Notes* [online]. BioMedCentral, 2016, **9**, p. 351, [cit. 14.4.2021]. ISSN: 17560500. Dostupné z: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4950240/pdf/13104\\_2016\\_Article\\_2158.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4950240/pdf/13104_2016_Article_2158.pdf)
- [45] ASSEFA, S. et al. Group B streptococci vaginal colonization and drug susceptibility pattern among pregnant women attending in selected public antenatal care centers in Addis Ababa, Ethiopia [pdf]. *BMC Pregnancy Childbirth* [online]. BioMedCentral, 2018, **18**(1), p.135 [cit. 14.4.2021]. ISSN: 1471-2393. Dostupné z: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5935928/pdf/12884\\_2018\\_Article\\_1791.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5935928/pdf/12884_2018_Article_1791.pdf)