

Univerzita Karlova
Pedagogická fakulta

Katedra biologie a environmentálních studií

Bakalářská práce

Mechanismy působení antibiotik na bakterie
Mechanisms of Actions of Antibiotics on the Bacteria

Gréta Rezková

Vedoucí práce: RNDr. Lenka Pavlasová, Ph.D.

Studijní program: Specializace v pedagogice (B7507)

Studijní obor: Biologie, geologie a environmentalistika se zaměřením na vzdělávání –
Výchova ke zdraví se zaměřením na vzdělávání

2017

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Mechanismy působení antibiotik na bakterie vypracovala pod vedením vedoucího práce samostatně za použití v práci uvedených pramenů a literatury. Dále prohlašuji, že tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Praze dne 20. 4. 2017

.....

podpis

Poděkování

V první řadě bych ráda srdečně poděkovala vedoucí mé bakalářské práce paní RNDr. Lence Pavlasové, Ph.D. za cenné rady a odbornou pomoc. Dále bych chtěla poděkovat celé své rodině a přátelům, kteří mě podporovali po celou dobu studia.

Anotace

Tato rešeršní práce se zabývá především mechanismy účinku vybraných antibiotik na mikroorganismy. Cílem této práce je tedy přiblížit mechanismy antibiotik, ale také mechanismy rezistence bakterií vůči těmto účinkům. Dále jsou zde popsány pozitivní i negativní účinky chemoterapeutik a jejich využití v praxi. Součástí práce je i přehled antibiotik tříděný podle jejich chemické struktury. Dalšími tématy jsou metody stanovení citlivosti bakterií na antimikrobní preparáty a také problém bakteriální rezistence. Závěrečné kapitoly práce jsou věnovány nežádoucím účinkům antibiotik, farmakokinetice a farmakodynamice antimikrobních látek.

Klíčová slova

Mechanismus účinku, antibiotika, rezistence, bakterie

Annotation

This background research work inquires primarily into mechanisms of action of selected antibiotics on microorganisms. The aim of the work is therefore to outline mechanisms of antibiotics, but also mechanisms of bacteria resistance to these actions. The work further describes both positive and negative effects of chemotherapeutics and their use in practice. The work also provides an overview of antibiotics classified based on their chemical structure. Other themes include methods for determining sensitivity of bacteria to antimicrobial agents, and also the issue of bacterial resistance. The final chapters are devoted to side effects of antibiotics, and to pharmacokinetics and pharmacodynamics of antimicrobial agents.

Key words

Mechanism of action, antibiotics, resistance, bacteria

Obsah

1. Úvod.....	8
2. Mechanismy účinku antibiotik.....	9
2.1 Inhibitory syntézy buněčné stěny.....	9
2.1 Inhibitory proteosyntézy.....	11
2.2 Inhibitory syntézy cytoplasmatické membrány.....	12
2.3 Inhibitory syntézy kyseliny listové.....	13
2.4 Inhibitory činnosti DNA.....	14
3. Antibiotika	16
3.1 Rozdělení antibiotik na základě chemické struktury.....	17
3.1.1 Beta – laktamová antibiotika.....	17
3.1.2. Aminoglykosidy.....	23
3.1.3. Makrolidy.....	24
3.1.4 Peptidy.....	26
3.1.5 Glykopeptidy.....	26
3.1.6 Linkosamidy.....	27
3.1.7 Tetracykliny.....	28
3.1.8 Chinolony.....	29
3.1.9 Nitrofurany.....	30
3.1.10 Sulfonamidy.....	30
3.1.11 Kotrimoxazol.....	30
3.1.12 Nitroimidazoly.....	31
4. Bakteriální rezistence.....	35
4.1 Vznik mikrobiální rezistence.....	35
4.2 Bakteriální rezistence a její mechanismy.....	38
5. Metody stanovení citlivost bakterií na antibiotika.....	39
5.1 Výhody a nevýhody metod používaných k vyšetření citlivosti....	42
6. Nežádoucí účinky antibiotik.....	43

7. Farmakokinetika a farmakodynamika antimikrobních látek.....	47
8. Závěr.....	50
9. Seznam použité literatury.....	51

1. Úvod

Jednou z příčin onemocnění jsou mikroorganismy. Tyto organismy jsou všudypřítomné a mají pozitivní, neutrální i negativní vliv na lidský organismus. Negativní účinky způsobují mnoho nález, které byly ještě cca před sto lety velkým problémem. Před převratným objevem antimikrobních látek, byly dnes banální infekce způsobené mikroorganismy smrtící. S objevem prvního antibiotika však přišla zázračná léčba.

Antibiotika, látky, jejichž mechanismy účinku jsou schopné inhibovat či usmrtit řadu bakteriálních kmenů, byla po jejich objevení aplikována v obrovském měřítku. Masová aplikace těchto látek však způsobila nečekané problémy. Bakterie se postupem času stávaly rezistentní vůči mnohým druhům antibiotik, což znamenalo velký krok zpět. Bylo a stále je nutné syntetizovat a vyrábět nové druhy antibiotik, proti kterým si ještě mikroorganismy nevytvořily mechanismy rezistence.

Tato bakalářské práce se těmito tématy a problémy zabývá. Kromě mechanismů účinku antibiotik a rezistence jsou v této práci rozpracovaná témata zabývající se metodami, které zkoumají citlivost bakterií vůči antibiotikům, dále farmakokinetika a dynamika antibiotik a především samotná antibiotika. Cílem práce je popsat mechanismy účinku antibiotik a vytvořit komplexní přehled a charakteristiku antibiotik.

2. Mechanismy účinku antibiotik

2.1 Inhibitory syntézy buněčné stěny

Na začátek bych ráda přiblížila funkci buněčné stěny. Buněčná stěna tvoří vnější ochrannou vrstvu bakteriální buňky. Brání bakterii před vnějšími vlivy a mechanickým poškozením. Základní stavební jednotkou této ochranné stěny jsou peptidoglykany tzv. mureiny, které zajišťují její pevnost (Lüllmann, 2007). Peptidoglykanová vrstva tzv. mucinová mřížka je tvořena polysacharidovými vlákny, která jsou složena z N-acetylglukosaminu a kyseliny N-acetylmuramové. Na každou karboxylovou skupinu N-acetylmuramové kyseliny je navázán řetězec čtyř aminokyselin. Řetězce mureinů, které leží paralelně vedle sebe, jsou propojeny prostřednictvím aminokyselin peptidovou vazbou.

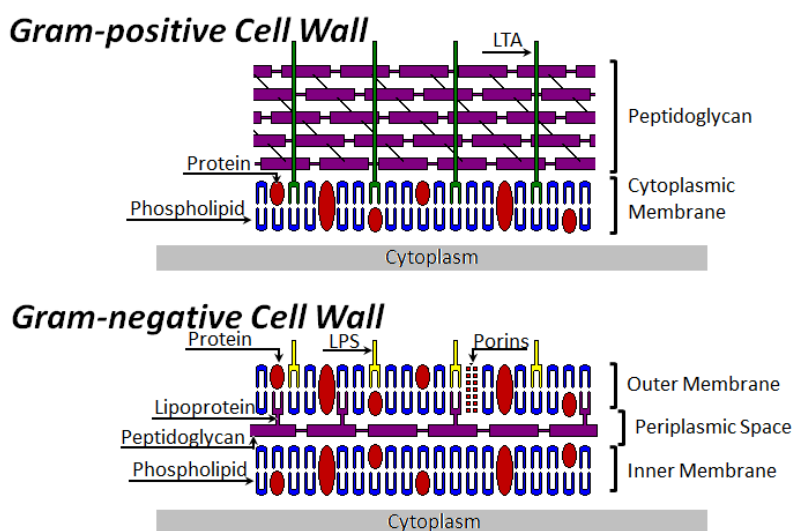
Rozlišujeme dva typy buněčných stěn a tím pádem i dva typy bakterií (viz obr. 1). Grampozitivní bakterie mají stěnu tvořenou silnou vrstvou peptidoglykanů. Mezery mezi peptidoglykany vyplňuje kyselina teichoová, která se váže na kyselinu muramovou a tím zaceluje tuto buněčnou vrstvu. Dále se na peptidoglykany navazují polysacharidy, jejichž složení se liší u každé skupiny bakterií.

Buněčná stěna gramnegativních bakterií je ve srovnání s grampozitivními bakteriemi mnohem tenčí a neobsahuje kyselinu teichoovou. Tyto bakterie obsahují kromě vrstvy peptidoglykanů také vnější membránu, která je tvořena fosfolipidy, proteiny, lipoproteiny a lipopolysacharidy. Mezi těmito dvěma vrstvami se nachází periplazmatický prostor. Některé lipoproteiny tvoří výběžky směrem k peptidoglykanové vrstvě a jsou s ní spojeny kovalentní vazbou. Ve fosfolipidové vrstvě jsou hydrofilní tunely (póry), tvořené trimery bílkoviny zvané porin. Tyto póry zasahují přes periplazmatický prostor až k peptidoglykanu, k němuž je porin pevně, ale nekovalentně vázán.

Především díky obsahu lipidů v buněčné stěně, jsou tyto gramnegativní bakterie velice odolné vůči povrchově aktivním aniontovým látkám, jako jsou například mýdlo, alkylsulfáty, žlučové kyseliny a další. Díky těmto vlastnostem jsou gramnegativní bakterie v hojném množství v gastrointestinálním traktu lidského organismu. Dále také lipopolysacharidy obsažené v buněčné stěně fungují v lidském

organismu jako endotoxiny a tím pádem zapříčiňují mnohá onemocnění (Šilhánková, 1995).

Inhibice syntézy buněčné stěny je vhodným mechanismem ničení bakterií v lidském organismu, protože nemáme buňky chráněné buněčnou stěnou. Mezi tyto inhibitory patří beta-laktamová antibiotika tzn. peniciliny, cefalosporiny a dále bacitracin, vankomycin a cykloserin (Lüllmann, 2007).



Obr. 1. Struktura buněčné stěny grampozitivních (nahore) a negativních bakterií (dole) ¹

Díky výše uvedeným vlastnostem buněčné stěny bakterií, musíme objasnit jak je možné, že jsou antimikrobiální látky schopné tuto bariéru překonat.

Mezi inhibitory syntézy buněčné stěny řadíme především penicilinová antibiotika. Základní strukturu všech penicilinů tvoří kyselina 6-aminopenicilanová se čtyřčlenným beta-laktamovým kruhem. Díky této shodné struktuře můžeme obecně popsat mechanismus všech penicilinů, který spočívá v inhibici peptidyltransferázy, což vede k přerušení syntézy buněčné stěny. Tyto účinky mají baktericidní vliv na spektrum bakterií, na které tyto antibiotika působí. Cefalosporiny stejně jako peniciliny inhibují peptidyltransferázu. Odolnost vůči penicilinázám umožňuje těmto antibiotikům působit na široké spektrum bakterií. (Lüllmann, 2007).

¹ Převzato z: <http://myplace.frontier.com/~dffix/medmicro/genmicr.htm>

Peniciliny a cefalosporiny také velmi účinně inhibují včleňování kyseliny glutamové v konečné fázi syntézy mureinu v jeho zesíťování, nebrzdí však tvorbu ostatních buněčných komponent (Lochmann, 1999). Což znamená, že tato antibiotika inhibují bakterie, které jsou ve stádiu růstu. Proto je vhodné zahájit medikaci co nejdříve.

2.2 *Inhibitory proteosyntézy*

Proteosyntéza je proces, při kterém dochází k syntéze bílkovin. Tento proces probíhá ve dvou fázích nazývajících se transkripce (přepis) a translace (překlad). Transkripce je proces, při kterém se na matrici DNA transkribují její kodony do komplementárních kodonů syntetizované mRNA. Ze vzniklé mRNA se dále na ribozomu za pomoci tRNA vytváří primární struktura bílkovin (Nečas, 1982). Po připojení mRNA k malé podjednotce bakteriálního ribozomu, se tento ribozom zaměřuje na dva kodony. Na jeden z nich je navázán komplex tRNA a aminokyselina, která se již stala částí vznikajícího peptidového řetězce. Rozdílné molekuly tRNA, z nichž každá váže určitou aminokyselinu, přinášejí aminokyseliny k mRNA. Určitá tRNA se hodí k jedné určité kódující jednotce mRNA (kodonu, který sestává ze tří bází). Druhý kodon je také schopen přijmout daný komplex tRNA a aminokyselinu. Když se tento komplex naváže, vznikne spojení také mezi dvěma navázanými aminokyselinami, což způsobuje enzym peptidyltransferáza. A naopak zaniká spojení mezi tRNA a předchozí aminokyselinou. Tato tRNA se dále uvolní z kodonu mRNA, díky čemuž se mRNA posune a je schopna navázat další komplementární tRNA (Lüllmann, 2007).

V aparátu proteosyntézy buněk bakteriálních a lidských tkání existují sice bazální podobnosti, ale také jisté odlišnosti, které jsou výchozím bodem selektivního působení (Lochmann, 1999). Jednou z těchto odlišností je sedimentační koeficient ribozomů. Sedimentační konstanta bakteriálních ribozomů je 70S a podjednotek 30S a 50S. Ribozomy lidského organismu mají tento koeficient u 80S a podjednotky 40S a 60S. Vzájemná vazba podjednotek vzniká při iniciaci proteosyntézy na daném ribozomu a zaniká po její terminaci, kdy ribozom opět na své podjednotky disociuje. Úplný ribozom tedy existuje, pouze v případě když na něm probíhá proteosyntéza. Ribozomy prokaryot se také od eukaryot liší jejich výskytem v buňce. Zatím co se

tyto molekuly u prokaryot vyskytují volně v cytoplasmě, u eukaryot jsou navázané na endoplazmatickém retikulu.

Jak již víme je tato buněčná organela, tvořená rRNA a bílkovinami, velice důležitá pro proces proteosyntézy. V bakteriální buňce je několik set až tisíc těchto částic rozptýlených volně v cytoplasmě (Nečas, 1982).

Mezi inhibitory proteosyntézy řadíme tetracykliny, aminoglykosidy, makrolidy, linkosamidy a chloramfenikol. Vazbou tetracyklinu na ribozomální podjednotku 30 S dochází k zamezení vzájemného působení tRNA a mRNA, což způsobuje inhibici elongace peptidů. Tento proces působí bakteriostaticky a postihuje široké spektrum mikrobů (Marek, 2011). Aminoglykosidy svým mechanismem způsobují chybné vazby mezi mRNA a komplexy tRNA s aminokyselinami. Díky tomuto zásahu není vzniklá bílkovina schopna plnit své funkce. Tímto mechanismem dochází k usmrcení mnohých gramnegativních patogenů (Lüllmann, 2007). Dalšími inhibitory proteosyntézy jsou makrolidy. Vazbou na 50 S ribozomální podjednotku blokují enzym peptidyltransferázu, čímž dochází k inhibici translace. (Marek, 2011)

2.3 Inhibitory syntézy cytoplasmatické membrány

Jak již z předchozího textu víme, buněčná stěna grampozitivních a gramnegativních bakterií se v mnoha vlastnostech liší, u cytoplasmatické membrány tomu tak však není. Cytoplasmatická membrána je semipermeabilní bariéra tvořená fosfolipidy a proteiny. Struktura této membrány byla jasně definována Singerem a Nicolsonem, kteří vytvořili tzv. model tekuté mozaiky. Základ membrány, tvoří lipidická dvojvrstva, avšak hydrofilní konce lipidů jsou směřovány k povrchu membrány, kdežto hydrofobní konce jsou navázané na proteiny, které jsou lokalizovány uvnitř cytoplasmatické membrány. Strukturální proteiny, které jsou součástí této membrány, můžeme dělit na proteiny integrální, které jsou do ní ponořené a na proteiny periferní, které jsou k ní přilehlé. Toto je důvod proč se této struktuře říká mozaika (Dobiáš, 1999).

Kromě těchto proteinů obsahuje cytoplasmatická membrána ještě tzv. funkční proteiny, které jsou za pomoci hydrofobních interakcí připojeny k cytoplasmatické membráně. Nejčastěji vyskytujícími se proteiny jsou permeázy, které se účastní na

aktivním transportu. Dalšími funkčními proteiny, které bakteriální membrána obsahuje, jsou tzv. binding proteins. Bílkoviny, které jsou schopny vázat a transportovat například leucin, galaktózu nebo histidin. U grampozitivních bakterií se vyskytují ještě další enzymy, které jsou schopny syntetizovat peptidoglykany.

Vzhledem k tomu, že je tato membrána velice tenká, jsme schopni ji vidět pouze pod elektronovým mikroskopem. Výběžky, které vybíhají z cytoplasmatické membrány do cytoplasmy nazýváme mesozómy. U každé bakterie jsou mesozómy v oblasti, ve které probíhá dělení buňky (Šilhánková, 1995).

Dále bych chtěla popsat hlavní funkce cytoplasmatické membrány bakterií. Mezi hlavní funkce patří schopnost této membrány vázat enzymy, které se podílejí na energetickém metabolismu buňky. Tuto schopnost má pouze membrána prokaryotních buněk, a to z toho důvodu, že musí vykonávat funkce, které v eukaryotické buňce zabezpečují mitochondrie. Tato enzymová aktivita je u většiny bakterií soustředěna do výše zmíněných mesozómů. Aktivní transport je také velice důležitou funkcí kterou tato membrána vykazuje. K tomuto procesu napomáhají membráně funkční proteiny (permeázy), které jsou v ní přítomny. Další její funkcí je udržování molekul a látek uvnitř buňky (Dobiáš, 1999). Mimo jiné se na cytoplasmatické membráně odehrává mnoho dějů jako například oxidační fosforylace, dále je sídlem pro dýchací enzymy a enzymy hydrolýzy.

Ve chvíli, kdy na tuto membránu začnou působit antimikrobní přípravky, nastává nekoordinované uvolnění látek z vnitřního prostředí. Mezi tyto inhibitory řadíme peptidy. Mechanismus účinku peptidů spočívá v navázání na cytoplasmatickou membránu, čímž se zvýší propustnost membrány. Tento proces není spojován s růstem buněk, peptidy tedy inhibují i bakteriální buňky, které nejsou ve fázi růstu (Lochmann, 1999).

2.4 Inhibitory syntézy kyseliny listové

Tento mechanismus účinku spočívá ve vytěsnění kyseliny p-aminobenzoové tzv. PAB. Tímto procesem dochází k inhibici produkce kyseliny listové, která je pro bakterie důležitým prekursorem pro syntézu určitých aminokyselin a purinů (Rosypal, 1979). Aktivní formou kyseliny listové je kyselina tetrahydrolistová, která je tvořena z kyseliny dihydrolistové. Kyselina tetrahydrolistová je jedním

z koenzymů, který tedy působí při syntéze purinů a tymidinu. Tyto součásti DNA a RNA jsou nutné pro dělení a růst nejen bakteriálních buněk. Pokud je v buňce nedostatečné množství kyseliny tetrahydrolistové, dochází k inhibici rozmnožování a dělení buňky. Výhodou bakterií je, že si jsou schopné tuto kyselinu samy syntetizovat z jejích prekurzorů.

Mezi inhibitory syntézy kyseliny listové patří sulfonamidy, antimikrobiální látky, které jsou svou strukturou velice podobné kyselině p-aminobenzoové. Díky této podobnosti s hlavním prekurzorem kyseliny dihydrolistové, jsou sulfonamidy jako falešné substráty schopny inhibovat užití PAB a inhibují syntézu kyseliny dihydrolistové. Díky těmto mechanismům dochází v bakteriální buňce k nedostatku kyseliny dihydrolistové, což vede k inhibici bakterie.

Látky, které používají tento mechanismus, jsem zmínila již v předešlém textu. Jsou to tedy sulfonamidy, antibakteriální látky podobající se stavbou kyselině paraaminobenzoové (PABA) (Lüllmann, 2007). Podobný, kompetitivně inhibiční účinek má rovněž hydrazin kyseliny izonikotinové (INH). Jeví se strukturálním analogem vitamínu B6, tj. pyridoxinu, který je složkou transamináz. V terapii se používá v kombinaci s antibiotiky převážně proti původci tuberkulózy, *Mycobacterium tuberculosis* (Rosypal, 1979).

2.5 Inhibitory činnosti DNA

Genetický materiál bakteriální buňky je tvořen jediným chromosomem, který je tvořen cyklickou molekulou DNA. Tato kruhová DNA může být nespočetněkrát stočená, čímž vzniká útvar zvaný superhelix. DNA je tvořena dvěma polydeoxyribonukleotidovými řetězci, které jsou stočené do pravotočivých dvoušroubovic, tento útvar nazýváme dihelix. Řetězce v ní mají opačný směr (polaritu) a doplňkovou (komplementární) strukturu, tj. proti sobě umístěné nukleotidy obsahují doplňkové báze. Oba polydeoxyribonukleové řetězce jsou při tom zformovány tak, že jejich páteře, sestávající z pentosových kruhů a fosfátových zbytků, jsou vně a báze míří dovnitř dihelixu, jejich roviny jsou navzájem rovnoběžné a kolmé na osu dvoušroubovice a zhruba kolmé na roviny cukerných kruhů. DNA je stabilizovaná za pomoci vodíkových vazeb a π interakcí. Mimo tuto

strukturu, obsahují bakteriální buňky malé kruhové DNA zvané plasmidy (Vodrážka, 1996).

Jednou z hlavních funkcí DNA je schopnost uložení genetické informace. Kyselina deoxyribonukleová (DNA) funguje jako matrice pro syntézu nukleových kyselin. Ribonukleové kyseliny (RNA) zahajují proces syntézy bílkovin a umožňují tak buněčný růst (Lüllmann, 2007). Předpokladem buněčného dělení je tedy syntéza DNA. Některé antimikrobní látky poškozují syntézu nukleových kyselin a tím inhibují či usmrcují citlivé patogeny.

Rozdíly mezi buňkami vyšších organismů a buňkami bakterií nejsou nijak radikální, z toho důvodu látky, které inhibují DNA, vykazují určitou míru toxicity (Lochmann, 1999). Inhibitory přepisu genetické informace, narušují regulační centrum metabolismu buňky.

Mezi tyto inhibitory patří fluorochinolony, rifampicin, metronidazol a další. Fluorochinolony inhibují bakteriální gyrázu, enzym který zajišťuje uložení bakteriálního chromozomu a náležitý průběh replikace DNA. Jeho hlavní funkcí je rozvíjení a uzavírání replikované DNA. Hlavním mechanismem, který působí baktericidně je inhibice „zavíjení“ replikované části DNA.

Inhibitorem bakteriálního enzymu, který podle matrice DNA buduje novou RNA je rifampicin. Rifampicin inhibicí transkripce působí baktericidně. Dalším inhibitorem DNA je metronidazol, který láme vlákno či poškozuje vytváření komplexů DNA. Tento mechanismus uplatňuje u bakterií ve stádiu růstu (Lüllmann, 2007).

3. Antibiotika

Již význam názvu nám napovídá, jaké vlastnosti tyto látky mají (anti = proti, biotikos = k životu náležející). Antibiotika (ATB) jsou tedy organické látky produkované houbami a bakteriemi, které jsou schopny inhibovat a usmrcovat mikroorganismy. Jejich hlavním cílem je likvidace cizorodých bakterií v organismu, přičemž nesmí ohrozit lidský organismus (Lange – Ernst, 2005). Antibiotika mají tu nevýhodu, že působí na všechny bakterie, které jsou vůči nim vnímavé, a proto působí např. i na bakterie symbiotické s lidskou mikroflórou. Tuto schopnost vyjadřujeme tzv. chemoterapeutickým indexem, který nám udává poměr mezi účinnou dávkou na patogen a toxickou dávkou pro hostitele (Slíva, 2011).

Za antibiotika byly dříve považovány pouze látky, které vznikly biosyntézou, tzn. - byly produktem jiného mikroorganismu. Naopak látky vzniklé synteticky byly nazývány chemoterapeutika. Dnes již toto rozdělení není na místě, protože mnohá antibiotika se vyrábějí chemickými procesy. Řada z nich je produkována polysynteticky, „tj. na základ jejich molekuly se navazují různé postranní řetězce, které preparátu dodávají zcela nové vlastnosti“ (Zahradnický, 1982).

Antibiotika rozdělujeme do skupin podle jejich struktury, mechanismu a spektra účinku (viz Tab. 1.). Spektrum účinku antibiotik charakterizujeme tzv. *minimální inhibiční koncentrací* (MIC) což je nejnižší koncentrace antibiotik, při níž dochází k inhibici mikroorganismů. A dále *minimální baktericidní koncentrací* (MBC), při které dojde k usmrcení mikroorganismů. Rozlišujeme poté antibiotika s úzkým nebo širokým spektrem působnosti.

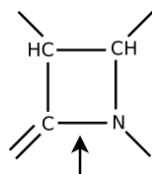
Mezi mechanismy účinku, díky nimž působí bakteriocidně či bakteriostaticky, řadíme inhibici syntézy buněčné stěny, inhibici syntézy bílkovin, nukleových kyselin, kyseliny listové a narušení cytoplazmatické membrány.

3.1 Rozdělení antibiotik na základě chemické struktury

Antibiotika můžeme dělit podle několika vlastností. Můžeme je dělit dle jejich chemické struktury, příbuznosti, spektra a mechanismu účinku. Já jsem si ve své práci vybrala nejdůležitější skupiny antibiotik, které se liší svou chemickou stavbou.

3.1.1 Beta - laktamová antibiotika

V současnosti jsou beta – laktamová antibiotika nejpoužívanější skupinou s podobnými účinky a strukturami. Hlavním společným znakem je čtyřčlenný betalaktamový kruh, který tvoří kostru všech beta-laktamových antibiotik (viz obr. 2). Mechanismus působení beta-laktamových antibiotik, se zakládá na inhibici syntézy peptidoglykanu buněčné stěny a poté vede k autolýze buňky bakterie. Do této skupiny řadíme penicilinová antibiotika, karbapenemy, cefalosporiny a monobaktamy (Marek, 2005).



Obr. 2. Beta-laktamový kruh²

Penicilinová antibiotika

Peniciliny

Plíseň *Penicillium chrysogenum* je hlavním producentem penicilinů. Základní strukturou je čtyřčlenný beta-laktamový kruh u penicilinů tzv. penam. Penam tvoří kyselina 6 -aminopenicilanová. Peniciliny mají vliv na buněčnou stěnu bakterií pouze tehdy, když je ve stádiu růstu. V této fázi životního cyklu bakterie ztrácí rozmnožovací schopnost. K buněčné stěně se připojí za pomoci čtyřčlenného beta-laktamového kruhu, který se naváže na specifické buněčné struktury a to především

²Převzato z: http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:%CE%92-laktamov%C3%BD_kruh.png

proteiny. Díky speciálním mechanismům inhibuje tvorbu peptidoglykanu, což je příčinou rozpadu buňky (Slíva, 2011).

Díky jejich krátkému poločasu rozpadu, jsou peniciliny vylučovány především renálně. Snadno penetrují do tkání a tělních tekutin, hůře pak do centrální nervové soustavy. Záněty v intracelulárních prostorech nejsou schopny úspěšně léčit, protože jim to jejich chemické vlastnosti neumožňují (Příborský, 2004).

Peniciliny mají široké spektrum působnosti. Účinkují na grampozitivní a gramnegativní bakterie jsou tedy baktericidní. Mezi grampozitivní bakterie řadíme například listerie, klostridie, streptokoky a další. Do G- bakterií patří borrelie, leptospiry a neisserie. Některé specifické peniciliny se využívají k léčbě stafylokokových infekcí (Slíva, 2011). Penicilinová antibiotika dělíme do několika skupin.

Peniciliny základní. Mezi základní peniciliny řadíme peniciliny nestálé v kyselém prostředí tzv. acidolabilní a peniciliny v kyselém prostředí stálé tzv. acidostabilní. Tyto vlastnosti určují například způsob aplikace léků. Penicilin G nebo také benzylpenicilin je acidolabilní antibiotikum. Kvůli této nestálosti v acidním prostředí není vstřebáván ze žaludku. Kyselé prostředí inaktivuje jeho účinky (Příborský, 2004). Poprvé bylo toto antibiotiku zavedeno do praxe ve čtyřicátých letech. Jeho molekulární stavba je tvořena fuzovaným laktamovým a thiazolidinovým kruhem (Hejzlar, 1995). Benzylpenicilin je ideálně podáván intramuskulárně. A jeho spektrum účinku zasahuje grampozitivní i gramnegativní mikroorganismy, především meningokoky a streptokoky dále neisserie a spirochety. Derivátem této látky je prokain benzylpenicilin, sůl rozpustná ve vodě. Do skupiny penicilinů stálých v kyselém prostředí patří semisynteticky vyráběný Penicilin V neboli fenoxymethylpenicilin. Jeho vlastnosti mu v kyselém prostředí zajišťují stabilitu (Příborský, 2004). Spektrum působnosti tohoto antibiotika, je stejné jako u penicilinu G, ovšem jeho účinky jsou slabší. Z toho důvodu je vhodný pro léčbu lehčích typů onemocnění (Hejzlar, 1995).

Širokospektré peniciliny. Tyto peniciliny dělíme do několika skupin Aminopeniciliny, Karboxypeniciliny a Ureidopeniciliny. Ureidopeniciliny se řadí mezi peniciliny s širokým spektrem účinku. Má hlavní dva zástupce, prvním z nich

je azlocilin zavedený do praxe v sedmdesátých letech. Jeho důležitou funkcí je inhibice *Pseudomonas aeruginosa* a dalších grampozitivních, gramnegativních, aerobních a anaerobních mikrobů. Velkou nevýhodou tohoto antibiotika je jeho citlivost k beta-laktamázám. Tuto negativní vlastnost lze změnit, pokud společně s azlocilem aplikujeme sulbaktam (Hejzlar, 1995). Stejně, pak působí piperacilin, který je obdobně jako azlocilin neúčinný proti beta-laktamázám. Z tohoto důvodu musí být také při terapii kombinován s inhibitory beta-laktamázy. Piperacilin je semisynteticky vyráběný preparát s účinky na grampozitivní a negativní mikroby.

Aminopeniciliny jsou polosynteticky vyráběné látky. Většina zástupců je acidorezistentní. Mezi tato antibiotika řadíme Ampicilin, látku se širokým spektrem působnosti a stabilní molekulou v kyselém prostředí. Vstřebané látky, způsobují především změny v mikroflóře tlustého střeva, což může zapříčinit rezistenci vůči danému antibiotiku, či inhibici důležitých mikroorganismů v lidské mikroflóře (Příborský, 2004). Tento preparát aplikujeme nejlépe perorálně nebo parenterálně, nejlépe v kombinaci s blokátory účinku penicilináz. Mechanismus účinku Amplicinu spočívá v inhibici buněčného dělení (Hejzlar, 1995). Dále, do této skupiny spadá Amoxicilin, který stejně jako Piperacilin není odolný proti beta-laktamázám a jeho mechanismus účinku se také liší. Stejně jako Amplicin inhibuje dělení buňky, navíc také zpomaluje elongaci buňky.

Tikarcilin klavulanát je karboxypenicilin, řazený do této skupiny širokospektrých antibiotik. Jeho široké spektrum účinku zasahuje grampozitivní, gramnegativní, aerobní i anaerobní bakterie. Stejně jako Ureidopeniciliny účinkuje na *Pseudomonas aeruginosa*. Dobře proniká do tkání, intersticiální tekutiny, žluči, pleurální a cerebrospinální tekutiny.

Protistafylokokové peniciliny. Název vypovídá o funkci a spektru působnosti této skupiny. Působí především na grampozitivní koky a stafylokoky.

Isoxazolylpeniciliny, do této skupiny patří Oxacilin, účinkující proti stafylokokům. Do terapie se zavádí tehdy, když selžou základní peniciliny. Vstřebává se z gastrointestinálního traktu. Přičemž potrava v žaludku tuto schopnost zpomaluje. Druhým antibiotikem této skupiny je Kloxacilin, který má obdobné účinky. Působí stejně jako Oxacilin proti stafylokokovým nákazám. Dobře proniká do tkání, a inhibuje beta-laktamázy.

Methoxypeniciliny skupina jejíž hlavním zástupcem je Meticilin polysyntetická látka nestabilní v kyselém prostředí, proto není vhodná perorální aplikace. Účinkem je podobný výše zmíněnému Oxacilinu. Meticilin ani Oxacilin nejsou schopni inhibovat meticilin rezistentní stafylokoky (MRSA) (Příborský, 2004).

Cefalosporiny

V současné době víme, že cefalosporiny jsou jednou z nejpočetnějších a nejvíce předepisovaných skupin antibiotik a to především kvůli jejich vysoké účinnosti a bezpečnosti. Tato beta-laktamová antibiotika pocházejí z plísně rodu *Cephalosporium*, ze které byla izolována kyselina 7 – aminocefalosporanová. Tato kyselina je hlavním prekurzorem výroby dalších druhů cefalosporinů. Jejich základní strukturou je beta – laktamový kruh. Spektrum a mechanismus účinku je podobný jako u penicilinů, narušení buněčné stěny a následná autolýza buňky. Orálně užívané cefalosporiny nachází své použití při infekcích dýchacích cest, infekcí v otorinolaryngologické oblasti, zánětech kůže a měkkých částí a při akutních infekcích močových cest (Lange – Ernst, 2005). Cefalosporiny dělíme do čtyř generací podle antimikrobiální účinnosti.

Cefalosporiny 1. generace. Obecně můžeme říct, že má tato skupina úzké spektrum účinku, je účinná vůči grampozitivním bakteriím především streptokokům, stafylokokům citlivým k oxacilinu a pneumokokům se zachovanou citlivostí k penicilinům. Dále také působí na některé gramnegativní mikroby.

První generace cefalosporinů se rozděluje dle způsobu užití na parenterální a perorální. Hlavním zástupcem parenterálních cefalosporinů je cefazolin, který je velmi často alternativou penicilinu a oxacilinu. Využívá se především v chirurgické profylaxi. Dalším zástupcem je cefalotin, který se stejně jako cefazolin podává parenterálně. Je vysoce účinný proti stafylokokovým infekcím a to především díky jeho stabilitě vůči stafylokokovým beta-laktamázám (Příborský, 1999). V těle je metabolizován a v kombinaci s některými diuretiky může působit nefrotoxicky. Více než čtvrt století jeho používání potvrdilo kvality tohoto antibiotika, působícího často baktericidně (Hejzlar, 1995). Mezi perorálně

aplikované cefalosporiny patří Cefalexin, který je alternativou k penicilinu. Úspěšně léčí infekce dýchacího a močového ústrojí.

Cefalosporiny 2. generace. Jejich spektrum účinnosti na stafylokoky a streptokoky je stejné jako u Cefalosporinů 1. generace, naopak u gramnegativních bakterií má 2. generace spektrum účinku širší. Celkově má tedy tato skupina vyváženější spektrum účinku a používá se k léčbě nejrůznějších infekcí. Významným zástupcem 2. generace je Cefuroxim, který je vhodnou alternativou za aminopeniciliny. Cefuroxim je rezistentní vůči většině beta-laktamáz. Je účinný u epiglottitidy a sepse způsobené *Haemophilus influenzae* a *Streptococcus pneumoniae* (Příborský, 1999). Do druhé generace dále řadíme cefamandol, preparát zavedený do praxe v sedmdesátých letech. Cefamandol dobře působí na gramnegativní mikroorganismy, méně pak na grampozitivní. Jeho nevýhodou je malá odolnost proti beta-laktamázám, z toho důvodu je jeho užívání minimalizováno (Hejzlar, 1995).

Cefalosporiny 3. generace. Cefalosporiny této generace vykazují široké spektrum účinnosti, vliv mají především na beta-laktamázy bakterií, které jsou rezistentní k první a druhé generaci. Působí od streptokoků, pneumokoků až na gramnegativní bakterie, mezi které patří neisserie, hemofily atd. Mezi tři hlavní zástupce této skupiny řadíme Cefotaxim, Ceftriaxon a Ceftazidim. Cefotaxim inhibuje grampozitivní i gramnegativní anaerobní bakterie. Má velmi dobré výsledky při léčbě meningitid způsobených pneumokoky a gramnegativními bakteriemi. A také odolává účinkům některých laktamáz. Podobné účinky má Ceftriaxon, který kromě meningitid léčí žlučové infekce. Jedna jeho dávka je účinná v léčbě gonorey včetně onemocnění způsobených kmeny produkujícími penicilinu.

Posledním zástupcem třetí generace je Ceftazidim, antibiotikum s nižším účinkem na grampozitivní bakterie (Příborský, 1999). Tento semisyntetický antibakteriální preparát byl vyvinut koncem sedmdesátých let. Jeho využití je vhodné především v pediatrii a to díky jeho dobré snášenlivosti. Stejně jako cefotaxim odolává ceftazidim některým druhům laktamáz (Hejzlar, 1995). Využívá se především proti gramnegativní mikrobům, na které má ze všech cefalosporinů největší vliv. Působí na bakterii *Pseudomonas aeruginosa*, která způsobuje

nozokomiální infekce. Což jsou infekce vzniklé v přímé souvislosti s pobytem v nemocničním prostředí (Příborský, 1999).

Cefalosporiny 4. generace. Účinky čtvrté generace jsou zaměřeny především na některé grampozitivní a gramnegativní bakterie. Oproti předešlým generacím má tato velkou výhodu, a to je odolnost proti specifickým mechanismům rezistence. Protože jsou tyto antibiotika zavedeny do praxe až v poslední době, není známo jejich dlouhodobé zhodnocení. Podobně jako tří generace účinkují na bakterii *Pseudomonas aeruginosa*. Pro všechny cefalosporiny čtvrté generace, je charakteristická amoniocyklopentenopyridinová skupina umožňující rychlý průnik záporně nabitými poriny gramnegativní bakteriální stěnou. Substituent nese kladný náboj dávající molekule vlastnosti zwitterionu (bipolárního iontu) (Příborský, 1999).

Karbapenemy

Karbapenemy se vyznačují nejširším spektrem účinnosti ze všech beta-laktamových antibiotik. Působí na aerobní i anaerobní bakterie. Dále také účinkují na určité stafylokoky, streptokoky a anaerobní bakterie. Jejich základní strukturou je karbapenem. Dobře pronikají do tělních tkání i tekutin. Tyto látky jsou vhodné pro léčbu nozokomiálních infekcí, způsobených multirezistentními mikroorganismy. Nevhodné a nadměrné podání těchto antibiotik, může způsobit rezistenci některých bakterií. Thienamycin, který řadíme do karbapenemů, má nejširší spektrum účinku ze všech antibiotik (Jindrák, 2014). Tato látka není stabilní vůči renální dehydropeptidáze a je nutné ho aplikovat společně s inhibitory tohoto enzymu.

Do této skupiny látek dále řadíme meropenem, antibiotikum které je na rozdíl od thienamycinu stabilní vůči renální dehydropeptidáze. Jeho spektrum je obdobné jako spektrum thienamycinu, avšak má mnohem vyšší účinky na *Enterobacteriaceae* a *Pseudomonas aeruginosa* (Hejzlar, 1995).

Monobaktamy

Molekulu monobaktamů tvoří substituovaný beta-laktamový kruh. Z čehož vyplývá, že jsou rezistentní na všechny známé beta-laktamázy. Mají vliv na grampozitivní i gramnegativní bakterie méně pak na anaerobní mikroorganismy

(Lochmann, 1999). Jedním ze zástupců těchto penicilinových antibiotik je aztreonam, preparát izolovaný z kmenu *Bacillus licheniformis*. Tato látka se produkuje především synteticky a má velice široké spektrum působnosti, které zahrnuje i kmeny *Pseudomonas aeruginosa* (Hejzlar, 1995).

3.1.2 Aminoglykosidy

Aminoglykosidy jsou jedny z nejstarších a přesto stále hojně využívaných antibiotik. Prvotně byly izolovány z aktinomycet. Jejich spektrum účinnosti je úzké ale je známý jejich rychlý baktericidní účinek na enterobakterie, pseudomonády a stafylokoky. Jejich spektrum účinku může být rozšířeno kombinací s peniciliny nebo glykopeptidy, pak jsou schopny inhibovat i enterokoky. Někteří starší zástupci působí jako tuberkulostatika. Hlavním mechanismem účinku aminoglykosidů je inhibice proteosyntézy. Jejich účinek je převážně závislý na koncentraci v organismu (Marek, 2005).

Využívají se při léčbě urologických infekcí a nozokomiálních infekcí. Jejich vysoká polarita zabraňuje vstřebání v GIT (gastrointestinální trakt), a proto je nutné je aplikovat intravenózně či intramuskulárně. Vzhledem k častým vedlejším účinkům se aplikují většinou jednou denně. Nejvýznamnějšími nežádoucími účinky jsou ototoxicita (ireverzibilní stav, který se může objevit i po ukončení léčby – projevuje se jako kochleární nebo vestibulární porucha; nejvyšší riziko je u streptomycinu) a nefrotoxicita (Slíva, 2011).

Streptomycin. Streptomycin je nejstarším aminoglykosidem. Izolován byl již ve čtyřicátých letech minulého století. Účinkuje převážně na gramnegativní mikroby a na *Mycobacterium tuberculosis*. Některé bakteriální kmeny si vytvořily odolné obranné mechanismy, kterými bojují proti účinkům Streptomycinu. Proto musí být většinou kombinován s dalšími antibiotiky.

Gentamycin. Tento preparát byl izolován jako produkt *Micromonospora purpurea* v šedesátých letech minulého století. Účinky této látky jsou baktericidní a někdy může vést její užití k ototoxicitě či nefrotoxicitě (Hejzlar, 1995). Gentamicin má ze

všech aminoglykosidů nejširší spektrum účinku. Inhibuje mykobakteria, hemofily, seracie, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* atd. Účinkuje tedy především na gramnegativní bakterie. Jedinou grampozitivní bakterií, na kterou působí je *Staphylococcus aureus*. Mnohdy je nutné gentamicin kombinovat s jinými látkami, které ještě více rozšíří jeho spektrum působnosti.

Neomycin. Tato baktericidní látka, usmrcuje hlavně gramnegativní bakterie. Jeho účinnost se zvyšuje v kyselém prostředí. Nejvíce se používá lokálně na postižené místo (Lochmann, 1999).

3.1.3 Makrolidy

Makrolidy jsou jedny z prvně objevených antibiotik a stejně jako aminoglykosidy byly poprvé izolovány z aktinomycet. Jsou to látky s širokým spektrem účinku a bakteriostatickými vlastnostmi. Tuto skupinu dělíme podle velikosti molekuly na 14členné, 15členné, 16členné, ketolidy a dále imunopresivní makrolidy. Základní strukturou molekuly je makrocyclický laktonový kruh, který tvoří základ všech makrolidových antibiotik.

I tato antibiotika jako mnoho dalších inhibují proteosyntézu bakterií. Jejich hlavním mechanismem je zabránění vazby peptidyltransferázy na 50S podjednotku ribozomu bakterie. Tímto naruší proces zvaný translace, což zapříčiní inhibici proteosyntézy. Jejich účinky jsou tedy bakteriostatické a někdy i baktericidní. Díky těmto specifickým vlastnostem, jsou využívány k léčbě, při které selhaly beta-laktamy např. v případě rezistence či alergie. Mnohdy mohou v terapii nahrazovat peniciliny, protože mají velice podobné spektrum účinnosti (Jindrák, 2014).

Makrolidy působí tedy převážně bakteriostaticky a hlavně na grampozitivní mikroby. Postihují také intracelulární patogeny, např. chlamydie a mykoplazmata. Makrolidy jsou perorálně účinné (Lüllmann, 2004).

V současné době dělíme makrolidy na dvě generace. Do první generace spadají starší druhy, např. Erythromycin. Druhá generace obsahuje mladší makrolidy, jako například klaritromycin, dirithromyci, roxithromycin a další. Probíhající výzkumy, se snaží vyvinout třetí odolnější generaci (Příborský, 2001).

Jedním z prvních popsaných 14 členných makrolidů je erythromycin izolovaný z aktinomycet. Tato látka byla objevena v padesátých letech dvacátého století. Erythromycin je rozpustná sůl, která je vhodná pro nitrožilní aplikaci (Hejzlar, 1995). Strukturu tohoto preperátu tvoří 14členný makrocyclický laktanový kruh, od kterého jsou dále odvozeny další druhy. Při vytváření nových druhů, se hledělo především na jejich stabilitu, nežádoucí účinky na trávicí trakt a biologickou dostupnost. Erythromycin není stabilní v acidním prostředí. Tento zástupce se dnes využívá pouze při léčbě *acne vulgaris*. Dále je tato skupina antibiotik využívána při terapii toxoplazmózy, borelií, legionelly, mykoplasmat, chlamydií atd. (Příborský, 2001).

Roxithromycin, další makrolid první generace je stabilní v kyselém prostředí a dobře mu odolává. Tato semisyntetická látka je rychle distribuována do tělních tkání a tekutin. Roxithromycin je antibiotikum blízce příbuzné erytromycinu. Je charakterizováno dlouhým eliminačním poločasem kolem 12 hodin, výborně se vstřebává, umožňuje nízké dávkování, proniká velmi dobře do tkání i do buněk, má podstatně méně vedlejších účinků než erytromycin (Hejzlar, 1995). Dalším zástupcem této skupiny je klarithromycin, který je alternativou k erythromycinu a využívá se při léčbě respiračních infekcí, infekcí způsobených *Helicobacter pylori* a atypických pneumonií. Velice dobře se absorbuje v gastrointestinálním traktu (Příborský, 2001). Další pozitivní vlastností klarithromycinu je stabilita vůči kyselinám a snadný průnik do tkání a buněk (Hejzlar, 1995).

Ketolidy jsou polosynteticky vyráběná antibiotika, vznikají odvozením od 14členného makrolaktonového kruhu. Jejich molekula obsahuje přidané postranní řetězce v 11 a 12 poloze, což zajišťuje větší odolnost proti kyselému prostředí a antimikroorganickou aktivitu. Mezi ketolidy patří Telithromycin (Příborský, 2001).

Zástupcem 15členných makrolidů je látka zvaná Azithromycin. Toto velice stabilní antibiotikum dobře proniká do tělních tkání, tekutin, fibroblastů a do buněk u kterých probíhá fagocytóza.

3.1.4 Peptidy

Peptidy jsou baktericidní látky, s účinkem na grampozitivní i gramnegativní bakterie. Toto spektrum je u každého zástupce jiné. Antibiotika peptidové povahy se vyznačují vyšší mírou nefrotoxicity. Dělíme je do dvou základních skupin – Polymyxiny a Bacitraciny.

Polymyxiny účinkují na gramnegativní střevní tyčinky (především na *Pseudomonas aeruginosa*). Špatně se vstřebávají z gastrointestinálního traktu, proto je jejich užití pouze lokální. Těchto vlastností se využívá při léčbě infekcí střevního traktu. Dále jsou podávány při léčbě povrchových ran, spálenin, infekcí močových cest a meningitid (Lochmann, 1999). Hlavním zástupcem polymyxinů je polymyxin B, objevený v padesátých letech minulého století. Původcem této látky je bacil *Bacillus polymyxa*. Polymyxin patří mezi peptidová antibiotika s účinkem na gramnegativní bakterie, zatímco na grampozitivní je neúčinný. Patří k neúčinnějším protipseudomonádovým antibiotikům, přičemž je ale nutno pamatovat na značnou toxicitu (Hejzlar, 1995).

Bacitraciny jsou vhodné také pouze pro lokální aplikaci, a to zejména díky jejich vysoké nefrotoxicitě. Tyto antibiotika působí pouze na tzv. streptokoky skupiny A. Díky této afinitě, můžeme indikovat druh streptokoka, který způsobil infekci (Lochmann, 1999).

3.1.5 Glykopeptidy

Glykopeptidová antibiotika potlačují syntézu buněčné stěny. Jejich mechanismus účinku je využíván k inhibici u některých infekcí, které jsou vyvolány určitými multirezistentními grampozitivními bakteriemi. Tato skupina antibiotik působí baktericidně především na stafylokoky a dále na enterokoky, streptokoky, klostridia, listerie a korynebakteria. Dvěma hlavními zástupci této skupiny jsou Vankomycin a Teikoplanin. (Jindrák, 2014)

Vankomycin je látka s výrazně toxickými účinky. Tento preparát byl izolován z kmene *Streptomyces orientalis* v šedesátých letech dvacátého století. Jeho účinky jsou baktericidní a zasahují široké spektrum mikroorganismů od stafylokoků,

enterokoků až po anaerobní bakterie (Hejzlar, 1995). Při parenterální aplikaci vankomycinu byly zjištěny vedlejší účinky, a to tzv. *red neck* syndrom projevující se zarudnutím obličeje, krku a horní části trupu. Toto antibiotikum je často alternativou, která je využita např. při rezistenci nebo alergii k jiným látkám. Vankomycin v terapii často nahrazuje beta-laktamová antibiotika. Mechanismus účinku vankomycinu spočívá ve vazbě na terminální D-alanyl-D-alanin na konci peptidového řetězce, díky čemuž dojde k zabránění zesíťování tvořeného peptidoglykanu (Slíva, 2011).

Teikoplanin je spektrem účinku velice podobný Vankomycinu. Jeho použití je vhodné pro pacienty, kterým selhávají ledviny a to díky slabší toxicitě (Marek, 2005). Toto bakteriostatické antibiotikum působí na grampozitivní anaerobní i aerobní bakterie. Konkrétně byly tyto účinky pozorovány u kostních infekcí, endokarditid a septikemií. Dále víme, že tato látka je méně toxická, než vankomycin a nepůsobí tak často anafylaktoidní reakce (Hejzlar, 1995).

3.1.6 Linkosamidy

Tuto skupinu antibiotik se podařilo izolovat z plísně *Streptomyces lincolnensis*. Dvěma hlavními zástupci jsou Linkomycin a Klindamycin. Působí bakteriostaticky proti anaerobním bakteriím a grampozitivním kokům, podobně jako makrolidy. Mechanismus účinku spočívá jako u mnohých antibiotik v inhibici proteosyntézy vazbou na 50S ribozomální podjednotku.

Nejčastěji se z této skupiny v praxi používá u stafylokokových nálezů Linkomycin a to především díky jeho schopnosti proniknout do kostní dřeně. Tato schopnost mu umožňuje léčit stafylokokové osteomyelitidy (Lüllmann, 2007)). Ve formě hydrochloridu je v klinickém používání pro výbornou rozpustnost ve vodě. Antibiotikum účinkuje velmi dobře na řadu grampozitivních bakterií a na anaerobní mikroorganismy. Jeho téměř úplná netoxičnost umožňuje při potřebě dosažení vysokých koncentrací používání mnohogramových dávek v infuzi (Hejzlar, 1995).

Nejznámější a nejčastěji používaným linkosamidem je klindamycin. Je to látka připravená z molekuly linkosamidu v polovině dvacátého století. Toto

antibiotikum, působí hlavně na anaerobní bakterie, streptokoky a stafylokoky. Jeho spektrum je tedy na rozdíl od linkomycinu mnohem širší. Nežádoucím účinkem je vznik pseudomembránózní kolitidy.

3.1.7 Tetracykliny

Tetracykliny jsou bakteriostatická antibiotika se širokým spektrem účinku. Vliv mají na řadu prvoků, spirochéty, rickettsie, chlamydie, mykoplasmata a další. Mechanismus, kterým působí na bakterie, spočívá v inhibici elongace peptidů. K vstřebání látky dochází v trávicím traktu, především ve střevech. Tetracykliny se z trávicího ústrojí resorbují rozdílnou měrou, v závislosti na použité látce – téměř kompletně se resorbuje doxycyklin a minocyklin. Intravenózní podání je nutné jen vzácně (Lüllmann, 2007). Tetracykliny mají poměrně komplikované dělení. Dělíme je do tří skupin, a to na - základní, modifikované a novější.

Základní tetracykliny. Antimikrobiální preparát nazývaný tetracyklin, byl vyvinut v padesátých letech semisyntézou z chlortetracyklinu. Základní strukturu této látky tvoří čtyřčlenný hydronaftacenový kruh (Hejzlar, 1995). Gramnegativní bakterie jsou vůči Tetracyklinu rezistentnější než grampozitivní. Díky jejich širokému spektru účinku a tedy časté medikaci tetracykliny, vznikly rezistentní druhy, které jim odolávají. Rezistentní proti nim začali být stafylokokové, pneumokokové a také hemolitičtí streptokoci. Vhodné je perorální podání, protože se dobře vstřebává z vrchní části trávicího traktu.

Modifikované tetracykliny. Do modifikovaných tetracyklinů patří pouze jedno antibiotikum a to Rolitetracyklin. Synteticky vyráběný derivát základního tetracyklinu.

Novější tetracykliny. Jako jediný zástupce této skupiny je Doxycyklin podáván minimálně. Důvodem k tomu může být jeho široké spektrum účinnosti, díky němuž často narušuje stabilitu lidského organismu (Lochmann, 1999).

3.1.8 Chinolony

Chinolony jsou látky s baktericidními i statickými vlastnostmi a s širokým antimikrobním spektrem. Nízká toxita a odlišný mechanismus účinku jim zajišťuje časté využití. Dělíme je na nefluorované, fluorované chinolony neboli fluorochinolony a fluorované chinolony s širším spektrem účinku. Nejznámějším zástupcem nefluorovaných chinolonů je kyselina oxolinová, která působí na enterobakterie. Užívá se při léčbě infekcí močových cest, způsobených citlivými gramnegativními bakteriemi. Mechanismus účinku v letální desynchronizaci baktericidního metabolismu způsobené inhibicí včleňování prekursorů do DNA, zatímco syntéza RNA a bílkovin probíhá nerušeně dále (Lochmann, 1999).

Nefluorované chinolony se tolik nevyužívají, protože je jejich spektrum účinku užší. Působí tedy převážně na gramnegativní bakterie. Hlavním představitelem nefluorovaných chinolonů je kyselina nalidixová. Kyselina nalidixanová je schopná účinkovat pouze v moči, tudíž se používá jako antiseptikum močových cest. Dalším zástupcem je kyselina oxolinová, která má stejné terapeutické účinky.

Fluorochinolony jsou širokospektré a baktericidní látky, které inhibují bakteriální topoizomerázy. Tímto způsobem zamezují replikaci DNA bakterie. Vzhledem k tomu, že se těmito vlastnostmi liší od beta-laktamových antibiotik, aminoglykosidů i makrolidů jsou fluorochinolony vhodné pro kombinovanou terapii (Příborský, 2000). Fluorochinolony působí na grampozitivní i gramnegativní bakterie. Jejich široké spektrum účinku jim umožňuje inhibovat patogeny, které nejsou schopny jiná antibiotika zničit. Alternativní indikace: nemocniční infekce dolních cest dýchacích, komplikované uroinfekce, infekce pohybového aparátu, případně v kombinaci pro terapii abdominálních a gynekologických infekcí polymikrobiálního charakteru, alternativa makrolidů a tetracyklinů u chlamydiových a mykoplazmových infekcí (Marek, 2005). Velice dobře se tyto látky vstřebávají z gastrointestinálního traktu, tudíž je vhodné perorální podání.

Fluorochinolony s širším spektrem působícím i na některé anaeroby a pneumokoky rezistentní na penicilin jsou relativně mladou skupinou. Dále do spektra těchto látek patří i grampozitivní bakterie (Příborský, 2000).

3.1.9 Nitrofurany

Nitrofurany jsou baktericidní antibiotika, využívají se v medikaci močopohlavních cest a to na infekce způsobené kmeny *Pseudomonas aeruginosa*. Jejich spektrum působnosti postihuje i další běžné patogeny jako např. kvasinky, lamblie střevní, neisserie, streptokoky, stafylokoky, a *E. coli*. Mechanismus účinku není sice znám, ovšem hovoří se o účinku antiseptickém na urotel, případně o nescifické inhibici některých bakteriálních enzymů (Slíva, 2011).

Hlavním představitelem těchto látek je nitrofurantoin chemoterapeutikum s účinkem na gramnegativní a pozitivní bakterie. Je podáván perorálně a dobře se vstřebává. Nejčastěji se používá při gynekologických obtížích (Lochmann, 1999).

3.1.10 Sulfonamidy

Tyto minimálně toxické látky jsou bakteriostatické a působí na relativně široké spektrum mikroorganismů. Sulfonamidy dělíme podle schopnosti vstřebání z gastrointestinálního traktu na dobře a špatně vstřebatelné. Hlavními představiteli sulfonamidů, kteří se dobře vstřebávají, jsou sulfisoxazol, sulfadimidin, sulfamethoxazol, sulfamethoxydin a sulfadoxin. Tyto látky, které jsou výše vyjmenovány, se rozlišují podle délky jejich účinku. Mezi špatně vstřebatelné sulfonamidy sulfaguanidin, ftalylsulfathiazol a sulfasalazin (Lochmann, 1999). Sulfonamidy jsou dobře metabolizovány a vylučují se renálně. Časté jsou nežádoucí účinky, které se projevují změnami na kůži. V dnešní době se tato antibiotika používají zřídka a to především díky rezistenci, která na ně v průběhu let vznikla (Lüllmann, 2007).

3.1.11 Kotrimoxazol

Tato látka má spíše bakteriostatický než baktericidní účinek. Kotrimoxazol vzniká kombinací sulfamethoxazolu a trimetoprimu. Rezistence vůči tomuto antibiotiku vzniká minimálně (Lüllmann, 2007). Kotrimoxazol léčí uroinfekce,

toxoplazmózu, pneumocystovou pneumonii, nokardiózu, infekce způsobené *Yersinia enterocolitica* a další (Marek, 2005). Toto antibiotikum je vhodné k parenterální i perorální terapii. Vzhledem k velmi dobré biologické dostupnosti se neliší dávkování při perorální a parenterální aplikaci. Nitrožilní podání je vyhrazeno pouze pro situace, kdy pacient nepřijímá per os nebo může být z nějaké příčiny omezeno vstřebávání léku ze zažívacího traktu (Jindrák, 2014).

3.1.12 Nitroimidazoly

Nitroimidazoly mají jako většina antibiotik baktericidní účinky. Jejich mechanismus účinku působí na bakteriální DNA. Spektrum působnosti těchto antibakteriálních látek postihuje anaerobní bakterie, *Helicobacter pylori*, gardnerely, některé prvoky a další. Nejčastěji užívanými zástupci jsou metronidazol a ornidazol (Slíva, 2011). Metronidazol inhibuje tyto prvoky *Lamblia intestinalis*, *Trichomonas vaginalis* a *Entamoeba histolytica*. Z trávicího ústrojí se vstřebává velmi dobře a distribuuje se v celém organismu. Vzhledem k možným teratogenním účinkům se nedoporučuje podávat těhotným ženám (Lochmann, 1999). Druhým zástupcem vyvinutým v sedmdesátých letech je ornidazol, antibiotikum se slabšími nežádoucími účinky než metronidazol, díky tomu je jeho využití častější. Jeho spektrum účinku inhibuje améby, trichomonády a giardie (Hejzlar, 1995).

Tab. 1. Přehled antibiotik vhodných k léčbě nozokomiálních infekcí (Kolář, 2000)

Antibiotická skupina	Preparát	Poznámka
Širokospektré peniciliny s účinkem na <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Piperacilin	enteribakterie s produkcí širokospektrých beta – laktamáz jsou k těmto preparátům rezistentní, lze doporučit kombinaci s aminoglykosidy
Peniciliny kombinované s inhibitory bakteriálních beta – laktamáz	ampicilin/kys. klavulanová, ampicilin/sulbactam	jsou neúčinné na kmeny <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Providencia rettgeri</i>
Cefalosporiny I. a II. Generace	cefalotin cefazolin cefamandol cefuroxim cefoxitin	Nepůsobí na velkou část nozokomiálních bakterií (např. kmeny <i>pseudomonas aeruginosa</i> , <i>enterobacter sp.</i> , <i>acinetobacter sp.</i>), nutná kombinace s aminoglykosidy, nejsou účinné na enterokoky
Cefalosporiny III. Generace	cefotaxim ceftriaxon ceftazidim cefoperazin	rostoucí frekvence rezistentních gramnegativních kmenů s produkcí beta – laktamáz AmpC a AmpA, slabší účinek na stafylokoky, nejsou účinné na enterokoky
Cefalosporiny IV. generace	cefepim cefpirom	Vhodná kombinace s niroimidazoly při předpokládané spoluúčasti anaerobních bakterií
Karbapenemy	imipenem/cilastatin	nejsou účinné na

	propenem	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
Monobaktamy	Aztreonam	vhodná kombinace s nitroimidazoly při předpokládané spoluúčasti anaerobních bakterií, nepůsobí na grampozitivní bakterie
Aminoglykosidy	gentamycin tobramycin netilmicin isepamicin amikaci	vhodné kombinovat s beta – laktamovými antibiotiky, fluorochinolony, linkosamidy
Fluorochinolony	ofloxacin pefloxacin ciprofloxacin	vhodná kombinace s linkosaminy nebo nitroimidazoly při předpokládané spoluúčasti anaerobních bakterií
Linkosamidy	linkomycin klindymycin	účinné na anaerobní bakterie, vhodná kombinace s aminoglykosidy nebo fluorochinolony
Nitroimidazoly	metronidazol ornidazol	účinné na anaerobní bakterie, vhodná kombinace s aminoglykosidy, cefalosporiny III. a IV. generace nebo fluorochinolony
Makrolidy	erytromycin spiramycin klaritromyci	erytromycin je vhodný především k terapii legionelózy
Kotrimoxazol	trimetoprim	vhodný v případě nozokomiálních infekcí

		s etiologickou účastí <i>Stenotrophomonas</i> <i>maltophilia</i>
--	--	--

4. Bakteriální rezistence

Rezistence pojem, který má mnoho definic, je obecně schopnost bakterií odolávat inhibičním účinkům antibiotik. V souvislosti s rozšířením antimikrobiální terapie se rozšířila i rezistence na tyto preparáty, což je velký problém (Lochmann, 1999). Některými vědci, je tato situace pojmenována jako „celosvětová kalamita“. Abychom byli schopni tuto rezistenci zastavit či zpomalit její postup, je nutné kontrolovat antimikrobiální profylaxi. Je velice důležité zavést rutinní postupy, které by udržovaly účinnost těchto léků a omezovaly výskyt rezistentních mikroorganismů. K těmto postupům patří, mimo jiné, izolace a určení etiologického bakteriálního agens podle zásad správné laboratorní praxe, stanovení jeho citlivosti a racionální aplikace antimikrobních přípravků (Kolář, 2000).

Míra rezistence je dána několika faktory a to např. chemickou strukturou antibiotik, stavbou a schopností produkce enzymů bakterie. V této době víme o dvou typech bakteriální rezistence a to o primární a sekundární.

Přirozenou odolnost vůči antimikrobiálním látkám nazýváme tedy jako primární rezistenci. Všechny bakterie mají svou přirozenou rezistenci a nejsou tudíž ohroženy spektrem některých antibiotik. Bohužel neexistuje žádný přípravek, který by účinkoval na všechny bakterie a patogeny. Klasickým příkladem primární rezistence jsou např. vlastní producenti antimikrobních látek nebo např. rezistence *Pseudomonas aeruginosa* na penicilin (Lochmann, 1999).

Sekundární rezistence vznikla v průběhu antimikrobiální terapie. Často nesprávné či nadměrné aplikování antibiotik způsobilo, že mnoho mikroorganismů si vytvořilo proti těmto látkám své specifické obranné mechanismy. Sekundární rezistence je tedy celosvětovým problémem, který je nutný eliminovat, správnou terapií a vývojem nových účinných látek.

4.1 Vznik mikrobiální rezistence

Problém, se kterým se v dnešní době setkáváme, je rezistence bakterií. Dříve senzitivní bakterie, si postupem času vytvořily mechanismy, kterými jsou schopny odolávat účinkům antimikrobiálních látek (Levy, 2002).

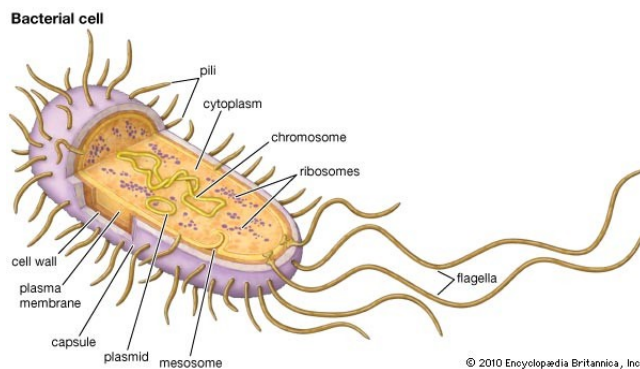
Z literárních zdrojů jsou nám známy dva způsoby vzniku antimikrobiální rezistence. Jedním z nich je fenotypická adaptace a druhým jsou genetické změny.

Adaptací fenotypu rozumíme přizpůsobení bakterií na změny metabolických procesů. Předpokládáme, že jde o potlačení určitých represorických genů s následným uvolněním nových metabolických pochodů. Tyto změny jsou pouze částečné a nejsou stálé. Vznik rezistence tímto způsobem není tolik významný, jako změny genetické podstaty.

Rezistence vzniklá genetickými přeměnami bývá vysvětlována dvěma způsoby. Prvním z nich je rezistence chromozomu tzv. mutačně-selekční rezistence. Tuto odolnost vůči antibiotikům způsobují spontánní mutace, které nevznikají v závislosti na předešlém kontaktu bakterie a antibiotika. Spontánní mutaci můžeme definovat jako náhlou dědičnou změnu, která vytváří nový genotyp. To znamená, že dochází k modifikaci genu nebo série genů na chromozomu, které jsou odpovědné za citlivost místa účinku daného antibiotika. Tato rezistence se přenáší při dělení na dceřiné buňky, tzn. že je trvalá (Lochmann, 1999).

Druhým typem je extrachromozomální rezistence, která funguje i opačným směrem, což znamená, že původně rezistentní druhy se stanou citlivé na určitý druh antibiotika. Za vznik tohoto způsobu rezistence jsou odpovědné R plasmidy, molekuly, které jsou schopné samostatné duplikace. Bakterie jsou díky genetické informaci plasmidů schopny vykonávat stále nové funkce a vytvářet nové produkty. Mezi funkce, které jsou plasmidy schopné zajistit, patří například schopnost přichycení na sliznici gastrointestinálního traktu, odolnost vůči teplotním výkyvům a přizpůsobení se různým fyzikálním jevům (UV záření, tekoucí vodě). Těchto genetických elementů je v bakteriální buňce od jednoho až po tisíce a jsou závislé na bakteriální buňce, protože nejsou schopné se mimo ni rozmnožovat (viz obr. 3).

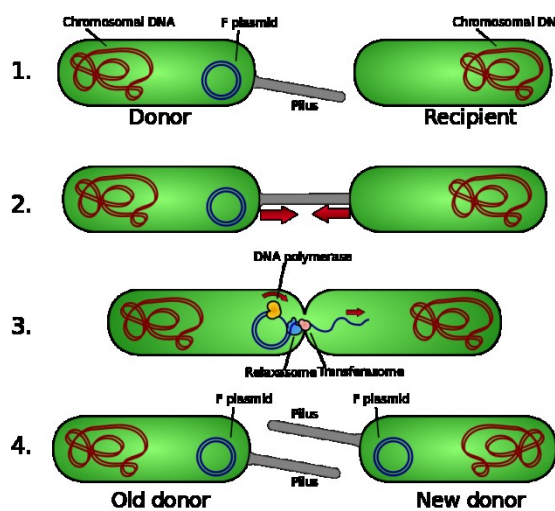
Bakteriální plasmidy jsou proměnné, neustále ztrácejí či získávají nové geny. Jsou schopny sloučit se s jiným plasmidem za vzniku jedné velké molekuly, nebo si umí prohodit úseky DNA (rekombinace). Díky těmto vlastnostem, si mohou vyměňovat i geny pro rezistenci k antibiotikům. Pokud si takto vymění několik genů, může vzniknout tzv. extrachromozomální element, díky kterému je bakteriální buňka schopna odolávat i několika antibiotikům zároveň.



Obr. 3 Bakterie a její součásti³

Proces, kterým si mikroorganismy vyměňují geny je velice komplikovaný. Dochází k němu, konjugací, transdukcí nebo transformací (Levy, 2002). Při konjugaci dochází k jednosměrnému přenosu genetické informace z jedné buňky do druhé. Při konjugaci se bakterie za pomoci bílkovinného útvaru nazývaného „pilus“ připojí k druhé bakterii. Mezi těmito dvěma bakteriemi vznikne spojovací kanálek (viz obr. 4), kterým přechází jedno vlákno chromozomální DNA z donoru do recipientní bakterie (Šilhánková, 1995). Díky tomuto procesu budou obě bakterie rezistentní vůči stejné látce.

Dále k přenosu DNA dochází transdukcí, což je proces, při kterém se přenáší DNA z buňky donorové do recipientní za pomoci bakteriofága. Poslední z těchto procesů je transformace, přenos volné DNA do recipientní buňky z rozpadlé donorové bakterie (Rosypal, 1979).



Obr. 3. Konjugace bakterie⁴

³ Převzato z: <https://www.britannica.com/science/plasmid>

Dalšími genetickými částicemi, kterými se geny mohou šířit, jsou tzv. transpozony. Vyskytují se na některých genech chromozomů, jsou to smyčky jednovláknové DNA, které využívají dvouvláknovou DNA. Jejich hlavní schopností je včlenění do jakýchkoliv částí chromozomu. Transpozony se mohou zasouvat do různých replikonů, kde se vytvářejí kointegráty transpozonu a repliknu – buďto chromozómu, bakteriofágu nebo plasmidu, které se potom mohou disociovat na dva replikony, z nichž oba dva obsahují transpozon. Tento pohyb jim umožňují koncové sekvence tzv. křídélka, kterými jsou schopny začlenit se do molekul DNA (Lochmann, 1999).

4.2 Rezistence a její mechanismy

Bakteriální rezistenci způsobuje několik faktorů. Mezi tyto faktory patří například změny nastávající v místě, na které působí antibiotikum. Antibiotika se většinou navazují na proteiny bakterie. V lokusu dané nukleové kyseliny, který kóduje protein navazující antibiotikum, mohou nastat změny. V důsledku toho, se receptor, který měl vázat antibiotikum, vůči němu stane rezistentní.

Druhým faktorem, který způsobuje rezistenci je impermeabilita. Tento mechanismus spočívá ve změně molekulární stavby přenašeče antibiotika. Díky těmto změnám není přenašeč schopen transportovat daný preparát do bakteriální buňky. Nejúčinnější je ovlivnění tvorby ATP, čímž je zpomalen či inhibován transport látky.

Intrinsic rezistence je dalším z těchto faktorů. V tomto případě získá bakterie plasmid obsahující informaci o syntéze enzymu, který odolává antibiotickým účinkům.

Posledním a nejvíce všeobecným faktorem je produkování inaktivačních enzymů. Tyto enzymy jsou produkovány bakteriemi a jejich hlavní funkcí je substituce či štěpení antimikrobiálních preparátů. Těmito způsoby dochází k inhibici antibiotik. Nejznámějšími enzymy, které mají tyto vlastnosti, jsou beta-laktamázy. Díky těmto enzymům vzniká především rezistence na beta-laktamová antibiotika (Lochmann, 1999).

⁴ Převzato z: [https://cs.wikipedia.org/wiki/Konjugace_\(biologie\)#/media/File:Conjugation.svg](https://cs.wikipedia.org/wiki/Konjugace_(biologie)#/media/File:Conjugation.svg)

5. Metody stanovení citlivosti bakterií na antibiotika

Hlavními důvody stanovení bakteriální citlivosti je upřesnění léčby, která byla nasazena bez jakýchkoliv testů, a dále k detekci náhlých změn v citlivosti (Marek, 2005). K dosažení pravdivých výsledků byly stanoveny standardizované metody, kterými je citlivost bakterií nejúspěšněji zjišťována. První všeobecně uznávané standardní metody vyšetření citlivosti zveřejnila v roce 1975 instituce *National Committee for Clinical Laboratory Standards*, od roku 2005 přejmenovaná na *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Tento institut každoročně obnovuje a modernizuje příručky pro diluční, difúzní testy a další standardní metody, kterými zjišťujeme bakteriální citlivost (Jindrák, 2014).

Důležitými předpoklady pro účinnou antibiotickou terapii jsou správné postupy při odběru vzorku a rychlý transport do laboratoře. Odběr zkoumaného materiálu se musí vždy provádět před zahájením terapie. Tyto zásady jsou mnohdy opomíjeny a poté dochází k nesprávné medikaci.

Dalším důležitým předpokladem vhodné léčby a indikace patogenu je zjištění citlivosti daného etiologického agens na antibiotika *in vitro*. Tato citlivost se dá zjistit za pomoci několika různých typů testů. Prvními z nich jsou difúzní testy, tzv. kvalitativní a kvantitativní difúzní test. Kvalitativní difúzní test je nejpoužívanějším a nejrozšířenějším testem na stanovení citlivosti k antibakteriálním preparátům. I když je tento test velice jednoduchý, přináší nám důležité poznatky o citlivosti či rezistenci zkoumaných bakteriálních kmenů. K tomuto testu jsou zapotřebí disky z filtračního papíru, které se impregnují určitým množstvím antibiotika. Po přiložení tohoto disku na agarovou půdu, dochází k difúzi antibiotika do okolního agaru, a zároveň se tvoří zmíněný gradient. Což znamená, že čím je antibiotikum vzdálenější, tím klesá jeho schopnost inhibice. Inhibiční zóny, které vznikají v okolí disku během inkubace bakteriální populace na půdě, jsou obvykle kulatého tvaru a jejich velikost je nejen stupněm citlivosti testovaného kmene, ale i difúzibilitou antibiotika, pH půdy, její výškou, bobtnavostí a koncentrací agarového gelu, živnými látkami a dalšími substancemi obsaženými v půdě, jakož i velikostí inokula a rychlostí jeho množení. Na disk je aplikováno takové množství antibiotika, jaké je potřeba v běžné terapii.

Kvantitativní difuzní test tzv. Epsilon test můžeme provádět, pokud nám jsou známy kvantitativní hodnoty koncentračního gradientu zkoumaných preparátů. Tento test je velice finančně i technicky náročný a proto je jeho využití méně časté. Epsilon test spočívá v nanesení několika různých vzorků antibiotika (liší se koncentrací) na testovací proužky. Proužek se poté přiloží na agarovou půdu a po 24h odečteme koncentraci antibiotika od hodnoty, u které končí inhibiční zóna.

Velice často se užívají tzv. diluční testy (viz Tab. 2). Při tomto testování je nutné aplikovat antibiotikum v různých koncentracích (od nejmenší po největší) do agarové půdy. Do každé zkumavky je naočkován určitý bakteriální kmen. Poté se zjišťuje, při jaké nejnižší koncentraci antibiotika došlo k inhibici bakteriálního agens. Výchozí hodnotu nazýváme minimální inhibiční koncentrace (MIC), což je nejnižší koncentrace antibiotik, při níž dochází k inhibici mikroorganismů. A hodnotu, která nám udává usmrcující schopnosti dané látky, nazýváme minimální baktericidní koncentrace (MBC). U některých antibiotik se mohou tyto hodnoty rovnat, ale také se mnohdy výrazně liší. Srovnáním hodnot MIC s hladinou antibiotika, která je dosažitelná v místě patogenního působení mikroorganismu, lze usuzovat na úspěch či neúspěch terapie. Znovu je třeba podotknout, že je nutno se vyhýbat hladinám blízkým MIC a dát přednost antibiotiku, jehož hladiny co nejvíc překračují MIC.

Nejčastěji používanou dilatační metodou je dilatační mikrometoda, která využívá jednorázové mikrotitrační destičky (Lochmann, 1999).

Informace o rychlosti účinku nebo kombinace antibiotik v čase zjišťujeme vyšetřením zvaným letální křivka. Díky výsledkům všech těchto metod můžeme pak daného původce zařadit do správné kategorie podle citlivosti, rezistence či intermediální rezistence k danému antibiotiku. Pokud je zjištěna citlivost k určitému antibiotiku, může být zahájena medikace vhodným množstvím a typem antibiotika. Jestliže je však zjištěna rezistence, je úspěch na léčbu minimální (Marek, 2005).

Tab. 2. Nejčastěji využívané testy k vyšetření citlivosti a jejich princip (Jindrák, 2014)

Metoda	Princip
Agarová diluční metoda	MIC (minimální inhibiční koncentrace) se hodnotí na agarových půdách, které obsahují zvolené koncentrace antibiotik. Obvykle se připravuje 12 – 15 koncentrací jednoho antibiotika v ředění dvojnásobně geometrickou řadou. Na půdy se aplikátorem očkuje standardní inokulum vyšetřovaných bakterií. Po příslušné době inkubace se odčítá MIC jako nejnižší množství antibiotika, které inhibuje viditelný růst.
Bujonová mikrometoda	MIC se hodnotí v jamkách mikrotitrační destičky s 96 jamkami, které obsahují zvolené koncentrace antibiotik v 0,1 ml bujonové půdy nebo v lyofilizovaném stavu. Do jamek se aplikátorem očkuje standardní inokulum vyšetřovaných bakterií. Po příslušné době inkubace se odečítá MIC jako nejnižší množství antibiotika, které inhibuje viditelný růst. Obvykle se používá 8 koncentrací jednoho antibiotika v ředění dvojnásobně geometrickou řadou. Testovací destičky lze vyrobit v laboratoru nebo získat od komerčních výrobců.
Testy s gradientem antibiotik	MIC se hodnotí na agarových půdách, na jejichž povrch se očkuje standardní inokulum vyšetřovaných bakterií. Na povrchu se klade proužek s gradientem koncentrací stabilizované antimikrobiální látky. Na druhé straně proužku je stupnice označující příslušnou koncentraci, která po příslušné době inkubace slouží k odečtení MIC v místě, kde elipsa inhibovaného růstu přetíná okraj proužku.
Disková difuzní metoda	Měří se průměr inhibiční zóny, vytvořený po příslušné době inkubace standardním inokulum na agarové půdě kolem disku s určitou koncentrací antibiotika. Průměr zóny inhibice se u jednotlivých antibiotik liší v závislosti na rychlosti jejich difuze z disku a je v obráceném poměru k jejich hodnotám MIC.

5.1 Výhody a nevýhody metod používaných k vyšetření citlivosti

Agarová diluční metoda. Mezi výhody tohoto vyšetření patří schopnost vyšetřit bakterie, které se špatně množí v tekutém prostředí. Je také vhodná pro zjištění kontaminace a odhaluje heterorezistenci. Bohužel však pro časovou a ekonomickou náročnost není tato metoda tak často využívána.

Bujonová mikrometoda. Tato metoda je velice často využívána, a to hlavně proto, že se snadno připravuje, je málo finančně náročná a snadno vyšetří MIC u velkých souborů mikrobiálních kmenů. Nevýhodou však je, že nelze použít u kmenů, které ve vodním prostředí autolyzují.

Testy s gradientem antibiotik. Vyšetření MIC je touto metodou velice snadné avšak velmi nákladné. Další nevýhodou je ovlivnitelnost výsledku koncentrací inokula.

Disková difuzní metoda. Tato metoda se v mnoha vlastnostech shoduje s dilučními metodami. Je velice jednoduchá a také zjišťuje heterorezistenci. Stejně jako u předchozí metody je výsledek testu ovlivněn koncentrací inokula (Jindrák, 2014).

6. Nežádoucí účinky antibiotik

Objev antibiotik a jejich hojné užívání přineslo postupem času i nežádoucí účinky. Vzhledem k tomu, že životní procesy mikroorganismů a vyšších organismů si jsou v mnohém podobné, je zcela pochopitelné, že antibakteriální preparáty mají vliv i na lidský organismus. Při stále narůstajícím množství antibiotik, je nutné znát jejich vedlejší účinky, a správně je využívat (viz Tab. 3).

Nežádoucí účinky antibiotik rozdělujeme do těchto skupin:

1. Toxické účinky
2. Imunoalterační příznaky
3. Nepřímé bioalterační příznaky
4. Příznaky vyplývající z rezistence a superinfekce

Toxické účinky

Toxicita antibiotik je jedním z nejzávažnějších účinků, které antibakteriální látky mají. Míra toxicity závisí především na stupni selektivní toxicity, hladiny sérových koncentrací, kondici daného mikroorganismu a způsobu aplikace. Eliminaci preparátu z organismu, zhoršuje stav vnitřních orgánů, především tedy jater a ledvin. Toxické účinky dělíme na přímé a účinky na velké orgány.

Přímé toxické účinky jsou ještě dále děleny dle jejich mechanismu. Nejčastěji vyskytujícím se je mechanismus s fyzikálně chemickým charakterem, který je udáván vlastnostmi daného preparátu a jeho lékovou formou. Mezi tyto fyzikální mechanismy patří: iritace, krystalizace, fototoxicita a poškození vodního a elektrolytového hospodářství. Iritační účinky závisí na velikosti dávky a v místě aplikace. Proto se účinky liší podle toho, jak byla látka aplikovaná. Například látka, podaná per os může způsobit trávicí obtíže, při aplikaci i. v. se může vyskytnout tromboflebitid atd. Dalším přímým fyzikálním toxickým vlivem je krystalizace látky. Tuto schopnost mají například sulfonamidy, které krystalizují a hromadí se v močových cestách. Velké množství krystalů může způsobit nefropatii (Lochmann, 1999). Pro fototoxicitu, je typický krátký rozestup mezi aplikací a negativními projevy. Fototoxicky účinkují griseofulvin, chinolony a tetracykliny. Mezi příznaky

fototoxicity patří velké kožní reakce po opalování. Pacienti, kteří jsou léčeni chinoliny, by se neměli vystavovat velkému množství slunečního záření (Příborský, 2000). Penicilin G a ampicilin působí na vodní a hospodářství.

Účinky na velké orgánové soustavy jsou specifitější. Peptidy a vankomycin působí neurotoxicky na periferní nervy a vyvolávají tzv. periferní neuropatii. Aminoglykosidy způsobují neuromuskulární blokádu a ovlivňují VIII. mozkový nerv. Nefrotoxické účinky vykazují aminoglykosidy, cefalosporiny, rifampicin a vankomycin (Lochmann, 1999). Dále chinolony, skupina antibiotik, které působí hepatotoxicky. Tento vzácný nežádoucí účinek zapříčinil omezení aplikace některých chinolonů. Další negativní vliv mají tyto látky na gastrointestinální trakt. Projevují se průjmami, zvracením, nauzeou a ztrátou chuti (Příborský, 2000).

Imunoalterační příznaky

Imunoalterační choroby se nejčastěji projevují jako alergie. Tyto projevy mají velice široké spektrum, jsou lokální, celkové, projevují se později i časně. Vzhledem k tomu, že těchto chorob narůstá a provádění kožních testů je značně riskantní pro možný vznik bezprostřední anafylaktické reakce, opírá se často klinik pouze o nepřilíš spolehlivé anamnestické údaje pacienta. Bohužel se tyto projevy velice špatně identifikují (Lochmann, 1999).

Antimikrobiální látky, které nejčastěji vyvolávají alergie, jsou peniciliny. Výjimečně při nežádoucích reakcích na peniciliny dochází až k anafylaktické reakci (Příborský, 2004). Příčinou těchto alergických reakcí, je základní struktura těchto preparátů, kterou tvoří kyselina 6 - aminopenicilánová. Vzhledem k tomu, že je tato kyselina základem pro velké množství antibiotik, dochází při aplikaci ke zkříženým imunologickým reakcím (Lochmann, 1999). Ty se projevují horečkou, bolestmi kloubů a kopřivkou.

Cefalosporiny reagují vesměs podobně jako peniciliny. Způsobují anafylaktické reakce, urtikarie, makulopapulózní vyrážky či bronchospasmus. I přes všechny tyto nežádoucí účinky jsou peniciliny a cefalosporiny brány jako jedny z nejbezpečnějších antibakteriálních látek vůbec (Příborský, 1999).

Dalšími antimikrobiálními preparáty, které způsobují alergické reakce, jsou chinoliny. Tyto reakce se projevují svědivými vyrážkami (Příborský, 2000).

Nepřímé bioalterační příznaky

Mezi tyto nežádoucí efekty patří odchylky vyvolané bakteriolýzou a hypovitaminózou. Bakteriolýza tedy rozpad bakteriálních buněk, způsobuje různé negativní reakce. Jednou z nich je například Jarisch-Herxheimerova reakce, která se projevuje horečnými stavy (Příborský, 2004). Velmi brzy se ukázalo, že za vznik této i celé řady podobných reakcí je odpovědný bakteriální endotoxin, který je součástí buněčné stěny některých infekčních agens (Lochmann, 1999).

Hypovitaminóza či avitaminóza je způsobena některými druhy antibiotik, které ovlivňují střevní mikroflóru, čímž dochází k inhibici produkce vitamínu K a B.

Příznaky vyplývající z rezistence a superinfekce

Rezistence je pro nás známá vlastnost mikroorganismů. Díky této vlastnosti, jsou bakterie schopny odolávat proti účinkům antimikrobiálních preparátů. Bakteriální rezistence vzniká především při necílené antibiotické profylaxi.

Jak víme, je náš organismus, především tedy jeho sliznice kolonizován autochtonními bakteriemi. Pro tyto bakterie je typické osídlení hostitele a jejich vzájemné symbiotické soužití. Autochtonní mikroorganismy tvoří velice významnou ochrannou bariéru lidského organismu proti vnějším infekcím. Jako příklad může sloužit ochranný vliv viridujících streptokoků před kolonizací horních cest dýchacích enterobakteriemi nebo přítomnost normálního střevního traktu před osídlením obligátních enteropatogenů.

Tato prospěšná bariéra může být však snadno narušena nesprávným podáním širokospektrého antibiotika a tím může dojít k vzniku superinfekce. Důsledky antibakteriálního působení mají dvojí charakter. Buďto může vzniknout tzv. endogenní infekce, přemnožení rezistentních mikroorganismů naší mikroflóry. Přemnožení těchto organismů může vyvolávat až septické stavy. Anebo vznikne tzv. exogenní infekce způsobená kolonizací mikroorganismů z vnějšího prostředí. Tyto dva typy vzniku infekce se od sebe dají jen velice těžko rozpoznat.

Nejčastějšími a nejnebezpečnějšími jsou superinfekce způsobené nozokomiálními patogeny. Nežádoucí příznaky vyvolané těmito superinfekcemi jsou různé. Někdy se pacientovi pouze celkově zhorší jeho stav či mu stoupne teplota.

Avšak mnohdy jsou projevy superinfekce vážné. Závažnými projevy jsou například generalizovaná kandidóza a pseudomembranózní kolitida (Lochmann, 1999).

Tab. 3. Významné nežádoucí účinky antibiotik (Marek, 2005)

Nežádoucí účinek	možný výskyt	vzácný výskyt
Anafylaxe	penicilin G	cefalosporiny, karbapenemy, rifampicin
Horečka	-	všechna antibiotika
Kožní reakce	peniciliny, sulfonamidy	všechna antibiotika
Fototoxicita	Tetracykliny	fluorochinolony
Neuropenie	sulfonamidy, trimetoprim	chloramfenikol, vankomycin, betalaktamy, metronimidazol
Nauzea, zvracení	Erytromycin	většina antibiotik
Arytmie	amfotericin B	penicilin G, fluorochinolony
Nefritida	Sulfonamidy	-
Periferní neuropatie	nitrofurany, metronidazol, polymyxin	tetracykliny
Neuromuskulární blokáda	aminoglykosidy, polymyxin	linkosamidy
Křeče	karbapenemy, penicilin	metronidazol, fluorochinolony
Sluchové ztráty	aminoglykosidy, vankomycin	erytromycin
Pankreatitida	-	kortimoxazol, nitrofurany

7. Farmakokinetika a farmakodynamika antimikrobních látek

V této kapitole bych ráda vysvětlila význam farmakokinetických a dynamických vlastností antibiotik. Obecně můžeme říct, že farmakokinetika je obor, který se zabývá chováním antibiotik v organismu a farmakodynamika je studijní obor zkoumající účinky které antibiotikum v daném organismu vykazuje.

Farmakokinetika se tedy zabývá: biotransformací, absorpcí, distribucí a exkrecí léčiv v lidském organismu.

Biotransformace je děj, který zvyšuje polaritu, a tudíž snižuje schopnost distribuce a reabsorpce antibiotika v ledvinách. Tento proces má dvě fáze, první probíhá většinou jako oxidace, hydrolýza či redukce při čemž vzniká reakční produkt. Ve druhé fázi konjuguje kyselina glukuronová, octová či sírová, díky čemuž se preparát lépe rozpustí a vyloučí močí. Obvykle probíhá biotransformace v játrech, krevní plazmě, střevní sliznici či v plicích (Slíva, 2011).

Absorpce je proces, kterým se medikament vstřebává do organismu. Tento děj je charakterizován jednou veličinou tzv. biologickou dostupností (F). Biologická dostupnost definuje množství léčiva vyjádřené v procentech, v němž dosáhne systémové cirkulace, a tudíž i často místa svého účinku. Absorpce je také charakterizována maximální plazmatickou koncentrací, která se značí jako C_{max} . Dobu, za kterou je této koncentrace dosaženo označujeme jako T_{max} . AUC tzv. plocha pod křivkou udává množství vstřebené látky za určitý časový úsek. Když je tato hodnota vyšší znamená to, že je dosaženo vyšší koncentrace nebo že látka setrvala déle v plazmě.

Existuje mnoho faktorů, které ovlivňují absorpci látek. Nejdůležitějším faktorem je druh aplikace. Prvním druhem je aplikace enterální cestou a to tedy perorální, rektální či sublingální podání a druhým poté parenterální aplikace. Nejčastěji je využíváno perorální podání, které je nejbezpečnější. Označujeme ho, jako tzv. efekt prvního průchodu játry (*first pass effect*), což znamená, že se látka dostává nejprve do portálního oběhu a poté je transportována do jater kde se metabolizuje. Toto podání není vhodné pouze pro látky, které nejsou schopné vstřebávat se v gastrointestinálním traktu. Faktorem, který dále ovlivňuje absorpci je forma léku, tím máme na mysli pevnou, tekutou, polotuhou či plynnou strukturu.

Mimo tyto dva hlavní faktory absorpci také ovlivňuje věk pacienta, prokrvení, množství účinné látky a velikost resorpční plochy.

Distribuce je dalším významným dějem zkoumaným farmakokinetikou. Tento proces je charakterizován veličinou, kterou známe pod pojmem distribuční objem V_d . Distribuční objem je výsledkem poměru aplikovaného množství látky a naměřené koncentrace látky v plazmě. Důležitým faktorem, který ovlivňuje tento děj, je hematoencefalická bariéra. Tato bariéra odděluje mozkovou tkáň od krevního oběhu. Dále je distribuce ovlivněna složením našeho těla, permeabilitou kapilár, průtokem krve kapilárami a lokálními rozdíly v pH.

Posledním zkoumaným procesem je exkrece antibiotik. Antibiotika jsou vylučována z lidského organismu ve formě metabolitů nebo mateřských molekul. Jejich eliminace probíhá nejčastěji v ledvinách, gastrointestinálním traktu či v plicích. V ledvinách dochází k vylučování prakticky třemi způsoby: glomerulární filtrací, aktivní tubulární sekrecí (např. penicilin), a pasivní difuze skrze tubulární výstelku (aminoglykosidy aj.) (Slíva, 2011).

Na farmakokinetiku působí ve stáří mnoho vlivů, které zhoršují její průběh. Prvním faktorem, který jí ovlivňuje, je změna distribučních prostor. S věkem v našem těle přibývá množství tuku a ubývá podíl svalstva, což vede k úbytku objemu vody v těle. Snížení hladiny tělesné vody a množství svalové hmoty vede k redukci distribučního prostoru a k vzestupu plazmatických hladin látek hydrofilních, které je nutno snížit. Zvýšením hladiny tělesného tuku dochází ke zvýšení distribučního prostoru pro lipofilní látky. Toto vede k delšímu uvolňování těchto látek z tuku a delšímu biologickému poločasu. Dalším faktorem ovlivňujícím farmakokinetiku je omezení očistné schopnosti ledvin. Pokles glomerulární filtrace a clearance kreatininu se s věkem rapidně snižuje a vede ke shromažďování látek, které jsou z organismu vylučovány renálně (aminoglykosidy, dioxin). V pokročilém věku je nutné redukovat množství těchto látek aplikovaných do organismu. Mezi poslední faktory, které ovlivňují farmakokinetiku, patří zhoršená absorpce látek v gastrointestinálním traktu, změny a defekty krevního řečiště a pokles vazebné kapacity plazmatických bílkovin (Marek, 2005).

Farmakodynamika je vědní obor zkoumající terapeutické a toxické účinky aplikovaných látek do organismu. Zaměřuje se především na vztah mezi koncentrací

a účinkem (inhibice či usmrcením mikroorganismu) preparátu. Kvantitativní farmakodynamické parametry jako maximální sérová koncentrace (C_{max}), poměr $C_{max}:\text{MIC}$, plocha pod křivkou v průběhu 24 hodin ve vztahu k MIC ($\text{AUC}_{0-24}:\text{MIC}$) a čas, po který je MIC vyšší než sérová koncentrace antibiotik ($T > \text{MIC}$), patří k významným prediktorům nejen klinické a bakteriologické úspěšnosti, ale také epidemiologické bezpečnosti léků.

Antimikrobiální látky můžeme na základě farmakokinetických a dynamických vlastností dělit do dvou skupin. První jsou antibiotika, jejichž účinek je závislý na čase. Do této skupiny řadíme linkosamidy, betalaktamová a makrolidová antibiotika. Druhou skupinu patří aminoglykosidy, imidazoly a fluorchinolony, tyto látky jsou závislé na koncentraci (Marek, 2005).

8. Závěr

Hlavním cílem této bakalářské práce bylo shrnutí obecných poznatků o antimikrobních látkách a jejich mechanismech účinku.

V současné době se používají antibiotika s pěti mechanismy účinku: inhibitory syntézy buněčné stěny, inhibitory proteosyntézy, inhibitory syntézy cytoplasmatické membrány, inhibitory syntézy kyseliny listové a inhibitory činnosti DNA. Důvodem pro vyvíjení nových a nových typů antibiotik s odlišnými mechanismy účinku, je objevující se rezistence bakterií, která má dva základní typy primární a sekundární. Primární neboli přirozená rezistence, je vytvořena u všech antibiotik. Větším problémem je pro nás sekundární rezistence, kterou si bakterie vytvořily v průběhu antimikrobní terapie. Ruku v ruce s bakteriální rezistencí jde další důležité téma, kterému se tato práce věnuje, a to citlivost bakterií na antibiotika. Citlivost na antibiotika se stanovuje dilučními a difúzními testy a měla by vždy předcházet před volbou terapie. Limitem používání antibiotik jsou jejich nežádoucí účinky např. kožní reakce, neuromuskulární blokáda, periferní neuropatie, fototoxicita a další. I přes tyto nežádoucí účinky jsou antibiotika nezastupitelná při léčbě bakteriálních infekcí a jejich objev je jedním z nejvýznamnějších milníků medicíny.

9. Seznam použité literatury

DOBIÁŠ, L. a kol. *Vybrané kapitoly z mikrobiologie*. Ostrava: Ostravská univerzita v Ostravě, 1999. ISBN 80-7042-776-0

HEJZLAR, M. *Antibiotika v praxi*. Praha: Makropulos, 1995. ISBN 80-901776-4-6

JINDRÁK, V., D. HEDLOVÁ, P. URBÁŠKOVÁ a kol. *Antibiotická politika a prevence infekcí v nemocnici*. Praha: Mladá fronta, 2014. ISBN 978-80-204-2815-8

KOLÁŘ, M. *Antibiotická léčba nozokomiálních infekcí*. Praha: TRITON, 2000. ISBN 80-7254-151-X

MAREK, J. a kol. *Farmakoterapie vnitřních nemocí*. Praha: Grada Publishing, 2005. ISBN 80-247-0839-6

NEČAS, O. a kol. *Učebnice pro lékařské fakulty*. Praha: AVICENUM, 1982.

LÜLLMANN, H., K. MOHR, L. HEIN *Barevný atlas farmakologie*. Praha: Grada Publishing, 2007. ISBN 978-80-247-1672-5

LOCHMANN, O. *Základy antimikrobní terapie*. Praha: TRITON, 1999. ISBN 80-72254-005-X

LANGE-ERNST, M. E. *Antibiotika omyly a pravda*. Olomouc: Fontána, 2005. ISBN 80-7336-202-3

PŘÍBORSKÝ, J. *Cefalosporiny*. Praha: MAXDORF, 1999. ISBN 80-85800-30-6

PŘÍBORSKÝ, J. *Chinolony*. Praha: MAXDORF, 2000. ISBN 80-85912-16-3

PŘÍBORSKÝ, J. *Makrolidy*. Praha: MAXDORF, 2001.

PŘÍBORSKÝ, J. *Peniciliny*. Praha: MAXDORF, 2004. ISBN 80-7345-026-7

SLÍVA, J., M. VOTAVA *Farmakologie*. Praha: TRITON, 2011. ISBN 978-80-7387-500-8

ROSYPAL, S., K. HODÁK, M. KOCUR *Biologie bakterií*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1979.

LEVY, S. B. *Antibiotický paradox: jak se nesprávným používáním antibiotik ruší jejich léčebná moc*. Praha: Academia, 2002. ISBN 978-80-200-1485-6

ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Praha: VICTORIA PUBLISHING, 1995. ISBN 80-85605-71-6

VODRÁŽKA, Z. *Biochemie*. Praha: Academia, 1996. ISBN 80-200-0600-1