

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích  
Zdravotně sociální fakulta

**Vývoj antibiotické rezistence na vybrané bakteriální  
druhy v komunitě a v nemocnici ve spádové oblasti  
oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Písek a.s.  
v letech 2000 - 2010**

bakalářská práce

Autor práce: Lucie Marešová  
Studijní program: Veřejné zdravotnictví  
Studijní obor: Ochrana veřejného zdraví  
Vedoucí práce: MUDr. Věra Kůrková

Datum odevzdání práce: 2.5.2012

## **Abstrakt**

Tato práce je zaměřena na vývoj antibiotické rezistence vybraných bakteriálních druhů, konkrétně *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae* v regionu Písek a v celé České republice v letech 2000 - 2010. Její neustálý nárůst je velkým problémem nejen v České republice, ale na celém světě.

V úvodní části práce je popsána problematika antibiotické rezistence, problematika antibakteriálních látek a také informace o systému EARS-Net.

Praktická část obsahuje vyhodnocení šíření rezistence v regionu Písek podle dat klinické mikrobiologie Nemocnice Písek, šíření rezistence v České republice podle EARS-Net a také spotřebu jednotlivých skupin antibiotik podle Státního ústavu pro kontrolu léčiv.

Antibiotická rezistence se neustále šíří a existuje pro to mnoho různých důvodů, například nevhodné používání antibiotické léčby nebo nedostatečné informace o bakteriálních patogenech, které nejčastěji způsobují infekční onemocnění.

## **Abstract**

This bachelor's dissertation is aimed to the development of antibiotal resistance by choosed kinds of bacteria, particulary *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in the region of Písek and also in the whole Czech Republic during the period 2000-2010.

There is described matter of the antibiotal resistance, antimicrobial agents and also information about the EARS-Net system in the beginning of this work.

The practical part contains the evaluation of resistance spread in the region of Písek according to the data of clinical microbiology of Nemocnice Písek, the spread of resistance in the Czech Republic according to the EARS-Net and also the consumption of individual groups of antibiotics according to the State Institute for Drug Control.

Antibiotal resistance is spreading constantly, for example because of inappropriate usage of the antibiotics or insufficient information about pathogens that cause infectious diseases the most frequently.

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracoval(a) samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to – v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne .....

.....

(jméno a příjmení)

### **Poděkování**

Touto cestou bych chtěla velice poděkovat své vedoucí práce, paní primářce MUDr. Věře Kůrkové za odborné vedení, poskytování cenných rad a připomínek a také za ochotu a trpělivost, kterou mi věnovala při psaní mé bakalářské práce.

## Obsah

ÚVOD.....	9
1. SOUČASNÝ STAV .....	10
1.1 Antibiotická rezistence bakterií .....	10
1.1.1 Cesty přenosu antibiotické rezistence.....	10
1.1.1.1 Transformace .....	10
1.1.1.2 Konjugace.....	11
1.1.1.3 Transdukce .....	11
1.1.2 Mechanismy antibiotické rezistence.....	11
1.1.2.1 Inhibice antibiotik bakteriálními enzymy.....	12
1.1.2.2 Změna propustnosti permeability bakteriální stěny .....	12
1.1.2.3 Změna struktury cílového místa pro zasahující antibiotikum .....	12
1.1.2.4 Vznik rezistence bakteriálním efluxem.....	13
1.1.3 Multirezistence.....	13
1.1.4 Rezistence k vybraným bakteriálním druhům .....	13
1.1.4.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	13
1.1.4.2 <i>Escherichia coli</i> .....	14
1.1.4.3 <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	14
1.1.5 Antimikrobiální látky v potravinách jako důvod vzniku rezistence .....	14
1.1.6 Problémy antibiotické rezistence v komunitě.....	15
1.1.7 Problémy antibiotické rezistence v nemocnicích.....	15
1.2 Antibakteriální látky .....	16
1.2.1 Mechanismy účinku antibakteriálních látek .....	16

1.2.1.1	Inhibice syntézy buněčné stěny .....	17
1.2.1.2	Inhibice syntézy nukleových kyselin.....	17
1.2.1.3	Poškození buněčné membrány .....	17
1.2.1.4	Inhibice proteosyntézy.....	17
1.2.1.5	Antimetabolity .....	18
1.2.2	Vybrané metody vyšetření citlivosti na antibiotika .....	18
1.2.2.1	Diluční metody .....	19
1.2.2.2	Disková difúzní metoda.....	21
1.2.3	Dělení antibiotik .....	22
1.2.3.1	Beta- laktamová antibiotika.....	22
1.2.3.2	Tetracykliny.....	23
1.2.3.3	Aminoglykosidy .....	23
1.2.3.4	Chinolony .....	23
1.2.3.5	Makrolidy .....	24
1.3	EARS-Net .....	24
1.3.1	EARS-Net v České republice .....	25
1.3.1.1	Metodika sběru dat .....	25
1.3.1.2	Zúčastněné laboratoře v ČR .....	26
2.	CÍL PRÁCE, VÝZKUMNÉ OTÁZKY .....	27
1.4	Cíl práce.....	27
1.5	Výzkumné otázky .....	27
3.	METODIKA.....	28
1.6	Použité metody výzkumu a sběru dat .....	28
1.7	Zpracování dat .....	28

4.	VÝSLEDKY.....	29
1.8	Hodnocení ATB rezistence u <i>P. aeruginosa</i> v letech 2000 - 2010.....	29
1.8.1	Vývoj ATB rezistence v Nemocnici Písek .....	29
1.8.2	Vývoj ATB rezistence v komunitě reg. Písek.....	31
1.8.3	Vývoj ATB rezistence v ČR .....	33
1.9	Hodnocení ATB rezistence u <i>E. coli</i> v letech 2000 - 2010.....	34
1.9.1	Vývoj ATB rezistence v Nemocnici Písek .....	34
1.9.2	Vývoj ATB rezistence v komunitě reg. Písek.....	36
1.9.3	Vývoj ATB rezistence v ČR .....	38
1.10	Hodnocení ATB rezistence u <i>K. pneumoniae</i> v letech 2000 - 2010.....	40
1.10.1	Vývoj ATB rezistence v Nemocnici Písek .....	40
1.10.2	Vývoj ATB rezistence v komunitě reg. Písek.....	42
1.10.3	Vývoj ATB rezistence v ČR .....	44
1.11	Spotřeba ATB v ČR.....	45
5.	DISKUZE .....	47
6.	ZÁVĚR.....	50
7.	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ.....	51
8.	KLÍČOVÁ SLOVA.....	55



## ÚVOD

Antibiotická rezistence je všeobecně řešeným a závažným problémem. Rezistentní bakterie představují závažný problém jak ve zdravotnických zařízeních, tak ve společnosti a vedou ke zvýšení nemocnosti a úmrtnosti. Toto téma jsem si zvolila právě kvůli jeho závažnosti, protože pokud by se problém antibiotické rezistence podceňoval, mohlo by to mít pro společnost nedozírné následky. Nárůst antibiotické rezistence se odvíjí hlavně od špatného zacházení s antibiotiky. Pro svou práci jsem zvolila hodnocení stavu rezistence v regionu Písek a dále v celé ČR proto, že vývoj rezistence může být jiný v jednotlivých oblastech oproti celku. Pro hodnocení vývoje rezistence jsem zvolila tři zástupce gram-negativních bakterií, jelikož jsou významné z hlediska šíření nozokomiálních infekcí, jsou to *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae*.

V teoretické části práce se zabývám problematikou antibiotické rezistence, dále problematikou antibakteriálních látek a také zde informuji o systému EARS-Net. Neuvážené zacházení s antibakteriálními látkami má negativní vliv a to zejména na nárůst antibiotické rezistence bakterií vůči nim. Na vzniku rezistence se podílí řada dalších mechanismů.

EARS-Net (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network) je mezinárodní síť národních systémů surveillance antibiotické rezistence u bakterií nejčastěji se vyskytujících na území Evropy. K roku 2011 bylo zapojeno v tomto systému 28 zemí Evropy. Česká republika se připojila v roce 2000 a od ledna tohoto roku sledují laboratoře v ČR nejčastější původce invazivních infekcí a podílejí se také na vyšší informovanosti o antibiotické rezistenci, na jejím předcházení a také na tom, aby již dále počet rezistentních kmenů nenarůstal.

# 1. SOUČASNÝ STAV

## 1.1 Antibiotická rezistence bakterií

### 1.1.1 Cesty přenosu antibiotické rezistence

Některé druhy bakterií jsou rezistentní k antibakteriálním látkám přirozeně, jde o primární rezistenci. Dále se může rezistence projevit působením selekčního tlaku antibiotik, důsledkem toho přežívají pouze ty bakterie, které jsou nositeli genů rezistence k danému antibiotiku, v tomto případě se jedná o sekundární rezistenci. Rezistence může vznikat buď horizontálním přenosem nebo mutacemi DNA. Šíření rezistence horizontálním přenosem je nejčastější způsob přenosu a může probíhat i mezi jednotlivými druhy. Cestou horizontálního přenosu může být transformace, konjugace nebo transdukce (18).

#### 1.1.1.1 Transformace

Transformace je jev, kdy bakterie (*recipientní*) převezme část DNA od jiné bakterie (*donorové*) a včlení jí do svého chromosomu. Procesu a transformace je schopná pouze kompetentní buňka. Přenáší se jen okolo 10 genů, a to zcela náhodně z jakékoliv části genomu. Transformující DNA pochází od rozložených bakterií. U grampozitivních bakterií vyžaduje transformace přítomnost peptidu, nazývaného kompetenční faktor. Dárčovská DNA se naváže na buněčný povrch, jedno vlákno je rozloženo a druhé je vneseno do buňky pomocí zvláštního proteinu. U gramnegativních bakterií není třeba kompetenčního faktoru, ale transformovat se mohou jen navzájem příbuzné bakterie. Transformací se mohou do bakteriální buňky dostat transpozony, které nesou geny rezistence (28).

### 1.1.1.2 Konjugace

Při bakteriální konjugaci dochází k přenosu genetické informace přímým stykem mezi buňkami. Pro přenos je důležitý plazmid (konjugativní F-plazmid), který je přítomný v donorové buňce. V konjugovaném plazmidu jsou obsaženy geny, které tvoří pily (tzv. sex-pili) a nimiž prochází vlákno z donorové DNA do recipientní buňky. Dále je dosyntetizována DNA v obou buňkách. Následkem konjugace je vytvoření dvou rovnocenných buněk, které obsahují konjugativní plazmid (28).

### 1.1.1.3 Transdukce

Transdukci se rozumí přenos bakteriálních genů pomocí *bakteriofágů* (bakteriálních virů), kam se geny dostanou víceméně chybou nebo omylem (28). Bakteriofágy mají schopnost do bakteriálního chromozomu integrovat svou genetickou informaci. Tato genetická informace může být opětovně z chromozomu vyštěpena a virus opustí buňku. Jestliže nedojde k přesnému vyštěpení této DNA, virus s sebou přenáší i část původní bakteriální DNA. Pokud virus infikuje další bakterii, pak se přenesou i tato část genetické informace (9).

### 1.1.2 Mechanismy antibiotické rezistence

Existuje několik mechanismů pro vznik antibiotické rezistence. Nejčastějším podkladem rezistence je *inaktivace* antibiotika vlivem bakteriálních enzymů, například beta-laktamáz. *Změna cílové molekuly* antibiotika je nejvýznamnější u rezistence na beta-laktamy, kdy jsou změněny molekuly, na které je antibiotikum vázáno. *Zhoršený průnik* antibiotika do buňky je znám například u aminoglykosidů nebo chinolonů a dále u těchto antibiotik může být rezistence vyvolána schopností mikroba antibiotikum *aktivně vyčerpávat* z buňky (30).

#### *1.1.2.1 Inhibice antibiotik bakteriálními enzymy*

Inhibici antibiotik pomocí bakteriálních enzymů zprostředkovávají beta-laktamázy, štěpí beta-laktamový kruh a tím dochází k inaktivaci antibiotika. Tento mechanismus je uplatňován proti penicilinovým a cefalosporinovým antibiotikům (4). U gram pozitivních bakterií beta-laktamová antibiotika snadno vstupují do buněk a beta-laktamáza se uvolňuje do vnějšího prostředí a tím snižuje koncentraci antibiotika v blízkosti buňky. U gram negativních bakterií buněčná stěna zpomalí vstup antibiotika do buňky. Beta-laktamáza může proto zbavovat účinnosti jen ty molekuly antibiotika, které vnikly do buňky. Antibiotikum, které zůstane v prostředí, není pro bakteriální buňku škodlivé (22).

#### *1.1.2.2 Změna propustnosti permeability bakteriální stěny*

Ke vzniku rezistence tímto mechanismem dochází znemožněním průniku antibiotika do bakteriální buňky (11). Pozměněním struktur buněčných povrchů nebo membrán může docházet ke snížení citlivosti na antibiotika. Například snížená produkce porinů, proteinů přítomných v membránách a tvořících hydrofilní kanálky, které umožňují vstup některých antibiotik, u gram negativních bakterií (4).

#### *1.1.2.3 Změna struktury cílového místa pro zasahující antibiotikum*

Zde můžeme zvolit jako příklad modifikaci PBP (penicilin-binding proteins) (11). Jedná se o enzymy tvořící zkřížené vazby u peptidoglykanů a dále mají schopnost vázat peniciliny a beta-laktamy. Pokud na sebe tyto proteiny naváže antibiotikum, jejich funkce se inhibuje a tím se naruší syntéza buněčné stěny. Modifikace oslabí vazbu s antibiotiky a to následně vede k rezistenci (4).

#### 1.1.2.4 *Vznik rezistence bakteriálním efluxem*

Přítomnost aktivního efluxového systému umožňuje u bakterií zvýšené vylučování antibiotika z bakteriální buňky (11). K odčerpávání využívají buňky energii získanou hydrolýzou ATP nebo energii protonového gradientu. Efluxní čerpadla ovlivňují zejména makrolidy, tetracykliny a fluorochinolony (4).

#### 1.1.3 *Multirezistence*

Některé bakterie mohou být rezistentní současně k několika příbuzným antibiotikům, ale i k antibiotikům s odlišnou chemickou strukturou. U příbuzných antibiotik se jedná obvykle o jeden mechanismus *zkřížené rezistence*, ale jedná-li se o rezistenci k různým antibiotikům, pak se mechanismy kumulují, protože zde hrají roli různé geny. Některé kmeny *Staphylococcus spp.* rezistentní k oxacilinu (ORSA) jsou často rezistentní ke gentamicinu, ciprofloxacinu, erytromycinu, tetracyklinu aj., evidentně rozdílným antibiotikům. Obdobně jsou multirezistentní také některé kmeny z *Pneumococcus spp.* rezistentní k penicilinu. Multirezistence velmi často vzniká získáním genů z plazmidů nebo transpozonů (21).

#### 1.1.4 *Rezistence k vybraným bakteriálním druhům*

##### 1.1.4.1 *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* má schopnost rychle vyvinout rezistenci k několika skupinám antibiotik, zejména k ofloxacinu, ciprofloxacinu, gentamicinu aj. (15). Několik různých epidemiologických studií se zaměřilo na výskyt tohoto patogenu a prokázalo z klinických izolátů, že rezistence vůči antibiotikům stále narůstá. *Pseudomonas aeruginosa* představuje závažný problém u pacientů hospitalizovaných s rakovinou, cystickou fibrózou a popáleninami (24). Má schopnost velmi rychle přejímat od jiných mikrobů geny kódující *mnohočetnou rezistenci* k antibakteriálním látkám a

předávat je dalším kmenům. Toto je důsledek lavinového šíření polyrezistentních kmenů po klinikách (29).

#### 1.1.4.2 *Escherichia coli*

*Escherichia coli* je jednou z mála enterobakterií, která není primárně rezistentní k ampicilinu, avšak počet rezistentních kmenů stále stoupá (29). Má schopnost produkovat *beta-laktamázu*, která hydrolyzuje *beta-laktamový kruh* a díky tomu se stává rezistentní k působení *beta-laktamových antibiotik*. Geny této rezistence bývají často uloženy na plasmidu a tím se stává genetická informace snadno přístupná k předávání jiným bakteriím. Dále může být rezistentní například vůči *fluorochinolonům* nebo *aminoglykosidům* (5).

#### 1.1.4.3 *Klebsiella pneumoniae*

*Klebsiella pneumoniae* je primárně rezistentní pouze k ampicilinu (29). Kmeny *K.pneumoniae* mimo jiné, mají schopnost produkovat enzymy *KPC (Klebsiella pneumoniae carbapenemase)*. Tyto kmeny se vyznačují širokým rozptylem MIC karbapenemů a velmi často se u nich vyskytuje heterorezistence (10). Rychlé šíření tohoto enzymu omezuje účinnost karbapenemů v léčbě multirezistentních infekcí (3).

#### 1.1.5 *Antimikrobiální látky v potravinách jako důvod vzniku rezistence*

Při používání antimikrobiálních látek při výrobě potravin živočišného původu se projevily značné výhody, například zlepšení zdraví zvířat a vyšší produkce. Ale nevýhody naopak jsou, že používání antibiotik pro zemědělské účely, zejména pro posílení růstu vede ke zvýšenému výskytu bakterií rezistentních vůči antibiotikům u člověka (1). Potravinou mohou být zdrojem antibiotikům rezistentních genů (20).

### ***1.1.6 Problémy antibiotické rezistence v komunitě***

Veliké rozšíření antibiotik do oblasti primární a ambulantní péče nese s sebou také riziko vzestupu antibiotické rezistence. Přitom se udává, že 50-70 % všech indikací antibiotické léčby lze v této oblasti považovat jako neoprávněné a nevhodné. Nevhodné indikace se týkají nejvíce virových respiračních infekcí. Nevhodné je často také spektrum užívaných antibiotik, pokud se dává přednost alternativním, rezervním antibiotikům před léky volby s ověřenou účinností, pod dojmem spolehlivějšího efektu. Iracionální nedůvěru k základním antibiotikům lze přitom zaznamenat nejenom mezi laiky, ale také i mezi profesionály. Rychlost vzestupu rezistence je určena intenzitou selekčního tlaku, který se obvykle hodnotí v definovaných denních dávkách na 1000 obyvatel a den (12).

### ***1.1.7 Problémy antibiotické rezistence v nemocnicích***

V nemocnicích jsou některé oblasti zdravotní péče spojené dlouhodobě s vysokou spotřebou antibiotik a v důsledku toho také s vysokým rizikem výskytu rezistence. Jsou to zejména pracoviště intenzivní medicíny (intenzivní péče spotřebovává 60-80 % všech antibiotik používaných u hospitalizovaných pacientů), velmi významná jsou onkologická pracoviště (hematoonkologie) a chirurgické disciplíny (antibiotická profylaxe chirurgických výkonů). Je známo, že epidemiologická situace se velmi liší mezi nemocnicemi, významné rozdíly existují dokonce mezi jednotlivými odděleními téže nemocnice. Tato skutečnost vyžaduje zavedení optimálního systému sledování lokálních epidemiologických změn, které jsou jedním z klíčových parametrů pro kvalifikované, rozumné a účinné používání antibiotik, omezující riziko vzestupu rezistence. To mimo jiné znamená, že pro antibiotickou léčbu nozokomiálních infekcí nelze vytvářet univerzálně platné směrnice, které mohou být v lokálních podmínkách zavádějící a paradoxně mohou spíše přispívat k akceleraci rezistence (12).

## 1.2 Antibakteriální látky

Jsou látky původně mikrobiálního původu a užívají se pro léčbu infekčních onemocnění. Ne však každá látka s antimikrobiálním účinkem se může používat jako lék. Antibiotikum nesmí poškozovat eukaryotní buňky, musí splňovat požadavek *selektivní toxicity* a přitom jeho účinek na eukaryotní buňky musí být zanedbatelný nebo nejlépe žádný. Žádné antibiotikum není pro makroorganismus zcela neškodné, protože není tělu vlastní. Antibiotika jsou nejčastěji produkty půdních mikroorganismů. Jejich účinek je *bakteriostatický*, pokud jen zabraňují růstu a množení bakterií. Účinek *bakteriocidní* znamená usmrcení bakterií. Také ale některá bakteriostatická antibiotika mohou ve vyšších koncentracích působit bakteriocidně (2).

Odlišné mikroorganismy jsou různě citlivé k jednotlivým antimikrobiálním látkám a snahou je vybrat proti každému původci to nejvhodnější chemoterapeutikum. Existují však antibiotika, která mají široké spektrum účinku a působí proti většímu počtu patogenních kmenů. Antibakteriální účinnost a specifická účinku na jednotlivé druhy původců infekčních onemocnění je zjišťována testy *in vitro*. Dále jsou také určovány koncentrace účinné látky, *minimální inhibiční koncentrace (MIC)*, které právě již postačují k tomu, aby usmrtily nebo potlačily bakteriální agens (16).

### 1.2.1 Mechanismy účinku antibakteriálních látek

Antimikrobiální látky se liší skladbou a také velikostí molekuly, proto je různý jejich mechanismus účinku. Citlivé místo v buňce, kde se antibiotikum váže a zabrání tak jeho funkci se nazývá cílová struktura. Na ní závisí, která syntéza makromolekul je v buňce zasažena (21).

Mechanismus účinku antibakteriálních látek popisuje způsoby zásahu antibiotik do syntézy makromolekul bakterií. Avšak přes značný počet účinných látek lze počet míst zásahu a způsob zásahu rozdělit jen do několika skupin (14).



#### *1.2.1.1 Inhibice syntézy buněčné stěny*

Je podkladem bakteriocidního účinku antibiotika. Důsledkem vazby antibiotik na enzymy buňky, které se podílejí na syntéze stěny buňky se bakteriální buňka přestane dělit a uhyne. Například *beta-laktamová antibiotika* se vážou na enzymy PBP a inhibují syntézu bakteriální stěny blokadou transpeptidačních reakcí, které konstituují a zpevňují peptidoglykan ve stěně příčnými vazbami (14).

#### *1.2.1.2 Inhibice syntézy nukleových kyselin*

Probíhá při replikaci DNA nebo při transkripci (14). Inhibitory syntézy nukleových kyselin jsou rovněž baktericidní, ale toxičtější než inhibitory, které brzdí syntézu bakteriální stěny. Chinolony ovlivňují bakteriální DNA-gyrasu, váží se na komplex, který tvoří gyraza a DNA a zabraňují replikaci bakteriálního chromozomu. Nitroimidazoly (metronidazol) rozrušují již hotovou DNA. S transkripcí (se syntézou mRNA) interferují ansamyciny (rifampicin). Syntézu DNA kvasinek inhibuje flucytosin a na DNA dermatofytů působí griseofulvin (28).

#### *1.2.1.3 Poškození buněčné membrány*

Antibiotika, která působí tímto mechanismem zapříčiňují zánik buněk tím, že způsobují ztrátu selektivní permeability a integrity buněk (14). Jedná se o polypeptidická antibiotika (kolistin, polymyxin B). Patří sem rovněž i antimykotika ze skupiny azolů (ketokanazol, flukonazol aj.) a polyenů (amfotericin B, nystatin) (28).

#### *1.2.1.4 Inhibice proteosyntézy*

Antimikrobiální látky působí na ribosomech a jejich účinek je rozdílný v místě zásahu. Například tetracykliny se vážou na 30S podjednotku ribosomu, interferují s aminoacyl-t-RNA v iniciačním komplexu a zabraňují její vazbě na 30S ribosom, tím

nejsou k dispozici aminokyseliny pro syntézu peptidového řetězce. Jejich vazba je reverzibilní. Další skupinou antibiotik bránících syntéze bílkovin jsou aminoglykosidy, které vazbou na 30S ribosom inhibují po průniku do buňky tvorbu iniciačního komplexu. Při translaci způsobují mylnou četbu kódu (misreading), která ale *in vitro* nemá předpokládaný účinek tvorby nefunkčních enzymů. Vznikají mutilované molekuly bílkovin, protože tímto je ukončena translace. Pro vazbu na ribosom existuje specifická bílkovina, která však u rezistentních mutant chybí. Je zde ireverzibilní vazba na ribosom. Dále sem patří například makrolidy (2).

#### *1.2.1.5 Antimetabolity*

Mechanismus inhibice metabolismu bakterií je základ pro bakteriostatický účinek sulfonamidů, trimetoprimu nebo například pyrimetaminu. Sulfonamidy jsou strukturální analoga a kompetitivní antagonisté kyseliny para-aminobenzoové (PABA) a brání využití PABA k syntéze kyseliny listové. Jsou účinné jen na ty bakterie, které si musí syntetizovat svou kyselinu listovou (14). Trimetoprim a pyrimetamin inhibuje reduktázu dihydrofolátu a vznik tetrahydrofolátu, to následuje po konverzi PABA na dihydrofolát. Jeho účinek je bakteriostatický (2).

#### **1.2.2 Vybrané metody vyšetření citlivosti na antibiotika**

Jednou z nejvýznamnějších činností mikrobiologické laboratoře je vyšetření citlivosti původce infekčního onemocnění k antibiotikům. Je prokázáno, že náklady na empirickou léčbu infekcí bez mikrobiologického podkladu, ke které se podávají neúčinná antibiotika nebo širokospektrá antibiotika pro získání pocitu jistoty, mnohonásobně převyšují součet nákladů na mikrobiologické vyšetření a cílenou léčbu (27). Stanovení citlivosti bakterií na antibiotika je velmi důležitou informací pro plánování a řízení antibiotické terapie v prevenci vzniku rezistence bakterií (8).

Dlouhodobě se potvrzuje dobrá korelace mezi výsledky vyšetření citlivosti původce infekce k určitým antibiotikům a úspěchem léčby. Antibiotikum, ke kterému je původce *in vitro* rezistentní, téměř vždy selhává v léčbě. Naopak klinická účinnost antibiotika, ke

kterému je původce infekce in vitro citlivý, může být také negativně ovlivněna například prodlevou v zahájení léčby, stavem pacienta a dalšími faktory ze strany mikroba, antibiotika a pacienta. Proto pro předpověď účinku léčby má průkaz rezistence vyšší hodnotu než průkaz citlivosti (27).

Výběr a použití antibiotik je spojeno s určitým mikrobem, a to buď dokázaným v laboratoři, a nebo předpokládaným klinicky. Proto je potřeba původce onemocnění rychle a spolehlivě izolovat a určit. Materiál pro mikrobiologické vyšetření je třeba odebrat před započatím antibiotické léčby. Podle výsledků vyšetření je nutné zvolit terapii, pokud již probíhá, je možné ji upravit.

V laboratořích je určována citlivost na větší počet antimikrobiálních látek. Tím jsou dány předpoklady pro volbu správného léčiva. V nutných případech je možné stanovit i koncentraci antibiotika v tělních (19).

#### *1.2.2.1 Diluční metody*

Používají se k určení minimální koncentrace antibiotika, potřebného k inhibici růstu vyšetřovaného mikroba. Provádí se v agarových nebo bujonových půdách, které obsahují zvolené koncentrace antibiotik. Do půdy se očkuje standardní inokulum testovaného mikroba a po příslušné době inkubace se odečítá minimální inhibiční koncentrace (MIC) jako nejnížší množství antibiotika, které inhibuje viditelný růst. Obvykle se MIC vyjadřuje v mg/l. Kvalita výsledků závisí na přesně stanoveném dodržení metody a také se ověřuje systémem kontrol. Mezi diluční metody patří agarová diluční metoda, diluční mikrometoda a Etest (27).

Jednou z dilučních metod je agarová diluční metoda. Minimální inhibiční koncentrace se hodnotí v agarových půdách, které obsahují zvolené koncentrace antibiotik. Obvykle se připravuje 12-15 koncentrací jednoho antibiotika, ředěných dvojnásobně geometrickou řadou. Na půdy se očkuje standardní inokulum vyšetřovaných bakterií. Po příslušné době inkubace se odečítá MIC jako nejnížší

množství antibiotika, které inhibuje viditelný růst. Na jednu plotnu o průměru 90 mm lze očkovat ručně 20 kmenů, replikátorem 32-45 kmenů.

Výhody této metody jsou, že jí lze vyšetřit citlivost velkých souborů kmenů za stejných podmínek, je spolehlivá k hodnocení účinnosti nových antibiotik. Naopak nevýhodou je, že tato metoda je pracná a časově a ekonomicky náročná. Proto není praktická pro vyšetření citlivosti malého počtu nebo jednotlivých kmenů (27).

Další metodou je diluční mikrometoda, u které se MIC hodnotí v jamkách mikrotitrační destičky, které obsahují zvolené koncentrace antibiotik v bujonu. Do jamek se očkuje standardní inokulum vyšetřovaných bakterií. Po příslušné době inkubace se odečítá MIC jako nejnižší množství antibiotika, které inhibuje viditelný růst. Půdy s antibiotiky se rozplňují mechanickými rozplňovači do jamek mikrotitrační destičky s 96 jamkami s kulatým nebo kónickým dnem. Rozplňovaný objem je obvykle 100 ul/jamku. Počet koncentrací antibiotika závisí na uspořádání v destičce. Obvykle se připravuje 8 koncentrací jednoho antibiotika v dvojnásobné geometrické řadě a na jedné destičce se vyšetřuje MIC 12 antibiotik na jeden kmen.

Výhody této metody jsou, že příprava velkého množství (900 a více) destiček s různými půdami, antibiotiky a jejich koncentracemi je velmi snadná, dále jednoduché a snadné vyšetření MIC. Naopak nevýhody jsou vysoká cena rozplňovacího zařízení s 96 kanály a při přípravě destiček v laboratoři znehodnotí chyba v ředění celou sérii (27).

Poslední zmiňovanou diluční metodou je Etest. Jde o inertní plastický proužek, který na jedné své straně obsahuje exponenciální gradient koncentrací stabilizované antimikrobní látky v suchém stavu. Na druhé straně proužku je vyznačen kód antimikrobní látky a kontinuální stupnice, která obvykle odpovídá rozmezí 15 ředění antibiotika dvojnásobně geometrickou řadou. Stupnice slouží k odečítání MIC. Na povrch agarů, naočkovaných inokulem testovaného mikroba v takové koncentraci, aby výsledný růst byl splývavý, se přiloží Etest stranou, která obsahuje antimikrobiální látku. Prostředí, teplota a doba inkubace závisí na vyšetřovaném mikroorganismu. Po

inkubaci se vytváří kolem proužku Etestu elipsa inhibovaného růstu. MIC se odečítá v místě, kde elipsa přetíná okraj proužku.

Hlavní předností Etestu je jednoduchost provedení, které umožňuje pružně stanovit MIC jednotlivého antibiotika. Je vhodný pro mikroby s různými růstovými nároky, protože lze provést na různých půdách. Nevýhodou je vysoká cena a výsledky jsou ovlivněny koncentrací inokula (27).

#### *1.2.2.2 Disková difúzní metoda*

Používá se pro vyšetření citlivosti k antibiotikům u rychle rostoucích, nenáročných bakterií a určitých náročnějších bakterií. Výsledky umožňují zařadit bakteriální izolát do kvalitativní kategorie jako citlivý nebo rezistentní k určitému antibiotiku. Při pečlivém provedení a přísně dodržěném postupu je vysoká shoda mezi výsledky diskové difúzní metody a kvalitativními výsledky dilučních metod vyšetření citlivosti.

Princip spočívá v tom, že se stanoví citlivost nebo rezistence podle toho, zda vyšetřovaná bakterie ve stanovené koncentraci buněk na agarové půdě vytvoří nebo nevytvoří přípustnou zónu inhibice růstu kolem disku s určitou koncentrací antibiotika po předepsané době inkubace. Průměr zóny inhibice se u jednotlivých antibiotik liší v závislosti na rychlosti jejich difuze z disku a je v obráceném poměru k jejich minimální inhibiční koncentraci.

Mezi výhody této metody patří snadná a jednoduchá příprava, nevyžaduje speciální přístrojové zařízení, náklady jsou nižší než u jiných metod vyšetření citlivosti, výsledky jsou ve většině případů dostatečně spolehlivé pro předpověď klinické účinnosti antibiotik. Naopak metodu nelze použít pro mikroby s nízkou rychlostí růstu, se speciálními kultivačními nároky a pro anaeroby. Výsledky jsou významně ovlivněny koncentrací inokula (27).

### 1.2.3 Dělení antibiotik

#### 1.2.3.1 Beta- laktamová antibiotika

Beta-laktamová antibiotika obsahují tzv. betalaktamový kruh, jde o čtyřčlenou strukturu, která se skládá ze tří atomů uhlíku a jednoho atomu dusíku. Odlišné typy beta-laktamů se liší složením dalšího kruhu připojeného na cyklus beta-laktamový, například u penicilinů jde o pětičlenný kruh s atomem síry, u cefalosporinů o obdobný kruh šestičlenný. V bakteriální buňce se beta-laktamy vážou na enzymy, které se účastní tvorby peptidoglykanu, základní složky buněčné stěny. Zmiňované enzymy katalyzují tvorbu peptidových a glycinových můstků, které spojují řetězce střídajících se molekul N-acetylglukosaminu a kyseliny N-acetylmuramové. Mohou se označovat zkratkou PBP (z ang. penicillin-binding proteins, proteiny vázající penicilin). Vazba beta-laktamu na PBP zastaví v rostoucí bakterii tvorbu peptidoglykanové vrstvy a podnítlí uvolnění autolytických enzymů, které rozvolní již hotovou stěnu. Výsledek je rozpad bakteriální buňky. Působí tedy baktericidně. Mezi beta-laktamy patří například peniciliny a cefalosporiny.

Peniciliny jsou vysoce účinná antibiotika s velice nízkou toxicitou. Získávají se z kultury plísně *Penicillium chrysogenum* a dalších, které produkují kyselinu 6-aminopenicilanovou. V její molekule je beta-laktamový kruh konjugován s pětičlenným kruhem thiazolidinovým. Biochemické substituce tohoto meziprojektu vedou k rozmanitým druhům penicilinů, které se liší šířkou antibakteriálního spektra a stabilitou vůči nízkému pH a vůči beta-laktamasám. Dělí se na základní (acidolabilní a acidostabilní), rezistentní vůči stafylokokovým penicilinasám, aminopeniciliny, ureidopeniciliny a karboxypeniciliny.

Základem cefalosporinů je kyselina 7-aminocefalosporanová, která byla poprvé izolována z plísně rodu *Cephalosporium*. V její molekule je na beta-laktamový kruh připojen šestičlenný dihydrothiazinový cyklus obsahující atom síry. Působí stejně jako ostatní beta-laktamy. Inhibují syntézu buněčné stěny a na množící se bakterie působí baktericidně. Jejich spektrum působnosti je dosti široké a mají malou toxicitu, i když je

vyšší než u penicilinů. Rozdělují se do čtyř kategorií (cefalosporiny I., II., III. a IV. generace) podle spektra účinnosti, citlivosti vůči beta-laktamasám a podle průniku buněčnou stěnou (28).

#### *1.2.3.2 Tetracykliny*

Jejich molekula obsahuje čtyři šestičlenné kondenzované cykly. Jednotlivé tetracykliny se liší hlavně svými farmakologickými vlastnostmi. Jejich účinky a také spektrum je totožné. Podkladem jejich účinku je inhibice proteosyntézy- tetracykliny brání vazbě komplexu aminoacyl-tRNA na příslušné místo na ribozomu. Stejně tak by ale mohly působit v eukaryotických, ale jejich selektivní toxicita je dána tím, že buňky bakterií je přijímají mnohem snáze než například buňky lidské. Výsledný účinek tetracyklinů je bakteriostatický. Mají velmi široké spektrum účinnosti (28).

#### *1.2.3.3 Aminoglykosidy*

Většina aminoglykosidů jsou trisacharidy, které obsahují aminocukry. Základem molekuly těchto antibiotik je aminocyklitolový kruh. K tomuto kruhu jsou pak glykosidickou vazbou připojeny další dva aminocukry.

Působí na ribozomech v samém začátku bakteriální proteosyntézy. Výsledný účinek je baktericidní a je tím vyšší, čím více hladina aminoglykosidů přesahuje koncentraci zastavující množení mikroba, tedy MIC (28).

#### *1.2.3.4 Chinolony*

Tvoří velkou skupinu syntetických antimikrobiálních látek se zajímavým mechanismem účinku na molekulu DNA. Bakteriální chromosom tvoří uzavřený kruh, a proto rozvíjení rodičovských řetězců DNA během její replikace by mělo za následek druhotné stáčení molekuly DNA v sousedství rozplétaného místa, což by brzy další rozvíjení zastavilo. Tento prostorový problém řeší enzymy nazývané gyrasy, které

dvojitý řetězec postupně přerušují a opět navazují a zamezují tak druhotnému stáčení molekuly. Terčem chinolonů u gramnegativních mikrobů je aktivní podjednotka enzymu DNA-gyrasy, která odpovídá za štěpení a opětné spájení řetězce (28).

#### *1.2.3.5 Makrolidy*

Makrolidová antibiotika působí bakteriostaticky až baktericidně. Jejich antibiotické spektrum zahrnuje grampozitivní a gramnegativní bakterie, anaeroby, intracelulární patogeny a spirochety (17).

### **1.3 EARS-Net**

European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) je celoevropskou sítí vnitrostátních kontrolních systémů, které poskytují evropské referenční údaje o antimikrobiální rezistenci pro účely veřejného zdraví. Síť je koordinována a financována Evropským centrem pro prevenci a kontrolu infekčních onemocnění (7). Cílem je shromažďovat srovnatelné a validní údaje o antibiotické rezistenci (AR) pro veřejné zdravotnictví zúčastněných zemí a rychle identifikovat vznik nové AR na území Evropy. Sledování bylo zahájeno jako systém EARSS v roce 1998 a od roku 1999 byl zaveden ve všech zemích EU, v Norsku a Irsku. Česká republika se k EARSS připojila v roce 2000. V současnosti (k roku 2011) je zapojeno do EARS-Net více než 1000 mikrobiologických laboratoří z 28 zemí Evropy (26).

Sledování antibiotické rezistence hraje důležitou roli v poskytování informací a dokumentů o výskytu a šíření antimikrobiální rezistence. Sledování je důležité pro zvyšování povědomí o tomto problému na politické úrovni, mezi úředníky a v oblasti veřejného zdraví na vědecké (6).



### 1.3.1 EARS-Net v České republice

Od ledna roku 2000 sledují laboratoře v České republice původce invazivních infekcí způsobených *Streptococcus pneumoniae*, v červenci r. 2000 bylo zahájeno sledování *Staphylococcus aureus*. V roce 2001 se začala sledovat AR u invazivních izolátů *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* a od roku 2005 *Klebsiella pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa* (26). Sledované druhy, rok zahájení sledování v ČR a přípustné vzorky jsou znázorněny v následující tabulce (Tabulka 1).

Tab. 1. Sledované druhy bakterií (25).

Rok	Bakterie	Krev	Mozkomíšní mok
2000	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	-
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	+	+
2001	<i>Escherichia coli</i>	+	+
	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	-
	<i>Enterococcus faecium</i>	+	-
2005	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+

Koordinaci EARS-Net v ČR zajišťuje NRL pro antibiotika při SZÚ. Pro účely EARS-Net zaznamenávají zúčastněné laboratoře výsledky vyšetření citlivosti pouze k několika určitým antibiotikům, která jsou významná z hlediska léčby invazivní infekce způsobené daným původcem nebo pro epidemiologii AR (26).

#### 1.3.1.1 Metodika sběru dat

EARS-Net poskytuje informace o aktuálním stavu AR a jejich trendech u klinicky významných, invazivních bakterií na území Evropy, v jednotlivých evropských zemích a v lokalitách jedné země. Výsledky informují o rozdílech v AR mezi zeměmi Evropy a jsou nezbytné k hledání příčin rozdílů.

U sledovaných druhů bakterií se povinně vyšetřují antibiotika volby pro léčbu invazivní infekce, další antibiotika mohou být sledována pro strategický význam nebo slouží jako antibiotika indikátorová. Čím více antibiotik laboratoře sledují, tím je vyšší hodnota získaných výsledků, protože je možno zjistit další informace, např. sdruženou rezistenci (25).

#### *1.3.1.2 Zúčastněné laboratoře v ČR*

V roce 2000 se sběru údajů pro EARSS účastnilo celkem 482 mikrobiologických laboratoří z 18 zemí Evropy. Na začátku projektu v roce 2000 se do EARSS v ČR (CZ-EARSS) zapojilo 33 mikrobiologických laboratoří, na konci roku 2000 počet laboratoří vzrostl na 36, nyní (2011) je celkový počet 48. Všichni účastníci EARS-Net v ČR (CZ-EARS-Net) jsou členy Pracovní skupiny pro monitorování rezistence. Laboratoře CZ-EARS-Net při vyšetřování vzorků pacientů a určování citlivosti k antibiotikům postupují podle rutinních metod. Laboratoře vyšetřovaly v roce 2000 vzorky od pacientů hospitalizovaných celkem v 65 nemocnicích, v roce 2001 počet sledovaných nemocnic vzrostl na 70 a příslušná spádová oblast zahrnovala téměř 80% obyvatel ČR. Jedenáct z celkem 15 Fakultních nemocnic (FN) má oddělení pro transplantaci orgánů. Tyto nemocnice přijímají pacienty z příslušných spádových oblastí, případně z celého území ČR, jedna další nemocnice provádí specializované neurochirurgické výkony rovněž u pacientů z celé ČR (26).

## **2. CÍL PRÁCE, VÝZKUMNÉ OTÁZKY**

### **1.4 Cíl práce**

Cílem mé bakalářské práce je zpracovat rozsah tématu pomocí české i zahraniční literatury. V praktické části práce je hlavním úkolem zjistit stav aktuální antibiotické rezistence vybraných bakteriálních druhů na vybraná antibiotika v komunitě a v nemocnici ve spádové oblasti oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Písek, a.s. v letech 2000 - 2010 a porovnat rezistenci mezi jednotlivými roky. Dále pak tato data porovnat s daty celorepublikovými a zjistit vztah mezi stavem rezistence v jednotlivých letech v souvislosti se spotřebou antibiotik.

### **1.5 Výzkumné otázky**

Výzkumná otázka 1: Je pozorován významný rozdíl v antibiotické rezistenci mezi jednotlivými roky 2000-2010?

Výzkumná otázka 2: Je pozorován rozdíl dynamiky nárůstu rezistence v regionu Písek v porovnání s celorepublikovými daty?

Výzkumná otázka 3: Existuje vztah mezi spotřebou antibiotik a dynamikou nárůstu antibiotické rezistence?

### **3. METODIKA**

Výzkumnou část mé bakalářské práce jsem uskutečnila na základě dat sesbíraných od ledna roku 2000 do prosince roku 2010 formou kvalitativního výzkumu.

#### **1.6 Použité metody výzkumu a sběru dat**

Ke zpracování dat jsem zvolila kvalitativní formu výzkumu pomocí sekundární analýzy dat, tzv. reanalýzy, opětovného rozboru již shromážděných dat využitý pro jiný výzkumný záměr. Sekundární analýzou jsem zpracovala data již sesbíraná mikrobiologickou laboratoří Nemocnice Písek o stavu antibiotické rezistence k jednotlivým bakteriálním druhům v regionu Písek a data uvedená v databázi výsledků EARS-Net v rámci celé ČR. Dále jsem touto metodou zpracovala data shromažďovaná Státním ústavem pro kontrolu léčiv o hodnocení a distribuci léčivých přípravků za roky 2003 - 2010 a pomocí nich hodnotila možný vliv spotřeby antibiotik na stav antibiotické rezistence.

#### **1.7 Zpracování dat**

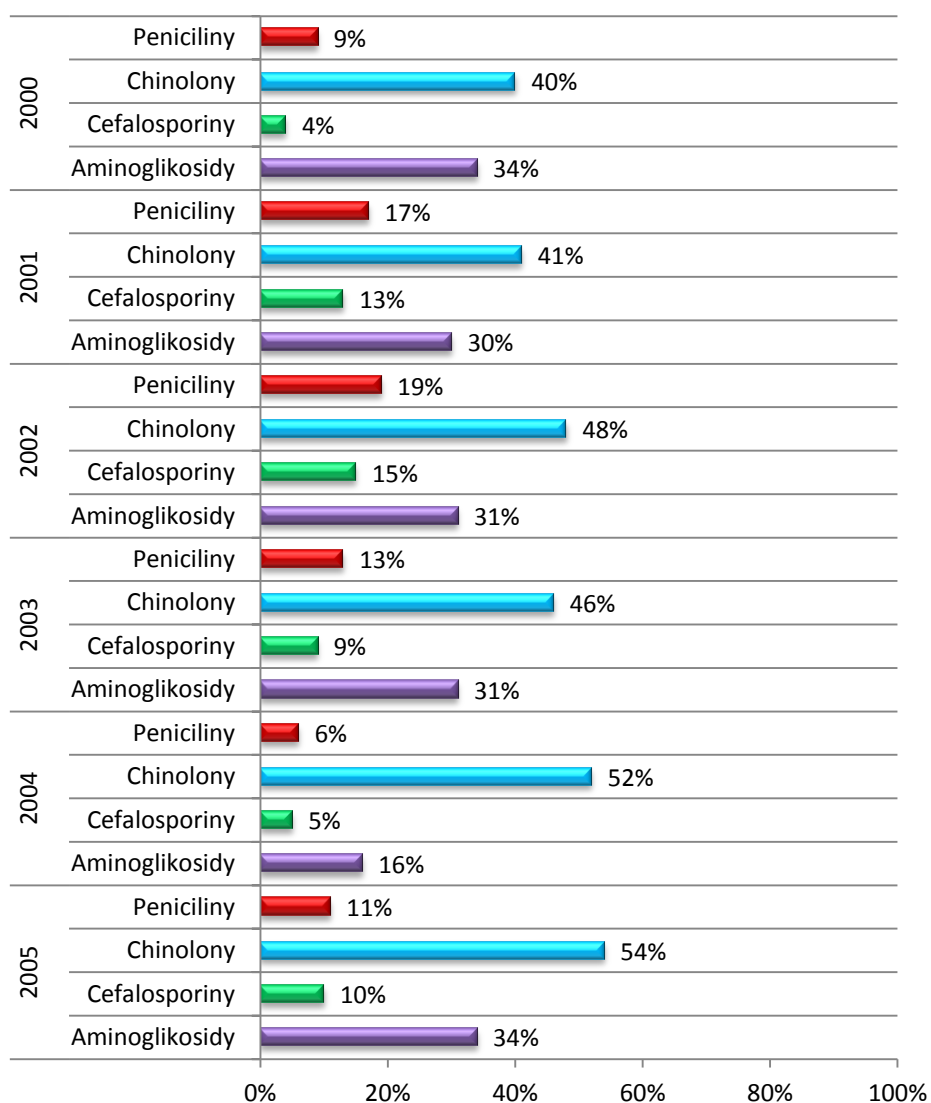
Sesbíraná data byla zpracována pomocí tabulek a následně grafů, které byly použity ve výsledcích. Z údajů získaných z mikrobiologické laboratoře Nemocnice Písek jsem vybrala tři nejvýznamnější bakteriální druhy z důvodu nejčastějšího vyvolávání komunitních nebo nemocničních invazivních infekcí. Výběr spočíval i na základě toho, které druhy bakterií podléhají sledování databáze EARS-Net v ČR z důvodu možného srovnání stavu antibiotické rezistence na tyto vybrané druhy v regionu Písek s celorepublikovými údaji. Data o spotřebě jednotlivých antibiotik, shromažďovaná Státním ústavem pro kontrolu léčiv, byla zpracována pomocí grafu.

## 4. VÝSLEDKY

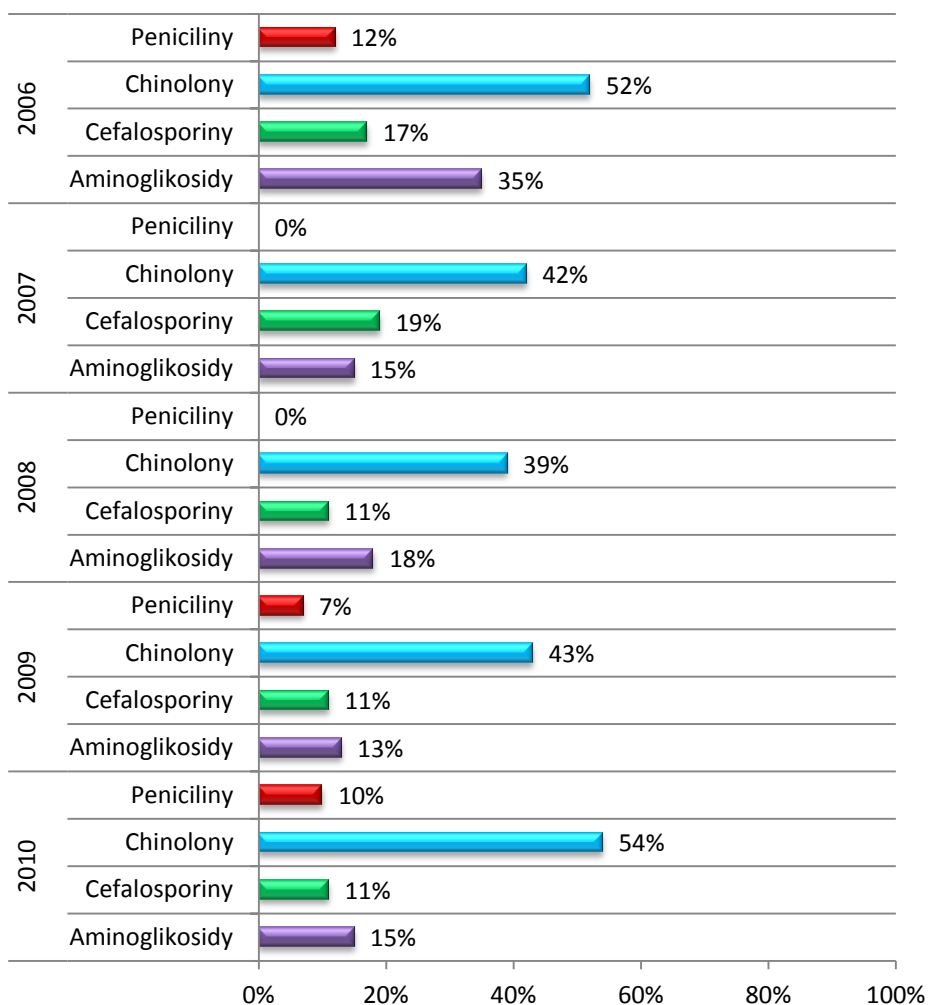
### 1.8 Hodnocení ATB rezistence u *P. aeruginosa* v letech 2000 - 2010

#### 1.8.1 Vývoj ATB rezistence v Nemocnici Písek

Graf č. 1 Vývoj ATB rezistence *Pseudomonas aeruginosa* v Nemocnici Písek v letech 2000 - 2005



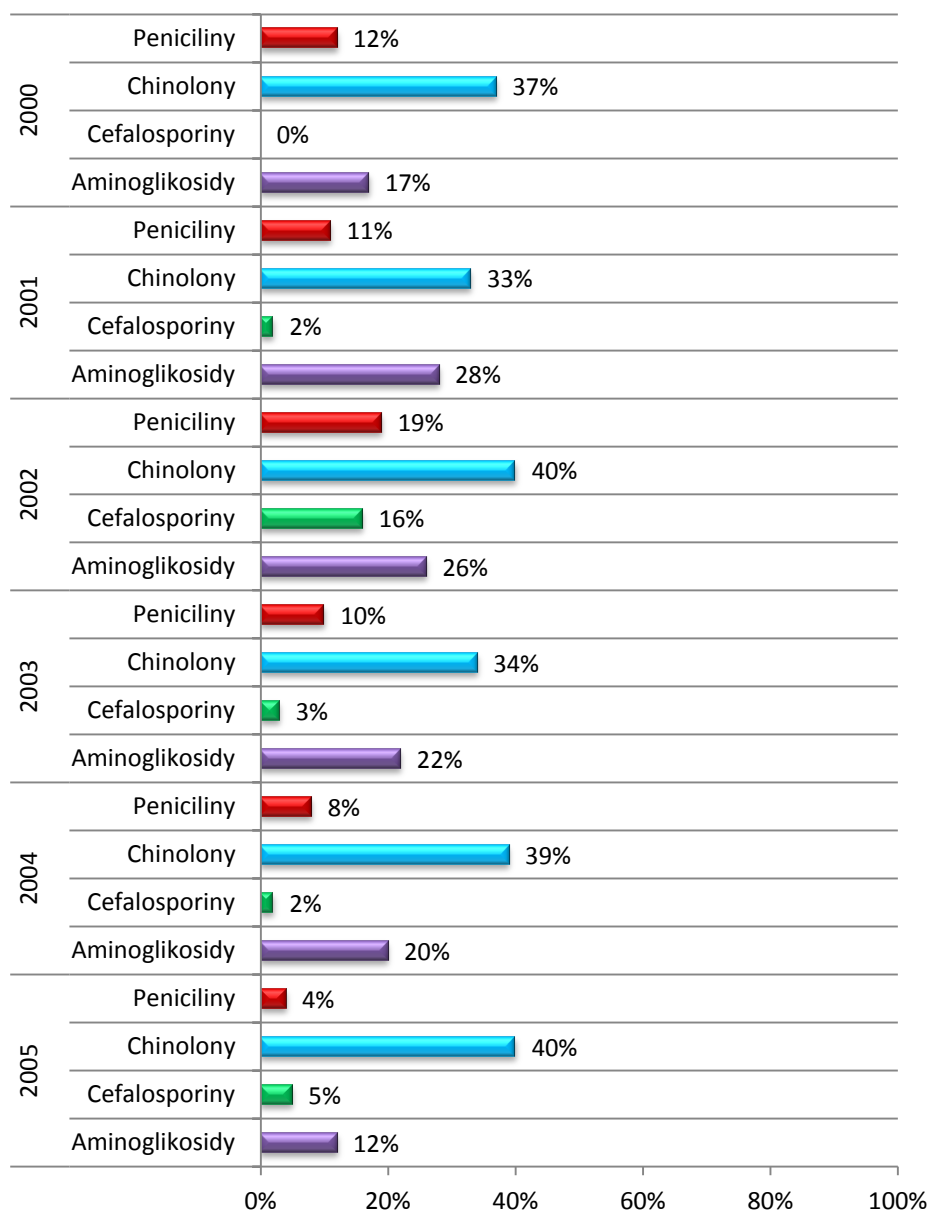
**Graf č. 2 Vývoj ATB rezistence *Pseudomonas aeruginosa* v Nemocnici Písek v letech 2006 - 2010**



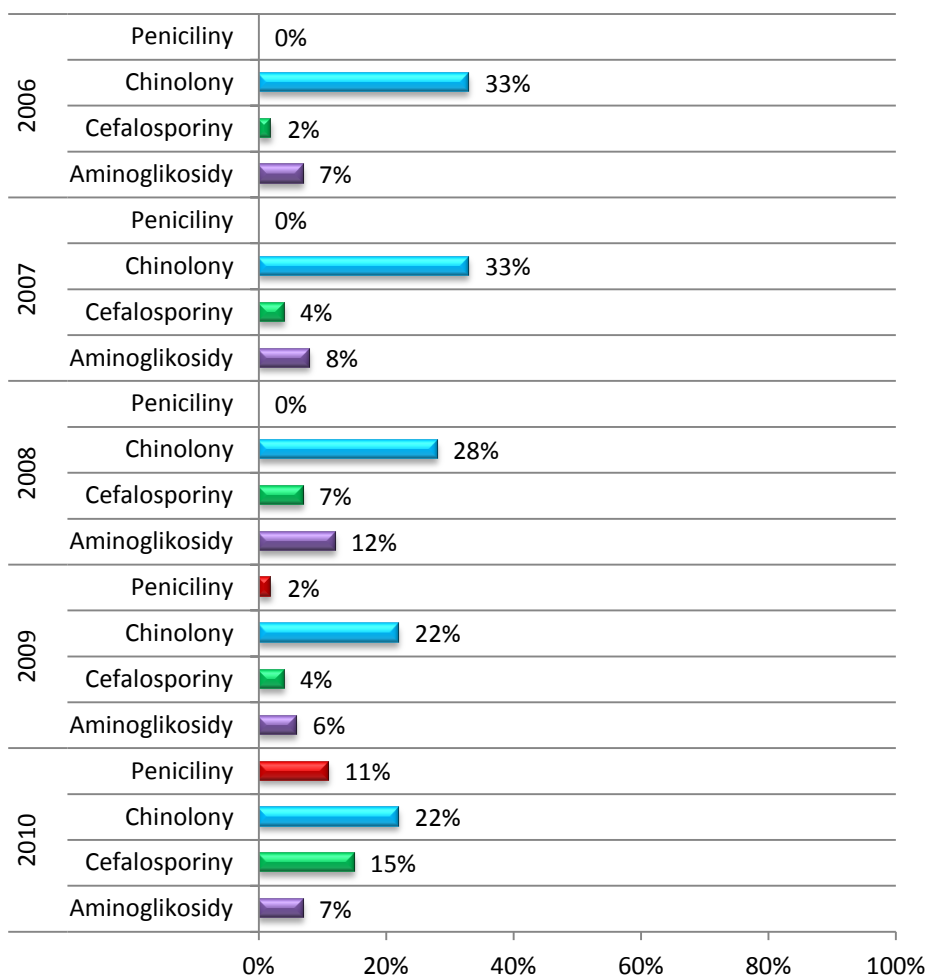
Z grafů č. 1 a 2 je zřejmé, že počet rezistentních izolátů u *Pseudomonas aeruginosa* v Nemocnici Písek k chinolonovým antibiotikům vzrostl ze 40% v roce 2000 až na 54% v roce 2005, roku 2008 klesl na 39%, ale roku 2010 dosahoval opět 54%. Rezistence k cefalosporinům vzrostla ze 4% v roce 2000 až na 19% v roce 2007, ale v letech 2008-2010 se udržuje na 11%. Rezistence k aminoglykosidům se pohybuje okolo 30% v letech 2000 - 2006, ačkoliv od roku 2007 jsme zaznamenali mírný pokles, v roce 2010 dosahovala rezistence 15%. Rezistence k penicilinovým antibiotikům se pohybuje mezi 9 - 19%, avšak roky 2007 a 2008 byla rezistence k těmto antibiotikům zanedbatelná.

### 1.8.2 Vývoj ATB rezistence v komunitě reg. Písek

Graf č. 3 Vývoj ATB rezistence *Pseudomonas aeruginosa* v komunitě reg. Písek v letech 2000 - 2005



**Graf č. 4 Vývoj ATB rezistence *Pseudomonas aeruginosa* v komunitě reg. Písek v letech 2006 - 2010**

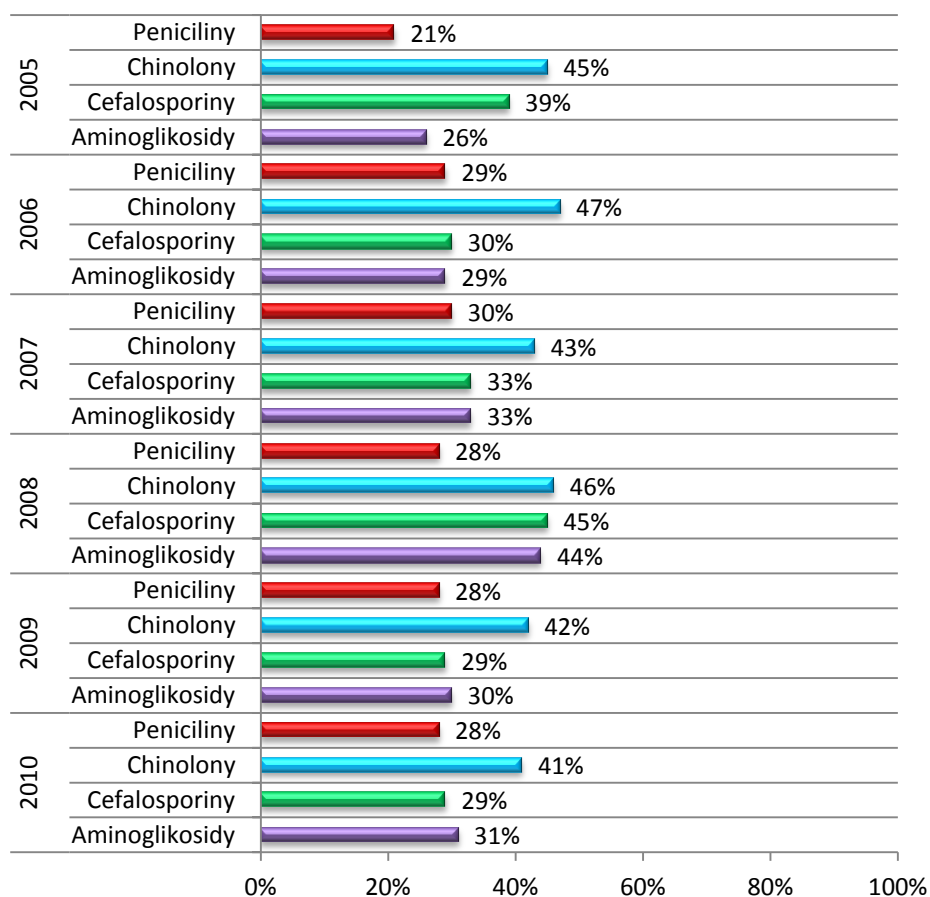


V grafech č. 3 a 4 je vidět, že rezistence v komunitě reg. Písek k chinolonovým antibiotikům u *Pseudomonas aeruginosa* z 37% roku 2000 vzrostla až na 40% v roce 2005, naopak v letech 2009 a 2010 klesla na 22%. Zde je viditelný rozdíl oproti nemocnici, kde se rezistence k roku 2010 rovnala 54%. Rezistence k cefalosporinům se drží pod hranicí 10%, kromě let 2002, kdy dosahovala 16% a 2010, kdy sahala k 15%. Rezistence k aminoglykosidům klesla z 28% v roce 2001 na 20% roku 2004 a roku 2010 dokonce až na 7%. Rezistence k penicilinům kolísá mezi 8 a 19% a roku 2010 je 11%.



### 1.8.3 Vývoj ATB rezistence v ČR

Graf č. 5 Vývoj ATB rezistence *Pseudomonas aeruginosa* v ČR v letech 2005 - 2010

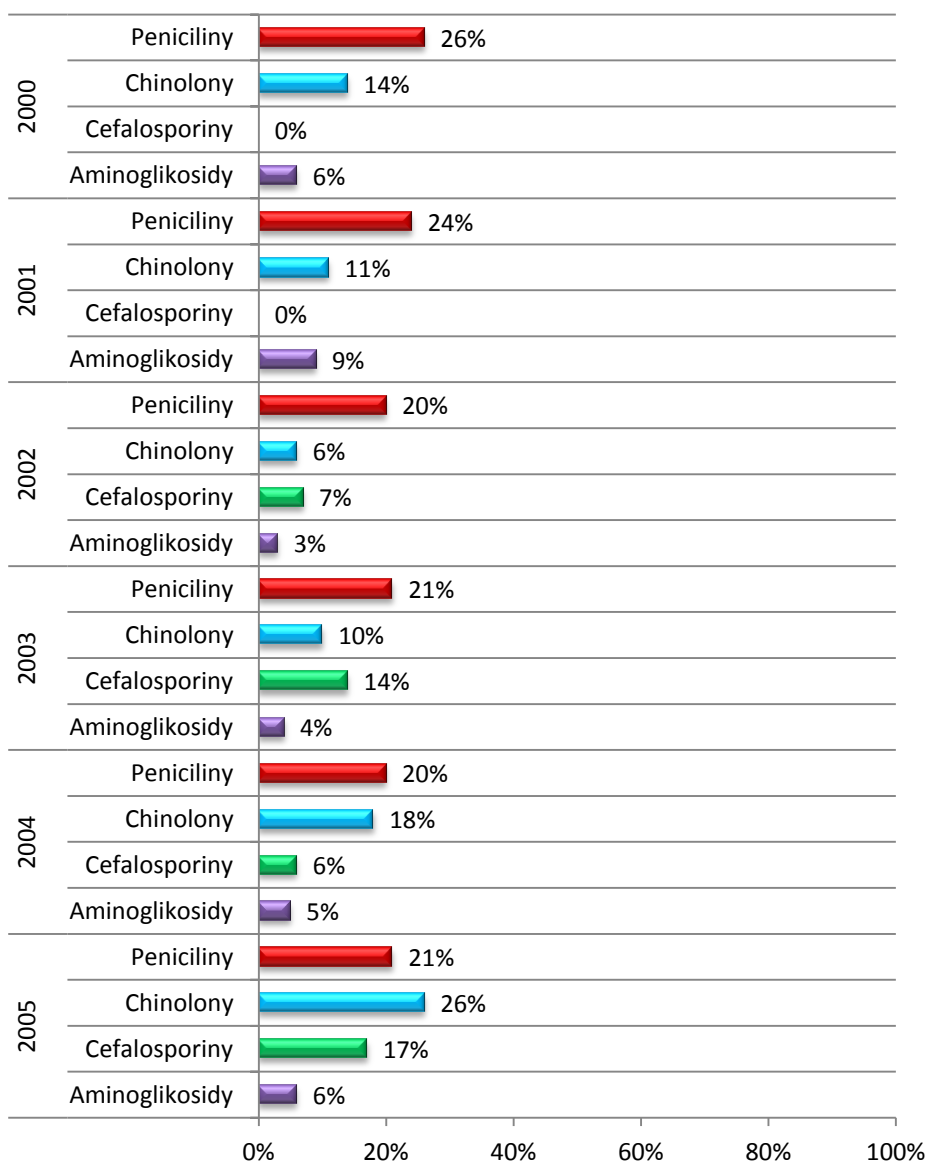


Rezistence u *Pseudomonas aeruginosa* podléhá sledování EARS-Net v ČR až od roku 2005, jak je vidět v grafu č. 5. Počet rezistentních izolátů k penicilinovým antibiotikům v ČR se roku 2005 rovnal 21%, k roku 2007 vzrostl na 30% a v letech 2008 - 2010 se udržuje na 28%. Toto je významný rozdíl oproti reg. Písek, kde rezistence k penicilinům dosahovala mnohem menších hodnot. Rezistence k chinolonovým antibiotikům se pohybovala mezi roky 2005 - 2008 mezi 43 a 47%, avšak roku 2010 klesla na 41%. Rezistence k cefalosporinům se pohybuje kolem 30%, výjimkou jsou jen roky 2005, kdy dosahovala 39% a 2008 sahala až k 45%. A u aminoglykosidů rezistence stoupla z 26% v roce 2005 na 44% roku 2008 a k roku 2010 klesla na 31%.

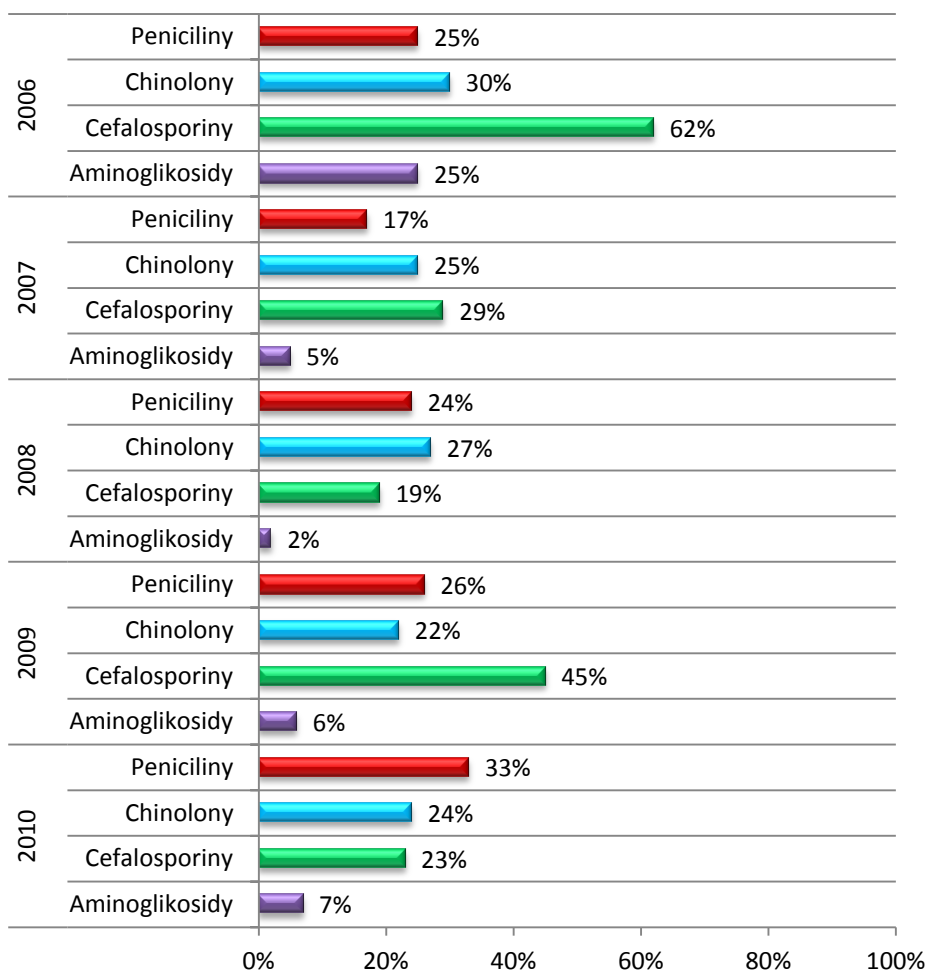
## 1.9 Hodnocení ATB rezistence u *E. coli* v letech 2000 - 2010

### 1.9.1 Vývoj ATB rezistence v Nemocnici Písek

Graf č. 6 Vývoj ATB rezistence *Escherichia coli* v Nemocnici Písek v letech 2000 - 2005



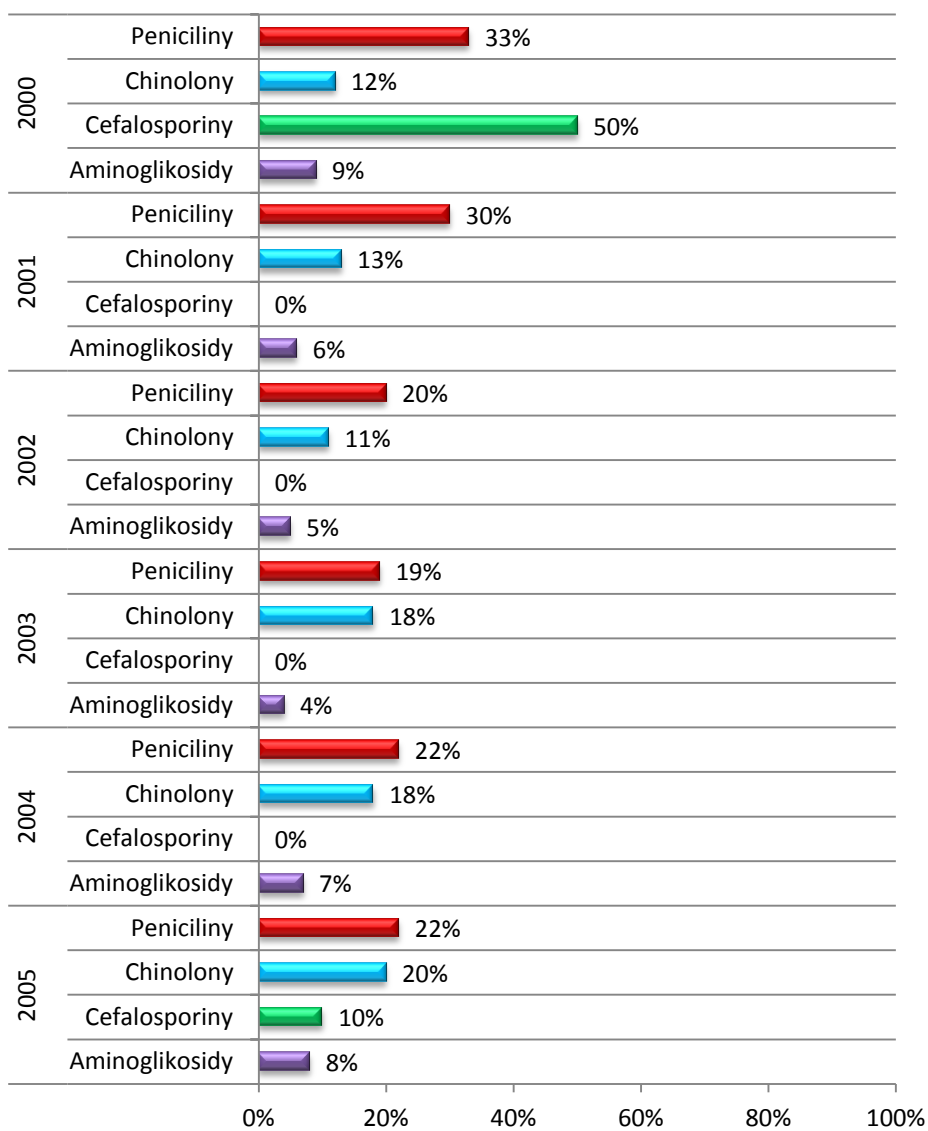
**Graf č. 7 Vývoj ATB rezistence *Escherichia coli* v Nemocnici Písek v letech 2006 - 2010**



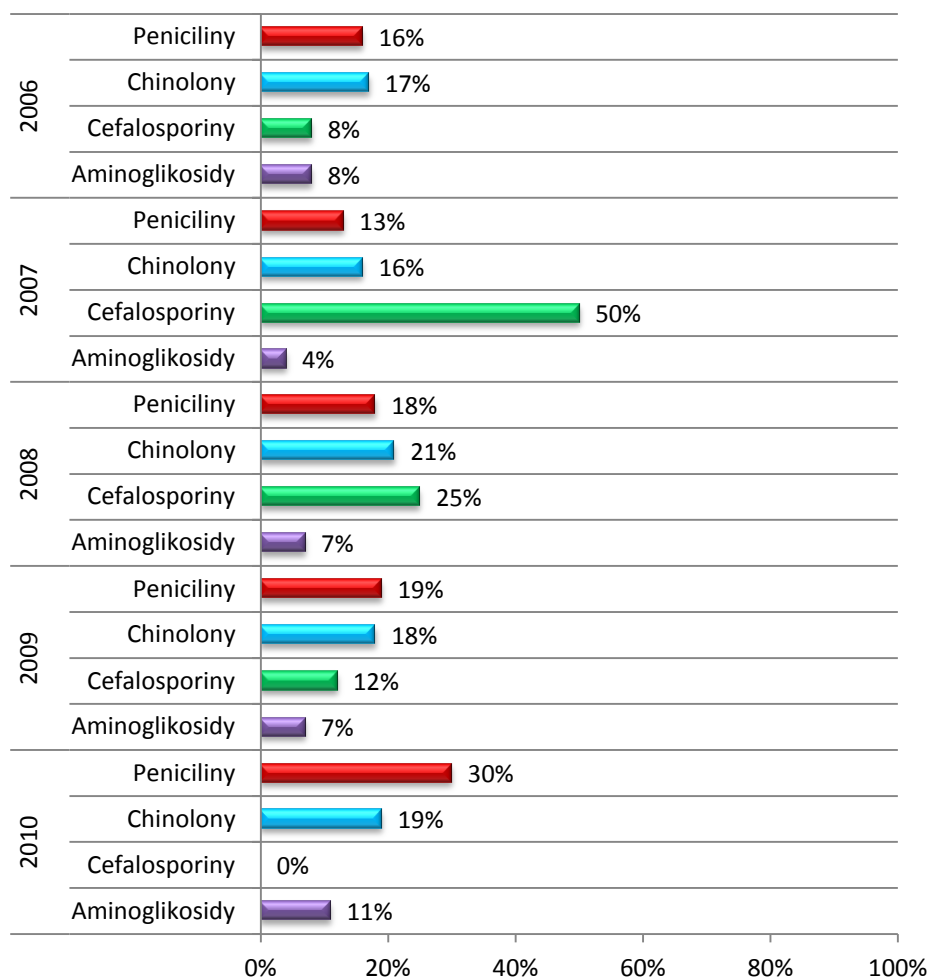
V grafech č. 6 a 7 je znázorněno, že u *Escherichia coli* v Nemocnici Písek se počet rezistentních izolátů k penicilinovým antibiotikům pohyboval v letech 2000 - 2005 mezi 20 až 26%, avšak k roku 2010 stoupl na 33%. Rezistence k chinolonům do roku 2004 zůstává pod hranicí 20%, ale roku 2006 dosahuje 30% a k roku 2010 klesá na 24%. Rezistence k cefalosporinům od roku 2002 pozvolna stoupá, k roku 2010 se rovná 23%, výjimkou jsou jen roky 2006, kdy dosahuje až 62% a 2009, kdy sahá k 45%. Rezistence k aminoglykosidům je pod hranicí 10%, výjimkou je jen rok 2006, kdy dosahuje 25%.

### 1.9.2 Vývoj ATB rezistence v komunitě reg. Písek

Graf č. 8 Vývoj ATB rezistence *Escherichia coli* v komunitě reg. Písek v letech 2000 - 2005



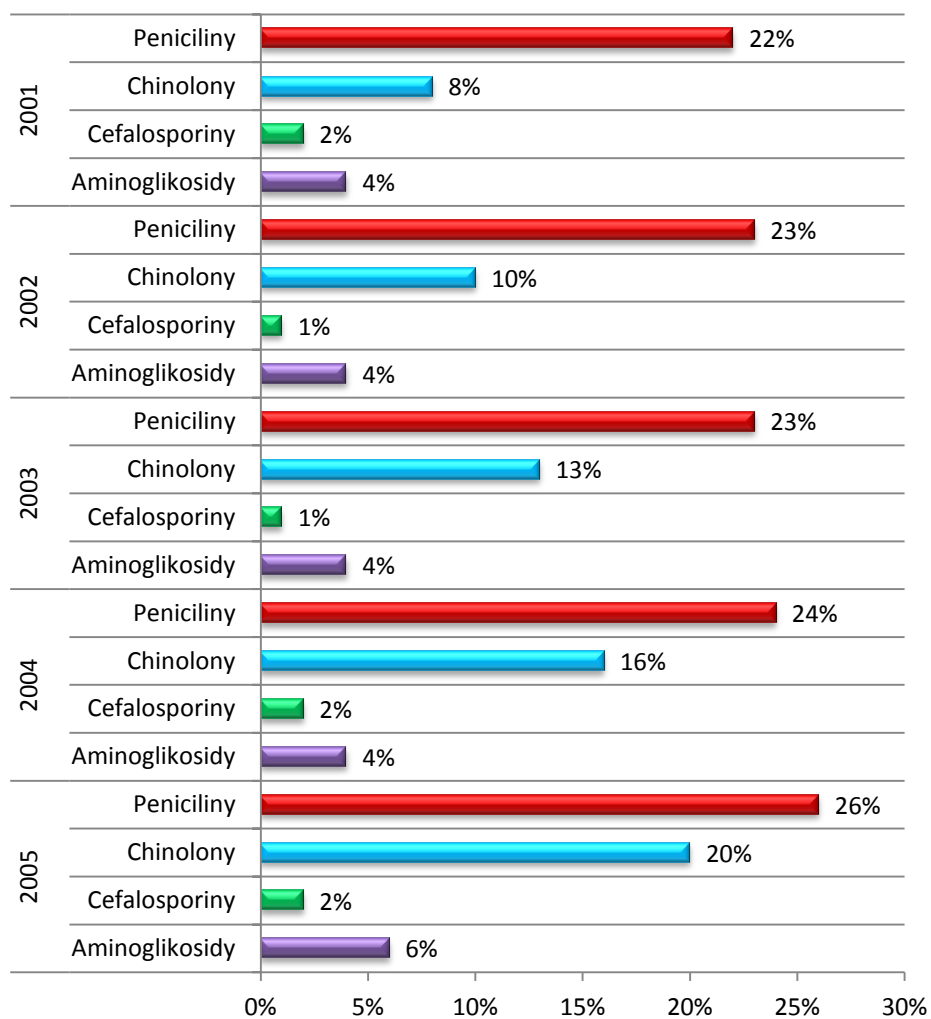
**Graf č. 9 Vývoj ATB rezistence *Escherichia coli* v komunitě reg. Písek v letech 2006 - 2010**



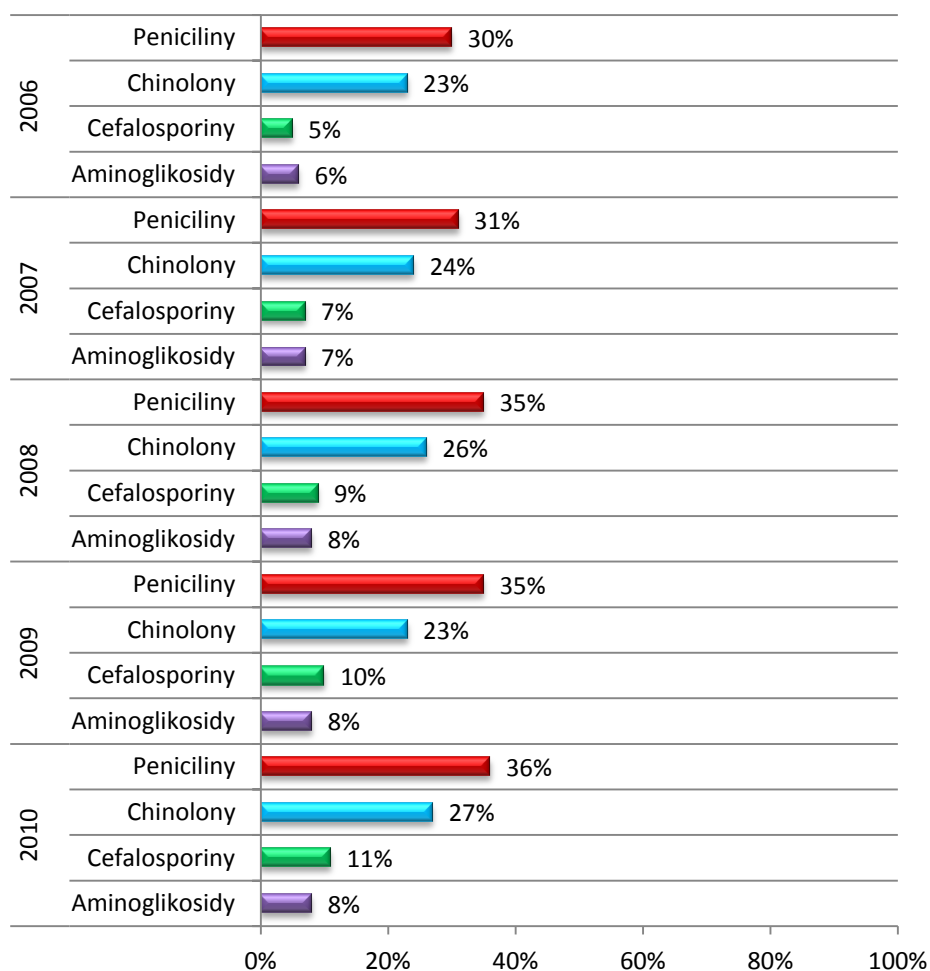
Z grafů č. 8 a 9 je zřejmé, že v komunitě reg. Písek se rezistence u *E. coli* k penicilinům pohybuje mezi 22% a 33%, k roku 2010 je 30%. Rezistence k chinolonům stoupá z 12% v roce 2000 na 18% roku 2004, na 21% roku 2008 a k roku 2010 se rovná 19%. Rezistence k cefalosporinům je pod úrovní 20%, ale roku 2000 dosahovala 50%, stejně jako roku 2007, roku 2008 klesla na 25% a roku 2009 na 12%. Rezistence k aminoglykosidům se udržuje mezi 4 až 9%, nejvíce dosáhla roku 2010, a to 11%.

### 1.9.3 Vývoj ATB rezistence v ČR

Graf č. 10 Vývoj ATB rezistence *Escherichia coli* v ČR v letech 2001 - 2005



**Graf č. 11 Vývoj ATB rezistence *Escherichia coli* v ČR v letech 2006 - 2010**

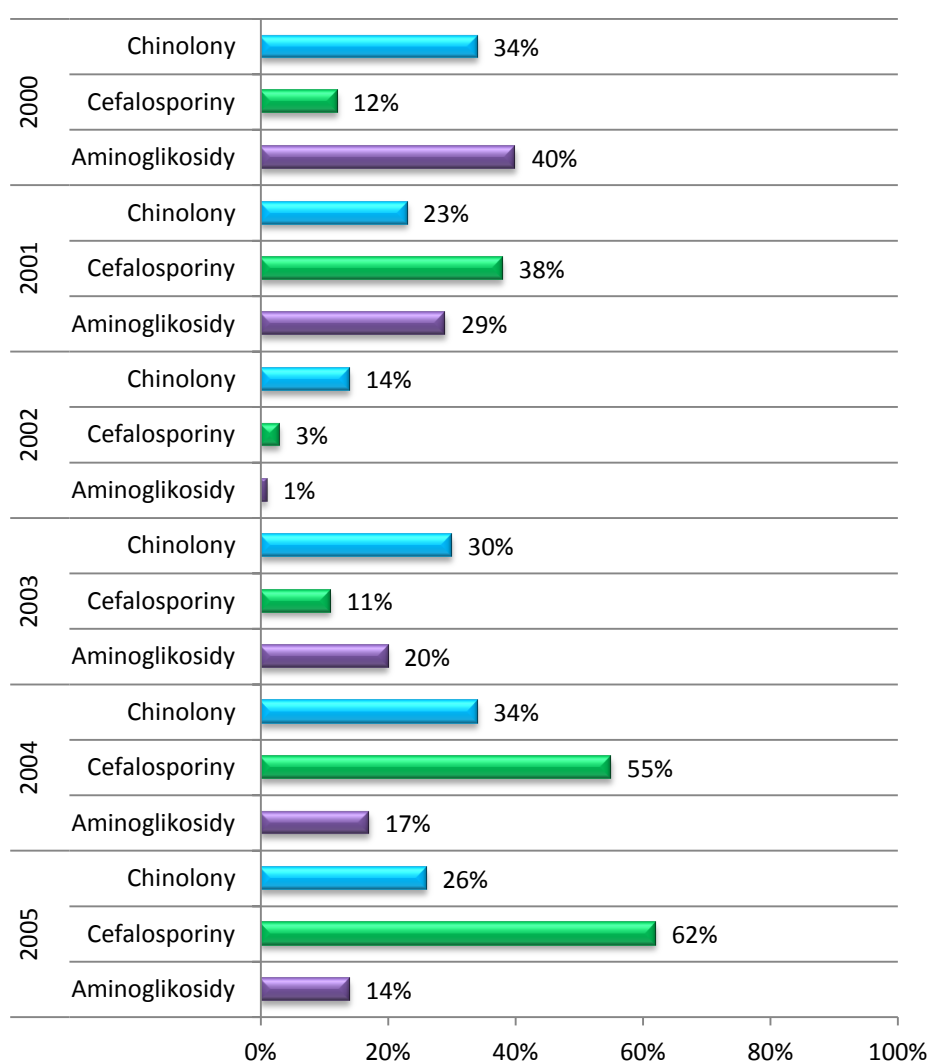


Rezistence u *E. coli* podléhá sledování EARS-Net v ČR od roku 2001, jak je vidět v grafech č. 10 a 11. Rezistence k penicilinovým antibiotikům vzrostla z 22% roku 2001 na 30% v roce 2006, roku 2008 na 35% a roku 2010 dosahovala 36%. Rezistence k chinolonovým antibiotikům vzrostla z 8% roku 2001 na 20% roku 2005, roku 2008 na 26% a roku 2010 se rovnala 27%. Rezistence k cefalosporinům se udržovala mezi 1 až 5% do roku 2006, roku 2008 stoupla na 9% a k roku 2010 na 11%. U aminoglikosidů rezistence mírně stoupá mezi roky ze 4% roku 2000 na 8% roku 2010.

## 1.10 Hodnocení ATB rezistence u *K. pneumoniae* v letech 2000 - 2010

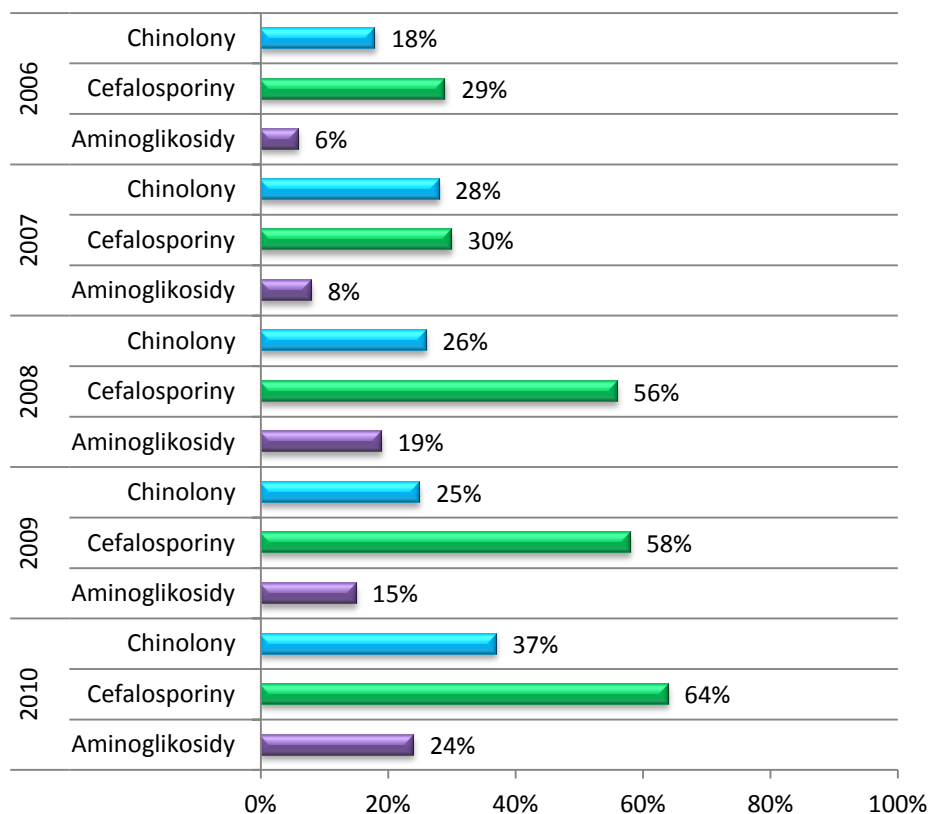
### 1.10.1 Vývoj ATB rezistence v Nemocnici Písek

Graf č. 12 Vývoj ATB rezistence *Klebsiella pneumoniae* v Nemocnici Písek v letech 2000 - 2005





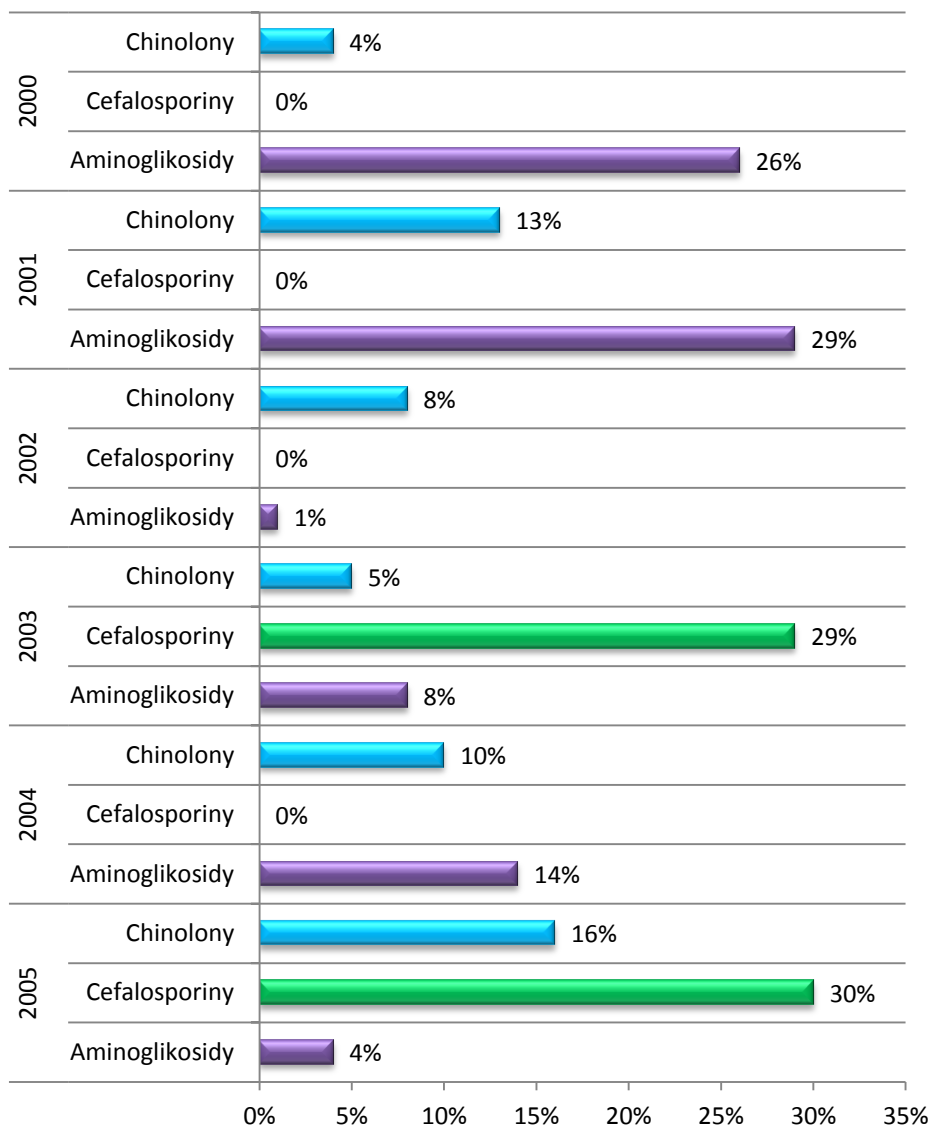
**Graf č. 13 Vývoj ATB rezistence *Klebsiella pneumoniae* v Nemocnici Písek v letech 2006 - 2010**



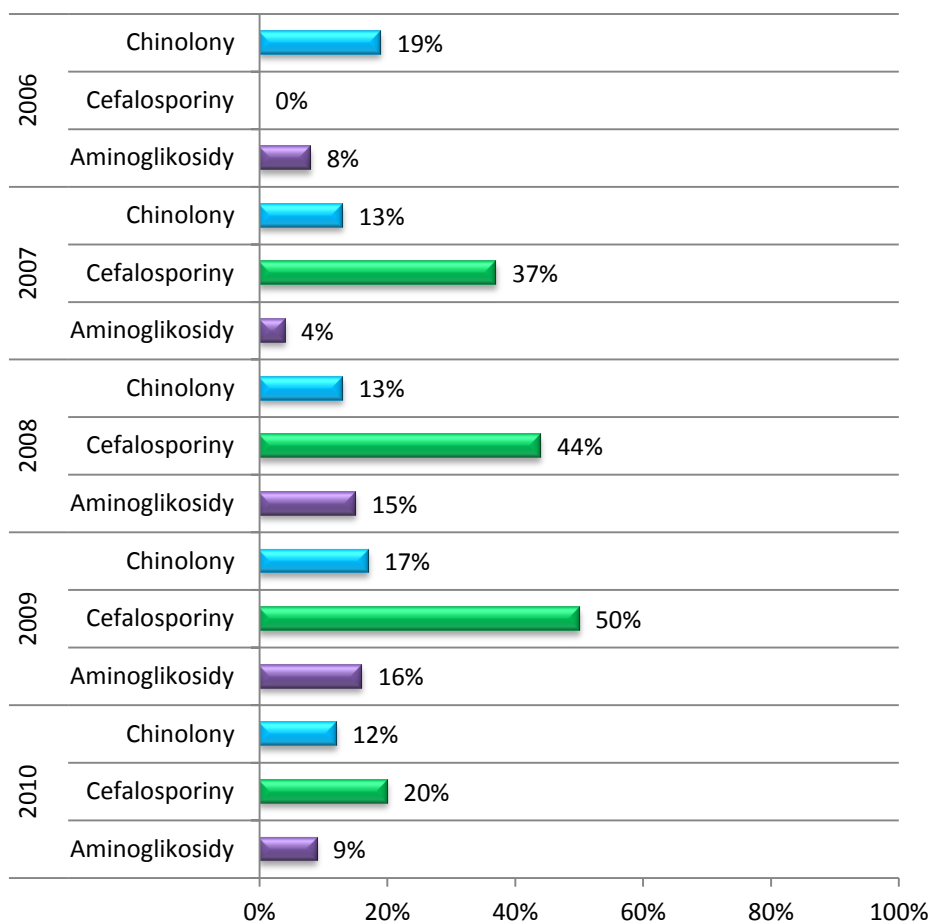
V grafech č. 12 a 13 je vidět, že rezistence v Nemocnici Písek u *K. pneumoniae* k chinolonům se pohybuje mezi 23 až 34% a roku 2010 sahá k 37%. Rezistence k cefalosporinům stoupá z 12% v roce 2000 na 55% v roce 2004 a až na 64% roku 2010. Rezistence k aminoglykosidům klesá ze 40% roku 2000 na 17% roku 2004 a k roku 2010 se rovná 24%.

### 1.10.2 Vývoj ATB rezistence v komunitě reg. Písek

Graf č. 14 Vývoj ATB rezistence *Klebsiella pneumoniae* v komunitě reg. Písek v letech 2000 - 2005



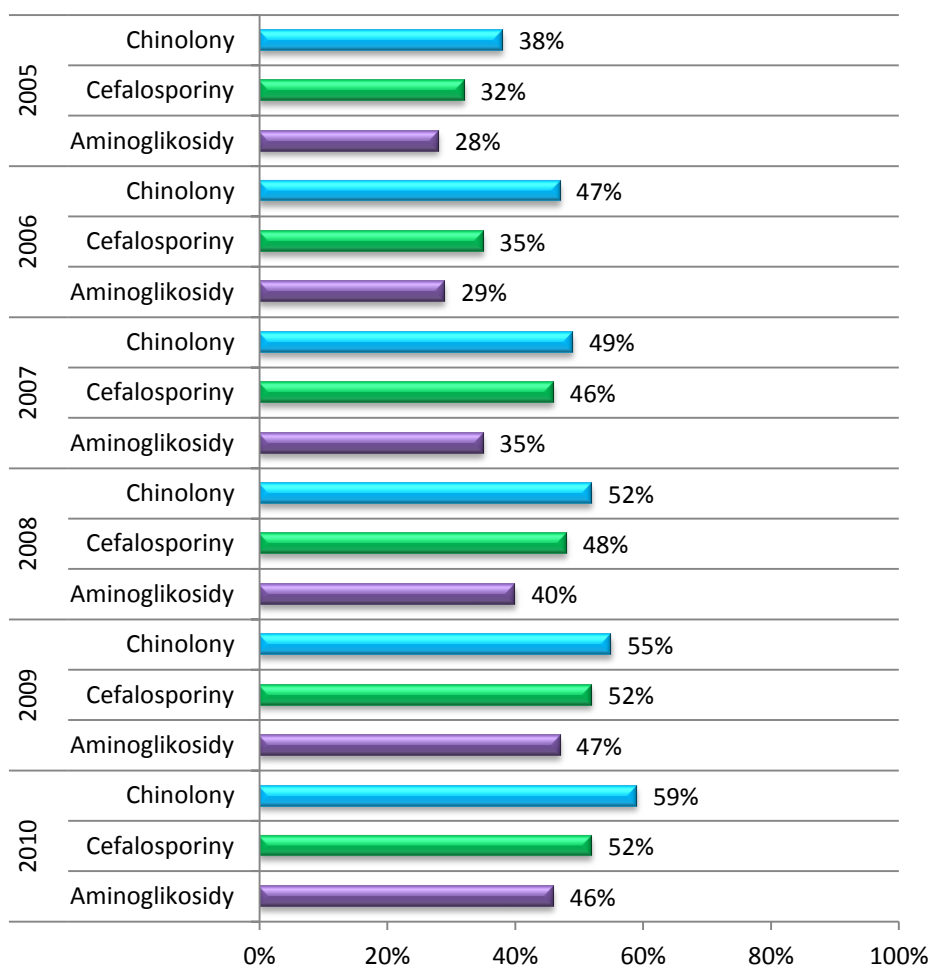
**Graf č. 15 Vývoj ATB rezistence *Klebsiella pneumoniae* v komunitě reg. Písek v letech 2006 - 2010**



Z grafů č. 14 a 15 pozorujeme, že rezistence v reg. Písek u *K. pneumoniae* k chinolonům se udržuje pod hranicí 20%. Rezistence k cefalosporinům byla do roku 2003 zanedbatelná, avšak tohoto roku stoupla na 29%, roku 2005 na 30% a roku 2009 se rovnala 50%. Rezistence na aminoglykosidy byla 29% roku 2001, s dalšími roky klesla pod 10%, ale roku 2009 dosáhla 16%.

### 1.10.3 Vývoj ATB rezistence v ČR

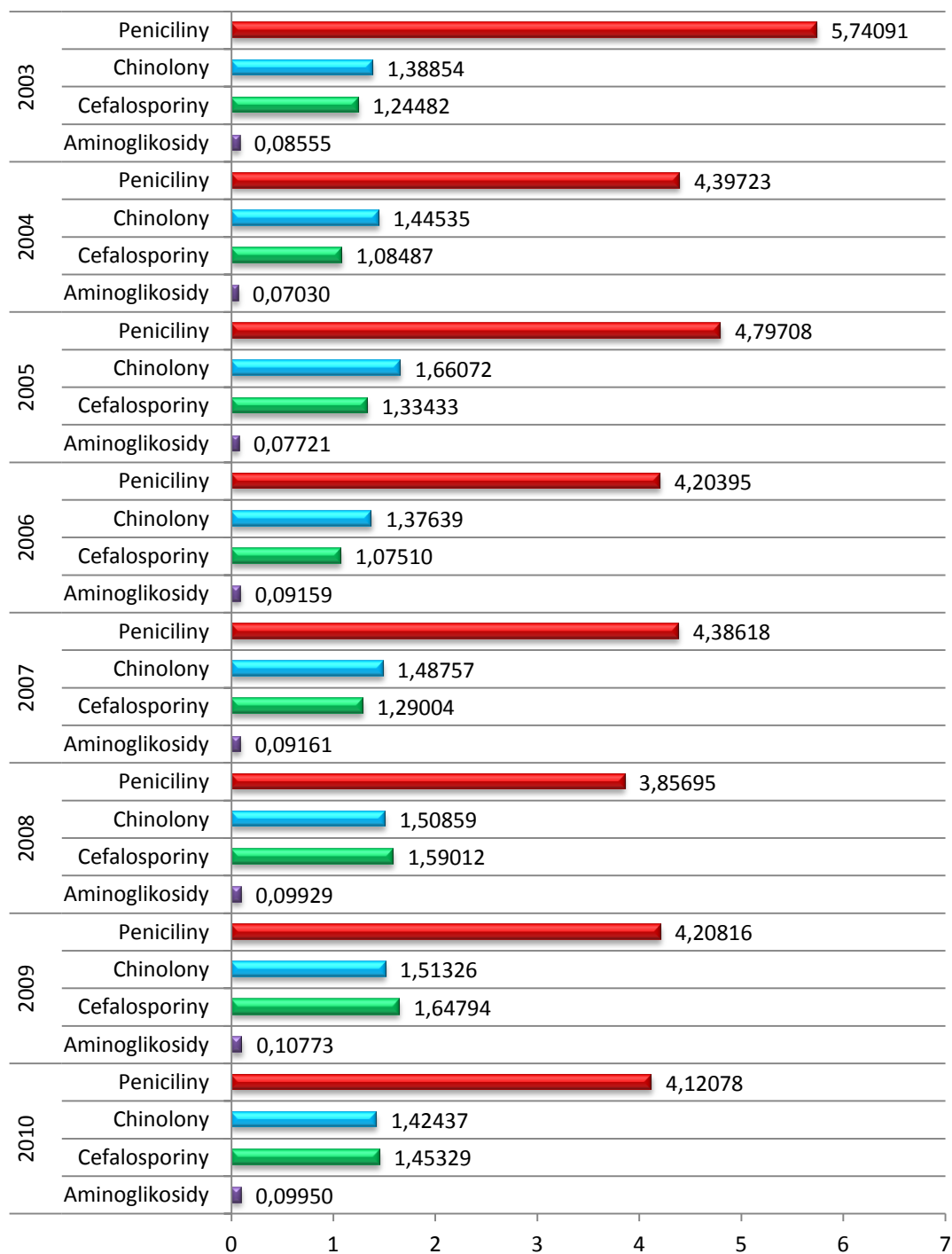
Graf č. 16 Vývoj ATB rezistence *Klebsiella pneumoniae* v ČR v letech 2005 - 2010



Rezistence u *K. pneumoniae* podléhá sledování EARS-Net v ČR od roku 2005, jak je vidět v grafu č. 16. Rezistence k chinolonům stoupá, roku 2005 byla 38%, roku 2007 se rovnala 49% a roku 2010 až 59%. Rezistence k cefalosporinům a aminoglykosidům také stále stoupá. U cefalosporinů stoupla z 32% roku 2005 na 52% roku 2010 a u aminoglykosidů z 28% v roce 2005 na 46% v roce 2010.

## 1.11 Spotřeba ATB v ČR

Graf č. 17 Spotřeba jednotlivých ATB v ČR podle DDD/1000obyv/den



Graf č. 17 znázorňuje spotřebu antibiotik v ČR ze skupin penicilinů, chinolonů, cefalosporinů a aminoglykosidů v letech 2003 - 2010, která je shromažďována Státním ústavem pro kontrolu léčiv. Na první pohled vidíme, že mezi antibiotika s největší spotřebou patří peniciliny. Spotřeba jednotlivých skupin ATB za jednotlivé roky nijak významně nekolísá.

V grafech byla jednotlivá antibiotika rozdělena pouze do hlavních skupin. K podrobnějšímu rozdělení během výzkumu nedošlo, jelikož v některých případech nebylo možné získat k tomuto rozdělení dostačující množství informací a dat.

U *Pseudomonas aeruginosa* byl z penicilinů hodnocen: piperacilin/tazobactam, z chinolonů: ciprofloxacin a ofloxacin, z cefalosporinů: ceftazidim a cefoperazon/sulbactam a z aminoglykosidů: gentamycin.

U *Escherichia coli* byly hodnoceny ze skupiny penicilinů: ampicilin, ampicilin/sulbactam, amoxicilin/kyselina klavulanová a piperacilin/tazobactam, z chinolonů: ciprofloxacin a ofloxacin, z cefalosporinů: cefuroxim, cefotaxim, ceftazidim a cefoperazon/sulbactam a z aminoglykosidů: gentamycin.

U *Klebsiella pneumoniae* byly hodnoceny ze skupiny chinolonů: ciprofloxacin a ofloxacin, z cefalosporinů: cefuroxim, cefotaxim, ceftazidim a cefoperazon/sulbactam, z aminoglykosidů: gentamycin.

## 5. DISKUZE

Cílem mé bakalářské práce bylo zjistit vývoj aktuální antibiotické rezistence vybraných bakteriálních druhů na vybraná antibiotika v komunitě a v nemocnici ve spádové oblasti oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Písek, a.s. mezi roky 2000 - 2010, porovnat stav rezistence mezi jednotlivými roky a následně pak zjištěné údaje porovnat s údaji celorepublikovými, které byly seskupeny pomocí databáze EARS-Net, kde jsou tyto údaje shromažďovány. Dále pak porovnat spotřebu antibiotik mezi jednotlivými roky se stavem rezistence na vybraná antibiotika. Rezistence byla zkoumána u bakterií *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae* na antibiotika ze skupin penicilinů, chinolonů, cefalosporinů a aminoglikosidů. K naplnění cílů a pro zjištění odpovědí na výzkumné otázky byla použita metoda sekundární analýzy dat formou kvalitativního výzkumu.

*Pseudomonas aeruginosa* podléhá sledování EARS-Net až od roku 2005, tudíž je možné srovnání s ČR až od tohoto roku. U *P. aeruginosa* je podle zjištěných výsledků významná rezistence na chinolonová antibiotika, která v nemocnici stoupá až na 54%, v komunitě je oproti tomu nižší, k roku 2010 činí 22%. Ve srovnání s celorepublikovými daty, kde se tato rezistence pohybuje mezi 41 a 47%, nepozorujeme významný rozdíl ve stavu rezistence na Písecku a v celé ČR. Rozdíl pozorujeme v rezistenci k penicilinům, v ČR se pohybuje kolem 28% na rozdíl od reg. Písek, kde hodnoty této rezistence nestoupají nad 19%. Podobně je tomu u cefalosporinů, v ČR dosahuje rezistence 45% a na Písecku ze zjištěných výsledků 11%. Rezistence na aminoglikosidy se pohybuje kolem 30% v obou případech.

Rezistence u *Escherichia coli* na penicilinová antibiotika stoupla v nemocnici na 35%, v komunitě se pohybuje kolem 30%, v porovnání s ČR, kde dosahuje 36% nepozorujeme významný nárůst, ačkoliv třetinová rezistence není zanedbatelný ukazatel. V ČR rezistence k chinolonovým antibiotikům vzrůstá, a to z 8% roku 2000 až na 27% roku 2010, na Písecku se pohybuje kolem 20%.

*Klebsiela pneumoniae* stejně jako *P. aeruginosa* podléhá sledování EARS-Net od roku 2005, tudíž porovnání s celorepublikovými daty bylo možné až od tohoto roku. Rezistence k chinolonům se na Písecku pohybuje kolem 30% a v celé ČR dosahuje až 59%. Rezistence u cefalosporinů stále stoupá, jak na území Písecka, až k 64%, tak na území celé ČR, až k 46%.

Co se týká spotřeby antibiotik a jejímu vlivu na antibiotickou rezistenci, tak s nasbíraných dat ze Státního zdravotního ústavu o spotřebě antibiotik podle DDD/1000ovyv/den je zřejmé, že největší spotřebu zaujímají antibiotika ze skupin penicilinů, dále chinolony, cefalosporiny a aminoglykosidy. Prvním pohledem na graf je vidět, že se spotřeba jednotlivých ATB v jednotlivých letech nijak zvlášť významně neliší. Důvodem nárůstu rezistence tedy může být například nadměrné a časté užívání antibiotických látek nebo preference určité skupiny ATB, například podávání širokospektrých antibiotik namísto ATB přímo určeným pro likvidaci určitého původce po vyšetření jeho citlivosti. Dalšími důvody pro šíření rezistence může být například neznalost mikrobiálního osídlení místa infekce, neznalost bakterií, které nejčastěji způsobují onemocnění, neznalost o rezistenci nejčastějších bakteriálních patogenů, neznalost o vlastnostech ATB, ale i například neinformovanost o epidemiologické situaci v konkrétní oblasti a nedostatek informací o pacientovi.

Výše uvedené údaje slouží jako odpovědi k výzkumným otázkám. Odpověď na otázku č. 1, která zní: "*Je pozorován významný rozdíl v antibiotické rezistenci mezi jednotlivými roky 2000 - 2010?*" je "*Ano*", významný rozdíl v antibiotické rezistenci u vybraných bakteriálních druhů na jednotlivá antibiotika lze pozorovat v porovnání mezi roky 2000 - 2010. Odpověď na otázku č. 2, která zní: "*Je pozorován rozdíl dynamiky nárůstu rezistence v regionu Písek v porovnání s celorepublikovými daty?*", je "*Ano*", rozdíl dynamiky nárůstu rezistence v regionu Písek je odlišný než na území celé ČR, ale týká se to pouze některých bakterií a antibiotik. Odpověď na 3. a poslední otázku, která zní: "*Existuje vztah mezi spotřebou antibiotik a dynamikou nárůstu antibiotické rezistence?*", je "*Ano*", vztah mezi spotřebou antibiotik a nárůstem rezistence existuje. Z grafu sice vyplývá, že spotřeba antibiotik mezi jednotlivými roky nijak zvlášť



nevzrůstá, ale musíme brát v potaz i ostatní důvody šíření antibiotické rezistence, které jsou uvedeny výše.

## 6. ZÁVĚR

Ve své bakalářské práci jsem se zabývala problematikou antibiotické rezistence, konkrétně jejím vývojem na vybrané bakteriální druhy v období let 2000 - 2010 ve spádové oblasti klinické mikrobiologie Nemocnice Písek a.s. v nemocnici i v komunitě. Dále jsem věnovala pozornost i spotřebě vybraných ATB a vývoji rezistence na území celé ČR a jejich porovnáním s daty písecké mikrobiologie. V teoretické části jsem se pokusila popsat problematiku antibiotické rezistence a antibakteriálních látek.

Po zpracování práce a vyhodnocení výsledků jsem na všechny výzkumné otázky odpověděla kladně, odpovědi jsou uvedeny v diskuzi.

Časté a nesprávné používání antibiotik vede k nárůstu rezistence, která nemusí přímo souviset se zvyšující se spotřebou antibiotik, ale důvodů existuje bezpočet, několik je uvedeno v diskuzi. Antibiotická rezistence stále narůstá v celé ČR. Problémem v dnešní době je zbytečné a špatné ordinování antibiotik na základě neprovedení laboratorních vyšetření před jejich podáním. Antibiotická rezistence by se mohla začít snižovat pokud se budou antibiotika správně dávkovat, budou vhodně zvolena a používat se budou pouze v nutných případech.

Celoevropská databáze EARS-Net, do které ČR vstoupila v roce 2000, zaznamenává a dohlíží nad údaji o antibiotické rezistenci.

## 7. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

1. Antibiotic resistance in bacteria associated with food animals: a United States perspective of livestock production. In: *BupMed.gov* [online]. 2007 [cit. 2012-04-08]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17600481>.
2. BEDNÁŘ, Marek, et al. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. 1. vyd. Praha: Marvil, 1996. s. 558. ISBN 80-238-0297-6.
3. DERYKE, Andrew et al. Antimicrobial Resistance Update: Klebsiella pneumoniae Carbapenemases. In: *Search Medica* [online]. 2009 [cit. 2012-04-16]. Dostupné z: <http://dbt.consultantlive.com/disease-trends/content/article/1145628/1488760>.
4. DŽIDIĆ, S., Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria. *Food technol. Biotechnol.* 2008, 46 (1), s. 11-21. ISSN 1330-9862.
5. Escherichia coli. In: *Wikipedie* [online]. 2011 [cit. 2012-04-16]. Dostupné z: [http://cs.wikipedia.org/wiki/Escherichia\\_coli#Rezistence\\_k\\_beta-laktamov.C3.BDm\\_antibiotik.C5.AFm](http://cs.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli#Rezistence_k_beta-laktamov.C3.BDm_antibiotik.C5.AFm).
6. European Centre for Disease Prevention and Control. *Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2009*. Stockholm: ECDC, 2010. 189 s. ISBN 978-92-9193-227-6.
7. European Centre for Disease Prevention and Control. *Ecdc.europa.eu* [online]. 2005, 2012 [cit. 2012-04-07]. Dostupné z: <http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net/Pages/index.aspx>.

8. GÖPFERTO VÁ, D., JANO VSKÁ, D., DOHNAL, K. *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie a hygiena pro střední a vyšší zdravotnické školy*. 3. vyd. Praha: Triton, 2002. 148 s. ISBN 80-7254-223-0.
9. Genetika prokaryot. In: *Genetika* [online]. 2011 [cit. 2012-04-16]. Dostupné z: <http://genetika.wz.cz/prokaryota.htm>.
10. HRABÁK, Jaroslav a Helena ŽEMLIČKOVÁ. Výskyt multirezistentních gramnegativních bakterií v českých nemocnicích: upozornění na problém šíření bakterií produkujících transferabilní karbapenemázy. In: *Státní zdravotní ústav* [online]. 2011 [cit. 2012-04-16]. Dostupné z: [http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/atb/doporucene\\_postupy/surveillanc\\_e\\_g/aktivni\\_surveillance\\_multirezistentnich\\_gramnegativnich\\_bakterii.pdf](http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/atb/doporucene_postupy/surveillanc_e_g/aktivni_surveillance_multirezistentnich_gramnegativnich_bakterii.pdf).
11. JEDLIČKOVÁ, Anna. *Antimikrobiální terapie v každodenní praxi*. 2. vyd. Praha: MAXDORF, 2004. 356 s. ISBN 80-85912-63-5.
12. JINDRÁK, Vlastimil. Hrozba antibiotické rezistence příčiny, důsledky a možnosti kontroly. In: *Zdravotnické noviny* [online]. 2003 [cit. 2012-04-07]. Dostupné z: <http://www.zdn.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/hrozba-antibioticke-rezistence-priciny-dusledky-a-nbsp-moznosti--153482>.
13. KOZLOVÁ, L., KUBELOVÁ, V. *Jak psát bakalářskou a diplomovou práci*. 2. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zdravotně sociální fakulta, 2009. 55 s. ISBN 978-80-7394-155-0.
14. LINCOVÁ, Dagmar, et al. *Základní a aplikovaná farmakologie*. 2. vyd. Praha: Galén, 2007. 672 s. ISBN 978-80-7262-373-0.

15. LISTER, Philip D. et al Antibacterial-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Clinical Impact and Complex Regulation of Chromosomally Encoded Resistance Mechanisms. In: *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 2009 [cit. 2012-04-16]. Dostupné z: <http://cmr.asm.org/content/22/4/582.full>.
16. LÜLLMAN, H, et al. *Farmakologie a toxikologie*. 1. vyd. Praha: Grada, 2002. 696 s. ISBN 80-7169-976-4.
17. MARTÍNKOVÁ, Jiřina et al. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů*. 1. vyd. Praha: Grada, 2007. 379 s. ISBN 978-80-247-1356-4.
18. MAYERS, Douglas L. et al History of drug-resistant microbes. Antimicrobial Drug Resistance [online]. 2009, č. 1 [cit. 2012-04-16]. DOI: 10.1007/978-1-59745-180-2. Dostupné z: <http://www.scribd.com/doc/35573303/Antimicrobial-Drug-Resistance-V-1-Mechanisms-of-Drug-Resistance-2009>.
19. Metody stanovení koncentrace bakterií. Metody určování citlivosti a rezistence bakterií k antibiotikům, chemoterapeutikům a dezinfekčním prostředkům. Průkaz betalaktamáz. In: *Fakulta veterinárního lékařství* [online]. 2006 [cit. 2012-04-07]. Dostupné z: [http://fvl.vfu.cz/sekce\\_ustavy/mikrobiologie/mikrobiologie\\_pro\\_farmaceuty/praktikum.html](http://fvl.vfu.cz/sekce_ustavy/mikrobiologie/mikrobiologie_pro_farmaceuty/praktikum.html).
20. National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS) Frequently Asked Questions (FAQ) About Antibiotic Resistance - Why is antibiotic resistance a food safety problem?. *Centers for Disease Control and Prevention* [online]. 2005 [cit. 2012-04-08]. Dostupné z: [http://www.cdc.gov/narms/faq\\_pages/5.htm](http://www.cdc.gov/narms/faq_pages/5.htm).
21. SCHINDLER, Jiří. *Mikrobiologie pro studenty zdravotnických oborů*. 1. vyd. Praha: Grada, 2010. 223 s. ISBN 978-80-247-3170-4.

22. SPÍŽEK, J., Rezistence na antibiotika. *Vesmír*. 1999, 78, s. 27-32. ISSN 1214-4029.
23. *Státní ústav pro kontrolu léčiv* [online]. 2010 [cit. 2012-04-23]. Dostupné z: <http://www.sukl.cz>.
24. TODAR, Kenneth. Pseudomonas aeruginosa. In: *Todar's Online Textbook of Bacteriology* [online]. 2008, 2012 [cit. 2012-04-16]. Dostupné z: <http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html>.
25. URBÁŠKOVÁ, Pavla. Metodika sběru dat. In: *Szu.cz* [online]. 21.3.2011 [cit. 2012-04-07]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/ears-net-4/metodika-sberu-dat#bakterie>.
26. URBÁŠKOVÁ, Pavla. O EARS-Net v České republice. In: *Szu.cz* [online]. 3.10.2008, 2011 [cit. 2012-04-07]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/ears-net-4/o-earss-v-ceske-republice>.
27. URBÁŠKOVÁ, Pavla. *Rezistence bakterií k antibiotikům: vybrané metody*. Praha: Trios, 1998.
28. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2. vyd. Brno: Neptun, 2005. 351 s. ISBN 80-86850-00-5.
29. VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. 1. vyd. Brno : Neptun, 2003. 495 s. ISBN 80-902896-6-5.
30. VOTAVA, Miroslav et al. *Lékařská mikrobiologie: Vyšetřovací metody*. Brno: NEPTUN, 2010, 495 s. ISBN 978-80-86850-04-8.

## 8. KLÍČOVÁ SLOVA

Antibiotika

Antibiotická rezistence

*Escherichia coli*

*Klebsiella pneumoniae*

*Pseudomonas aeruginosa*