UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Rezistence k antibiotikům u bakterie *Staphylococcus aureus*

TEREZA ŠVÁBOVÁ

Vedoucí bakalářské práce: Mgr. MARCELA VEJSOVÁ, Ph.D.

HRADEC KRÁLOVÉ, 2017/2018

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala své školitelce Mgr. Marcele Vejsové, Ph.D.

za její vstřícnost, trpělivost a cenné připomínky při zpracování této bakalářské práce.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorských 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, 10. května 2018

…….

Tereza Švábová

1. OBSAH

1. Obsah 4

2. Abstrakt 7

3. Abstract 8

4. Úvod 9

5. Zadání – cíl práce 10

6. Rod Staphylococcus 11

6.1 Charakteristika 11

6.2 Rozdělení 11

7. Staphylococcus aureus 12

7.1 Laboratorní diagnostika 12

7.1.1 Mikroskopie 12

7.1.2 Kultivace 13

7.1.3 Fenotypové metody identifikace 13

7.1.4 Genotypová identifikace 16

7.2 Testování antibiotické účinnosti 17

7.3 Antigenní struktura 18

7.3.1 Antigeny buněčné stěny 18

7.3.2 Extracelulární proteiny 20

7.4 Patogeneze 23

7.5 Výskyt a patogenita 25

7.6 Invazivní infekce 26

7.7 Toxinózy 29

7.8 Prevence a epidemiologie 30

8. Mrsa 31

8.1 CA-MRSA 32

8.2 HA-MRSA 33

8.2.1 Nozokomiální infekce 33

8.2.2 Preventivní a nápravná opatření při výskytu rezistentních kmenů 34

8.3 Podstata rezistence 35
8.4 Multirezistence 36
8.5 Výskyt MRSA v Evropě 37

9. Visa/Vrsa 37

10. Antibiotická terapie 38
10.1 Antimikrobní látky 38
10.2 Mechanismus účinku antibiotik 39
10.3 Rezistence 40
10.3.1 Mechanismus rezistence 41
10.3.2 Multirezistence, extenzivní rezistence a panrezistence 42
10.3.3 Perzistence, zkřížená a sdružená rezistence 42
10.4 Beta - laktámová antibiotika 43
10.4.1 Peniciliny 43
10.4.2 Cefalosporiny 44
10.4.3 Karbapenemy 45
10.4.4 Monobaktámy 46
10.5 Glykopeptidy a lipopetidy 46
10.6 Polypeptidy 47
10.7 Aminoglykosidy 47
10.8 Amfenikoly 48
10.9 MLS antibiotika 48
10.9.1 Makrolidy 48
10.9.2 Linkosamidy 49
10.9.3 Streptograminy 49
10.9.4 MLSb rezistence 50
10.10 Tetracykliny 50
10.11 Oxazolidinony 51
10.12 Antimikrobiální antagonisté kyseliny listové 51
10.13 Chinolony 52
10.14 Ansamyciny 53
10.15 Kyselina fusidová 53
10.16 Mupirocin 53

11. Použití antibiotik dle klinické indikace 54

12. Boj proti rezistenci 55

12.1 Vývoj nových antibiotik 56

12.2 Příprava nových vakcín 57

12.3 Hledání nových antibiotik v méně tradičních nebo netradičních zdrojích 58

12.4 Kombinace nových látek se stávajícími antibiotiky 59

12.5 Genové sekvence mikroorganismů 59

12.6 Zapomenutá antibiotika a jejich revitalizace 60

12.7 Nová zásahová místa 61

13. Diskuze 63

14. Závěr 73

15. Seznam obrázků 74

16. Seznam zkratek 75

17. Použitá literatura 79

17.1 Tištěné zdroje 79

17.2 Elektronické zdroje 80

2. ABSTRAKT

Autor: Tereza Švábová

Název práce: Rezistence k antibiotikům u bakterie Staphylococcus aureus

Bakalářská práce

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Studijní obor: Zdravotní laborant

Cíl práce: Bakalářská práce si klade za cíl, zabývat se bakterií Staphylococcus aureus, popsat její základní vlastnosti, laboratorní diagnostiku, antigenní strukturu a onemocnění, které způsobuje. Popsat druhy a mechanismy rezistence a antibiotickou terapii včetně mechanismů působení antibiotik. Větší pozornost je věnována kmenům MRSA (Methicilin rezistentní Staphylococcus aureus), jelikož je to jeden z největších problémů, co se rezistence týče.

Hlavní poznatky: V období před objevením antibiotik měly invazivní infekce způsobené S. aureus většinou fatální následky. Se zavedením antibiotik do praxe se znásobil problém rezistence. Výskyt MRSA byl v České republice největší v roce 2009 - 14,6 %. V roce 2014 byl výskyt MRSA 13 % a do dvou let došlo opět k mírnému zvýšení – 13,9 % v roce 2016 (ECDC, 2018). Volba antibiotika a způsob antibiotické léčby infekcí závisí na klinickém stavu nemocného, původci onemocnění včetně jeho citlivosti, základním onemocnění a vlastnostech antibiotika.

Závěry: Účinná prevence vzniku a šíření MRSA či jiných rezistentních kmenů vyžaduje striktní dodržování základních hygienicko - epidemiologických režimů a omezení nadbytečného užívání antibiotik. Kromě stávající antibiotické terapie existuje několik dalších možností v boji proti rezistenci, jako jsou např. vakcíny, nová zásahová místa pro antibiotika, chemická modifikace již existujících přípravků, využití zapomenutých přírodních sloučenin a jejich transformace.

Klíčová slova: Staphylococcus aureus, MRSA, antibiotika, rezistence.

3. ABSTRACT

Author: Tereza Švábová

Title: Resistance to antibiotics in Staphylococcus aureus

Bachelor thesis

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy, Hradec Králové

Field of study: Medical Laboratory

Background: The bachelor thesis aims at dealing with Staphylococcus aureus, describing its basic properties, laboratory diagnostics, antigenic structure and the diseases what it causes. Describe types and mechanisms of resistence, antibiotic therapy including mechanisms of antibiotic action. More attention is paid to the strains of MRSA (Methicillin resistant Staphylococcus aureus), because this is one of the biggest problems associated with resistance.

Main findings: In the period before to the discovery of antibiotics, invasive infections caused by S. aureus were mostly fatal. With the introduction of antibiotics into practice, the problem of resistance has multiplied. The occurrence of MRSA was the largest in 2009 at - 14.6% in the Czech Republic. In 2014, the occurrence of MRSA was 13%, and 2 years later, there was again a slight increase - 13.9% in 2016 (ECDC, 2018). The selection of antibiotic and the method of antibiotic treatment of infections depend on the clinical condition of the patient, the agent of the disease including its sensitivity, the underlying disease and the properties of the antibiotic.

Conclusions: Effective prevention of the emergence and spread of MRSA or other resistant strains requires strict adherence to basic hygienic - epidemiological regimes and the limitation of excessive use of antibiotics. In addition to existing antibiotic therapy, there are several other options to combat resistance such as vaccines, new antibiotic intervention sites, chemical modification of existing products, use of forgotten natural compounds and their transformation.

Keywords: Staphylococcus aureus, MRSA, antibiotics, resistance

4. ÚVOD

Staphylococcus aureus je grampozitivní bakterie patřící do rodu stafylokoků, kterou v roce 1880 objevil skotský chirurg Alexander Ogston v hnisu z otevřených poranění. *S. aureus* neboli zlatý stafylokok může být normální součástí bakteriální flóry nosu a ústní dutiny, 20-40 % lidí je bezpříznakovými nosiči této bakterie. Nicméně stafylokoky mohou vyvolat i prudké, život ohrožující infekce a spolu se streptokoky patří mezi nejčastější původce pyogenních infekcí nebo intoxikací lidí a zvířat.

U stafylokoků jako u mnoha dalších bakterií byl po zavedení antibiotik do praxe zaznamenán masivní nárůst rezistence. Práce se více věnuje kmenům MRSA (Methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*), kde je popsán mechanismus rezistence, výskyt MRSA a problém nozokominálních infekcí, ale i dalším druhům a mechanismům rezistence u bakterie *S. aureus*.

5. ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE

Cílem této bakalářské práce je přehledně zpracovat publikované informace týkající se bakterie *Staphylococcus aureus*, charakterizovat druh z hlediska epidemiologie, antigenní struktury, patogenity a onemocnění, které způsobuje. Zaměřit se na laboratorní diagnostiku a antibiotickou terapii *S. aureus*, kde budou blíže rozepsány mechanismy účinku antibiotik, léky volby, záložní antibiotika, vývoj nových antibiotik či jiné možnosti léčby stafylokoků a obecně rezistentních kmenů. Shrnout problém rezistence, vypsat druhy a mechanismy. Blíže popsat MRSA (methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*), jelikož je to jeden z největších problémů, co se rezistence týče. Vysvětlit rozdíl mezi CA-MRSA a HA-MRSA, zmínit problém nozokominálních infekcí včetně preventivních a nápravných opatření při výskytu rezistentních kmenů, porovnat výskyt MRSA v České republice a Evropě.

6. ROD STAPHYLOCOCCUS

Staphylococcus je klinicky nejvýznamnější bakteriální rod čeledi Staphylococcaceae. Rod zahrnuje kolem 50 druhů, z nichž většina je nepatogenní a tvoří součást přirozené mikroflóry kůže a sliznic člověka i zvířat, vyskytují se také v půdě anebo v potravinách. Pro člověka je klinicky významných několik druhů, např. *Staphylococcus aureus (*zlatý stafylokok*), Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus saprophyticus, Staphylococcus haemolyticus, Staphylococcus intermedius, Staphylococcus hominis ssp. hominis, Staphylococcus hominis ssp. novobiosepticus* a další.

To, čemu dnes říkáme stafylokoky, pozorovali jako první r. 1880 Louis Pasteur a skotský chirurg a amatérský mikrobiolog Alexander Ogston, který v mikroskopickém preparátu hnisu z nohy pacienta barvitě popisoval „velké množství nádherných shluků, trsů a řetízků kulatých organismů, které se zřetelně a výrazně vyjímaly mezi hnisavými buňkami a jejich pozůstatky“. Předpokládáme, že šlo o hnisavý proces vyvolaný mikrobem S. *aureus* (Votava, 2003).

6.1 Charakteristika

Stafylokoky jsou grampozitivní koky o průměru přibližně 1 μm, které jsou uspořádány ve shlucích připomínající vzhled hroznů. Netvoří spory, bičíky a obvykle ani pouzdra. Většinou jsou fakultativně anaerobní, kataláza pozitivní a oxidáza negativní. Stafylokoky patří mezi poměrně odolné mikroby. Na rozdíl od většiny mikrobů dovedou růst i v přítomnosti 10 %NaCl, nevadí jim vyschnutí, z desinfekčních prostředků odolávají poměrně dobře fenolu a sloučeninám těžkých kovů. Koncentrovaný etanol je nedokáže účinně zničit, spíše konzervovat (Votava, 2010).

6.2 Rozdělení

Zatím bylo popsáno kolem padesáti druhů a poddruhů různých stafylokoků. Z toho přes polovinu lze vypěstovat z humánního klinického materiálu, zbytek je přítomen u zvířat či v potravinách. Zhruba dvě třetiny byly izolovány také od lidí. V praxi se tradičně dělí podle schopnosti koagulovat plazmu na stafylokoky koagulázapozitivní a koagulázanegativní (Votava, 2003).

7. STAPHYLOCOCCUS AUREUS

S. *aureus* je řazen mezi biochemicky nejaktivnější bakteriální druhy. Produkuje řadu komplexních látek buněčné stěny, exoenzymů a toxinů, které se mohou uplatnit jako faktory virulence. Je dobře adaptovaný na kolonizaci kůže a sliznic a spolu se streptokoky patří mezi nejčastější původce pyogenních infekcí nebo intoxikací lidí a zvířat (Bednář, 1996).

S. *aureus* je grampozitivní kok o průměru cca 1 µm. Koky jsou uspořádány do shluků. Také se mohou vyskytovat, zejména v patologickém materiálu, v párech či ojediněle. Nesporulují, jsou nepohyblivé a obvykle netvoří pouzdro. Zkvašují mannitol a přibližně u třetiny lidské populace jsou přirozeně přítomny na kůži a sliznicích, což znamená, že zhruba 30 % zdravých lidí jsou nosiči *S. aureus* (Peutherer, 1999).

7.1 Laboratorní diagnostika

Diagnostika stafylokoků je založena na kultivaci a mikroskopii. Základním materiálem je hnis jako tekutina, z níž je možné udělat mikroskopický preparát. Dalšími druhy vzorků jsou např. krev na hemokultivaci, různé hnisavé či serózní exsudáty, aspiráty, sputum, moč, stolice, výtěry z nosu, faryngu nebo tonzil atd. Pro průkaz zlatých stafylokoků není třeba zvláštních opatření, co se týče odběru a transportu vzorků, jelikož to jsou mikroby dosti odolné vůči vysychání a změnám teploty. Důležité je však zabránit kontaminaci vzorku okolní mikroflórou (Votava, 2010).

7.1.1 Mikroskopie

V mikroskopickém obrazu stafylokokového hnisu jsou jasně vidět grampozitivní koky ve shlucích a četné leukocyty. Tento nález je v mnoha situacích (např. v likvoru či kloubní tekutině) natolik cenný, že musí být sdělen odesílajícímu lékaři telefonicky. Je třeba mít na paměti, že samotná mikroskopie nemusí vždy spolehlivě odlišit stafylokoky od ostatních G+ koků (Votava, 2003).

7.1.2 Kultivace

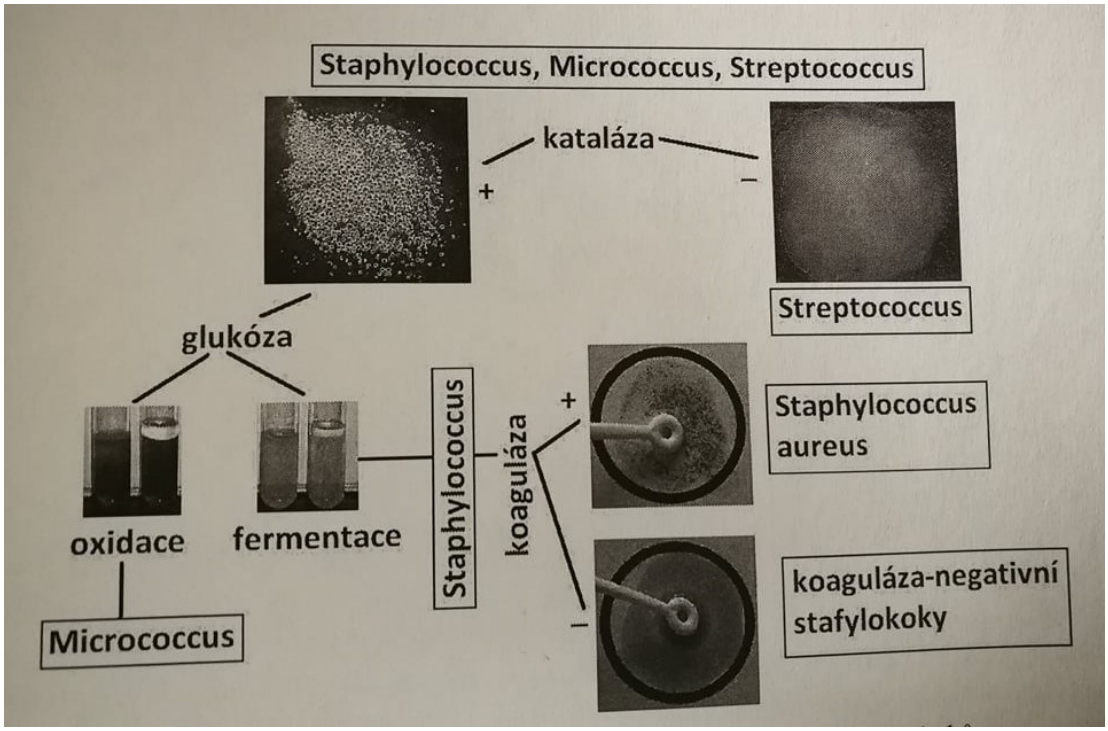
Stafylokoky rostou na běžných laboratorních půdách, kultivují se při 37 °C 24 hodin na krevním agaru. K jejich záchytu z kontaminovaných vzorků je vhodné použít selektivní půdu, např. krevní agar s 10% NaCl, agar s mannitolem a solí nebo agar s fenylethylalkoholem. Toleranci k soli u stafylokoků lze využít k selektivní izolaci ze stolice a z potravin na půdách s obsahem 7 – 10 % NaCl. Všechny selektivní půdy potlačují hlavně gramnegativní flóru, ale do jisté míry i stafylokoky, takže je odečítáme i za 48 a 72 hodin. Také obyčejné krevní agary je vhodné odečíst znovu ještě za další 2 dny, aby se zjistilo, zda kultura neobsahuje více kmenů stafylokoka.

K záchytu a identifikaci kmenů MRSA jsou k dispozici speciální chromogenní půdy různých výrobců, jejichž selektivita pro MRSA je dána přídavkem vhodného antibiotika, např. cefoxitinu.

Co se týče hemolýzy, nedá se bohužel s jistotou využít ani k orientačnímu odlišení S. *aureus* od ostatních stafylokoků, jelikož kmeny zlatého stafylokoka mohou produkovat v různém stupni čtyři hemolyziny (alfa, beta, gama, delta) (Greenwood, 1999; Votava, 2010).

7.1.3 Fenotypové metody identifikace

Fenotypová analýza studuje zejména morfologii mikrobiálních kolonií (velikost, barvu, tvar), buněk (tyčinky nebo koky, barvitelnost dle Grama) a jejich metabolismus. Fenotypové metody identifikace zahrnují intuitivní identifikaci, kterou provádí zkušený mikrobiolog na základě znalostí morfologie bakterií a jejich kolonií a několika dalších testů, dichotomický klíč (série testů, které postupně rozřazují testované druhy a nakonec identifikují jednotlivé taxony – např. rod, druh) a biochemickou identifikaci (Melter, 2014).



Obrázek 1 - Dichotomický klíč k rodové identifikaci grampozitivních aerobních koků (screeningové testy). Převzato: Melter, 2014

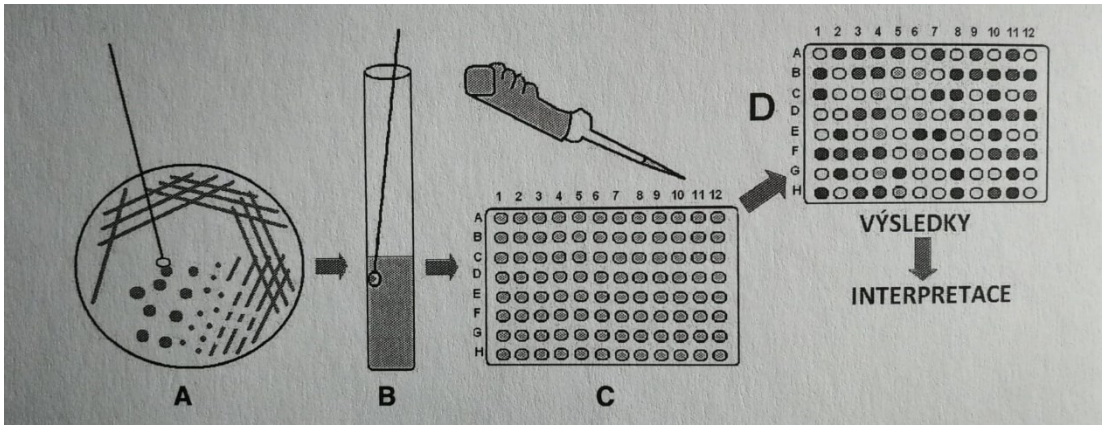
Biochemická identifikace je založena na sérii biochemických testů a srovnání jejich výsledků s výsledky známých druhů. Principem je skutečnost, že každý druh bakterie produkuje jinou sestavu enzymů. Patří sem např. průkaz oxidázy, katalázy, plazmakoagulázy, ureázy, dekarboxylázy, laktózy, lyzinu, pyráz, zkvašování cukrů, tvorba indolu, plynu nebo sirovodíku. Testy se provádějí ve zkumavkách nebo jako mikrotesty (např. Staphytest - k druhové identifikaci bakterií, deklarováno výrobcem) v plastových nádobkách o objemu několika mikrolitrů. Výsledkem je změna nebo tvorba určitého zbarvení půdy přidaným barevným indikátorem (Schindler, 2014).

Screeningové testy složí k předběžné identifikaci. Stafylokoky jsou kataláza – pozitivní, což je odlišuje od kataláza – negativních streptokoků. Enzym kataláza rozkládá peroxid vodíku na vodu a kyslík, pozitivní reakce se projeví uvolňováním bublinek kyslíku po přidání peroxidu vodíku ke kultuře testovaného mikroorganismu (Melter, 2014).

Koaguláza – pozitivní stafylokoky přeměňují fibrinogen na fibrin. Vázaná koaguláza (clumping factor) je povrchový protein, volná koaguláza je extracelulární enzym schopný reagovat s plazmatickým faktorem za vzniku tzv. stafylotrombinu.

Přítomnost volné i vázané koagulázy je typická pro *S. aureus.* Pozitivní reakce se projeví shlukováním buněk neboli aglutinací (Duthie, 1954; Carricajo, 2001).

Pro rychlou identifikaci *S. aureus* slouží mimo jiné latexová aglutinace. Buňky tohoto patogenního kmene produkují již výše zmíněný clumping factor a obsahují protein A. Na latexových partikulích je navázán králičí imunoglobulin (IgG) a fibrinogen. Při reakci proteinu A s IgG (nebo při reakci clumping factoru s fibrinogenem) dojde k jasné aglutinaci latexové suspenze. Clumping factor a protein A jsou vzájemně nezávislé faktory a jejich detekce je důležitá při identifikaci *S. aureus* (Essers, 1980; Dickson, 1986). Pomocí latexové aglutinace lze také detekovat rezistenci na meticilin, tato metoda využívá specifickou monoklonální protilátku namířenou proti antigenu PBP2a (Felten, 2002).



Obrázek 2 - Biochemická identifikace - inokulum čisté bakteriální kultury je resuspendováno ve fyziologickém roztoku a inokulováno do zkumavek nebo jamek s kultivačním médiem obsahující určité substráty (nejčastěji sacharidy). Převzato: Melter, 2014

Hmotnostní spektrometrie (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight Mass Spectrometry – MALDI – TOF MS) je v současnosti nejmodernější fenotypovou metodou identifikace mikroorganismů založenou na srovnání hmotnostního spektra biomolekul (zejména proteinů) vyšetřovaného izolátu s hmotnostním spektrem známého mikroorganismu. Hmotnostní spektrometrie nejdříve biomolekuly ionizuje, potom separuje a nakonec měří čas letu. Vytváří hmotnostní spektrum a srovnáním s databází známých hmotnostních spekter identifikuje studovaný mikroorganismus (Caprioli, 1997; Melter, 2014).

Konvenční metody diferenciace se opírají o biochemická kritéria a vyžadují další předběžné testování a zdlouhavé inkubační postupy. Pro srovnání, MALDI-TOF MS dokáže identifikovat bakterie a kvasinky během několika minut přímo z kolonií mikroorganismů pěstovaných na kultivačních plotnách. Tento relativně nový, metodicky jednoduchý přístup hluboce snižuje náklady na spotřební materiál a čas strávený diagnostikou (Weiser, 2012).

7.1.4 Genotypová identifikace

Genotypové metody identifikace jsou dnes již běžnou součástí mikrobiologické diagnostiky (Melter, 2014). Jsou citlivé, snadno proveditelné s rychlou interpretací výsledků. Avšak z hlediska provozu jsou poměrně nákladné (Schindler, 2014). Uplatňují se u pomalu rostoucího původce, nekultivovaného nebo kultivačně náročného původce, při malém množství vzorku, průkazu genů rezistence (např. *mecA* genu u MRSA), průkazu genů pro toxiny (např. stafylokokové enterotoxiny) nebo při typizaci původce (identifikace na poddruhové úrovni, např. typizace epidemických kmenů stafylokoků) (Melter, 2014).

Principem těchto molekulových metod je průkaz větší či menší části DNA mikroba v patologickém materiálu. Využívají se především DNA sondy a DNA mikročipy. Komplementární hybridizační DNA sonda je značená enzymem, naváže se na cílovou DNA (např. na membráně), vzorek se opakovaně promyje z důvodu prověření stability komplexu sondy s DNA, přidá se substrát, který reaguje s enzymem sondy a vznikne barevný produkt. Metoda DNA mikročipu má různé použití, využívá se skleněná nebo křemíková destička, na níž je nalepeno několik desítek tisíc krátkých fragmentů jednotlivých genů. Vzorek m-RNA z buňky se amplifikuje, rozštěpí na krátké úseky a hybridizuje se známými fragmenty na čipu, podle vazby na známé fragmenty se vzorek identifikuje (Melter, 2014; Schindler, 2014).

Při polymerázové řetězové reakci neboli PCR (Polymerase Chain Reaction) se namnoží hledaný úsek nukleové kyseliny bakterie. Specifický úsek DNA se denaturuje, specifické primery (krátké úseky DNA, které jsou komplementární ke hledané DNA) se navážou na komplementární úseky templátové DNA a nové vlákno DNA je syntetizováno podle předlohy. Počet cyklů PCR se pohybuje většinou okolo 30 – 40 cyklů. Vznikne tak

řetězec z několika milionů kopií vzorového fragmentu o délce až 10 000 nukleotidů, který lze detekovat (Metzker, 2009).

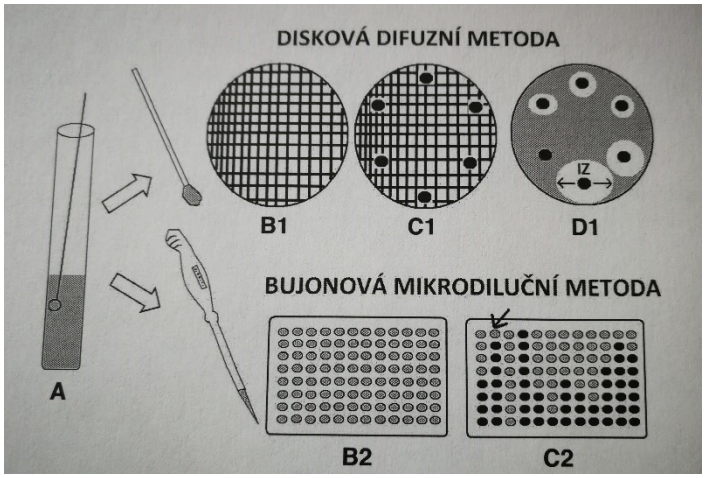
Mezi další genotypové metody patří např. pulzní gelová elektroforéza (PFGE), gradientová gelová elektroforéza (DGGE), náhodné amplifikace polymorfní DNA (RAPD), 16S-23S rDNA distanční amplifikace, PCR proteinu A, PCR charakterizace hypervariabilní oblasti (HVR) sousedící s *mec A* nebo hybridizace kontrolovaná fluorescenční mikroskopií, při které se využívají PNA (Peptide Nucleic Acids) sondy, které obsahují všechny báze DNA, test se označuje jako PNA FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) (Schmitz, 1998).

7.2 Testování antibiotické účinnosti

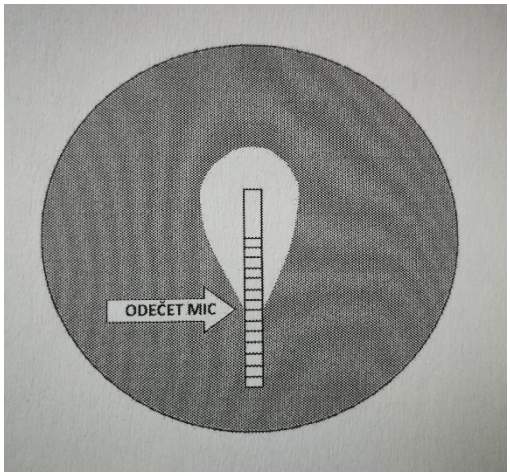
Hlavním cílem testování je zjistit citlivost konkrétního mikroorganismu k antibiotikům pro cílenou léčbu pacienta. Kvalitativní metoda je známá také jako disková difuzní metoda. Princip této metody spočívá v difundování molekuly antibiotika z disku do agaru (bakteriální inokulum je naředěno fyziologickým roztokem a rozetřeno tampónem po povrchu agaru) a tvorbě koncentračního gradientu. Určitá koncentrace antibiotika inhibuje růst a množení vyšetřovaného izolátu a při kultivaci 18 – 24 hodin při 37 °C vytváří inhibiční zónu (IZ) v okolí disku s antibiotikem (obr. 3). V závislosti na velikosti IZ (mm) lze mikroorganismus kategorizovat jako citlivý nebo rezistentní resp. intermediárně citlivý.

Kvantitativní metoda se obvykle provádí jako bujónová mikrodiluční metoda nebo agarová diluční metoda. Využívá se pro zjištění minimální inhibiční koncentrace (MIC) antibiotika, což je nejnižší koncentrace antibiotika v µg/ml, která inhibuje viditelný růst mikroorganismů. MIC se stejně jako hodnota IZ využívá k určení citlivosti/rezistence. U bujónové mikrodiluční metody (obr. 3) jsou jamky naplněné bujónem, který obsahuje koncentrační gradient antibiotika, inokulovány testovaným kmenem mikroba, po kultivaci se přes noc odečítá MIC (Jorgensen, 2009; Melter, 2014).

E – test je kombinací difuzní metody a stanovení MIC. Na proužku porézního papíru jsou od sebe oddělena místa s klesající koncentrací antibiotika (obr. 4). Tato metoda je pro rutinní používání poměrně nákladná, jelikož již samotná patentovaná metoda přípravy gradientu na proužku je velmi pracná (Schindler, 2014).



Obrázek 3 - Disková difuzní metoda a bujónová mikrodiluční metoda. Převzato: Melter, 2014



Obrázek 4 - E-test. Převzato: Melter, 2014

V některých případech lze použít speciální sady disků nebo jiné metody, např. amplifikace genů rezistence (amplikon genu *mecA* z izolátů *S. aureus*) (Melter, 2014).

7.3 Antigenní struktura

Buňky *S. aureus* jsou vybaveny mnoha faktory virulence. Virulence je vlastnost bakterií, která vyjadřuje úroveň patogenity. Patogenita je schopnost bakterie poškozovat hostitelskou buňku. Antigenní strukturu tvoří antigeny buněčné stěny a extracelulární proteiny (Votava, 2003).

7.3.1 Antigeny buněčné stěny

Mezi antigeny buněčné stěny patří pouzdro, adheziny, protein A, aglutinogeny, kyselina teichoová a peptidoglykan.

Na povrchu buněk S. *aureus* se mohou v přirozeném prostředí (*in vivo*) tvořit polysacharidová pouzdra různé antigenní povahy, která chrání bakterii před interakcí s fágy, komplementem, protilátkami a fagocyty. Silné opouzdření se vyskytuje u kmenů kapsulárních sérotypů 1 a 2, jež mají výrazně zvýšenou virulenci při experimentální infekci zvířat. Většina kmenů pomnožených na umělých půdách (*in vitro*) je však neopouzdřená, případně má jen slabě vytvořená mikropouzdra.

Adheziny jsou bílkoviny, které se nacházejí na povrchu buněčné stěny, podporují kolonizaci kůže a sliznic a umožňují adhezi bakterií k mezibuněčné hmotě (fibrinogenu, fibronektinu, kolagenu a vitronektinu) nebo k povrchu hostitelských buněk (lamininu, sialoproteinu). Při průniku stafylokoků do porušené tkáně a další jejich invazi adheziny představují iniciační faktory virulence a uplatňují se jako mechanismy tkáňového tropismu.

Druhově specifický povrchový antigen, který je kovalentně vázán na peptidoglykan a zčásti uvolňován jako extracelulární protein i do zevního prostředí se nazývá protein A (PA). Zvlášť intenzivně je PA tvořen kmeny humánního původu, zatímco kmeny zvířecího původu je produkován v podstatně menší míře. Má schopnost nespecificky se vázat na Fc oblast molekuly IgG (kromě IgG_3) a zčásti také na molekuly IgA a IgM. Molekula PA se skládá ze čtyř opakujících se aktivních domén s identickou sekvencí aminokyselin a je tudíž schopná vázat více než jednu molekulu protilátky. O Fc oblast imunoglobulinové molekuly soutěží s Fc receptory na povrchu fagocytů.

Specifické povrchové antigeny se nazývají aglutinogeny a jsou buď bílkovinné povahy (termolabilní a citlivé k proteolytickým enzymům) anebo polysacharidové povahy (termorezistentní a odolné k proteázám). U kmenů izolovaných z humánního materiálu jsou nejčastěji identifikovány různé kombinace těchto antigenů, oproti tomu kmeny zvířat mají obvykle jen jeden dominantní aglutinogen.

Kyselina teichoová je druhově specifický antigen, polyribitolfosfát s pravidelně napojujícími se zbytky N-acetylglukosaminu a D-alaninu. Je možné diferencovat dva odlišné sérotypy Aα a Aβ podle polohy N-acetylglukosaminové jednotky. Většina humánních kmenů S. *aureus* obsahuje oba sérotypy, zatímco kmeny izolované od zvířat většinou pouze sérotyp Aβ.

Základní komponentou buněčné stěny všech grampozitivních bakterií je peptidoglykan (PG) a tudíž může být příčinou zkřížených antigenních reakcí mezi stafylokoky a jinými grampozitivními (G+) mikroorganismy. U druhu S. *aureus* je PG charakterizován pentaglycinovými spojovacími můstky, které se navazují na tetrapeptidy nejbližších polysacharidových řetězců. Stimuluje produkci cytokinů aktivací makrofágů a lymfocytů a výrazně tak ovlivňuje nespecifickou odolnost

organismu, má imunoadjuvantní aktivitu (doplňující, podpůrnou), projevuje cytotoxické účinky a na kůži vyvolává lokální zánětlivou reakci (Bednář, 1996).

7.3.2 Extracelulární proteiny

Mezi extracelulární proteiny patří plazmakoaguláza (PK), hyaluronidáza (spreading faktor), stafylokináza (fibrinolyzin), termorezistentní nukleáza, hemolyziny (alfa, beta, gama, delta), leukocidin (Panton - Valentinův toxin), enterotoxiny, exfoliatiny (epidermolytické toxiny), toxin toxického šoku (TSST – 1) a řada dalších enzymů a toxických látek (fosfatázy, proteázy, lipázy, sacharolytické fermenty, penicilinázy), které produkuje S. *aureus.*

Vázaná koaguláza neboli *clumping factor* patří mezi povrchové proteiny a váže fibrinogen, který mění na fibrin, čímž vyvolává shlukování stafylokoků. Koaguláza (zvaná volná, na rozdíl od clumping faktoru) reaguje s plazmatickým faktorem za vzniku stafylothrombinu, který katalyzuje přeměnu fibrinogenu na fibrin. Tvorba fibrinu je příčinou, proč stafylokokové infekce, na rozdíl od streptokokových, probíhají obvykle formou ohraničených ložisek (Votava, 2003).

Hyaluronidáza štěpí kyselinu hyaluronovou v mezibuněčném tmelu a v mukoidech pojivových tkání, usnadňuje tím šíření (invazivitu) stafylokoků a jejich toxinů do okolních tkání. Má však nízkou imunogenicitu, což je vlastnost, která umožní látce vpravené do organismu vyvolat imunitní odpověď. Specifické protilátky lze nalézt jen u malého počtu nemocných s hlubokými infekcemi.

Stafylokináza neboli fibrinolyzin aktivuje přeměnu proenzymu plazminogenu na proteolytický enzym plazmin, který rozpouští fibrinové sraženiny a podporuje tak šíření stafylokokové infekce do okolních tkání. Humánní kmeny *S. aureus* produkuje tento fibrinolytický enzym, kmeny zvířecího původu nikoli.

Pozoruhodně rezistentní protein, odolávající zahřátí na 100 °C po dobu více než 15 minut se nazývá termorezistentní nukleáza. Nukleáza produkovaná kmeny *S. aureus* zvířecího i humánního původu je identická a působí jako enzym fosfodiesteráza, odštěpující z deoxyribonukleové (DNA) i ribonukleové kyseliny (RNA) fosfomononukleosidy (Bednář, 1996).

Stafylokokové cytolyziny poškozují povrchovou membránu buněk, patří k nim 4 druhy hemolyzinů a leukocidin. Rozeznáváme hemolyziny alfa (α), beta (β), gama (γ), delta (δ). Většina kmenů S. *aureus* tvoří buď jeden hemolyzin nebo různé kombinace hemolyzinů. Liší se specifitou pro erytrocyty různých živočišných druhů. Nejsou ale toxické pouze pro erytrocyty, obecně se jedná o cytotoxické toxiny bez výrazné tkáňové specifity.

α – hemolyzin je hlavním toxinem lidských kmenů *S. aureus*, poškozuje membrány buněk podobným způsobem jako membrány poškozující komplex, který vzniká při aktivaci komplementu. *In vivo* působí dermonekroticky a letálně, je pravděpodobné, že je významným činitelem odpovídajícím u stafylokokových infekcí za poškození tkání. Na krevním agaru z ovčích erytrocytů vyvolává téměř úplnou β-hemolýzu, králičí erytrocyty dokonale rozpouští.

β – hemolyzin je sfingomyelináza C, která je častější u zvířecích kmenů *S. aureus* než u lidských. Odpovídá za poškození tkání a tvorbu abscesů. Zajímavé účinky lze pozorovat na krevním agaru, kde ve skutečnosti nerozpouští ovčí erytrocyty, jen štěpí sfingomyelin jejich membrány na ceramid a fosforylcholin. Tím se změní stabilita a barva erytrocytů, jejich celistvost však zůstává zachována. K hemolýze dochází sekundárně, např. působením chladu. Tomuto jevu se říká „hot – cold hemolysis“.

O γ – hemolyzinu se toho ví málo, jelikož je inhibován agarem a jeho průkaz na krevních agarech není možný. Skládá se z 2 bazických proteinů, vyšší hladiny neutralizačních protilátek proti tomuto toxinu lze nalézt u nemocných se stafylokokovou osteomyelitidou.

δ – hemolyzin je tvořen většinou lidských kmenů, nejvýrazněji působí na lidské erytrocyty, je relativně nízkomolekulární a působí jako povrchově aktivní látka. Ve svém účinku je inhibován lipoproteiny krevního séra, proto bývá mnohý kmen stafylokoka na krevním agaru mylně posouzen jako nehemolytický.

Leukocidin neboli Pantonův – Valentinův leukocidin se podobně jako γ – hemolyzin skládá ze dvou složek. Tento cytotoxický toxin působící selektivně na lidské a králičí polymorfonukleáry a makrofágy. Vytváří póry v membráně neutrofilů a makrofágů, což vede k lýze těchto buněk. Chrání stafylokoky před účinkem leukocytů.

Pravděpodobně se uplatňuje v patogenezi vážných infekcí kůže (Bednář, 1994; Votava, 2003).

Enterotoxiny jsou bazické proteiny rezistentní k proteolytickým enzymům zažívacího traktu. Odolávají účinkům varu po dobu 30 minut. Syntéza je řízena chromozomálními nebo plazmidovými geny. Enterotoxiny se vyskytují v 5 antigenních typech A, B, C, D, E a třech subtypech C_1, C_2, C_3, které bývají produkovány jednotlivě nebo v různých kombinacích. Vyvolávají zrychlení peristaltiky a průjmy, jelikož působí jako lokální neurotoxiny, které stimulují viscerální receptory ve střevní sliznici. Současně dochází k iritaci (podráždění) vegetativního nervového systému, což vede k sekundárnímu dráždění emetického centra centrálního nervového systému (CNS) a zvracení. Stafylokokové enterotoxiny se navíc uplatňují jako superantigeny, které přispívají, mimo jiné, k uvolňování derivátů kyseliny arachidonové a podle novějších názorů vysoké hladiny leukotrienů mohou být příčinou přímé stimulace emetického centra (Bednář, 1996). Stafylokokové enterotoxiny se dají prokázat asi u poloviny kmenů S. *aureus.* Nejčastěji se setkáváme s enterotoxinem A. Enterotoxin B lze nalézt u nemocničních kmenů, kde vyvolává pseudomembranózní enterokolitidu po antibiotické léčbě (Votava, 2003).

Exfoliatiny (epidermolytické toxiny) jsou nízkomolekulární proteiny, vyskytující se ve dvou antigenních typech A a B. Převažující typ A je produkován kmeny z fágové skupiny II, ve své molekule obsahuje měď a odolává varu po dobu 20 minut. Typ B je tvořen kmeny z ostatních fágových skupin, nepatří mezi metalotoxiny a není vyloženě termorezistentní, jeho tvorba je kódována plazmidovými geny. Exfoliatiny poškozují *stratum spinosum* a *stratum granulosum* epidermis (Bednář, 1996). *Stratum spinosum* je nejtlustší vrstva epidermis (pokožky), druhá vrstva od její spodiny tzv. vrstva ostnitých buněk. Je tvořena více vrstvami polygonálních buněk, které jsou spojeny těsnými buněčnými spoji - desmozomy (Anonymous, stratum spinosum, 2017). *Stratum granulosum* je třetí vrstva epidermis, tzv. vrstva zrnitých buněk, která je tvořena vrstvami oploštělých buněk s rozpadajícími se jádry a mikroskopicky patrnými zrnky, které svědčí pro počínající rohovění (Anonymous, stratum granulosum, 2017). Vytvářejí tak intradermální trhliny, vyplňované tkáňovou tekutinou, které se nakonec změní v puchýře, navíc dochází k spontánnímu odlučování povrchových vrstev pokožky.

Citlivost k těmto toxinům byla zaznamenána pouze u lidí a u sajících myšek. Exfoliatiny projevují slabší imunogenní účinky, avšak typově specifické protilátky mají protektivní (ochranný) charakter (Bednář, 1996). Dnes jsou známy 4 epidermolytické toxiny, nejčastěji se uplatňují ET-A a ET-B. Jsou proteolytické a rozpouštějí mukopolysacharidovou matrix v epidermis, výsledkem je vznik obrovských bul a odlupování velkých ploch pokožky. Tomuto stavu se říká stafylokokový syndrom opařené kůže (Staphylococcal scalded skin syndrome - SSSS), v mírnější formě se infekce projevuje jako puchýřnaté onemocnění (Votava, 2003).

Syndrom toxického šoku (TSS) způsobuje toxin toxického šokového syndromu (TSST-1), který je svými vlastnostmi podobný enterotoxinům. Je to antigenně jednotný protein, který produkuje většina kmenů fágové skupiny I nebo netypovatelné kmeny. Syntéza TSST-1 je řízena chromozomálními geny, má mitogenní účinky na T- lymfocyty, je pyrogenní a přímo působí na termoregulační centrum v hypotalamu. Inhibuje syntézu makromolekul a poškozuje funkci řadu vnitřních orgánů (Bednář, 1996). Při lokální, často nezaznamenané infekci kmenem tvořící TSST-1 je toxin uvolňován do organismu a u lidí, kteří proti němu nemají protilátky, vyvolává TSS. TSS je charakterizován šokem, horečkou, nauzeou (nevolností), zvracením, průjmem, trombocytopenií, vyrážkou a poruchou funkce ledvin a jater. Jedná se o velmi těžký stav, který může skončit smrtí. Po prodělaném onemocnění si většinou tělo vytvoří protilátky proti toxinu. Jestliže se tak nestane, může se TSS i několikrát opakovat. Největší počet případů TSS byl popsán u žen v době menstruace, kdy dlouho zavedené tampóny vytvořily vhodné kultivační prostředí pro event. přítomný toxigenní kmen. Enterotoxiny mohou vyvolat podobné onemocnění jako TSST-1 a to při lokální infekci enterotoxigenními kmeny (Bednář, 1994).

7.4 Patogeneze

V místě průniku infekce do organismu může dojít k dalšímu pomnožování stafylokoků, pokud překonají lokální obranné mechanismy hostitele. Invazivitu buněk *S. aureus* podporují četné enzymy a toxiny, proto infekce může snadno pronikat hlouběji do okolních tkání. Stafylokokové infekce mají sklon k recidivám nebo k chronickému průběhu, což má pravděpodobně příčinu v neobyčejně bohatém spektru faktorů

virulence a ve značné odolnosti vůči lysozomálním enzymům a také dočasnému přežívání buněk zlatého stafylokoka v makrofázích (Bednář, 1996).

S. *aureus* vyvolává onemocnění trojího druhu. Nejčastěji to jsou hnisavé infekce, méně často infekce s toxickými příznaky a otravy z potravin. Typickým znakem stafylokokové infekce je vznik abscesů. Absces je ohraničené zánětlivé ložisko, v němž se vytvořila dutina, která je vyplněná hnisem. Hnis obsahuje hlavně rozpadající se, ale také živé leukocyty a bakterie. Absces je ohraničen relativně bezcévnatou stěnou z fibrinu a fibroblastů, okolní tkáň je zanícena, což se projevuje zarudnutím, ztepláním, otokem, bolestí a postižením funkce (Votava, 2010).

Ze zánětlivých lézí mohou bakterie pronikat do krevního řečiště, dochází tak buď k dočasnému anebo masivnějšímu pronikání bakterií s celkovými symptomy sepse. Stafylokokové buňky mohou být zaneseny do různých míst organismu, kde vznikají metastatická pyogenní ložiska. Může tak vzniknout sekundární pneumonie, osteomyelitida, endokarditida, meningitida, pyelonefritida nebo absces v kterémkoli orgánu. Tyto metastatické infekce mohou v některých případech vycházet i ze zcela banálních infekcí nepatrného rozsahu (Bednář, 1996).

Ke vzniku stafylokokových infekcí predisponují poranění (včetně popálenin a operačních ran, zvláště po dlouho trvajících břišních zákrocích), úrazy, virové infekce (stafylokoková bronchopneumonie po chřipce), metabolické poruchy (diabetes mellitus) a maligní onemocnění (kvůli poruše funkce fagocytů), imunodeficity. Zatímco benigní kožní infekce jsou časté, závažné stavy s postižením vnitřních orgánů a sepsí se obvykle vyskytují jen u disponovaných (náchylných) jedinců. Důležitým predisponujícím momentem je přítomnost cizího tělesa způsobená buď poraněním anebo iatrogenně – implantované pomůcky, katetry, stehy.

U chronických stafylokokových infekcí se na vzniku příznaků podílí i pozdní přecitlivělost vůči stafylokokovým antigenům, vzácně má stafylokokový hnisavý proces tendenci se šířit jako tzv. flegmona (neohraničená agresivně se šířící infekce měkkých tkání těla), ta však bývá způsobena spíše pyogenními streptokoky (Votava, 2003).

7.5 Výskyt a patogenita

S. aureus je patogenní pro člověka a prakticky také pro všechny teplokrevné živočichy. Lidský organismus je vůči stafylokokovým infekcím poměrně dost odolný. Více ohroženi jsou nedonošení novorozenci, kojenci anebo senioři (Bednář, 1996).

S. aureus žije v úzkém kontaktu s lidským nebo zvířecím hostitelem, volně v prostředí se vyskytuje minimálně. Vztah mezi mikroorganismem a hostitelem má různý charakter.

1. Občasná kolonizace

Člověk od narození přichází neustále do styku se *S. aureus*, který občas na krátkou dobu kolonizuje jeho kůži a sliznice, zejména sliznice horních a dolních cest dýchacích. Občasná kolonizace člověka nepoškozuje, naopak působí jako imunizace a má za následek značnou odolnost lidí proti stafylokokové infekci.

2. Nosičství

Na rozdíl od občasné kolonizace je nosičství stav dlouhodobý až trvalý. Nosiči zlatého stafylokoka tvoří značné procento populace (odhadem zhruba 10 – 40 %). Nejčastějším místem osídlení S. *aureus* je nosní sliznice, ale také ho lze nalézt na kůži rukou, vulvě, perineu (hrázi – oblastí mezi konečníkem a pohlavním orgánem), ve vlasech, axilách a na sliznici dýchacího a trávicího ústrojí. Nosiči nepociťují žádné potíže, mají dostatečně rozvinutou imunitu, ale jsou potenciálním zdrojem infekce.

3. Onemocnění

Jak už bylo řečeno, lidský organismus je proti *S. aureus* značně odolný. K onemocnění dochází při oslabení imunity nebo při infekci velkou dávkou virulentního kmene. Zdrojem infekce může být zdravý nosič, nemocný člověk nebo zvíře, vlastní kolonizující stafylokok (endogenní infekce). Místem vstupu infekce jsou nejčastěji sliznice horních cest dýchacích, rány a poškozená kůže (zejména v místech mazových žláz a vlasových pochev). Čisté rány obvykle nezhnisají, k tomu je třeba, aby v ráně zůstalo cizí těleso (např. tříska, písek, stehy) (Bednář, 1994). Přenos se děje vzdušnou cestou, přímým stykem i nepřímo.

Zvlášť nebezpečné jsou stafylokokové infekce získané v nemocnicích, jsou vyvolávány endemickými kmeny s širokou multirezistencí k antibiotikům a citlivostí k určitým skupinám fágů. Na novorozeneckých odděleních, jednotce intenzivní péče (JIP) a odděleních imunosuprimovaných pacientů způsobují lokální epidemie. Zdrojem těchto nozokominálních (nemocničních) infekcí je ošetřující personál, prostředí (např. oděv, lůžkoviny, prach) a jsou jím rovněž dlouho hospitalizovaní pacienti (Bednář, 1996).

7.6 Invazivní infekce

Nejběžnějšími stafylokokovými infekcemi jsou hnisavá (purulentní, suppurativní) onemocnění kůže a jejích adnex (přídatné orgány kůže - potní a mazové žlázky, nehty, vlasy apod.), což se obecně nazývá pyodermie. Ze stafylokokových infekcí pyodermií jsou nejčastější impetigo, folikulitida a furunkl (Votava, 2003).

Impetigo se vyskytuje u dětí předškolního věku. Často se jedná o smíšenou stafylokokovou a streptokokovou infekci, maximum zánětlivých změn se nachází v epidermis, ve které vznikají puchýře a pustuly (malé, hnisem naplněné vředy nacházející se na povrchu kůže), které postupně zasychají v krusty. Léze se vyskytují nejvíce v obličeji, zejména kolem úst a na prstech rukou. Ecthyma je označení pro vředovité pustuly zasahující i do dermis.

Folikulitida je infekční zánět vlasového váčku (folikulu). Stafylokoky pronikají z povrchu kůže pórogenní cestou do vlasových folikulů a mazových žlázek. V místě infekce se hromadí leukocytární infiltrace a postupuje nekróza epitelu. Vznikají jednotlivé nebo mnohočetné červené papulopustuly (pupeny obsahující dutinu vyplněnou hnisem) v okolí ochlupení.

Furunkl se vyvíjí z infikovaného folikulu. Rozšiřuje se leukocytární infiltrace, zvláště masivní je na okraji léze jako hnisavý demarkační lem vytvářejícího se abscesu. Obsah v celém svém rozsahu nekrotizuje a kolikvuje, ztenčený epidermální kryt nakonec praská a absces se vyprázdní. Zvláště nebezpečné jsou furunkly v okolí nosu a horního rtu, protože infekce se z těchto míst může šířit oftalmickými venózními cestami do intrakraniálních splavů. Vzniká tromboflebitida splavů, která vede k hnisavé meningitidě.

Mnohočetné furunkly, vyskytující se zejména na šíji, se nazývají karbunkl. Zánět se šíří kůží i do podkoží až k fascii. Hnisavou kolikvací se jednotlivé abscesy vyprazdňují na různých místech karbunklu a pokračující nekrotizací mohou jednotlivé léze splynout v jediné rozsáhlé zvředovatění (Bednář, 1996).

Na oku *S. aureus* vyvolává nejčastěji ječné zrno (hordeolum), což je zánět mazové (Zeisovy) žlázky na okraji víčka, a zánět víčka (blepharitis) spojený obvykle s hnisavým zánětem spojivky (konjunctivitis).

Emidemiologicky významný je zánět mléčné žlázy (mastitis) u kojících žen. Stafylokoky pronikají buď ragádami prsní bradavky nebo mlékovody. V napadené tkáni vyvolávají difúzní nebo ložiskové zánětlivé změny. Po jejich zhnisání vznikají v mléčné žláze povrchní, hluboké nebo retromamární (ležící za prsní žlázou) abscesy. Mastitidu většinou způsobují nozokomiální kmeny. Kolonizují po porodu kůži a sliznice novorozence, který pak při kojení přenáší infekci na matku.

V podpaží se vyskytuje hnisavý zánět potní žlázy (hidradenitis suppurativa). U některých jinak zcela zdravých jedinců mají stafylokokové pyodermie sklon probíhat chronicky a opakovaně (Votava, 2003).

Panaricium je hnisavý zánět měkkých tkání prstu, který se může šířit do podkoží a zasáhnout i šlachové pochvy, případně až kosti falangu. Stafylokoky pronikají záděrami a jinými drobnými oděrkami kůže. Paronychium je obdobný proces, který postihuje nehtové lůžko, vzniká v souvislosti s traumatem (vbodnutím třísky, trnu apod.)

Stafylokoky způsobují rané infekce, patří k nejčastějším původcům poúrazových a pooperačních infekcí. Po 1 – 2 dnech inkubace se objevuje serózní exsudace v poraněné tkáni a erytém v okolí. Zánětlivý proces se rychle mění v pyogenní reakci s následnou rozsáhlou nekrózou a dehiscencí (rozestupem, rozšklebením) rány (Bednář, 1996).

Infikovaná rána bývá pro stafylokoky častou vstupní branou, odkud se dostávají do oblastních mízních uzlin, které se zanítí (lymphadenitis), a z nich do krevního oběhu. Přítomnost bakterií v krvi se nazývá bakterémie a tento stav může vést k těžkému systémovému onemocnění čili k sepsi. Krví se *S. aureus* může zanést (disseminovat) do vnitřních orgánů, v nichž mohou vznikat abscesy. Tělesná dutina vyplněná hnisem se

nazývá empyém. Velmi nebezpečná je akutní stafylokoková endokarditida, při níž na srdečních chlopních narůstají tzv. vegetace, skládající se ze stafylokoků obklopených mezibuněčnou hmotou. Jde o zvláštní typ biofilmu, z něhož se uvolňují stafylokoky a jako septické vmetky (emboly) se roznášejí po těle a vyvolávají vznik metastatických abscesů v kůži, plicích, mozku či ledvinách.

Stafylokokový zánět kostní dřeně (osteomyelitis) může vzniknout jak hematogenně, tak po úrazu. U dětí postihuje metafýzu dlouhých kostí s růstovou chrupavkou, u dospělých většinou obratle. V blízkosti kloubů dochází ke komplikacím hnisavou (septickou) atritidou (Votava, 2003).

Ze stafylokokových infekcí respiračního traktu jsou běžné akutní záněty vedlejších dutin nosních a plic. Převažují sekundární pneumonie postihující předem poškozený dýchací systém virovou infekcí (nejčastěji chřipkou), mukoviscidózou, aspirací zvratků anebo dlouhodobou intubací. Virová infekce respiračního epitelu zastavuje pohyb řasinek, takže vdechnuté stafylokoky zůstávají v bronších, množí se v nich a svými enzymy aktivují hemaglutinin, dochází tak k dalšímu množení chřipkového viru. Pneumonie může vzniknout také hematogenní cestou při infekci žil nebo endokardu. Stafylokokové primární infekce jsou méně časté, postihují jedince s oslabenou obranou organismu, nejčastěji starce, kojence a pacienty se získaným nebo vrozeným imunodeficitem (Bednář, 1996; Votava, 2003).

Pseudomembranózní enterokolitida vzniká po potlačení fyziologické střevní mikroflóry při léčbě širokospektrými antibiotiky, proti kterým je vlastní kmen *S. aureus* rezistentní. Jedná se o endogenní infekci, masivně pomnožené stafylokokové buňky produkují velké množství enzymů a toxických látek poškozujících střevní sliznici. Její těžké katarální změny, vyznačující se překrvením tkáně a zvýšeným vyměšováním, jsou kryté žlutošedými pablánami, které obsahují fibrin, leukocyty a rozpadlé buňky. Po jejich odloučení jsou ve zbytku překrvené sliznice patrné eroze a nekrotické vředy (Bednář, 1996).

7.7 Toxinózy

Příznaky dalších onemocnění jsou způsobeny vlivem stafylokokových toxinů.

Toxický šokový syndrom může vzniknout při jakémkoli invazivním stafylokokovém onemocnění, nebo méně často při masivní kolonizaci sliznice, které je způsobeno kmeny, které produkují TSST-1. Předpokládá se, že toxinózou jsou nejvíce ohroženi pacienti, kteří nemají vytvořeny dostatečné hladiny antitoxinu. Podobný syndrom, založený na stejném mechanismu účinku superantigenů, může být vyvolán i enterotoxin-produkujícími kmeny. Ty jsou příčinou pyogenních infekcí, pokud tvoří enterotoxin B, mohou vyvolat enterokolitidu.

Vyslovenou intoxikací a nikoli infekcí je stafylokoková enterotoxikóza. Po konzumaci potravin obsahující enterotoxin se do 1 – 6 hodin objevuje celková nevolnost, odpor k jídlu, nauzea a zvýšená salivace. Brzy se připojují další příznaky jako je zvracení, bolest břicha a průjem. Stolice je vodnatá, může obsahovat hlen, dochází k dehydrataci organismu. Intenzivnější toxemie a ztráta tekutin může vyvolat až svalové křeče, tachykardii, mírnou hypotermii a kolapsy (Bednář, 1996; Votava, 2003).

Toxická epidermolýza (exfoliativní dermatitida) je vyvolána exfoliativním toxinem uvolňovaným do organismu z nejrůznějších infikovaných míst. Způsobuje tři formy onemocnění, jednu lokalizovanou (bulózní impetigo) a dvě generalizované (rašový typ toxické epidermolýzy a syndrom opařené kůže).

Bulózní impetigo je lokalizovaná forma toxické epidermolýzy, vyskytující se u novorozenců a nejmenších kojenců. Na kůži se objevují puchýře s čirou tekutinou, jejich okolí má normální vzhled. Puchýře zasychají a hojí se krustou, po jejich odloučení se léze zhojí bez následků.

Rašový typ toxické epidermolýzy je charakterizován exantémem kůže trupu a končetin a enantémem sliznice připomínajícím spálovou vyrážku. Odlišení od spály je značně obtížné, avšak streptokoková angína chybí. Rašový typ toxinózy se vyskytuje u pacientů s nedostatečně vytvořenou hladinou anti-exfoliatinu.

SSSS neboli Ritterova nemoc je plně rozvinutá forma generalizované toxinózy u pacientů, kterým zcela chybí specifický antitoxin v séru. Projevuje se celkovou nevolností, podrážděností a náhlým vzestupem tělesné teploty, difuzní erytém začíná

většinou periorálně a do dvou dnů se rozšiřuje na celé tělo. Kolem úst se tvoří drobné krusty a trhlinky. Povrchová vrstva epidermis se odlučuje spontánně v cárech a pod mírným tlakem prstu, což se hodnotí jako pozitivní Nikolského příznak, zatímco u dvou předchozích případů byla Nikolského zkouška negativní. Postižené oblasti mají vzhled opařené kůže, obnažené plochy jsou červené, hyperemické, vlhké a lesklé. Představují nebezpečí většího úniku tkáňové tekutiny, superinfekce a následné sepse. Zanedbání terapie může vést k fatálním následkům (Bednář, 1996).

7.8 Prevence a epidemiologie

Není pravděpodobné, že v dohledné době bude vyvinuta preventivně použitelná vakcína proti stafylokokovým infekcím. Stafylokoky jsou příliš úspěšně svázány s velkou částí lidské populace, abychom je byli schopni bezpečně momentálně dostupnými postupy odstranit. Zatím neumíme definovat jejich protekční antigeny.

Stafylokokový anatoxin (neboli toxoid, je bakteriální toxin (obvykle exotoxin), jehož toxicita byla snížena nebo odstraněna buď chemicky (např. formaldehydem) nebo tepelně, přičemž jiné vlastnosti, typicky imunogenicita, zůstávají zachovány), obsahující formalizované toxiny alfa, beta a delta, má sice omezený terapeutický účinek u chronických stafylokokových procesů, usídlení stafylokoků však neovlivní.

Autovakcíny užívané k léčbě chronických furunkulóz mají spíše účinek desensibilační (Votava, 2003). Desenzibilizace je způsob léčby některých alergií, jehož účelem je snížit přecitlivělost na určitý alergen. Provádí se postupným podáváním příslušného alergenu v malých stoupajících dávkách, což vede k vytvoření takového stavu v imunitním aparátu, kdy další přirozené vystavení se alergenu nezpůsobí obtíže (Anonymous, desensibilizace, 2017).

Významná je profylaxe stafylokokových nákaz, která zahrnuje řádné ošetření ran, jejich vyčištění a dezinfekci antiseptiky. V profylaxi hnisání operačních ran stojí na prvním místě přísné dodržování zásad asepse a také šetrná operační technika. Antibiotická profylaxe má smysl při operacích v kontaminovaném prostředí a tam, kde by případná infekce měla devastující následky (neurochirurgické nebo ortopedické výkony), není však schopna zakrýt následky chybných postupů. Na oddělení operačních oborů, na novorozeneckých a popáleninových stanicích je důležité vhodným

protiepidemickým režimem zamezit přenosu stafylokoků na pacienty. Nejúčinnější, nejlevnější a bohužel také nejméně dodržované a často podceňované je soustavné mytí rukou personálu před ošetřením každého pacienta (Votava, 2003).

Explozivní výskyt infekcí *Staphylococcus aureus* byl pozorován v polovině 70. let na chirurgických odděleních a porodnictví, byl výrazem infekční schopnosti kmenů s vysokou virulencí a schopností kolonizace. S rezistencí k antibiotikům se stala potřeba prevence hromadných onemocnění ještě naléhavější.

Určité kmeny MRSA, jež přetrvávají v některých nemocnicích ve Velké Británii, spíše snáze kolonizují pacienty a personál, než aby vyvolávaly systémové onemocnění. To dokládá adaptaci a evoluční změny, ke kterým dochází u nemocničních kmenů a jež lze poznat pečlivým epidemiologickým rozborem, typizací a také pozorováním. Změny v profilu těchto mikrobů mají souvislost s preventivními opatřeními, tudíž se lze poučit pro příští preventivní a sanační opatření (Peutherer, 1999).

8. MRSA

V období před objevením antibiotik měly invazivní infekce způsobené *S. aureus* většinou fatální následky. Se zavedením penicilinu do klinické praxe koncem 40. let 20. století výrazně stoupla úspěšnost léčby stafylokokových onemocnění. Penicilin byl označen za "všelék" a začal být nadměrně a nekontrolovaně používán. Brzy se však ukázala stinná stránka takového přístupu a objevily se první kmeny rezistentní k penicilinu a prakticky také ke všem beta-laktamovým antibiotikům (Votava, 2010; Schindler, 2014).

Rezistence je založena na přítomnosti genu blaZ, jehož expresí je produkován enzym beta-laktamáza štěpící beta-laktamový kruh v molekule penicilinových antibiotik, a tím je degraduje. Byla tudíž vyvinuta nová antibiotika na bázi penicilinu odolná vůči degradaci enzymem beta-laktamázou. Jako první z těchto látek byl methicilin (polosyntetická varianta penicilinu), který byl zaveden do klinické praxe v roce 1960. Netrvalo však dlouho a v roce 1961 ve Velké Británii byly izolovány kmeny rezistentní i k tomuto antibiotiku. Tyto kmeny se začaly souhrnně označovat jako methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Od té doby se procentuální zastoupení MRSA v populacích kmenů *S. aureus* zvyšuje, začátkem 80. let 20. století došlo k jejich rychlému rozšíření do celé Evropy a také do Spojených států. V současnosti představují celosvětově závažný problém ve zdravotnictví při léčbě stafylokokových infekcí (Votava, 2010, Bednář, 1996).

MRSA kmeny vykazují MIC pro methicilin ≥ 4 mg/l. Kromě methicilinu jsou rezistentní i vůči ostatním antibiotikům z velké skupiny beta-laktamů, mezi něž patří peniciliny a cefalosporiny (Tiemersma, 2004).

MRSA se často rozděluje do podkategorií komunitní MRSA (Community-Associated MRSA, CA-MRSA) nebo nozokomiální (nemocniční) MRSA (Hospital-Acquired MRSA, HA-MRSA). V současnosti je takové rozlišování již složité, protože dochází k prolínání těchto dvou skupin (Figueiredo, 2016).

8.1 CA-MRSA

Kmeny CA-MRSA byly poprvé hlášeny koncem 20. století a tyto případy byly definovány tím, že pacienti v době infekce těmito bakteriemi nepobývali ve zdravotnickém zařízení. V několika dalších letech se ukázalo, že infekce CA-MRSA byly způsobeny kmeny MRSA, které se lišily od dříve a lépe studovaných nemocničních kmenů a tudíž postrádají tradiční rizikové faktory související se zdravotní péčí (Okuma, 2002). Obecně platí, že kmeny CA-MRSA nesou virulentní geny leukocidinu Panton-Valentine (PVL), což je dvoukomponentní leukocidin a způsobuje destrukci leukocytů a nekrózu tkání (Nozaki, 2014).

CA-MRSA může způsobit stejný typ infekcí jako jiné kmeny *Staphylococcus aureus.* Osoby s infekcí CA-MRSA jsou většinou mladší a zdravější než osoby trpící HA-MRSA. CA-MRSA jsou také obvykle náchylnější k více druhům antibiotik, než jsou kmeny MRSA spojené se zdravotní péčí (Anonymous, MRSA, 2017).

Nové kmeny CA-MRSA se rychle rozšířily po Spojených státech (např. klon USA300) a staly se nejčastější kožní infekcí, kvůli které lidé vyhledávali lékařskou péči (Li, 2009). Tato infekce je častá v místech, kde jsou lidé v úzkém kontaktu, např. ve škole, ubytovnách, vojenských kasárnách, nápravných zařízeních a denních centrech (CDC, 2016).

8.2 HA-MRSA

Způsoby přenosu, příznaky a symptomy infekce, délka onemocnění, komplikace a diagnóza jsou stejné jako u *Staphylococcus aureus.* Hospitalizovaní pacienti mají zvýšené riziko infekce MRSA hned z několika důvodů. Mnoho hospitalizovaných pacientů užívá antibiotika, která mohou poškodit normální mikroflóru nacházející se na těle, což je pro MRSA kmeny výhodné. Mnoho pacientů v nemocnicích má poranění na kůži (chirurgické rány, zavedené katetry apod.), které mohou bakteriím umožnit vstup do podkožních tkání nebo krevního řečiště (Schindler, 2014; Figueiredo, 2016).

MRSA patří k nejčastějším původcům nozokomiálních nákaz. Jde především o onemocnění typu osteomyelitid, mastitid u kojících matek, omfalitid nebo meningitid novorozenců, kožních infekcí, sinusitid, otitid apod. (Votava, 1998).

8.2.1 Nozokomiální infekce

Za nozokomiální (nemocniční) nákazy (NN) lze považovat onemocnění infekčního původu, která mají příčinnou souvislost s hospitalizací ve zdravotnickém zařízení nebo zdravotnickým zákrokem (Melicherčíková, 1998). Ke klinické manifestaci takové infekce může dojít ještě v průběhu hospitalizace infikované osoby nebo se klinické příznaky nemoci projeví až po propuštění pacienta do domácího ošetřování či jeho přeložení do jiného zdravotnického zařízení (Votava, 1998).

Nozokomiální nákazy je možno dělit podle původu vyvolávajícího agens na exogenní a endogenní nemocniční nákazy a z epidemiologického hlediska na nespecifické a specifické.

U exogenních nemocničních nákaz byla infekce do vnitřního prostředí organismu zavlečena zvenčí (rukama personálu, při převazu rány, kontaminovanými přístroji či nástroji při invazivním vyšetření apod). Endogenní nozokomiální nákazy jsou infekce vyvolané některou ze složek běžné mikroflóry postiženého, zavlečenou z místa svého přirozeného výskytu na jiné místo makroorganismu (operační rána, serózní dutina, tkáň apod.) většinou během operace nebo invazivního diagnostického či terapeutického výkonu. Nespecifické nákazy probíhají nejen v nemocnicích, ale mohou se šířit i v jiných kolektivech dané lokality (např. salmonelové infekce v mateřských školách). Oproti tomu

specifické nákazy vznikají pouze jako důsledek diagnostických nebo terapeutických zákroků u ambulantně vyšetřovaných či hospitalizovaných osob (Šrámová, 1995; Votava, 1998).

Při šíření nozokomiálních stafylokokových infekcí se nejčastěji uplatňují činnosti zdravotnického personálu a kontaminované předměty denní potřeby (např. dudlíky, savičky, ručníky). Značné procento těchto infekcí je zapříčiněno nevhodnou manipulací s prádlem, lůžkovinami a jinými nemocničními textiliemi. Nelze opomenout ani nosičství stafylokoků - nosní a kožní (více než v 70 % případů), perineálního nosičství (přes 20 % dospělých osob), střevního nosičství, přítomnost stafylokoků na vlasaté části hlavy) v řadách zdravotnického personálu (Votava, 1998). Nosičství MRSA by mohlo být eliminováno aplikací mupirocinu, avšak dlouhodobá aplikace tohoto přípravku může vést ke vzniku rezistence.

Stafylokoky spolu s enterokoky jsou etiologickými agens ve 47 – 52 % nozokomiálních infekcí krevního řečiště, v USA způsobují přibližně jednu třetinu všech nozokomiálních infekcí (Kolář, 2000).

8.2.2 Preventivní a nápravná opatření při výskytu rezistentních kmenů

U pacientů se stafylokokovou infekcí by měly být striktně dodržovány základní hygienicko- epidemiologické režimy a měli by být léčeni v izolaci, pokud to dovoluje lokální situace (Kolář, 2000).

Preventivní opatření jsou zaměřena na to, aby ke vzniku nozokomiálních nákaz nedošlo, případně aby byl počet nákaz co nejmenší. Patří sem:

- sledování a hodnocení podmínek výskytu NN (posuzování stavebního, personálního a přístrojového vybavení zdravotnického zařízení)
- sledování výskytu NN (cílený odběr biologického materiálu od pacientů postižených nozokomiální nákazou, nosičů, zdravotnického personálu – především stěry z rukou, stěry z nemocničního prostředí)
- studium vlastností neboli márkrů nemocničních kmenů (biotypizace, fagotypizace, sérotypizace, produkce toxinů, rezistence k antibiotikům, apod.)

- sledování a důsledná kontrola hygienického a protiepidemického režimu v provozu zdravotnického zařízení (příjem a osobní hygiena pacientů, příprava a distribuce jídel, výměna lůžkovin, používání ochranných oděvů a pomůcek, zacházení se sterilním materiálem na jedno použití, manipulace s použitými nástroji, dezinfekce rukou personálu a předmětů pro pacienty – podložní mísy, teploměry, endoskopické přístroje apod., úklid zařízení)
- výchova veškerého zdravotnického personálu k dodržování režimových opatření ve zdravotnických zařízeních a výchova studujících na lékařských a zdravotnických školách k pochopení problematiky nozokomiálních nákaz
- zpětná vazba k ošetřujícímu lékaři, spolupráce kliniků, mikrobiologů, imunologů a epidemiologů, spolupráce pracovníků hygienické služby s ústavním hygienikem při řešení problematiky NN (Šrámová, 1995).

Úkolem represivních nákaz je likvidace již vzniklé nákazy. Patří sem:

- hlášení výskytu NN
- léčení pacienta s NN a jeho izolace
- vyhledávání kontaktů (tj. všech osob, které měli s pacientem přímý nebo nepřímý kontakt)
- dezinfekce provedená v ohnisku nákazy
- zvýšení odolnosti organismu vnímavých pacientů (výživa, profylaktické podání antibiotik, zvýšený přísun vitamínů, aj.)
- zdravotní výchova zahrnující osvětovou činnost v ohnisku nákazy a kontrola nařízených opatření (Šrámová, 1995).

8.3 Podstata rezistence

Rezistenci k methicilinu, a většinou také ke všem β-laktamovým antibiotikům, zajišťuje gen *mecA*, jenž kóduje pozměněný druh penicilinvázajícího proteinu PBP2a.

PBP (penicillin binding protein) jsou enzymy - transpeptidázy účastnící se syntézy buněčné stěny bakterie. Peniciliny inhibují jejich účinek, takže v důsledku narušené

buněčné stěny se mikroby rozpadají. Avšak tato alternativní transpeptidáza (PBP2a) není inaktivována antibiotiky jako je penicilin nebo methicilin (neváže se na ně), zachovává si svoji enzymatickou schopnost a buňka je tedy vůči těmto antibiotikům rezistentní (Votava, 2003).

MRSA jsou od samého začátku rezistentní vůči všem beta-laktamům, včetně jejich kombinací s inhibitory beta-laktamáz, tedy také k cefalosporinům, karbapenemům a monobaktamům. Kromě genu pro rezistenci k methicilinu nesou tyto kmeny obvykle ještě další geny pro rezistenci k jiným antibiotikům, což představuje poměrně závažný problém při léčbě onemocnění způsobených kmeny MRSA (Votava, 2003; Schindler, 2008).

Gen *mecA* však nemusí být exprimován, takže standartní diskový test citlivosti nemusí rezistenci na oxacilin nebo methicilin odhalit. Toto platí zejména pro tzv. heterorezistentní kmeny, které někdy obsahují extrémně nízký počet rezistentních buněk. K průkazu rezistence je pak nutné pomocí latexové aglutinace prokázat přítomnost jeho produktu (PBP2a). Lze také využít méně spolehlivé upravené diskové testy, které mají např. vyšší koncentraci NaCl na půdách, což podporuje růst MRSA (Votava, 2003).

8.4 Multirezistence

Bakterie mohou být současně rezistentní k více antibiotikům, a to nejen příbuzným, ale i takovým, jež mají odlišnou chemickou strukturu. U příbuzných antibiotik jde obvykle o jeden mechanismus, ale při rezistenci k různým antibiotikům se tyto mechanismy vlivem různých genů kumulují. MRSA bývají rezistentní k aminoglykosidům (gentamicinu, streptomycinu), makrolidům (erytromycinu), chinolonům (ciprofloxacinu), tetracyklinům, chloramfenikolu a dalším evidentně rozdílným antimikrobiálním látkám (Merlino, 2002; Schindler, 2008).

Dříve se genetika stafylokoků vymezovala pouze na studie transdukce – přenosu genů bakteriofágem. Multirezistence však často vzniká ziskem genů z plasmidů či transpozonů. Gen, který je zodpovědný za mnohočetnou antibiotickou rezistenci, byl označen jako gen *mar*. Je do jisté míry univerzální, determinuje rezistenci také k okysličujícím látkám, k toxickým solím těžkých kovů a k biocidům, k antibakteriálním

látkám v čisticích prostředcích. Jednou z nejčastějších příčin rezistence je univerzální mechanismus nazývaný nespecifický eflux (Schindler, 2014).

8.5 Výskyt MRSA v Evropě

Evropské středisko pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC) bylo založeno v roce 2005. Je to agentura EU zaměřená na posílení obrany Evropy před infekčními nemocemi. Nachází se ve Stockholmu ve Švédsku.

Evropská síť pro sledování antimikrobiální rezistence (EARS-Net) vychází z rutinních údajů o klinické antimikrobiální citlivosti od místních a klinických laboratoří hlášených ECDC jmenovanými zástupci z členských států. EARS-Net je největším veřejně financovaným systémem dozoru nad antimikrobiální rezistencí (AMR) v Evropě. Údaje z EARS-Net hrají důležitou roli při zvyšování povědomí na politické úrovni, mezi úředníky veřejného zdraví, ve vědecké komunitě a mezi širokou veřejností. Přístup veřejnosti k popisným údajům (mapy, grafy a tabulky) jsou k dispozici prostřednictvím „Kontrolního atlasu infekčních nemocí ECDC“ (ECDC, 2018).

Národní procento izolátů hlášených (z 29 zemí pro rok 2014) jako MRSA se pohybovalo od 0,9 % (Nizozemsko) do 56,0 % (Rumunsko). Byly zaznamenány výrazně rostoucí trendy pro období 2011 – 2014 v Dánsku a Slovinsku. Výrazně klesající trendy byly pozorovány u osmi zemí (Belgie, Francie, Německa, Irska, Itálie, Lucemburska, Portugalska a Spojené království). Průměrný procentuální podíl MRSA vážený pro obyvatelstvo EU výrazně poklesl z 18,6 % (rok 2011) na 17,4 % (rok 2014). V porovnání s rokem 2009 do roku 2012 byl pokles méně výrazný (Ears-Net, 2015).

9. VISA/VRSA

VISA je označení pro kmeny *Staphylococcus aureus* se sníženou citlivostí k vankomycinu. Tyto kmeny vykazují pouze částečnou (intermediární) rezistenci k vankomycinu, případně teikoplaninu. Podstata rezistence není s jistotou známa, ví se jen, že GISA (*Staphylococcus aureus* se sníženou citlivostí ke glykopeptidům) vytvářejí abnormálně silnou vrstvu peptidoglykanu.

V roce 2002 byly objeveny kmeny MRSA, které byly současně vysoce rezistentní k vankomycinu, nazývají se VRSA. Jejich úplná rezistence ke glykopeptidům souvisí s přítomností genu *vanA* získaného s největší pravděpodobností od enterokoků. Mohl by z nich vzniknout natolik rezistentní kmen, že infekce jím vyvolané již nebudou čím léčit (Votava, 2003).

Kmeny VISA (vancomycin MIC ≥ 8 ug/ml) byly hlášeny z Japonska, Spojených států, Francie, Velká Británie a Německa. Zřejmě většina těchto izolátů vznikla z již existujících infekcí MRSA. Hetero-VRSA kmeny byly hlášeny ze Španělska, Skotska, Hongkongu, Německa, Řecka a dalších 27 zemí. Většina těchto izolátů byla zjištěna při retrospektivních testovacích šetřeních s použitím agaru BHI, který obsahoval 4 µg/ml vankomycinu (Tenover, 2001).

10. ANTIBIOTICKÁ TERAPIE

Přibližně 90 % stafylokoků je rezistentních na běžný penicilin. Je tedy nutné najít vhodné antibiotikum, na které bude *S. aureus* citlivý. Lokalizované infekce se mohou řešit chirurgicky (Schindler, 2008).

10.1 Antimikrobní látky

Antimikrobní látky jsou všechny látky, které vykazují jakýkoli typ negativního působení proti mikroorganismům. Můžeme k nim řadit antibakteriální látky, kam patří antibiotika a chemoterapeutika (např. sulfonamidy a chinolony), dále antimykotika, antivirotika a antiparazitika, ale také antiseptika, dezinfekční a konzervační prostředky (Buchta, 1998).

Antibiotika jsou látky, které inhibují růst (množení) mikroorganismů (působí bakteriostaticky), nebo je usmrcují (působí baktericidně). Jsou produkovány bakteriemi nebo houbami. Účinné jsou i jejich semisyntetické nebo syntetické deriváty.

Mezi bakteriostatická antibiotika řadíme např. makrolidy, linkosamidy, tetracykliny, chloramfenikol nebo sulfonamidy. Do skupiny baktericidních antibiotik patří mimo jiné beta - laktamová antibiotika, aminoglykosidy, chinolony nebo glykopeptidy nebo polypeptidy (Krčméry, 1974; Bernatová, 2013).

Rozdělení na bakteriostatická a baktericidní antibiotika není vždy zcela přesné, protože mnoho bakteriostatických antibiotik působí ve vyšších koncentracích rovněž baktericidně (např. chloramfenikol u meningokokové infekce) a naopak některá baktericidní antibiotika neusmrcují určité bakterie ani ve vysokých koncentracích (např. penicilin G u infekce enterokoky) (Simon, 1998; Molina-Santiago, 2014).

10.2 Mechanismus účinku antibiotik

Základním požadavkem na antibiotickou terapii je optimální antimikrobiální účinek za minimální toxicity pro pacienta. K tomu je nezbytná vysoká selektivita účinku antibiotik. Toho lze dosáhnout ovlivněním struktur nebo enzymatických procesů specifických jen pro mikroorganismy (např. syntéza buněčné stěny) nebo kumulací látky v mikroorganismu s využitím specifických transportních mechanismů (možné u tetracyklinů) (Simon, 1998).

Antimikrobní látky se liší skladbou a velikostí své molekuly. Nelze od nich očekávat stejný mechanismus účinku, účinkují rozmanitě a pouze na omezený počet cílových struktur patogenní buňky (Schindler, 2008).

Peniciliny, cefalosporiny, monobaktámy, karbapenemy, glykopeptidy a polypeptidy inhibují syntézu buněčné stěny. Enzymy, které syntetizují peptidoglykan buněčné stěny, vážou ochotně β – laktamy a ty potom jejich funkci ruší. Bakterie, které mají porušenou buněčnou stěnu nebo ji nemají vůbec, se rozpadnou. Amfotericin B, azoly, polyeny a polymyxiny narušují funkci cytoplazmatické membrány.

Některá antibiotika fungují tak, že blokují syntézu bílkovin. Tyto bílkoviny se nazývají enzymy a jsou hlavními nástroji metabolismu a reprodukce. Místa zásahu těchto antibiotik jsou různá, na jednom místě syntézy bílkovin působí tetracykliny, jinde makrolidy a linkosamidy, jinde chloramfenikol a jinde aminoglykosidy či novější antibiotika oxazolidinony. Proteosyntéza sice probíhá na ribozomech, ale jednotlivé fáze se odehrávají na různých místech jejich povrchu a s různými molekulami RNA, které mají za úkol přenášet informaci nebo připojují aminokyseliny do rodícího se bílkovinného řetězce. Zásahy do proteosyntézy jsou v některých případech velmi zvláštní, např. u mupirocinu, který zabraňuje připojení do řetězce určité aminokyseliny izoleucinu.

Existují také antimikrobní látky, které zasahují přímo do syntézy nukleových kyselin. Chinolony a ještě účinější fluorchinolony se vážou na enzymy gyrázu a topoisomerázu IV, které rozplétají a kopírují oba provazce DNA. Také imidazoly působí na DNA, způsobují rozlomení provazců. Zábrana syntézy nukleových kyselin může být také nepřímá, např. sulfonamidy a trimetoprim zasahují do metabolického řetězce, sledu reakcí, které vedou k syntéze nukleotidů (Krčméry, 1978; Schindler, 2008; Schindler, 2014).

10.3 Rezistence

Rezistence znamená odolnost mikroorganismů vůči antimikrobním látkám.

Primární (vrozená) rezistence odpovídá geneticky podmíněné necitlivosti bakterií na dané antibiotikum bez ohledu na případný předchozí kontakt s antibiotikem. To je způsobeno absencí nebo nepřípustností cílové struktury pro dané antibiotikum (Buchta, 1998).

Sekundární (získaná) rezistence vzniká až v průběhu antibiotické terapie nebo následkem předchozího podávání antibiotika. V přítomnosti antibiotika se selektují rezistentní kmeny, které se nacházejí v každé velké bakteriální populaci. Rychlost rozvoje sekundární rezistence závisí na frekvenci mutací a na množství bakterií s určitým stupněm rezistence. Sekundární rezistence má dva typy. K navození rezistence k antibiotiku dochází buď rychle, většinou přímo (jednostupňovitě) a nevratně (streptomycinový typ, jenž je znám u streptomycinu, erytromycinu, linkomycinu, rifampicinu) nebo pomaleji, postupně (vícestupňovitě) a obvykle reverzibilně (rezistence penicilinového typu, který vzniká po dlouhodobém podávání některých antibiotik - např. penicilinu, chloramfenikolu, bacitracinu) (Krčméry, 1974; Buchta, 1998).

Sekundární rezistence vzniká dvěma základními způsoby, geneticky nebo fenotypickou adaptací. Genotypická rezistence může být chromozomální, daná změnou genomu, která zajišťuje přežití mikrobiální buňky v přítomnosti antibiotika. Uplatňuje se zde především mechanismus mutace, dochází k ní spontánně nebo bývá indukována vnějším faktorem (např. UV záření) (Jindrák, 2014).

Ke změnám v chromozomu neboli mutacím, dochází při množení buněk, tudíž buňky rezistentní jsou přítomné stále, ovšem v nízké frekvenci, je jich málo, a proto nemají šanci se v převaze citlivých buněk uplatnit. K tomu musí napomoci selekční tlak, který vytváří antibiotika. Jsou to podmínky, které potlačují citlivé buňky normální a dávají zelenou množení buněk rezistentním.

Frekvence mutantů je u bakterií zhruba 10^{-8}. Ve zkumavce vyroste v 10 ml kultivačního bujónu z původní naočkované jedné citlivé buňky populace kolem 10 miliard buněk a mezi nimi je kolem 100 rezistentních. Jestliže antibiotikum nezlikviduje všechny citlivé buňky a selekční tlak podáváním antibiotika trvá, populace bakterií se stane rezistentní. Tato rezistence se přenáší na potomstvo. Hovoří se tak o vertikálním přenosu rezistence, jež je příkladem evoluce přirozenou selekcí podle Darwina (Schindler, 2008).

Druhým typem genotypické rezistence je rezistence extrachromozomální. Jedná se o přenos genetické informace (genu/ů) a tedy i rezistence k antibiotiku/ům, kterou tato informace kóduje. Přenos obvykle probíhá pomocí mimojaderné DNA (plazmidy nebo transpozony). U plazmidového typu se uplatňuje mechanismus genetické rekombinace, jež je nejlépe prostudovaná u bakterií (tzv. parasexuální procesy). Nejčastěji probíhají jako konjugace (spojení bakterií a translokace DNA), případně jako transdukce (DNA plazmidu je převzata do bakteriálního viru a je jím přenesena do další bakterie) (Buchta, 1998; Jindrák 2014). Konjugující bakterie, které vůbec nebyly vystaveny působení antibiotik, poté získávají rezistenci od těch, co ji mají. Tato skutečnost zhoršuje situaci antibiotické rezistence.

Problém antibiotické rezistence narůstá, pokud jsou antibiotika použita na léčbu viróz (na něž neúčinkují) nebo když jsou široce využívána preventivně (např. v krmivech pro hospodářská zvířata). Těmito způsoby může rezistenci získat velké množství bakterií, z nichž následně vzniknou nové odolné generace (Schindler, 2008).

10.3.1 Mechanismus rezistence

K obecným mechanizmům rezistence patří omezená penetrace antibiotika do bakteriální buňky (antibiotikum tak ztrácí přístup k cílové struktuře a tedy i možnost uplatnění svého účinku), změna cílové struktury (např. vazebného místa - receptoru),

náhrada cílové struktury (mikrob si dokáže vytvořit náhradní strukturu, např. enzym, který je vůči zásahu antibiotika imunní) a metabolické změny v bakteriální buňce, které zabrání účinku antibiotika na cílových strukturách (enzymatická inhibice/inaktivace antibiotika) (Simon, 2014; Kapoor, 2017).

Konkrétní mechanizmy rezistence na nejčastěji používaná antibiotika budou uvedeny u jednotlivých skupin antibiotik.

10.3.2 Multirezistence, extenzivní rezistence a panrezistence

Pokud je bakterie rezistentní k více antibiotikům (k 3 až 6 antibiotikům) jedná se o multirezistenci (MDR - multidrug resistance) nebo polyrezistenci (k více jak 7 antibiotikům) (Buchta, 1998).

Extenzivní rezistence (XDR - extensive drug resistance) je necitlivost nejméně k jednomu antibiotiku ze všech skupin 42 antibiotik s výjimkou dvou nebo jedné skupiny.

Panrezistence (PDR - pandrug resistance) je necitlivost ke všem antibiotikům ze všech skupin (Magiorakos, 2012).

10.3.3 Perzistence, zkřížená a sdružená rezistence

Perzistence znamená schopnost mikroorganismů přežívat v tkáních hostitele i v přítomnosti antibiotika, ačkoli *in vitro* vykazují vůči nim citlivost. Předpokládá se, že perzistence je zodpovědná za relapsy některých onemocnění (např. u infekcí vyvolaných stafylokoky či kandidami, u tuberkulózy) (Schindler, 2014).

Typ zkřížené rezistence (znám u sulfonamidů) je klinicky velmi závažný jev, vzniká rezistence k antibiotikům podobné chemické struktury. V případě, že není tento stav absolutní, jedná se o částečnou zkříženou rezistenci (amynoglykosidy). Při oboustranně zkříženém typu rezistence na jedno antibiotikum znamená rezistenci i na antibiotikum druhé (penicilin G a V nebo tetracykliny navzájem). Při jednostranně zkříženém typu rezistence může být citlivost baktérií vůči jednomu z antibiotik zachována (meticilin a penicilin G – stafylokoky rezistentní na penicilin G nemusí být rezistentní na meticilin; meticilin-rezistentní stafylokoky jsou zcela určitě rezistentní na penicilin G) (Buchta, 1998; Simon, 1998).

Sdružená rezistence je ještě závažnější, mikrob je odolný k antibiotikům různé chemické struktury (Schindler, 2014).

10.4 Beta - laktámová antibiotika

Beta – laktámová antibiotika mají ve své chemické struktuře beta - laktamový kruh a tím sdílejí společný účinek, poškozují buněčnou stěnu bakterií, což má za následek smrt mikroorganismu. Uplatňuje se zde třístupňový mechanismus. Dojde k připojení na PBP, inhibici syntézy buněčné stěny přerušením transpeptidace peptidoglykanu (peptidoglykan je polymer, dodávající bakteriím jejich tvar a tuhost) a aktivaci enzymů působících lyticky na buněčnou stěnu (Krčméry, 1978; Hartman, 1984).

Rezistence na beta – laktámová antibiotika může vzniknout několika mechanismy: produkcí enzymů beta - laktamáz, které štěpí beta-laktamový kruh; změnou struktury PBP (u stafylokoků rezistentních na meticilin), čímž antibiotikum nerozezná své receptorové místo a snižuje se jeho afinita k receptoru; vznikem nových PBP; nepropustností vnější membrány (snížením množství přenašečů) u nozokomiálních multirezistentních gramnegativních mikroorganismů; chybějící aktivací autolytických enzymů v buněčné stěně (stafylokoky, streptokoky); či prostřednictvím efluxních pump, které jsou odpovědné za aktivní eliminaci xenobiotik z buňky. Vývoj sekundární rezistence je možný, ale pomalý (Medeiros, 2000; Palzkill, 2013).

Rozeznáváme čtyři hlavní skupiny beta-laktámových antibiotik: peniciliny, cefalosporiny, karbapenemy a monobaktámy (Buchta, 1998).

10.4.1 Peniciliny

Po chemické stránce jsou peniciliny deriváty kyseliny 6 - aminopenicilánové. Můžeme je rozdělit na biosyntetické (penicilin G, penicilin V) a semisyntetické (methicilin, oxacilin, kloxacilin, dikloxacilin, flukloxacilin, ampicilin, hetacilin, karbenicilin, suncilin) (Krčméry, 1974). Peniciliny lze také rozdělit do několika skupin. Rozlišujeme peniciliny přirozené (penicilin G, penicilin V, fenaticilin), antistafylokokové (methicilin, oxacilin, dikloxacilin, flukloxacilin), amidinopeniciliny (mecilinam) a širokospektré (1. aminopeniciliny - ampicilin, amoxicilin, pivapicilin, bacampicilin;

2. karboxypeniciliny – karbenicilin, 3. ureidopeniciliny – piperacilin, azlocilin, mezlocilin, apalcilin) (Buchta, 1998; Jindrák, 2014).

U stafylokokových infekcí využíváme semisyntetické peniciliny. Nedoporučuje se na jednom pracovišti používat všechny semisyntetické peniciliny najednou ve stejném časovém období, protože by trend rezistence byl k těmto preparátům rychlejší (Krčméry, 1974).

Využívána je také kombinace amoxicilinu s kyselinou klavulanovou, která má samostatně jen slabou antimikrobiální aktivita, avšak je inhibitorem beta – laktamáz. Kmeny stafylokoků produkující beta – laktamázu, které jsou rezistentní na amoxicilin, jsou v přítomnosti kyseliny klavulanové na amoxicilin většinou citlivé. Zvýšenou aktivitu proti stafylokokům vykazuje také kombinace tikarcilin/kyselina klavulanová, sulbaktam/ampicilin, tazobaktam/piperacilin, nicméně tyto kombinace většinou dosahují účinku základních cefalosporinů (Simon, 1998).

10.4.2 Cefalosporiny

Cefarosporiny jsou širokospektrá, většinou baktericidní beta – laktámová antibiotika (Buchta, 1998). Chemickou strukturou jsou podobné penicilinům, jedná se o deriváty kyseliny 7 - aminocefalosporanové. Žádný z cefalosporinů nepůsobí na enterokoky a na meticilin - rezistentní stafylokoky (Krčméry, 1974). Podle antimikrobiálního spektra se dělí do 4 generací.

První (I.) generace cefalosporinů má poměrně úzké spektrum proti grampozitivním mikrobům, zejména stafylokokům včetně těžkých infekcí (endokarditid). Avšak enterokoky, meticilin-rezistentní stafylokoky a *Staphylococcus epidermidis* jsou rezistentní. Lze rozlišit injekční formy: cefalotin, cefazolin a cefapirin a perorální formy: cefalexin, cefadroxil, cefaklor (Buchta, 1998; Rodriguez, 2009).

Druhá (II.) generace cefalosporinů pokrývá spektrum předchozí generace a je odolná vůči beta - laktamázám (cefalosporinázám), tj. působí i na kmeny rezistentní vůči I. generaci. Mezi injekční formy patří cefuroxim, cefamandol, cefoxitin, mezi perorální formy je řazen cefuroxim-axetil (ester cefuroximu), který je označován

jako prodrug, V GIT dochází k jeho desacetylaci na aktivní léčivo - cefuroxim (Simon, 1998; Jindrák, 2014).

Třetí (III.) generace cefalosporinů je odolná vůči většině beta - laktamázám (cefalosporinázám) produkovaným bakteriemi rezistentními na I. a II. generaci cefalosporinů. Ve srovnání s nimi mají rozšířené spektrum účinku. Mezi Injekční lékové formy patří cefotaxim, ceftriaxon, ceftazidim, ceftizoxim, cefsulodin, moxalaktam, cefoperazon (Buchta, 1998; Jindrák 2014).

Čtvrtá (IV.) generace cefalosporinů zahrnuje antibiotika zaváděna do terapie v poslední době. Je účinná jak na grampozitivní bakterie, tak na enterobakterie včetně *Pseudomonas aeruginosa* i na gramnegativní tyčky necitlivé na cefalosporiny III. generace. Počítá se s nimi v léčbě závažných smíšených infekcí u nemocných s jiným těžkým onemocněním (imunosuprese, neutropenie). Patří sem cefpirom a cefepim (Simon, 1998; Jindrák, 2014).

Neustále se do klinické praxe zavádějí nová cefalosporinová antibiotika účinná na MRSA (např. ceftarolin, ceftobiprol). Ceftarolin je cefalosporin páté (V.) generace má deklarovaný účinek na MRSA i VRSA (Jindrák, 2014; Spížek, 2016). A podobně jako daptomycin byl schválen pro klinická použití při stafylokokových infekcí u dětí (Sharma, 2017).

Pro klinickou praxi a epidemiologické přehledy vývoje rezistence je důležité studium vzájemných vztahů mezi některými peniciliny a cefalosporiny. Lze se domnívat, že při vzniku bakteriální rezistence k jednomu preparátu bude docházet k rezistenci i u ostatních preparátů (Krčméry, 1974).

10.4.3 Karbapenemy

Karbapenemy jsou beta – laktámová antibiotika, která mají ve svém kruhu nahrazenou síru methylovou skupinou, patří mezi antibiotika s nejširším spektrem účinku (Buchta, 1998).

Na MRSA jsou karbapenemy neúčinné. Jako příklad lze uvést antibotikum meropenem anebo imipenem (Jindrák, 2014).

10.4.4 Monobaktámy

Monobaktámy jsou beta – laktámová antibiotika se substituovaným laktámovým kruhem. Nepůsobí na grampozitivní bakterie a na anaeroby. Představitel monobaktamů je aztreonam (Buchta, 1998).

10.5 Glykopeptidy a lipopetidy

Glykopeptidy jsou antibiotika s úzkým spektrem účinku a relativně nízkou toxicitou (Buchta, 1998). Podobně jako beta – laktámová antibiotika působ na buněčnou stěnu, inhibují její tvorbu a působí baktericidně. Mezi glykopeptidy patří např. vankomycin nebo méně toxický teikoplanin. Jejich antimikrobní spektrum zahrnuje grampozitivní mikroorganismy a anaeroby. Glykopeptidy mohou být lékem volby při alergii pacienta na beta – laktámová antibiotika, působí i na multirezistentní stafylokoky a enterokoky, proto se využívají při výskytu velmi závažných fenotypů rezistence (MRSA) a své uplatnění nalézají také v zařízeních, kde je zvýšené riziko infekce MRSA či profylakticky před chirurgickým výkonem zahrnující impantaci umělých materiálů (např. náhrada kyčelního kloubu) (Pootoobal, 2002; Jindrák, 2014).

K léčbě systémových infekcí se podávají parenterálně. Primární rezistence je vzácná, získaná rezistence na vankomycin (VRSA) a teikoplanin byla poprvé ohlášena v USA v roce 2002 (Simon, 1998, Brown, 2005).

Daptomycin je lipopetidové antibiotikum, které je účinné i na některé multirezistentní grampozitivní (MRSA, enterokoky rezistentní k vankomycinu) (Jindrák, 2014). Mechanismem účinku tohoto antibiotika je vazba na buněčnou stěnu a inhibice syntézy proteinů, které jsou nutné pro její funkci. Mechanismus rezistence není znám, avšak u těchto kmenů jsou často přítomny jednobodové mutace mprF, genu pro lysylphosphatidylglycerol synthetásu (Liu, 2011).

Telavancin je nový polosyntetický lipoglykopeptidový derivát vankomycinu účinný proti MRSA, VISA i VRSA. Má rychlý nástup účinku a působí baktericidně několika mechanismy. Inhibuje syntézu bakteriální stěny a narušuje funkční integritu buněčné membrány (Nannini, 2008; Attwood, 2007).

10.6 Polypeptidy

Mezi polypeptidy patří vysoce toxické antibiotikum bacitracin, které inhibuje syntézu buněčné stěny. Bacitracin je určen pouze pro lokální použití, při použití *per os* nedochází k absorpci, parenteálně nelze podat právě z důvodu vysoké nefrotoxicity. Na stafylokoky působí baktericidně, mechanismem rezistence je chyba v penetraci do buňky. Vývoj sekundární rezistence je velmi pomalý, chybí zkřížená rezistence s jinými antibiotiky (Buchta, 1998; Simon, 1998).

Podobné vlastnosti jako bacitracin má polypeptidové antibiotikum tyrotricin. Mezi bazické cyklické polypeptidy patří také polymyxiny (kolistin a polymyxin B), k těm jsou ovšem grampozitivní bakterie rezistentní (Jindrák, 2014). Avšak nejnovější studie naznačují, že lyofilizované extrakty získané z domorodého *Bacillus subtilis*, které byly odděleny od peptidové rodiny antibiotik a následně identifikovány jako bacitracin A a polymyxin B, by mohly účinkovat na infekce způsobené *S. aureus* (Hussain, 2017).

Bacitracin je také používán v kombinaci s neomycinem (mast Framykoin) a doplňuje ho tak o grampozitivní spektrum (neomycin působí na gramnegativní mikroby a stafylokoky). Další kombinaci tvoří s neomycinem a polymyxinem B, tento antibiotický krém se prodává pod značkou Neosporin (Sharaf, 2002; Anonymous, 2012).

10.7 Aminoglykosidy

Aminoglykosidy (AG) mají hexonové jádro, na které jsou připojeny aminocukry. Působí baktericidně, inhibují syntézu bílkovin, váží se na 30S podjednotku ribozomů. Podléhají aktivnímu transportu přes vnitřní část membrány. Aktivní transport je závislý na kyslíku, AG z tohoto důvodu nepůsobí na anaeroby. Vyvolávají fázi rychlého zabíjení (6 hod), po ní následuje fáze bakteriostázy (také v případě, že koncentrace antibiotika je nízká), kdy nedochází k opětovnému růstu bakterií. Tato fáze se nazývá „postantibiotický efekt“ (PAE) (Le Goffic, 1979; Jindrák, 2014).

Mezi základní AG staršího typu (s vymezenou indikací) patří streptomycin, neomycin, kanamycin. Gentamicin, tobramycin, amikacin a netilmicin řadíme mezi silně účinné novější AG s nižší toxicitou (Buchta, 1998, Simon, 1998). Jsou stále velmi používanou skupinou antibiotik v nemocnicích, mimo jiné působí i na grampozitivy

(*Staphylococcus aureus*, včetně kmenů produkujících beta-laktamázy). Zejména gentamycin a tobramycin v kombinaci s beta-laktamovými nebo glykopeptidovými antibiotiky mají synergické účinky na léčbu *S. aureus* (Jindrák, 2014).

Nevýhodou AG je vysoké riziko již zmíněné toxicity (nefrotoxicita, ototoxicita) a možnost vývoje mnohočetné rezistence, jejíž příčinou může být změna buněčné membrány bakterie, jež znesnadní průnik antibiotika, změna receptoru na S podjednotce ribozomu, či nejčastější enzymatická modifikace antibiotika (adenylace, acetylace, fosforylace apod.), která je kódována geny (např. gen aac(6')-Ie-aph(2''), aph (3')-IIIa nebo ant (4')-Ia) umístěnými na plazmidech nebo transpozonech. Aminoglykosidové modifikující enzymy (AME) se dělí do čtyř skupin: cetyltransferázy (AAC), fosfotransferázy (APH), nukleotidyltransferázy (ANT) a adenyltransferázy (AAD). Proto hlubší znalost enzymů modifikujících AG a jejich interakce s antibiotiky a rozpouštědly má zásadní význam pro konstrukci inhibitorů těchto enzymů či nových účinnějších polosyntetických AG, které nejsou náchylné k modifikujícím enzymům (Khoramrooz, 2017; Zárate, 2018).

10.8 Amfenikoly

Amfenikoly jsou bakteriostatická antibiotika s širokým spektrem účinku na aerobní i anaerobní bakterie, v klinické praxi se používá chloramfenikol (Jindrák, 2014). Mechanismem účinku je vazba na 50S podjednotku ribozomů, tím dochází k inhibici transportu solubilní RNA na ribozomech a tlumení proteosyntézy (Buchta, 1998; Simon, 1998). Mechanismem rezistence může být snížení vazebnosti na cílové ribozomy, snížení permeability buněčné stěny anebo většinou tvorba bakteriálních acetyltransferáz, které intaktivují chloramfenikol (Simon, 1998).

10.9 MLS antibiotika

Skupina MLS antibiotik zahrnuje makrolidy, linkosamidy a streptograminy.

10.9.1 Makrolidy

Makrolidy jsou antibiotika s užším spektrem účinku (Buchta, 1998). Váží se na 50S podjednotku ribozomů a inhibují tvorbu peptidů. Působí bakteriostaticky,

na některé kmeny i baktericidně. Do první (I.) generace makrolidů patří erytromycin, spiramycin, oleandomycin, josamycin, do druhé (II.) generace řadíme klaritromycin, roxitromycin, azitromycin. Erytromycin lze (při přecitlivělosti k penicilinům) alternativně použít místo oxacilinu pro léčbu stafylokokových infekcí, nelze-li použít klindamycin (Simon, 1998; Jindrák, 2014).

10.9.2 Linkosamidy

Linkosamidy stejně jako makrolidy inhibují syntézu proteinů, působí bakteriostaticky nebo baktericidně, v závislosti na koncentraci antibiotika a na citlivosti původce (Simon, 1998). Mezi zástupce patří antibiotika linkomycin a jeho derivát klindamycin. Jejich výhodou je, že jsou málo toxická. Klindamycin se stal důležitou součástí v léčbě stafylokokových infekcí (MSSA i MRSA) (Jindrák, 2014; Lupinacci, 2017).

10.9.3 Streptograminy

Streptograminy se velmi podobají makrolidům a linkosamidům. Jsou vyráběny rody *Streptomyces*, rozlišujeme typ A a typ B. Jednotlivě jsou streptograminy A a B bakteriostatické, ale v kombinaci vykazují synergický účinek a působí baktericidně. Mezi streptograminy typu A patří streptogramin A, virginamycin M, pristinamycin IIA, pristinamycin IIB a polosyntetický derivát pristinamycinu IIB - dalfopristin. Mezi streptograminy typu B řadíme streptogramin B, pristinamycin IA, virginiamycin SI a polosyntetický derivát pristinamycinu IA - quinupristin (Contreras 1977; Lomaestro, 1998).

Quinupristin-dalfopristin je považován za jednu z možností léčby infekcí způsobených MRSA, zejména u pacientů s netolerancí nebo selháním alternativní léčby (Drew, 2000).

Streptograminy inhibují syntézu bakteriálních proteinů vazbou na 50S ribozomální podjednotce. Vazebné místo streptograminu B se překrývá s vazebným místem makrolidů a linkosamidů, takže v průběhu tvorby bakteriální rezistence k jednomu z těchto antibiotik, dojde k vytvoření zkřížené rezistence s ostatními dvěma skupinami antibiotik (odolnost MLS typ B) (Contreras 1977; Lomaestro, 1998).

10.9.4 MLSb rezistence

Prvotní a dodnes zatím nejrozšířenější příčinou rezistence k MLSb antibiotikům jsou geny *erm*. Mechanismem je enzymatická modifikace struktury ribozomu, která spočívá v metylaci adeninu na 23S ribozomální RNA podjednotce 50S ribozomu. Následkem této modifikace se makrolidy, linkosamidy ani streptogramin B nemohou navázat do svého cílového místa na ribosomu a jsou tedy neúčinné (MLSB fenotyp). (Durmaz 2014; Adhikari, 2017). Pro stafylokoky jsou typické geny *ermA* a *ermC* (indukovaná rezistence), někdy se u nich může vyskytovat gen ermB (konstitutivní rezistence) či dokonce kombinace těchto genů (Schmitz, 2000).

Mezi další způsoby MLSb rezistence u *S. aureus* patří aktivní eflux neboli vypumpování antibiotika (M fenotyp) z buňky speciálním transportérem, enzymatická inaktivace antibiotika nebo modifikace struktury ribozomu díky spontánní či indukované mutaci. (Marešová, 2006; Durmaz 2014).

U konstitutivní i indukované rezistence je kmen rezistentní k erytromycinu i klindamycinu a dalším antibiotikům skupiny MLSb. Při indukované rezistenci kmen vytváří deformovanou IZ (D zónu) kolem disku s klindamycinem v oblasti, sousedící s diskem s ERY, kolem nějž nevytváří IZ žádné, nebo o menším průměru než je limit pro citlivé kmeny. Z tohoto důvodu lze při nezbytnosti pro krátkodobou léčbu méně závažných infekcí kůže a měkkých tkání použít klindamycin i u kmene s indukovanou rezistencí ke klindamycinu. Při efluxu (M fenotyp) je kmen rezistentní k erytromycinu i dalším antibiotikům skupiny MLSb a citlivý ke klindamycinu (Urbášková, 2014).

10.10 Tetracykliny

Tetracykliny inhibují syntézu mikrobiálních proteinů, vážou se na 30S podjednotku ribozomu a brání začlenění aminokyselin do nově vznikajících peptidových řetězců. Vstupují do mikroorganismu pasivní difuzí i aktivním mechanismem. Rozlišujeme několik generací tetracyklinu, které se navzájem liší farmakokinetickými vlastnostmi a citlivostí mikroorganismů. Mezi tetracykliny první (I.) generace patří tetracyklin a oxytetracyklin. Doxycyklin a minocyklin řadíme mezi tetracykliny druhé (II.) generace. Thiacyklin, který nevykazuje zkříženou rezistenci, patří mezi tetracykliny třetí (III.) generace (Chopra, 2001; Jindrák, 2014).

Glycylcykliny představují novou skupinu antibiotik, jsou odvozeny od tetracyklinového antibiotika minocyklinu. Hlavním zástupcem je širokospektré antibiotikum tigecyklin, který ukázal slibnou *in vitro* aktivitu proti mnoha běžným patogenům, včetně MRSA. Byl schválen pro klinické použití a je možné jej používat při léčení různých smíšených infekcí způsobených patogeny rezistentními na běžné tetracykliny. Jeho hlavní výhodou je to, že neslouží jako substrát pro efluxní rezistenci (což je zapříčeněno získáním genů *tetK* a *tetL*) nebo ochranné ribozomální proteiny (ribozomální ochrana zprostředkovaná transpozonovými nebo chromozomálními *tetM* nebo *tetO*). To jsou mechanizmy zodpovědné za rezistenci na tetracykliny (Spížek, 2016). Nicméně i na tigecyklin již byla objevena rezistence, za kterou je zodpovědná aktivita monooxygenázy (Sharma, 2017).

10.11 Oxazolidinony

Oxazolidinony představují novou třídu antibiotik s originálním mechanismem účinku, inhibují syntézy proteinů vazbou na ribozomovou jednotku 50S (Swaney, 1998). Jediným představitelem této skupiny, schváleným pro klinické použití, je linezolid. Je účinný proti grampozitivním bakteriím, včetně rezistentních kmenů, tudíž lze říci, že je alternativou vankomycinu pro léčbu MRSA a VRSA (Kolář, 2006). Jeho užívání je spojeno s rizikem trombocytopenie, je nutné monitorovat krevní obraz pacientů a neužívat toto antibiotikum déle než 2 týdny (Gorowitz, 2006).

10.12 Antimikrobiální antagonisté kyseliny listové

Do této skupiny antimikrobních látek patří sulfonamidy (např. sulfadiazin, sulfametoxazol,sulfametoxydiazin, sulfadoxin aj.) trimetoprim a kotrimoxazol (Simon, 1998).

Chemoterapeutikum kotrimoxazol (Trimethoprim/sulfamethoxazole-TMP/SMX) je kombinovaný přípravek složený z trimetoprimu a sulfonamidu sulfametoxazolu v poměru 1:5 (Jindrák, 2014). Zatímco každý sám působí bakteriostaticky, v kombinaci vykazují baktericidní a několikanásobně zvýšený účinek. Synergismus se nejlépe projevuje u původců infekce, jenž jsou citliví k oběma komponentám. Mechanismus účinku spočívá v dvojstupňové inhibici funkce kyseliny listové, která je důležitá

pro množení mikroorganismů. Mechanismem rezistence může být odolnost syntetázy kyseliny listové, reduktázy kyseliny dihydrolistové nebo snížení permeability buněčné stěny (Burchall 1973; Simon, 1998).

Zhruba 90-95 % kmenů CA-MRSA vykazuje *in vitro* citlivost na kotrimoxazol, který se proto stal důležitou součástí z hlediska možnosti léčby méně závažných infekcí kůže a měkkých tkání u ambulantních pacientů. (Liu, 2011; Jindrák, 2014).

10.13 Chinolony

Chinolonová chemoterapeutika vychází ze struktury 4 – oxo - 1,4 – dihydrochinolin – 3 - karboxylové kyseliny, jsou to primárně baktericidní látky, které lze podle antibakteriální aktivity, průniku do tkání a šířky antibakteriálního spektra rozdělit do 4 generací. Všem je společný mechanizmus účinku, tj. inhibice bakteriální gyrázy (chromozomální DNA), enzymu zodpovědného za správné splétání a rozplétání řetězců bakteriální nukleové kyseliny v průběhu G fáze buněčného cyklu (Simon, 1998).

Chinolony první (I.) generace (kyselina nalidixová, oxolinová) a druhé (II.) generace (kyselina pipemidová, norfloxacin, rosoxacin) působí především na gramnegativní mikroorganismy. Chinolony třetí (III.) generace zahrnují léčiva se širokým antibakteriálním spektrem. Patří mezi ně ciprofloxacin, pefloxacin, enoxacin, ofloxacin, fleroxacin a lomefloxacin. Jsou účinné proti grampozitivním (s výjimkou pneumokoků) i gramnegativním mikroorganismům. Mezi chinilony čtvrté (IV.) generace patří mimo jiné sparfloxacin. Působí na řadu multirezistentních mikroorganismů (MRSA i VRSA). Účinkuje také na některé resistentní anaerobní mikroorganismy, a proto je používán výhradně jako rezervní antibiotikum (Buchta, 1998; Uivarosi, 2013).

Postupem času došlo k rychlému vzestupu množství kmenů *S. aureus* rezistentních k fluorochinolonům (např. kyselina nalidixová, oxolinová nebo ciprofloxacin). Izoláty *S. aureus* rezistentní k ciprofloxacinu byly popsány krátce po zavedení léčiva do klinické praxe, a v současné době je v některých oblastech světa rezistentních až 89 % izolátů. Rezistence je způsobena vypuzení látky za pomoci membránové pumpy (gen *NorA)* anebo bodovými mutacemi genů *grlA/grlB* a *gyrA/gyrB*, kódujících podjednotky topoisomerasy IV a DNA-gyrásy (Campion, 2004; Jindrák, 2014).

10.14 Ansamyciny

Do skupiny ansamycinů patří synteticky vyrobené antibiotikum rifampicin, jenž působí baktericidně zejména na organismy v růstové fázi. Na rifampicin jsou výrazně citlivé mykobakterie tuberkulózy, ale také stafylokoky včetně MRSA. Blokuje enzym RNA-polymerázu, což vede k specifické blokaci bakteriální transkripce a syntéze proteinů (Simon, 1998; Feklistov 2008). Je vhodné jej používat v kombinaci s jinou látkou (např. vankomycinem nebo fluorchinolony), jinak se velmi rychle objevují rezistentní kmeny (Gorowitz, 2006). Rezistence na rifampicin vzniká z mutací, které mění vazebné místo pro rifampicin, což vede ke snížené afinitě k léčivu (Feklistov, 2008).

Rifampicin je známý induktor jaterního cytochromu P450, zvyšuje jeho metabolickou aktivitu, což znamená, že zvyšuje metabolismus mnoha léků a dalších látek v séru (např. kortikoidů, beta-blokátorů, antikoncepce, antikoagulačních látek) a v důsledku toho může snížit nebo úplně vyrušit jejich účinnost (Bennett, 2015).

10.15 Kyselina fusidová

Kyselina fusidová není příbuzná s jinými antibiotiky, je to místně účinná lipofilní substance se steroidní chemickou strukturou. Působí bakteriostaticky, inhibuje proteosyntézu bakterií. Spektrum účinku zahrnuje převážně stafylokoky včetně MRSA. Kombinací s jinými antibiotiky (např. vankomycinem) lze oddálit vznik rezistence, ojediněle se vyskytují primárně rezistentní kmeny (Simon, 1998).

Orální léčba rifampicinem kombinovaným s kyselinou fusidovou může být vhodnou alternativou kombinace rifampicinu a ofloxacinu k léčbě implantačních infekcí způsobených stafylokoky, pokud pacient trpí netolerancí vůči chinolonům nebo pokud je infikující organismus rezistentní vůči těmto lékům (Drancourt, 1997).

10.16 Mupirocin

Mupirocin je antibiotikum produkované kmenem *Pseudomonas fluorescens*, působí bakteriostaticky zejména na stafylokoky a streptokoky. Mechanismem účinku je reverzibilní vazba mupirocinu na isoleucyl t-RNA syntetázu, tím dochází k inhibici

proteosyntézy bakterií. Muciprocin není příbuzný s jinými antibiotiky, občas se vyskytují primárně rezistentní kmeny (Simon, 1998; Oommen, 2010).

Využívá se k léčbě MRSA u nosičů, zejména pokud je MRSA přítomen v nosu a pacient netrpí žádnými příznaky (ve formě nosních sprejů). Aplikuje se na kůži jako krém nebo mast, je vhodný k léčbě povrchových infekcí kůže (impetigo nebo folikulitida). Vzhledem k obavám z vývoje rezistence se užívání po dobu delší než deset dní nedoporučuje (Sanju, 2015).

11. POUŽITÍ ANTIBIOTIK DLE KLINICKÉ INDIKACE

Volba antibiotika a způsob antibiotické léčby se řídí několika pravidly. Mezi ně patří klinický stav nemocného (např. akutní pyelonefritida), prokázaný nebo typický původce a jeho citlivost (kultivace a rezistence), základní onemocnění (také předchozí onemocnění, snížená funkce ledvin, věk, alergie v anamnéze) a vlastnosti antibiotika (účinná látka, léková forma, farmakokinetika, možné nežádoucí a toxické účinky) (Simon, 1998).

Jak již bylo uvedeno v kapitole 7.6, nejběžnějšími stafylokokovými infekcemi jsou hnisavá onemocnění kůže a jejích adnex. Ze stafylokokových infekcí pyodermií jsou nejčastější impetigo, folikulitida a furunkl.

Při léčbě ostiofolikulitid a folikulitid většinou postačuje lokální ošetřování. Lze použít lihové roztoky antibiotik podobně jako u akné (erytromycin, klindamycin) nebo dezinfekční a antiseptické roztoky s obsahem jódu, kyseliny salicylové a resorcinu. Kožní projevy spontánně odezní za 7-10 dní; při komplikacích je vhodná celková léčba antibiotiky dle citlivosti.

Při ošetření furunklu, vzhledem k hlubšímu zánětu, je v první fázi vhodné použít např. Saloxyl ung. v náplasti, který obsahuje účinnou látku ichtamol a kyselinu salicylovou. Po uvolnění nekrotického čepu a evakuaci hnisu je aplikováno lokální antibiotikum v roztoku nebo v masti (bacitracin, neomycin – mast Framykoin; mupirocin – mast Bactroban, kyselina fusidová - mast Fucidin) (Bartoňová, 2014). Při opakovaných infekcích měkkých tkání lze využít ceftarolin (Jindrák, 2014).

Erysipelas (neboli růže) se léčí intravenózně či intramuskulárně penicilinem po dobu 10–14 dnů, léčba je zakončená aplikací pendeponu. Při alergii nebo rezistenci na penicilin lze použít např. klindamycin.

Při akutní osteomyelitidě jsou antibiotika podávána dostatečně dlouhou dobu a v dostatečné dávce. Před nasazením jsou odebrány hemokultury a aspirát z kosti na kultivaci. Používají se antistafylokoková antibiotika methicilin/oxacilin nebo klindamycin, linkomycin. Při infekci kmeny MRSA lze použít vankomycin, který má dobrou propustnost do kosti a tudíž lze také použít preventivně při operacích na oddělení ortopedie. V případě infikovaných kloubních a cévních náhrad se používá rifampicin (Kolář, 2006; Jindrák 2014).

Bakteriální pneumonie se léčí opět antistafylokokovými peniciliny (oxacilin/meticilin, kloxacilin), lze použít i cefalosporiny, aminoglykosidy či vankomycin, který je lékem volby zejména při rezistenci.

V kapitole 7.7 jsou blíže popsány toxinózy, což jsou onemocnění, která jsou způsobena vlivem stafylokokových toxinů.

Impetigo se léčí dle dle rozsahu projevů. Lokálně lze použít antiseptické roztoky a antibiotické masti (mupirocin, kyselina fusidová, bacitracin aj.), při celkové léčbě se využívají antibiotika dle citlivosti.

Při SSSS se parenterálně podávají antistafylokoková antibiotika (hrozí zde riziko poruchy vnitřního prostředí, rozvoje pneumonie a sepse), lokální léčba je stejná jako u popálenin. Při TSS je nutná včasná hospitalizace, dostatečný přísun tekutin (infúzními roztoky apod.) a intravenózní podání antistafylokokových antibiotik (makrolidy, cefalosporiny, oxacilin/methicilin, klindamycin, atd.) (Simon, 1998; Jindrák, 2014).

12. BOJ PROTI REZISTENCI

Rezistence bakterií k antimikrobním látkám zde byla od jejich uvedení na trh, avšak její masivní nárůst, spolu s omezeným spektrem nových účinných antibiotik, nás nutí zamyslet se nad dalším přístupem k antiinfekční terapii. Aby byla zachována účinnost stávajících antibiotik, a s tím související možnost efektivní léčby, je třeba aktivně spolupracovat v monitorování a predikci výskytu rezistence (Adámková, 2015).

V boji proti rezistenci se využívá několika kroků, jako jsou příprava nových vakcín proti rezistentním bakteriálním kmenům, hledání nových antibiotik v tradičních i netradičních zdrojích přírodních látek, hledání genů specifikujících biosyntézu sekundárních metabolitů (antibiotik), změna bakteriálního cíle či chemická modifikace již existujících přípravků, využití zapomenutých přírodních sloučenin a jejich transformace a v neposlední řadě hledání nových zásahových míst pro antibiotika. Dále se vědci zabývají studiem sekvencí mikrobiálních genomů a analýzou DNA v prostředí (metagenomikou) (Kolář, 2000; Spížek, 2016).

12.1 Vývoj nových antibiotik

Cesty jsou rozličné, avšak cíl je jediný – najít novou antimikrobní látku (Schindler, 2008).

Následující tabulka přehledně zobrazuje nová antibiotika ve vývoji.

Spectrum of newer antibiotics in development

Category of antibiotic	*Antibiotic in development*	*Clinical development phase*	*Spectrum*
Glycopeptides	Oritavancin, dalbavancin	Phase III	MRSA, VRSA, *Bacillus anthracis*, *Claustridium difficile*
Carbapenems	Faropenem, biapenem	Phase II	G +ve, G −ve (but not MRSA, *Pseudomonas*)
Cephalosporins, β-lactamase inhibitor	Ceftaroline+avibactam	Phase III	Broad spectrum including resistant *Enterobacteriacea*
Peptidomimetics	POL 7080	Phase I	*Pseudomonas* only
Quinolones	Delafloxacin, nemonoxacin	Phase III	G +ve, G −ve including MRSA, VRE
Fluoro-ketolides	Solithromycin	Phase III	Respiratory pathogens: Pneumococcus, *Legionella*, *Moraxella*, *Haemophilus influenzae*
Tetracyclines	Omadacycline, eravacycline	Phase III	G +ve, G −ve including MRSA, *Acinetobacter* (but not *Pseudomonas*)
Aminoglycosides	Plazomicin	Phase III	G −ve and MRSA also
Oxazolidinones	Tedizolid, radezolid	Tedizolid: Phase III Radezolid: Phase II	G +ve including MRSA, VRSA
Streptogramins	Flopristin+linopristin	Phase II	G +ve including MRSA, *Enterococcus faecium*
Anti-mycobacterial	Delamanid	Approved in Europe, phase III in USA	*Mycobacterium tuberculosis*

G +ve=Gram-positive organisms, G −ve=Gram-negative organisms, VRE=Vancomycin resistant *Enterococcus*, MRSA=Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, VRSA=Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus*

Obrázek 5 - Nová antibiotika ve vývoji. Převzato: www.ijp-online.com/text.asp?2015/47/3/248/157109

Vyvíjí se řada chinolonů, které si ponechávají aktivitu proti kmenům rezistentním proti současným chinolonovým sloučeninám, jako jsou např. delafloxacin a nemonoxycin vykazující aktivitu vůči *Staphylococcus aureus*, zejména proti MRSA. Další příbuzná sloučenina ACH 702, která patří mezi isothiazolo-chinolony, je vysoce účinná proti MRSA a také proti *Mycobacterium tuberculosis.* Ve skupině nových

oxazolidinových derivátů byly popsány tedizolid a radezolid, které mají vyšší aktivitu proti stafylokokům, streptokokům a enterokokům než linezolid.

Ve skupině nových β-laktamů je třeba jmenovat ceftarolin, což je cefalosporin páté generace, který má aktivitu proti MRSA a vankomycin-rezistentním kmenům *S. aureus*. Vyvíjí se také nové sloučeniny inhibující β-laktamázy, mezi nimi má avibaktam široké spektrum aktivity včetně aktivity proti karbapenemázám. Nové ketolidy zahrnují cetromycin a solitromycin (Shah, 2015; Spížek, 2016).

12.2 Příprava nových vakcín

Antibiotika a vakcíny (též očkovací látky nebo imunizační agens) jsou využívány pro zlepšování lidského zdraví. Vakcína je látka, jejíž vpravení do organismu má zajistit navození jeho imunity proti specifické chorobě (Anonymous, What are vaccines, 2012).

Vývoj nových vakcín je nepochybně slibná strategie proti rezistenci na antibiotika. Dosud nebyly popsány žádné bakterie rezistentní vůči vakcínám, proto je použití vakcín výhodné. Vakcinace může redukovat vznik kmenů rezistentních na antibiotika, protože snižuje užívání antibiotik. S vývojem nových přístupů je nyní možné připravit vakcíny prakticky proti každému patogenu. Vakcíny zcela nebo částečně vymýtily některé, mnohdy smrtelné, virové a bakteriální infekce a mohou navodit několikaletou nebo celoživotní imunitu proti infekcím (Pollard, 2009; Spížek, 2016).

Avšak pro léčení infikovaných pacientů je nezbytný rychlý účinek antibiotik. Také pokud je příčina onemocnění neznámá a v případech superinfekcí různými druhy bakterií, jeví se antibiotika jako žádoucí a nevyhnutelný terapeutický postup. Vakcíny nejsou účinné u již infikovaných pacientů a jejich aktivita je obvykle omezena jen na poměrně úzké rozmezí patogenů.

Infekční nemoci patří celosvětově k hlavním příčinám úmrtí, protože se vynořují bakterie rezistentní na antibiotika a nejsou k dispozici účinné látky, které by léčily několik infekcí současně, proto je vývoj nových vakcín slibný a nezbytný pro řešení těchto problémů (Jansen, 2013; Spížek, 2016).

12.3 Hledání nových antibiotik v méně tradičních nebo netradičních zdrojích

Nové zdroje antibiotik se hledají v extrémních lokalitách, jako jsou horké prameny, podmořské hlubinné prameny nebo vodní rezervoáry s vysokým obsahem solí, např. mořská aktinomyceta *Salinospora* je zvláště bohatým zdrojem nových chemických struktur se slibnými biologickými aktivitami (Farha, 2015; Spížek, 2016).

Využívání nových zdrojů biologicky aktivních přírodních látek, převážně z mořského prostředí, zasluhuje zvláštní pozornost, zejména vzhledem k obrovské různorodosti mikroorganismů a jejich metabolických produktů (Melander, 2016). Mořská mikrobiologie se bouřlivě vyvíjí v mnoha zemích různých částí světa, více než 67 % přírodních mořských produktů bylo nalezeno v Austrálii, v karibské oblasti, v Indickém oceánu, v Japonsku, ve Středozemí a v západním Pacifiku.

Ukazuje se tedy, že mořské prostředí, které představuje přibližně polovinu globální rozmanitosti organismů, je obrovským zdrojem nových antibiotik a že tento zdroj je třeba náležitě využívat při hledání nové generace těchto sloučenin. Mořské organismy mají některé vlastnosti, které je v mnoha ohledech odlišují od suchozemských organismů. Patří sem metabolismus, chování, přenos informace a adaptační strategie. Na rozdíl od suchozemských organismů se mořské organismy musí adaptovat na extrémní podmínky prostředí, jako jsou vysoký tlak, vysoká koncentrace solí, nízká koncentrace živin, nízká, ale stálá teplota. Tyto rozdíly jsou zodpovědné za různorodost sekundárního metabolismu mořských organismů (Spížek, 2016).

Zajímavostí je, že z mořských řas byla izolována řada multihalogenovaných sloučenin, které mají významnou biologickou aktivitu. Mořské sinice jsou také významným zdrojem biologicky aktivních látek. Jelikož jsou průmyslová kultivace a aplikace genové technologie nyní relativně snadné, tvoří mořské mikroorganismy nejslibnější oblast pro vývoj nových léčiv. Antibiotika se většinou izolují ze suchozemských půdních zdrojů nebo se vyrábějí synteticky z intermediátů. Oceány, které hostí přibližně 87 % života na Zemi, tak mají vysoký potenciál pro získávání nových farmaceuticky významných látek, jelikož představují dosud nedokonale prozkoumaný zdroj (Vairappan, 2004; Spížek, 2016).

12.4 Kombinace nových látek se stávajícími antibiotiky

Jednou z možností jak bojovat proti rezistenci je omlazovat terapeutické účinky stávajících antibiotik novými látkami. Tato nová strategie může mít významné klinické výsledky v boji proti bakteriálním infekcím.

Plectasin, defensinový antimikrobiální peptid, potencuje aktivitu jiných antibiotik proti MSSA a MRSA. Ve Spojeném království testovali účinky kombinace plectasinu s β-laktamy, aminoglykosidy a glykopeptidy na geneticky odlišných klinických izolátech MSSA a MRSA. Kombinace plectasinu s aminoglykosidy (gentamicin, neomycin nebo amikacin) vykazovala synergické účinky u 76-78 % MSSA a MRSA. Podobná synergická reakce byla pozorována, když byl plectasin kombinován s β-laktamy (penicilin, amoxicilin nebo flukloxacilin) v 87-89 % MSSA a MRSA. Je zajímavé, že žádná taková interakce nebyla pozorována, když byl plectasin spárován s vancomycinem (Hu, 2015).

Další sloučeninou je polyfenolový flavonoid luteolin (LUT), jenž má široké spektrum biologických aktivit. Jeho antimikrobiální aktivita proti *S. aureus* nebyla dosud zcela objasněna. Cílem studie v Jižní Koreji bylo prověřit potenciál využití LUT v kombinaci s antibiotiky (ampicilinem, oxacilinem a gentamycinem) a následné použití této kombinace jako možnost alternativní terapie k překonání rezistence vůči lékům kmenů MRSA včetně referenčních kmenů a klinických izolátů. Bylo zjištěno, že kombinace LUT a antibiotik vykazovaly synergický účinek účinku proti MRSA ve většině případů, došlo k výraznému snížení počtu bakterií, které klesly pod nejnižší detekovatelný limit po 24 hodinách. Tyto výsledky naznačují, že LUT potencuje účinky β-laktamových a aminoglykosidových antibiotik proti MRSA (Joung, 2016).

12.5 Genové sekvence mikroorganismů

Informace o složení mikrobiálních genomů lze využívat pro získávání nových sekundárních metabolitů včetně antibiotik. Zhruba 75 % antibiotik je produkováno aktinomycetami a z nich ještě 75 % jedním rodem *Streptomyces.* Kmeny *Streptomyces hygroscopicus* produkují okolo 200 antibiotik. Podle počtu genů specifikujících polyketid syntázu I (PKS), neribozomální peptidovou syntázu (NRPS) nebo smíšenou PKS-NRPS

v produkčním mikroorganismu lze hodnotit potenciál pro tvorbu sekundárních metabolitů. *Streptomyces* a příbuzné rody vláknitých grampozitivních aktinobakterií jsou vynikajícím zdrojem přírodních látek včetně antibakteriálních, antifungálních, protinádorových a imunosupresivních sloučenin, antihelmintik a insekticidů (Hopwood, 2007).

Analýza genů specifikujících biosyntézu antibiotik by se měla využívat při vývoji nových derivátů antibiotik, které by byly účinné proti bakteriálním kmenům rezistentním na současně používaná antibiotika. Prozatím bylo již sekvenováno celkem 18 genomů rodu *Streptomyces* včetně *Streptomyces albus, S. collinus, S. davawensis, S. flavogriseus, S. fulvissimus* a různých kmenů *S. hygroscopicus, S. venezuelae a S. violaceusniger* (Spížek, 2016).

12.6 Zapomenutá antibiotika a jejich revitalizace

Během „zlatého věku“ antibiotik byly objeveny tisíce biologicky aktivních sloučenin, avšak mnohé z nich nebyly využity buď proto, že v té době byly již k dispozici lepší sloučeniny, nebo proto, že z nich nemohla být vyvinuta léčiva vzhledem k jejich nepříznivým farmakologickým vlastnostem. Bylo by dobré v souvislosti se šířením rezistence na antibiotika a nedostatkem nových antibiotik obrátit pozornost k potenciálně užitečným starším antibiotikům (Wright, 2014). Mnoho potenciálně užitečných antibiotik, obvykle laciných a na trhu dostupných jako generika (což jsou lékové ekvivalenty originálních léčivých přípravků), o kterých se ví, že jsou dobře tolerována a že jsou bezpečná, není nyní v některých zemích dostupných (Freire - Moran, 2011; Demain, 2014).

Některé sloučeniny jako např. temocillin a mecillinam by mohly být užitečné proti bakteriím produkujícím β-laktamázy (např. MRSA nebo většina G- bakterií) s rozšířeným spektrem účinku. Fosfomycin a kolistin by se daly použít při léčení infekcí způsobených gramnegativními bacily rezistentními na karbapenem (Giske, 2015).

Freire-Moran a jeho spolupracovníci shrnuli sloučeniny, které jsou v klinickém vývoji a které by se mohly dostat na trh v příštích 5–10 letech (Freire-Moran, 2011). Popsali 66 nových aktivních sloučenin, 27 z nich mělo nový mechanizmus účinku nebo nové zásahové místo a zbývajících 39 látek náleželo ke známým antimikrobiálním

sloučeninám nebo skupinám sloučenin, jako jsou např. chinolony (15 sloučenin), β-laktamy (6), oxazolidiny (3), diaminopyrimidiny (2), makrolidy (2), pleuromutiliny (2), aminoglykosidy (1), ansamyciny (1), inhibitor FabI (1), glykopeptidy (1), kovové ionty (1) streptogramin (1), tetracyklin (1) a hybridní látky typu oxazolidinon/chinolon a rifamycin/fluorochinolon (2).

Jelikož tyto sloučeniny účinkují na stejné zásahové místo jako alespoň jedna již dříve produkovaná antibakteriální sloučenina, nebyly používány v dalších studiích. Z 27 nových aktivních sloučenin s novým mechanizmem účinku nebo s novým zásahovým místem se ukazuje 15 sloučenin, které by mohly být systematicky užívány při léčení vážných invazivních infekcí. Nejčastěji se těmito sloučeninami daly léčit infekce způsobené MRSA (13 z 15), zatímco nejméně často jimi mohly být léčeny infekce způsobené VRE (vankomycin rezistentní enterokok; 5 z 15) (Spížek, 2016).

12.7 Nová zásahová místa

Informace o genomech důležitých patogenních bakterií, jako jsou *Bacillus anthracis, Listeria monocytogenes* a *Staphylococcus aureus*, by nám měly pomoci při hledání nových zásahových míst pro antibiotika u těchto patogenů. Sekvence mnoha set genomů patogenních mikroorganismů jsou již známé a na dalších se pracuje.

Bakheet a Doig (2010) analyzovali 48 zásahových proteinů (proteinů, na něž se antibiotika specificky vážou) pro antibiotika ze všech bakterií. Jejich cílem bylo identifikovat rozdíly v jejich vlastnostech a předpovědět nová potenciální zásahová místa pro antibiotika. Zjistili, že ve srovnání s „nezásahovými“ proteiny jsou bakteriální „zásahové“ proteiny pro antibiotika dlouhé, mají vysoký obsah β-skládaného listu a nízký obsah α-helixu, jsou polární, nacházejí se více v cytoplazmě než v membráně. Obvykle jsou to enzymy, velmi často ligázy.

Identifikovali také 319 proteinů v „nezásahové“ sadě, které mají „zásahové“ vlastnosti a z nichž některé mají neznámou funkci. Z těchto proteinů má 63 významnou a nežádoucí podobnost s proteiny lidskými, což ponechává 256 „zásahových“ proteinů, které se nenacházejí u lidí. Dále bylo nalezeno 64 esenciálních genů, jejichž inzerční poškození je pro buňku letální (Bakheet, 2010; Spížek, 2016).

Najdou-li se geny, které mohou být pro život bakterie esenciální a nepostradatelné, zjistí se jakou bílkovinu (enzym) kódují a na ni se zaměří další postup včetně testování *in vivo*. Bylo tak nalezeno několik perspektivních cílů – syntetáza aminoacyl RNA, která přenáší aminokyseliny při syntéze bílkovin, enzym, který ukončuje syntézu bílkovinné molekuly (deformyláza polypeptidu), nebo řetěz syntézy mastných kyselin. Další perspektivní cíle jsou v oblasti replikace DNA, syntézy peptidoglykanu stěny, syntézy některých aromatických aminokyselin, nebo dokonce sekrece bílkovin, např. toxinů nebo přenosu signálu. Neméně ambiciózní jsou projekty cílené na faktory virulence v širším slova smyslu, jako je např. tvorba biofilmu, sekrece III. typu, kterou bakterie vpravuje do infikované buňky toxin, dvousložkový přenos signálu, atd. (Schindler, 2008).

13. DISKUZE

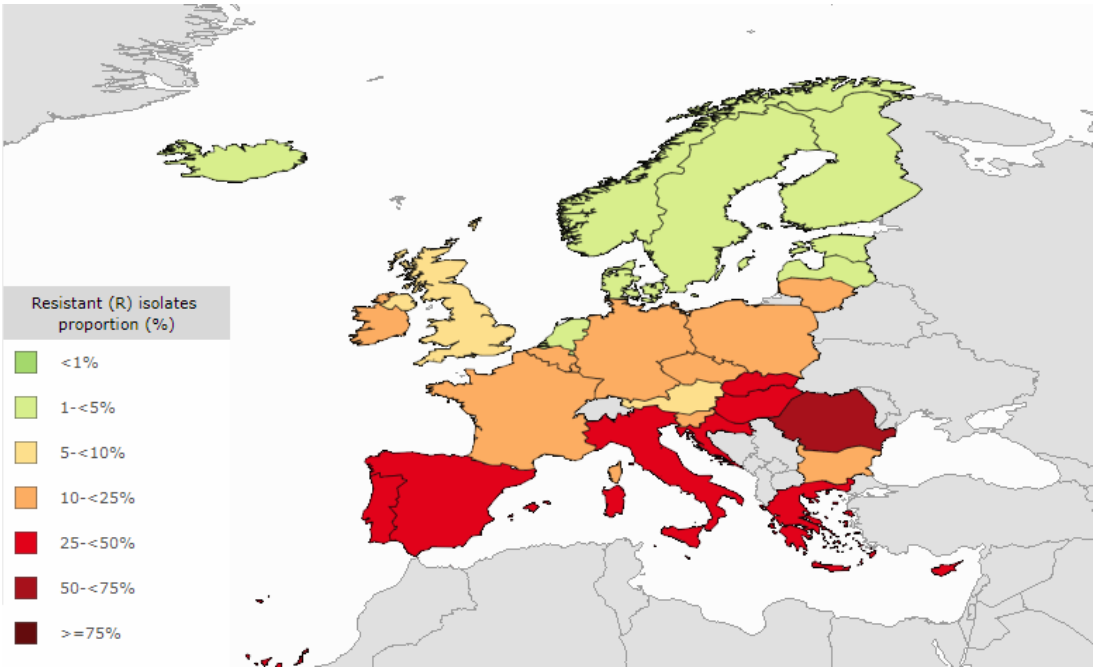
V bakalářské práci se zabývám problematikou rezistence u bakterie *S. aureus*. Nejznámějším a nejvíce rozšířeným nebezpečným kmenem ze skupiny stafylokoků je MRSA.

Jak již bylo uvedeno v kapitole 8, se zavedením penicilinu do klinické praxe koncem 40. let 20. století výrazně stoupla úspěšnost léčby stafylokokových onemocnění. Nadměrné a nekontrolované používání penicilinu mělo však za následek objevení prvních kmenů rezistentních k penicilinu a prakticky také ke všem beta-laktamovým antibiotikům. Z tohoto důvodu byla vyvinuta nová antibiotika na bázi penicilinu odolná vůči degradaci enzymem beta-laktamázou, kam patří mimo jiné také methicilin. Netrvalo však dlouho a v roce 1961 ve Velké Británii byly izolovány kmeny rezistentní i k tomuto antibiotiku. Tyto kmeny se začaly souhrnně označovat jako methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA) (Votava, 2010, Bednář, 1996).

Od té doby se procentuální zastoupení MRSA v populacích kmenů *S. aureus* zvyšuje, začátkem 80. let 20. století došlo k jejich rychlému rozšíření do celé Evropy a také do Spojených států. V současnosti představují celosvětově závažný problém ve zdravotnictví při léčbě stafylokokových infekcí.

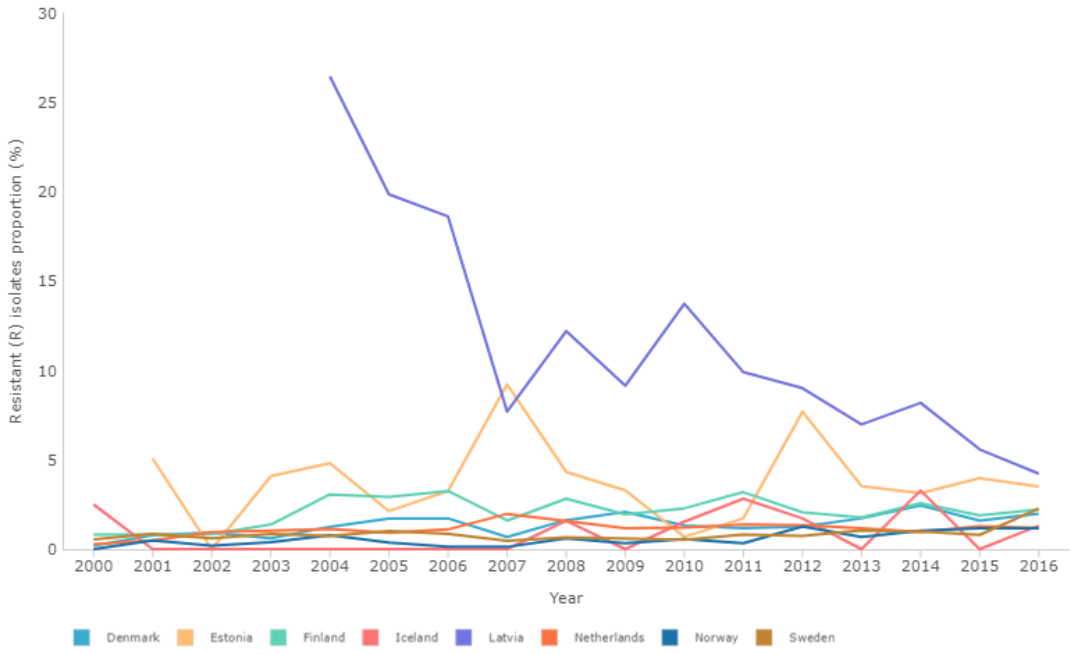
Podle výsledků EARS- Net v roce 2016 bylo zastoupení MRSA < 1% v žádné zemi, 1-5% v osmi zemích, 5-10% ve dvou zemích, 10-25% v deseti zemích, 25-50% v devíti zemích, a více než 50% v jedné zemi (ECDC, 2018).

Výskyt MRSA v roce 2016 v rozmezí 1-5 % byl v Dánsku, Estonsku, Finsku, Islandu, Litvě, Nizozemsku, Norsku a Švédsku. V rozmezí 5 – 25 % výskytu MRSA byla Belgie, Bulharsko, Rakousko, Česká republika, Francie, Německo, Irsko, Litva, Lucembursko, Polsko, Slovinsko a Spojené království. V Chorvatsku, Řecku, Maďarsku, Itálii, Portugalsku, Španělsku, na Kypru, Maltě a Slovensku byl hlášen výskyt 25 – 50 %, pouze Rumunsko vykazovalo vyšší výskyt než 50 % (50,5 %) (ECDC, 2018).

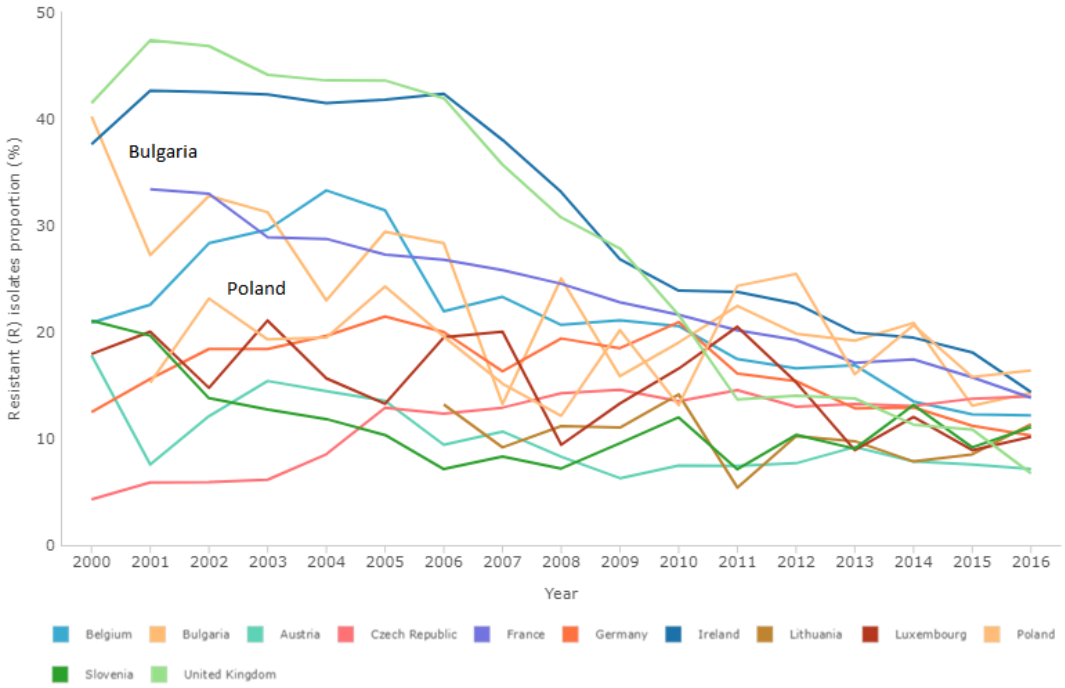


Obrázek 6 - S. aureus: podíl invazivních izolátů rezistentních k methicillinu v roce 2016 v Evropě. Převzato: https://ecdc.europa.eu/en/home

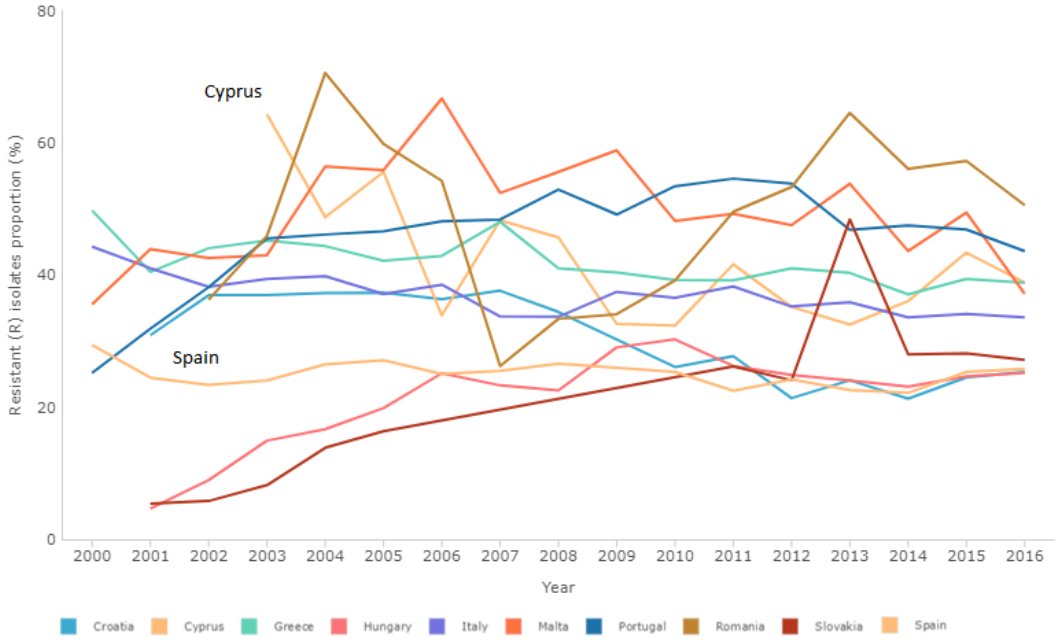
Následující grafy zobrazují výskyt MRSA v jednotlivých státech od roku 2000 do roku 2016.



Obrázek 7 - S. aureus: podíl invazivních izolátů rezistentních k methicillinu v letech 2000 - 2016 v Evropě. Státy do 5% výskytu MRSA v roce 2016. Převzato: https://ecdc.europa.eu/en/home



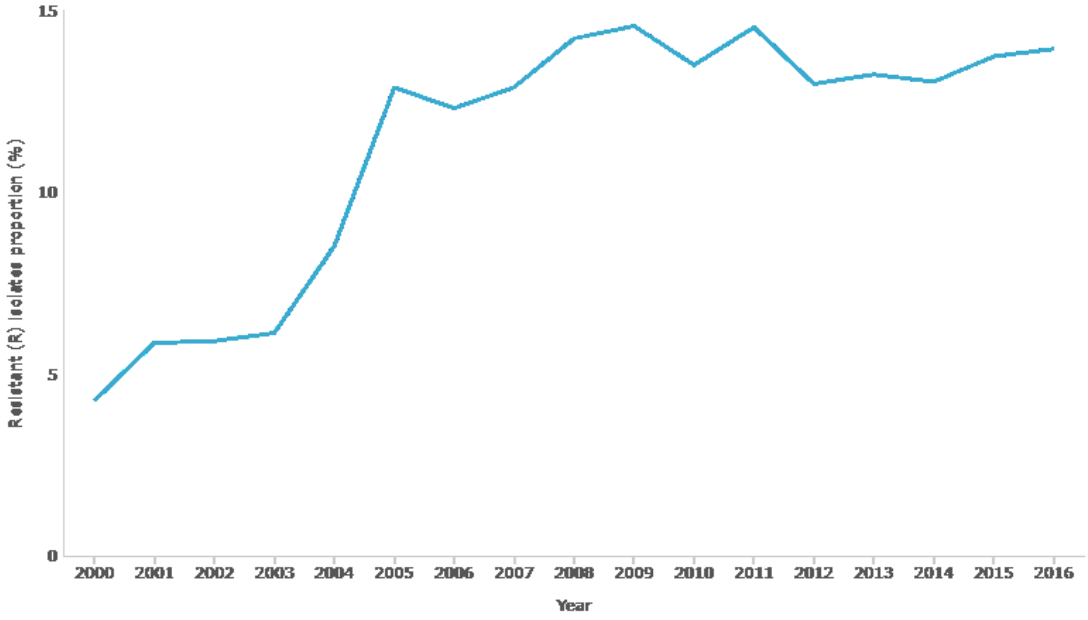
Obrázek 8 - S. aureus: podíl invazivních izolátů rezistentních k methicillinu v letech 2000 - 2016 v Evropě. Státy 5 - 25 % výskytu MRSA v roce 2016. Převzato: https://ecdc.europa.eu/en/home



Obrázek 9 - S. aureus: podíl invazivních izolátů rezistentních k methicillinu v letech 2000 - 2016 v Evropě. Státy 25 - 50 % výskytu MRSA v roce 2016. Převzato: https://ecdc.europa.eu/en/home

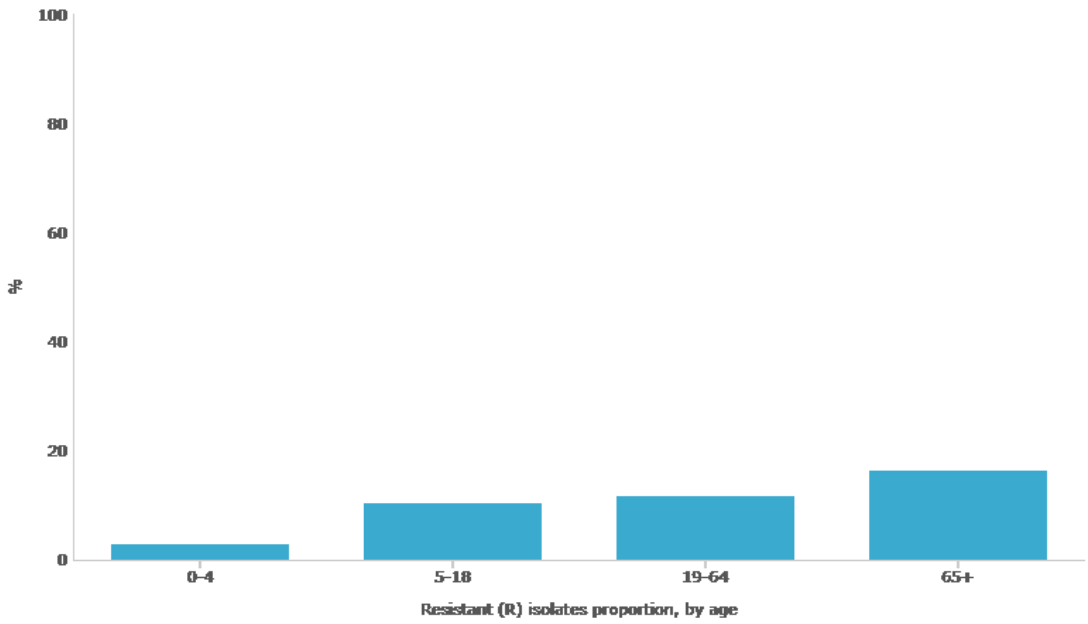
Podle výsledků EARS- Net sbíraných v letech 2000 – 2016 došlo k prudkému nárustu výskytu MRSA v České republice v letech 2003 – 2005 (z 6,1 % na 12,9 %). Nejvyšší výskyt byl zaznamenán v roce 2009 - 14,6 %. V roce 2014 byl výskyt MRSA 13 % a do dvou let došlo opět k mírnému zvýšení – 13,9 % v roce 2016 (ECDC, 2018).

Z rostoucího výskytu rezistence není nutné hned podléhat panice a katastrofální vizi. Strategie biologicky vytrvalých a přizpůsobivých bakterií je sice účinná, ale celkem primitivní. Mobilizují geny z prostředí, mění operující geny a šíří se v populaci. S nimi soupeří lidský mozek, který je nadaný schopností, poznáváním a kombinováním. Realizace nalezených řešení je sice mnohem pomalejší, ale stav absolutní bezbrannosti vůči bakteriálním infekcím zřejmě naštěstí nenastane (Schindler, 2008).



Obrázek 10 - S. aureus: podíl invazivních izolátů rezistentních k methicillinu v letech 2000 - 2016 v České republice. Převzato: https://ecdc.europa.eu/en/home

V České republice jsou výskytem MRSA nejvíce postiženi senioři - 16,2 % populace nad 65 let. U lidí ve věku 19 – 64 let byl zaznamenán druhý největší výskyt 11,6 %. U dětí ve věku 5 – 18 let byl výskyt MRSA 10,3 % a u dětí do 4 let 2,7 %.



Obrázek 11 - S. aureus: podíl invazivních izolátů rezistentních k methicillinu v roce 2016 dle věkových skupin v České republice. Převzato: https://ecdc.europa.eu/en/home

Výskyt infekcí CA-MRSA ve Spojených státech narůstá. Je možné, že komunální odpadní voda by mohla být zásobníkem tohoto mikroorganismu, proto byla provedena studie, jejímž cílem bylo vyšetřit výskyt MSSA a MRSA v odpadních vodách. Vzorky byly odebrány ze dvou středoatlantských a dvou středozápadních čistíren odpadních vod a analyzovány na MSSA a MRSA pomocí membránové filtrace. Izoláty byly potvrzeny použitím biochemických testů a PCR.

Z celkem 44 vzorků byla zjištěna přítomnost MSSA u 24 vzorků (55%) a MRSA u 22 vzorků (50 %). Deset z dvanácti přítoků (83 %) bylo pozitivních na MRSA. Tato zjištění vyvolávají potenciální obavy veřejného zdraví u pracovníků čistíren odpadních vod a osob vystavených recyklované odpadní vodě. Vzhledem k rostoucímu využití recyklovaných odpadních vod jsou zapotřebí další studie, aby bylo možné vyhodnotit riziko expozice bakteriím rezistentních vůči antibiotikům v upravené odpadní vodě (Goldstein, 2012).

Další studie byla zaměřena na přenos *S. aureus* potravinami. Bylo vybráno třicet izolátů izolovaných z masných a drůbežích přípravků. Byla testována antimikrobiální citlivost těchto izolátů MRSA *(Staphylococcus aureus, S. cohnii, S. epidermidis,*

S. haemolyticus, S. hominis, S. lentus, S. lugdunensis, S. sciuri a S. xylosus) k 11 antimikrobiálním látkám (patřících do sedmi různých kategorií) s klinickým významem za použití standardní agarové diskové difuzní metody a komerčně dostupného miniaturizovaného systému (Sensi Test Gram-pozitivní).

Výsledky této studie naznačují, že pravděpodobným prostředkem pro přenos MRSA je mimo jiné i maloobchodní maso a drůbeží přípravky. Nejčastěji byla nalezena rezistence na erytromycin (76,67 % kmenů), dále na tobramycin, ceftazidim (66,67 %), ciprofloxacin (56,67 %) a fosfomycin (53,33 %). Při použití agarové diskové difuze jako referenční metody byla citlivost, specificita a přesnost miniaturizovaného testu 98,44 %, 69,44 % a 83,33 %. Většina nesrovnalostí mezi těmito dvěma způsoby byla způsobena izoláty, které byly citlivé podle metody difuzní disky, ale rezistentní podle miniaturizovaného testu (falešně pozitivní) (Buzón-Durán, 2018).

Kmeny HA-MRSA a obecně nozokominální nákazy jsou celosvětovým problémem, zejména na JIP, kde pacienti doslova bojují o život. „Na JIP v Evropě je téměř polovina infekcí způsobena stafylokoky.“ (Kolář, 2000). JIP hrají důležitou roli v epidemiologii rezistence na meticilin *Staphyloccocus aureus* (MRSA). Ačkoli úspěšné intervence jsou multi-modální, relativní účinnost jednotlivých opatření zůstává neznáma.

Systematický pravidelný screening během pobytu na JIP neposkytuje žádnou přidanou hodnotu, ale agresivní vstupní screening a izolace pacientů s MRSA efektivně sníží počet křížových přenosů. Kriticky kolonizovaní zdravotničtí pracovníci mohou hrát důležitou roli v přenosu MRSA a jejich screening by měl být posílen (Hall, 2012).

Při studii v Indii bylo sledováno celkem 432 lékařů, mediků, ošetřovatelů, domácích pečovatelů. Pracovníci byli vyšetřeni na přítomnost MRSA, ze 432 vzorků bylo 24 vzorků (5,55 %) pozitivních. U izolátu od jednoho pracovníka byla prokázána rezistence na mupirocin. Aby se zabránilo šíření infekce ve zdravotnických zařízeních, je třeba provést test citlivosti příslušného kmene a v případě rezistence na mupirocin použít alternativní léčbu (Tiewsoh, 2017).

Jiná studie srovnávala účinnost mupirocinu a bacitracinu. Cílem bylo eliminovat výskyt *Staphylococcus aureus* u pracovníků ve zdravotnictví (HCWs - healthcare

workers). U 141 pracovníků byl proveden výtěr z nosu, u 37 (26 %) z nich kultivace prokázala přítomnost *S. aureus*. Výsledky studie ukázaly 94% úspěšnost léčby mupirocinem a 44% úspěšnost při použití bacitracinu (Soto, 1999).

MRSA jsou od samého začátku rezistentní vůči všem beta-laktamům, včetně jejich kombinací s inhibitory beta-laktamáz, tedy také k cefalosporinům, karbapenemům a monobaktamům. Kromě genu pro rezistenci k methicilinu nesou tyto kmeny obvykle ještě další geny pro rezistenci k jiným antibiotikům, což představuje poměrně závažný problém při léčbě onemocnění způsobených kmeny MRSA (Votava, 2003; Schindler, 2008).

Při léčbě infekcí krevního řečiště (IKŘ) bylo zaznamenáno selhání léčby MRSA vankomycinem, a to i navzdory tomu, že hodnoty MIC byly nižší než mezní hodnota citlivosti 2 µg/ml. Bylo doporučeno uvažovat o použití alternativních přípravků (daptomycin) pro infekci zahrnující vyšší MIC pro vankomycin. Byla provedena retrospektivní případová kontrolní studie, která hodnotila účinnost a bezpečnost vankomycinu s dávkou daptomycinu, při léčbě IKŘ s MRSA s vysokou hodnotou MIC pro vankomycin (tj. 0,1 g/ml). Celkem bylo porovnáno 118 subjektů léčených vankomycinem s 59 osobami léčenými daptomycinem. Hodnoceno bylo klinické selhání, definované kompozitně jako mortalita, mikrobiologické selhání a/nebo opakování infekce. Klinické selhání bylo číselně nižší u pacientů léčených daptomycinem (17 % daptomycin oproti 31 % vankomycin), v daptomycinové skupině byla také zaznamenána nižší mortalita (9 % daptomycin vs. 20 % vankomycin) a vyšší pravděpodobnost přežití. Výsledky ukázaly, že daptomycin byl spojen s lepším výsledkem ve srovnání s vankomycinem pro léčbu BSI v důsledku MRSA s vyššími MIC pro vankomycin. Tato zjištění podporují doporučení z nedávných směrnic, které navrhnou zvážení přechodu na alternativní agenty, když izolát má vysokou MIC pro vankomycin, nebo když se pacienti během léčby nezlepšují (Moore, 2011).

Rezistence na vankomycin u *S. aureus* může způsobovat sníženou citlivost telavancinu (Song, 2013). Ve studii Kosowska-Shick and colleagues bylo 10 kmenů MRSA pasážováno s cílem zhodnotit potenciál vzniku rezistence. Pouze 1 z 10 testovaných kmenů MRSA byl rezistentní na telavancin (Kosowska-Shick, 2009). V laboratoři zatím nebylo možné stanovit mechanismy rezistence při použití sériově pasážovaných

klinických izolátů MRSA a MSSA. To může být způsobeno více mechanismy působení telavancinu (Karlowsky, 2015).

V Tanzanii byla provedena studie, kde všechny testované kmeny *S. aureus* byly citlivé k chloramfenikolu (Kumburu, 2018). Oproti tomu studie v Egyptě prokázala nejčastější výskyt rezistence *S. aureus* právě k chloramfenikolu (Elshabrawy, 2016).

Krátce po začátku klinického užívání mupirocinu byly zaznamenány kmeny *Staphylococcus aureus,* které byly rezistentní na mupirocin. Ve studii Cooksona z roku 1998 byly izolovány dvě odlišné populace rezistentních kmenů *S. aureus*. Jeden kmen vykazoval tzv. low-level resistance (MuL, MIC = 8-256 mg / l) a druhý vykazoval tzv. high-level resistance (MuH, MIC > 256 mg / l). (Cookson, 1998). Odolnost kmenů MuL je pravděpodobně způsobena mutacemi v izoleucinyl-tRNA syntetáze. MuH je spojena se získáním odděleného genu Ile syntetázy, mupA (Gilbart, 1993; Oommen, 2010).

Z informací uvedených v kapitole 12 vyplývá, že jsme vzhledem k masivnímu nárůstu rezistence, spolu s omezeným spektrem nových účinných antibiotik, nuceni zamyslet se nad dalším přístupem k antiinfekční terapii. Aby byla zachována účinnost stávajících antibiotik, a s tím možnost související možnost efektivní léčby, je třeba aktivně spolupracovat v monitorování a predikci výskytu rezistence (Adámková, 2015).

V boji proti rezistenci se využívá několika kroků, jako jsou příprava nových vakcín proti rezistentním bakteriálním kmenům, hledání nových antibiotik v tradičních i netradičních zdrojích přírodních látek, hledání genů specifikujících biosyntézu sekundárních metabolitů (antibiotik), změna bakteriálního cíle či chemická modifikace již existujících přípravků, využití zapomenutých přírodních sloučenin a jejich transformace a v neposlední řadě hledání nových zásahových míst pro antibiotika. Dále se vědci zabývají studiem sekvencí mikrobiálních genomů a analýzou DNA v prostředí (metagenomikou) (Kolář, 2000; Spížek, 2016).

Mimo jiné byl také objeven nový inhibitor buněčné stěny - teixobactin. Teixobactin je slibný kandidát na léčbu; je účinný proti multirezistentním patogenům včetně MRSA. Vazba teixobactinu (ToWTA prekurzor) přispívá k účinné lýze a usmrcování v důsledku trávení buněčné stěny uvolněnými autolyziny.

Podobným mechanismem účinkuje i další přírodní produkt acyldepsipeptid, který přeměňuje ClpP proteázu na nespecifickou hydrolázu a tím štěpí buňku (Ling, 2015).

Předmětem dalšího výzkumu se stala vakcína skládající se z rekombinantních PBP2a a autolysinu. 25 μg proteinu v různých formulacích bylo podkožně aplikováno různým skupinám pokusných myší. Dvě posilovací očkování byly aplikovány ve třítýdenních intervalech a vzorky krve byly odebrány tři týdny po každé injekci.

Během hodnocení imunitní odpovědi byly analyzovány celkové IgG, IgGl , IgG2a a IgG2b. Imunizace myší r-autolysinem a r-autolysin-PBP2a směsí zvýšila celkovou IgGantibody, dále byly indukovány obě odpovědi IgG1 a IgG2a. Nakonec byl proveden opsonofagocytózní test, který ukázal, že protilátky nejen podporovaly fagocytózu *S. aureus*, ale také snížily počet životaschopných bakteriálních buněk (Haghighat, 2017).

Nejedna studie ukazuje na výhody autolysinu. V další studii bylo pokusným myším třikrát subkutánně podáno 20 μg rekombinantního autolysinu. Pomocí ELISA byly vyhodnoceny protilátky a isotypy IgG specifické pro autolysin. Bylo provedeno vyšetření opsonofagocytů a experimentální provokace byla prováděna intraperitoneální injekcí se subletálními (nedosahující smrtícího letálního účinku) dávkami MRSA u myší. Míra přežití byla pravidelně sledována.

Výsledky ukázaly, že očkované myši mohou vykazovat vyšší hladiny autolysinových specifických protilátek s převládající odpovědí IgG1 oproti kontrolní skupině. Počet životaschopných bakterií v ledvinách imunizovaných myší byl zaznamenán 1000 krát menší než u kontrolních myší. Navíc po imunizaci kandidátní vakcínou byla zjištěna zvýšená míra přežití oproti kontrolní skupině. Výsledky této studie prokázaly, že autolysin je cenným cílem pro vývoj kandidátských vakcín a imunoterapeutických strategií proti *S. aureus* (Siadat, 2017).

Dále byl zkoumán nový polypeptid, založený na epitopu na bázi kravské mastitidy (cow mastitis triple cell epitope-based polypeptide - CM-TEP) s molekulovou hmotností 36 kDa, který byl použit k imunizaci myší a k následné přípravě polyklonální protilátky. Výsledky byly vyhodnoceny pomocí ELISA a bylo prokázáno, že protilátky CM-TEP přímo interagovaly s *S. aureus*. CM-TEP vykazoval významný imunitní ochranný účinek proti infekci *S. aureus* (Liu, 2017).

Dalším typem účinné vakcíny může být vakcína založená na principu VLP (virus like particles) neboli proteinu podobnému viru vyvolávající imunitní odpověď u bakterie *S. aureus* (Daly, 2017).

Kombinace nových látek se stávajícími antibiotiky je také jednou z možností, jak bojovat proti rezistenci. Cílem je omlazovat terapeutické účinky stávajících antibiotik novými látkami. Tato nová strategie, která může mít významné klinické výsledky v boji proti bakteriálním infekcím, je blíže popsána v podkapitole 12.4. Zahrnuje např. plectasin, defensinový antimikrobiální peptid, který potencuje aktivitu jiných antibiotik proti MSSA a MRSA nebo polyfenolový flavonoid luteolin (LUT), jenž má široké spektrum biologických aktivit.

Z dosud dosažených výsledků vyplývá, že situace výskytu rezistence není neřešitelná. Tento problém je nejenom individuální reakce lékaře na infekci individuálního pacienta, ale především je to problém celého lidstva – pacientů, zdravotníků, lékařů. Je přímo nezbytné, nepodceňovat tuto problematiku a zaměřit se především na účinné, nikoli na nadbytečné užívání antibiotik, aby se předešlo dalšímu šíření rezistence.

14. ZÁVĚR

Práce se zabývala bakterií *S. aureus*, byly popsány její základní vlastnosti, laboratorní diagnostika, antigenní struktura a onemocnění, které způsobuje. Ve své bakalářské práci jsem se věnovala také problematice bakteriální rezistence, byly popsány druhy a mechanismy rezistence, antibiotická terapie včetně mechanismů působení antibiotik a další možnosti v boji proti rezistenci. Mezi nejvýznamnější multirezistentní patogeny patří MRSA, proto ji byla v práci věnována větší pozornost. Všechny stanovené cíle byly dosaženy.

Účinná prevence vzniku a šíření MRSA či jiných rezistentních kmenů vyžaduje striktní dodržování základních hygienicko - epidemiologických režimů a omezení indikací antibiotické léčby na nezbytné situace a eliminaci nadužívání antibiotik v léčbě i profylaxi. Antibiotická rezistence zvyšuje více než dvojnásobně morbiditu a prodlužuje dobu hospitalizace pacientů, což vede mimo jiné také k vzestupu nákladů na zdravotní péči. Nelze vybrat jednoznačně nejlepší antibiotikum, protože volba léku závisí na klinickém stavu nemocného, původci onemocnění včetně jeho citlivosti, základním onemocnění a vlastnostech antibiotika. Platí obecné doporučení nepoužívat na jednom pracovišti všechny semisyntetické peniciliny najednou ve stejném časovém období, jelikož by vzrostla rychlost trendu rezistence k těmto preparátům.

15. SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 - Dichotomický klíč k rodové identifikaci grampozitivních aerobních koků (screeningové testy). Převzato: Melter, 2014 14
Obrázek 2 - Biochemická identifikace - inokulum čisté bakteriální kultury je resuspendováno ve fyziologickém roztoku a inokulováno do zkumavek nebo jamek s kultivačním médiem obsahující určité substráty (nejčastěji sacharidy). Převzato: Melter, 2014 15
Obrázek 3 - Disková difuzní metoda a bujónová mikrodiluční metoda. Převzato: Melter, 2014 18
Obrázek 4 - E-test. Převzato: Melter, 2014 18
Obrázek 5 - Nová antibiotika ve vývoji. Převzato: www.ijp-online.com/text.asp?2015/47/3/248/157109 56
Obrázek 6 - S. aureus: podíl invazivních izolátů rezistentních k methicillinu v roce 2016 v Evropě. Převzato: https://ecdc.europa.eu/en/home 64
Obrázek 7 - S. aureus: podíl invazivních izolátů rezistentních k methicillinu v letech 2000 - 2016 v Evropě. Státy do 5% výskytu MRSA v roce 2016. Převzato: https://ecdc.europa.eu/en/home 64
Obrázek 8 - S. aureus: podíl invazivních izolátů rezistentních k methicillinu v letech 2000 - 2016 v Evropě. Státy 5 - 25 % výskytu MRSA v roce 2016. Převzato: https://ecdc.europa.eu/en/home 65
Obrázek 9 - S. aureus: podíl invazivních izolátů rezistentních k methicillinu v letech 2000 - 2016 v Evropě. Státy 25 - 50 % výskytu MRSA v roce 2016. Převzato: https://ecdc.europa.eu/en/home 65
Obrázek 10 - S. aureus: podíl invazivních izolátů rezistentních k methicillinu v letech 2000 - 2016 v České republice. Převzato: https://ecdc.europa.eu/en/home 66
Obrázek 11 - S. aureus: podíl invazivních izolátů rezistentních k methicillinu v roce 2016 dle věkových skupin v České republice. Převzato: https://ecdc.europa.eu/en/home 67

16. SEZNAM ZKRATEK

AAC	acetyltransferázy
AAD	adenyltransferázy
AG	aminoglykosidy
AME	aminoglykosidové modifikující enzymy
AMK	aminokyseliny
AMR	antimikrobiální rezistence
ANT	nukleotidyltransferázy
APH	fosfotransferázy
blaZ	gen pro stafylokokové beta-laktamázy
CA-MRSA	Community-Associated MRSA
CM-TEP	cow mastitis triple cell epitope-based polypeptide
CNS	centrální nervový systém
DGGE	gradientová gelová elektroforéza
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EARS-Net	Evropská síť pro sledování antimikrobiální rezistence
ECDC	Evropské středisko pro prevenci a kontrolu nemocí
erm	gen pro metylázu ribosomu
ET-A	epidermolytický toxin A
ET-B	epidermolytický toxin B
GISA	*Staphylococcus aureus* se sníženou citlivostí ke glykopeptidům
HA-MRSA	Hospital-Acquired MRSA

HVR	hypervariabilní oblast
IgA	imunoglobulin třídy A
IgG	imunoglobin třídy G
IgM	imunoglobulin třídy M
IKŘ	infekce krevního řečiště
IZ	inhibiční zóna
JIP	jednotka intenzivní péče
MALDI – TOF MS	Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight Mass Spectrometry
mar	gen zodpovědný za mnohočetnou antibiotickou rezistenci
MDR	multidrug resistance
mec A	gen zodpovědný za rezistenci k methicilinu
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MLSb	makrolidy-linkosamidy-streptograminy B
MRSA	methicilin rezistentní S*taphylococcus aureus*
MSSA	methicilin citlivý S*taphylococcus aureus*
NaCl	chlorid sodný
NN	nozokominální nákazy
NRPS	neribozomální peptidová syntáza
PA	protein A
PAE	postantibiotický efekt

PBP	penicillin vázající protein
PBP2a	modifikovaný PBP
PCR	polymerázová řetězová reakce
PDR	pandrug resistance
PFGE	pulzní gelová elektroforéza
PG	peptidoglykan
PK	plazmakoaguláza
PKS	polyketid syntáza
PNA	peptidová nukleová kyselina
PVL	leukocidin Panton-Valentine
RAPD	náhodné amplifikace polymorfní DNA
RNA	ribonukleová kyselina
S. aureus	*Staphylococcus aureus*
SSSS	stafylokokový syndrom opařené kůže
tet	gen zodpovědný za rezistenci k tetracyklinům
TMP/SMX	kotrimoxazol (Trimethoprim/sulfamethoxazole)
tRNA	transferová RNA
TSS	syndrom toxického šoku
VRE	vankomycin rezistentní enterokok
TSST-1	toxin toxického šokového syndromu
vanA	gen zodpovědný za rezistenci k vankomycinu
VISA	*Staphylococcus aureus* se sníženou citlivostí k vankomycinu

VLP	virus like particles
VRSA	vankomycin rezistentní *Staphylococcus aureus*
XDR	extensive drug resistance

17. POUŽITÁ LITERATURA

17.1 Tištěné zdroje

ADÁMKOVÁ, Václava. Antibiotika v léčbě infekcí. 1. Olomouc: Solen, 2015. Meduca. ISBN 978-807-4711-374

BEDNÁŘ, M. a kol.: Lékařská mikrobiologie. Marvil, Praha, 1996

BEDNÁŘ, Marek, Andrej SOUČEK a Jiří VÁVRA. Lékařská speciální mikrobiologie a parazitologie. Praha: Triton, 1994. ISBN 8090152147.

BENNETT, John E., Raphael. DOLIN a Martin J. BLASER. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Eighth edition. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders, 2015. ISBN 978-145-5748-013.

BUCHTA, Vladimír. Základy mikrobiologie a parazitologie pro farmaceuty. Praha: Karolinum, 1998. ISBN 80-718-4565-5.

HOPWOOD, D. A. Streptomyces in nature and medicine: the antibiotic makers. New York: Oxford University Press, 2007. ISBN 978-019-5150-667.

JINDRÁK, Vlastimil, Dana HEDLOVÁ a Pavla URBÁŠKOVÁ. Antibiotická politika a prevence infekcí v nemocnici. Praha: Mladá fronta, 2014. Aeskulap. ISBN 978-802-0428-158.

KOLÁŘ, Milan. Antibiotická léčba nozokomiálních infekcí. Praha: Triton, 2000. Levou zadní. ISBN 80-725-4151-X.

KRČMÉRY, Vladimír, František VÝMOLA a Václav VACEK. Rezistencia na antibiotiká v teórii a klinickej praxi. Martin: Osveta, 1974. Edícia pre postgraduálne štúdium lekárov a farmaceutov.

KRČMÉRY, Vladimír. Antibiotiká: mechanizmy účinku a rezistencie. Bratislava: Alfa, 1978. Edícia chemickej literatúry (Alfa).

MELICHERČÍKOVÁ, Věra. Sterilizace a dezinfekce ve zdravotnictví. Praha: Grada, 1998. ISBN 80-716-9442-8.

MELTER, Oto a Annika MALMGREN. Principy a praktika lékařské mikrobiologie. Praha: Karolinum, 2014. ISBN 978-802-4624-143.

PEUTHERER, John Forrest, Richard C. B. SLACK a David GREENWOOD. Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie. Vyd. 1., čes. Praha: Grada, 1999. ISBN 80-716-9365-0.

SCHINDLER, Jiří. Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Grada, 2014. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-4771-2.

SCHINDLER, Jiří. Ze života bakterií. Praha: Academia, 2008. Průhledy (Academia). ISBN 978-802-0016-669.

SIMON, Claus a Wolfgang STILLE. Antibiotika v současné lékařské praxi. Vyd. 1. čes. Praha: Grada, 1998. ISBN 80-716-9268-9.

SPÍŽEK, Jaroslav. Boj s rezistencí na antibiotika. In: Potraviny pro budoucnost. Praha 1: Středisko společných činností AV ČR, 2016.

ŠRÁMOVÁ, Helena. Nozokomiální nákazy. Praha: Maxdorf, 1995. ISBN 80-859-1200-7.

VOTAVA, Miroslav a Petr ONDROVČÍK. Vybrané kapitoly z klinické mikrobiologie. Brno: Masarykova univerzita, 1998. ISBN 80-210-1805-4.

VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody. Brno: Neptun, c2010. ISBN 978-808-6850-048.

VOTAVA, Miroslav. Lékařská mikrobiologie speciální. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902-8966-5.

17.2 Elektronické zdroje

ADHIKARI, R. P., S. SHRESTHA, A. BARAKOTI a R. AMATYA. Inducible clindamycin and methicillin resistant Staphylococcus aureus in a tertiary care hospital, Kathmandu, Nepal. BMC Infectious Diseases [online]. 2017, 17(1), - [cit. 2018-03-10]. DOI: 10.1186/s12879-017-2584-5. ISSN 1471-2334. Dostupné z: http://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-017-2584-5

ANONYMOUS Methicilin-rezistentní Staphylococcus aureus (MRSA). In: Department of health [online]. Minnesota, 2017 [cit. 2018-01-06]. Dostupné z: http://www.health.state.mn.us/divs/idepc/diseases/mrsa/index.html

ANONYMOUS. Desensibilizace. In: Velký lékařský slovník [online]. Praha 4: Maxdorf, 2017 [cit. 2017-12-05]. Dostupné z: http://lekarske.slovniky.cz/pojem/desenzibilizace

ANONYMOUS. Stratum granulosum. In: Velký lékařský slovník [online]. Praha 4: Maxdorf, 2017 [cit. 2017-12-05]. Dostupné z: http://lekarske.slovniky.cz/pojem/stratum-granulosum

ANONYMOUS. Stratum spinosum. In: Velký lékařský slovník [online]. Praha 4: Maxdorf, 2017 [cit. 2017-12-05]. Dostupné z: http://lekarske.slovniky.cz/pojem/stratum-spinosum

ANONYMOUS. Topical Antibiotics. Review of Optometry [online]. 2012, 2A-8A [cit. 2018-03-15]. ISSN 1930160X. Dostupné z: http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&an=76116374&scope=site

ANONYMOUS. What are vaccines?. Immunize BC [online]. Britská Kolumbie - provincie Kanada: Provincial Health Services Authority, 2012 [cit. 2018-03-23]. Dostupné z: https://www.immunizebc.ca/what-are-vaccines

ATTWOOD, R. J. a K. L. LAPLANTE. Telavancin: A novel lipoglycopeptide antimicrobial agent. American Journal of Health-System Pharmacy [online]. 2007, 64(22), 2335-2348 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.2146/ajhp070080. ISSN 1079-2082. Dostupné z: http://www.ajhp.org/cgi/doi/10.2146/ajhp070080

BAKHEET, Tala M, Andrew J DOIG, Chris MANZ, Inge C. GYSSENS, Anthony D. SO, Dominique L. MONNET a Otto CARS. Properties and identification of antibiotic drug targets. BMC Bioinformatics [online]. 2010, 11(1), 195- [cit. 2018-03-19]. DOI: 10.1186/1471-2105-11-195. ISSN 1471-2105. Dostupné z: http://www.biomedcentral.com/1471-2105/11/195

BARTOŇOVÁ, Jiřina. Bakteriální onemocnění kůže v dětské ambulanci. Pediatrie pro praxi [online]. 2014, roč. 15, vol. 4, s. 206-208, dostupné z <https://www.pediatriepropraxi.cz/pdfs/ped/2014/04/06.pdf>

BERNATOVÁ, Silvie, Ota SAMEK, Zdeněk PILÁT, et al. Following the Mechanisms of Bacteriostatic versus Bactericidal Action Using Raman Spectroscopy. Molecules [online].

2013, 18(12), 13188-13199 [cit. 2018-03-09]. DOI: 10.3390/molecules181113188. ISSN 1420-3049. Dostupné z: http://www.mdpi.com/1420-3049/18/11/13188

BROWN, Derek F. J., David I. EDWARDS, Peter M. HAWKEY, Donald MORRISON, Geoffrey L. RIDGWAY, Kevin J. TOWNER a Michael W. D. WREN. Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Journal of Antimicrobial Chemotherapy [online]. 2005, 56(6), 1000-1018 [cit. 2018-03-09]. DOI: 10.1093/jac/dki372. ISSN 1460-2091. Dostupné z: http://academic.oup.com/jac/article/56/6/1000/752986/Guidelines-for-the-laboratory-diagnosis-and

BURCHALL, J. J. Mechanism of Action of Trimethoprim-Sulfamethoxazole--II. Journal of Infectious Diseases [online]. 1973, 128(Supplement 3), S437-S441 [cit. 2018-03-16]. DOI: 10.1093/infdis/128.Supplement_3.S437. ISSN 0022-1899. Dostupné z: https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1093/infdis/128.Supplement_3.S437

BUZÓN-DURÁN, Laura, Rosa CAPITA a Carlos ALONSO-CALLEJA. Antibiotic susceptibility of methicillin-resistant staphylococci (MRS) of food origin: A comparison of agar disc diffusion method and a commercially available miniaturized test. Food Microbiology [online]. 2018, 72, 220-224 [cit. 2018-03-05]. DOI: 10.1016/j.fm.2017.11.018. ISSN 07400020. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0740002017302708

CAMPION, J. J., P. J. MCNAMARA, M. E. EVANS, P. MCGHEE, B. DEWASSE, L. BEACHEL a P. C. APPELBAUM. Evolution of Ciprofloxacin-Resistant Staphylococcus aureus in In Vitro Pharmacokinetic Environments: Mechanisms of Action, In Vitro Activity, and Mechanisms of Resistance. Antimicrobial Agents and Chemotherapy [online]. 2004, 48(12), 4733-4744 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1128/AAC.48.12.4733-4744.2004. ISSN 0066-4804. Dostupné z: http://aac.asm.org/cgi/doi/10.1128/AAC.48.12.4733-4744.2004

CAPRIOLI, Richard M., Terry B. FARMER a Jocelyn GILE. Molecular Imaging of Biological Samples: Localization of Peptides and Proteins Using MALDI-TOF MS. Analytical

Chemistry [online]. 1997, 69(23), 4751-4760 [cit. 2018-03-23]. DOI: 10.1021/ac970888i. ISSN 0003-2700. Dostupné z: http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac970888i

CARRICAJO, A., A. TRENY, N. FONSALE, M. BES, M. E. REVERDY, Y. GILLE, G. AUBERT a A. M. FREYDIERE. Performance of the Chromogenic Medium CHROMagar Staph Aureus and the Staphychrom Coagulase Test in the Detection and Identification of Staphylococcus aureus in Clinical Specimens. Journal of Clinical Microbiology [online]. 2001, 39(7), 2581-2583 [cit. 2018-03-23]. DOI: 10.1128/JCM.39.7.2581-2583.2001. ISSN 0095-1137. Dostupné z: http://jcm.asm.org/cgi/doi/10.1128/JCM.39.7.2581-2583.2001

CDC. General Information About MRSA in the Community. In: Centers for disease control and prevention [online]. 1600 Clifton Road Atlanta, 2016 [cit. 2018-01-06]. Dostupné z: https://www.cdc.gov/mrsa/community/index.html

CONTRERAS, Antonio a David VÁZQUEZ. Synergistic Interaction of the Streptogramins with the Ribosome. European Journal of Biochemistry [online]. 1977, 74(3), 549-551 [cit. 2018-03-13]. ISSN 00142956. Dostupné z: http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&an=15810132&scope=site

COOKSON, B. D., Tolbert SONDA, Pimlapas LEEKITCHAROENPHON, et al. The emergence of mupirocin resistance: a challenge to infection control and antibiotic prescribing practice. Journal of Antimicrobial Chemotherapy [online]. 1998, 41(1), 11-18 [cit. 2018-03-15]. DOI: 10.1093/jac/41.1.11. ISSN 0305-7453. Dostupné z: https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/41.1.11

DALY, Seth M., Jason A. JOYNER, Kathleen D. TRIPLETT, et al. VLP-based vaccine induces immune control of Staphylococcus aureus virulence regulation. Scientific Reports [online]. 2017, 7(1), - [cit. 2018-01-09]. DOI: 10.1038/s41598-017-00753-0. ISSN 2045-2322. Dostupné z: http://www.nature.com/articles/s41598-017-00753-0

DEMAIN, Arnold L. Importance of microbial natural products and the need to revitalize their discovery[online]. 2014, 41(2), 185-201 [cit. 2018-03-19]. DOI: 10.1007/s10295-013-1325-z. ISSN 1367-5435. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/s10295-013-1325-z

DICKSON, J I a R R MARPLES. Coagulase production by strains of Staphylococcus aureus of differing resistance characters: a comparison of two traditional methods with a latex agglutination system detecting both clumping factor and protein A. Journal of Clinical Pathology [online]. 1986, 39(4), 371-375 [cit. 2018-03-24]. DOI: 10.1136/jcp.39.4.371. ISSN 0021-9746. Dostupné z: http://jcp.bmj.com/cgi/doi/10.1136/jcp.39.4.371

DRANCOURT, M., A. STEIN, J. N. ARGENSON, R. ROIRON, P. GROULIER a D. RAOULT. Oral treatment of Staphylococcus spp. infected orthopaedic implants with fusidic acid or ofloxacin in combination with rifampicin. Journal of Antimicrobial Chemotherapy [online]. 1997, 39(2), 235-240 [cit. 2018-03-16]. DOI: 10.1093/jac/39.2.235. ISSN 0305-7453. Dostupné z: https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/39.2.235

DREW, R. H., M. DE LA CRUZ CLAURE, Raúl BENITO-ARENAS, et al. Treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections with quinupristin-dalfopristin in patients intolerant of or failing prior therapy: Design of Novel Antibiotics and Inhibitors. Journal of Antimicrobial Chemotherapy [online]. 2000, 46(5), 775-784 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1093/jac/46.5.775. ISSN 14602091. Dostupné z: https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/46.5.775

DURMAZ, Süleyman. Macrolide-lincosamide-streptogramin B Resistance Phenotypes in Staphylococcus aureus. European Journal of General Medicine [online]. 2014, 11(4), 217-220 [cit. 2018-03-10]. DOI: 10.15197/sabad.1.11.75. ISSN 13043897. Dostupné z: http://www.ejgm.co.uk/Macrolide-Lincosamide-Streptogramin-B-Resistance-Phenotypes-in-Staphylococcus-Aureus,82048,0,2.html

DUTHIE, E. S. Evidence for Two Forms of Staphylococcal Coagulase. Journal of General Microbiology[online]. 1954, 10(3), 427-436 [cit. 2018-03-23]. DOI: 10.1099/00221287-10-3-427. ISSN 0022-1287. Dostupné z: http://mic.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/00221287-10-3-427

ELSHABRAWY, Walaa Othman, Maysaa Elsayed ZAKI a Mohamed Farag KAMEL. Genetic and phenotypic study of methicillin-resistant Staphylococcus aureus among patients and health care workers in Mansoura University Hospital, Egypt. Iranian Journal of

Microbiology [online]. 2017, 2016, 9(2), 82-88 [cit. 2018-03-15]. ISSN 20083289. Dostupné z: http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&an=124589908&scope=site

ESSERS L, K. RADEBOLD. Rapid and reliable identification of Staphylococcus aureus by a latex agglutination test. Journal of Clinical Microbiology. 1980;12(5):641-643. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC273662/

European Centre for Disease Prevention and Control [online]. Stockholm: An agency of the European Union, 2018 [cit. 2018-03-24]. Dostupné z: https://ecdc.europa.eu/en/home

European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2015. ISNB 978-92-9193-729-5 Dostupné z: https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-europe-2014.pdf

FARHA, Maya A. a Eric D. BROWN. Unconventional screening approaches for antibiotic discovery. Annals of the New York Academy of Sciences [online]. 2015, 1354(1), 54-66 [cit. 2018-03-24]. DOI: 10.1111/nyas.12803. ISSN 00778923. Dostupné z: http://doi.wiley.com/10.1111/nyas.12803

FEKLISTOV, A., V. MEKLER, Q. JIANG, et al. Rifamycins do not function by allosteric modulation of binding of Mg2 to the RNA polymerase active center. Proceedings of the National Academy of Sciences [online]. 2008, 105(39), 14820-14825 [cit. 2018-03-16]. DOI: 10.1073/pnas.0802822105. ISSN 0027-8424. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2567451/

FELTEN, A., B. GRANDRY, P. H. LAGRANGE a I. CASIN. Evaluation of Three Techniques for Detection of Low-Level Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA): a Disk Diffusion Method with Cefoxitin and Moxalactam, the Vitek 2 System, and the MRSA-Screen Latex Agglutination Test. Journal of Clinical Microbiology [online]. 2002, 40(8),

2766-2771 [cit. 2018-03-23]. DOI: 10.1128/JCM.40.8.2766-2771.2002. ISSN 0095-1137. Dostupné z: http://jcm.asm.org/cgi/doi/10.1128/JCM.40.8.2766-2771.2002

FIGUEIREDO, Agnes M. S. What is behind the epidemiological difference between community-acquired and health-care associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus ? Virulence [online]. 2016, 8(6), 640-642 [cit. 2018-01-09]. DOI: 10.1080/21505594.2017.1335847. ISSN 2150-5594. Dostupné z: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21505594.2017.1335847

FREIRE-MORAN, Laura, Bo ARONSSON, Chris MANZ, Inge C. GYSSENS, Anthony D. SO, Dominique L. MONNET a Otto CARS. Critical shortage of new antibiotics in development against multidrug-resistant bacteria—Time to react is now. Drug Resistance Updates [online]. 2011, 14(2), 118-124 [cit. 2018-03-19]. DOI: 10.1016/j.drup.2011.02.003. ISSN 13687646. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1368764611000197

GILBART, J, C R PERRY, B SLOCOMBE, et al. High-level mupirocin resistance in Staphylococcus aureus: evidence for two distinct isoleucyl-tRNA synthetases. Antimicrobial Agents and Chemotherapy [online]. 1993, 37(1), 32-38 [cit. 2018-03-15]. DOI: 10.1128/AAC.37.1.32. ISSN 0066-4804. Dostupné z: http://aac.asm.org/cgi/doi/10.1128/AAC.37.1.32

GISKE, C.G. Contemporary resistance trends and mechanisms for the old antibiotics colistin, temocillin, fosfomycin, mecillinam and nitrofurantoin. Clinical Microbiology and Infection [online]. 2015, 21(10), 899-905 [cit. 2018-03-24]. DOI: 10.1016/j.cmi.2015.05.022. ISSN 1198743X. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X15005546

GOLDSTEIN, Rachel E. Rosenberg, Shirley A. MICALLEF, Shawn G. GIBBS, et al. Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Detected at Four U.S. Wastewater Treatment Plants. Environmental Health Perspectives [online]. 2012, 120(11), 1551-1558 [cit. 2018-03-25]. DOI: 10.1289/ehp.1205436. ISSN 0091-6765. Dostupné z: http://ehp.niehs.nih.gov/1205436

GOROWITZ Rachel J., Daniel B. JERNIGAN, John H. POWERS, John A. JERNIGAN, 2006, Strategies for clinical management of MRSA in the community: Summary of an expert's

meeting convened by the centers for disease control and prevention, dostupné https://www.cdc.gov/mrsa/pdf/mrsa-strategies-expmtgsummary-2006.pdf

HAGHIGHAT, Setareh, Seyed Davar SIADAT, Seyed Mehdi Rezayat SORKHABADI, Abbas Akhavan SEPAHI a Mehdi MAHDAVI. A novel recombinant vaccine candidate comprising PBP2a and autolysin against Methicillin Resistant Staphylococcus aureus confers protection in the experimental mice. Molecular Immunology [online]. 2017, 91, 1-7 [cit. 2018-01-09]. DOI: 10.1016/j.molimm.2017.08.013. ISSN 01615890. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0161589017304704

HALL, I. M., I. BARRASS, S. LEACH, D. PITTET a S. HUGONNET. Transmission dynamics of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in a medical intensive care unit: a visionary life. Journal of The Royal Society Interface [online]. 2012, 2001, 9(75), 2639-2652 [cit. 2018-03-04]. DOI: 10.1098/rsif.2012.0134. ISSN 1742-5689. Dostupné z: http://rsif.royalsocietypublishing.org/cgi/doi/10.1098/rsif.2012.0134

HARTMAN, BARRY J. a ALEXANDER TOMASZ. Low-affinity penicillin-binding protein associated with beta-lactam resistance in Staphylococcus aureus. JOURNAL OF BACTERIOLOGY [online]. American Society for Microbiology, 1984, 513-516 [cit. 2018-03-05]. Dostupné z: http://jb.asm.org/content/158/2/513.full.pdf+html

HU, Yanmin, Alexander LIU, James VAUDREY, et al. Combinations of β-Lactam or Aminoglycoside Antibiotics with Plectasin Are Synergistic against Methicillin-Sensitive and Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. PLOS ONE [online]. 2015, 10(2), e0117664- [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1371/journal.pone.0117664. ISSN 1932-6203. Dostupné z: http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0117664

HUSSAIN, Marwan Y., Adnan A. ALI-NIZAM a Samir M. ABOU-ISBA. Antibacterial Activities (Bacitracin A and Polymyxin B) of Lyophilized Extracts from Indigenous Bacillus subtilis Against Staphylococcus aureus. Jordan Journal of Biological Sciences [online]. 2017, 10(3), 205-212 [cit. 2018-03-15]. ISSN 19956673. Dostupné z: http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&an=125285300&scope=site

CHOPRA, I. a M. ROBERTS. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. Microbiology and

Molecular Biology Reviews [online]. 2001, 65(2), 232-260 [cit. 2018-03-14]. DOI: 10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001. ISSN 1092-2172. Dostupné z: http://mmbr.asm.org/cgi/doi/10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001

JANSEN, Kathrin U., Douglas Q. GIRGENTI, Ingrid L. SCULLY a Annaliesa S. ANDERSON. Vaccine review: "Staphyloccocus aureus vaccines. Vaccine [online]. 2013, 31(25), 2723-2730 [cit. 2018-03-04]. DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.04.002. ISSN 0264410X. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0264410X13004210

JORGENSEN, James H. a Mary Jane FERRARO. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. Clinical Infectious Diseases [online]. 2009, 49(11), 1749-1755 [cit. 2018-03-25]. DOI: 10.1086/647952. ISSN 1058-4838. Dostupné z: https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/647952

JOUNG, DAE-KI, OK-HWA KANG, YUN-SOO SEO, et al. Luteolin potentiates the effects of aminoglycoside and β-lactam antibiotics against methicillin-resistant Staphylococcus aureus in vitro. Experimental and Therapeutic Medicine [online]. 2016, 11(6), 2597-2601 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.3892/etm.2016.3212. ISSN 1792-0981. Dostupné z: https://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2016.3212

KAPOOR, Garima, Saurabh SAIGAL a Ashok ELONGAVAN. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology [online]. 2017, 33(3), 300- [cit. 2018-03-06]. DOI: 10.4103/joacp.JOACP_349_15. ISSN 0970-9185. Dostupné z: http://www.joacp.org/text.asp?2017/33/3/300/214313

KARLOWSKY, James A., Kim NICHOL, George G. ZHANEL, P. MCGHEE, B. DEWASSE, L. BEACHEL a P. C. APPELBAUM. Telavancin: Mechanisms of Action, In Vitro Activity, and Mechanisms of Resistance. Clinical Infectious Diseases [online]. 2015, 61(suppl 2), S58-S68 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1093/cid/civ534. ISSN 1058-4838. Dostupné z: https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/civ534

KHORAMROOZ, Seyed Sajjad, Samin Alipoor DOLATABAD, Fatemeh Mostafapour DOLATABAD, et al. Detection of tetracycline resistance genes, aminoglycoside modifying enzymes, and coagulase gene typing of clinical isolates of Staphylococcus aureus in the Southwest of Iran. Iranian Journal of Basic Medical Sciences [online]. 2017, 20(8), 912-

919 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.22038/IJBMS.2017.9114. ISSN 20083866. Dostupné z: http://web.b.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=0&sid=3723ac73-3acc-4d8f-bc69-5329d7757ffb%40sessionmgr104

KOLÁŘ Ph.D, D.M.M., URBÁNEK Ph.D, M.K., & DLOUHÝ, P. (2006). Současné možnosti léčby infekcí způsobených rezistentními grampozitivními bakteriemi. Klin Farmakol Farm, 20(2), 71-74. [cit. 2018-03-09]. Dostupné z: https://www.solen.cz/pdfs/far/2006/02/04.pdf

KOSOWSKA-SHICK, K., C. CLARK, G. A. PANKUCH, P. MCGHEE, B. DEWASSE, L. BEACHEL a P. C. APPELBAUM. Activity of Telavancin against Staphylococci and Enterococci Determined by MIC and Resistance Selection Studies: A novel lipoglycopeptide antimicrobial agent. Antimicrobial Agents and Chemotherapy [online]. 2009, 53(10), 4217-4224 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1128/AAC.00742-09. ISSN 0066-4804. Dostupné z: http://aac.asm.org/cgi/doi/10.1128/AAC.00742-09

KUMBURU, Happiness H., Tolbert SONDA, Pimlapas LEEKITCHAROENPHON, et al. Hospital Epidemiology of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in a Tertiary Care Hospital in Moshi, Tanzania, as Determined by Whole Genome Sequencing. BioMed Research International [online]. 2018, 2018(4), 1-12 [cit. 2018-03-15]. DOI: 10.1155/2018/2087693. ISSN 2314-6133. Dostupné z: https://www.hindawi.com/journals/bmri/2018/2087693/

LE GOFFIC, Françoise, Marie-Louise CAPMAU, Frédéric TANGY a Michèle BAILLARGE. Mechanism of Action of Aminoglycoside Antibiotics. European Journal of Biochemistry [online]. 1979, 102(1), 73-81 [cit. 2018-03-13]. ISSN 00142956. Dostupné z: http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&an=13698808&scope=site

LI, M., B. A. DIEP, A. E. VILLARUZ, et al. Evolution of virulence in epidemic community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Proceedings of the National Academy of Sciences [online]. 2009, 106(14), 5883-5888 [cit. 2018-03-09]. DOI: 10.1073/pnas.0900743106. ISSN 0027-8424. Dostupné z: http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0900743106

LING, Losee L., Tanja SCHNEIDER, Aaron J. PEOPLES, et al. A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. Nature [online]. 2015, 517(7535), 455-459 [cit. 2018-03-19]. DOI: 10.1038/nature14098. ISSN 0028-0836. Dostupné z: http://www.nature.com/articles/nature14098

LIU Xiang, Chunlin CHEN, Chen CHEN, Gregory MARSLIN, Rui DING a Sanqiao WU. Construction and evaluation of a novel triple cell epitope-based polypeptide vaccine against cow mastitis induced by Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Streptococcus. Tropical Journal of Pharmaceutical Research[online]. 2017, 16(10), 2477-2486 [cit. 2018-03-19]. DOI: 10.4314/tjpr.v16i10.23. ISSN 15965996. Dostupné z: http://web.b.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=0&sid=f16ff9c4-0f6b-4d56-b78c-39e3a73be493%40sessionmgr101

LIU, Catherine, Arnold BAYER, Sara E. COSGROVE, et al. Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the Treatment of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Infections in Adults and Children. Clinical Infectious Diseases [online]. 2011, 52(3), e18-e55 [cit. 2018-03-09]. DOI: 10.1093/cid/ciq146. ISSN 1058-4838. Dostupné z: https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/ciq146

LOMAESTRO, B.M. a L.L. BRICELAND. Streptogramins and their Potential Role in Geriatric Medicine. Drugs [online]. 1998, 13(6), 443-465 [cit. 2018-03-13]. ISSN 1170229X. Dostupné z: http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&an=9526282&scope=site

LUPINACCI, FelipeS, Daniel BUSSIUS, Felipe ACQUESTA, Gustavo FAM, Raphael ROSSI, Alessandra NAVARINI a MarceloJ MIMICA. High prevalence of clindamycin resistance in Staphylococcus aureus blood culture isolates in São Paulo, Brazil. Journal of Laboratory Physicians [online]. 2017, 9(4), 314- [cit. 2018-03-10]. DOI: 10.4103/JLP.JLP_161_16. ISSN 0974-2727. Dostupné z: http://www.jlponline.org/text.asp?2017/9/4/314/214260

MAGIORAKOS, A.-P., A. SRINIVASAN, R.B. CAREY, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clinical Microbiology and Infection

[online]. 2012, 18(3), 268-281 [cit. 2018-03-22]. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x. ISSN 1198743X. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X14616323

MAREŠOVÁ, Vilma a Petra URBÁŠKOVÁ. Spiramycinum. Remedia [online]. 2006, 2006, (1) [cit. 2018-03-10]. Dostupné z: http://www.remedia.cz/Archiv-rocniku/Rocnik-2006/1-2006/Spiramycinum/e-9o-9P-ef.magarticle.aspx

MEDEIROS, A.A. Cooperative evolution of mechanisms of &beta-lactam resistance. Clinical Microbiology[online]. 2000, 6, 27-33 [cit. 2018-03-06]. ISSN 1198743X. Dostupné z:http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&an=6413016&scope=site

MELANDER, Roberta J., Hong-bing LIU, Matthew D. STEPHENS, Carole A. BEWLEY a Christian MELANDER. Marine sponge alkaloids as a source of anti-bacterial adjuvants. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters [online]. 2016, 26(24), 5863-5866 [cit. 2018-03-24]. DOI: 10.1016/j.bmcl.2016.11.018. ISSN 0960894X. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960894X16311593

MERLINO, J. Detection and expression of methicillin/oxacillin resistance in multidrug-resistant and non-multidrug-resistant Staphylococcus aureus in Central Sydney, Australia. Journal of Antimicrobial Chemotherapy [online]. 2002, 49(5), 793-801 [cit. 2018-03-22]. DOI: 10.1093/jac/dkf021. ISSN 14602091. Dostupné z: https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/dkf021

METZKER, Michael L a C Thomas CASKEY. Polymerase Chain Reaction (PCR). Encyclopedia of Life Sciences[online]. Chichester, UK, 2001, 2009-12-15 [cit. 2018-03-25]. DOI: 10.1002/9780470015902.a0000998.pub2. ISBN 0470016175. Dostupné z: http://people.bu.edu/mfk/restricted566/pcr.pdf

MOLINA-SANTIAGO, Carlos a Juan L. RAMOS. Bactericidal and bacteriostatic antibiotics and the Fenton reaction. Microbial Biotechnology [online]. 2014, 7(3), 194-195 [cit. 2018-03-09]. DOI: 10.1111/1751-7915.12120. ISSN 17517907. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3992015/

MOORE, C. L., P. OSAKI-KIYAN, N. Z. HAQUE, M. B. PERRI, S. DONABEDIAN a M. J. ZERVOS. Daptomycin Versus Vancomycin for Bloodstream Infections Due to Methicillin-

Resistant Staphylococcus aureus With a High Vancomycin Minimum Inhibitory Concentration: A Case-Control Study. Clinical Infectious Diseases [online]. 2011, 54(1), 51-58 [cit. 2018-03-04]. DOI: 10.1093/cid/cir764. ISSN 1058-4838. Dostupné z: https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1093/cid/cir764

NANNINI, Esteban C a Martin E STRYJEWSKI. A new lipoglycopeptide: telavancin. Expert Opinion on Pharmacotherapy [online]. 2008, 9(12), 2197-2207 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1517/14656566.9.12.2197. ISSN 1465-6566. Dostupné z: http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/14656566.9.12.2197

NOZAKI, Chikateru, Su Jung KIM, Rogelio S. CRUZ a . Comparative Prevalence of Community-Acquired-Methicillin-resistant Staphyloccocus aureus (CA-MRSA) among Students of Centro Escolar University (Philippines), Kumamoto Health Science University (Japan) and Daegu Health College (Korea). Biomedical Research [online]. 2015, 2014, (26 (2): 259-265) [cit. 2018-03-04]. ISSN 0970-938X. Dostupné z: http://www.alliedacademies.org/articles/comparative-prevalence-of-communityacquiredmethicillinresistantstaphyloccocus-aureus-camrsa-among-students-of-centro-escolaruniversity-philippines-kumamoto-health-science-university-japanand-daegu-health-college-korea.pdf

OKUMA, K., K. IWAKAWA, J. D. TURNIDGE, et al. Dissemination of New Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Clones in the Community. Journal of Clinical Microbiology [online]. 2002, 40(11), 4289-4294 [cit. 2018-01-06]. DOI: 10.1128/JCM.40.11.4289-4294.2002. ISSN 0095-1137. Dostupné z: http://jcm.asm.org/cgi/doi/10.1128/JCM.40.11.4289-4294.2002

OOMMEN, S. K., B. APPALARAJU a K. JINSHA. Mupirocin resistance in clinical isolates of staphylococci in a tertiary care centre in south India. Indian Journal of Medical Microbiology [online]. 2010, 28(4), 372-375 [cit. 2018-03-15]. DOI: 10.4103/0255-0857.71825. ISSN 02550857. Dostupné z: http://web.a.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=0&sid=0470e2b1-2f91-4731-8c0e-1397334f5c13%40sessionmgr4010

PALZKILL, Timothy. Metallo-β-lactamase structure and function. Annals of the New York Academy of Sciences [online]. 2013, 1277(1), 91-104 [cit. 2018-03-06]. DOI:

10.1111/j.1749-6632.2012.06796.x. ISSN 00778923. Dostupné z: http://doi.wiley.com/10.1111/j.1749-6632.2012.06796.x

POLLARD, Andrew J., Kirsten P. PERRETT a Peter C. BEVERLEY. Maintaining protection against invasive bacteria with protein–polysaccharide conjugate vaccines. Nature Reviews Immunology [online]. 2009, 9(3), 213-220 [cit. 2018-03-23]. DOI: 10.1038/nri2494. ISSN 1474-1733. Dostupné z: http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nri2494

POOTOOBAL, Jeff, John NEU a Gerard D. WRIGHT. GLYCOPEPTIDE ANTIBIOTIC RESISTANCE. Annual Review of Pharmacology [online]. 2002, 42(1), 381-408 [cit. 2018-03-09]. ISSN 03621642. Dostupné z: http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&an=6653078&scope=site

RODRIGUEZ, Zalua, Miguel LOPEZ, Maritza GONZALEZ, Blanca TOLON, Loreta NADAL, Leonora GONZALEZ, Herman VELEZ a Adamo FINI. Synthesis, Structural Characterization and Antibacterial Activity of Novel 7β-{[3-(substituted phenyl)-2-propenoyl]amino}-3-[(2,5-dihydro-6-hydroxy- 2-methyl)-5-oxo-cis-triazin-3-yl]-thiomethyl-cefalosporins. Medicinal Chemistry [online]. 2009, 5(3), 283-292 [cit. 2018-03-05]. DOI: 10.2174/157340609788185855. ISSN 15734064. Dostupné z: http://web.a.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=1&sid=3729a39c-3882-4be3-b638-aeb299d8ec4d%40sessionmgr4010

SANJU, Avr Jeya, Ashok VAGHJIMAL, Annette STAHL-AVICOLLI, John R. PROTIC, Larry I. LUTWICK a Edward K. CHAPNICK. Screening for Mupirocin Resistance in Staphylococcus. JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH [online]. 2015, 20(05), - [cit. 2018-03-15]. DOI: 10.7860/JCDR/2015/15230.6678. ISSN 2249782X. Dostupné z: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0195941700068557/type/journal_article

SHAH, NeelJayesh. Reversing resistance: The next generation antibacterials. Indian Journal of Pharmacology [online]. 2015, 47(3), 248- [cit. 2018-03-19]. DOI: 10.4103/0253-7613.157109. ISSN 0253-7613. Dostupné z: http://www.ijp-online.com/text.asp?2015/47/3/248/157109

SHARAF, M., A. SANCHEZ, P. WHITE a R. MANNING. TLC SEPARATION AND IDENTIFICATION OF NEOMYCIN SULFATE, POLYMYXIN B SULFATE, AND BACITRACIN ZINC IN OINTMENTS. Journal of Liquid Chromatography [online]. 2002, 25(6), 927-935 [cit. 2018-03-15]. ISSN 10826076. Dostupné z: http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&an=8713659&scope=site

SHARMA, Roopali, Densley FRANCOIS a Margaret R. HAMMERSCHLAG. New Antimicrobial Agents for the Treatment of Staphylococcal Infections in Children. Pediatric Clinics of North America [online]. 2017, 64(6), 1369-1387 [cit. 2018-03-10]. DOI: 10.1016/j.pcl.2017.08.005. ISSN 00313955. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031395517301086

SHARMA, Swati, Deepshikha BHOWMIK, Shiela CHETRI, Deepjyoti PAUL, Debadatta Dhar CHANDA, Atanu CHAKRAVARTY a Amitabha BHATTACHARJEE. Tigecycline Resistance among Clinical Isolates of Staphylococcus aureus from North-east India. Journal of Microbiology [online]. 2017, 7(4), 173-177 [cit. 2018-03-12]. DOI: 10.5799/jmid.368660. ISSN 21463158. Dostupné z: http://web.a.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=3&sid=2d38432c-fbdb-4564-9356-0f161b9e655c%40sessionmgr4010

SCHMITZ, F.-J., M. STEIERT, H.-V. TICHY, B. HOFMANN, J. VERHOEF, H.-P. HEINZ, K. KOHRER a M. E. JONES. Typing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates from Dusseldorf by six genotypic methods. Journal of Medical Microbiology [online]. 1998, 47(4), 341-351 [cit. 2018-03-25]. DOI: 10.1099/00222615-47-4-341. ISSN 0022-2615. Dostupné z: http://jmm.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/00222615-47-4-341

SCHMITZ, F.-J., R. SADURSKI, A. KRAY, M. BOOS, R. GEISEL, K. KOHRER, J. VERHOEF a A. C. FLUIT. Prevalence of macrolide-resistance genes in Staphylococcus aureus and Enterococcus faecium isolates from 24 European university hospitals. Journal of Antimicrobial Chemotherapy [online]. 2000, 45(6), 891-894 [cit. 2018-03-10]. DOI: 10.1093/jac/45.6.891. ISSN 0305-7453. Dostupné z: https://academic.oup.com/jac/article-lookup/doi/10.1093/jac/45.6.891

SIADAT Seyed Davar, HAGHIGHAT, Setareh, Seyed Mehdi Rezayat SORKHABADI, Abbas Akhavan SEPAHI a Mehdi MAHDAVI. Cloning, expression and purification of autolysin from methicillin-resistant Staphylococcus aureus: potency and challenge study in Balb/c mice. Molecular Immunology [online]. 2017, 82, 10-18 [cit. 2018-01-09]. DOI: 10.1016/j.molimm.2016.12.013. ISSN 01615890. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0161589016302735

SONG, Yang, Christopher S. LUNDE, Bret M. BENTON a Brian J. WILKINSON. Studies on the Mechanism of Telavancin Decreased Susceptibility in a Laboratory-Derived Mutant: A novel lipoglycopeptide antimicrobial agent. Microbial Drug Resistance [online]. 2013, 19(4), 247-255 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1089/mdr.2012.0195. ISSN 1076-6294. Dostupné z: http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/mdr.2012.0195

SOTO, Norberto E., Ashok VAGHJIMAL, Annette STAHL-AVICOLLI, John R. PROTIC, Larry I. LUTWICK a Edward K. CHAPNICK. Bacitracin Versus Mupirocin for Staphylococcus aureus Nasal Colonization[online]. 1999, 20(05), 351-353 [cit. 2018-03-15]. DOI: 10.1086/501633. ISSN 0899-823X. Dostupné z: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0195941700068557/type/journal_article

SWANEY SM, AOKI H, GANOZA MC, SHINABARGER DL. The Oxazolidinone Linezolid Inhibits Initiation of Protein Synthesis in Bacteria. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1998;42(12):3251-3255. [cit. 2018-03-09]. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC106030/

TENOVER FC, BIDDLE JW, LANCASTER MV. Increasing Resistance to Vancomycin and Other Glycopeptides in Staphylococcus aureus. Emerging Infectious Diseases. 2001;7(2):327-332. doi:10.3201/eid0702.070327. Dostupné z: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/7/2/07-0327_article

TIEMERSMA, Edine W., Stef L. A. M. BRONZWAER, Outi LYYTIKÄINEN, et al. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Europe, 1999–2002. Emerging Infectious Diseases [online]. 2004, 10(9), 1627-1634 [cit. 2018-01-06]. DOI: 10.3201/eid1009.040069. ISSN 1080-6040. Dostupné z: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/10/9/04-0069_article.htm

TIEWSOH, JutangBabat Ain, Meena DIAS a Samir M. ABOU-ISBA. Screening of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in healthcare workers and students and its susceptibility to mupirocin in a tertiary care teaching hospital in South India. Journal of Laboratory Physicians [online]. 2017, 9(4), 239- [cit. 2018-03-15]. DOI: 10.4103/0974-2727.214262. ISSN 0974-2727. Dostupné z: http://www.jlponline.org/text.asp?2017/9/4/239/214262

UIVAROSI, Valentina, P. J. MCNAMARA, M. E. EVANS, P. MCGHEE, B. DEWASSE, L. BEACHEL a P. C. APPELBAUM. Metal Complexes of Quinolone Antibiotics and Their Applications: An Update. Molecules[online]. 2013, 18(12), 11153-11197 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.3390/molecules180911153. ISSN 1420-3049. Dostupné z: http://www.mdpi.com/1420-3049/18/9/11153

URBÁŠKOVÁ, P., V. JAKUBŮ, B. MACKOVÁ a H. ŽEMLIČKOVÁ. Stafylokoky - průkaz indukované rezistence ke klindamycinu (D – test). Státní zdravotní ústav [online]. 2014 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: http://www.szu.cz/stafylokoky-indukovana-rezistence-ke-klindamycinu

VAIRAPPAN, Charles Santhanaraju, Tomotake KAWAMOTO, Hideaki MIWA a Minoru SUZUKI. Potent Antibacterial Activity of Halogenated Compounds against Antibiotic-Resistant Bacteria. Planta Medica[online]. 2004, 70(11), 1087-1090 [cit. 2018-03-24]. DOI: 10.1055/s-2004-832653. ISSN 0032-0943. Dostupné z: http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-2004-832653

WIESER, Andreas, Lukas SCHNEIDER, Jette JUNG a Sören SCHUBERT. MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics—identification of microorganisms and beyond (mini review). Applied Microbiology and Biotechnology [online]. 2012, 93(3), 965-974 [cit. 2018-03-23]. DOI: 10.1007/s00253-011-3783-4. ISSN 0175-7598. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/s00253-011-3783-4

WRIGHT, Gerard D. Something old, something new: revisiting natural products in antibiotic drug discovery. Canadian Journal of Microbiology [online]. 2014, 60(3), 147-154 [cit. 2018-03-24]. DOI: 10.1139/cjm-2014-0063. ISSN 0008-4166. Dostupné z: http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/cjm-2014-0063

ZARAKOLU, lPınar, Gökhan METAN, Belgin ALTUN, Gülşen HASÇELIK a Serhat ÜNAL. Antimicrobial susceptibility, inducible macrolide-lincosamide-streptogramin B, and clonal diversity patterns of nosocomial methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains isolated in Hacettepe University adult hospital. Turkish Journal of Medical Sciences [online]. 2009, 39(5), 783-789 [cit. 2018-03-11]. DOI: 10.3906/sag-0803-43. ISSN 13000144. Dostupné z: http://web.b.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=8&sid=fe0e7588-6486-40e5-a3e3-5d5dc60d18ca%40sessionmgr101

ZÁRATE, Sandra, M. DE LA CRUZ CLAURE, Raúl BENITO-ARENAS, et al. Overcoming Aminoglycoside Enzymatic Resistance: Design of Novel Antibiotics and Inhibitors. Molecules [online]. 2018, 23(2), 284- [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.3390/molecules23020284. ISSN 1420-3049. Dostupné z: http://www.mdpi.com/1420-3049/23/2/284