

Možnosti přenosu antibiotické rezistence grampozitivních koků izolovaných z drůbeže

Soňa Šimčíková

Bakalářská práce
2023



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Soňa Šimčíková
Osobní číslo: T20559
Studijní program: B0721A210002 Technologie a hodnocení potravin
Specializace: Potravinářské biotechnologie a aplikovaná mikrobiologie
Forma studia: Kombinovaná
Téma práce: Možnosti přenosu antibiotické rezistence u grampozitivních koků izolovaných z drů-
beže

Zásady pro vypracování

Zpracujte literární rešerši na zadané téma zahrnující následující body:

1. Současný stav rezistence na antibiotika u bakterií.
2. Vznik a mechanismy přenosu antibiotické rezistence u grampozitivních bakterií.
3. Metody průkazu antibiotické rezistence.
4. Formulace závěru.

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

Seznam doporučené literatury:

Seznam doporučené literatury:

- [1] Mayers, D.L.; Sobel, J.D.; Ouellette, M.; Kaye, K.S.; Marchaim, D. Antimicrobial Drug Resistance: Mechanisms of Drug Resistance, Volume 1. 2nd ed. Cham, Switzerland: Springer International Publishing, 2017, 745 p. ISBN 978-3-319-46718-4.
- [2] Walsh, C.; Wencewicz, T. Antibiotics: Challenges, Mechanisms, Opportunities. Washington, DC: ASM Press, 2017, 477 p. ISBN 978-1-555-81930-9.
- [3] Koller, K.-P. Antibiotics: Targets, Mechanisms and Resistance. Edited by Claudio O. Gualerzi, Letizia Brandi, Attilio Fabbretti, and Cynthia L. Pon. Weinheim: Wiley-VCH, 2014, 576 p. ISBN: 978-3-527-65971-5.
- [4] Vědecké zdroje zahrnuté v databázích ScienceDirect, Web of Science, Scopus, SciFinder Scholar aj.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Khatantuul Purevdorj, Ph.D.**
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce: **31. prosince 2022**

Termín odevzdání bakalářské práce: **19. května 2023**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

prof. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 17. února 2023

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

Bakalářská práce pojednává o antibiotické rezistenci bakterií izolovaných z drůbežího masa. Nejprve je popsána historie antibiotik, jejich dělení a mechanismy účinku jednotlivých antibiotik. Dále se práce zabývá antibiotickou rezistencí, možností jejího vzniku a mechanismy šíření rezistentních bakterií v procesu od „od farmy po vidličku“ se zaměřením na drůbežářský průmysl. Rovněž jsou v práci zmíněny konkrétní studie zabývající se izolací grampozitivních koků z kuřecího masa a metody průkazu antibiotické rezistence.

Klíčová slova: antibiotikum, antibiotická rezistence, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, drůbež

ABSTRACT

This thesis discusses the antibiotic resistance of bacteria isolated from poultry meat. First, the history of antibiotics, their division and the mechanisms of action of individual antibiotics are described. Furthermore, the thesis deals with antibiotic resistance, the possibilities of its occurrence and the mechanisms of the spread of resistant bacteria in the process from "farm to fork" with a focus on the poultry industry. The thesis also mentions specific studies dealing with the isolation of gram-positive cocci from chicken meat and methods of demonstrating antibiotic resistance.

Keywords: antibiotics, antibiotic resistance, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, poultry

Děkuji Ing. Khatantuul Purevdorj, Ph.D., za odborné vedení práce, poskytování rad a materiálních podkladů.

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

OBSAH

ÚVOD.....	9
1 HISTORIE ANTIBIOTIK.....	10
2 ANTIBIOTIKA	13
2.2 DĚLENÍ ANTIBIOTIK PODLE CHEMICKÉ STRUKTURY	14
2.2.1 Peniciliny.....	15
2.2.2 Cefalosporiny	16
2.2.3 Monobaktamy	18
2.2.4 Karbapenemy	18
2.2.5 Inhibitory beta-laktamáz	18
2.2.6 Glykopeptidy	19
2.2.7 Aminoglykosidy	19
2.2.8 Tetracykliny	20
2.2.9 Sulfonamidy	20
2.2.10 Chinolony a fluorochinolony	21
2.3 DĚLENÍ ANTIBIOTIK PODLE MECHANISMU ÚČINKU	22
2.3.1 Antibiotika inhibující syntézu buněčné stěny bakterií	22
2.3.2 Antibiotika poškozující buněčnou membránu bakterií	23
2.3.3 Inhibice syntézy bílkovin	24
2.3.4 Antibiotika inhibující činnost nukleových kyselin	24
2.3.5 Antibiotika inhibující syntézu kyseliny listové.....	25
2.4 UPLATNĚNÍ ANTIBIOTIK	26
3 ANTIBIOTICKÁ REZISTENCE.....	27
3.1 ZPŮSOBY PŘENOSU GENŮ MEZI BAKTERIEMI	29
3.1.1 Konjugace	30
3.1.2 Transformace.....	31
3.1.3 Transdukce	31
3.2 MECHANISMY ANTIBIOTICKÉ REZISTENCE.....	32
3.2.1 Enzymatická inaktivace	32
3.2.2 Změna permeability buněčné stěny.....	33
3.2.3 Modifikace cílové molekuly	33
3.2.4 Efluxní pumpy.....	33
3.3 MECHANISMY REZISTENCE VYBRANÝCH GRAMPOZITIVNÍCH KOKŮ.....	34
3.3.1 Mechanismy rezistence bakterie <i>Staphylococcus aureus</i>	34
3.3.2 Mechanismy rezistence bakterie <i>Enterococcus spp.</i>	36
4 PROBLEMATIKA DRŮBEŽÍHO MASA A REZISTENTNÍCH BAKTERIÍ.....	38
4.1 <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> V DRŮBEŽÍM MASE.....	39
4.2 <i>ENTEROCOCCUS SPP.</i> V DRŮBEŽÍM MASE.....	39
5 KOLOBĚH ŠÍŘENÍ REZISTENTNÍCH BAKTERIÍ	43

5.1.1	Možnosti šíření rezistentních bakterií mezi drůbeží farmou a životním prostředím	43
5.1.2	Možnosti šíření rezistentních bakterií v potravinářství.....	44
5.1.3	Možnosti přenosu rezistentních bakterií na člověka	45
5.1.4	Možnosti zamezení šíření rezistentních bakterií	45
6	METODY PRŮKAZU ANTIBIOTICKÉ REZISTENCE	47
6.1	IDENTIFIKACE GRAMPOZITIVNÍCH KOKŮ	47
6.2	DIFUZNÍ METODA	48
6.3	DILUČNÍ METODA	48
6.4	MOLEKULÁRNÍ METODY STANOVENÍ.....	49
	ZÁVĚR	51
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	52
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	59
	SEZNAM OBRÁZKŮ	61
	SEZNAM TABULEK.....	62

ÚVOD

K sepsání bakalářské práce na téma antibiotická rezistence mě vedla myšlenka aktuálnosti tématu v celosvětovém měřítku. Bakteriální rezistence nevznikla ze dne na den, ale šířila se dlouhodobě, prakticky je součástí už od dob vzniku prvních antibiotik. K rozvoji rezistence přispívá mimo jiné nevhodná a neopodstatněná aplikace antibiotik. Problematické je zejména jejich dávkování, délka podávání nebo nadměrné užívání širokospektrálních antibiotik. Bakterie rezistentní k antibiotikům se mezi lidmi, zvířaty, potravinami a prostředím šíří stejně rychle jako bakterie k antibiotikům citlivé. Tato vzájemná provázanost šíření rezistentních bakterií vyžaduje spolupráci humánní i veterinární medicíny, zemědělského a potravinářského odvětví, aby společně zajistili zodpovědné používání antibiotik a dodržování preventivních opatření, která by mohla omezit potřebu antibiotik, šíření infekcí a rezistence.

Zachování účinnosti antibiotik budoucím generacím je společnou odpovědností nás všech (Jarolímková, 2020)!

Světová zdravotnická organizace antibiotickou rezistenci považuje za velkou hrozbu pro veřejné zdraví. Bakterie rezistentní na antibiotika roku 2019 zapříčinily smrt téměř 1,3 milionu lidí. Pokud se nepodaří najít vhodné alternativy a způsoby, jak rezistenci zamezit, může počet úmrtí v roce 2050 vystoupat až na deset milionů ročně (Státní zdravotní ústav, 2022).

1 HISTORIE ANTIBIOTIK

Užívání a expozice antibiotik není omezeno pouze na nedávnou dobu, takzvanou moderní „éru antibiotik“, jak se občas mylně domníváme. Výzkumníci odhalili některé stopy antibiotik včetně tetracyklinu v lidských kosterních pozůstatcích ze starověké súdánské Núbie z let 350–550 našeho letopočtu. Přítomnost tetracyklinu v kostech si vědci vysvětlují tak, že byl tetracyklin přijat stravou těchto starověkých lidí. Další expozice starodávných antibiotik byla odhalena při histologické studii vzorků odebraných z kostí ve stehenní oblasti, tyto kosti pocházely z pozdního římského období z Egypta. Předpokládá se, že příjem tetracyklinu u obou zmíněných populací měl ochranný účinek, protože míra infekčních nemocí zdokumentovaná v populaci súdánské Núbie byla nízká a ve vzorcích kostí z Egypta nebyly zjištěny žádné stopy infekce (Aminov, 2010; Aghamohammad a Rohani, 2023).

Antimikrobiální medikamenty se užívaly i v tradiční čínské medicíně, zejména lék Artemisin, získaný z čínské byliny čingchao (*Artemisia annua*). Tento lék se řadí mezi nejučinnější antimalarika. Čínští bylinkáři účinků rostlin *Artemisia* užívali po tisíce let jako lék na řadu nemocí. Zdá se, že antimikrobiální aktivita je přítomna v řadě rostlin používaných v tradiční čínské medicíně a objev jejich aktivních složek může obohatit antimikrobiální látky užívané v běžné medicíně (Aminov, 2010; Bendová, 2017).

Raná éra antibiotik a jejich objevy se datuje do roku 1893, kdy italský mikrobiolog Bartolomeo Gosio objevil kyselinu mykofenolovou, která inhibovala růst bakterie *Bacillus anthracis*. Paul Ehrlich se snažil objevit přípravek, který by se zaměřil pouze na mikroby způsobující onemocnění, nikoliv na samotného hostitele. Jeho myšlenka byla založena na pozorování, že anilin a další syntetická barviva v té době dostupná, mohou obarvit pouze konkrétní mikroby a jiné ne. Roku 1909 Ehrlich a jeho spolupracovníci objevili první syntetické antibiotikum odvozené od arsenu účinné proti původci syfilis, tj. *Treponema pallidum*. I přes dlouhou léčbu spojenou se spoustou nežádoucích vedlejších účinků se tento lék nazývaný Salvarsan (arsfenamin) stal prvním moderním antibakteriálním lékem (Aminov, 2010; Uddin et al., 2021; Aghamohammad a Rohani, 2023).

Poznatků a obdobné strategie využil německý bakteriolog Gerhard Domagk, který v roce 1930 objevil mnohem účinnější sulfonamidové léky, konkrétně Prontosil, jenž byl primárně používán při léčbě zraněných vojáků během 1. světové války. Prontosil měl

bakteriostatické účinky proti různým skupinám bakterií, kdy inhiboval syntézu nukleových kyselin. Protože se bakterie postupně staly účinkům sulfonamidových antibiotik rezistentní, byly nahrazeny peniciliny (Aminov, 2010; Uddin et al., 2021).

Roku 1928 skotský bakteriolog Alexandr Fleming neúmyslně objevil, že plíseň *Penicillium notatum* inhibovala rozvoj kolonií *Staphylococcus aureus*. Domníval se, že tato houba musela vylučovat sloučeninu inhibující růst bakterie. Roku 1929 se mu podařilo izolovat aktivní molekulu, kterou pojmenoval penicilin. V průběhu zkoumání účinků penicilinu vyzoroval, že neovlivňuje zárodky břišního tyfu nebo kapavky, na které hledal lék. Pokusy léčit infekce pacientů penicilinem byly neúspěšné, lék byl nestabilní a neúčinný. Až roku 1940 se skupině vědců, kteří vycházeli z objevu Alexandra Fleminga, podařilo objasnit strukturu penicilinu G, vyčistili ho a zvýšili jeho produkci. Nástup penicilinu v léčbě roku 1945 byl velkým průlomem ve vývoji a rozšiřování antibiotik. Struktura penicilinu byla objasněna krystalografickou analýzou, což umožnilo, aby byl klasifikován jako první člen beta-laktamových antibiotik (Uddin et al., 2021).

Roku 1939 francouzský mikrobiolog René Dubos izoloval z půdní bakterie *Bacillus brevis* tyrotricin (směs gramicidinu D a tyrocidinu), která účinně inhibovala růst gram pozitivních bakterií. Ve 40. letech minulého století Selman Waksman provedl systematickou studii antimikrobiálního chování půdních bakterií, zejména *Streptomyces* spp. Pomocí své studie objevil mnoho hlavních antibiotik a antimykotik, včetně aktinomycinu, neomycinu, streptomycinu a klavimycinu. Většina antibiotik včetně aktinomycinu, streptomycinu a neomycinu se dnes stále ještě využívá. Jeho práce odstartovala mezi 40. až 70. léty „zlaté období“ antibiotik, během kterého bylo objeveno více než 20 tříd antibiotik a stovky bakteriálních druhů a hub. Na Waksmanovu strategii navázaly farmaceutické firmy, které objevily pouze několik skupin antibiotik: nitrofurany, tetracykliny, makrolidy, chinolony a oxazolidinony. Poměrně rychlý vývoj několika typů antibiotik během krátké doby vedl k jejich nadměrnému užívání. Od 70. let 20. století klesala míra objevování nových tříd léčiv. Rostoucí problém rezistence přinutil vědce, aby se zabývali možnou modifikací stávajících léčiv, které by mohly poskytnout lepší aktivitu, menší citlivost vůči mechanismům rezistence a nižší toxicitu (Aminov, 2010; Uddin et al., 2021).

Antibiotika se v současné době vyvíjejí v malých počtech. Pouze 5 z 20 farmaceutických firem, které se v 80. letech podílely na výzkumu antibiotik, je stále aktivních. Většina farmaceutických společností nyní opustila oblast vývoje antibiotik a odpovědnost za tuto problematiku převzaly menší, začínající biotechnologické firmy.

Hlavním důvodem úpadku zájmu je antibiotická rezistence. Nedostatek porozumění, jak vyrábět antibiotika proti rezistentním bakteriím, vedl k velkým investicím do vědy, což společnostem způsobovalo finanční a regulační problémy. Podle odborníků se blížíme až k „post-antibiotické éře“. Na počátcích antibiotik existovaly také rezistentní bakterie, ale přísun experimentálních antibiotik nabízel alternativní léky, proto bylo jednodušší změnit léčbu, jakmile se rezistence ke konkrétnímu antibiotiku vyvinula (Uddin et al., 2021).

Metody diagnostiky nemocí a objevování antibiotických přípravků získaly v posledních letech zvýšené finanční prostředky. Nová antibiotika jsou vyvíjena ve spolupráci mezi univerzitami a farmaceutickými společnostmi, například New Drugs 4 Bad Bugs: ENABLE and CARB-X. Zkoumají se alternativy k antibiotikům jako jsou antimikrobiální peptidy a fágová terapie. Aplikace těchto metod mají určité nevýhody a doposud nebyly převedeny do lékařské praxe, nicméně mohou antibiotika užitečně doplňovat (Uddin et al., 2021).

2 ANTIBIOTIKA

Antibiotika se oprávněně řadí mezi nejvýznamnější třídu léčiv a jsou jedním z nejvlivnějších lékařských vynálezů dvacátého století. Jedná se o látky přirozeného nebo umělého původu, které blokují životně důležité procesy růstu a rozmnožování bakterií a zároveň pokud možno nepoškozují buňky ani tkáně hostitelského organismu. Tato velice různorodá skupina chemických látek má různé biologické účinky, jež se využívají v humánní i veterinární medicíně. Termín antibiotika pochází z řeckého *anti-* proti a *bios-* život (Spížek, 2016; Beneš, 2018; Uddin et al., 2021).

Antibiotické látky se nejčastěji vyrábějí biotechnologickým způsobem. Aerobní syntéza antibiotik probíhá ve velkých fermentorech v přítomnosti produkčních mikroorganismů v prostředí vodného roztoku. V roztoku jsou přítomny sacharidy, biogenní prvky (síra, dusík, fosfor) a nezbytné stopové prvky. Výsledkem procesu je nárůst biomasy a vlastních metabolitů s antibakteriálními vlastnostmi (Hanika, 2013).

Antibiotika přirozeného původu jsou produkována bakteriemi zejména rodu *Streptomyces*, plísněmi, řasami, lišejníky a některými vyššími rostlinami. Často jsou biotransformacemi přeměňovány na nové látky nových biologických účinků nebo se modifikují chemickou cestou (Hanika, 2013; Beneš, 2018).

Většina antibiotik, která se běžně užívá v praxi, se dělí dle rozsahu antimikrobiálního spektra. Širokospektrální antibiotika cílí proti celé řadě odlišných patogenů s různou citlivostí. Tyto antibiotika se užívají, pokud neznáme etiologické agens. Pokud původce onemocnění známe, používají se úzko-spektrální antibiotika, která jsou zaměřena pouze na daný druh bakterií. Tato antibiotika svou selektivitou nezvyšují riziko vzniku rezistence u bakterií (Beneš, 2018).

2.1 Dělení antibiotik podle intenzity účinku

Antibiotická látka může na cílovou strukturu (buňku nebo receptor) působit baktericidně nebo bakteriostaticky. Látky bakteriostatického účinku inhibují růst a další množení bakterií, příkladem jsou tetracykliny nebo sulfonamidy. Baktericidní látky jsou pro bakterie smrtící. Hranice mezi těmito účinky není vždy jednoznačná. Přípravek řazený mezi inhibiční se v daných situacích může chovat baktericidně, vše závisí především na druhu sledované bakterie a na koncentraci antibiotické látky (Martínková, 2007; Beneš, 2018).

Minimální antibiotická koncentrace (MAC) je nejnižší koncentrace antibiotické látky, která způsobuje morfologické změny nebo změny chování zkoumané bakterie. Změny v chování se mohou projevit nedostatečnou adhezí k receptorům nebo nestandardní tvorbou toxinů. Jde především o teoretický parametr, který v praxi není vyšetřován. Je to velmi pracné a obtížně standardizovatelné stanovení (Beneš, 2018).

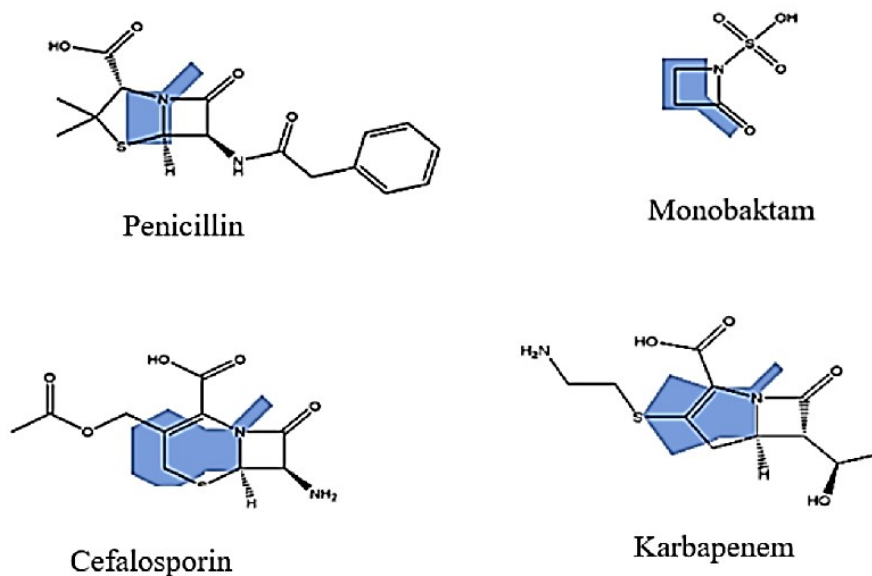
Minimální inhibiční koncentrace (MIC) je nejnižší koncentrace antibiotika, která dokáže inhibovat růst a množení sledované bakterie. Jedná se o nejčastěji využívaný ukazatel antibiotické účinnosti. Obecně platí, čím nižší hodnota MIC, tím je bakterie citlivější na antimikrobiální látku (Beneš, 2018).

Minimální baktericidní koncentrace (MCB) je nejnižší koncentrace antibiotika, která daný organismus za standardních podmínek dokáže zahubit. V praxi se stanovování parametru rutinně neprovádí, protože je pracné a zdlouhavé důsledkem dvojí kultivace (Beneš, 2018).

2.2 Dělení antibiotik podle chemické struktury

Beta-laktamy jsou skupina antibiotik přírodního nebo polosyntetického původu, která se vyznačuje přítomností beta-laktamového kruhu ve své struktuře. Představují největší rodinu antibiotik a nejrozšířenější antibiotika v klinické praxi. Jsou to látky s pomalým baktericidním účinkem vykazující malou toxicitu (Peris-Vicente et al., 2022).

Beta-laktamová antibiotika se dělí do pěti podskupin: peniciliny, cefalosporiny, monobaktamy, karbapenemy a inhibitory beta-laktamázy (Beneš, 2018). Struktury prvních čtyř zmíněných podskupin jsou znázorněny na Obrázku 1.



Obrázek 1 Struktury beta-laktamových antibiotik (Verma et al., 2022)

Mechanismus účinku beta-laktamových antibiotik spočívá v přerušení syntézy bakteriální buněčné stěny a vyvolání autolytického účinku (Peris-Vicente et al., 2022), blíže je popsáno v kapitole 3.2.1.

2.2.1 Peniciliny

První skupinou beta-laktamových antibiotik jsou peniciliny. Díky širokému spektru účinku můžeme penicilinová antibiotika rozdělit do několika skupin (viz Tabulka 1): základní peniciliny, peniciliny odolné vůči stafylokokové penicilináze (beta-laktamáza), aminopeniciliny a protipseudomonádové peniciliny (Peris-Vicente et al., 2022).

Tabulka 1 Dělení penicilinových antibiotik dle spektra účinku (Beneš, 2018).

Skupiny penicilinových antibiotik		Zástupce	Spektrum účinku
Základní peniciliny	Acidolabilní peniciliny	Benzylpenicilin (penicilin G), prokain-penicilin, benzatin-benzylpenicilin (Pendepon)	Grampozitivní koky a tyčky, anaerobní i aerobní gramnegativní koky (<i>Staphylococcus</i> sp., <i>Streptococcus</i> sp., <i>Actinomyces</i> sp.)
	Acidostabilní peniciliny	Fenoxymetylpenicilin	
Peniciliny odolné vůči stafylokokové penicilináze (beta-laktamáza)		Oxycilin, kloxacilin, methicilin	Grampozitivní koky a tyčky, anaerobní i aerobní gramnegativní koky (<i>Staphylococcus</i> sp., <i>Streptococcus</i> sp., stafylokokové betalaktamázy MRSA)
Aminopeniciliny		Ampicilin, amoxycilin	Grampozitivní mikroorganismy, enterokoky, streptokoky, některé stafylokoky, <i>Enterobacteriaceae</i>
Protipseudomonádové		Piperacilin, karbeniciliny	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Penicilinová antibiotika jsou přírodního nebo semisyntetického původu. Základní chemická struktura penicilinů je tvořena kyselinou aminopenicilanovou, složenou z beta-laktonového kruhu, který je navázaný na thiazolidinový kruh. Jednotlivé peniciliny se od sebe liší substitucemi v postranních řetězcích. Tyto změny v postranních řetězcích mohou způsobit modifikaci antibakteriální aktivity a dalších vlastností penicilinů (Peris-Vicente et al., 2022).

Základní peniciliny jsou produkovány plísní rodu *Penicillium* spp. Do kategorie základních penicilinů se řadí penicilin F, K, G a X, z nichž má největší praktický význam penicilin G neboli benzylpenicilin. Jedná se o první beta-laktam, který se klinicky využíval k léčbě streptokokových infekcí. Benzatin-penicilin a prokain-penicilin spadají do kategorie acidolabilních penicilinů, které špatně odolávají nízkému žaludečnímu pH. Existují i peniciliny acidostabilní (například fenoxymetylpenicilin), které nízkému pH žaludku odolávají. Tato třída se používá proti grampozitivním bakteriím (Bush a Bradford, 2016; Beneš, 2018; Kodeš, 2022).

Kvůli nežádoucí adaptaci bakterií rodu *Staphylococcus aureus* byla vytvořena další skupina penicilinů, které jsou rezistentní vůči penicilináze (beta-laktamáze). *Staphylococcus aureus* byl původně na penicilin citlivý, ale velice brzy po uvedení tohoto přípravku do klinické praxe si stafylokoky získaly rezistenci. Kmeny těchto bakterií produkovaly enzym beta-laktamázu, který štěpí strukturu beta-laktamů a tím se antibiotikum inaktivuje (Beneš, 2018).

Chemickou strukturu aminopenicilinů tvoří benzylpenicilin, který má k postrannímu řetězci napojenou aminoskupinu. Touto úpravou se škála účinku penicilinů rozšířila o gramnegativní bakterie, například *Salmonella*, *Escherichia coli* a další. Až následkem dalších modifikací postranního řetězce benzylpenicilinu bylo spektrum účinku rozšířeno i na další kmeny jako je *Pseudomonas aeruginosa* (Bush a Bradford, 2016; Kodeš, 2022).

2.2.2 Cefalosporiny

Druhou skupinou beta-laktamových antibiotik jsou cefalosporiny. Antibiotikum se připravuje výhradně synteticky, strukturu jádra představuje kyselina 7-aminocefalosporanová, která je tvořena beta-laktamovým kruhem připojeným k dihydrothiazinovému kruhu. Antibiotikum má pro makroorganismy nízkou toxicitu a je obecně dobře snášeno (Peris-Vicente et al., 2022; Verma et al., 2022). Na základě antibiotického rozsahu účinku proti grampozitivním a gramnegativním bakteriím

rozdělujeme tato antibiotika do čtyř generací (Peris-Vicente et al., 2022; Verma et al., 2022). Jednotlivé generace cefalosporinových antibiotik jsou uvedeny v Tabulce 2.

Tabulka 2 Dělení cefalosporinových antibiotik dle spektra účinku (Beneš, 2018).

Generace cefalosporinů	Zástupce	Spektrum účinku
Cefalosporiny I. generace	Cefalexin, cefalotin, cefapirin, cefacetril, cefadroxil, cefazolin,	Grampozitivní bakterie, streptokoky, enterokoky, stafylokoky, <i>Enterobacteriaceae</i>
Cefalosporiny II. generace	Cefamandol, cefoxitin, cefuroxim	Grampozitivní bakterie, streptokoky, enterokoky, <i>Enterobacteriaceae</i>
Cefalosporiny III. generace	Cefotaxim, cefixim, cefpodoxim, ceftazidim	Grampozitivní, gramnegativní bakterie, pseudomonády
Cefalosporiny IV. generace	Cefalonium, cefepim, cefchinom	Grampozitivní, gramnegativní bakterie, včetně pseudomonád, kromě <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Cefalosporiny I. generace působí převážně proti grampozitivním bakteriím a mají velmi malý účinek proti gramnegativním bakteriím. Proti stafylokokům působí hůře ve srovnání s protistafylokokovými peniciliny. Cefalosporiny II. generace mají obdobnou účinnost na stafylokoky a streptokoky jako Cefalosporiny I. generace, navíc ještě působí proti gramnegativním patogenním mikroorganismům a jsou stabilnější k beta-laktamázám. Cefalosporiny III. generace mají ze všech cefalosporinů nejrozšířenější účinnost na gramnegativní mikroorganismy. Přípravek Ceftazidim účinkuje i na *Pseudomonas aeruginosa*. Antibiotika jsou odolná vůči beta-laktamázám, ale bakteriální rezistence narůstá pomocí širokospektrálních beta-laktamáz, proto je nutné přípravky podávat v kombinaci s inhibitory těchto enzymů. Cefalosporiny IV. generace mají nejširší spektrum účinku. Jsou vysoce účinné při léčbě procesů způsobených grampozitivními i gramnegativními mikroorganismy, včetně pseudomonád s výjimkou *Pseudomonas*

aeruginosa. Ve veterinární medicíně se některé přípravky užívají například k léčbě infekcí respiračního či trávicího aparátu a mastitid přežvýkavců (Martínková, 2007; Beneš, 2018; Kodeš, 2022).

2.2.3 Monobaktamy

Monobaktamy jsou třetí skupinou beta-laktamů. Struktura monobaktamů je od ostatní beta-laktamových antibiotik odlišná tím, že beta-laktamový kruh není konjugován s další cyklickou strukturou. První antibiotikum této skupiny bylo získáno izolací z půdní bakterie *Chromobacterium violaceum*. Sledem úprav molekuly byl získán aztreonam, jediný monobaktam dostupný pro klinické použití. Cílí proti aerobním a fakultativním gramnegativním bakteriím. Naopak nepůsobí na grampozitivní a anaerobní bakterie (Beneš, 2018; Peris-Vicente et al., 2022; Verma et al., 2022).

2.2.4 Karbapenemy

Čtvrtou skupinou beta-laktamových antibiotik jsou karbapenemy. Tato antibiotika vykazují největší spektrum baktericidní aktivity mezi beta-laktamy. Prvním karbapenemem vyvinutým pro klinické účely je imipenem. Tento polosyntetický derivát produkuje *Streptomyces* spp. nebo *Pseudomonas aeruginosa*. Používají se proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím včetně anaerobů (Peris-Vicente et al., 2022; Verma et al., 2022).

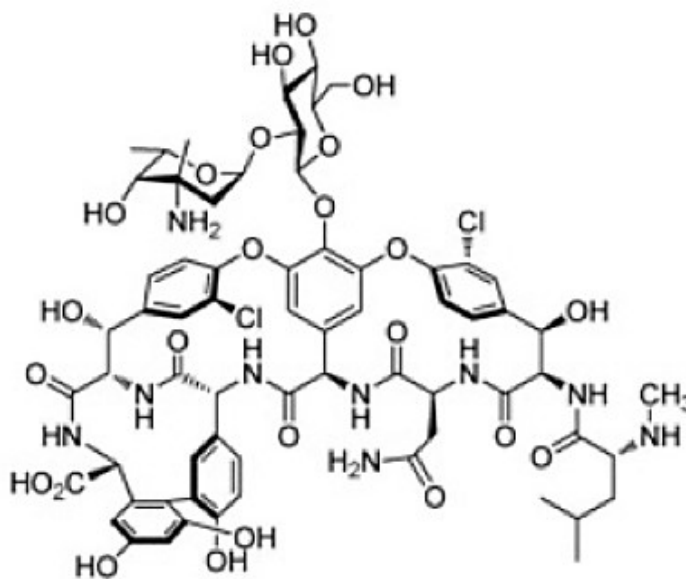
2.2.5 Inhibitory beta-laktamáz

Beta-laktamázy jsou bakteriální enzymy, které představují nejrozšířenější formu rezistence proti penicilinovým, cefalosporinovým a dalším beta-laktamovým antibiotikům. Hlavním úkolem beta-laktamáz, je štěpit molekuly beta-laktamového kruhu a tím inaktivovat antibiotikum. Některé beta-laktamázy se zaměřují pouze na štěpení substrátů penicilinů nebo cefalosporinů, jiné cílí na většinu beta-laktamových antibiotik. K potlačení rezistence způsobené beta-laktamázami se kromě vývoje nových beta-laktamových antibiotik používají inhibitory beta-laktamáz, které mohou být spárovány s antibiotiky a formulovány jako jeden produkt. Chemická struktura inhibitorů beta-laktamáz se podobá penicilinům. Úkolem inhibitorů je prodloužit užitečnost beta-laktamových antibiotik. První generace inhibitorů beta-laktamáz, které se v klinické praxi využívaly, byly beta-laktamové struktury nazývané sebevražedné inhibitory, například kyselina klavulanová. Druhá generace inhibitorů beta-laktamáz nemá strukturu beta-laktamů. Jedná se

o diazabicyklooktanony, například avibaktam a relebaktam, které působí jako reverzibilní inhibitory karbapenemáz a beta-lataamáz s rozšířeným spektrem a některých cefalosporináz (Beneš, 2018; Mojica et al., 2022).

2.2.6 Glykopeptidy

Glykopeptidy jsou antibiotika působící na stěnu bakteriální buňky. Chemickou strukturou glykopeptidových antibiotik je velký komplex molekul, který je tvořen peptidovým řetězcem ze sedmi aminokyselin, kolem kterého se vytváří cyklus sedmi aromatických kruhů, které jsou navzájem propojeny. Po obvodu molekuly jsou navázány aminocukry. Cukry se na antibiotické aktivitě přímo nepodílejí, jsou zodpovědné za farmakokinetiku (pohyb léčiva v organismu). Aromatický kruh ve struktuře umožňuje tvorbu dvou až tříkruhových struktur. Glykopeptidy působí proti grampozitivním bakteriím, zejména proti stafylokokům a enterokokům. Mezi zástupce této skupiny antibiotik řadíme vankomycin, jehož struktura je uvedena na Obrázku 2. Dalším zástupcem je teikoplanin. Součástí molekuly teikoplaninu je navíc ještě postranní řetězec, který zvyšuje lipofilní vlastnosti celé molekuly. Oproti vankomycinu má přibližně dvojnásobnou účinnost proti stafylokokům a enterokokům (Beneš, 2018; Peris-Vicente et al., 2022; Verma et al., 2022).



Obrázek 2 Struktura vankomycinu (Peris-Vicente et al., 2022)

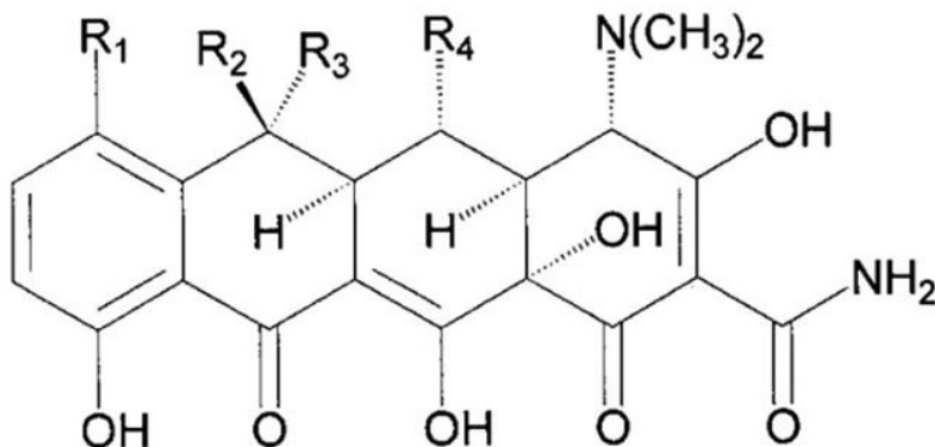
2.2.7 Aminoglykosidy

Aminoglykosidy patří k jedněm z nejstarších antibiotik. Chemická struktura aminoglykosidových antibiotik je tvořena cyklickým aminopolyalkoholem, ke kterému

jsou navázány dva nebo více aminocukrů spojených glykosidickou vazbou. Podle aminocukrů ve struktuře se pak aminoglykosidy rozlišují. Mechanismus účinku spočívá v nevratném navázání na ribozomální podjednotku, čímž zablokuje proteosyntézu. Podrobnější princip mechanismu je popsán v kapitole 3.3.3. Tato antibiotika mají široké spektrum účinku, cílí na grampozitivní i gramnegativní mikroorganismy. Do této kategorie antibiotik patří streptomycin, neomycin, kanamycin nebo gentamycin (Beneš, 2018; Kodeš, 2022; Peris-Vicente et al., 2022).

2.2.8 Tetracykliny

Tetracyklin je širokospektrální antibiotikum, konkrétně semisyntetický derivát chlortetracyklinu izolovaný z bakterie *Streptomyces*. Má baktericidní účinky proti rozmanitému spektru aerobních, anaerobních grampozitivních i gramnegativních bakterií. Používá se i ve veterinární medicíně. Vyznačují se nízkou primární toxicitou, ale vykazují řadu nežádoucích účinků. Do této skupiny antibiotik řadíme doxycyklin, chlortetracyklin a oxytetracyklin (Beneš, 2018; Kodeš, 2022). Struktura tetracyklinu je uvedena na Obrázku 3



Obrázek 3 Struktura tetracyklinu (Peris-Vicente et al., 2022)

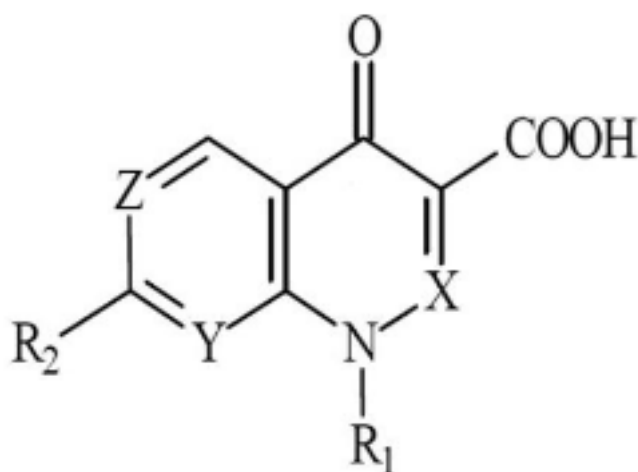
2.2.9 Sulfonamidy

Sulfonamidová antibiotika jsou bakteriostatického účinku. Tyto antibiotika brání syntéze kyseliny listové díky strukturální podobnosti s kyselinou para-aminobenzoovou, která je výchozím substrátem pro tuto syntézu. Spektrum antibakteriálního účinku je široké, působí proti grampozitivním a některým gramnegativním bakteriím. Vzhledem k tomu, že je

kyselina listová esenciální pro všechny organismy, mohou sulfonamidy ovlivňovat jednobuněčné řasy, rostliny, bezobratlé i ryby. Ve velké míře se využívají ve veterinární medicíně, méně často v humánní praxi. Sulfonamidy mají pomalý účinek a častý výskyt rezistencí, které u bakterií vznikají nejčastěji mutací enzymu, na který sulfonamidy cílí během inhibice syntézy kyseliny listové (Beneš, 2018; Kodeš, 2022).

2.2.10 Chinolony a fluorochinolony

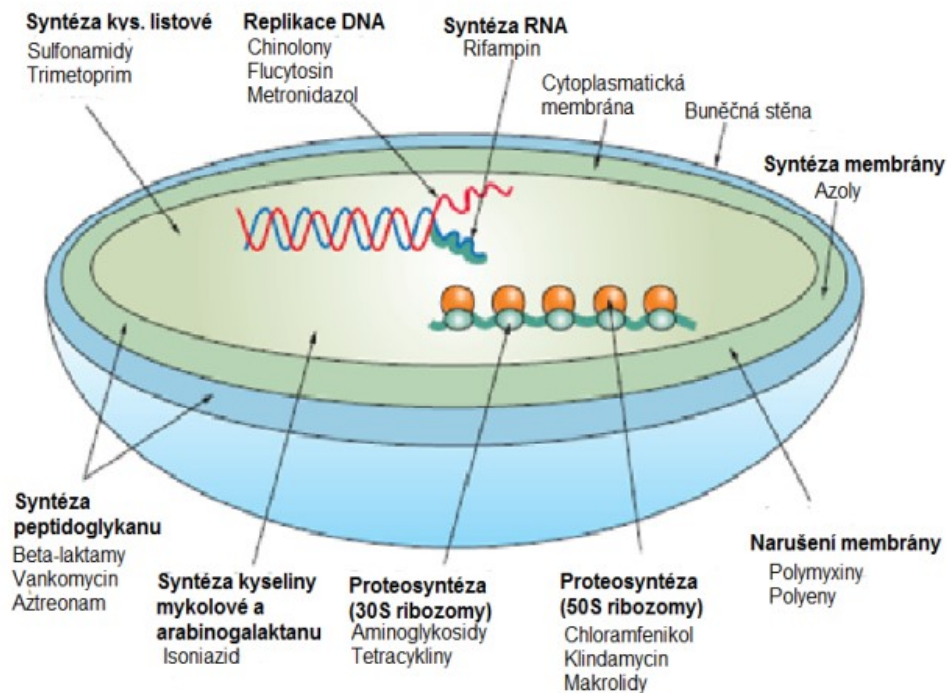
Chinolony jsou širokospektrální a syntetická antibiotika, jež se využívají též při léčbě hospodářských zvířat a v akvakultuře. Struktura chinolonu je uvedena na Obrázku 4. Chinolony nejsou produkovány mikroorganismy, jejich chemická struktura je odvozena od kyseliny 4-chinolon-3-karboxylové. Antibiotika se dělí na nefluorované a fluorované. Nefluorované chinolony tvoří I. generaci těchto přípravků. Řadí se sem kyselina pipemidová a oxolinová, které cílí primárně na *Enterobacteriaceae*. Mají poměrně nízkou účinnost, proto se musí podávat ve vyšších dávkách. Mnohem účinnější jsou fluorované chinolony II. a III. generace. Chinolony II. generace ve své struktuře obsahují atom fluoru a vykazují mnohem vyšší aktivitu na gramnegativní bakterie. Chinolony III. generace účinkují i proti grampozitivním bakteriím, hlavně streptokokům a pneumokokům. Fluorochinolonové přípravky jsou baktericidních účinků. Užívají se k léčbě infekcí močových cest (Beneš, 2018; Kodeš, 2022; Peris-Vicente et al., 2022).



Obrázek 4 Struktura chinolonu (Peris-Vicente et al., 2022)

2.3 Dělení antibiotik podle mechanismu účinku

Antibiotika rozdělujeme podle místa a způsobu, jak působí na bakteriální buňku (viz Obrázek 5). Děje, které vychází z mechanismů účinku, probíhají uvnitř bakterie na molekulární úrovni. Antibiotikum nejčastěji působí na buněčnou stěnu, cytoplazmatickou membránu, nukleové kyseliny a ribozomy (Beneš, 2018)



Obrázek 5 Místa účinku antibiotik (Gajdošová, 2015)

2.3.1 Antibiotika inhibující syntézu buněčné stěny bakterií

Buněčná stěna bakterií je tvořena zesíťovaným peptidoglykanem. Inhibováním syntézy peptidoglykanu dochází k destrukci buněčné stěny grampozitivních bakterií. Peptidoglykan je tvořen dlouhými řetězci polysacharidů, které vznikají opakováním molekul kyseliny N-acetylmuramové a N-acetylglukosaminu. V cytoplazmě bakteriální buňky jsou na karboxylovou skupinu kyseliny N-acetylmuramové navázány postranní řetězce tvořené nejprve třemi a poté pěti aminokyselinami. Kyselina N-acetylmuramová se s připojeným peptidovým řetězcem se naváže na N-acetylglukosamin a vznikne základní struktura budoucího peptidoglykanu, která je poté transportována přes buněčnou membránu. Na vnějším povrchu membrány bakterií působí bakteriální enzymy PBPs (penicilin vazebné proteiny), které nejprve spojí molekuly N-acetylglukosaminu a N-acetylmuramové kyseliny glykosidickou vazbou do jednoho dlouhého

polysacharidového vlákna a poté vytvoří příčné vazby mezi jednotlivými vlákny propojením peptidových řetězců (transpeptidázová aktivita). Tímto způsobem vznikne pravidelná mřížka. Další enzymy poté dodatečně regulují a kontrolují hustotu sítě a dle potřeby zvyšují či snižují počet příčných. Beta-laktamová antibiotika reagují s transpeptidázami, vstupují do jejich aktivního místa a zablokují funkci enzymu. Buněčná stěna je postupně tak oslabena, že může být narušena i intracelulárním osmotickým tlakem. Aby mohly beta-laktamy působit, musí se bakterie nacházet ve fázi množení, protože pouze tehdy dochází k syntéze buněčné stěny (Beneš, 2018; Peris-Vicente et al., 2022).

Glykopeptidy blokuji buněčnou syntézu tím, že se při syntéze buněčné stěny navážou na volné konce peptidových řetězců a zabraňují jejich propojení. Bez souvislé vrstvy peptidoglykanu bakteriální buňka zahyne, ať už dojde k lýzi membrány vlivem přetlaku uvnitř buňky nebo se aktivují apoptotické mechanismy (Beneš, 2018; Uddin et al., 2021; Peris-Vicente et al., 2022).

Mezi inhibitory syntézy buněčné stěny se řadí beta-laktamová antibiotika (peniciliny, cefalosporiny, monobaktamy, karbapenemy) a glykopeptidy (Beneš, 2018).

2.3.2 Antibiotika poškozující buněčnou membránu bakterií

Jedná se o malou třídu antibiotik lipofilního charakteru, které způsobují lyzi buněčné membrány bakterií. Jedná se o semipermeabilní fosfolipidovou dvojrivrstvu s asymetricky vmezeřenými proteiny. Cytoplazmatická membrána bakterií neplní jen funkci zábrany úniku rozličných organických molekul, enzymů, iontů a dalších látek obsažených v buňce, ale je také sídlem dýchacích enzymů, enzymů syntézy a hydrolýzy fosfolipidů a systému oxidační fosforylace. V membráně jsou přítomny i bílkovinné přenašeče důležité pro transport látek do buňky a z buňky ven (Šilhánková, 2002; Bursová, Necedová a Dušková, 2014; Beneš, 2018; Uddin et al., 2021).

Antibiotické přípravky mohou integritu membrány bakterií poškodit mnoha způsoby, které jsou často kombinovány. Mechanismus účinku obecně spočívá v navázání antibiotické látky na cytoplazmatickou membránu, čímž dojde ke zvýšení permeability membrány a k nekoordinovanému vyplavení cytoplazmy z vnitřního prostředí buňky, což vede k buněčné smrti (Beneš, 2018; Kodeš, 2022).

Mezi antibiotika, která poškozují buněčnou membránu, se řadí cyklické lipopeptidy, peptidová antibiotika a aminoglykosidy (Beneš, 2018).

2.3.3 Inhibice syntézy bílkovin

V bakteriální buňce se může v závislosti na podmínkách růstu vyskytovat 15000–30000 ribozomů. Oproti eukaryotickým ribozomům jsou bakteriální ribozomy mnohem menší a jsou složeny ze dvou podjednotek 30S a 50S, obě podjednotky se spojují ve funkční jednotku 70S. Na podjednotce 30S probíhá čtení informace z vlákna mediátrové RNA (mRNA). Ribozom se přitom posouvá po mRNA a ke každé trojici bází tzv. kodonu, připojuje odpovídající transferovou RNA (tRNA). Transferová RNA má na jednom konci trojici bází, která je komplementární ke kodonu, tzv. antikodon. Na opačném konci nese tRNA aminokyselinu. Podjednotka 50S spojuje aminokyseliny, které jsou nesený jednotlivými tRNA, do jednoho peptidového řetězce (Bursová, Necidová a Dušková, 2014; Beneš, 2018; Mojica et al., 2022).

Antibiotika mohou činnosti bakteriálních ribozomů zabraňovat mnoha způsoby. Aminoglykosidy se nenávratně navážou na ribozomální podjednotku 30S, čímž naruší správné čtení genetického kódu a zablokují syntézu proteinů. Tetracyklinová antibiotika pronikají do bakteriální buněčné membrány prostřednictvím porinových kanálků a reverzibilně se vážou na ribozomální podjednotku 30S. Syntéza proteinů je inhibována blokováním vazby tRNA, které se váže na komplex mRNA. Makrolidy a streptogramin B z ribozomu uvolňují tRNA s navázaným peptidovým řetězcem ještě dříve, než je čtení z vlákna mRNA dokončeno. Výsledkem jsou neúplné a nefunkční bílkoviny (Uddin et al., 2021; Peris-Vicente et al., 2022).

2.3.4 Antibiotika inhibující činnost nukleových kyselin

Nukleové kyseliny mají v prokaryotických i eukaryotických buňkách za úkol uchovávat a přenášet genetickou informaci. Genetický materiál bakteriální buňky je tvořen jediným chromozomem, který je tvořen deoxyribonukleovou kyselinou (DNA) (Beneš, 2018).

DNA je uvnitř buňky sbalená do supersroubovice, kdy při takto těsném svinutí není možné provádět replikaci ani transkripci genetické informace. Enzym topoizomeráza katalyzuje rozbalování a sbalování řetězců DNA do nadšroubovicové struktury. Topoizomeráza I. třídy dokáže rozštěpit pouze jedno vlákno DNA. Konec uvolněného vlákna otočí okolo neporušeného řetězce a poté oba konce zase spojí do celistvé podoby. Topoizomeráza II. třídy dokáže rozštěpit obě vlákna dvoušroubovice současně. Topoizomeráza II. bývá nazývána také jako DNA-gyráza. Kromě štěpení vláken dokáže otočit vzniklý konec molekuly DNA o jednu otáčku, opakovaným otáčením dochází k postupnému sbalování

DNA. Kdyby topoizomeráza II neumožňovala sbalení DNA, tak by se tato velká molekula do bakteriální buňky nevtěsnila (Beneš, 2018).

Po rozštěpení DNA se antibiotická látka včlení do prostoru mezi DNA a aktivním místem topoizomerázy, naváže se na DNA a zablokuje činnost enzymu, který se postupně rozpadne. Jelikož sbalování a rozbalování DNA probíhá ve stejném okamžiku na více místech, dojde ke značnému poškození struktury dvoušroubovice, což vede k buněčné smrti. Pokud bakteriální buňka včas aktivuje opravné enzymy, může poškozenou DNA znovu spojit. Bakteriální buňka tedy může přežít, ale hrozí riziko mutací (Bursová, Necidová a Dušková, 2014; Beneš, 2018).

Ribonukleová kyselina má oproti deoxyribonukleové kyselině mnohem univerzálnější využití. Podle jednoho řetězce DNA se na principu komplementárního párování bází syntetizují molekuly RNA, konkrétně mediátorová, transferová a ribozomální, které jsou nezbytné pro proteosyntézu. Syntéza RNA podle jednoho řetězce DNA se nazývá transkripce. Inhibitory RNA-polymerázy se navážou na dvoušroubovici a zabraňují enzymům přepisovat informaci z DNA do mRNA a zablokují proces proteosyntézy. Jelikož se v buňce nezávisle na sobě přepisuje několik genů, dochází k poškození na více místech najednou (Bursová, Necidová a Dušková, 2014; Beneš, 2018).

Mechanismus, který inhibuje syntézu nukleových kyselin při replikaci nebo transkripci, nerozlišuje eukaryotickou buňku od bakteriální buňky. Proto je většina těchto antibiotik vysoce toxická. Mezi antibiotika se řadí fluorochilony, novobiocin, rafimycin a další (Beneš, 2018; Kodeš, 2022).

2.3.5 Antibiotika inhibující syntézu kyseliny listové

Savecům chybí potřebný genetický aparát na tvorbu kyseliny dihydrolistové, proto ji musí získávat potravou ve formě kyseliny listové, kterou si dokáží přeměnit na dihydrolistovou nebo tetrahydrolistovou. Kyselina tetrahydrolistová slouží jako koenzym, má význam při syntéze nukleotidů, biosyntéze či biodegradaci aminokyselin (Stone a Darlington, 2003; Beneš, 2018).

Bakterie si umí kyselinu tetrahydrolistovou vytvořit sloučením dusíkaté látky pterin a kyseliny para-aminobenzoové za přítomnosti enzymů. Chemická struktura sulfonamidů je analogem kyseliny para-aminobenzoové. Antibiotikum pronikne do aktivního centra enzymu a brání mu v tvorbě kyseliny listové. Pokud bakteriální buňka nemá dostatek

kyseliny tetrahydroxylistové, dochází k zastavení množení buňky (Stone a Darlington, 2003; Beneš, 2018).

Antimikrobiální látky, které tento princip využívají, jsou sulfonamidy, trimetoprim a klotrimazol (Beneš, 2018).

2.4 Uplatnění antibiotik

Antibiotika se užívají v celé řadě odvětví, například v zemědělství, humánní nebo veterinární medicíně. V zemědělství, zejména u živočišné výroby, se antibiotika dlouhodobě užívala (v některých zemích stále ještě užívá) jako plošná prevence infekcí ve velkochovech nebo ke zvýšení produkce masa (Růžičková, 2020).

V České republice jsou antibiotika pro humánní účely k dostání v odůvodněných případech na předpis, již cíleně na předem identifikovaný typ patogenu. U více než poloviny zemí světa toto pravidlo neplatí a antibiotika si mohou pacienti zakoupit běžně bez předpisu. V afrických zemích podávání antibiotik prakticky není regulováno (Růžičková, 2020).

Nátlak na zamezení šíření antibiotické rezistence je vytvářen i na státy, kde jsou antibiotika na předpis, a to například z důvodu přerušování užívání antibiotik pacientem. Jakmile došlo ke zlepšení pacientova zdravotního stavu, tak nedoužíval celé balení. Tato situace vede pouze k pozastavení růstu bakterií, ale nedojde k jejich eradikaci. Dochází k selekci odolnějších bakterií, které už jsou proti léčivu rezistentní (Růžičková, 2020).

Veterinární medicína představuje z pohledu spotřeby antibiotik větší a často i mnohem méně kontrolovaný trh, než medicína humánní (Růžičková, 2020).

3 ANTIBIOTICKÁ REZISTENCE

Antibiotickou rezistencí rozumíme schopnost mikroorganismů, jako jsou bakterie odolávat antimikrobiálními látkami, vůči nimž byly dříve citlivé. Rezistence je způsobena vlivem nesprávných postupů při aplikaci antibiotik, jako je nedodržení předepsané doby léčby či dávkování, časté a nadměrné užívání a podobně. Hojně se rozšířilo používání antibiotik u hospodářských zvířat za účelem léčby i jako stimulant růstu. Pro mikroorganismy je antimikrobiální rezistence normální evoluční proces. Antibiotika na mikroorganismy vyvíjela zrychlený selektivní tlak, který urychlil tvorbu bakteriální rezistence. Rozlišujeme dva typy rezistence bakterií, vrozenou nebo získanou. Přírozená rezistence plyne z bakteriálního metabolismu a může se využívat pro jejich identifikaci nebo selektivní izolaci. Celá populace bakteriálního druhu je vždy rezistentní k danému antibiotiku, například bakterie rodu *Staphylococcus* jsou až z 90 % rezistentní vůči penicilinu, protože tvoří penicilinázu (Anonym, 2018; Beneš, 2018; Lai et al., 2022). Získaná rezistence může vzniknout důsledkem různých přenosů genů (Spížek, 1999), blíže popsáno v kapitole 3.1

Z počátku se kmeny rezistentní vůči antibiotikům objevovaly primárně v nemocnicích, kde se tehdy používala většina antibiotik. Na sulfonamidy rezistentní *Streptococcus pyogenes* byl objeven ve vojenských nemocnicích ve 30. letech 20. století. Na přelomu 50. a 60. let byla zjištěna rezistence u střevních bakterií, jmenovitě *Escherichia coli*, *Shigella* a *Salmonella*. Tyto rezistentní bakterie způsobily závažné problémy v klinické praxi a zapříčinily smrt mnoha lidí, zejména v rozvojových zemích, kde byla antimikrobiální činidla dostupná bez lékařského předpisu. Špatné hygienické podmínky a omezené finanční možnosti na zdravotní péči bránily přístupu k novým, dražším a účinnějším antibiotikům. Rezistenci, která se šířila rozvojovými zeměmi, vnímali tehdy lidé ve vyspělých zemích spíše jako kuriozitu a věnovali jí jen malou pozornost. V 70. letech ale postoj změnili, objevily se totiž na ampicilin rezistentní gramnegativní bakterie *Haemophilus influenzae* a *Neisseria gonorrhoeae*, které způsobovaly respirační a urogenitální onemocnění (Levy a Marshall, 2004; Lai et al., 2022).

V roce 1945 technologie umožnila masovou výrobu a distribuci penicilinu a následně v 50. letech se objevily první kmeny bakterie *Staphylococcus aureus* odolné vůči tomuto antibiotiku. Poté byl pro léčbu infekcí způsobených stafylokoky produkujícími penicilinázu použit methicilin, antibiotikum stabilní vůči účinkům penicilinázy. Roku 1961 byl ve Spojeném království poprvé izolován *Staphylococcus aureus* rezistentní i na methicilin (Lai et al., 2022).

Předpokládalo se, že infekce mikroorganismy rezistentními na antibiotika mají za následek vyšší morbiditu a mortalitu než infekce bakteriálními kmeny citlivými na antibiotika. Dopad rezistence bakterie *Staphylococcus aureus* na methicilin zkoumalo několik studií, které posuzovaly rozdíly v úmrtnosti pacientů s bakteriemií způsobené MSSA (*Staphylococcus aureus* citlivý na methicilin) a MRSA (methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*). Pomocí databáze MEDLINE byl proveden průzkum studií publikovaných v období od ledna 1980 do prosince 2000 zaměřených na bakteriemií *Staphylococcus aureus*. Celkově bylo porovnáváno 31 studií, které obsahovaly údaje o úmrtnosti spojené s MSSA a MRSA u 3963 pacientů. Z těchto 31 studií bylo statisticky vyhodnoceno, že 65,7 % pacientů mělo MSSA bakteriemií a 34,3 % MRSA. Sedm studií zaznamenalo významně vyšší úmrtnost spojenou s MRSA, což ukazuje, že pacienti s touto bakteriemií mají zvýšené riziko mortality ve srovnání s pacienty, kteří mají pouze bakteriemií MSSA. Mezi možné důvody, proč má bakteriemií MRSA vyšší úmrtnost, je zvýšená virulence mikroorganismu rezistentního na antibiotika a snížená účinnost vankomycinu, který se k léčbě MRSA používá. Třetím důvodem může být podávání neadekvátního antibiotika a infekce MRSA tak může být léčena nevhodně (Cosgrove, 2003).

Nedostatek alternativní léčby infekcí, které byly způsobeny rezistentními bakteriemi, má za následek delší pobyt pacientů v nemocnici, opožděné zotavení, dlouhodobou invaliditu a zvýšení nákladů za veřejnou zdravotní péči. Dle zprávy z roku 2009, kterou vydalo Evropské centrum pro prevenci a kontrolu nemocí a Evropská agentura pro léčivé přípravky, činily celkové společenské náklady přes 1,5 miliardy eur, z toho více než 900 milionů eur představovaly náklady na nemocnice. V USA v roce 2013 činily náklady na zdravotní péči spojené s antimikrobiální rezistencí přibližně 55 miliard dolarů (Maugeri, 2018).

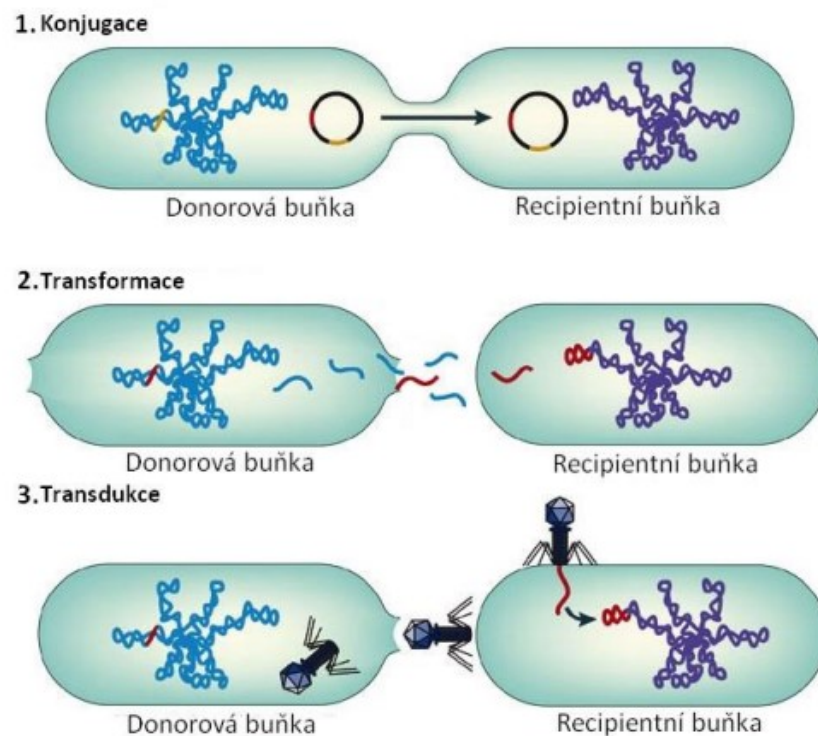
V roce 2016 Světová zdravotnická organizace zveřejnila prioritní seznam patogenů odolných vůči antibiotikům. Hlavním cílem seznamu priorit bylo upřednostnit financování a usnadnit výzkum a vývoj nových aktivních látek proti bakteriím s rezistencí vůči antibiotikům. Na seznamu jsou uvedeny gramnegativní i grampozitivní bakterie, z gramnegativních: *Acinetobacter baumannii* rezistentní na karbapenem, *Pseudomonas aeruginosa* rezistentní na karbapenem, *Enterobacteriaceae* rezistentní na třetí generaci cefalosporinů a karbapenem. Z grampozitivních bakterií jsou na seznamu uvedeny

methicilin-rezistentní, vankomycin-rezistentní *Staphylococcus aureus* a vankomycin-rezistentní *Enterococcus faecium* (Maugeri, 2018).

Aktuálně jedním z největších zdravotnických problémů je vysoký výskyt antimikrobiální rezistence. Tyto problémy negují obrovský přínos spojený s objevem penicilinu a dalších antibiotik. Pokud bychom se dostali do „post-antibiotické éry“ hrozí, že se běžné infekce stanou znovu smrtelnými, což může mít nejen pro Evropu, ale i pro ostatní státy světa katastrofální následky. V boji proti antibiotické rezistenci byl sestaven akční plán „Jedno zdraví“, který zahrnuje několik odvětví, od zemědělství a zdravotnictví, přes bezpečnost potravin a biologickou bezpečnost až po životní prostředí. Tento plán nabízí členským státům inovativní, efektivní a udržitelné informace, které se zaměřují na přiměřené používání antimikrobiálních látek pro lidi i zvířata, prevenci a tlumení infekcí a rozšíření dostupnosti nových a efektivních látek antimikrobiálních účinků. Cílem akčního plánu je zajistit, aby se v Evropské unii používaly osvědčené postupy a posílil se výzkum (Anonym, 2018).

3.1 Způsoby přenosu genů mezi bakteriemi

Přenos genetického materiálu je důležitý pro zachování genetické rozdílnosti a adaptability bakterií. Přirozená i získaná rezistence se dědí stejným způsobem jako jakákoliv jiná genetická informace. Vertikální šíření genů je založeno na přenosu genetické informace z rodiče na potomstvo, kdy se dceřiným buňkám předávají kopie plazmidů a chromozomů. Častějším způsobem získání antibiotické rezistence je horizontální přenos genů, kdy se genetický materiál šíří mezi nepříbuznými bakteriálními buňkami. Klasické cesty horizontálního přenosu jsou konjugace, transformace a transdukce (Šilhánková, 2002; Beneš, 2018; Li a Zhang, 2022). Tyto cesty horizontálního přenosu genů jsou schematicky znázorněny na Obrázku 6.



Obrázek 6 Schématické znázornění mechanismů horizontálního přenosu genů (Gajdošová, 2015)

3.1.1 Konjugace

Konjugace je proces přenosu rezistence na antibiotika z donorové bakteriální buňky do buňky recipientní přímým kontaktem buňka – buňka, prostřednictvím mobilních genetických elementů, jako jsou plazmidy, integrony a transpozomy. Tyto dvě buňky se spojí prostřednictvím konjugačního můstku, který je tvořen F-fimbrií. Vzniklým kanálkem začne procházet jedno vlákno chromozomální DNA z jedné buňky zvané donor do druhé buňky zvané recipientní. Donorové buňky obsahují v cytoplazmě konjugativní plazmidy. Kruhová DNA konjugativního plazmidu se může v lineární formě napojit na libovolné místo chromozomu donorové buňky. Během konjugace se v místě napojení plazmidu jedno vlákno chromozomální DNA zlomí a přejde do recipientní buňky. Chybějící řetězec chromozomální DNA se v donorové buňce syntetizuje dle doprovodného řetězce na principu komplementárního párování bází. Donorová buňka je tedy i po konjugaci stále životaschopná a může se dále rozmnožovat. Po ukončení přenosu genetické informace kanálek zaniká a obě buňky se stávají donorovými, jelikož do recipientní buňky přechází i tyto plazmidy přítomné v cytoplazmě donorové buňky. Takže se původní recipientní buňka stává donorovou a může provádět konjugaci s další recipientní buňkou (Šilhánková, 2002; Bursová, Necidová a Dušková, 2014; Beneš, 2018).

3.1.2 Transformace

Dalším typem horizontálního přenosu je transformace, což je přímý příjem volné DNA bakteriemi z prostředí a bakterie tak získají odpovídající genetické vlastnosti. Na rozdíl od jiných drah horizontálního přenosu nejsou pro transformaci nutné životaschopné donorové buňky, zdrojem transformující DNA jsou nejčastěji uhynulé bakterie. Transformace musí splňovat následující podmínky, kdy DNA musí existovat v extracelulárním prostředí, recipientní bakterie musí být schopna transformace a transformovaná DNA musí být stabilní. Proces transformace byl pozorován například u stafylokoků, streptokoků či bacilů (Šilhánková, 2002; Li a Zhang, 2022).

3.1.3 Transdukce

Transdukce je proces, kdy bakteriofágy infikují donorovou buňku. DNA obsahující geny antibiotické rezistence je zabalena do kapsidů bakteriofágů. Fág musí být schopen přecházet z fáze virulentní, ve které rozloží genom donorové buňky, do fáze mírné, aby mohl infikovat recipientní buňku a předat jí část genomu donorové buňky. Tento horizontální přenos má několik typů (Šilhánková, 2002; Li a Zhang, 2022).

K obecné transdukci dochází tak, že se při tvorbě virulentních bakteriofágů náhodně dostane do fágové hlavičky úsek bakteriálního chromozomu, který je v mírné fázi předán infikované bakteriální buňce. Tento úsek se pak stává součástí chromozomu bakteriální buňky. Na podobném principu obecné transdukce probíhá abortivní transdukce. Rozdíl spočívá v tom, že přenesená část chromozomu donorové buňky není zabudována do chromozomu recipientní buňky, ale zůstává nereplikovaná volně v cytoplazmě (Šilhánková, 2002).

Během specializované transdukce se přenáší pouze určité geny donorové buňky. A to proto, že bakteriofág infikoval donorovou buňku už v mírné fázi a jeho DNA se již připojila k bakteriálnímu chromozomu. Změnou podmínek se tento profág změní ve virulentního fága a společně s odpojením fágovy DNA odchází i část bakteriálního chromozomu. Jedná se o geny, které sousedily s profágovými. Bakteriální geny jsou v bakteriofágově chromozomu na úkor fágových genů a z toho důvodu nemůže provést lyzi bakteriální buňky. Bakteriofágova DNA bývá zabudována společně s geny donorové buňky do chromozomu recipienta (Šilhánková, 2002).

Bakteriofágy šíří antibiotickou rezistenci bakterií na jiné bakterie, zejména na *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium* a *Staphylococcus aureus* (Li a Zhang, 2022).

3.2 Mechanismy antibiotické rezistence

Mikroorganismy proti antibiotickým látkám využívají různé mechanismy. Rozlišujeme mechanismy vnitřní, kdy buňka využívá své vlastní geny, aby přežila expozici antibiotiky, nebo získané mechanismy, kdy obdržáním nového genetického materiálu získá buňka nové možnosti ochrany. Běžným mechanismem rezistence bakterií je enzymatická degradace antimikrobiální látky, další možnosti jsou například degradace antibiotik, modifikace antibiotických cílů, změna permeability buněčné stěny či inaktivace antibiotických cílů (Beneš, 2018; Darby, 2023).

3.2.1 Enzymatická inaktivace

Enzymatická inaktivace antibiotické látky se může uskutečnit rozštěpením molekuly antibiotika nebo připojením postranní skupiny (například acylace). Tento způsob je ekonomická a velmi účinná cesta, jak dosáhnout bakteriální rezistence. Pouze jediná molekula enzymu dokáže rychle inaktivovat velký počet antibiotických molekul (Beneš, 2018).

Beta-laktamázy jsou enzymy, které hydrolyzují beta-laktamy (peniciliny, cefalosporiny, monobaktamy a karbapenemy), které mají esterovou a amidovou vazbu. Dosud je známo asi 300 beta-laktamáz, které jsou rozdělovány dle struktur nebo funkce. Dle struktury se dělí do čtyř tříd A, B, C a D.

Beta-laktamázy třídy A jsou nazývány jako penicilinázy. TEM-1 a SHV-1 jsou dva běžně se vyskytující předchůdci širokospektrálních beta-laktamáz, kteří byli objeveni u bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*.

Beta-laktamázy třídy B jsou označovány jako metalo-beta-laktamázy. Tyto enzymy vyžadují pro svou činnost přítomnost zinku nebo těžkých kovů.

Beta-laktamázy třídy C jsou nazývány cefalosporinázy. Tyto enzymy jsou produkovány gramnegativními bakteriemi s výjimkou *Salmonella* a *Klebsiella*. Zástupcem cefalosporináz je AmpC beta-laktamáza, která způsobuje rezistenci vůči všem beta-laktamům s výjimkou karbapenemů.

Beta-laktamázy třídy D se nejčastěji vyskytují u bakterie *Pseudomonas aeruginosa* a u čeledi *Enterobacteriaceae*. Tyto enzymy hydrolyzují oxacilin (Kapoor, Saigal a Elongavan, 2017).

3.2.2 Změna permeability buněčné stěny

Aby bakterie zabránily přístupu antibiotika k cílovému místu, mohou kolem sebe vytvářet různé bariéry (pouzdra, hleny). Cytoplazmatická membrána je poslední bariérou pro antibiotika, která pronikají do cytoplazmy transportními systémy. Bakterie dokáží činnosti některých transportních systémů omezit. Je-li transportní systém pro metabolismus bakterie postradatelný, může jej mutací kódujícího genu dokonce i zastavit (Beneš, 2018).

3.2.3 Modifikace cílové molekuly

Bakterie dokážou měnit struktury (enzymy nebo ribozomy), na které se antibiotikum váže. Změna struktury může být způsobena mutací genu kódujícího cílovou strukturu nebo změnou metabolické dráhy. Antibiotická látka ke změněnému místu ztrácí afinitu. V případě, že zablokuje antibiotikum bakteriím důležitou metabolickou dráhu, mohou bakterie využít alternativní, i když méně výkonnou, která jim umožní přežít. Například enterokoky se brání účinkům sulfonamidů, které zablokují syntézu kyseliny tetrahydroxylistové tím, že začnou využívat kyselinu listovou ze svého okolí (Beneš, 2018).

Pokud antibiotikum cílí na nějaký enzym nebo na jinou cílovou strukturu, může ji bakterie začít syntetizovat ve větším množství. Produkce bílkovin je sice energeticky náročný proces, ale dokáže zajistit přežití bakterie (Beneš, 2018).

3.2.4 Efluxní pumpy

Efluxní pumpy jsou membránové proteiny, které exportují antibiotika z buňky ven. Tyto transportní pumpy jsou schopny z cytoplazmy nebo periplazmatického prostoru buňky odstraňovat nežádoucí látky. Jejich činnost je pro buňku energeticky velmi náročná, navíc pumpy pouze snižují množství antibiotické látky v buňce, ale samotné antibiotikum neinaktivují. Efluxní pumpy dokáží z buňky ven vyčerpat více druhů různých nežádoucích látek, takže mohou poskytovat ochranu proti několika antibiotikům současně (například proti makrolidům a tetracyklinům (Kapoor, Saigal a Elongavan, 2017; Beneš, 2018).

3.3 Mechanismy rezistence vybraných grampozitivních koků

Mnoho grampozitivních koků je přirozeně rezistentních k některým antibiotikům. Přirozená rezistence vyplývá z metabolismu bakterií a může se využívat k jejich izolaci a identifikaci. (Beneš, 2018). Přehled vybraných grampozitivních koků, u kterých byla prokázána přirozená rezistence, je uveden v Tabulce 3.

Tabulka 3 Přirozená bakteriální rezistence vybraných grampozitivních koků k antibiotickým látkám (Beneš, 2018).

Grampozitivní koky	Přirozená rezistence na antibiotikum
<i>Staphylococcus aureus</i> a další stafylokoky	Ceftazidim (Cefalosporinové antibiotikum III. generace)
<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Enterococcus faecium</i>	Beta-laktamy, sulfoamidy, aminoglykosidy
<i>Streptococcus</i> spp.	Aminoglykosidy, ceftazidim (Cefalosporinové antibiotikum III. generace)
<i>Leuconostoc</i> , <i>Pediococcus</i>	Glykopeptidy

3.3.1 Mechanismy rezistence bakterie *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus je schopný žít v aerobním až fakultativně anaerobním prostředí. Kolonizuje až 40 % populace a způsobuje infekce téměř na každém místě těla, přičemž nejčastěji postiženou oblastí je kůže. Tento grampozitivní kok je příkladem pozoruhodné schopnosti bakterií přizpůsobit se účinkům selektivních tlaků antibiotik. Od počátku 40. let 20. století, kdy byla původně popsána rezistence na penicilin, získával *Staphylococcus aureus* stále nové mechanismy rezistence, které mu umožnily odolávat beta-laktamovým antibiotikům, tetracyklinům, aminoglykosidům, fluorochinolonům, vankomycinu, linezolidu a dalším (George et al., 2022; Kumar; Kiran Tudu, 2023).

Během pouhých dvou let od zavedení penicilinu do lékařské praxe byly objeveny bakterie *Staphylococcus aureus* produkující penicilinázu (beta-laktamázu) a v 70. letech 20. století bylo již 95 % izolátů těchto bakterií rezistentních na penicilin. Vědci se tedy snažili syntetizovat látku, která by odolávala penicilináze, a objevili methicilin. Methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA) byl poprvé identifikován v Anglii roku 1961 a to pouhý rok poté, co byl methicilin poprvé použit k léčbě. Po rozšíření do celého světa se stal jednou z hlavních příčin bakteriálních infekcí u lidí, zvířat, zejména hospodářských zvířat a drůbeže. MRSA je typicky rezistentní vůči beta-laktamovým antibiotikům, jako je penicilin a cefalosporin (George et al., 2022; Kumar; Kiran Tudu, 2023).

K vývoji rezistence na methicilin a následně na všechny beta-laktamy došlo pomocí produkce PBP2a (penicilin vazebný protein třídy A), což je homologní protein PBPs (penicilin vazebný protein). Methicilin a beta-laktamová antibiotika se vážou na PBPs a blokují klíčové kroky zesíťování při syntéze bakteriální buněčné stěny. MRSA vylučuje PBP2a, který není citlivý na beta-laktamy. Beta-laktamová antibiotika nerozeznají cílové místo PBP2a, a proto je MRSA rezistentní vůči celé této třídě antibiotik. Jedinou výjimkou je nový cefalosporin ceftarolin fosamil, který byl vyvinut speciálně pro překonání tohoto mechanismu. Antibiotikum působí tak, že se naváže na alosterické místo PBP2a a vyvolá konformační změnu, která umožní přístup antibiotika k aktivnímu místu a inhibuje PBP2a (George et al., 2022; Kumar; Kiran Tudu, 2023).

V následujících letech se vyvíjely další linie MRSA, například LA-MRSA. Jedná se o MRSA, která je spojována s hospodářskými zvířaty. Poprvé byla objevena roku 2005 u prasat. Díky rutinnímu používání antibiotik v chovu hospodářských zvířat se LA-MRSA rozšířila mezi další hospodářská zvířata a snadno se může šířit i na lidi (George et al., 2022)

V současné době se k léčbě MRSA infekcí používají glykopeptidová antibiotika, včetně teikoplaninu a vankomycinu, která uplatňují antimikrobiální účinky inhibicí syntézy buněčné stěny. Předpokládá, že zesílení buněčné stěny je základem rozvoje rezistence na vankomycin. Toto antibiotikum se ireverzibilně váže na postranní řetězec peptidoglykanu a brání jeho zesíťování. Zůstává více volných konců peptidových řetězců, které na povrchu buňky vyčnívají. Na tyto konce se pak naváže vankomycin, který inhibuje bakteriální buňku (Hanaki et al., 2007 a Ali Alghamdi et al., 2023).

Další antibiotikum, které se k léčbě infekcí způsobených *S. aureus* používalo, byly tetracykliny. Cílem tetracyklinů jsou ribozomální podjednotky 30S. Rezistence

na tetracyklin je u bakterie *Staphylococcus aureus* zprostředkována působením ribozomálních ochranných proteinů, které uvolňují tetracyklin z vazebného místa ribozomu, nebo pomocí efluxních pump. Efluxní pumpy dokáží z bakteriální buňky ven vyčerpávat více druhů různých nežádoucích látek, takže mohou poskytovat ochranu proti několika antibiotikům současně. Tigecyklin je speciálně modifikovaný derivát tetracyklinů, který má mnohonásobně vyšší afinitu k vazebnému místu na ribozomu a jeho objemná molekula brání činnosti efluxních systémů. Existuje zde riziko, že si bakterie vyvinou rezistenci i na tigecyklin prostřednictvím efluxu (Beneš, 2018; Kakoullis a Papachristodoulou, 2021).

Bakterie *Staphylococcus aureus* si vytvořila rezistenci i na flourochinolony. Rezistence se vyvinula důsledkem mutace v genech kódujících cílové enzymy, které jsou nezbytné pro replikaci DNA. Omezení činnosti těchto enzymů vede k tvorbě zlomů na struktuře DNA a nahromadění mechanického napětí ze svinutí, což vede k buněčné smrti. Rezistence na fluorochinolony je zprostředkována efluxními pumpami nebo mutačními substitucemi aminokyselin ve vazebném místě enzymů (Jubeh, Breijyeh a Karaman, 2020; Kakoullis a Papachristodoulou, 2021).

3.3.2 Mechanismy rezistence bakterie *Enterococcus spp.*

Enterokoky jsou bakterie, které se běžně vyskytují v životním prostředí a jsou součástí normální mikroflóry střevního traktu lidí a zvířat včetně ptáků a drůbeže. *Enterococcus faecium* a *Enterococcus faecalis* mají z pohledu antimikrobiální rezistence velký význam. Nejen že jsou přirozeně rezistentní vůči mnoha antibiotikům, mají i několik získaných mechanismů antibiotické rezistence (Kakoullis a Papachristodoulou, 2021).

Enterokoky jsou přirozeně rezistentní vůči beta-laktamovým antibiotikům. Jejich PBPs proteiny mají nízkou afinitu k těmto antibiotickým přípravkům. Mezi třídami beta-laktamů vykazují různé stupně citlivosti. Nejvyšší citlivost byla zaznamenána na penicilin a ampicilin, méně citlivé jsou na karbapenemy a zcela odolné jsou cefalosporinům. Přirozená rezistence vůči cefalosporinům může být pravděpodobně způsobena nízkou afinitou enterokokových PBPs k antibiotikům (Kakoullis a Papachristodoulou, 2021).

Díky podobnosti aminoglykosidů s beta-laktamy jsou enterokoky přirozeně rezistentní i vůči aminoglykosidům. Buněčná stěna těchto grampozitivních koků je pro aminoglykosidová antibiotika neprostupná. Pokud jsou aminoglykosidy užívány v kombinaci s inhibítorem buněčné stěny, mohou do enterokokové buňky vstoupit

a působit baktericidně. *Enterococcus faecium* je schopen produkovat enzymy, které inhibují mnohočetné aminoglykosidy (tobramycin a kanamycin). Rezistenci na streptomycin zprostředkovávají enzymy, které modifikují aminoglykosidy nebo je rezistence dosaženo ribozomálními mutacemi (Kakoullis a Papachristodoulou, 2021).

Dalším příkladem enterokokové rezistence je rezistence vůči fluorochinolonům, která je ve většině případů získaná. Mechanismů rezistence je několik, první možností jsou mutace, které snižují afinitu cílových enzymů k antibiotické látce. Další možností jsou efluxní pumpy, které zajišťují vyčerpání molekuly antibiotika z buňky ven. Třetí možností je produkce ochranných proteinů *qnr*, které svou strukturou napodobují dvoušroubovici DNA a navazují enzymy v blízkosti aktivního centra, čímž brání přístupu fluorochinolonů. (Beneš, 2018; Kakoullis a Papachristodoulou, 2021).

Rezistence na tetracyklin byla popsána i u enterokoků, hlavní mechanismy účinku jsou efluxní pumpy a ochranné ribozomální proteiny (Kakoullis a Papachristodoulou, 2021). Principy rezistence jsou blíže popsána v kapitole 3. 2.

Enterokoky jsou rezistentní také na glykopeptidy, zejména vankomycin. Principem rezistence na vankomycin je výměna koncové části v peptidoglykanu. Geny kódující tuto přeměnu jsou umístěny v mobilních genetických elementech, jako jsou plazmidy. Při transportu plazmidů dochází ke snadnému šíření rezistence hlavně fenotypů VanA a VanB. Nejčastější rezistence je VanA, která se vyskytuje primárně u kmenů *Enterococcus faecium*. Tyto kmeny jsou rezistentní k vankomycinu i teikoplaninu. Zatímco kmeny rezistence VanB jsou rezistentní pouze k vankomycinu (Beneš, 2018; Kakoullis a Papachristodoulou, 2021).

4 PROBLEMATIKA DRŮBEŽÍHO MASA A REZISTENTNÍCH BAKTERIÍ

Antibiotické přípravky hrají v systému živočišné výroby důležitou roli. Používá se široká škála těchto látek s cílem léčby bakteriálních infekčních chorob hospodářských zvířat. V drůbežárnách se antimikrobiální léky používají i pro jiné účely, například k preventivnímu ochrannému ošetření celého hejna včetně zvířat, která nevykazují žádné klinické příznaky. Další využití jsou růstové promotory, kdy se antibiotika přidávají do krmiva v nízkých dávkách, aby se zvýšila výkonnost zvířat. Kvůli zamezení zneužívání antimikrobiálních látek v potravinářském živočišném průmyslu se bere ohled na mikrobiální třídy, dávky a účel, aby se minimalizovalo riziko bakteriální rezistence. Při nadměrném užívání se mohou léčiva ve formě reziduí ukládat do masa a vajec (Nhung, Chansiripornchai; Carrique-Mas, 2017).

Dle Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 je za drůbež považována domácí drůbež včetně ptáků, jež nejsou považováni za domácí, ale jsou jako domácí zvířata chováni, s výjimkou běžců. Obecně se drůbež dělí na vodní a hrabavou. Mezi nejčastěji chované zástupce vodní drůbeže řadíme kachny a husy, mezi hrabavou drůbež kur domácí, krůty, perličky, bažanty a křepelky. Drůbežím masem rozumíme všechny požitelné části těl, které pocházejí z domácích druhů ptáků (Evropská unie, 2004; Saláková, 2014; Křivánková, 2019).

Chov a zpracování drůbežního masa patří mezi jedno z nejrozšířenějších potravinářských odvětví na světě. Ročně se zpracuje více než 90 miliard tun kuřecího masa a jeho produkce neustále roste. Hlavními důvody jsou nenáročnost chovu, levná produkce, rychlý růst zvířat a absence kulturních i náboženských omezení. Drůbeží maso má výborné dietetické vlastnosti, je snadno stravitelné, dá se jednoduše a rychle připravit (Saláková, 2014; Nhung, Chansiripornchai a Carrique-Mas, 2017; Křivánková, 2019).

Průzkumy provedené Národním systémem monitorování antimikrobiální rezistence naznačují, že maloobchodní maso a drůbeží výrobky jsou často kontaminovány multirezistentními druhy bakterií například *Campylobacter*, *Salmonella*, *Enterococcus* a *Escherichia coli* (Waters et al., 2011).

4.1 *Staphylococcus aureus* v drůbežím mase

Staphylococcus aureus patří celosvětově mezi nejčastější původce lidských i zvířecích infekčních onemocnění, značnou pozornost veřejnosti si získal kvůli zvyšující se úmrtnosti, která je spojená s multirezistencí. Může způsobovat kožní infekce, abscesy, otravy jídlem, syndrom toxického šoku, septikémie, endokarditidy a pneumonie (Rao et al., 2022).

Americká studie se snažila zhodnotit citlivost bakterie *Staphylococcus aureus* na antibiotika ve vzorcích masa včetně drůbežního, která byla odebrána v pěti městech USA. Celkem bylo testováno 136 vzorků masa, které zahrnovaly 80 unikátních značek z 26 obchodů. Konkrétně se jednalo o maloobchodní produkty z mletého hovězího masa, kuřecí stehna a prsa, vepřové mleté maso a kotlety a krůtí mleté maso. Vzorky byly obohaceny v peptonovém bujónu a naočkovány na Baird Parkerův agar a doplněny o antibiotika, například vankomycin, oxacilin, ciprofloxacin, tetracyklin nebo gentamycin. Identifikace byla stanovena pomocí PCR a typizace kmenů byla provedena pomocí sekvenace Multilocus (Waters et al., 2011).

Výsledky testů ukázaly, že ze 136 vzorků masa se kontaminace *S. aureus* nejčastěji vyskytovala mezi vzorky krůt (77 %), dále mezi vepřovým masem (42 %), kuřecím (41 %) a hovězím (37 %). Ze vzorků mas se podařilo získat 76 izolátů bakterie *Staphylococcus aureus* a u 96 % izolátů byla zjištěna rezistence minimálně na jednu antimikrobiální látku. Nejčastěji se objevovala rezistence na tetracyklin, ampicilin, penicilin a erythromycin. Dále byla prokázána multirezistence, včetně rezistence na klinicky důležitá antibiotika, jako jsou ciprofloxacin, quinupristin-dalfopristin, erythromycin a další. Mnohočetná léková rezistence se nejvíce objevovala u izolátů z krůtího masa (79 %), naopak nejméně byly zaznamenána u kuřecího masa (26 %). Izoláty *S. aureus* identifikované pomocí sekvenace byly mezi jednotlivými typy mas odlišné, což může znamenat, že převládajícím zdrojem kontaminace jsou potravinářská zvířata nebo lidská kontaminace. Studie tedy prokázala, že kontaminace bakteriemi *Staphylococcus aureus* byla mezi vzorky hojně rozšířená a vyskytovala se v každém typu masa (Waters et al., 2011).

4.2 *Enterococcus* spp. v drůbežím mase

Enterokoky jsou oportunní patogeny, které způsobují onemocnění lidí i zvířat. Mezi hlavní druhy enterokoků, které jsou spojeny s chorobami drůbeže, patří *Enterococcus cecorum*, *Enterococcus faecium* a *Enterococcus faecalis*. *Enterococcus cecorum* byl objeven

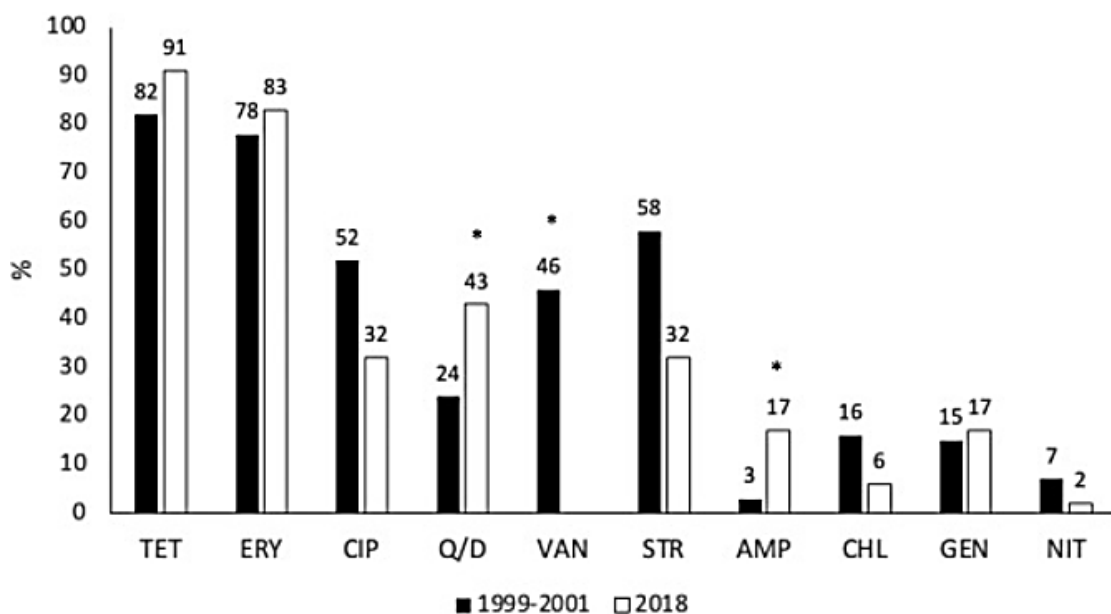
u drůbeže v roce 2002. Brojleři nakaženi touto bakterií trpěli paralýzou a kulháním, což vedlo k jejich úhynu a značným ekonomickým ztrátám. *Enterococcus cecorum* u kachen vyvolával septikémii (Souillard et al., 2022).

Na drůbeží farmě a v průběhu celého procesu produkce drůbežního masa působí na bakterie selektivní tlaky a jiné stresy, se kterými se musí vyrovnat. Nepříznivé podmínky může vytvářet žaludeční pH hostitele, složky krmiva nebo dezinfekční prostředky. Součástí stravy mohou být organické kyseliny, které snižují střevní pH a tím je podporován růst prospěšných mikroorganismů tolerantních vůči kyselinám, například *Lactobacillus* spp. Pro dezinfekci povrchů v potravinářském, respektive drůbežím průmyslu se používá ekologické silné oxidační činidlo, kyselina peroctová. Přirozená schopnost enterokoků překonávat různé stresy a adaptovat se umožňuje jejich přežití a šíření se napříč různými ekosystémy, jako je člověk, zvířecí prostředí a podobně (Rebelo et al., 2023).

Mnoho let používání antibiotik u hospodářských zvířat určených k produkci potravin podporovalo vznik a šíření multirezistentních bakterií. V Portugalsku provedli studii, jejímž cílem bylo stanovit přítomnost enterokoků rezistentních na antibiotika v komerčně dostupném drůbežím mase. V letech 1999–2001 bylo zkoumáno 99 maloobchodních vzorků drůbežního masa. Vzorky byly obohaceny a umístěny na selektivní média s vankomycinem, gentamycinem, streptomycinem nebo kanamycinem a bez nich. Identifikace a detekce genů byla stanovena pomocí PCR. Výsledky studie ukazují, že 83 % vzorků obsahovalo enterokoky. Vysoké procento vzorků obsahovalo vankomycin – rezistentní enterokoky (48 %), nebo enterokoky odolné vůči gentamicinu (34 %), streptomycinu (32 %) nebo kanamycinu (30 %). U většiny izolátů byla pozorována souběžná rezistence na tetracyklin, erytromycin a další antibiotika. Vysoký výskyt antibiotické rezistence ukazuje udržování selektivního tlaku vyvíjeného na bakterie prostřednictvím antibiotik a jiných látek užívaných během drůbeží produkce. (Novais et al., 2005).

V návaznosti na tuto studii byla provedena o dvacet let později další analýza citlivosti enterokoků. Srovnání výsledků antibiotické rezistence mezi studii z let 1999-2001 a 2018 je znázorněno na Obrázku 4. Roku 2018 bylo odebráno 53 vzorků drůbežního masa. Vzorky byly obohaceny a umístěny na selektivní média s antibiotiky a bez antibiotik. Identifikace rodu byla provedena standardními metodami (například koagulázový test) a druhová identifikace pomocí PCR. U získaných izolátů byla citlivost na 12 antibiotik hodnocena diskovou difuzní metodou dle pokynů Evropského výboru pro testování

antimikrobiální citlivost. Z 53 testovaných vzorků masa obsahovalo více než 45 % vzorků alespoň jeden *Enterococcus* spp. rezistentní na tetracyklin (100 %), erythromycin (98 %), ampicilin (85 %), streptomycin (74 %), gentamycin (49 %). Pouze jeden izolát byl odolný nitrofuranu a všechny izoláty byly citlivé na glykopeptidy a linezolid. Ve všech vzorcích byly identifikovány izoláty multirezistentních bakterií. Nejčastěji získaný izolát multirezistentních bakterií byl *Enterococcus faecium*, který byl rezistentní vůči ampicilinu, tetracyklinu, erytromycinu, quinupristin – dalfopristinu a ciprofloxacinu (Rebelo et al., 2023).



Obrázek 7 Srovnání šarží kuřecího masa [AMP – ampicilin; CHL – chloramfenicol; CIP – ciprofloxacín; ERY – erythromycin; GEN – gentamycin; NIT – nitrofurantoin; Q/D – quinupristin-dalfopristin; STR – streptomycin; TET – tetracyklin; VAN – vankomycin) (Rebelo et al., 2023)].

U antibiotik tetracyklin (82 % versus 91 %), erythromycin (78 % versus 83 %), chloramfenicol (16 % versus 6 %), gentamycin (15 % versus 17 %) nebo nitrofurantoin (7 % versus 2 %) byly v procentuálním zastoupení pozorovány minimální rozdíly. Významný rozdíl mezi oběma studii byl zaznamenán u vankomycinu, ve studii provedené v roce 2018 rezistence enterokoků na vankomycin nebyla zjištěna, zatímco v první studii vykazovalo 46 % vzorků rezistenci na toto antibiotikum. Vzorky z původní studie (období 1999-2001) měly vyšší míru rezistence na ciprofloxacín (rozdíl o 20 %) a streptomycin (rozdíl o 26 %). Vzorky z roku 2018 vykazovaly vyšší nárůst rezistence na ampicilin (rozdíl o 14 %) a quinupristin-dalfopristin (rozdíl o 19 %) (Rebelo et al., 2023).

Prodej tetracyklinů a makrolidů byl do roku 2018 poměrně vysoký, což může vysvětlovat udržení míry rezistence během sledovaného období. Výrazné snížení rezistence na vankomycin mohl způsobit zákaz avoparcinu, který je chemickou strukturou vankomycinu velmi podobný. Tato studie ukazuje, že navzdory snahám o snížení používání antibiotik v posledních desetiletích zůstává drůbeží maso stále nosičem multirezistentních bakterií *Enterococcus* spp. Schopnost enterokoků překonat stresy během potravního řetězce drůbeže může vést až k lidskému hostiteli (Rebelo et al., 2023).

5 KOLOBĚH ŠÍŘENÍ REZISTENTNÍCH BAKTERIÍ

Je prokázáno, že se rezistentní bakterie přenášejí mezi lidmi, zvířaty a životním prostředím. Uvážené používání antimikrobiálních látek ve všech odvětvích může v průběhu let maximalizovat výhody antimikrobiálních látek a zároveň se vyhnout nebo částečně oddálit vývoj šíření bakteriální rezistence. Již během primární produkce nebo v jiných fázích procesu „od farmy po vidličku“ mohou být potraviny kontaminovány bakteriemi rezistentními vůči antibiotikům (Růžičková, 2020; Ministerstvo zdravotnictví, 2022; Samtiya et al., 2022).

5.1.1 Možnosti šíření rezistentních bakterií mezi drůbeží farmou a životním prostředím

Bakterie odolné vůči antimikrobiálním látkám může zvíře získat už na farmě. Po zavlečení rezistentních bakterií do hejna, jsou tyto bakterie vylučovány do hnoje a mohou dále přežívat v podestýlce. Po aplikaci drůbežního steliva na půdu se mohou do životního prostředí šířit zbytky léčiv, které ptáci užívali a dále zbytky dezinfekčních látek používaných při sanitaci na farmě. Díky tomu se může zvýšit diverzita nových genových fragmentů populace půdních bakterií. Běžné koncentrace antibiotik v hnoji se pohybují mezi 1–10 mg/kg, zatímco v půdě a vodě se vyskytují pouze stopově. Z půdy jsou zbytky látek vyplavovány a končí v povrchové nebo podzemní vodě. Rezistentní bakterie mohou ve vnitřním i vnějším prostředí přetrvávat dlouhou dobu, i když nejsou přítomna zvířata (Yang et al., 2019; Růžičková, 2020; Samtiya et al., 2022).

Drůbeží mikrobiom je kompletní mikrobiální komunita, která se nachází v každém opeřenci a během jeho života prochází mnoha změnami. Tato komunita je velmi různorodá a dynamická. Složení mikrobiomu závisí nejen na genetice, věku, pohlaví, stravě, produkčním systému, ale i na prostředí, ve kterém pták žije. Mikroorganismy v ptačím těle ovlivňují řadu procesů od komplexního štěpení a fermentace sacharidů až po produkci vitamínů a udržení stability imunitního systému. Většina mikroorganismů v těle ptáka existuje jako pasivní komenzálové, přítomny jsou také patogeny jako *Campylobacter* a *Salmonella* nebo podmíněné patogeny například *Escherichia coli*. Komenzální bakteriální flóra může vytvořit rezervoár genů antibiotické rezistence a tyto geny pak mohou být přenášeny mezi bakteriálními druhy. Rezistentní bakterie se mohou dále šířit na jiná zvířata v rámci hejna mnoha cestami, například přes krmivo, vodu, vzduch, trus, hmyz a další škůdce (Marmion et al., 2021).

Drůbeží trus je bohatý na minerální prvky a základní živiny jako je dusík, fosfor a draslík, proto se používá nejen jako organické hnojivo rostlin, ale i ke zlepšení fyzikálních a chemických vlastností půdy. Rezidua antibiotik v drůbežím trusu mohou půdní prostředí kontaminovat, podléhají zde totiž degradacím, transformacím nebo desorpci. Rychlost šíření antibiotických reziduí závisí na fyzikálně-chemických vlastnostech antibiotik, charakteru a minerálním složení půdy nebo na meteorologických podmínkách (Yang et al., 2019 ; Samtiya et al., 2022).

Pitná voda při kontaktu se zvířecími nebo lidskými fekáliemi může působit jako přímé vehikulum přenosu antimikrobiálně rezistentních bakterií, genetických prvků nebo reziduí antibiotik. Takováto voda může snadno kontaminovat životní prostředí, plodiny, gastrointestinální trakt zvířat a v konečném důsledku způsobit onemocnění lidí (Samtiya et al., 2022).

5.1.2 Možnosti šíření rezistentních bakterií v potravinářství

Cesty přenosu antibiotické rezistence mohou být nepřímé prostřednictvím konzumace potravy nebo přímé prostřednictvím kontaktu s infikovanými zvířaty nebo biologickými složkami (krev, moč, výkaly, sliny a další). Během porážky a zpracování drůbeže zejména při kuchání může docházet k nežádoucímu šíření mikroorganismů pocházejících z gastrointestinálního traktu zvířete. Bakterie mohou kontaminovat nejen ostatní jatečně upravená těla, ale i okolní prostředí. Tyto mikroby svou činností dokážou významně zkrátit trvanlivost masa nebo mohou být původci alimentárních onemocnění, například kampylobakterií a salmonelóz. Drůbeží maso je matrice bohatá na živiny, která podporuje růst bakterií a plísní. Teplota skladování a balení v ochranné atmosféře jsou faktory, které mohou ovlivnit dobu, po kterou drůbeží maso ztrácí svou atraktivitu pro zákazníky. Kontrolu složení drůbežího mikrobiomu je důležité provádět u producentů drůbeže, zpracovatelů masa i u maloobchodníků, aby spotřebitelům byla zajištěna co nejvyšší bezpečnost drůbežího masa (Marmion et al., 2021).

Potraviny neživočišného původu mohou být kontaminovány přenosem organických materiálů (hnůj nebo komunální odpad) či kontaminovanou vodou. Vodní kontaminace může vzniknout během prvovýroby, kdy se používá jako závlahová voda na plodiny nebo jako přísada ke zpracování (Růžicková, 2020; Samtiya et al., 2022).

5.1.3 Možnosti přenosu rezistentních bakterií na člověka

Enterokoky a stafylokoky jsou častými kontaminanty drůbežního masa. *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* a *Staphylococcus aureus* jsou hlavními původci lidských infekcí, které mohou postihnout prakticky jakoukoliv tělesnou oblast. Závažnost těchto infekčních onemocnění sahá od nekomplikovaných infekčních ran po smrtelnou endokarditidu. *Staphylococcus aureus* je častou příčinou infekce kůže a měkkých tkání. Tyto grampozitivní koky patří mezi běžné komenzály ve střevech drůbeže a jiných domácích zvířat. Kmeny bakterií mohou být přenášeny na člověka přímým kontaktem s domácími zvířaty nebo kontaminovaným drůbežím masem a dalšími potravinami prostřednictvím křížových kontaminací zejména v kuchyni. Enterokoky požití s jídlem mohou až 14 dní kolonizovat střevní trakt, zejména tlusté střevo hostitele, kde v tamní mikroflóře působí jako oportunní patogeny a vyměňují si geny antibiotické rezistence s původní mikrobiotou. Stafylokoky v maloobchodních výrobcích mohou mít zvířecí nebo lidský původ v důsledku možné kontaminace osobami, které s masem manipulovaly. Požití nadlimitního množství kmenů *Staphylococcus aureus* může vést k otravě jídlem, neboť tyto bakterie mají schopnost produkovat enterotoxiny. Manipulací s kontaminovaným drůbežím masem může dojít ke kolonizaci kůže, ústní a nosní sliznice, což vede k riziku infekce (Bortolaia, Espinosa-Gongora a Guardabassi, 2016).

5.1.4 Možnosti zamezení šíření rezistentních bakterií

Aby bylo možné eliminovat patogeny a indikátorové mikroorganismy z potravin, je důležité dodržovat preventivní opatření, jako je bezpečná manipulace s potravinami, dodržování postupů zpracování, udržování chladicího řetězce, přiměřené čištění a dezinfekce zařízení, prevence křížové kontaminace v ať už v provozu nebo doma v kuchyni a prevence kontaminace procesu „od farmy po vidličku“ (Ministerstvo zdravotnictví, 2022; Samtiya et al., 2022).

Například během porážky a opracování jatečně upravených těl může dodržení hygienických postupů a pravidel výrazně snížit riziko přenosu bakterií včetně rezistentních. U vařených, pasterizovaných nebo jinak mikrobicidně ošetřených potravin je méně pravděpodobné, že ponese životaschopné antibioticky rezistentní bakterie, které potravinu kontaminovaly během primární výroby, ale pokud je přítomna neporušená DNA kódující rezistenci, může i v takových potravinách přetrvávat. Riziko kontaminace tepelně

či mikrobicidně ošetřených potravin nastává při jejich skladování, přípravě a podávání. (Samtiya et al., 2022).

I přes dodržení ochranných opatření a lhůt, kdy antimikrobiální látky klesnou pod úroveň prahové hodnoty předtím, než se ze zvířat zpracují potravinářské produkty, mohou být některé rezistentní bakterie v jejich tělech stále přítomny. Jakmile se jednou antimikrobiálně rezistentní bakterie v organismu usadily, mohou v něm přetrvávat po dlouhou dobu i poté, co se přítomnost antimikrobiální látky v těle stala již nezjistitelnou. (Samtiya et al., 2022).

Roku 2018 Evropský parlament schválil Nařízení EU 2019/6 o veterinárních léčivých přípravcích, které uvádí, že aplikace antibiotik bude možná jen ve výjimečných případech pouze pro jednotlivá zvířata nebo pro omezený počet zvířat. Podávání antibiotik bude možné pouze, pokud bude riziko infekce a infekčních onemocnění velmi vysoké se závažnými následky. Léčba antibiotiky musí být odůvodněna a podložena veterinární diagnózou a laboratorním vyšetřením původce infekce na jeho citlivost na antibiotika. Nemocem zvířat by se mělo předcházet dodržáním zásad chovatelské praxe, používáním osvědčených výrobních postupů, vakcinací a podobně (Evropská unie, 2018; Jarolímková, 2020).

6 METODY PRŮKAZU ANTIBIOTICKÉ REZISTENCE

6.1 Identifikace grampozitivních koků

Pro identifikaci grampozitivních koků je možné použít příslušná selektivně diagnostická média, Gramovo barvení a biochemické identifikační řady (například STAPHYtest a STREPTOtest).

Ke stanovení bakterií rodu *Staphylococcus aureus* se nejčastěji používá Baird Parkerův agar, který obsahuje selektivní složky (chlorid sodný a teluricitan) inhibující růst doprovodné mikroflóry. Typické kolonie této bakterie jsou černé nebo černošedé barvy, lesklé, vypouklé se zónou projasnění. Pro izolaci stafylokoků je možné použít doprovodně i Mannitol salt agar. Selektivitu média zajišťuje chlorid sodný, který inhibuje většinu grampozitivních a gramnegativních bakterií. Diferenciace bakterií rodu *Staphylococcus* závisí na schopnosti fermentovat manitol. Fermentace manitolu způsobí okyselená média, které zežloutne. Typické kolonie bakterie rodu *Staphylococcus aureus* vytvářejí na svém okraji vlivem fermentace manitolu žlutý obrys (Cupáková, Karpíšková a Necedová, 2010).

Pro stanovení bakterií rodu *Enterococcus* se používá Slanetz – Bartley agar. Selektivní složkou média je azid sodný, který potlačuje růst gramnegativních bakterií. Typické kolonie mají červenou až červenohnědou barvu (Cupáková, Karpíšková a Necedová, 2010).

Suspektní kolonie získané ze selektivně diagnostických půd je možné konfirmovat pomocí biochemických testů. Tyto testy byly vyvinuty pro průkaz biochemické aktivity bakterií. Princip testu spočívá v detekci přítomnosti metabolitů nebo produktů, které vznikají uvolněním sacharidů, bílkovin nebo některých enzymů, jež jsou specifické pro daný druh bakterií. Diagnostika biochemické reakce, která je pozitivní, je založena na změně barvy testovacího média. K barevné změně dochází změnou příslušného indikátoru. Nejčastěji využívají diagnostické soupravy určené pro diagnostiku zvolené skupiny bakterií. Souprava zpravidla zahrnuje soubor deseti až dvaceti biochemických testů. K vyhodnocení se používají diagnostické tabulky a příslušné počítačové programy. Pro identifikaci stafylokoků a mikrokoků se používá STAPHYtest 24 a pro rozlišení streptokoků a enterokoků STREPTOtest 24 (Kopecká; Rotková, 2017).

Po identifikaci a izolaci mikroorganismů je důležité zjistit jejich antibiotickou citlivost. Díky tomu můžeme monitorovat výskyt a šíření rezistentních bakterií.

Výstupy analýz antibiotické rezistence poskytují kvalitativní i kvantitativní údaje. Z kvalitativního stanovení lze zjistit, zda je bakterie vůči antibiotiku citlivá nebo rezistentní. Kvantitativní metody určují hodnotu minimální inhibiční koncentrace. Zjištěné hodnoty MIC se srovnávají s breakpointy, což jsou hraniční hodnoty koncentrace antibiotika, na jejichž základě je daný bakteriální kmen považován za rezistentní, citlivý nebo citlivý jen při zvýšené expozici. Breakpointy jsou mezinárodně přijaté standardy, které se pravidelně přezkoumávají a aktualizují příslušnými institucemi. V rámci Evropy na aktuálnost breakpointů dohlíží EUCAST (Evropských výbor pro testování antimikrobiální citlivosti) (Khan, Siddiqui; Park, 2019).

6.2 Difuzní metoda

Mezi difuzní metody je možné zařadit diskovou difuzní metodu. Jedná se kvalitativní stanovení, které je založeno na inokulaci standardizovaným inokulem mikroorganismů na povrch Mueller-Hintonova agaru. Následně se na povrch média umístí standardní papírové disky napuštěné antibiotickou látkou. V průběhu kultivace antibiotická látka prostupuje z disku do agaru, což se projeví vytvořením kruhové inhibiční zóny kolem disku. Po inkubaci se změří velikost inhibiční zóny a určí se citlivost mikroorganismu k dané testované látce. Velikost zóny může ovlivnit rychlost růstu mikroorganismů nebo schopnost antibiotické látky prostupovat agarem. Mezní hodnota rezistence je individuální dle mikroorganismu a použitého antibiotika. Pokud je inhibiční zóna menší než stanovená hranice, rozumíme tím, že antibiotikum nebylo účinné a bakteriální kmen je vůči němu rezistentní. V případě, že je inhibiční zóna větší než stanovená hranice, je daný kmen na antibiotikum citlivý (Rotková a Kopecká, 2017; Anonym, 2022).

6.3 Diluční metoda

Diluční metody slouží k prokázání stupně citlivosti (rezistence) testovaných mikroorganismů k antibiotickým látkám. Metody jsou ideální pro kvantitativní stanovení stupně rezistence a hladiny minimální inhibiční koncentrace. MIC je nejnižší koncentrace, která viditelně inhibuje růst testovaného mikroorganismu. Příkladem dilučního stanovení je mikrodiluční metoda, která se provádí ve sterilních plastových destičkách. Destička obsahuje v jednotlivých jamkách v Mueller-Hintonově bujónu různé koncentrace antibiotických látek. Do těchto jamek je pipetována suspenze testovaných bakterií a poté se provádí inkubace při dané teplotě. Odečet se provádí pomocí fotometru, zakalená jamka značí růst kmene, čirá jamka znamená, že je bakteriální kmen inhibován. Minimální

inhibiční koncentrace se rovná koncentraci antibiotika v první čiré jamce. Hodnota MIC se pak porovná s breakpointy (Foltýnová, 2019).

6.4 Molekulární metody stanovení

Molekulární nebo též genotypové metody pomáhají rozlišit jednotlivé mechanismy antibiotické rezistence a jsou čím dál častěji používanými metodikami pro stanovení antibiotické citlivosti. Pomineme-li vyšší náklady při pořizování přístrojů, přináší molekulární metody stanovení řadu výhod. Především rychlost, identifikace probíhá přímo z klinického vzorku pacienta (například moč), čímž se eliminuje dlouhá doba kultivace a minimalizuje se riziko kontaminace vzorku při zdlouhavém zpracování v laboratoři. Jedná se také o velice přesné a citlivé metody (Maugeri, 2018).

Mezi molekulární metody řadíme polymerázovou řetězovou reakci (PCR), která je založená na principu replikace bakteriální DNA. Kopie úseku DNA jsou syntetizovány podle templátové DNA za pomoci enzymu DNA polymeráza. Párování bází probíhá na principu komplementarity. PCR probíhá ve třech fázích, denaturace DNA, navázání primerů a elongace řetězce. Tyto tři fáze se opakují v několika po sobě jdoucích cyklech. Během prvního cyklu vznikají z jedné molekuly DNA dvě kopie. Pokud se takových cyklů během jednoho měření provede 25–30, vytvoří se milióny kopií původní DNA. Výsledkem PCR je namnožená templátová DNA. Proto je třeba použít techniky na vyhodnocení těchto výsledků, například gelová nebo kapilární elektroforéza nebo stanovení sekvence DNA sekvenováním (Bártová, 2011).

Pomocí sekvenování DNA určujeme pořadí nukleotidů v molekule DNA. Pro sekvenování bylo vyvinuto velké množství různých metod a technik. Z tradičních metod se používá Sangerovo sekvenování a z moderních metod sekvenační metody druhé generace, které jsou na rozdíl od Sangerovy metody detekovat přidávání bází jednu po druhé a zároveň sekvenovat tisíce až milióny rozdílných molekul DNA najednou. Jejich hlavní nevýhodou oproti Sangerově metodě je krátká maximální délky výsledných sekvencí, která se pohybuje od 100 do 500 bází. Sangerova metoda nabízí až 1000 bází. Nevýhodou moderních metod je i menší přesnost a častější chyby při čtení. V posledních několika letech se začaly využívat metody sekvenování třetí generace, kde dochází ke čtení signálu z jediné (původní) molekuly DNA. Sekvenační metody se stále vyvíjejí, mění a některé metody zanikají. Díky novým levnějším sekvenačním technologiím může být analyzováno

velké množství sekvenčních dat. Sekvenční homologie se hledají v NCBI databázi pomocí programu BLAST (Kolísko, 2017).

ZÁVĚR

Cílem práce bylo objasnit a shrnout možnosti přenosu antibiotické rezistence grampozitivních koků izolovaných z drůbeže. Má práce byla výjimečná tím, že se věnovala právě grampozitivním kokům, přestože mnohem častěji jsou z drůbežího masa izolovány gramnegativní bakterie jako *Salmonella*, *Escherichia coli* nebo *Campylobacter*. Z doložených studií se mi podařilo prokázat, že v mase mohou být přítomny i grampozitivní koky a jejich multirezistentní kmeny, které mohou mít nežádoucí dopad na zdraví hostitele, snižovat účinnost antibiotik, a tím prodlužovat a komplikovat léčbu.

V bakalářské práci jsem se nejprve zabývala shrnutím dlouhé historie antibiotik. Poté jsem uvedla příklady jednotlivých antibiotik a popsala jejich mechanismy cílení na mikroorganismy, které spočívají v inhibici buněčné stěny, cytoplazmatické membrány, proteosyntézy, syntézy nukleových kyselin a kyseliny listové. Další kapitola pojednává o antibiotické rezistenci o mechanismech, kterými se bakterie brání účinkům antibiotických látek. Jsou zde shrnuty principy rezistence vybraných grampozitivních koků, zvolila jsem *Staphylococcus aureus* a *Enterococcus* spp. Další kapitola popisovala zahraniční studie, které se zabývaly multirezistentními kmeny *Staphylococcus aureus* a *Enterococcus* spp. a jejich citlivostí na vybraná antibiotika. Výsledky těchto studií potvrdily fakt, že i přes celosvětové snahy o snížení aplikace antimikrobiálních látek jsou stále multirezistentní mikroorganismy v drůbežím mase přítomny. Z masa se šíří rezistentní bakterie dál do okolí a dříve nebo později i přes veškeré snahy dostanou do kontaktu i s člověkem. Aby bylo možné si ověřit, zda je izolovaná bakterie k antibiotikům citlivá nebo rezistentní, používají se fenotypové (diluční a difuzní) nebo genotypové metody stanovení, které jsou blíže popsány v poslední kapitole.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

AGHAMOHAMMAD, Shadi a Mahdi ROHANI, 2023. Antibiotic resistance and the alternatives to conventional antibiotics: The role of probiotics and microbiota in combating antimicrobial resistance. *Microbiological Research* [online]. February 2023, **267** [cit. 2023-05-10]. ISSN 09445013. Dostupné z: doi:10.1016/j.micres.2022.127275

ALI ALGHAMDI, Bandar et al., 2023. Antimicrobial resistance in methicillin-resistant staphylococcus aureus. *Saudi Journal of Biological Sciences* [online]. February 2023, **30(4)** [cit. 2023-05-10]. ISSN 1319562X. Dostupné z: doi:10.1016/j.sjbs.2023.103604

AMINOV, Rustam I., 2010. A Brief History of the Antibiotic Era: Lessons Learned and Challenges for the Future. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2010, **1** [cit. 2023-05-10]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2010.00134

ANONYM, 2018. Antimikrobiální rezistence (AMR): Cesta k uvážlivějšímu používání antimikrobiálních látek a antibiotik. *European Commission, Consumers, Health, Agriculture and Food Executive Agency* [online]. © 2019 (1), 4 [cit. 2023-05-10]. Dostupné z: <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/124fd00b-ebad-11e8-b690-01aa75ed71a1/language-cs/format-PDF>

ANONYM, 2022. EUCAST: Metoda - Rychlé vyšetření antibiotické citlivosti EUCAST přímo z pozitivních hemokultivačních lahviček (RAST, Rapid Antibacterial Susceptibility Testing). *EUCAST* [online]. © 2022, [cit. 2023-05-11]. Dostupné z: https://szu.cz/wp-content/uploads/2023/03/RAST_metoda_v_3.0.pdf

BÁRTOVÁ, Eva. Molekulární biologie. *PCR (polymerázová řetězová reakce)* [online]. © 2011 [cit. 2023-05-16]. Dostupné z: https://cit.vfu.cz/opvk2011/?title=popis_metod-pcr&lang=cz

BENDOVÁ, Ludmila, 2017. Léčivé rostlinné drogy tradiční čínské medicíny a možnosti jejich uplatnění. *Praktické lékařství* [online]. 2017, **7(2)**. ISSN 1338-3132. Dostupné z: <https://www.solen.cz/pdfs/lek/2017/01/07.pdf>

BENEŠ, Jiří, 2018. *Antibiotika: systematika, vlastnosti, použití*. 1. Vydání. Praha: Grada Publishing, a.s. 2018. ISBN 978-80-271-0636-3.

BORTOLAIA, V., C. ESPINOSA-GONGORA a L. GUARDABASSI, 2016. Human health risks associated with antimicrobial-resistant enterococci and *Staphylococcus aureus*

on poultry meat. *Clinical Microbiology and Infection* [online]. 2016, **22**(2), [cit. 2023-05-11]. ISSN 1198743X. Dostupné z: doi:10.1016/j.cmi.2015.12.003

BURSOVÁ, Šárka, Lenka NECIDOVÁ a Marta DUŠKOVÁ, 2014. *Mikrobiologie potravin a mikrobiologické laboratorní metody*. 1. Vydání, 2014. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. ISBN 978-80-7305-741-1.

BUSH, Karen a Patricia A. BRADFORD, 2016. B-Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* [online]. 2016, **6**(8) [cit. 2023-05-10]. ISSN 2157-1422. Dostupné z: doi:10.1101/cshperspect.a025247

COSGROVE E., Sara, 2003. Comparison of Mortality Associated with Methicillin-Resistant and MethicillinSusceptible Staphylococcus aureus Bacteremia: A Meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases* [online]. 2003, (36), 7 [cit. 2023-05-10]. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1086/345476

CUPÁKOVÁ, Šárka, Renáta KARPÍŠKOVÁ a Lenka NECIDOVÁ, 2010. *Mikrobiologie potravin - praktická cvičení II.: metody stanovení mikroorganismů v potravinách*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2010. ISBN 978-80-7305-126-6.

DARBY, Elizabeth M., 2023. Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. *Nature Reviews Microbiology volume* [online]. 2023, (21), 2023 [cit. 2023-05-10]. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1038/s41579-022-00820-y

EVROPSKÁ UNIE. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu. In: EUR- Lex. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/HTML/?uri=CELEX:02004R0853-20230215>

EVROPSKÁ UNIE. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 2019/6 ze dne 11. prosince 2018 o veterinárních přípravcích a o zrušení směrnice 2001/82/ES. In: EUR- Lex. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32019R0006&from=EN>

FOLTÝNOVÁ, Zdeňka, 2019. Obecná mikrobiologie I: Kvantitativní testy citlivosti. *Kvantitativní testy citlivosti* [online]. ©2019 [cit. 2023-05-11]. Dostupné z: <https://www.vovcr.cz/portal/topic/310?displayType=blocks>

GAJDOŠOVÁ, Markéta, 2015. *Mikrobiom, antibiotika, probiotika a prebiotika v běžné lékařské praxi* [online]. ©2015 [cit. 2023-05-10]. Dostupné z:

<http://docplayer.cz/21351302-M-i-k-r-o-b-i-o-m-antibiotika-probiotika-a-prebiotika-v-bezne-lekarenske-praxi-zari-2015.html>

GEORGE, Saira et al., 2022. Part I Antimicrobial resistance: Bacterial pathogens of dermatologic significance and implications of rising resistance. *Journal of the American Academy of Dermatology* [online]. 2022, **86**(6) [cit. 2023-05-10]. ISSN 01909622. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaad.2021.11.066

HANAKI, Hideaki et al., 2007. Occurrence of vancomycin-intermediate-resistant *Staphylococcus aureus* in Japan. *Journal of Infection and Chemotherapy* [online]. 2007, **13**(2) [cit. 2023-05-10]. ISSN 1341321X. Dostupné z: doi:10.1007/s10156-006-0498-Z

HANIKA, Jiří, 2013. *Farmaceutické inženýrství*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2013. ISBN 978-80-7080-859-7.

JAROLÍMKOVÁ, Alžběta, 2020. Bezpečnost potravin. *Evropská vize Jedno zdraví a snižování antibiotik* [online]. ©2020 [cit. 2023-05-07]. Dostupné z: <https://bezpecnostpotravin.cz/evropska-vize-jedno-zdravi-a-snizovani-antibiotik/>

JUBEH, Buthaina, Zeinab BREIJYEH a Rafik KARAMAN, 2020. Resistance of Gram-Positive Bacteria to Current Antibacterial Agents and Overcoming Approaches. *Molecules* [online]. 2020, **25**(12) [cit. 2023-05-10]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25122888

KAKOULLIS, Loukas a Eleni PAPACHRISTODOULOU, 2021. Mechanisms of Antibiotic Resistance in Important Gram-Positive and Gram-Negative Pathogens and Novel Antibiotic Solutions [online]. 2021 [cit. 2023-05-10]. Dostupné z: doi:10.3390/antibiotika10040415

KAPOOR, Garima, Saurabh SAIGAL a Ashok ELONGAVAN, 2017. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology* [online]. 2017, **33**(3) [cit. 2023-05-10]. ISSN 0970-9185. Dostupné z: doi:10.4103/joacp.JOACP_349_15

KHAN, Zeeshan A., Mohd F. SIDDIQUI a Seungkyung PARK, 2019. Current and Emerging Methods of Antibiotic Susceptibility Testing. *Diagnostics* [online]. 2019, **9**(2) [cit. 2023-05-11]. ISSN 2075-4418. Dostupné z: doi:10.3390/diagnostics9020049

KODEŠ, Zdeněk, 2022. Možnosti inhibice bakteriálního biofilmu. *Chemické listy* [online]. February 2022, **116**(6) [cit. 2023-05-10]. ISSN 0009 - 2770. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/issue/view/329/7>

KOLÍSKO, Martin, 2017. Moderní metody sekvenování DNA. Inflow: *Živa* [online]. 2017, **4**(3), [cit. 2023-05-10]. Dostupné z: <https://ziva.avcr.cz/files/ziva/pdf/moderni-metody-sekvenovani-dna.pdf>

KOPECKÁ, Jana a Gabriela ROTKOVÁ, 2017. *Skripta ke cvičení z obecné mikrobiologie, cytologie a morfologie bakterií: Úvod do identifikace bakterií, biochemické testy a standardizované identifikační systémy* [online]. ©2017 [cit. 2023-05-11]. Dostupné z: https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/js17/cviceni_mikrobiologie/web/pages/identifikace_bakterii.html

KŘIVÁNKOVÁ, Tereza, 2019. Etiologie drůbeže. *Etiologie drůbeže* [online]. ©2019 [cit. 2023-05-10]. Dostupné z: <https://cit.vfu.cz/oz/IVA/drubez/>

KUMAR, Gautam a Asha KIRAN TUDU, 2023. Tackling multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* by natural products and their analogues acting as NorA efflux pump inhibitors. Inflow: *Bioorganic & Medicinal Chemistry* [online]. 2023, **80** [cit. 2023-05-10]. ISSN 09680896. Dostupné z: doi:10.1016/j.bmc.2023.117187

LAI, Christopher K.C. et al., 2022. Overcoming the rising incidence and evolving mechanisms of antibiotic resistance by novel drug delivery approaches – An overview. Inflow: *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2022, **181** [cit. 2023-05-10]. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/j.addr.2021.114078

LEVY, Stuart B a Bonnie MARSHALL, 2004. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. Inflow: *Nature medicine* [online]. 2004 **8**(10) [cit. 2023-05-10]. Dostupné z: <https://www.nature.com/articles/nm1145>

LI, Weiyang a Guosheng ZHANG, 2022. Detection and various environmental factors of antibiotic resistance gene horizontal transfer. *Environmental Research* [online]. 2022, **212** [cit. 2023-05-10]. ISSN 00139351. Dostupné z: doi:10.1016/j.envres.2022.113267

MARMION, M. et al., 2021. The changing microbiome of poultry meat; from farm to fridge. *Food Microbiology* [online]. 2021, **99** [cit. 2023-05-11]. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2021.103823

MARTÍNKOVÁ, Jiřina, 2007. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů*. 1. Vydání. Praha: Grada, 2007. ISBN 978-80-247-1356-4.

MAUGERI, Gaetano, 2018. Identification and Antibiotic-Susceptibility Profiling of Infectious Bacterial Agents: A Review of Current and Future Trends. *Wiley Online Library: Biotechnology Journal* [online]. 2018, 18 [cit. 2023-05-10]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1002/biot.201700750>

MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ, 2022. Bezpečnost potravin. *Světový týden antimikrobiální osvěty upozorňuje na problém antimikrobiální rezistence* [online]. © 2019 [cit. 2023-05-11]. Dostupné z: <https://bezpecnostpotravin.cz/svetovy-tyden-antimikrobialni-osvety-upozornuje-na-problem-antimikrobialni-rezistence/>

MOJICA, Maria F et al., 2022. The urgent need for metallo- β -lactamase inhibitors: an unattended global threat. *The Lancet Infectious Diseases* [online]. 2022, **22**(1) [cit. 2023-05-10]. ISSN 14733099. Dostupné z: doi:10.1016/S1473-3099(20)30868-9

NHUNG, Nguyen Thi, Niwat CHANSIRIPORNCHAI a Juan J. CARRIQUE-MAS, 2017. Antimicrobial Resistance in Bacterial Poultry Pathogens: A Review. *Frontiers in Veterinary Science* [online]. 2017, **4** [cit. 2023-05-10]. ISSN 2297-1769. Dostupné z: doi:10.3389/fvets.2017.00126

NOVAIS, C. et al., 2005. High occurrence and persistence of antibiotic-resistant enterococci in poultry food samples in Portugal. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [online]. 2005, **56**(6), [cit. 2023-05-11]. ISSN 1460-2091. Dostupné z: doi:10.1093/jac/dki360

PERIS-VICENTE, J. et al., 2022. Liquid chromatography, a valuable tool in the determination of antibiotics in biological, food and environmental samples. *Microchemical Journal* [online]. 2022, **177** [cit. 2023-05-10]. ISSN 0026265X. Dostupné z: doi:10.1016/j.microc.2022.107309

RAO, Sangeeta et al., 2022. Antimicrobial resistance and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* collected from livestock, poultry and humans. *One Health* [online]. 2022, **15** [cit. 2023-05-10]. ISSN 23527714. Dostupné z: doi:10.1016/j.onehlt.2022.100407

REBELO, Andreia et al., 2023. Enterococcus spp. from chicken meat collected 20 years apart overcome multiple stresses occurring in the poultry production chain: Antibiotics,

copper and acids. Inflow: *International Journal of Food Microbiology* [online]. 2023, **384** [cit. 2023-05-11]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109981

ROTKOVÁ, Gabriela a Jana KOPECKÁ, 2017. *Skripta ke cvičení z obecné mikrobiologie, cytologie a morfologie bakterií: Stanovení citlivosti mikroorganismů k antibiotikům, stanovení koncentrace antibiotik* [online]. Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity, ©2017 [cit. 2023-05-11]. Dostupné z: https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/js17/cviceni_mikrobiologie/web/pages/stanoveni_citlivosti_atb.html

RŮŽIČKOVÁ, Markéta, 2020. *Antibiotická krize*. [online]. Akademie věd České republiky, ©2020 [cit. 2023-05-10]. Dostupné z: https://www.avcr.cz/export/sites/avcr.cz/cs/veda-a-vyzkum/avex/files/2020-01-ATB-krize_.pdf

SALÁKOVÁ, Alena, 2014. *Hygiena a technologie drůbeže, vajec a zvěřiny* [online]. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, ©2014. [cit. 2023-05-10]. ISBN 978-80-7305-720-6. Dostupné z: <https://fvhe.vfu.cz/files/hygiena-a-technologie-drubeze-vajec-a-zveriny.pdf>

SAMTIYA, Mrinal et al., 2022. Antimicrobial Resistance in the Food Chain: Trends, Mechanisms, Pathways, and Possible Regulation Strategies. Inflow: *Foods* [online]. 2022, **11**(19) [cit. 2023-05-11]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods11192966

SOUILLARD, Rozenn et al., 2022. Increasing incidence of Enterococcus-associated diseases in poultry in France over the past 15 years. Inflow: *Veterinary Microbiology* [online]. 2022, **269** [cit. 2023-05-11]. ISSN 03781135. Dostupné z: doi:10.1016/j.vetmic.2022.109426

SPÍŽEK, Jaroslav, 2016. *Boj s rezistencí na antibiotika: výzkumný program Potraviny pro budoucnost*. Středisko společných činností AV ČR, v.v.i., pro Kancelář Akademie věd ČR. Strategie AV21, ©2016 [cit. 2023-05-11]. ISBN 978-80-270-3114-6. Dostupné z: <https://www.academia.cz/uploads/media/preview/0001/04/6d0667c47faa80e5342c471ec2b13af5127d42da.pdf>

SPÍŽEK, Jaroslav, 1999. Rezistence na antibiotika: Je třeba hledat nové látky a nové postupy. Inflow: *Vesmír* [online]. 1999, **4**(78) [cit. 2023-05-16]. Dostupné z: <https://vesmir.cz/cz/casopis/archiv-casopisu/1999/cislo-1/rezistence-antibiotika.html>

STÁTNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV, 2022. Antibiotická rezistence. *Antibiotická rezistence v ČR? Máme ještě značné rezervy, shodují se lékaři* [online]. ©2022 [cit. 2023-05-07]. Dostupné z: <https://www.antibiotickarezistence.cz/antibioticka-rezistence-v-cr-mame-jeste-znacne-rezervy-shoduji-se-lekari/>

STÁTNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV, 2022. Bezpečnost potravin. *Mýtů o antibioticích je stále dost, proto Státní zdravotní ústav spouští další vlnu edukační kampaně Antibiotickarezistence.cz* [online]. ©2022 [cit. 2023-05-11]. Dostupné z: <https://bezpecnostpotravin.cz/mytu-o-antibioticich-je-stale-dost-proto-statni-zdravotni-ustav-spousti-dalsi-vlnu-edukacni-kampane-antibiotickarezistence-cz/>

STONE, T. W. a Gail DARLINGTON, 2003. *Léky, drogy, jedy*. 1. vydání. Praha: Academia, 2003. ISBN 80-200-1065-3.

ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila, 2002. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 3. Opravené a doplněné vydání. Praha: Academia, 2002. ISBN 80-200-1024-6.

UDDIN, Tanvir Mahtab et al., 2021. Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Inflow: Journal of Infection and Public Health* [online]. 2021, **14**(12) [cit. 2023-05-10]. ISSN 18760341. Dostupné z: [doi:10.1016/j.jiph.2021.10.020](https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.020)

VERMA, Tanya et al., 2022. Current challenges and advancements towards discovery and resistance of antibiotics. *Inflow: Journal of Molecular Structure* [online]. 2022, **1248** [cit. 2023-05-10]. ISSN 00222860. Dostupné z: [doi:10.1016/j.molstruc.2021.131380](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131380)

WATERS, Andrew E. et al., 2011. Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* in US Meat and Poultry. *Inflow: Clinical Infectious Diseases* [online]. 2011, **52**(10) [cit. 2023-05-10]. ISSN 1058-4838. Dostupné z: [doi:10.1093/cid/cir181](https://doi.org/10.1093/cid/cir181)

YANG, Yichao et al., 2019. Review of Antibiotic Resistance, Ecology, Dissemination, and Mitigation in U.S. Broiler Poultry Systems. *Inflow: Frontiers in Microbiology* [online]. 2019, **10** [cit. 2023-05-11]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: [doi:10.3389/fmicb.2019.02639](https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02639)

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AMP ampicilin

BLAST Basic Local Alignment Search Tool

CIP ciprofloxacin

č. číslo

DNA deoxyribonukleová kyselina

ERY erythromycin

ES Evropské společenství

EUCAST Evropských výbor pro testování antimikrobiální citlivosti

GEN gentamycin

CHL chloramfenikol

LA-MRSA Livestock associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

MAC Minimální antibiotická koncentrace

MCB Minimální baktericidní koncentrace

MIC Minimální inhibiční koncentrace

MRSA methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*

MSSA *Staphylococcus aureus* citlivý na methicilin

mRNA mediátorová ribonukleová kyselina

NCBI Národní centrum pro biotechnologické informace

NIT nitrofurantoin

Q/D quinupristin-dalfopristin

PBPs penicilin vazebné proteiny

PBP2a penicilin vazebný protein třídy A

PCR polymerázová řetězová reakce

RNA ribonukleová kyselina

S Svedberg

S. aureus *Staphylococcus aureus*

sp. species

spp. species (plural)

STR streptomycin

TET tetracyklin

tj. to je

tRNA transferová ribonukleová kyselina

tzv. tak zvaně

USA Spojené státy americké

VAN vankomycin

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1	Struktury beta laktamových ant antibiotik (Verma et al., 2022).....	16
Obrázek 2	Strukuta vankomycinu (Peris-Vicente et al., 2022).....	19
Obrázek 3	Strukutra tetracyklinu (Peris-Vicente et al., 2022).....	20
Obrázek 4	Struktura chinolonu (Peris-Vicente et al., 2022).....	21
Obrázek 5	Místa účinku antibiotik (Gajdošová, 2015).....	22
Obrázek 6	Schématické znázornění mechanismů horizontálního přenosu genů (Gajdošová, 2015).....	30
Obrázek 7	Srovnání šarží kuřecího masa (Rebelo et al., 2023).....	41

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Dělení penicilinových antibiotik dle spektra účinku (Beneš, 2018).....	15
Tabulka 2 Dělení cefalosporinových antibiotik dle spektra účinku (Beneš, 2018).....	17
Tabulka 3 Přirozená bakteriální rezistence vybraných grampozitivních koků k antibiotickým látkám (Beneš, 2018).....	34