

# **Antibiotická rezistence u stafylokoků izolovaných z potravin**

Dominika Pileková

---

Bakalářská práce  
2021



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2020/2021

## **ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Dominika Pileková**  
Osobní číslo: **T18121**  
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**  
Forma studia: **Prezenční**  
Téma práce: **Antibiotická rezistence u stafylokoků izolovaných z potravin**

### **Zásady pro vypracování**

1. Bakterie rodu *Staphylococcus* – vlastnosti, výskyt v potravinách a možnosti detekce.
2. Mechanizmy a příčiny vzniku antibiotické rezistence.
3. Antibiotická rezistence stafylokoků izolovaných z potravin a nápojů.

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

**Seznam doporučené literatury:**

- [1] Walsh, C. Antibiotics: actions, origins, resistance. Washington: ASM Press, 2003, 335 s. ISBN 1-55581-254-6
- [2] Hudson, J.A., Frewer, L.J., Jones, G. et al. The agri-food chain and antimicrobial resistance: A review. Trends in Food Science and Technology, 69: 131-147. 2017
- [3] Rhouma, M., Romero-Barrios, P., Gaucher, M-L., Bhachoo, S. Antimicrobial resistance associated with the use of antimicrobial processing aids during poultry processing operations: cause for concern?. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020. doi: 10.1080/10408398.2020.1798345
- [4] Schrijver, R., Stijntjes, M., Rodriguez-Bano, J. et al. Review of antimicrobial resistance surveillance programmes in livestock and meat in EU with focus on humans. Clinical Microbiology and Infection, 24: 577-590. 2018
- [5] Elektronické zdroje dostupné z knihovny UTB ve Zlíně.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. RNDr. Leona Buňková, Ph.D.**  
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce: **31. prosince 2020**

Termín odevzdání bakalářské práce: **21. května 2021**

L.S.

---

**prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.**  
děkan

---

**Ing. Robert Gál, Ph.D.**  
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 8. února 2021

## PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

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

### Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....  
podpis studenta

## **ABSTRAKT**

PILEKOVÁ, Dominika: Antibiotická rezistencia u stafylokokov izolovaných z potravín. [Bakalárska práca]. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Vavrečkova 275, 760 01 Zlín. Školiteľka: doc. RNDr. Leona Buňková, Ph.D. Stupeň odbornej kvalifikácie: bakalár. Zlín: FT UTB, 2021. 39 s.

### **Antibiotická rezistencia u stafylokokov izolovaných z potravín**

Bakalárska práca sa zaoberá problematikou antibiotickej rezistencie u stafylokokov izolovaných z potravín. Jej cieľom je upriamiť pozornosť na celosvetovo sa vyskytujúci fenomén antibiotickej rezistencie baktérií a jeho fatálne následky.

Táto práca je rešeršná. Prvá kapitola charakterizuje baktérie rodu *Staphylococcus* vrátane ich vlastností, výskytu v potravinách, stafylokokových enterotoxikóz, ktoré môžu spôsobovať a metód pre ich detekciu. Druhá kapitola sa zameriava na objasnenie podstaty antibiotickej rezistencie, popis príčin a mechanizmov jej vzniku. Tretia kapitola upriamuje pozornosť na antibiotickú citlivosť a rezistenciu u stafylokokov izolovaných z potravín a nápojov, cesty prenosu stafylokokov do potravín a nápojov a taktiež metódy pre stanovenie antibiotickej rezistencie u stafylokokov izolovaných z týchto materiálov.

### **Kľúčové slová**

Antibiotiká. Antibiotická rezistencia. Stafylokoky. Potraviny.

## **ABSTRACT**

PILEKOVÁ, Dominika: Antibiotic Resistance in Staphylococci Isolated from Food [Bachelor thesis]. Tomas Bata University in Zlín, Faculty of Technology, Vavrečkova 275, 760 01 Zlín. Supervisor's name: doc. RNDr. Leona Buňková, Ph.D. Professional qualification level: Bachelor degree. Zlín: FT UTB, 2021. 39 pages.

### **Antibiotic Resistance in Staphylococci Isolated from Food**

This bachelor thesis deals with the issue of antibiotic resistance in staphylococci isolated from food. Its aim is to draw attention to the worldwide phenomenon of antibiotic resistance in bacteria and its fatal consequences.

This thesis is a research work. The first chapter characterizes bacteria of the genus *Staphylococcus*, including their properties, occurrence in food, staphylococcal enterotoxigenesis they can cause and methods for their detection. The second chapter focuses on clarifying the nature of antibiotic resistance, description of its causes and mechanisms of its occurrence. The third chapter draws attention to antibiotic sensitivity and resistance in staphylococci isolated from food and drinks, ways of transmission of staphylococci to food and drinks, as well as methods for determining antibiotic resistance in staphylococci isolated from these materials.

### **Keywords**

Antibiotics. Antibiotic Resistance. *Staphylococcus*. Food.

Týmto by som chcela poďakovať školiteľke doc. RNDr. Leone Buňkovej Ph.D. za odborné vedenie, metodickú pomoc a cenné rady, ktoré mi poskytla pri vypracovávaní mojej záverečnej bakalárskej práce.

Prehlasujem, že odovzdaná verzia bakalárskej práce a verzia elektronická nahraná do IS/STAG sú totožné.

# OBSAH

ÚVOD.....	9
<b>1 BAKTÉRIE RODU <i>STAPHYLOCOCCUS</i> .....</b>	<b>11</b>
1.1 CHARAKTERISTIKA A VLASTNOSTI BAKTÉRIÍ RODU <i>STAPHYLOCOCCUS</i> .....	11
1.2 VÝSKYT BAKTÉRIÍ RODU <i>STAPHYLOCOCCUS</i> V POTRAVINÁCH .....	15
1.3 STAFYLOKOKOVÉ ENTEROTOXIKÓZY .....	15
1.4 MOŽNOSTI DETEKČIE BAKTÉRIÍ RODU <i>STAPHYLOCOCCUS</i> A ICH ENTEROTOXÍNOV V POTRAVINÁCH .....	17
<b>2 ANTIBIOTICKÁ REZISTENCIA .....</b>	<b>20</b>
2.1 ANTIBIOTIKÁ.....	20
2.2 ANTIBIOTICKÁ REZISTENCIA .....	23
2.3 PRÍČINY VZNIKU ANTIBIOTICKEJ REZISTENCIE.....	24
2.4 MECHANIZMY VZNIKU ANTIBIOTICKEJ REZISTENCIE .....	25
<b>3 ANTIBIOTICKÁ REZISTENCIA U STAFYLOKOKOV     IZOLOVANÝCH Z POTRAVÍN A NÁPOJOV .....</b>	<b>27</b>
3.1 CESTY PRENOSU STAFYLOKOKOV DO POTRAVÍN A NÁPOJOV .....	27
3.2 ANTIBIOTICKÁ CITLIVOSŤ A REZISTENCIA STAFYLOKOKOV.....	28
3.3 METÓDY STANOVENIA ANTIBIOTICKEJ REZISTENCIE U STAFYLOKOKOV IZOLOVANÝCH Z POTRAVÍN A NÁPOJOV .....	29
<b>ZÁVER .....</b>	<b>31</b>
<b>ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY .....</b>	<b>33</b>
<b>ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK.....</b>	<b>39</b>



## ÚVOD

Antibiotiká sa v krátkej dobe od ich objavu stali hlavnou zbraňou v boji proti bakteriálnym infekciám a dodnes pre ľudí predstavujú neoddeliteľnú súčasť života. Sú to látky s antimikrobiálnym účinkom, ktoré sa v medicíne vo veľkej miere používajú k prevencii a liečbe infekcií vyvolaných baktériami, avšak široké uplatnenie majú i v poľnohospodárstve pre liečbu hospodárskych zvierat. Prvé antibiotikum penicilín bolo izolované z plesne *Penicillium notatum* v roku 1928 škótskym lekárom, mikrobiológom a farmakológom Alexandrom Flemingom a po jeho purifikácií sa v roku 1940 začalo používať napríklad aj k liečbe stafylokokových infekcií, na ktoré dovtedy zomieralo približne osemdesiat percent nakazených pacientov. Už v roku 1942 sa však objavili prvé prípady rezistencie stafylokokov voči účinku penicilínu.

K vzniku antibiotickej rezistencie dochádza, keď sú baktérie odolné voči antimikrobiálnemu účinku antibiotík, čo má za následok, že tieto baktérie nie sú zneškodnené a pokračujú v raste a rozmnožovaní sa. Jednou z najhlavnejších príčin jej vzniku je evolúcia baktérií, ktoré s postupom času boli schopné vyvinúť si mnohonásobné a komplexné mechanizmy, vďaka ktorým sú ich gény rezistencie schopné šíriť sa medzi baktériami, a to i bez ohľadu na ich druhové bariéry. Prvotné nadmerné predpisovanie antibiotík nielen k liečbe bakteriálnych ale taktiež vírusových infekcií, na ktoré – ako už dnes vieme – antibiotiká nemajú žiaden vplyv, ich nadužívanie v poľnohospodárstve rovnako ako nedokončenie celej predpísanej doby liečby antibiotikami u pacientov a nedodržiavanie sanitačných a hygienických opatrení ako v nemocničných zariadeniach, tak pri manipulácií s potravinami taktiež patria medzi faktory, ktoré umožnili šírenie antibiotickej rezistencie baktérií.

V tejto bakalárskej práci som sa zamerala na antibiotickú rezistenciu u stafylokokov izolovaných z potravín a nápojov predovšetkým z dôvodu, že baktérie rodu *Staphylococcus* patria medzi baktérie, ktoré sa vo všeobecnosti prirodzene vyskytujú v prostredí človeka i zvierat a tvoria tiež časť ich autochtónnej mikroflóry kože a slizníc, avšak niektoré kmene stafylokokov patria medzi oportúnne patogény, ktoré sú schopné pri oslabení obranných mechanizmov hostiteľa vyvolávať buď primárne chorobné zmeny, alebo sú schopné sekundárne komplikovať iné infekcie. Prítomnosť stafylokokov a ich termostabilných enterotoxínov v potravinách a nápojoch u ľudí môže po ich požití vyvolávať stafylokokové enterotoxikózy.

Okrem penicilínu si stafylokoky boli schopné vytvoriť rezistenciu i voči ďalším antibiotikám, vytvoreným za účelom usmrcovania stafylokokov, ako napríklad methicilínu a vankomycínu. Vďaka ich schopnosti metabolických adaptácií, ktoré zahŕňajú modifikáciu ich bunčných komponentov ako napríklad bunečnej steny alebo cytoplazmy, sú tieto baktérie vo veľkej miere odolné voči nepriaznivým podmienkam vonkajšieho prostredia, čo predstavuje ďalší faktor, ktorý výrazne limituje možnosti pri hľadaní účinných prostriedkov k ich úspešnému odstráneniu.

V dnešnej dobe fenomén antibiotickej rezistencie baktérií predstavuje celosvetový problém a ohrozuje tak pokrok, ktorý ľudstvo od zavedenia antibiotík do praxe dosiahlo. Vo všetkých častiach sveta bol predovšetkým v posledných dekádach zaznamenaný nebezpečný nárast antibiotickej rezistencie baktérií.

Táto rešeršná práca sa zameriava na vystihnutie podstaty príčin a mechanizmov vzniku antibiotickej rezistencie u baktérií rodu *Staphylococcus* rovnako ako aj na dôvody prečo v súčasnosti predstavuje obrovské riziko pre ľudskú populáciu. Literárne zdroje, z ktorých som čerpala informácie uvádzam v zozname použitej literatúry.

## 1 BAKTÉRIE RODU *STAPHYLOCOCCUS*

Názov *Staphylococcus* vymyslel škótsky bakteriológ a chirurg Alexander Ogston v roku 1880 a to na základe vzoru, ktorý bol zavedený o päť rokov skôr po pomenovaní rodu *Streptococcus*. Skladá sa z predpony „*staphylo-*“, čo v starogréčtine znamená „*strapeč hrozna*“ a prípony „*coccus-*“, čo v modernej latinčine znamená „*sférická baktéria*“, a teda poukazuje na tvar a častú konfiguráciu týchto baktérií (Baron et al., 1996; Missiakas, Schneewind, 2013; Goering, 2016). Dodnes bolo do baktérií rodu *Staphylococcus* z čeľade *Staphylococcaceae*, patriacich do triedy *Bacilli*, zaradených približne štyridsať druhov a poddruhov, pričom pre niektoré z nich sa našlo uplatnenie i v humánnej medicíne (Bednář et al., 1996). Okrem toho, že stafylokoky sa vo všeobecnosti prirodzene vyskytujú v prostredí človeka i zvierat, tvoria tiež časť ich autochtónnej mikroflóry kože a slizníc. Niektoré kmene stafylokokov patria medzi oportúnne patogény, ktoré sú schopné pri oslabení obranných mechanizmov hostiteľa vyvolať buď primárne chorobné zmeny, alebo sú schopné sekundárne komplikovať iné infekcie (Baron et al., 1996). Najväčší význam pre človeka má z hľadiska patogenity koaguláza-pozitívny druh *Staphylococcus aureus* a koaguláza-negatívne druhy *Staphylococcus epidermidis* a *Staphylococcus saprophyticus* (Bednář et al., 1996).

### 1.1 Charakteristika a vlastnosti baktérií rodu *Staphylococcus*

#### Morfológia

Stafylokoky sú gram-pozitívne  $\beta$ -hemolytické baktérie v tvare sférických kokov s priemerom približne 1  $\mu\text{m}$ , ktoré sa zvyčajne vyskytujú jednotlivo, v pároch, v krátkych retiazkach alebo v nepravidelných zhlukoch pripomínajúcich tvar hrozna (Fetsch, 2018; Missiakas, Schneewind, 2013). Baktérie patriace do tohto rodu sú fakultatívne anaeróbne, nepohyblivé, nesporulujúce a väčšinou neopúzdrené (Bednář et al., 1996; Missiakas, Schneewind, 2013). Ich konfigurácia uľahčuje ich rozlišovanie a diagnostiku od baktérií rodu *Streptococcus*, kam patria koky, ktorých usporiadanie je väčšinou vo forme retiazok (Baron et al., 1996).

#### Metabolizmus

Stafylokoky sa zvyčajne vyznačujú respiračným i fermentačným typom metabolizmu. V porovnaní so streptokokmi a enterokokmi sú kataláza-pozitívne, čo znamená, že produkujú enzým kataláza (s výnimkou jediného anaeróbného druhu *Staphylococcus*

*saccharolyticus* a poddruhu *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius*), a preto sa táto vlastnosť uplatňuje pri ich identifikácii (Becker et al., 2014). Pri skvasovaní rady cukrov tvoria kyseliny, no nie plyn. Užitočným taxonomickým kritériom je produkcia D alebo L izoméru kyseliny mliečnej pri anaeróbnej utilizácii glukózy (Bednář et al., 1996).

### **Produkcia koagulázy**

Schopnosť stafylokokov produkovať koagulázu – enzým, ktorý spôsobuje tvorbu krvnej zrazeniny – patrí medzi jeden z najdôležitejších fenotypových znakov, ktorý sa využíva pri ich klasifikácii. Medzi koaguláza-pozitívne druhy v súčasnosti patrí sedem druhov a to: *S. aureus*, *S. delphini*, *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. lutrae*, *S. pseudintermedius*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans*. a *S. leei* (popísaný u pacientov s gastritídou, teda zápalových ochorením žalúdka) (Jin et al., 2004).

Kožu domácich mačiek a psov obýva a niekedy i infikuje *S. pseudintermedius*, pričom aj tento mikroorganizmus môže niesť genetický materiál, ktorý spôsobuje viacnásobnú bakteriálnu rezistenciu. Len zriedkavo môže u ľudí spôsobovať zoonózy (Becker et al., 2014).

### **Koaguláza-negatívne stafylokoky**

Medzi stafylokoky neprodukuje koagulázu patrí napríklad *S. epidermidis*, ktorý (podobne ako *S. aureus*) napriek tomu, že je prirodzeným komenzálom kože u ľudí i zvierat, môže u imunosupresívnych (imunitne oslabených) jedincov vyvolávať závažné infekcie (Becker et al., 2014).

Na infekciách močových ciest u sexuálne aktívnych mladých žien sa podieľa najmä *S. saprophyticus*, ktorý je súčasťou normálne vaginálnej flóry (Becker et al., 2014; Pfaller, Herwaldt, 1988).

Medzi ďalšie koaguláza-negatívne stafylokoky patrí napríklad *S. caprae*, *S. lugdunensis* a *S. schleiferi* (Becker et al., 2014; Pfaller, Herwaldt, 1988).

### **Kultivácia**

Na kultivačné podmienky sú stafylokoky pomerne nenáročné. Sú schopné rasti na agaroch so srdcovou alebo mozgovou infúziou, prípadne s hovädzou alebo ovčou krvou, rovnako ako rasti na bežných kultivačných pôdach. Po 24 hodinách inkubácie pri 37 °C vyrastú na povrchu pevných pomnožovacích pôd vo forme okrúhlych, lesklých, hladkých, ľahko konvexných kolónií s priemerom 1 až 3 mm (Bednář et al., 1996; Missiakas, Schneewind,

2013). Vystavenie teplotám nižším než 10 °C alebo vyšším než 42 °C po dlhšiu dobu sa neodporúča (Missiakas, Schneewind, 2013). Existujú druhy, ktoré sú schopné vo vode produkovať nerozpustné pigmenty karotenového typu v dôsledku čoho sú kolónie krémové, žlté až oranžové. Biele a šedé kolónie sú typické pre nepigmentujúce stafylokoky (Bednář et al., 1996; Missiakas, Schneewind, 2013). Ako selektívne médium pre izoláciu a stanovenie počtu stafylokokov sa často využíva MSA agar, teda manitol salt agar, vďaka ich schopnosti fermentovať manitol, ktorá vyvoláva okyselenie média, čo spôsobuje jeho zožltnutie. Medzi ďalšie vhodné kultivačné médiá patrí napríklad TSA agar, teda sójový agar s tryptónom, na ktorom rastie vo forme typických žltých kolónií. Pre kultiváciu koaguláza-pozitívneho *Staphylococcus aureus* je tiež vhodný Baird-Parker agar, ktorý na ňom rastie vo forme čiernych, lesklých, vypuklých kolónií, pričom rast doprovodnej mikroflóry je na tomto médiu vďaka prítomnému chloridu sodnému a telluričitanu inhibovaný (Missiakas, Schneewind, 2013).

### **Rezistencia**

K nepriaznivým vplyvom vonkajšieho prostredia sú stafylokoky do značnej miery rezistentné. Odolávajú vyšším koncentráciám NaCl (chlorid sodný), zahriatiu na 55 °C po dobu 30 minút a taktiež vysychaniu (Bednář et al., 1996; Missiakas, Schneewind, 2013). Predpokladá sa, že práve tieto vlastnosti im umožňujú prechodné alebo i trvalé osídľovanie určitých oblastí kože ako u ľudí, tak u zvierat. Pre selektívnu izoláciu stafylokokov zo silne kontaminovaného materiálu, akým sú napríklad niektoré potraviny, výkaly alebo taktiež sliznice a povrch tela zvierat, je možné využiť ich toleranciu k 10 % koncentrácii NaCl v kultivačnom médiu (Bednář et al., 1996).

### **Metabolická adaptácia**

Schopnosť stafylokokov prežívať v nepriaznivých podmienkach pre ich rast a rozmnožovanie je daná mnohými faktormi vrátane ich metabolickej adaptácie. Prostredníctvom metabolických modifikácií stafylokoky môžu meniť ich bunecnú aktivitu a fyziológiu, čo následne vedie nielen k ich zvýšenej odolnosti voči nepriaznivým podmienkam ale i k ich perzistencii a cirkulácií medzi prostrediami. Metabolickou modifikáciou tiež môže dôjsť k ovplyvneniu povahy ich patogenézy (Onyango, Alreshidi, 2018).

## 1. Modifikácia bunečnej steny a cytoplazmatickej membrány

Na dosiahnutie zvýšenia odolnosti voči nepriaznivým podmienkam je bunka stafylokoka schopná modifikovať niektoré zo svojich komponentov ako napríklad bunečnú stenu alebo cytoplazmatickú membránu, ktoré okrem iného udržujú stály tvar bunky a regulujú priepustnosť látok dovnútra a von z bunky. Tieto modifikácie môžu byť vyvolané teplotou, osmotickým tlakom alebo antibiotikami (Goering, 2016; Onyango, Alreshidi, 2018).

Zmohutnenie, resp. zhrubnutie bunečnej steny, ktorej základnou stavebnou jednotkou je peptidoglykán, patrí medzi jednu z najčastejších modifikácií, ktorá je vyvolaná v dôsledku stresovej odpovedi bakteriálnej bunky voči nepriaznivým podmienkam. Následkom tejto zmeny dochádza aj k zmenám v zložení aminokyselín, mastných kyselín a karotenoidov, ktoré zohrávajú kľúčovú úlohu v stabilizácii membrány pri chladovom alebo teplotnom šoku (Onyango, Alreshidi, 2018).

Okrem zmohutnenia bunečnej steny môže dochádzať k zvýšeniu obsahu membránového fosfolipidu kardiopolínu, ktorý je spájaný s bakteriálnou adaptabilitou na rôzne stresové faktory (Koprivnjak et al., 2011).

## 2. Modifikácia cytoplazmy

Cytoplazma tvorí vnútorné prostredie bunky, v ktorom sú uložené bunečné komponenty, ktoré chráni pred poškodením a taktiež je zodpovedná za tvar bunky (Baron et al., 1996; Bednář et al., 1996). Jej zmeny môžu ovplyvňovať odolnosť bunečnej steny a cytoplazmatickej membrány. Podobne ako v prípade modifikácií bunečnej steny a cytoplazmatickej membrány, aj modifikácie cytoplazmy môžu byť indukované teplotou, osmoprotekciou a v tomto prípade aj nutričnou adaptáciou (Onyango, Alreshidi, 2018).

V prípade buniek *Staphylococcus aureus*, ktoré boli vystavené nízkym teplotám, bola zaznamenaná zvýšená produkcia ribozomálnych proteínov, ktoré fungujú ako teplotné senzory, ktorá vo výsledku viedla k zvýšeniu odolnosti buniek voči nízkej teplote spolu s redukciou cytoplazmatických aminokyselín (Alreshidi et al., 2015).

V prípade osmoprotekcie sú baktérie schopné prispôbiť ich obsah halofilných proteínov pre udržiavanie vhodného osmotického tlaku v prítomnosti širokého rozsahu koncentrácií solí (Daoud et al., 2013).

## 1.2 Výskyt baktérií rodu *Staphylococcus* v potravinách

Baktérie rodu *Staphylococcus* patria medzi oportúnne patogény, ktoré sú súčasťou autochtónnej mikroflóry kože a slizníc u ľudí i zvierat a v prípadoch oslabenia obranných mechanizmov hostiteľa sú schopné vyvolať buď primárne chorobné zmeny, alebo sú schopné sekundárne komplikovať iné infekcie (Baron et al., 1996; Bednář et al., 1996).

*Staphylococcus aureus* je ako všadeprítomná baktéria dôležitým patogénom vďaka svojej kombinácii invazivity, virulencie sprostredkovanej toxínmi a rezistenciou voči antibiotikám. Patrí medzi hlavné patogény spôsobujúce nozokomiálne aj komunitné infekcie, no je schopný i kontaminácie potravinárskych výrobkov počas výroby a spracovania potravín (Kadariya et al., 2014; Levy, Marshall, 2004). Vďaka ich vysokej rezistencii voči podmienkam vonkajšieho prostredia sú stafylokoky schopné rasti v rôznych typoch potravín (le Loir et al., 2003).

Potraviny, ktoré u ľudí spôsobujú alimentárne ochorenia, sa v dôsledku stravovacích návykov a rozdielov v konzumácii v jednotlivých krajinách zeme líšia, no medzi častých vyvolávateľov patrí najmä mlieko a mliečne výrobky, mäso a mäsové výrobky, hydina a vajecné výrobky, krémové pečivo, pekárenské výrobky a šaláty. V prípade, že sa jedlá pripravujú na centrálnom mieste, z ktorého sú následne distribuované ďalej, ohniská alimentárnych ochorení môžu mať vážny dopad na tisíce ľudí (Kadariya et al., 2014; Chen et al., 2015).

## 1.3 Stafylokokové enterotoxikózy

Alimentárne ochorenia, teda ochorenia prenosné kontaminovanými potravinami alebo kontaminovanou vodou, vo svete predstavujú jedno z hlavných rizík ohrozujúcich zdravie ľudskej populácie. Pojem stafylokokové enterotoxikózy definuje chorobný stav vyvolaný požitím kontaminovaných potravín alebo nápojov termostabilnými (teda odolnými voči vysokej teplote) toxínmi produkovanými baktériami rodu *Staphylococcus* (Dodd et al., 2017; Becker, Skov, von Eiff, 2015; Fusco, Blaiotta, Becker, 2018). Tieto toxíny sa usídliť v tenkom čreve hostiteľa a následne spôsobujú jeho zápal a opuch, čo u infikovaných ľudí môže vyvolať bolesť brucha, zvracanie, hnačky a horúčku (Dodd et al., 2017).

### Symptómy

Rozvoj symptómov býva spravidla náhly v priebehu 1 až 6 hodín po prijímaní potravy a zahŕňa: bolesť brucha, nauzeu, intenzívne zvracanie trvajúce viac než 24 hodín, bolesť

hlavy, slabosť, únavu a hnačky (Becker, Skov, von Eiff, 2015; Fusco, Blaiotta, Becker, 2018; Dodd et al., 2017). Hoci príznaky zväčša samovoľne vymiznú do dvoch dní, priebeh ochorenia môže byť závažný u kojencov, starších ľudí a pacientov s oslabenou imunitou (Kadariya et al., 2014).

### **Diagnostika**

Pre diagnostiku stafylokokovej enterotoxikózy, ktorá môže viesť k rozvoju stafylokokovej enteritídy, môže byť potrebná kultivácia stolice, ktorá sa používa na zistenie prítomnosti patogénnych baktérií a taktiež na diagnostiku infekcie zažívacieho traktu (Becker et al., 2014).

### **Prevenia**

Vzniku stafylokokovej enterotoxikózy sa dá predísť najmä dodržiavaním hygienických a sanitačných zásad pri manipuláciách s potravinami. Medzi tieto zásady patrí: primerané čistenie a dezinfekcia náčinia a zariadení prichádzajúcich do kontaktu s potravinami, bezpečná manipulácia s potravinami, správne umývanie rúk pred aj po manipulácii s potravinami, dôkladné tepelné opracovanie potravín, správne skladovanie potravín vo vhodnom prostredí a pri vhodnej teplote (Becker, Skov, von Eiff, 2015; Fusco, Blaiotta, Becker, 2018; Dodd et al., 2017; Kadariya et al., 2014). Prípustná teplota pre rast a produkciu toxínov *S. aureus* sa pohybuje v rozpätí 6 °C až 46 °C a preto by mala byť ideálna teplota na varenie a chladenie vyššia než 60 °C, respektíve nižšia než 5 °C (Kadariya et al., 2014). Častou komplikáciou stafylokokových enterotoxikóz býva dehydratácia vyvolaná zvracaním a hnačkami, k prevencii ktorej sa odporúča piť dostatočné množstvo tekutín (Becker, Skov, von Eiff, 2015; Fusco, Blaiotta, Becker, 2018).

### **Liečba**

Antibiotická liečba sa v prípade otravy jedlom vyvolanej stafylokokovými toxínmi nevykonáva, pretože tieto toxíny sú voči antimikrobiálnemu účinku antibiotík rezistentné. Lekári však môžu predpísať lieky na zmiernenie hnačky a zvracania. Dôležitý krok k uzdraveniu predstavuje pitie veľkého množstva tekutín, ktoré slúži k tomu, aby vyplavilo toxíny z ľudského tela. U ľudí s vážnym priebehom tohto ochorenia môže byť nutné dodávať im tekutiny intravenóznou (vpichom do žily) cestou (Becker et al., 2014; Dodd et al., 2017).



## 1.4 Možnosti detekcie baktérií rodu *Staphylococcus* a ich enterotoxínov v potravinách

Vďaka vysokej rezistencii stafylokokov voči podmienkam vonkajšieho prostredia sú tieto baktérie schopné rasti v rôznych typoch potravín (le Loir et al., 2003). *Staphylococcus aureus* patrí medzi hlavné patogény, ktoré spôsobujú nielen nozokomiálne a komunitné infekcie, ale je schopný kontaminovať i potravinárske výrobky – predovšetkým produkty mäsovej a mliečnej výroby – počas výroby a spracovania potravín (Kadariya et al., 2014; Levy, Marshall, 2004; Chen et al., 2015). Požitie potravín alebo nápojov, ktoré sú kontaminované termostabilnými toxínmi produkovanými baktériami rodu *Staphylococcus* vedie k vzniku stafylokokových enterotoxikóz, ktoré vo svete predstavujú jedno z hlavných rizík ohrozujúcich zdravie ľudskej populácie (viď. podkap. 1.3) (Dodd et al., 2017; Becker, Skov, von Eiff, 2015; Fusco, Blaiotta, Becker, 2018). V súčasnosti existujú rôzne metódy pre detekciu stafylokokov v potravinách a nápojoch, avšak mnoho z nich je časovo náročných, málo citlivých a namáhavých. V dôsledku týchto skutočností sa neustále pracuje vývoji nových, rýchlych, spoľahlivých a citlivých metód pre ich detekciu (Chen et al., 2015; Rubab et al., 2018; Zhou et al., 2020).

### Tradičné metódy

Hlavné nevýhody konvenčných metód, ktoré sa pre detekciu stafylokokov v potravinách a nápojoch používajú už niekoľko dekád, spočívajú v ich časovej náročnosti, nízkej citlivosti a namáhavosti (Chen et al., 2015; Rubab et al., 2018; Zhou et al., 2020; Hu et al., 2020).

Medzi tradičné detekčné technológie patria predovšetkým kultivačné a imunologické metódy (Hu et al., 2020; Rubab et al., 2018). Pre kvantitatívnu detekciu baktérie *Staphylococcus aureus* v potravinách a nápojoch sa používajú počítacie metódy (najčastejšie na Petriho miskách s BP agarom) a metóda MPN, teda metóda stanovenia najpravdepodobnejšieho počtu baktérií (v tekutom médiu). Metódy s použitím chromogénnych médií (štandardné chromogénne médium je BP agar) fungujú na rovnakom princípe ako metódy papierových diskov, ktoré sú založené na reakcii enzýmov produkovaných daným mikroorganizmom a príslušným chromogénnym substrátom (Zhao et al., 2020; Rubab et al., 2018; Chen et al., 2015; Zhou et al., 2020).

### Novšie metódy pre rýchlu detekciu

Medzi novšie metódy pre rýchlu detekciu stafylokokov v potravinách a nápojoch patria:

- imunotesty (napr. metóda imunomagnetické separácie),
- metódy molekulárnej biológie (napr. metódy s použitím biosenzorov, metóda polymerázovej reťazovej reakcie i jej modifikácie, prietoková cytometria, smyčkovy sprostredkovaná izotermická amplifikácia a pod.) (Zhao et al., 2020; Rubab et al., 2018).

Metódu imunomagnetické separácie (IMS) je možné použiť pre rýchlu izoláciu a identifikáciu baktérií *Staphylococcus aureus*. Jej nevýhody spočívajú najmä v možnosti krížovej kontaminácie, z dôvodu ktorej je nutné pri detekcii použiť aj inú technickú metódu pre zaručenie jej spoľahlivosti a taktiež vo vysokých finančných nákladoch (Zhao et al., 2020).

Vývoj biosenzorov pre detekciu a identifikáciu baktérií prenosných potravinami stále stúpa najmä pre ich rýchlosť a vysokú citlivosť. Biosenzory sú analytické zariadenia, ktoré využívajú špecifické biochemické reakcie sprostredkované najčastejšie izolovanými enzýmami, protilátkami alebo nukleovými kyselinami, na detekciu chemických zlúčenín zvyčajne elektrickými, tepelnými alebo optickými signálmi (Rubab et al., 2018).

Metódy polymerázovej reťazovej reakcie (PCR) a ich mnohopočetné modifikácie sa často používajú k rýchlej detekcii baktérií *S. aureus*. Medzi ich hlavné výhody patrí ich citlivosť, efektívnosť a rýchlosť. Hlavnú nevýhodu predstavujú falošne pozitívne výsledky, ku ktorým môže dôjsť v dôsledku neschopnosti rozlíšiť živé a mŕtve baktérie (Zhao et al., 2020; Rubab et al., 2018).

Prietoková cytometria (FCM) je metóda, ktorá sa používa pre rýchlu identifikáciu *S. aureus*. Je schopná kvantitatívne merať a synteticky analyzovať bunky (Zhao et al., 2020).

Smyčkovy sprostredkovaná izotermická amplifikácia (LAMP) patrí k novým, jednoduchým, rýchlym a citlivým metódam pre detekciu *S. aureus*. Doba trvania testu predstavuje 40 až 60 minút a jej citlivosť je vyššia než citlivosť PCR metód. Podobne ako u PCR metód, aj v tomto prípade sú hlavným nedostatkom tejto metódy falošne pozitívne výsledky (Zhao et al., 2020).

Prítomnosť enterotoxínov produkovaných baktériami *Staphylococcus aureus* je možné detekovať pomocou jednej z troch metód:

1. pomocou biologických skúšok,
2. pomocou metód molekulárnej biológie,

3. pomocou imunologických techník (Kadariya et al., 2014).

Metódy polymerázovej reťazovej reakcie (PCR), reverznej transkripčnej PCR (RT-PCR) a RT-kvantitatívnej PCR sa používajú pre vyhodnotenie toxického potenciálu kmeňa (Kadariya et al., 2014; Zhao et al., 2020).

Metódy molekulárnej typizácie ako napríklad gélová elektroforéza s pulzným poľom (PFGE) sa používajú pre genetickú charakterizáciu *S. aureus* (Kadariya et al., 2014).

Medzi najpoužívanejšie imunologické metódy, ktoré sú založené na používaní monoklonálnych a polyklonálnych protilátok, patrí enzýmová imunoanalýza a enzýmovo viazaná fluorescenčná skúška (Kadariya et al., 2014; Zhao et al., 2020).

## 2 ANTIBIOTICKÁ REZISTENCIA

Antibiotiká sú látky, ktoré sa kvôli svojim antimikrobiálnym účinkom v medicíne vo veľkej miere používajú k prevencii a liečbe bakteriálnych infekcií, avšak široké uplatnenie majú i v poľnohospodárstve pre liečbu hospodárskych zvierat (Betina, 1981; Walsh, 2003).

K antibiotickej rezistencii dochádza, keď sú baktérie odolné voči deštruktívnemu účinku antibiotík, čo znamená, že tieto baktérie nie sú zneškodnené a pokračujú v raste a rozmnožovaní sa (Walsh, 2003; Levy, Marschall, 2004).

To, že niektoré baktérie sú necitlivé voči antimikrobiálnym účinkom antibiotík, je známe už od počiatku éry antibiotík, ktorej vznik sa datuje od rokov 1940. Zlyhávanie penicilínu ako prvého antibiotika (a postupne aj ďalších antibiotík) upriamilo pozornosť spoločnosti na náhle sa rozširujúci fenomén antibiotickej rezistencie medzi organizmami. Určité organizmy boli schopné buď inaktivovať penicilín pomocou špecifických enzýmov, zatiaľ čo iné boli voči jeho účinkom necitlivé. Antibiotická rezistencia kmeňov *Staphylococcus aureus* je typickým príkladom poukazujúcim na jej rýchle šírenie v rámci jednotlivých kmeňov baktérií – na začiatku rokov 1940 bolo rezistentných približne 8 % kmeňov, avšak na konci rokov 1950 bolo rezistentných už približne 70 % kmeňov (Betina, 1981; Gould, 2016; Lewy, Marshall, 2004; Ventola, 2015).

### 2.1 Antibiotiká

#### História

Je známe, že v dávnej histórii ľudia používali na liečenie infekcií rôzne bylinky, med a dokonca aj zvieracie výkaly. Hoci pôvod tetracyklínov zostáva dodnes záhadou, jeho pozostatky boli objavené v ľudských lebkách už za čias rímskej okupácie Egyptu (Gould, 2016).

Za prvé antibiotikum sa považuje penicilín, izolovaný z mikroskopickej vláknitej huby *Penicillium notatum*, ktorý bol objavený v roku 1928 škótskym mikrobiológom, lekárom a farmakológom Alexandrom Flemingom, hoci existujú záznamy o používaní pyokyanázy – supernatantu baktérie *Pseudomonas aeruginosa* – ako antibiotika so zmiešanou spätnou odozvou (Walsh, 2003; Ventola, 2015; Gould, 2016). Vzhľadom na náročnosť prevedenia penicilínu z laboratórnych podmienok na liek dostupný pre verejnosť bol Fleming schopný začať s jeho purifikáciou až v roku 1940, po publikácii článku, ktorý popisoval potenciálnu

purifikačnú metódu, autormi ktorého boli Howard Florey a Erns Chain (Gould, 2016; Ventola, 2015).

Ako ďalšie antibiotikum, ktoré odštartovalo éru sulfónamidov, bol Prontosil objavený v Nemecku v roku 1931 (Gould, 2016).

Za „zlatú éru“ sa považuje nasledujúcich dvadsať rokov, kedy prebiehal neustály výskum antibiotík a za ich najlepší zdroj sa považovali prirodzene sa vyskytujúce mikroorganizmy ako napríklad *Streptomyces griseus*, z ktorého bol izolovaný streptomycín v roku 1944 alebo *Streptomyces orientalis*, z ktorého bol izolovaný vankomycín. Už v týchto rokoch sa však začali objavovať prvé prípady antibiotickej rezistencie baktérií. Odozvou na tento nález bol vývin methicilínu ako prvého  $\beta$ -laktámového antibiotika rezistentného na penicilinázu a neskôr vývin ampicilínu. V rokoch 1960 sa začali objavovať cefalosporíny. S rozvojom antibiotík však narastalo aj množstvo rezistentných baktérií, ktoré začali predstavovať čoraz väčší problém pri liečbe infekčných ochorení (Gould, 2016; Ventola, 2015; Lowy, 2003).

### **Súčasnosť**

V priebehu dvoch dekád medzi rokmi 1960 až 1980 bola vynaložená veľká snaha o objav nových antibiotík, ktoré by zabránili šíreniu a zastavili rozmach antibiotickej rezistencie v ľudskej populácii, avšak po vyčerpaní mnohých možností začala produkcia nových antibiotík postupne klesať. Spomedzi osemnástich najväčších farmaceutických firiem zostali aktívne iba tri, pretože v súčasnej dobe vývoj nových antibiotík nepredstavuje ekonomicky výhodné investície (Ventola, 2015; Gould, 2016). V dnešnej dobe je z ekonomického hľadiska pre farmaceutické firmy výhodnejšie investovať do vývoja liekov pre liečbu chronických ochorení ako napríklad *diabetes mellitus*, v prípade ktorého je nutné užívať ich dlhodobo v dôsledku čoho sú ziskovejšie, na rozdiel od antibiotík slúžiacich k liečbe infekčných ochorení, ktoré sa užívajú len krátkodobo (Ventola, 2015).

### **Rozdelenie**

Medzi hlavné skupiny antibiotík patria:

#### **1. $\beta$ -laktámové antibiotiká**

Táto skupina antibiotík patrí medzi jednu z najčastejšie používaných pre liečbu bakteriálnych infekcií a patria do nej penicilíny, cefalosporíny, karbapenémy a monobaktámy. Ich spoločnou vlastnosťou je vysoko reaktívny 3-uhlíkový a 1-

dusíkový kruh, teda  $\beta$ -laktámový kruh (Pandey, Cascella, 2021). Mechanizmus ich pôsobenia spočíva v inhibícii posledného kroku pri syntéze peptidoglykánu, čo je základná zložka bakteriálnej steny. Táto inhibícia je spôsobená acyláciou transpeptidázy, ktorá má dôležitú úlohu pri zosieťovaní peptidov pre vznik peptidoglykánu (Eckburget et al., 2019). Bakteriálna rezistencia voči  $\beta$ -laktámovým antibiotikám sa najčastejšie prejavuje tvorbou betalaktamáz, čo sú enzýmy produkované baktériami, ktoré zabezpečujú ich multirezistenciu voči týmto antibiotikám (Ibrahim et al., 2019). Medzi iné mechanizmy vzniku bakteriálnej rezistencie patrí napríklad znížená penetrácia do cieľového miesta v bunke, zmena proteínov viažucich penicilín v cieľovom mieste alebo výtok z periplazmatického priestoru prostredníctvom špecifických čerpacích mechanizmov (Pandey, Cascella, 2021).

## 2. Aminoglykozidové antibiotiká

Tieto antibiotiká patria medzi široko-spektrálne antibiotiká, ktoré sa často používajú pre liečbu infekcií vyvolaných gram-negatívnymi baktériami u detí. Patrí medzi ne gentamicín, amikacín, tobramycín, neomycín a streptomycín (Germovsek et al., 2017). Ich mechanizmus účinku spočíva v inhibícii proteosyntézy, teda tvorbe bielkovín (Walsh, 2003). Medzi mechanizmy rezistencie voči týmto antibiotikám patrí schopnosť rezistentných kmeňov produkovať enzýmy, ktoré modifikujú aminoglykozidy (Germovsek et al., 2017).

## 3. Tetracyklíny

Tetracyklíny sú skupinou antibiotík, ktoré sa používajú k liečbe ľudských i zvieracích infekcií (Chopra, Roberts, 2001). Podobne ako v prípade aminoglykozidových antibiotík, aj tu mechanizmus ich účinku spočíva v inhibícii proteosyntézy (Walsh, 2003). Rezistencia voči tetracyklínom je v mnohých prípadoch zapríčinená získaním nových génov, ktoré kódujú energeticky závislý odtok tetracyklínov alebo proteín, ktorý chráni bakteriálne ribozómy pred účinkom tetracyklínov (Chopra, Roberts, 2001).

## 4. Polyenové makrolidové antibiotiká

Tieto antibiotiká sa vďaka svojej silnej fungicídnej aktivite používajú najmä pre liečbu plesňových infekcií (Zotchev, 2003). Patrí medzi ne patrí napríklad amfotericín B, nystatín a pimarcín, známy aj ako natamycín (Hamilton-Miller,

1973). Ich mechanizmus účinku spočíva v interakcii so sterolovou zložkou membrány. Rezistencia voči týmto antibiotikám je pomerne nízka (Zotchev, 2003).

## 2.2 Antibiotická rezistencia

Objav nových antibiotík býva často pomerne rýchlo nasledovaný vznikom antibiotickej rezistencie, ktorá spôsobuje, že baktérie, ktoré boli voči danému antibiotiku pôvodne citlivé si vybudujú odolnosť k jeho antimikrobiálnym účinkom v dôsledku čoho sa stávajú rezistentnými (Schito, 2006).

Spočiatku sa prvé baktérie rezistentné voči antibiotikám začali objavovať primárne v nemocničných zariadeniach, kde sa antibiotiká využívali k liečbe rôznych infekčných ochorení. *Streptococcus pyogenes* rezistentný voči sulfónamidom sa objavil vo vojenských nemocniciach už v roku 1930. Prvé záznamy o objave rezistentného *Staphylococcus aureus* voči penicilínu sa datujú do roku 1942, teda krátko po jeho objave, v Londýnskej nemocnici (Levy, Marshall, 2004; Lowy, 2003).

Prvé baktérie, u ktorých bol zaznamenaný výskyt rezistencie voči viacerým antibiotikám koncom rokov 1950 boli črevné baktérie, konkrétne *Escherichia coli*, *Salmonella* a *Shigella* (Levy, Marshall, 2004). Baktérie s viacnásobnou rezistenciou predstavujú obrovské riziko pri liečbe infekčných ochorení nielen v rozvojových krajinách ale i v celom svete, keďže hrozba, že antibiotiká, ktorými sme v súčasnej dobe schopný liečiť infekčné ochorenia sa stanú neúčinnými a tieto ochorenia sa znova stanú životohrozujúcimi (Ventola, 2015; Odonkor, Addo, 2011).

Medzi baktérie rezistentné voči viacerým antibiotikám patrí aj *Staphylococcus aureus* rezistentný voči methicilínu, tzv. MRSA. Podobne ako aj u ostatných baktérií, aj MRSA sa pôvodne začala objavovať v nemocničných zariadeniach ako pôvodca nozokomiálnych ochorení, teda ochorení, ktorých vznik súvisí s pobytom pacienta v zdravotníckom zariadení. V posledných rokoch sa však objavuje čoraz viac vedeckých štúdií o tom, že zvieratá, vrátane hospodárskych zvierat chovaných pre kŕmne účely, slúžia ako rezervoáre pre tieto baktérie a prenos medzi rôznymi hosťiteľmi môže byť možný. MRSA aj *Staphylococcus aureus* citlivý voči methicilínu (tzv. MSSA) sú schopné produkovať biofilmy, ktoré slúžia ako faktory virulencie, a poskytujú tak týmto baktériám možnosť adhérencie na rôzne povrchy zahŕňajúc rôzne technologické zariadenia a materiály, ktoré sú široko používané v potravinárskom priemysle. MRSA bola izolovaná najmä z rôznych druhov surového mäsa (hovädzie, jahňacie, bravčové, kuracie, morčacie) a mliečnych

výrobkov (syr a mlieko). Hoci MRSA sa v niektorých prípadoch do týchto potravín dostala prenosom cez znečistené ľudské ruky, v iných bolo zdrojom kontaminácie dané zviera. Tieto baktérie môžu byť v potravinách usmrtené pôsobením vysokej teploty, avšak MRSA produkuje enterotoxíny, ktoré sú termostabilné a po požití môžu u ľudí vyvolať stafylokokovú enterotoxikózu (Doulgeraki et al., 2017).

### 2.3 Príčiny vzniku antibiotickej rezistencie

Príčiny vzniku antibiotickej rezistencie sú rozmanité, no vo všeobecnosti je možné rozdeliť ich do piatich hlavných kategórií:

- nadmerné predpisovanie a používanie antibiotík,
- nadužívanie antibiotík v chove hospodárskych zvierat a rýb,
- absencia produkcie nových antibiotík,
- nedodržiavanie hygienických a sanitačných opatrení,
- pacienti, ktorí nedokončia celú predpísanú dobu liečby antibiotikami (Ventola, 2015; Gould, 2016; Kadariya et al., 2014; Khan et al., 2017).

#### Nadmerné predpisovanie a používanie antibiotík

K rozvoju antibiotickej rezistencie baktérií výrazne prispelo ich nadmerné predpisovanie a používanie. Antibiotiká sú látky, ktoré sa kvôli svojim antimikrobiálnym účinkom okrem iného používajú k liečbe bakteriálnych infekcií, avšak v rokoch, ktoré nasledovali po objavení prvého antibiotika, boli predpisované nielen k liečbe bakteriálnych infekcií ale taktiež k liečbe vírusových infekcií, na ktoré, ako už dnes vieme, nemajú žiaden účinok (Ventola, 2015). Reštrikcia ich predpisovania a užívania však nedokázala zastaviť narastajúci počet rezistentných baktérií, pretože tie boli schopné vyvinúť si rôzne mechanizmy, vďaka ktorým sa rezistentné gény medzi baktériami dokážu šíriť (Mártonová et al., 2008).

#### Nadužívanie antibiotík v chove hospodárskych zvierat a rýb

Užívanie antibiotík nie je vymedzené iba pre ľudí. V hojnom množstve sa antibiotiká používajú i v poľnohospodárstve k prevencii a liečbe hospodárskych zvierat a rýb. Podobne ako pri ľuďoch, nadužívanie antibiotík u zvierat vytvára rezervoár pre baktérie s potenciálom stať sa rezistentnými, v dôsledku čoho sa dané antibiotikum stáva neúčinným (Ventola, 2015).



### **Absencia produkcie nových antibiotík**

Významným faktorom prispievajúcim k problému antibiotickej rezistencie je absencia produkcie nových antibiotík. Prvé široko používané antibiotikum – penicilín – bolo izolované z plesne *Penicillium notatum* škótskym farmakológom a mikrobiológom Alexandrom Flemingom v roku 1928 (Walsh, 2003; Ventola, 2015; Gould, 2016). Prvé záznamy o výskyte baktérií rezistentných voči antibiotikám sú datované už medzi rokmi 1940 až 1950 (Betina, 1981). V priebehu 40 rokov od roku 1940 bolo objavených mnoho nových antibiotík, avšak po roku 1980 sa ich objav zastavil napriek tomu, že výskyt baktérií rezistentných voči antibiotikám stále narastá (Ventola, 2015; Gould, 2016).

### **Nedodržiavanie hygienických a sanitačných opatrení**

Baktérie a vírusy sú schopné šíriť sa priamo – fyzickým kontaktom, cez poranenia alebo sliznicami a nepriamo – pomocou infikovaných predmetov alebo vzduchom, preto je dôležité dodržiavať nielen osobnú hygienu ale dbať i na vysokú úroveň čistoty prostredia. Dôraz sa kladie najmä na obmenu dezinfekčných prostriedkov v zdravotníckych zariadeniach, aby sa tak predišlo ich neúčinnosti v dôsledku rezistencie baktérií a na dodržiavanie hygienických a sanitačných opatrení pri manipulácii s potravinami (Kadariya et al., 2014; Becker et al., 2014).

### **Pacienti, ktorí nedokončia celú predpísanú dobu liečby antibiotikami**

Pacienti, ktorí nedokončia celú predpísanú dobu liečby antibiotikami hrajú v antibiotickej rezistencii baktérií významnú úlohu. Predpísané dávky antibiotík sú určené na eradikáciu celej populácie patogénov, avšak pri nedodržaní predpísanej doby užívania, teda užitia celej predpísanej dávky, dochádza k tomu, že baktérie sú schopné prispôbiť sa nízkej dávke antibiotík a nakoniec tak vytvoriť populáciu baktérií rezistentných na dané antibiotikum bez ohľadu na jeho dávkovanie (Khan et al., 2017; Ventola, 2015).

## **2.4 Mechanizmy vzniku antibiotickej rezistencie**

Výskyt antibiotickej rezistencie odhalil mnohonásobné a komplexné mechanizmy, vďaka ktorým sú rezistentné gény schopné šíriť sa medzi baktériami bez ohľadu na ich druhové bariéry (Mártonová et al., 2008).

U stafylokokov antibiotiká najčastejšie útočia na bunečnú stenu, ribozómy alebo nukleové kyseliny. K rozvoju antibiotickej rezistencie môže dôjsť prakticky dvoma spôsobmi a to buď horizontálnym prenosom determinantov rezistencie, ktoré sú kódované pomocou

mobilných genetických prvkov, medzi ktoré patria napríklad plazmidy, transpozóny a bakteriofágy, alebo mutáciou v chromozomálnych génoch (Ondokor, Addo, 2011; Foster, 2017; Levy, Marschall, 2004).

K vzniku antibiotickej rezistencie horizontálnym spôsobom môžu viesť rôzne mechanizmy:

1. enzymatická modifikácia a následná inaktivácia antibiotika, teda zneškodnenie jeho antimikrobiálnej funkcie,
2. enzymatická modifikácia cieľového väzobného miesta antibiotika tak, že ho v dôsledku nie je možné rozpoznať,
3. vytvorenie novej metabolickej dráhy, na konci ktorej sa nachádza cieľové väzobné miesto antibiotika, ktoré je voči danému antibiotiku rezistentné,
4. eflux antibiotika (efluxové pumpy mikroorganizmom umožňujú regulovať svoje vnútorné prostredie odstraňovaním toxických látok vrátane antimikrobiálnych látok a metabolitov),
5. vytesnenie antibiotika pre zabezpečenie ochrany cieľového väzobného miesta, na ktoré má dané antibiotikum útočiť (Foster, 2017; Odonkor, Addo, 2011).

Najčastejším mechanizmom je enzymatická inaktivácia antibiotika, ku ktorej dochádza, keď je bunecný enzým upravený tak, že po reakcii s antibiotikom následne dané antibiotikum nemá na mikroorganizmus žiaden vplyv (Odonkor, Addo, 2011).

Situácia je podobná i pri vzniku antibiotickej rezistencie mutáciou, ktorá môže vzniknúť v dôsledku viacerých príčin:

1. zmenou cieľovej skupiny antibiotika, ktorá zabraňuje väzbe inhibítora,
2. viacerými následnými mutáciami, ktoré spôsobujú zmenu zloženia a štruktúry buncnej steny a/alebo znižujú priepustnosť buncnej steny pre prestup antibiotika,
3. derepresie efluxných púmp rezistencie na viacero liekov (Foster, 2017).

K vzniku multirezistentnej baktérie môže dôjsť v prípade, že daný organizmus obsahuje viac génov so schopnosťou rezistencie voči rôznym antibiotikám. Keď sa takéto gény dostanú a usídli v jednom organizme, hovoríme, že sa jedná o multirezistentnú baktériu, teda baktériu rezistentnú voči viac než jednému antibiotiku (Levy, Marshall, 2004).

### 3 ANTIBIOTICKÁ REZISTENCIA U STAFYLOKOKOV IZOLOVANÝCH Z POTRAVIN A NÁPOJOV

Napriek tomu, že stafylokoky tvoria prirodzenú súčasť autochtónnej mikroflóry kože a slizníc ako u ľudí, tak i u zvierat a rovnako sa aj bežne vyskytujú v prostredí bez toho, aby pôsobili patogénne, existujú prípady, v ktorých u ľudí môžu spôsobovať ochorenia (Bednář et al., 1996). Do ľudského tela najčastejšie prenikajú cez porušenú sliznicu a kožu alebo prostredníctvom potravín a nápojov, kedy u ľudí môžu vyvolávať vznik alimentárnych ochorení, v tomto prípade stafylokokové enterotoxikózy (vid'. podkap. 1.3). Samotné baktérie rodu *Staphylococcus* sú citlivé voči vysokým teplotám, a preto je možné ich v potravinách odstrániť, avšak enterotoxíny, ktoré tieto baktérie produkujú, sú termorezistentné a var ich neusmrť (Becker, Skov, von Eiff, 2015; Fusco, Blaiotta, Becker, 2018; Dodd et al., 2017, Bednář et al., 1996). Stafylokoky izolované z potravín a nápojov vykazujú čoraz väčšiu rezistenciu voči antibiotikám, ku ktorým boli kedysi citlivé. Veľké riziko predstavujú najmä stafylokoky rezistentné voči viacerým antibiotikám, vrátane MRSA, ktoré boli izolované z rôznych druhov potravín, predovšetkým surového mäsa, mäsových výrobkov, mlieka a mliečnych výrobkov (Doulgeraki et al., 2017).

#### 3.1 Cesty prenosu stafylokokov do potravín a nápojov

Baktérie rodu *Staphylococcus* môžu byť prítomné už v tele zvierat, do ktorého sa dostanú prostredníctvom vody alebo krmiva (Doulgeraki et al., 2017). Kmene *Staphylococcus aureus* sú schopné prežiť v pitnej vode, ktorá je distribuovaná verejnými zariadeniami medzi ľuďmi, pričom niektoré z izolátov zachytili prítomnosť stafylokokov rezistentných voči viacerým antibiotikám, vrátane MRSA. Prostredie vody, v ktorej je chlór prítomný v nižšom množstve než je odporúčané, je vhodné pre rast týchto patogénov (Santos et al., 2020).

Do potravín a nápojov sa najčastejšie dostávajú kontamináciou znečistenými ľudskými rukami, ktoré prichádzajú do priameho kontaktu a manipulujú s potravinami a nápojmi (teda nedodržiavaním hygienickým a sanitačných zásad pri manipulácii s potravinami). V potravinách a nápojoch, ktoré sú kontaminované stafylokokmi sa tieto baktérie ďalej rozmnožujú a produkujú toxíny, ktoré na ľudí pôsobia patogénne. Hoci prítomnosť stafylokokov v potravinách je možné odstrániť varom, ich toxíny sú voči nemu rezistentné, a tak môžu u ľudí vyvolávať alimentárne ochorenia, v tomto prípade stafylokokové enterotoxikózy (Becker, Skov, von Eiff, 2015; Fusco, Blaiotta, Becker, 2018; Dodd et al.,

2017, Kadariya et al., 2014). Prípustná teplota pre rast a produkciu toxínov *S. aureus* sa pohybuje v rozpätí 6 °C až 46 °C a preto by mala byť ideálna teplota na varenie a chladenie vyššia než 60 °C, respektíve nižšia než 5 °C (Kadariya et al., 2014). Potraviny a nápoje, ktoré sú kontaminované stafylokokovými toxínmi nemusia vyzerat' pokazene ani zapáchat' (Becker, Skov, von Eiff, 2015; Fusco, Blaiotta, Becker, 2018).

### 3.2 Antibiotická citlivosť a rezistencia stafylokokov

#### História

Po objave a zavedení penicilínu ako účinného antibiotika v roku 1940 sa výrazne zlepšila prognóza pacientov trpiacich na infekčné ochorenia vyvolanými stafylokokmi, na ktoré do tej doby zomieralo v priemere osemdesiat percent nakazených (Lowy, 2003). Prvé záznamy o objave rezistentného *Staphylococcus aureus* voči penicilínu sa datujú do roku 1942, teda krátko po jeho objave (Levy, Marshall, 2004; Betina 1981; Gould, 2016). Zastavenie jeho antimikrobiálnej aktivity bolo spôsobené schopnosťou stafylokokov produkovať enzým  $\beta$ -laktamáza, ktorý hydrolyzuje  $\beta$ -laktámovú väzbu, následkom čoho sa antibiotikum stáva neúčinným (Foster, 2017; Lowy, 2003).

V roku 1961 bol predstavený methicilín, prvý polysyntetický penicilín rezistentný na penicilinázu, ako antibiotikum k liečbe stafylokokových infekcií, avšak aj voči nemu si boli baktérie v krátkej dobe schopné vytvoriť rezistenciu (Lowy, 2003; Gould, 2016). Prvý záznam o výskyte MRSA, teda baktérií *Staphylococcus aureus* rezistentných voči methicilínu, pochádza z britskej nemocnice (Lowy, 2003).

V rokoch 1980 sa k liečbe stafylokokových a enterokokových infekcií začali využívať flórochinóny, hoci tie boli pôvodne vyvinuté pre liečbu infekcií vyvolaných gram-negatívnymi baktériami. Onedlho po ich zavedení sa u stafylokokov prejavila rezistencia (Lowy, 2003).

Ako ďalšie antistafylokokové antibiotikum bol predstavený vankomycín. Rezistencia voči vankomycínu bola prvýkrát odhalená u kmeňa *Staphylococcus haemolyticus* (Lowy, 2003; Ventola, 2015).

#### Súčasnosť

V súčasnosti medzi antibiotiká s antistafylokokovou aktivitou patrí linezolid a chinupristín-dalfopristín. Pôsobenie linezolidu je bakteriostatické, čo znamená, že zastavuje rast a rozmnožovanie baktérií, no neusmrcuje ich. Klinické testy podstupuje daptomycín

s baktericídnym pôsobením, ktoré na rozdiel od bakteriostatického, baktérie usmrcuje. V rôznych štádiách vývoja sú aj tetracyklíny, karbapenémy, modifikované glykopeptidy, oxazolidinóny a chinolóny s antistafylokokovou aktivitou (Lowy, 2003).

### **3.3 Metódy stanovenia antibiotickej rezistencie u stafylokokov izolovaných z potravín a nápojov**

Pre stanovenie antibiotickej rezistencie, resp. citlivosti stafylokokov izolovaných z potravín a nápojov sa používajú metódy kvalitatívne a kvantitatívne. Medzi kvalitatívne patria diskové metódy a E-testy. Medzi kvantitatívne sa radia dilučné metódy (Khan, Siddiqui, Park, 2019; Tendencia, 2004).

#### **Disková difúzna analýza**

Disková difúzna analýza patrí medzi kvalitatívne metódy stanovenia bakteriálnej citlivosti, resp. rezistencie na antibiotiká, takže sa nejedná o meranie stupňa citlivosti, resp. rezistencie, ale iba o jej dôkaz. Táto metóda bola predstavená v roku 1956 na základe Bauerových a Kribysových experimentov (Khan, Siddiqui, Park, 2019).

Princíp diskovej difúznej analýzy spočíva v uložení antibiotík vo forme diskov na príslušnú agarovú pôdu s naočkovaným kmeňom testovanej baktérie. Antibiotikum difunduje do prostredia a vytvára koncentračný gradient. Hodnota koncentračného gradientu s jeho difúziou do okolia postupne klesá, najvyššia hodnota sa teda nachádza na okraji disku. Ak dané antibiotikum inhibuje rast testovaného kmeňa baktérie, po inkubácii za definovanej teploty po definovanú dobu okolo antibiotiká vzniká tzv. inhibičná zóna. Na základne zmerania veľkosti inhibičnej zóny a následného porovnania s normou uvádzajúcou referenčné rozmedzie ich veľkostí alebo porovnania výsledkov s tabuľkami NSSL (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*), sa stanoví rezistencia alebo citlivosť testovaného kmeňa na príslušné antibiotikum (Tendencia, 2004; Khan, Siddiqui, Park, 2019).

Za najlepšiu pôdu pre diskovú difúznu metódu sa považuje Mueller-Hinton agar (MHA), ktorý bol vyvinutý v roku 1941 Muellerom a Hintonom pôvodne pre izoláciu patogénnych druhov baktérie *Neisseria*. Tento agar patrí medzi neselektívne, nediferenciálne médiá, čo znamená, že takmer všetky mikroorganizmy, ktoré sú naň naočkované, vyrastú (Missiakas, Schneewind, 2013; Khan, Siddiqui, Park, 2019; Nassar, Hazzah, Bakr, 2019).

Ako najvyšší počet antibiotickým diskov pre použitie na jednu pôdu sa udáva počet päť, pričom pre zabezpečenie relevantného a praktického testu by mal každú skupinu použitých antibiotík reprezentovať iba jeden zástupca (Tendencia, 2004).

### **E-testy**

E-testy patria medzi kvalitatívne metódy pre vyšetrenie citlivosti na antibiotiká. V porovnaní s diskovými difúznymi metódami sú jednoduchšie, avšak nákladnejšie. V podstate sa jedná o metódu pre určenie minimálnej inhibičnej koncentrácie (tzv. MIC) antibiotika. Výsledok nám teda poskytuje informácie o vhodnej koncentrácii antibiotika, ktorá je schopná zastaviť rast testovaného kmeňa baktérie. V prípade E-testov sa nepoužívajú antibiotické disky ale špeciálne prúžky so stupnicou, ktoré obsahujú rastúce koncentrácie antibiotika. Stupnica slúži pre odčítanie minimálnej inhibičnej koncentrácie po vzniku inhibičnej zóny v tvare vajíčka. Rovnako ako u diskových difúzných metód sa tieto prúžky prikladajú na príslušnú agarovú pôdu s naočkovaným testovaným kmeňom baktérie (Khan, Siddiqui, Park, 2019).

### **Dilučné metódy**

Dilučné metódy patria medzi kvantitatívne metódy stanovenia bakteriálnej citlivosti, resp. rezistencie voči danému antibiotiku, takže sa jedná o meranie stupňa citlivosti, resp. rezistencie. Sú presnejšie než difúzne metódy a nevyhnutné pre vyšetrenie citlivosti kmeňov baktérií izolovaných z krvi. Podobne ako E-testy slúžia k stanoveniu minimálnej inhibičnej koncentrácie antibiotika (Khan, Siddiqui, Park, 2019).

Mueller-Hinton agar nie je ako v prípade kvalitatívnych metód nanosený na Petrino miskách ale v jamkách serologických mikrodštičiek spolu so stúpajúcou koncentráciou vhodných antibiotík. Do jamiek sa očkuje inokulum z vyšetovaného kmeňa baktérie a po inkubácii sa hodnotí prítomnosť alebo absencia zákalu, prípadne sedimentu. Rezistencia testovaného kmeňa baktérie sa prejaví zákalom v jamke, pri citlivosti zákal mizne (Nassar, Hazzah, Bakr, 2019; Khan, Siddiqui, Park, 2019).

Obdobne je možné stanoviť MBC, teda minimálnu baktericídnu koncentráciu antibiotika, ktorá je schopná usmrtiť testovaný kmeň baktérie (Khan, Siddiqui, Park, 2019).

## ZÁVER

Objav a následné zavedenie antibiotík ako antimikrobiálnych látok pre liečbu infekčných ochorení, ktoré v minulosti v mnohých prípadoch u nakazených pacientov viedli až k smrti, onedlho nasledoval vznik rezistencie baktérií voči týmto látkam.

Medzi faktory, ktoré výrazne posilnili jej šírenie z nemocničných zariadení do širokej verejnosti, patrí ich prvotné nadužívanie k liečbe nielen bakteriálnych ale i vírusových ochorení, na ktoré antibiotiká – ako už dnes vieme – nemajú žiaden vplyv, nedodržiavanie hygienických a sanitačných opatrení najmä v nemocničných zariadeniach a pri manipulácií s potravinami a absencia objavu nových antibiotík. Jeden z najhlavnejších a neodvratiteľných dôvodov vzniku antibiotickej rezistencie je však prirodzená evolúcia baktérií, ktoré s postupom času boli schopné vytvoriť si rôzne mnohonásobné a komplexné mechanizmy, vďaka ktorým sú schopné odolávať deštruktívnemu účinku antibiotík a šíriť svoje rezistentné gény i medzi ďalšie baktérie a to aj bez ohľadu na ich druhové bariéry.

Baktérie rodu *Staphylococcus* sa prirodzene vyskytujú v prostredí človeka i zvierat a tvoria tiež časť ich autochtónnej mikroflóry kože a slizníc. Niektoré kmene stafylokokov patria medzi oportúnne patogény, ktoré sú schopné pri oslabení obranných mechanizmov hostiteľa vyvolávať buď primárne chorobné zmeny, alebo sú schopné sekundárne komplikovať iné infekcie.

K liečbe stafylokokových infekcií sa začalo v roku 1940 úspešne používať prvé antibiotikum penicilín, objavené škótskym mikrobiológom, farmakológom a lekárom Alexandrom Flemingom, avšak prvé záznamy o rezistencii týchto baktérií sa objavili už v roku 1942. Zlyhanie penicilínu viedlo k vývoju ďalších antibiotík namierených k boju proti stafylokokom ako napríklad methicilínu alebo vankomycínu s rovnakým výsledkom: citlivosť baktérií rýchlo nahradila ich rezistencia, a v prípade MRSA (*Staphylococcus aureus* rezistentný na methicilín) dokonca viacnásobná.

Stafylokoky sú baktérie schopné prostredníctvom metabolických adaptácií zahŕňajúcich rôzne modifikácie svojich bunecných komponentov zvýšiť svoju odolnosť voči nepriaznivým podmienkam vonkajšieho prostredia, čo sťažuje vývoj účinných látok pre ich usmrcovanie. S nárastom užívania látok antimikrobiálnej povahy k prevencii a liečbe hospodárskych zvierat určených pre kŕmne účely, predstavuje rezistencia baktérií voči antibiotikám obrovské riziko najmä v potravinárskom priemysle. Mnohé štúdie potvrdzujú

prítomnosť baktérií v tele týchto zvierat bez ich predošlého užívania alebo ľudskej kontaminácie, čo ohrozuje zdravotnú nezávadnosť výsledných potravín.

Napriek poznaniu a chápaniu mechanizmov vedúcich k vzniku a šíreniu antibiotickej rezistencie medzi baktériami výroba účinných antibiotík stagnuje. V dnešnej dobe produkcia antibiotík k liečbe bakteriálnych infekcií z ekonomického hľadiska nepredstavuje výhodné investície v porovnaní s výrobou liekov k liečbe chronických ochorení, v prípade ktorých je nutné užívať ich dlhodobo. Nehľadiac na absenciu vzniku nových antibiotík sa šírenie antibiotickej rezistencie medzi baktériami nespomaľuje, práve naopak, počet rezistentných baktérií stúpa a mimoriadne obavy vyvolávajú baktérie rezistentné voči viac než jednému antibiotiku.

V súčasnej situácii je produkcia nových účinných antibiotík rovnako ako aj hľadanie a objavovanie nových metód pre riešenie celosvetového problému antibiotickej rezistencie kritické, inak hrozí, že ochorenia, ktoré v dnešnej dobe dokážeme jednoducho liečiť sa pre nás znova stanú život-ohrozujúcimi.



**ZOZNAM POUŽITEJ LITERATURY**

ALRESHIDI, M. et al. Metabolomic and proteomic responses of *Staphylococcus aureus* to prolonged cold stress. *Journal of Proteomics* [online]. 2015, vol. 121, s. 44-55 [cit. 2021-04-14]. ISSN 1874-3919. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.03.010>

BARON, S. et al. 1996. *Medical Microbiology*. 4. vyd. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996. 357 s. ISBN 978-0963117212. Dostupné tiež z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7627/>

BECKER, K. et al. Coagulase-negative staphylococci. American Society for Microbiology Journals: *Clinical microbiology reviews* [online]. 2014, vol. 27 (4), s. 870-926 [cit. 2021-02-28]. ISSN 1098-6618. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/CMR.00109-13>

BECKER, K., SKOV, R. L., VON EIFF, CH. 2015. *Staphylococcus, Micrococcus, and other Catalase-Positive Cocci. Manual of Clinical Microbiology* [online]. 11. vyd. ASM Press, 2015. 2892 s. ISBN 9781683672807. Dostupné tiež z: <https://doi.org/10.1128/9781555817381.ch21>

BEDNÁŘ, M., FRAŇKOVÁ, V., SCHINDLER, J. et al. 1996. *Lékařská mikrobiologie*. 1. vyd. Praha: Marvil, 1996. 560 s. ISBN 80-2380-297-6.

BETINA, V. 1981. *Chémia a biológia antibiotík*. 1. vyd. Bratislava: Veda, 1981. 483 s. ISBN 71-031-81.

CONLY, J. M., JOHNSTON, B. L. Where are all the new antibiotics? The new antibiotic paradox. Pulsus Group Inc: *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*. 2005, vol. 16 (3), s. 159-160 [cit. 2021-04-23]. ISSN 1712-9532. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2005/892058>

DAOUD, J. et al. Purification and biochemical characterization of a halotolerant *Staphylococcus sp.* extracellular lipase. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2013, vol. 57, s. 232-237 [cit. 2021-04-14]. ISSN 1879-0003. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.03.018>

DODD, CH. et al. 2017. *Foodborne Diseases*. 3. vyd. Academic Press, 2017. 576 s. ISBN 9780123850089.

DOULGERAKI, A. et al. Methicillin-resistant food-related *Staphylococcus aureus*: a review of current knowledge and biofilm formation for future studies and applications. *Research in Microbiology* [online]. 2017, vol. 168, s. 1-15 [cit. 2021-04-15]. ISSN 0923-2508. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.resmic.2016.08.001>

ECKBURG, P. B. et al. Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, and Drug Interaction Potential of SPR741, an Intravenous Potentiator, after Single and Multiple Ascending Doses and When Combined with  $\beta$ -Lactam Antibiotics in Healthy Subjects. American Society for Microbiology: *Antimicrobial agents and chemotherapy* [online]. 2019, vol. 63 (9). [cit. 2021-04-14]. ISSN 1098-6596. Dostupné z: doi:10.1128/AAC.00892-19

FETSCH, A. 2018. *Staphylococcus aureus*. Academic Press, 2018. 316 s. ISBN 9780128096710. Dostupné tiež z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809671-0.12001-7>

FOSTER, T. J. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects. *FEMS Microbiology Reviews* [online]. 2017, vol. 41 (3), s. 430-449 [cit. 2021-04-16]. ISSN 0168-6445. Dostupné z: doi: 10.1093/femsre/fux007

FUSCO, V., BLAIOTTA, G., BECKER, K. 2018. *Food safety and preservation*. Academic Press, 2018. Kap. 12: Staphylococcal food poisoning, s. 353-390. ISSN 978-0-12-814956-0. Dostupné tiež z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814956-0.00012-3>

GERMOVSEK, E., BAREK C. I., SHARLAND, M. What do I need to know about aminoglycoside antibiotics? BMJ Publishing Group Limited: *Archives of disease in childhood. Education and practice edition* [online]. 2017, vol. 102 (2), s. 89-93. [cit. 2021-04-14]. ISSN 1743-0593. Dostupné z: doi: 10.1136/archdischild-2015-309069.

GOERING, R. 2016. *Mimsova lékařská mikrobiologie*. 5. vyd. Praha: Triton, 2016. 568 s. ISBN 978-80-7387-928-0.

GOULD, K. Antibiotics: from prehistory to the present day. Oxford University Press: *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [online]. 2016, vol. 71 (3), s. 572-575 [cit. 2021-13-03]. ISSN 0305-7453. Dostupné z: doi:10.1093/jac/dkv484

HAMILTON-MILLER, J. M. Chemistry and biology of the polyene macrolide antibiotics. American Society for Microbiology: *Bacteriol Reviews* [online]. 1973, vol. 37 (2), s. 166-196. Opravená and znova vydané v: *Bacteriol Reviews*, 1973, vol. 37 (3), s. 166-96. [cit. 2021-03-14]. ISSN 0005-3678. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4578757>

HU, J. et al. Recombinase polymerase amplification with polymer flocculation sedimentation for rapid detection of *Staphylococcus aureus* in food samples. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 2020, vol. 331 [cit. 2021-05-18]. ISSN 0168-1605. Dostupné tiež z: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108691>.

CHEN, X. et al. Rapid detection of *Staphylococcus aureus* in dairy and meat foods by combination of capture with silica-coated magnetic nanoparticles and thermophilic helicase-dependent isothermal amplification. *Journal of Dairy Science* [online]. 2015, vol.

98 (3), s. 1563-1570 [cit. 2021-05-18]. ISSN 0022-0302. Dostupné z: <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8828>.

CHOPRA, I., ROBERTS, M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. American Society for Microbiology: *Microbiology and molecular biology reviews* [online]. 2001, vol. 65 (2), s. 232-260 [cit. 2021-04-14]. ISSN 1092-2172. Dostupné z: doi:10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001

IBRAHIM, M. E. et al. Phenotypic Characterization and Antibiotic Resistance Patterns of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase- and AmpC  $\beta$ -Lactamase-Producing Gram-Negative Bacteria in a Referral Hospital, Saudi Arabia. Hindawi Publishing Corporation: *The Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology* [online]. 2019, vol. 2019 [cit. 2021-04-14]. ISSN 1712-9532. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2019/6054694>

JIN, M. et al. Development of a large-scale HPLC-based purification for the urease from *Staphylococcus leei* and determination of subunit structure. *Protein Expression and Purification* [online]. 2004, vol. 34 (1), s. 111–117 [cit. 2021-04-21]. ISSN 1046-5928. Dostupné z: doi:10.1016/j.pep.2003.10.012

KADARIYA, J. et al. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Food-Borne Disease: An Ongoing Challenge in Public Health. Hindawi Publishing Corporation: *BioMed Research International Volume* [online]. 2014, vol. 2014, s. 1-9 [cit. 2021-04-14]. ISSN 2314-6133. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2014/827965>

KHAN, H. A. et al. Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* [online]. 2017, vol. 7 (5), s. 478-482 [cit. 2021-02-28]. ISSN 2221-1691. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.01.019>

KHAN, Z. A., SIDDIQUI, M. F., PARK S. Current and Emerging Methods of Antibiotic Susceptibility Testing. MDPI: *Diagnostics* [online]. 2019, vol. 9 (2), s. 1-17 [cit. 2021-04-27]. ISSN 2075-4418. Dostupné z: doi: 10.3390/diagnostics9020049

KOPRIVNJAK, T. et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* cardiolipin synthases 1 and 2 and their Contribution to accumulation of cardiolipin in stationary phase and within phagocytes. American Society for Microbiology: *Journal of Bacteriology* [online]. 2011, vol. 193 (16), s. 4134-4142 [cit. 2021-04-14]. ISSN 1098-5530. Dostupné z: <https://doi.org/10.1128/JB.00288-11>

LE LOIR, Y., BARON, F., GAUTIER, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research* [online]. 2003, vol. 2 (1), s. 63-76 [cit. 2021-03-14]. ISSN 1676-5680. Dostupné z: [doi:10.1128/JB.01524-10](https://doi.org/10.1128/JB.01524-10)

LEVY, S., MARSHALL, B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nature Medicine* [online]. 2004, vol. 10, s. 122-129 [cit. 2021-02-28]. ISSN 1546-170X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nm1145>

LOWY, F. D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. American Society for Clinical Investigation: *The Journal of clinical investigation* [online]. 2003, vol. 111 (9), s. 1265–1273 [cit. 2021-04-27]. ISSN 0021-9738. Dostupné z: [doi:10.1172/JCI200318535](https://doi.org/10.1172/JCI200318535)

MÁRTONOVÁ, M. et al. Antibiotic resistance of staphylococci from hares, pheasants and poultry products in East Slovakia and North-East Austria. *Journal of Food and Nutrition Research* [online]. 2008, vol. 47, s. 163-169 [cit. 2021-01-01]. ISSN 1338-4260. Dostupné z: <https://www.vup.sk/en/index.php?mainID=2&navID=34&version=2&volume=47&article=886>

MISSIAKAS, D. M., SCHNEEWIND, O. Growth and Laboratory Maintenance of *Staphylococcus aureus*. *Current protocols in microbiology* [online]. 2013, kap. 9: 9C.1 [cit. 2021-04-27]. ISSN 1934-8533. Dostupné z: [doi:10.1002/9780471729259.mc09c01s28](https://doi.org/10.1002/9780471729259.mc09c01s28)

NASSAR, M. S. M., HAZZAH, W. A., BAKR, W. M. K. Evaluation of antibiotic susceptibility test results: how guilty a laboratory could be? *Journal of the Egyptian Public Health Association* [online]. 2019, vol. 94 (4), s. 1-5 [cit. 2021-04-02]. ISSN 2090-262X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s42506-018-0006-1>

ODONKOR, S. T., ADDO, K. K. Bacteria Resistance to Antibiotics: Recent Trends and Challenges. *International Journal of Biological & Medical Research* [online]. 2011, vol. 2 (4), s. 1204-1210 [cit. 2021-02-23]. ISSN 0976:6685. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/256734983\\_Bacteria\\_Resistance\\_to\\_Antibiotics\\_Recent\\_Trends\\_and\\_Challenges](https://www.researchgate.net/publication/256734983_Bacteria_Resistance_to_Antibiotics_Recent_Trends_and_Challenges)

ONYANGO, L. A., ALRESHIDI, M. M. Adaptive Metabolism in Staphylococci: Survival and Persistence in Environmental and Clinical Settings. Hindawi Publishing Corporation: *Journal of Pathogens* [online]. 2018, vol. 2018, s. 1-11 [cit. 2021-02-28]. ISSN 2090-3057. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2018/1092632>

PANDEY, N., CASCELLA, M. Beta Lactam Antibiotics. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing [online]. 2021, [cit. 2021-02-28]. PMID: 31424895. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545311/>

PFALLER, M. A., HERWALDT, L. A. Laboratory, clinical, and epidemiological aspects of coagulase-negative staphylococci. American Society for Microbiology Journals: *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 1988, vol. 1, s. 281-299 [cit. 2021-05-18]. ISSN 0893-8512. Dostupné z: doi: 10.1128/CMR.1.3.281

ROSARIO, J. et al. Development of a large-scale HPLC-based purification for the urease from *Staphylococcus leei* and determination of subunit structure. *Protein Expression and Purification* [online]. 2004, vol. 34 (1), s. 111-117 [cit. 2021-03-14]. ISSN 1046-5928. Dostupné z: [doi:10.1016/j.pep.2003.10.012](https://doi.org/10.1016/j.pep.2003.10.012)

RUBAB, M. et al. Biosensors for rapid and sensitive detection of *Staphylococcus aureus* in food. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2018, vol. 105, s. 49-57 [cit. 2021-05-18]. ISSN 0956-5663. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.01.023>.

SANTOS, G. A. C. et al. *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in drinking water fountains in urban parks. *Journal of Water and Health* [online]. 2020, vol. 18 (5), s. 654-664 [cit. 2021-04-15]. ISSN 1477-8920. Dostupné z: doi: 10.2166/wh.2020.042

SUZUKI, H. et al. Comparative genomic analysis of the genus *Staphylococcus* including *Staphylococcus aureus* and its newly described sister species *Staphylococcus simiae*. *BMC Genomics* [online]. 2012, vol. 13 (38), [cit. 2021-04-15]. ISSN 1471-2164. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-38>

TENDENCIA, E. A. 2004. Laboratory manual of standardized methods for antimicrobial sensitivity tests for bacteria isolated from aquatic animals and environment. Tigbauan, Iloilo, Philippines: Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center, 2004. Kap. Disk diffusion method, s. 13-29. ISBN 9718511741. Dostupné tiež z: <https://repository.seafdec.org.ph/handle/10862/1635>

VENTOLA, L. C. The Antibiotic Resistance Crisis. MediMedia USA, Inc: *P&T: a peer-reviewed journal for formulary management* [online]. 2015, vol. 40 (4), s. 277-283 [cit. 2021-02-28]. ISSN 1052-1372. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25859123>

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

ZHAO, Y. et al. Advances in the detection of virulence genes of *Staphylococcus aureus* originate from food. *Food Science and Human Wellness* [online]. 2020, vol. 9 (1), s. 40-44 [cit. 2021-05-18]. ISSN 2213-4530. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.12.004>.

ZHOU, J. et al. CRISPR-Cas13a based bacterial detection platform: Sensing pathogen *Staphylococcus aureus* in food samples. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2020, vol. 1127, s. 225-233 [cit. 2021-05-18]. ISSN 0003-2670. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.06.041>.

ZOTCHEV, S. B. Polyene macrolide antibiotics and their applications in human therapy. Bentham Science Publisher: *Current Medical Chemistry* [online]. 2003, vol. 10 (3), s. 211-223 [cit. 2021-04-14]. ISSN 1875-533X. Dostupné z: doi: 10.2174/09298670333368448

**ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK**

BP	Baird-Parker agar
FCM	Prietoková cytometria
IMS	Metóda imunomagnetickej separácie
LAMP	Smyčkovú sprostredkovaná izotermická amplifikácia
MHB	Minimálna baktericídna koncentrácia
MIC	Minimálna inhibičná koncentrácia
MPN	Metóda stanovenia najpravdepodobnejšieho počtu
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> rezistentný k methicilínu
MSA	Manitol salt agar
MSSA	<i>Staphylococcus aureus</i> citlivý k methicilínu
NSSL	<i>National Committee for Clinical Laboratory Standards</i>
PCR	Polymerázová reťazová reakcia
PFGE	Gélová elektroforéza s pulzným poľom
RT-PCR	Reverzná transkripčná polymerázová reťazová reakcie
TSA	Sójový agar s tryptónom

