

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

Mechanismy rezistence  
u *Campylobacter* spp.

Kateřina Mikysková

Bakalářská práce

2018

## **Prohlášení:**

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47 zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění předpisů a směrnicích Univerzity Pardubice č. 9/2012 bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 29. 6. 2018

Kateřina Mikysková

**Poděkování:**

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Davidu Šilhovi Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a pravidelné konzultace. Dále bych chtěla poděkovat své rodině, mému příteli a mým přátelům za jejich psychickou podporu během celého studia

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce se zaměřuje na mechanismy rezistence u *Campylobacter* spp. V práci jsou z počátku popsány nejdůležitější druhy rodu *Campylobacter* spp., jejich výskyt a onemocnění, které způsobují. V další části je popsána základní charakteristika rezistence, rezistence k antibiotikům a metody detekce rezistence mikroorganismů. Hlavní část práce je zaměřena na jednotlivé základní mechanismy rezistence, které zahrnují popis změny cílového místa, aktivní odčerpávání látek z buňky, tvorby bakteriálních enzymů, omezení průniku látek do buňky a tvorbu biofilmu. Dále jsou zde zmíněny mechanismy rezistence k různým antibiotickým látkám u *Campylobacter* spp., výskyt těchto rezistentních druhů a v neposlední řadě je zde zmíněno porovnání rodů *Campylobacter* a *Arcobacter*.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Antibiotika, *Arcobacter*, *Campylobacter* spp., mechanismy rezistence, rezistence

## **TITLE**

Mechanisms of resistance at *Campylobacter* spp.

## **ANNOTATION**

The bachelor thesis aims to mechanisms of resistance at *Campylobacter* spp. At the beginning there are introduced the most important species of *Campylobacter* spp, their presence and sickness caused by them. The next part describes basic characterization of resistance, resistance to antibiotics and methods which are able to detect resistance of microorganisms. The main part of thesis is aimed to individual basic mechanisms of resistance which include a description of shift of target place, active draining of substances from cell, production of bacterial enzymes, restraint of agents penetration to cell and production of biofilm. Then there are noticed mechanisms of resistance to different antibiotic substances of *Campylobacter* spp, presence of these resistant species and last but not least comparison between *Campylobacter* and *Arcobacter*.

## **KEY WORDS**

Antibiotics, *Arcobacter*, *Campylobacter* spp., mechanism of resistance, resistance

# Obsah

<b>Úvod .....</b>	<b>12</b>
<b>1 <i>Campylobacter</i> spp. ....</b>	<b>13</b>
1.1 Historie <i>Campylobacter</i> spp. ....	13
1.2 Základní rysy <i>Campylobacter</i> spp. ....	13
1.3 Profilové vlastnosti <i>Campylobacter</i> spp. ....	14
1.4 Kultivace <i>Campylobacter</i> spp. ....	14
1.5 Výskyt a onemocnění způsobená <i>Campylobacter</i> spp. ....	15
1.5.1    Kampylobakterióza.....	16
1.5.2    Gastroenteritida .....	18
1.5.3    Ostatní onemocnění spojená s <i>Campylobacter</i> spp. ....	18
1.6 Druhy <i>Campylobacter</i> spp. ....	18
1.6.1    Přehled vybraných druhů kampylobakterů.....	21
<b>2 Rezistence mikroorganismů.....</b>	<b>26</b>
2.1 Rezistence primární .....	26
2.2 Rezistence sekundární .....	26
2.3 Rezistence mikroorganismů k antibiotikům .....	28
2.4 Antibiotika .....	28
2.4.1    Baktericidní antibiotika .....	29
2.4.2    Bakteriostatická antibiotika .....	31
2.5 Metody zjišťování rezistence mikroorganismů .....	33
2.5.1    Disková difúzní metoda.....	33
2.5.2    E-test.....	34
2.5.3    Diluční metoda .....	34
2.5.4    Genotypová metoda.....	36
2.5.5    Kapková a komínková metoda .....	36
<b>3 Mechanismy rezistence mikroorganismů .....</b>	<b>37</b>
3.1 Změna cílové struktury mikroorganismu .....	37

3.2	Aktivní odčerpávání antimikrobiálních látek z buňky .....	38
3.3	Produkce bakteriálních enzymů.....	38
3.4	Omezení průniku antibiotik do buňky .....	39
3.5	Tvorba biofilmu .....	39
<b>4</b>	<b>Mechanismus rezistence u <i>Campylobacter</i> spp.....</b>	<b>41</b>
4.1	Mechanismus rezistence k chinolonům .....	42
4.2	Mechanismus rezistence k tetracyklinům.....	42
4.3	Mechanismus rezistence k makrolidům .....	43
4.4	Mechanismus rezistence k aminoglykosidům .....	44
4.5	Mechanismus rezistence k ostatním antimikrobiálním látkám.....	45
4.6	Epidemiologie výskytu rezistentních <i>Campylobacter</i> spp. ....	46
4.7	Porovnání <i>Campylobacter</i> a <i>Arcobacter</i> .....	48
<b>5</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>50</b>
<b>6</b>	<b>Seznam použité literatury .....</b>	<b>51</b>

## SEZNAM ZKRATEK

A.	<i>Arcobacter</i>
ATB	Antibiotikum
C.	<i>Campylobacter</i>
ČR	Česká republika
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
E.	<i>Escherichia</i>
EU	Evropská unie
GBS	Guillain-Barrého syndrom
MIC	Minimální inhibiční koncentrace ( <i>Minimum inhibitory concentration</i> )
mRNA	Mediátorová ribonukleová kyselina ( <i>messenger ribonucleic acid</i> )
M.	<i>Mycobacterium</i>
RNA	Kyselina ribonukleová ( <i>ribonucleic acid</i> )
rRNA	Ribozomální ribonukleová kyselina ( <i>Ribosomal ribonucleic acid</i> )
spp.	Subspecie, poddruh ( <i>subspecies</i> )
St.	<i>Staphylococcus</i>
V.	<i>Vibrio</i>

## SEZNAM OBRÁZKŮ

OBRÁZEK 1. <i>CAMPYLOBACTER JEJUNI</i> V ELEKTRONOPTICKÉM ZNÁZORNĚNÍ S JEDNÍM POLÁRNÍM BIČÍKEM (GREENWOOD ET AL., 1999).....	14
OBRÁZEK 2. ODHADOVANÁ MÍRA VÝSKYTU SALMONELÓZY V EU OD ROKU 2005 DO ROKU 2009 (HAVELAAR ET AL., 2012) .....	17
OBRÁZEK 3. ODHADOVANÁ MÍRA VÝSKYTU KAMPYLOBAKTERIÓZY V EU OD ROKU 2005 DO ROKU 2009 (HAVELAAR ET AL., 2012).....	17
OBRÁZEK 4. <i>CAMPYLOBACTER SPP.</i> (HOCHEL, 2009; LAGIER A THREADGILL, 2014; MILLER ET AL., 2017; MILLER ET AL., 2014; NGULUKUM ET AL., 2017; SCHULZE ET AL., 2006; WILKINSON ET AL., 2017).....	20
OBRÁZEK 5. MAPA ZAZNAMENANÉHO VÝSKYTU <i>CAMPYLOBACTER HYOINTESTINALIS</i> (WILINSON ET AL., 2017) .....	23
OBRÁZEK 6. <i>CAMPYLOBACTER RECTUS</i> (APPLETON, 2013) .....	24
OBRÁZEK 7. VYŠETŘENÍ ANTIBIOTICKÉ REZISTENCE DISKOVOU DIFUZNÍ METODOU (TENDENCIA, 2004) .....	33
OBRÁZEK 8. E-TEST (BURSOVOVÁ E AL., 2014) .....	34
OBRÁZEK 9. BUJONOVÁ MIKRODILUČNÍ METODA. MIC JE OZNAČENA V JAMKÁCH ČERVENÝM KOLEČKEM (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2010).....	35
OBRÁZEK 10. MECHANISMY REZISTENCE NA ANTIBIOTIKA (ENCYCLOPEDIA BRITANNICA, 2009).....	37
OBRÁZEK 11. TVORBA BIOFILMU (HARRISON ET AL., 2005).....	40
OBRÁZEK 12. HLAVNÍ MECHANISMY REZISTENCE U <i>CAMPYLOBACTER SPP.</i> (IOVINE, 2014) .....	41
OBRÁZEK 13. MODEL VÝVOJE REZISTENCE NA FLUOROCHINOLONY A MAKROLIDY U <i>CAMPYLOBACTER SPP.</i> (LUANGTONGKUM ET AL., 2009).....	44



## SEZNAM TABULEK

TABULKA 1. POČET HLÁŠENÝCH PŘÍPADŮ KAMPYLOBAKTERIÓZY A SALMONELÓZY V ČR OD ROKU 2008 DO ROKU 2017 (STATNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV) .....	16
TABULKA 2. PŘÍKLADY ZAVEDENÍ ANTIBIOTIK DO KLINICKÉ PRAXE A VÝSKYT REZISTENCE NA TATO ANTIBIOTIKA (SPÍŽEK, 1999).....	27
TABULKA 3. ROZDĚLENÍ BETA-LAKTAMOVÝCH ANTIBIOTIK (SMET ET AL., 2010).....	30
TABULKA 4. SOUHRN ZÁKLADNÍCH MECHANISMŮ REZISTENCE U <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP. (AARESTRUP ET AL., 2008; IOVINE, 2014) .....	46
TABULKA 5. MÍRA REZISTENCE K ERYTHOMYCINU A AZITHROMYCINU V % U LIDÍ PO CELÉM SVĚTĚ OD ROKU 1989 (ENGBERG ET AL., 2001).....	47
TABULKA 6. BIOCHEMICKÉ VLASTNOSTI ČLEDI <i>CAMPYLOBACTERACEAE</i> (BHUNIA, 2018) .....	49

## SEZNAM GRAFŮ

GRAF 1. VÝSKYT KAMPYLOBAKTERIÓZY V ČESKÉ REPUBLICE V LETECH 2007-2016 (TATAROVÁ, 2017) .....	16
GRAF 2. MÍRA REZISTENCE <i>CAMPYLOBACTER COLI</i> A <i>CAMPYLOBACTER JEJUNI</i> NA CHINOLONY V PROCENTECH OD ROKU 1989 AŽ DO ROKU 1999 (ENGBERG ET AL., 2001) .....	48

## Úvod

První část bakalářské práce se zaměřuje na rod *Campylobacter* jako takový. Jsou zde popsány základní charakteristické rysy, vlastnosti tohoto rodu, výskyt a onemocnění zapříčiněné *Campylobacter* spp. Zaměřila jsem se také na popsání několika významných druhů kampylobakterů, které mají invazivní charakter. V této práci jsou popsány i rozdíly mezi rezistencí primární a sekundární, dále rezistence k antibiotikům a základní informace o antibiotikách.

Hlavní cíl této práce se nachází v další části bakalářské práce. Jedná se o pochopení mechanismů, které se podílejí na rezistenci u *Campylobacter* spp. Antimikrobiální rezistence u *Campylobacter* se v posledních letech stala velmi významným problémem jak v rozvinutých, tak v rozvojových zemích. *Campylobacter* patří mezi organismy, které jsou rezistentní vůči některým chinolonům, makrolidům, aminoglykosidům, tetracyklinům a ostatním antimikrobiálním látkám. Jsou zde popsány základní mechanismy, které tyto rezistenci ovlivňují.

Mezi mechanismy ovlivňující rezistenci u *Campylobacter* lze zařadit modifikaci látek pomocí enzymů, sníženou prostupnost membrány, mutaci v cílových místech nebo efluxní systém. Rezistenci těchto druhů z velké míry ovlivňuje i jejich výskyt.

# 1 *Campylobacter* spp.

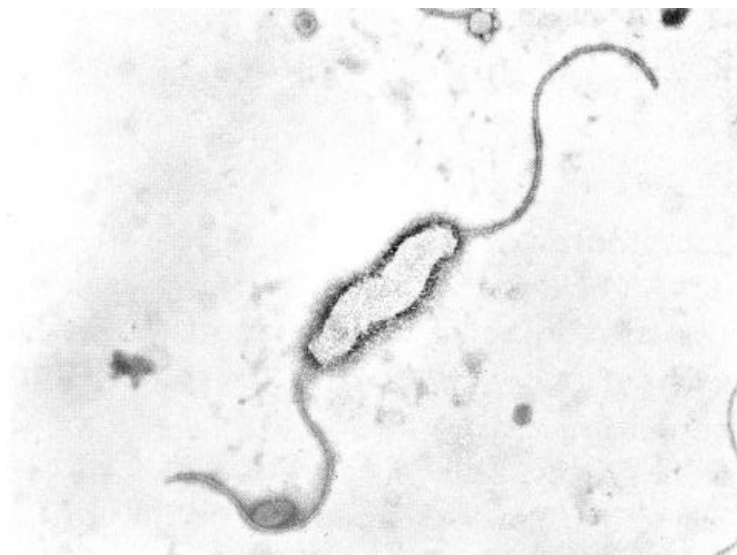
## 1.1 Historie *Campylobacter* spp.

První zmínka o *Campylobacter* byla již v roce 1886, kdy Theodor Escherich pozoroval a popsal nekultivovatelné bakterie ve tvaru spirály (Nachamkin et al., 2008). V roce 1906 byla tato bakterie opět identifikována dvěma veterináři, kteří hlásili výskyt „zvláštního organismu“ v děložním hlenu ovce. Až Mc Fadyean a Stockman poprvé izolovali tento organismus a teprve v roce 1927 Smith a Orcutt pojmenovali skupinu bakterií izolovaných z výkalů skotu jako *Vibrio jejuni*. Píše se rok 1944 a Doyle klasifikuje jiné vibrio a nazývá jej jako *Vibrio coli* (Silva et al., 2011). V roce 1947 Vinzent a jeho spolupracovníci prokázali patogenitu těchto vibrií tím, že úspěšně izoloval *V. fetus* z krve gravidních žen, které trpěly dlouhodobým horečnatým stavem a následným potratem. Za dalších 10 let byl diagnostikován v krvi pacienta mikroorganismus, který se morfoloogicky příliš nelišil od *Vibrio fetus*, nicméně biochemické a genetické vlastnosti byly rozdílné a proto tento nový druh byl označen termínem “related vibrio“. V roce 1963 byl začleněn *V. fetus* a *V. tubulus* díky stanovenému obsahu guaninu a cytosinu v molekule DNA do nového rodu, který je nazýván *Campylobacter* (Hochel, 2009).

*Campylobacter* spp. byl ještě na konci 80. let zahrnován do čeledi *Spirillaceae*, nicméně na základě genetické a molekulární struktury vznikla v roce 1991 nová čeleď nazývaná *Campylobacteraceae*, která zahrnovala 3 hlavní rody, rod *Campylobacter*, *Arcobacter* a *Helicobacter* (Vandamme et al., 2008).

## 1.2 Základní rysy *Campylobacter* spp.

Kampylobaktery jsou krátké gramnegativní tyčinky, které mají ve většině případů spirálovitý či zakřivený tvar často připomínající písmeno S. Rozměry se pohybují okolo 0,2-0,8  $\mu\text{m}$  na šířku a 0,5-5  $\mu\text{m}$  na délku. Kampylobaktery jsou bakterie, které netvoří spory a většina druhů je pohyblivých pomocí polárních bičků (Obrázek 1), které se nacházejí na jednom nebo na obou koncích buňky. Ovšem byly popsány i druhy, které pohyblivé nejsou, např. *C. gracilis* (Hochel, 2009).



**Obrázek 1. *Campylobacter jejuni* v elektronoptickém zázornění s jedním polárním bičíkem (Greenwood et al., 1999)**

### **1.3 Profilové vlastnosti *Campylobacter* spp.**

Metabolismus, který je velmi důležitý pro kampylobaktery je dostatečně flexibilní a je díky němu umožněno přežívání buněk v prostředí. Tyto bakterie postrádají 6-fosfofruktokinázu, která je klíčovým enzymem v energetickém metabolismu. Kampylobakter získává energii prostřednictvím dýchání, oxidací vodíku a formiátu pro redukci akceptorů elektronu jako jsou formiát, dusičnany a siřičitany (Epps et al., 2013).

Kampylobaktery mají dva hlavní typy antigenů - somatický O-antigen a bičíkový H-antigen (Greenwood et al. 1999). Nehydrolyzují škrob, tyrosin, kasein ani želatinu a testy na methylčerveň a produkci acetoinu jsou negativní (Hochel, 2009). Mezi jejich biochemické vlastnosti patří například redukce fumarátu, dusičnanů a produkce indolu. Tyto bakterie jsou pozitivní na přítomnost enzymů peroxidázy a oxidázy (Nachamkin et al., 2008).

### **1.4 Kultivace *Campylobacter* spp.**

*Campylobacter* je mikroorganismus chemoorganotrofní, který roste v mikroaerofilním prostředí s koncentrací  $O_2$  v rozmezí 3-15 % (Hochel, 2009), ovšem některé druhy rostou v aerobním či anaerobním prostředí (McClure a Blackburn, 2009). Rostou při teplotě 35-37 °C

(Hochel, 2009). Oproti jiným bakteriím rostou pomaleji a není vhodné je kultivovat s jinými bakteriemi (Bibek, 2001). Je důležité podotknout, že některé druhy vyžadují ke svému růstu přítomnost mravenčanu nebo vodíku (Hochel, 2009).

Termotolerantní druhy rodu *Campylobacter* jsou mikroorganismy, které rostou při 42 °C v mikroaerofilním prostředí (5 % O<sub>2</sub>, 10 % CO<sub>2</sub> a 85 % dusíku), vytvářejí charakteristické kolonie, a vykazují charakteristickou pohyblivost. Příslušníci rodu *Campylobacter* jsou velmi citliví a proto se nedoporučuje je dlouhodobě uchovávat ve zmrazeném stavu.

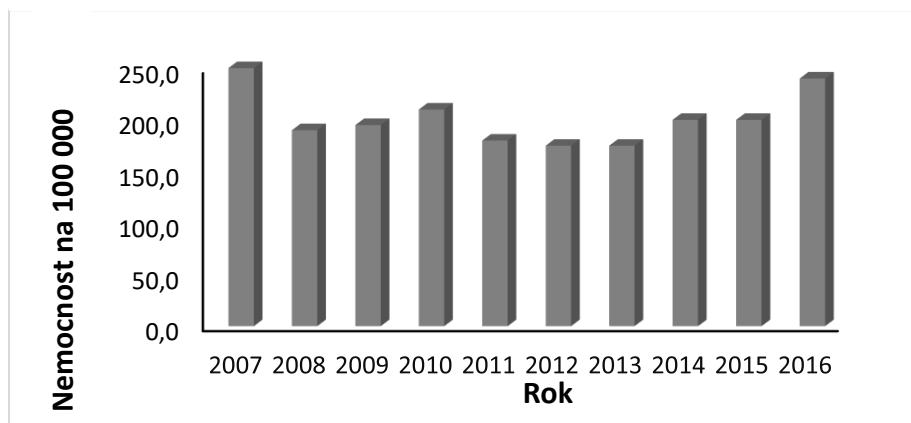
Mezi kultivační půdy, které jsou vhodné pro kultivaci kampylobakterů, patří tekuté pomnožovací půdy (bujon podle Prestona a bujon podle Parka a Sanderse) a pevné selektivní půdy (agar dle Karmaliho, modifikovaný agar podle Butzlera a agar dle Skirrowa) (Pazlarová, 2011).

## **1.5 Výskyt a onemocnění způsobená *Campylobacter* spp.**

Kampylobaktery se fyziologicky vyskytují převážně ve střevním traktu volně žijících, ale i domácích zvířat. Člověk se může nakazit konzumací kontaminovaných potravin jako je například syrové nebo nepasterizované mléko, vepřové, drůbeží nebo hovězí maso, požitím kontaminované vody, ústřic, slávek, krabů, ale i hub a zeleniny. Dále konzumací nedostatečně tepelně upravených potravin. Kampylobaktery jsou schopné přežívat v potravinách při teplotě nižší než 0 °C i 112 dní. K nákaze může dojít i přímým stykem s infikovaným zvířetem, či při přenosu z člověka na člověka. Vstupní bránou infekce je tedy trávicí ústrojí (k infekci stačí dávka 500 buněk) a poté se infekce šíří ileem do tlustého střeva a konečníku (Greenwood et al., 1999).

*Campylobacter* je dobře znám jako hlavní příčina střevních bakteriálních průjmů po celém světě. Mezi tato onemocnění patří kampylobakterióza (Silva et al., 2011) a v menší míře gastroenteritida. Graf 1 znázorňuje výskyt kampylobakterií v České republice v letech 2007 až 2016 (Tatarová, 2017).

**Graf 1. Výskyt kampylobakterií v České republice v letech 2007-2016 (Tatarová, 2017)**



### 1.5.1 Kampylobakteriíza

Kampylobakteriíza je onemocnění, které nabylo na významu především v posledních letech, kdy se zvýšil počet nemocných, a to i na území ČR. Hlavním původcem je *C. jejuni*, dále pak i *C. lari* a *C. coli* (Roháčová, 2005). Nejvýznamnějším zdrojem těchto patogenních bakterií pro člověka je drůbež. Člověk se může nakazit ale i z hovězího a vepřového masa. K infekci dochází i při přímém přenosu, kdy má člověk určitý kontakt se zvířaty, která mohou být nositelé těchto bakterií.

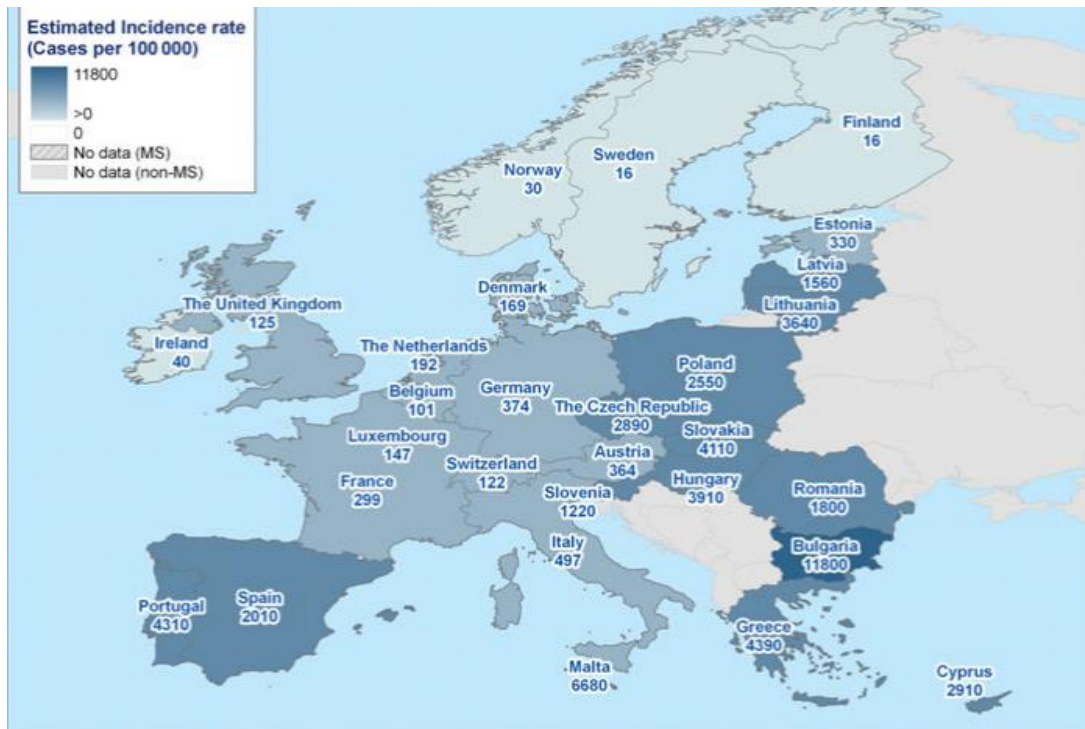
Kampylobakteriíza se projevuje jako zánět žaludku i střeva s krvácením do střeva a převážně u dětí mívá velmi těžký průběh (Rambousková et al., 2007). Inkubační doba onemocnění je mezi 24 až 72 hodinami. Může nastat horečka, zimnice, bolesti hlavy nebo svalové křeče doprovázené průjmem.

Kampylobakteriíza je onemocnění podobné salmonelóze. Jedná se o nejčastější zoonózy ve vyspělých zemích. Ve Spojených státech amerických je salmonelóza zodpovědná za více než 18 000 hospitalizací a 500 úmrtí za rok. I přesto se kampylobakteriíza považuje za nejčastější střevní onemocnění (Castillo et al., 2008). V České republice je výskyt kampylobakteriízy hlášen častěji než výskyt salmonelózy (Tabulka 1).

**Tabulka 1. Počet hlášených případů kampylobakteriízy a salmonelózy v ČR od roku 2008 do roku 2017 (Státní zdravotní ústav)**

Rok	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Salmonelóza	11009	10805	8622	8752	10507	10280	13633	12739	11912	11778
Kampylobakteriíza	20175	20371	21164	18811	18412	18389	20903	21102	24291	24508

V Evropské unii byl před několika lety odhadován skutečný výskyt kamylobakterií a salmonel (Obrázek 2 a Obrázek 3). V roce 2009 bylo hlášeno v EU 108 614 případů salmonel, kdežto u kamylobakterií bylo hlášeno dokonce 198 252 případů (Havelaar et al., 2012).



**Obrázek 2. Odhadovaná míra výskytu salmonelózy v EU od roku 2005 do roku 2009 (Havelaar et al., 2012)**



**Obrázek 3. Odhadovaná míra výskytu kamylobakterií v EU od roku 2005 do roku 2009 (Havelaar et al., 2012)**

### 1.5.2 Gastroenteritida

Gastroenteritida je onemocnění, které vyvolává záněty převážně žaludku, tenkého a tlustého střeva. Projevy onemocnění jsou ve většině případů průjemy, zvracení a silné bolesti břicha. Nejčastějším původcem je *Campylobacter jejuni*, ale ne ve všech případech je *Campylobacter* původce tohoto onemocnění. Například u dětí mohou být původcem gastroenteritid rotaviry.

Příznaky se objevují do dvou dnů a člověk se opět nakazí konzumací kontaminovaných potravin v tomto případě hlavně drůbežím masem, sýry a ovocem. Mezi primární léčbu stejně jako u kampilobaktériózy řadíme rehydrataci (Patel et al., 2008).

### 1.5.3 Ostatní onemocnění spojená s *Campylobacter* spp.

*Campylobacter* se dále podílí i na syndromu Guillain-Barré (GBS) nebo na reaktivní artritidě. GBS je akutní zánětlivá polyneuropatie postihující nervovou soustavu. Toto onemocnění je charakterizováno progresivní svalovou slabostí, parestéziemi a areflexií. V těžkých případech vede GBS k respiračnímu selhání (Winer, 2014).

Reaktivní artritida je neinfekční zánět kloubů, který vzniká následkem infekčního onemocnění způsobeného nejčastěji salmonelami, kampilobaktery nebo chlamydiemi (Pope et al, 2007).

## 1.6 Druhy *Campylobacter* spp.

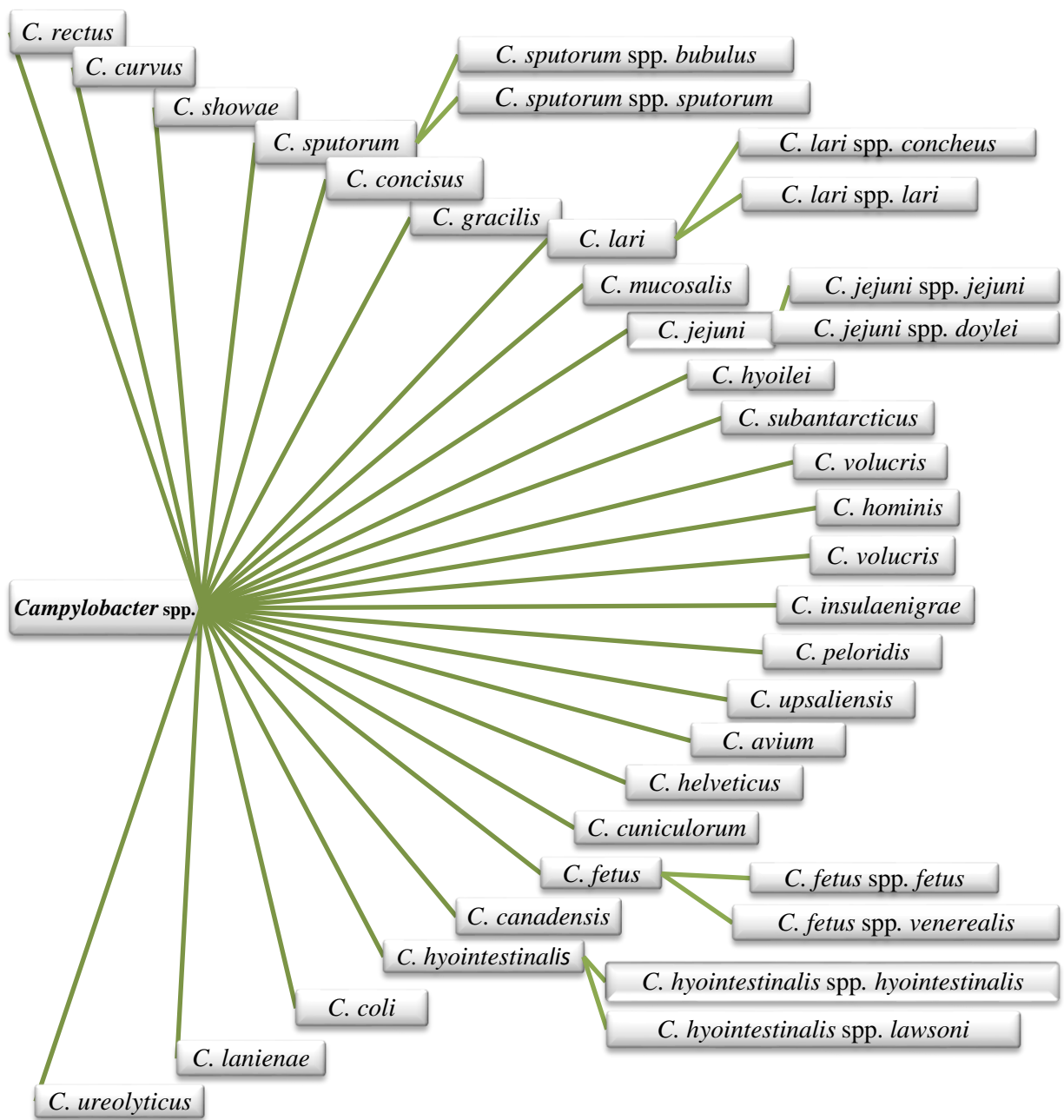
Ze dvou původně popsaných druhů (*C. fetus* a *C. bubulus*), které navrhli Sebald a Veron se taxonomie rodu *Campylobacter* značně změnila. Různé taxony dříve popsané jako druhy *Campylobacter* byly reklasifikovány a zařazeny do jiných rodů (např. *C. butzleri* k *A. butzleri*), zatímco několik dalších, které byly považovány za jiné taxony, byly reklasifikovány a přepsány do rodu *Campylobacter* (např. *Bacteriodes ureolyticus* na *Campylobacter ureolyticus*) (Ngulukun, 2017).

V současné době má rod *Campylobacter* 32 druhů a dalších 13 poddruhů (Frasao et al., 2017). *Campylobacter jejuni* spp. *jejuni*, *Campylobacter jejuni* spp. *doylei*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter upsaliensis* a *Campylobacter helveticus* jsou druhy, které si jsou geneticky blízké a jsou nejčastěji izolovány ze stolice.



Mezi druhy, které vyžadují vyšší koncentraci vodíku, řadíme *C. concisus*, *C. showae*, *C. curvus*, *C. rectus*, *C. gracilis*, *C. sputorum* a *C. hominis*.

K dalším druhům patří *Campylobacter mucosalis*, *Campylobacter fetus* spp. *fetus*, *Campylobacter fetus* spp. *venerealis*, *Campylobacter hyointestinalis* spp. *hyointestinalis*, *Campylobacter hyointestinalis* spp. *lawsoni*, *Campylobacter lari*, *Campylobacter insulaenig*, *Campylobacter lanienae*, *Campylobacter canadensis* (Hochel, 2009) a mnoho dalších druhů, které nejsou dopodrobna popsány. Na Obrázku 4 je zaznamenán přehled kampylobakterů dohledaných v současné literatuře.



Obrázek 4. *Campylobacter* spp. (Hochel, 2009; LaGier a Threadgill, 2014; Miller et al., 2017; Miller et al., 2014; Ngulukum et al., 2017; Schulze et al., 2006; Wilkinson et al., 2017)

### 1.6.1 Přehled vybraných druhů kampylobakterů

#### *Campylobacter jejuni*

*Campylobacter jejuni* je důležitý gastrointestinální patogen, který způsobuje průjmová onemocnění po celém světě. Tato bakterie je čtenou složkou střevní mikroflóry ptáků a savců (Teunis et al., 2018). K příznakům onemocnění patří průjem, zvracení, nevolnost a zvýšená teplota. Jako základní léčba je doporučována rehydratace.

*C. jejuni* kolonizuje u lidí distální ileum i tlusté střevo a k cílovým buňkám se dostává pomocí bičíku a různých adhezních faktorů tzv. adheziny. Mezi geny adhezínů, které jsou důležité pro účinnou interakci s hostitelskými buňkami, řadíme *CadF*, *PLpA*, *JlpA* a *CapA* (Oyarzabal et al., 2017).

#### *Campylobacter coli*

*Campylobacter coli* je druhým nejčastějším gastrointestinálním patogenem člověka. Jedná se o gramnegativní bakterii ve tvaru písemene S, která vyžaduje vysoký obsah oxidu uhličitého ke svému růstu. Kmeny *C. coli* vykazují odolnost vůči různým antibiotikům, jako jsou makrolidy a fluorochinolony (Silva et al., 2011). Mezi příznaky onemocnění, které způsobuje *C. coli*, patří bolesti břicha, horečky a krvavá stolice.

#### *Campylobacter upsaliensis*

*Campylobacter upsaliensis* je kataláza negativní nebo slabě pozitivní, termotolerantní druh *Campylobacter*. *C. upsaliensis* je citlivý na kyselinu nalidixovou a cefalosporin, proto byl hlášen jako netolerantní druh ke kultivačním podmínkám, které byly optimalizovány pro *C. jejuni* a *C. coli*.

*C. upsaliensis* byl označen jako hlavní organismus, který způsobuje průjmy nejen u psů ale i u lidí. Přenos těchto bakterií probíhá konzumací kontaminované potravy nebo vody. *C. upsaliensis* byl nejčastěji hlášen jako hlavní příčina enteritidy a bakterémie. Infekce způsobené *C. upsaliensis* jsou často spojeny imunokompromitovaným stavem. Ačkoli nikdy nebyl hlášen závažný případ (Nakamura et al., 2015).

#### *Campylobacter helveticus*

*C. helveticus* je kataláza negativní, termotolerantní bakterie, která byla izolována z domácích mazlíčků a to hlavně koček a psů. Přestože *C. helveticus* je podobný

druhu *C. upsaliensis*, nikdy nebyly hlášeny případy lidského onemocnění spojené právě s *C. helveticus* (Miller et al., 2017).

### ***Campylobacter concisus***

*C. concisus* je gramnegativní bakterie, která ke svému růstu vyžaduje anaerobní či mikroaerofilní prostředí. Je velmi obtížné tuto bakterii kultivovat. Avšak existují zprávy o tom, že *C. concisus* byl jediným patogenem izolovaným ze stolice pacienta, který trpěl akutním průjmem. Je tedy možné, že se jedná o původce akutních gastrointestinálních infekcí u lidí. Některé studie navíc naznačují, že infekce způsobené touto bakterií jsou predispozicí k rozvoji gastroezofageálního refluxního onemocnění a Barrettova jícnu. Zároveň jsou studie, které naznačují, že *C. concisus* je spouštěč zánětlivého onemocnění střev. Bylo prokázáno, že tento *Campylobacter* je přítomen u pacientů s nově diagnostikovanou Crohnovou chorobou (Huq et al., 2017).

### ***Campylobacter showae***

Jedná se gramnegativní bakterii, která je pohyblivá pomocí několika bičíků. *C. showae* je orální komenzál, který byl historicky spojován s gingivitidou a periodontitidou. V nedávné době byl spojen s nově diagnostikovaným onemocněním střev, hepatolitiázou a kolorektálním karcinomem (Gemmell et al., 2017).

### ***Campylobacter curvus***

*Campylobacter curvus* je velmi vzácný druh kampakylobaktera, který je přítomný v lidské ústní dutině a může být spojen s extraorálními infekcemi jako je empyém (Miller et al., 2012).

### ***Campylobacter fetus***

*Campylobacter fetus* způsobuje onemocnění střev a závažné systémové infekce. Tyto infekce postihují především osoby s vyšším rizikem imunokompromitovaných chorob a osob, které pracují s infikovanými zvířaty, Rezervoárem pro *C. fetus* je hlavně skot nebo ovce.

Jedná se o mikroaerofilní spirálovitou bakterii, která roste mezi 25 °C a 37 °C. *C. fetus* zahrnuje 2 poddruhy. *C. fetus* spp. *fetus* a *C. fetus* spp. *venerealis*, který je znám jako infekční patogen zvířat. *C. fetus* spp. *venerealis* může způsobit infekci u krav, což vede k neplodnosti nebo potratu (Schulze et al., 2006).

### ***Campylobacter hyointestinalis***

*Campylobacter hyointestinalis* je členem rodu *Campylobacter*, který je nejčastěji identifikován u lidí se žaludečními problémy. Původně byl izolován z prasat, nicméně se hojně vyskytuje i u lidí, které trpí gastrointestinálním onemocněním. Mezi hostitele řadíme dobytek, ovce a jeleny. Ačkoli byl tento druh původně popsán jako druh schopný růstu při 43 °C, je často řazen mezi druhy bez termotolerance. Rozeznáváme dva poddruhy *Campylobacter hyointestinalis* a to *Campylobacter hyointestinalis* spp. *hyointestinalis* a *Campylobacter hyointestinalis* spp. *lawsoni*.

Do roku 2017 byl výskyt *C. hyointestinalis* hlášen ve 30 zemích z celého světa. Na Obrázku 5 jsou tyto země označeny modrou barvou (Wilkinson et al., 2017).



**Obrázek 5. Mapa zaznamenaného výskytu *Campylobacter hyointestinalis* (Wilkinson et al., 2017)**

### ***Campylobacter gracilis***

Jedná se o gramnegativní tyčku, která je malá, rovná a na konci je zaoblená. Tato bakterie vyžaduje ke svému metabolismu formát a fumarát. Tento druh byl popsán v roce 1981 jako *Bacteroides gracilis* a v roce 1995 byl na základě taxonomických studií přiřazen do rodu *Campylobacter*.

Většina infekcí způsobených *C. gracilis* se vyskytuje v oblasti krku a hlavy. Dále bylo prokázáno, že *C. gracilis* souvisí s infekcí kořenového kanálu nebo zánětu dásní (Siqueira a Rocas, 2003).

### ***Campylobacter lari***

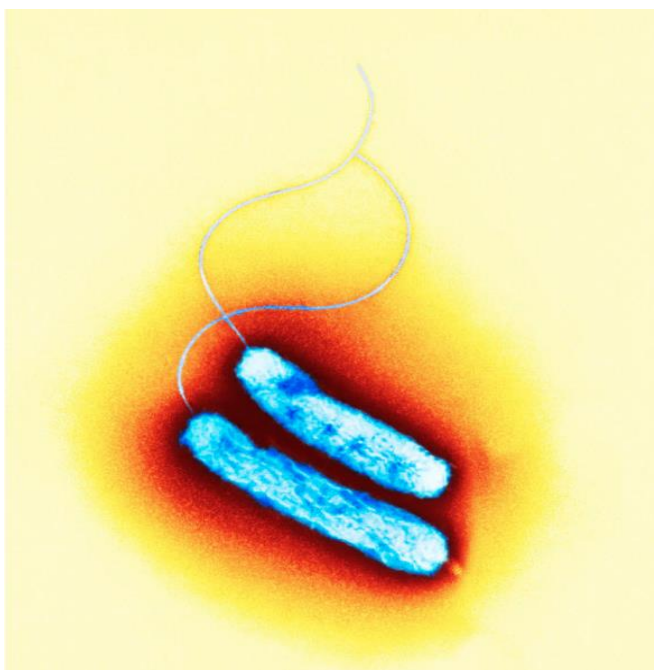
*C. lari* je členem termotolerantní skupiny rodu *Campylobacter*, který má podobné vlastnosti s *C. jejuni*, *C. coli*, *C. upsaliensis*, *C. insulaenigrae* a *C. helveticus*. Tento *Campylobacter* byl původně izolován z racků, které žijí na břehu blízko řeky Slaughter (Meinersmann et al., 2015). Převážně se tedy nachází v oblasti blízko pobřeží a vodních ploch. Přesto byl objeven i u batolete, které trpělo vodnatými průjmy.

*Campylobacter lari* způsobuje u lidí gastroenteritidu, která je doprovázena bolestí břicha, horečkou a vodnatým průjmem. Dále je považován za jednoho z mála původců bakterémie (Miller et al., 2014).

### ***Campylobacter rectus***

*Campylobacter rectus* (Obrázek 6) jsou mikroaerofilní rovné tyčky se zakulaceným koncem. Jejich pohyb je umožněn pomocí jediného polárního bičíku. *C. rectus* kolonizuje ústní dutinu a způsobuje chronickou parodontitidu.

Studie naznačují, že *C. rectus* jako součást poly-mikrobiální ústní komunity hraje významnou roli v předčasných porodech a vývoje plodu u matek s parodontitidou. V nedávné době bylo totiž popsáno, že ženy trpící parodontitidou jsou až 7x častěji vystaveny předčasným porodům než ženy zdravé (LaGier a Threadgill, 2014).



**Obrázek 6. *Campylobacter rectus* (Appleton, 2013)**

### ***Campylobacter sputorum***

*Campylobacter sputorum* jsou termotolerantní bakterie, které jsou primárně izolovány od dobytka a ovcí. *Campylobacter sputorum* zahrnuje 3 poddruhy. Poddruh *Campylobacter sputorum* spp. *faecalis*, *Campylobacter sputorum* spp. *paraureolyticus* a *Campylobacter sputorum* spp. *sputorum*. Tyto druhy se odlišují na základě produkce ureázy a katalázy. *Campylobacter sputorum* spp. *paraureolyticus* je jako jediný pozitivní na produkci ureázy a *Campylobacter sputorum* spp. *faecalis* je jako jediný pozitivní na produkci katalázy. Tento kampylobakter je jen zřídka spojován s lidským onemocněním. Pouze *Campylobacter sputorum* spp. *sputorum* a *Campylobacter sputorum* spp. *paraureolyticus* byl popsán u lidí (Miller et al., 2017).

### ***Campylobacter ureolyticus***

Tento patogen byl izolován od pacientů, převážně dětí, které měli diagnostikovanou Crohnovu chorobu. Objevuje se zde otázka, zda *C. ureolyticus* může hrát potencionální roli při střevních nemocnění nebo je součástí normální flóry gastrointestinálního traktu (Burgos-Portugal et al., 2012).

## 2 Rezistence mikroorganismů

Rezistence je schopnost bakterií odolávat inhibičním účinkům antimikrobiálních látek. Vývoj odolnosti bakterií není překvapující, jelikož tyto formy života obývají naši planetu více jak 3,8 miliardy let a za tuto dobu se přizpůsobují okolním vlivům.

### 2.1 Rezistence primární

Primární neboli přirozená rezistence je rezistence, která se projevuje odolností bakteriálních druhů k daným antibiotikům a sama o sobě je velmi vzácná. Tento typ je dán mikrobiálním druhem a jeho vlastnostmi. Příčinou je nepřítomnost zásahového místa, na které působí antimikrobiální látky. Například některé gramnegativní bakterie jsou oproti grampozitivním méně citlivé na penicilin, ale jsou citlivější na jiná antibiotikům (Kolář, 2013).

Hovořit můžeme i o přirozené vícenásobné rezistenci, která se vyskytuje u mikroorganismů žijících převážně ve vodě či půdě, a které byli vystaveny antibiotickým účinkům. Jako příklad lze uvést *Pseudomonas aeruginosa*, který má vysoký stupeň přirozené rezistence a většina kmenů této bakterie byla rezistentní vůči mnoha antibiotikům už v době, kdy se s nimi teprve začínalo (Byarugaba, 2009).

### 2.2 Rezistence sekundární

Sekundární (získaná) rezistence je v dnešní době jeden z nejvýznamnějších problémů v medicíně. Tato rezistence vzniká na základě genetických přenosů či různých mutací. Ve výsledku jsou bakterie, které byly původně citlivé na dané antibiotikum, rezistentní (Byarugaba, 2009).

Mezi mutace řadíme bodovou mutaci, delecii, substituci a adici jednoho či více párů bází v deoxyribonukleové kyselině, které mají za následek záměnu aminokyselin v cílové peptidové stavbě. Dochází tedy k syntéze bílkovinného produktu, který je omezen vázáním antibiotika. Lze uvést příklad rezistence *Mycobacterium tuberculosis* vůči streptomycinu. Jedná se o mutaci ovlivňující specifickou bílkovinu, která váže streptomycin (Martínková, 2007).

Přenos rezistence na mikroorganismy původně citlivé vůči dané látce jsou zapříčiněny pomocí plazmidů, transpozonů a genových kazet. Plazmidy jsou molekuly kyseliny deoxyribonukleové, které existují i mimo chromozom a mohou nést rezistenci vůči jednomu



i více antibiotikům. Přenos rezistence konjugací je nejběžnější. Ojediněle vyskytující se přenosy jsou přenosy transdukcí pomocí bakteriofágu nebo transformací DNA bez jakéhokoli nosiče. Prostřednictvím plazmidů není možné přenést rezistenci z gramnegativních bakterií na grampozitivní bakterie. (Bennet, 2008).

Transpozony neboli „přeskakující geny“ se pohybují z jedné replikační jednotky (z plazmidu nebo chromozomu) na druhou. Jsou schopné kódovat rezistenci vůči širokému spektru antibiotik a zároveň určují i řadu různých vlastností (McDermott et al., 2003).

Genové kazety umožňují pohyb genů rezistence. Tyto kazety obsahují jeden gen, který kóduje rezistenci vůči jednomu specifickému antibiotiku. Enzym, který zodpovídá za pohyb genů je také kódován (Hall a Collis, 1998).

Na počátku 40. let, kdy se sulfonamidy a antibiotika dostali do klinické praxe, byly infekce většinou způsobeny pneumokoky,  $\beta$ -hemolytickými streptokoky a kmeny *Staphylococcus aureus*. Rezistence těchto druhů neexistovala, nicméně se objevila jako následek celosvětového užívání antibiotik.

Pokud byla zavedena nová antibiotická látka, dříve či později se objevila rezistence k této látce (Tabulka 2). Nejdéle účinný byl vankomycin bez popsáných rezistentních kmenů.

Za vznik sekundární rezistence zodpovídají bakterie sami. Jsou to proměnlivé mikroorganismy, které si dokáží vyvinout obranné mechanismy i během krátké doby (Spížek, 1999).

**Tabulka 2. Příklady zavedení antibiotik do klinické praxe a výskyt rezistence na tato antibiotika (Spížek, 1999)**

<b>Antibiotikum</b>	<b>Objev</b>	<b>Zavedení do klinické praxe</b>	<b>Popsána rezistence</b>
<b>Penicilin</b>	1940	1943	1940
<b>Streptomycin</b>	1944	1947	1947
<b>Tetracyklin</b>	1948	1952	1956
<b>Erytromycin</b>	1952	1955	1956
<b>Vankomycin</b>	1956	1967	1987

## 2.3 Rezistence mikroorganismů k antibiotikům

V roce 1928 Alexander Fleming popsal antibakteriální účinek plísně rodu *Penicillium* na *Staphylococcus aureus* a právě tímto započala důležitá etapa ve vývoji medicíny, a to tzv. „antibiotická éra“ (Davies a Davies, 2010).

V roce 1942 bylo zahájeno využívání penicilinu, ale také i dalších antibiotik v lékařské praxi. Byla zde naděje, že bakteriální onemocnění již nebudou působit problémy, nicméně v roce 1992 Herold Neuve upozornil na nárůst odolnosti mikroorganismů k antibiotikům. Zjistilo se, že 4 roky po zahájení léčby penicilinem bylo 14 % kmenů *St. aureus* rezistentních a o rok později číslo stoupl až na 38 % (Kolář, 2011).

Na začátku tohoto století jsme svědky nebezpečné situace, kdy se dramaticky zvýšil nárůst infekčních onemocnění, které způsobují bakterie s rozsáhlejšími fenotypy rezistence a bakterie, které produkují nebezpečné toxiny. Jedním z těchto příkladů jsou komunitní methicillin-rezistentní kmeny *Staphylococcus aureus* s produkcí Pantonova-Valentinova toxinu (Alanis, 2005).

Mezi hlavní příčiny nárůstu bakteriální rezistence patří selekční tlak a podávání antibiotik. Antibiotika jsou látky produkované některými mikroorganismy a potlačující růst jiných organismů (Kolář, 2011). Je známo, že antibiotika se používají pro léčbu infekčních stavů nebo jako prevence. V roce 2006 bylo po celé EU zakázáno podávání antibiotik hospodářským zvířatům, z důvodu zvýšení váhy (např. tetracykliny). Antibiotika jsou řadu let důležitá pro kultivaci mikroorganismů kvůli svým schopnostem potlačit růst nežádoucích bakterií.

Rezistenci mikroorganismů rozdělujeme na primární a sekundární, která je v současné době větším problémem (Davies a Davies, 2010).

## 2.4 Antibiotika

Organické rozmanité sloučeniny s antimikrobiálními účinky, které jsou produkovány bakteriemi, rostlinami, plísněmi i kvasinkami. Jedná se o látky mikrobiálního původu užívané se pro léčbu infekčních onemocnění. Antibiotika nejsou účinná při léčbě virových onemocnění, mezi které řadíme například záněty horních a dolních cest dýchacích.

Dříve byla antibiotika získávána přímo z bakterií, ale dnešní doba nám umožňuje průmyslovou výrobu antibiotik (Kümmerer, 2009).

Při použití antimikrobiálních látek jako léčiva je důležité, aby vykazovaly selektivní toxicitu, jenž vyjadřuje chemoterapeutický index. Tento index určuje poměr mezi dávkou toxickou pro hostitele a dávkou účinnou na mikroba. Pokud je chemoterapeutický index vyšší, je látka pro mikroorganismus méně toxická a může se použít. Mezi antibiotika, která nejméně poškozují organismus, řadíme penicilin. Jeho chemoterapeutický index je vyšší než 10 (Votava, 2005).

V praxi máme antibiotika, která tlumí růst a zabraňují množení bakterií. Tyto antibiotika nazýváme jako bakteriostatická. Antibiotika, které usmrcují bakterii přímo, nazýváme jako baktericidní antibiotika (Nemeth et al., 2014).

#### **2.4.1 Baktericidní antibiotika**

Tato antibiotika jsou schopná usmrtit mikroba do 48 hodin. Baktericidní antibiotika se podávají především u vážných stavů se sníženou obranyschopností pacienta. Mezi tyto antibiotika řadíme  $\beta$ -laktamy, aminoglykosidy, polypeptidy, glykopeptidy a ansamyciny. Mezi chemoterapeutika, což jsou antimikrobiální látky připravené chemickou cestou, patří trimethoprim se sulfonamidy, nitroimidazoly, chinolony a některé antituberkulóza (Ocampo et al., 2014).

Beta-laktamová antibiotika obsahují beta-laktamový kruh. Jedná se o čtyřčlennou strukturu, která se skládá z 3 atomů uhlíku a 1 atomu dusíku. Na základě beta-laktamového kruhu rozdělujeme antibiotika do několika skupin (Tabulka 3). Mechanismus působení beta-laktamových antibiotik spočívá ve vazbě na penicilin vázající protein, který se účastní poslední fáze syntézy buněčné stěny, čímž způsobí smrt buněk. Rezistence k těmto antibiotikům je dána hlavně produkcí enzymu beta-laktamázy, který rozkládá beta-laktamový kruh antibiotika. Beta-laktamázy produkují převážně *E. coli*, *Enterobacter*, *Proteus mirabilis* a další. Beta-laktamová antibiotika se stala nejrozšířenější terapeutickou skupinou antimikrobiálních látek (Kong et al, 2010).

Aminoglykosidy jsou baktericidní antibiotika, která se skládají z aminocyklitového kruhu a na něj jsou pak následně připojeny 2 aminocukry přes glykosidickou vazbu. Aminoglykosidy jsou produkty bakterií rodu *Streptomyces* a *Micromonospora*. Jedná se o antibiotika, která jsou účinné při léčbě infekcí z působné gramnegativními bakteriemi. Mezi aminoglykosidy antibiotika řadíme amikacin, gentamycin, neomycin a další. Přirozená rezistence mikrobů k těmto antibiotikům je dána horším průnikem aminoglykosidů do buňky

a získaná spočívá ve tvorbě enzymů (acetyltransferázy, fosfotransferázy, adenyltransferázy), které modifikují aminoglykosidy a inaktivují jejich účinek (Avent et al., 2011).

**Tabulka 3. Rozdělení beta-laktamových antibiotik (Smet et al., 2010)**

<b>Beta-laktamová antibiotika</b>	
<b>Peniciliny</b>	penicilin, amoxicilin, ampicilin, benzylpenicilin, cloxacilin
<b>Cefalosporiny I. generace</b>	cepadroxil, cefapirin, cefalexin, cefazolin
<b>Cefalosporiny II. generace</b>	cefaclor, cefamandol, cefonicid, ceforanid, cefuroxim, cefoxitin
<b>Cefalosporiny III. generace</b>	cefovecin, cefpodoxin, ceftiofur, ceftriaxon, cefotaxim, ceftazidim
<b>Cefalosporiny IV. generace</b>	cefquinom, cefepim
<b>Monobaktamy</b>	aztreonam
<b>Karbapenemy</b>	imipenem, meropenem

Mezi Polypeptidová antibiotika patří například polymyxin. Ten je produktem bakterie *Bacillus polymyxa*. Jejich účinek spočívá ve změně fosfolipidové dvojvrstvy cytoplazmatické membrány. Tato antibiotika působí na gramnegativní bakterie. Polymyxin E tak zvaně colistin je účinný při léčbě močových infekcí a polymyxin B slouží, kvůli jeho toxicitě, pouze k lokálnímu použití.

Glykopeptidy jako antibiotika zasahují do syntézy bakteriální stěny. Navážou se na D-alanyl-D-alanin na konci řetězců peptidu a tím brání zasíťování tvořícího se peptidoglykanu. Mezi glykopeptidy patří vankomycin, který byl původně izolován ze *Streptomyces orientalis*.

Výhoda vankomycinu je, že působí i na rezistentní kmeny *St. aureus*, *St. epidermidis*, na některé grampozitivní mikroorganismy a na spirochety (Jovetic et al., 2010).

Ansamycinová antibiotika obsahují aromatické kruhy. Mezi látky, které se využívají v klinické praxi, patří rifampicin, geldanamycin a maytanzinoid (Zhang et al., 2014). Tato antibiotika se váží na bakteriální RNA polymerázu a blokuje syntézu mRNA. Rifampicin působí proti stafylokokům, většině enterokoků, naegleriím, původcům pneumocystózy i proti některým virům. Mimo to rifabutin působí na *Mycobacterium tuberculosis* a kmeny *Mycobacterium avium*. Rezistence je dána jeho neschopností proniknout do buňky (Wrona et al., 2007).

Nitroamidazoly zahrnují metronidazol, dimetridazol, ronidazol a tinidazol. Tato antibiotika jsou v buňce redukována na metabolity, které poškozují strukturu DNA. Působí především na anaerobní bakterie. Podávají se například při léčbě trichomonózy nebo lambliózy. V nedávné době bylo prokázáno, že nitroimidazoly ničí *M. tuberculosis* prostřednictvím produkce oxidu dusnatého. Rezistence na nitroamidazoly je velmi vzácná (Hamad et al., 2011).

Chinolony jsou chemoterapeutika, které lze rozdělit do několika generací na základě chemických vlastností. Jsou schopné inhibovat syntézu DNA zablokováním enzymu, který zodpovídá za G fázi buněčného cyklu. Působí na grampozitivní koky, *Legionella*, *Mycoplasma* a další. Mezi chinoliny 1. a 2. generace patří kyselina nalidixová, ciprofloxacín, kyselina oxolinová a další. Tyto chinoliny působí především na gramnegativní mikroorganismy a převážně se používají při léčbě infekce močových cest. Chinoliny 3. generace zahrnují enoxacin, ofloxacin a fleroxacin. Sparfloxacin patřící mezi chinoliny 4. generace působí převážně na multirezistentní mikroorganismy (Park et al., 2002).

#### **2.4.2 Bakteriostatická antibiotika**

Bakteriostatická antibiotika jsou schopná zastavit růst a množení mikrobů. Tohoto stavu docílí již do 3 až 4 dnů. Je důležité podotknout, že po předčasném vysazení antibiotik je možné, že bakterie budou schopny se opět množit (Kohanski et al., 2007). K bakteriostatickým antibiotikům patří tetracykliny, makrolidy, linkosamidy a chloramfenikol. Mezi bakteriostatická chemoterapeutika řadíme sulfonamidy, trimethoprim, nitrofurany a různá antituberkulotika.

Již podle názvu tetracykliny odvodíme, že tato molekula se skládá ze 4 šestičlenných cyklů. Tyto látky lze od sebe odlišit na základě farmakologických vlastností. Tetracykliny jsou

schopné zabránit vazbě komplexu aminoacyl-tRNA na určité místo v ribozomu. Působí na grampozitivní i gramnegativní bakterie, chlamydie, mykoplazmata, a protozoální parazity. Příčinou rezistence je odlišná prostupnost zevní membrány a získávání nových genů, které brání bakteriální ribozomy před účinky tetracyklinů (Chopra a Roberts, 2001).

Makrolidy jsou antibiotika, která jsou schopná se vázat na ribosomální RNA a tím inhibovat proteázu. Jeden z prvních makrolidů je erythromycin, který byl izolován ze *Streptomyces erythreus*. Erythromycin má podobné spektrum účinků jako penicilin, který působí hlavně na grampozitivní mikroby a gramnegativní koky. Erythromycin se například používá u pacientů, které trpí streptokokovou infekcí a jsou citlivé na penicilin. Methyloací adeninového zbytku v molekule rRNA neumožní navázání antibiotika a výsledná rezistence je nejen k makrolidům, ale i k linkosamidům. U streptokoků a stafylokoků je rezistence způsobena aktivním odčerpáním antibiotik z buňky (Gaynor a Mankin, 2003).

Mezi linkosamidová antibiotika patří linkomyciny, což jsou látky izolované ze *Streptomyces lincolnensis*. Brání vzniku peptidické vazby tím, že se vážou na ribosomy a inhibují peptidyltransferázu. Slouží zejména k léčbě infekcí způsobených grampozitivními bakteriemi kromě enterokoků. Mechanismus rezistence na linkomycin je totožný jako je u erythromycinu. Clindamycin vzniká náhradou jednoho atomu vodíku v molekule linkomycinu za chlor a jedná se o látku lépe vstřebatelnou a více toxickou (Lincová et al., 2007).

Chloramfenikol je antibiotická látka, která ve vysokých dávkách může způsobit bakteriocidní účinky. Pro svou toxicitu se používá až jako druhá volba. Má však velmi široké spektrum použití. Působí jak na gramnegativní, tak i na grampozitivní bakterie. Mezi nejzávažnější následky použití této látky patří šedý syndrom u novorozenců nebo poruchy kostní dřeně (Votava, 2005).

Sulfonamidy jsou potřebné k syntéze purinů a pyrimidinů a jsou schopné potlačit syntézu kyseliny tetrahydrofolové na základě kompetitivní inhibice. Působí na stafylokoky, streptokoky, klostridia, legionely a chlamydie. V dnešní době se podává spíše kombinace sulfonamidů s trimethoprimem, čímž se předchází vznik rezistence.

Nitrofurany jsou chemoterapeutika působící na široké spektrum bakterií (escherichie, klebsiely, streptokoky, enterokoky a další). Jsou velmi nápomocné při léčbě močových infekcí. Nicméně mají i více nežádoucích účinků jako je například zvracení, průjem nebo vyrážky. Rezistence na ně vzniká vzácně (Vass et al, 2008).

## 2.5 Metody zjišťování rezistence mikroorganismů

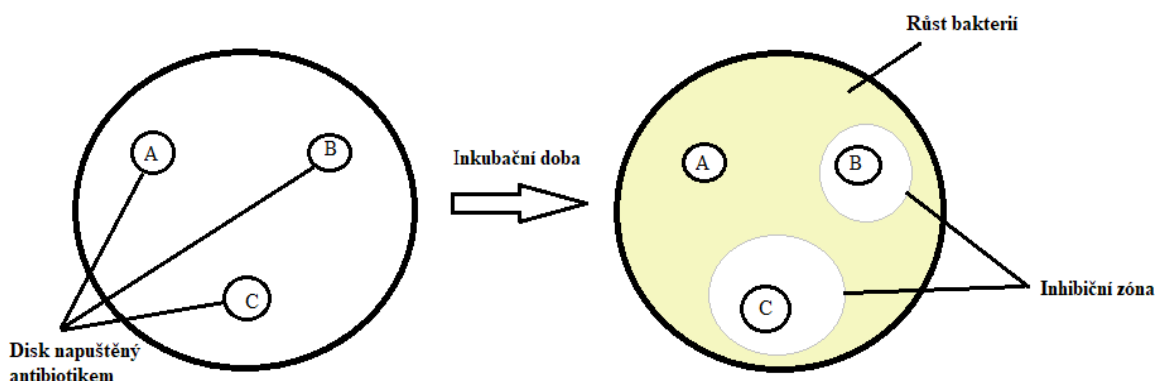
Rezistence v klinické praxi se zjišťuje tak, že je k dispozici známá látka a testuje se mikroorganismus, který má neznámé vlastnosti, nebo je k dispozici mikroorganismus se známými vlastnosti a testuje se přítomnost látek, které by jej mohly inhibovat. V klinické mikrobiologii se testování citlivosti provádí pomocí antibiotik a chemoterapeutik za účelem nasazení správné léčby.

Tyto metody patří mezi nejrychlejší detekce, které umožňují stanovit citlivost mikroorganismů k různým antimikrobiálním látkám.

### 2.5.1 Disková difúzní metoda

Jedná se o první semikvantitativní metodu, která se používá pro stanovení citlivosti u nenáročných, rychle rostoucích i některých náročnějších bakterií. Disková difúzní metoda je založena na tvorbě inhibičních zón, které vznikají okolo disků s antibiotikem. Na základě velikosti inhibičních zón jsou mikroorganismy rozděleny do kategorie citlivých, intermediálně rezistentních a rezistentních k danému antibiotiku. Disk je napuštěn antibiotikem a vložen na povrch inokulovaného agar, čímž se okamžitě spustí reakce, při které dojde k difundování antibiotika do agaru. Okraj inhibiční zóny vznikne poté, co je koncentrace antibiotika ještě schopná inhibovat mikroorganismus (Obrázek 7).

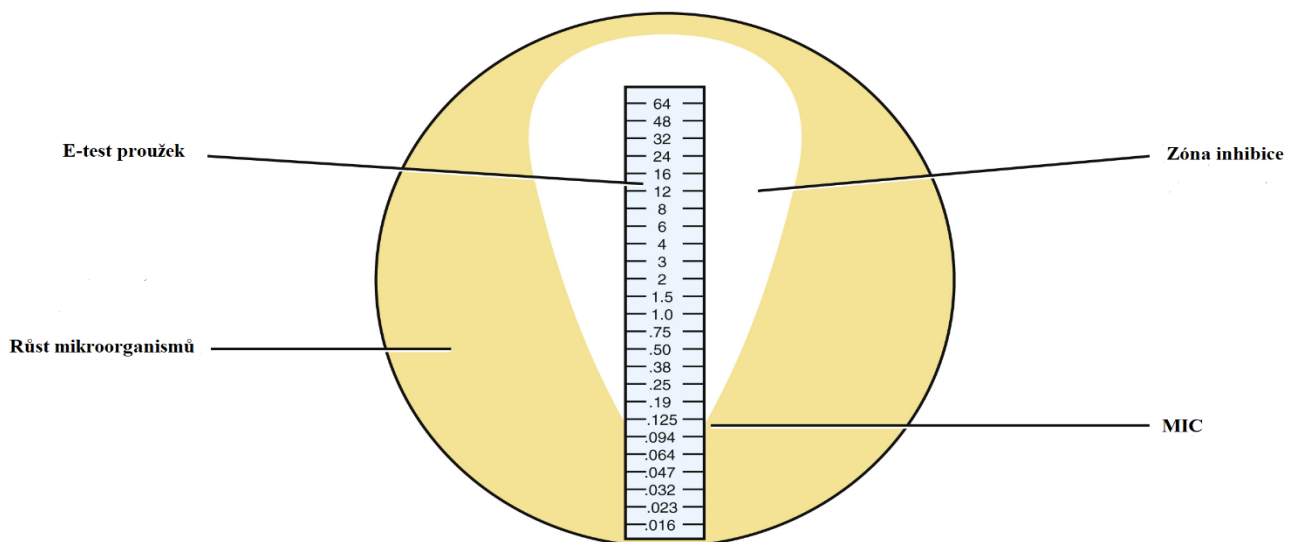
Jedná se o metodu, která je jednoduchá na provedení bez náročného vybavení a cenově dostupná. Nicméně je zde důraz na čas ať se jedná o přípravu agarových ploten nebo dobu potřebnou k odečtu inhibičních zón (Tendencia, 2004).



Obrázek 7. Vyšetření antibiotické rezistence diskovou difúzní metodou (Tendencia, 2004)

### 2.5.2 E-test

E-test (Obrázek 8) je kvantitativní difúzní test, při kterém je zjišťována minimální inhibiční koncentrace antibiotika (MIC). MIC je nejnižší koncentrace antimikrobiální látky, která zabrání růstu mikroorganismů za 24 hodin (Andrews, 2001). Tento test zahrnuje diagnostický proužek napuštěný různými koncentracemi testovaného antibiotika, které jsou uspořádány vzestupně. Proužek se vloží na agar s testovanou suspenzí a Petriho misky se inkubují 24 hodin. Poté se na miskách objeví inhibiční zóna jenž má tvar elipsy. MIC určíme tam, kde se zóna dotýká s proužkem (Bursová et al., 2014).



Obrázek 8. E-test (Bursovová e al., 2014)

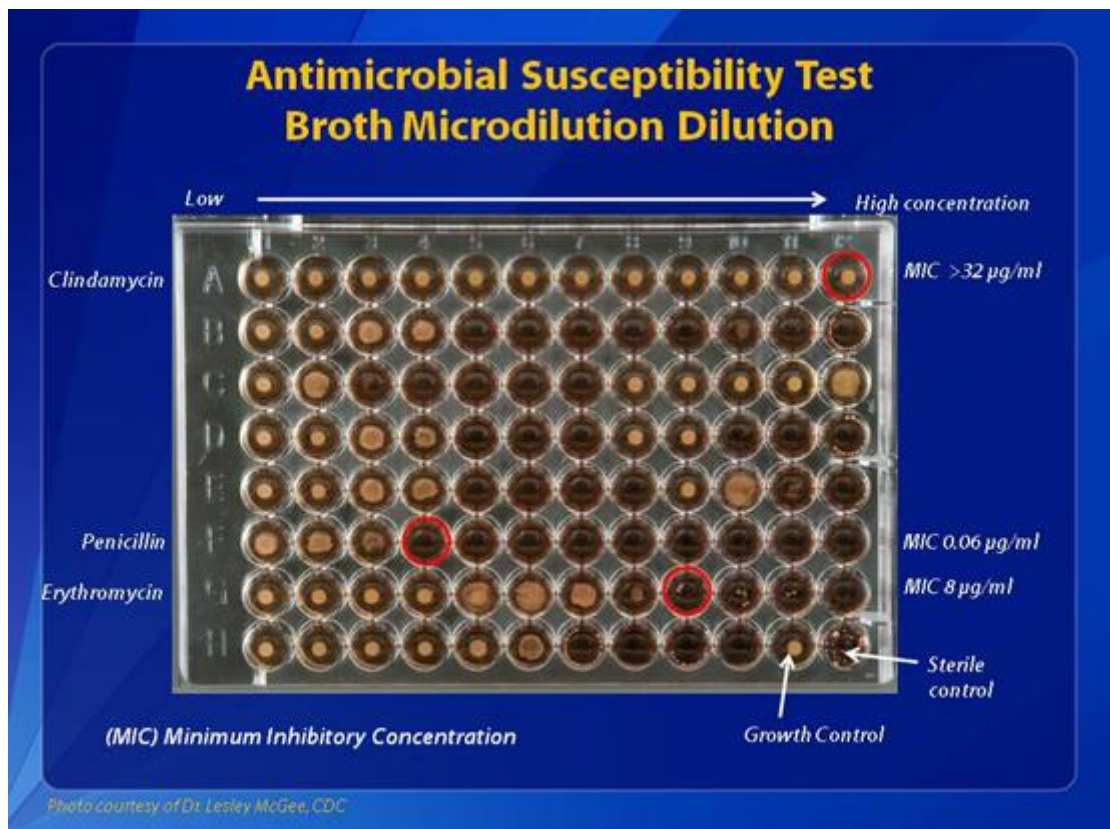
### 2.5.3 Diluční metoda

Kvantitativní diluční neboli ředící metoda slouží ke zjištění míry citlivosti nebo rezistence. Lze sledovat koncentraci testované látky v agaru i v bujónu. MIC neboli minimální inhibiční koncentrace testované antimikrobiální látky se udává v jednotkách  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  nebo  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  (Balouiri et al., 2016).



## Diluční metoda v bujónu

Tato metoda patří mezi nejvyužívanější metody pro stanovení MIC. Při postupu je důležité dvojkové ředění antimikrobiální látky. Do naředěných objemů se poté inokuluje suspenze sledovaných bakterií. Po inkubaci za definovaných podmínek se hodnotí zákal média. Pokud je zakalené, nedošlo k inhibici růstu sledované bakterie, je-li čiré, došlo k inhibici růstu. Hodnotit se dá také pomocí turbidimetrie nebo přímého stanovení počtu buněk pod mikroskopem. Tato metoda je poměrně dlouhá na přípravu a je zde větší riziko chyb (Balouiri et al., 2016). Pro tuto metodu lze využít mikrotitrační destičky (Obrázek 9).



**Obrázek 9. Bujónová mikrodiluční metoda. MIC je označena v jamkách červeným kolečkem (Centers for Disease Control and Prevention, 2010)**

## Diluční metoda v agaru

Různé koncentrace antimikrobiálních látek se dávají do tekutého média, které je rozehráté. Po ztuhnutí se na agarovou plotnu naočkuje suspenze bakterií. Po inkubaci se hodnotí počet narostlých kolonií. Tato metoda se používá především pro určení MIC u bakterií, které se obtížně kultivují, jako je například *Helicobacter* (Balouiri et al., 2016).

#### **2.5.4 Genotypová metoda**

Díky této metodě se zjišťuje, jaký mechanismus způsobuje rezistenci u bakterií. Princip je založen na detekci genů, a to pomocí DNA sond nebo polymerázových řetězcových reakcí. Pomocí této metody lze objevit mutace a geny spojené s rezistencí. Jedná se rychlou detekci, ale k provedení je potřeba speciální laboratorní vybavení.

V posledních letech dramaticky vzrostl počet molekulárních metod schopných identifikovat DNA nebo RNA sekvence či mutace v konkrétních lokusech. V molekulární diagnostice mutací se rozlišují dvě skupiny metod – metody pro skenování mutací a metody sloužící ke screeningu mutací (Fluit et al., 2001).

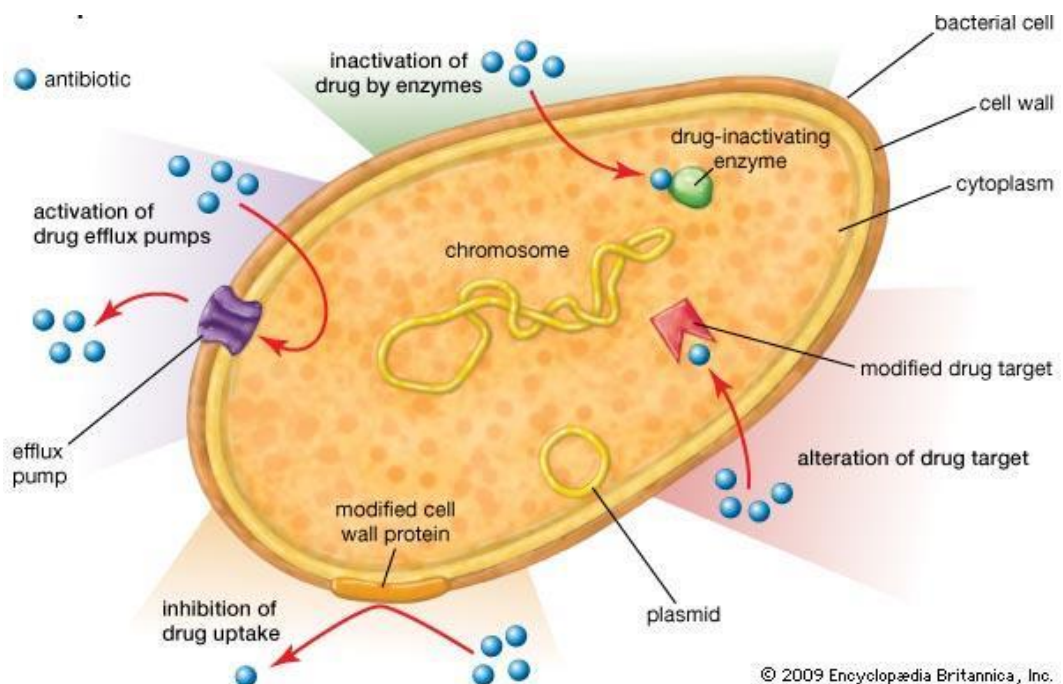
#### **2.5.5 Kapková a komínková metoda**

Komínková metoda je historicky nejstarší metodou používanou ke stanovení citlivosti mikroorganismů. Při této metodě se postaví válečky na povrch Petriho misky a do nitra válečku se aplikují vzorky. Následně se pozoruje vznik inhibičních zón.

Kapková metoda je velmi málo používaná a slouží hlavně pro zjištění, zda je či není zkoumaná bakterie na antibiotika citlivá (Kopecká a Rotková, 2016).

### 3 Mechanismy rezistence mikroorganismů

Mikroorganismy jsou schopné odolávat účinkům antimikrobiálních látek, a to hned několika způsoby (Obrázek 10). Některé mikroorganismy jsou schopné změnit cílové místo pro navázání dané látky a jiné si pomůžou aktivním odčerpáváním antimikrobiální látky ven z buňky. Mikroorganismy se mohou také bránit účinkům antibiotik pomocí enzymů nebo omezením jejich průniku do buňky (Andersson a Hughes, 2010).



**Obrázek 10. Mechanismy rezistence na antibiotika (Encyclopedia Britannica, 2009)**

#### 3.1 Změna cílové struktury mikroorganismu

Jedná se o změnu místa, na které dané antibiotikum působí. Antibiotika se většinou vážou na receptory proteinu dané bakterie. Lze uvést jako příklad proteiny buněčné stěny vážající penicilin. Každá buňka obsahuje spoustu těchto bílkovin, jenž jsou důležité pro buněčný růst a přežití bakteriální buňky. Při použití beta-laktamových antibiotik se vytváří stále komplexy, které přestávají být aktivní. Tato antibiotika zbavují vazebné bílkoviny aktivity a zabraňují tím buněčnému růstu a dělení. Výsledkem je smrt nebo zastavení růstu bakteriální buňky (Spížek, 1999).

Tento mechanismus je častý u kampylobakterů, které se pomocí změny cílové struktury brání účinkům tetracyklinů, makrolidů, fluorochinolonů, sulfonamidů a dalších. Tyto změny jsou způsobené například mutací v místě 23sRNA nebo mutací v ribozomálních proteinech (Iovine, 2014).

### **3.2 Aktivní odčerpávání antimikrobiálních látek z buňky**

Efflux neboli aktivní transport antibiotik z buňky je umožněn pomocí produkce membránových bílkovin. K tomuto mechanismu patří rezistence vůči některým chinolonům a tetracyklinům (Kumar a Schweizer, 2005). Na základě sekvence aminokyselin rozdělujeme efluxní pumpy do 5 skupin (RND, MFS, SMR, MATE, ABC). Každá pumpa při vylučování vyžaduje energii z určitého zdroje. Nejčastějším zdrojem je protonový gradient, kdy se do cytoplazmy dostává proton na úkor vyloučené antimikrobiální látky. Gramnegativní bakterie vykazují vysokou odolností vůči antimikrobiálním látkám, jelikož obsahují membránu s odčerpávacími pumpami, které mají širokou substrátovou specifitu (Piddock, 2006).

Tento mechanismus je častý nejen u kampylobakterů, ale i u arkobakterů. Aktivní odčerpávání látek z buňky zapříčiňuje odolnost vůči tetracyklinům, makrolidům, fluorochinolonům a beta-laktamům (Iovine, 2014).

### **3.3 Produkce bakteriálních enzymů**

Mikroorganismy jsou schopné odolávat antibiotickým účinkům prostřednictvím modifikujících enzymů, jež jsou schopné zaměřit a zničit aktivitu antibiotik.

Existují enzymy, které jsou schopné rozštěpit vazbu hydrolyticky citlivých antibiotik. Mezi tyto enzymy řadíme amidázy, které štěpí beta-laktamový kruh penicilinu, a esterázy. Epoxydová antibiotika modifikují enzym *MurA*, který je nezbytný pro syntézu kyseliny N-acetylmuranové, jednu ze základních stavebních jednotek buněčné stěny. Největší skupina rezistentních enzymů je skupina transferáz. Tyto enzymy upravují strukturu antibiotik a tím zhoršují cílovou vazbu. Acetyltransferázy a acyltransferázy mají společný mechanismus, který vede ke kovalentní úpravě hydroxylové nebo aminové skupiny. Vznikají sloučeniny, které ztrácejí schopnost se vázat a antibiotika jsou poté neaktivní. Mezi ostatní enzymy ovlivňující rezistenci patří aminoglykosid acetyltransferázy, chloramfenikol acetyltransferázy, streptogramin acetyltransferázy, fosfotransferázy, aminoglykosid kinázy a další (Wright, 2005).

Mechanismus rezistence u kampylobakterů jenž je způsoben produkcí modifikujících enzymů působí především na beta-laktamová antibiotika, aminoglykosidová antibiotika a chinolonová antibiotika (Aarestrup et al., 2008).

### **3.4 Omezení průniku antibiotik do buňky**

Některé mikroorganismy mají schopnost změnit tzv. transportní systém antibiotik a tím zabrání jejich vstupu do buňky. Důležité pro tento mechanismus je i dvojitá membrána u gramnegativních bakterií. Poriny jsou póry tvořící vnější část membrány, které jsou schopny propustit jen určité molekuly. Pokud dojde ke změně těchto pórů, dojde i k omezení průniku ATB do buňky (Kumar a Schweizer, 2005).

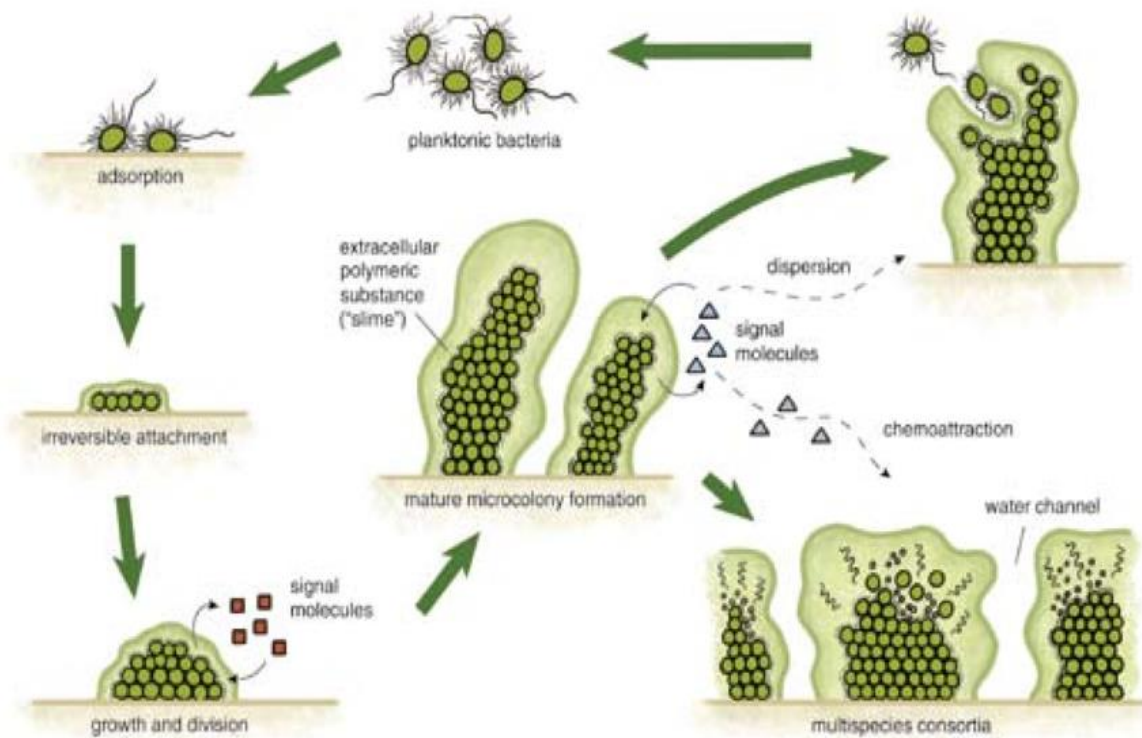
*Campylobacter* spp a *Arcobacter* spp. se brání tímto mechanismem proti makrolidům nebo beta-laktamům (Iovine, 2014; Bhunia, 2018).

### **3.5 Tvorba biofilmu**

Tvorba biofilmu souvisí se zvýšenou rezistencí k antibiotikům, i když se jedná o mechanismus rezistence, který není geneticky podložen. Biofilmová struktura zamezí průniku antimikrobiální látky do buňky. Bakterie v biofilmu jsou obklopené v extrapolymerární matrix, která omezuje průnik látek. Matrix je negativně nabitá a váže tak pozitivně nabité antimikrobiální látky (Lewis, 2001). Biofilm také způsobuje pomalý růst buněk, jelikož omezuje přístup k živinám a kyslíku. Obecně se ví, že antibiotika více působí na buňky rychle rostoucí.

Tento mechanismus rezistence není u kampylobakterů tak častý jako předešlé mechanismy. *Campylobacter*, který vykazuje tvorbu biofilmu, je *Campylobacter jejuni*.

Tvorba biofilmu zahrnuje několik kroků (Obrázek 11). Vazbu bakterie k povrchu, tvorba jednovrstevného biofilmu, růst a dělení buněk, vznik vícevrstevnatého biofilmu, produkce extracelulární matrix a zrání biofilmu (Harrison et al., 2005).

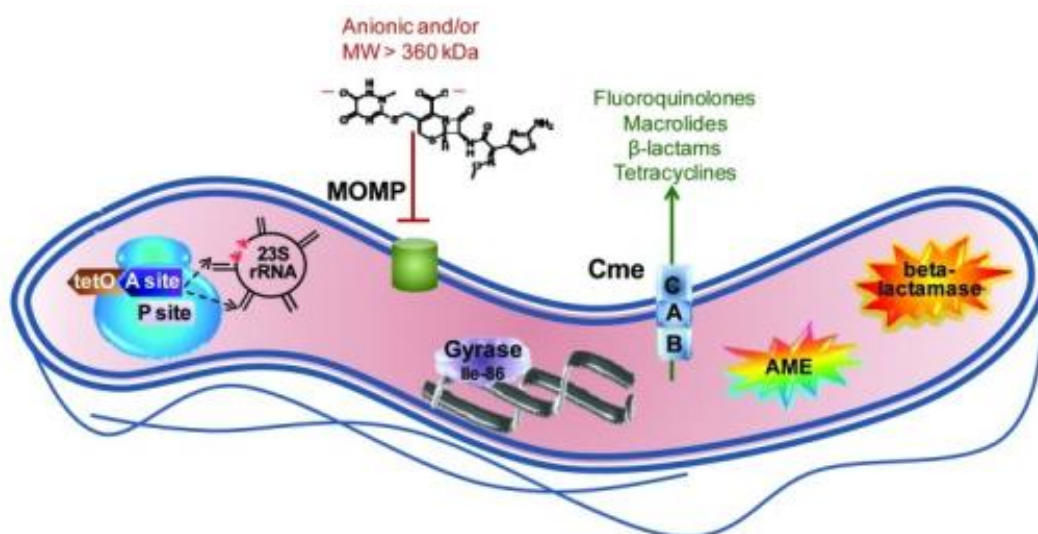


Obrázek 11. Tvorba biofilmu (Harrison et al., 2005)

## 4 Mechanismus rezistence u *Campylobacter* spp.

Rezistence bakterií pocházejících z potravin živočišného původu se v posledních letech stala velmi významným problémem jak v rozvinutých, tak v rozvojových zemích (Isenbarger et al., 2002). Mezi bakterie, které vykazují častou rezistenci k antimikrobiálním látkám, řadíme též kampylobaktery. *Campylobacter* vykazuje odolnost proti fluorochinolonům, betalaktamům, makrolidům a aminoglykosidům. Dokonce byla u *C. coli* a *C. jejuni* objevena rezistence proti penicilinům, cefalosporinům, trimethoprimu, sulfamethoxazolu, rifampicinu a vankomycinu (Fitzgerald et al., 2008).

Shrnutí hlavních mechanismů rezistence k antibiotikům u *Campylobacter* je na Obrázku 12. Místem dvou základních mechanismů rezistence je ribozom, který je na obrázku znázorněn modře. Na tomto ribozomu je vazba tetracyklinu omezena vazbou proteinu *TetO* na místo A, což má za následek odolnost vůči tetracyklinům. Rezistence k makrolidům je následkem bodové mutace, která probíhá v doméně V, a to v pozici 2,075 a 2,074. Hlavním klíčem odolnosti vůči fluorochinolonu je substituce Thr-86-Ile v DNA gyráze. Další mechanismus rezistence je čerpací pumpa označená jako CmeABC, která přispívá k odolnosti proti fluorochinolonům, makrolidům, beta-laktamům a tetracyklinům. Zároveň CmeABC napomáhá i ostatním mechanismům rezistence (Iovine, 2014). Hlavním mechanismem aminoglykosidové rezistence jsou enzymy, které antimikrobiální látky modifikují (Aarestrup et al., 2008). Rezistence může být způsobena i hlavním proteinem vnější membrány (MOMP), který omezuje vstup negativně nabitých antibiotik. A v poslední řadě mechanismus rezistence k beta-laktamům, jenž je způsoben enzymem beta-laktamáza. (Iovine, 2014).



Obrázek 12. Hlavní mechanismy rezistence u *Campylobacter* spp. (Iovine, 2014)

## 4.1 Mechanismus rezistence k chinolonům

Chinoliny inhibují syntézu bakteriální DNA a tím způsobí buněčnou smrt. Jejich cílem jsou dva enzymy, které se účastní replikace, transkripce, rekombinace a opravy bakteriální DNA. Tyto enzymy se nazývají DNA gyráza a topoizomeráza IV (Jacoby, 2005). Gyráza a topoizomeráza se skládá se dvou typů podjednotek — *GyrA*, *GyrB* a *ParC*, *ParE* (Payot et al., 2004).

Rezistence vůči fluorochinolonům je způsobena substitucí aminokyselin, které se nacházejí v oblasti určující rezistenci na chinolon, oblast QRDR. QRDR je lokalizován na povrchu enzymu. Gen *GyrA* u *Campylobacter* obsahuje několik modifikací, které jsou spojeny s rezistencí na fluorochinolony (Asp-90-Asn, Thr-86-Ile, Thr-86-Lys, Thr-86-Val, Thr-86-Ala a Asp-90-Tyr). Nejčastěji pozorovaná mutace u *Campylobacter* je změna C257T v genu *GyrA*, což vede k náhradě Thr-86-Ile (Payot et al., 2006).

Rezistence vůči ciprofloxacinu může být způsobena bodovou mutací Thr-86-Ile v genu *GyrA* (Ge et al., 2005).

CmeABC je popsán jako hlavní efluxní mechanismus, který způsobuje rezistenci na několik antimikrobiálních látek včetně fluorochinolonů a makrolidů. CmeABC je kódován operonem, který se skládá ze tří genů, a to *cmeA*, *cmeB* a *cmeC*. Tyto geny kódují vnější membránový protein, vnitřní transportní membránový transportér a periplazmatický fúzní protein. Tento mechanismus, jenž je nejběžnější u *Campylobacter*, souvisí s mutacemi *GyrA* a hraje klíčovou roli v jak primární, tak i v sekundární rezistenci *Campylobacter* spp. (Pumbwe a Piddock, 2002).

## 4.2 Mechanismus rezistence k tetracyklinům

Odolnost vůči tetracyklinům u *Campylobacter* je dána genem *TetO*, který je přítomný převážně u *C. jejuni* a *C. coli*. Tetracyklin se dostává poriny do periplazmatického prostoru pomocí vazby s kationty  $Mg^{2+}$ . V periplazmatickém prostoru se oddělí od  $Mg^{2+}$  a pasivně se pohybuje do cytoplazmy, kde se naváže na ribozomální podjednotku 30S (Wierczorek a Osek, 2013). Dochází k inhibici umístění aminoacylové tRNA do ribozomu a zabránění syntéze proteinů. Geny *TetO*, které kódují ribozomální ochranné proteiny, jsou umístěny na plazmidu. Tyto geny přinášejí extrémně vysoké hladiny tetracyklinové rezistence (Connel et al., 2003).



Na základě G-C obsahu, sekvenční homologie a hybridizační analýzy se zdá, že gen *TetO* byl získán přenosem genu z bakterií rodu *Streptomyces*, *Streptococcus* nebo *Enterococcus* spp. (Wierczorek a Osek, 2013).

### 4.3 Mechanismus rezistence k makrolidům

Makrolidy jsou ve většině případů produkovány rodem *Streptomyces* a příbuznými bakteriemi. Erythromycin, přírodní produkt *Sacharopolyspora erythraea*, je první izolovaný antimikrobiální makrolid.

Makrolidy inhibují prodloužení peptidového řetězce díky vazbě na 50S podjednotku bakteriálního ribozomu, kódovaného 23SrNA (Aarestrup et al., 2008). Dřívější studie zjistily, že 23 SrRNA nukleotidy 2,058 a 2,059 působí jako klíčová místa pro vazbu makrolidu, což způsobuje změny v ribozomu. *Campylobacter* má tři kopie genu 23 SrRNA. Rezistence k makrolidům u *Campylobacter* je výsledkem modifikace vazebného místa ribozomu pomocí mutace 23 SrRNA nebo změny výsledných proteinů. Mutace A2074C, 2047G a 2075G u *C. coli* a *C. jejuni* jsou příčinou vysoké rezistence k makrolidům.

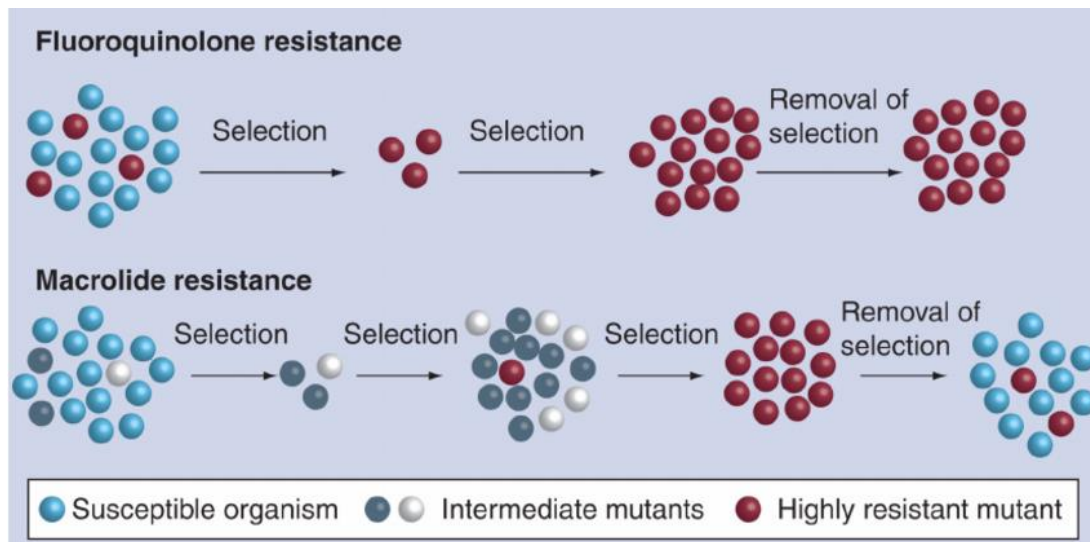
Rezistence vůči makrolidům u *Campylobacter* může být způsobená také modifikací ribosomálních proteinů L4 a L22 (Wierczorek a Osek, 2013). Dalším běžným mechanismem, který způsobuje rezistenci makrolidů u bakterií *Campylobacter* je bakteriální efluxní pumpa. Existují data, která naznačující souhru mezi efluxní aktivitou a mutacemi v genu 23SrRNA. Tato souhra přispívá na vysoké úrovni k rezistenci u některých izolátů *Campylobacter* k makrolidovým ATB (Corcoran et al., 2006).

Unikátním znakem makrolidové rezistence u kampylobakterů je pomalý vývoj rezistentních mutantů při antibiotické léčbě.

Rezistence k fluorochinolům a makrolidům u kampylobakterů se vyskytuje spontánně v důsledku mutací v cílových genech. Bodové mutace vyskytující se v oblasti ORDR *GyrA* poskytují různé úrovně rezistence k fluorochinolům. Vznik rezistence k fluorochinolům podporuje gen *mfd* a transkripční faktor, který se podílí na opravě vlákna DNA. Inaktivace genu *mfd* u *Campylobacter* vedla ke stonásobnému snížení počtu mutantů rezistentních na ciprofloxacin, zatímco nadměrná exprese genu *mfd* počet zvýšila. Několik studií ukázalo rychlý vývoj rezistence k fluorochinolům.

Rozdíly ve vývoji makrolidové rezistence a rezistence k fluorochinolům jsou znázorněny na Obrázku 13. Fluorochinolon-rezistentní kmeny se rychle vyvíjí během

antibiotické léčby a nadále přetrvávají. Rezistence k makrolidům zahrnuje vícestupňový proces a vyžaduje prodlouženou dobu působení antibiotik. (Luangtongkum et al., 2009).



**Obrázek 13. Model vývoje rezistence na fluorochinolony a makrolidy u *Campylobacter* spp. (Luangtongkum et al., 2009)**

Hlavním faktorem ovlivňující antimikrobiální rezistenci, především na fluorochinolony a makrolidy, je použití těchto látek v živočišné výrobě. Na počátku devadesátých let byl enrofloxacin zaveden do živočišné produkce v Asii a v Evropě a současně začala vznikat rezistence vůči fluorochinolonu také mezi *Campylobacter* spp. Stejný jev byl pozorován ve Velké Británii i USA po schválení použití fluorochinolonů ve veterinární medicíně. V Austrálii je používání chinolonů v živočišné produkci zakázáno. Makrolidy se využívaly v živočišné výrobě jako terapeutická či růstově podporující látka (Engberg et al., 2001).

#### 4.4 Mechanismus rezistence k aminoglykosidům

Geny rezistence k aminoglykosidům jsou přítomny v mnoha bakteriích a běžně kódují proteiny, které antimikrobiální látky upravují. Aminoglykosidy (např. gentamycin, streptomycin a kanamycin) se vážou na dekódovací oblast v místě A bakteriální ribozomální podjednotky 30S (Jana a Deb, 2006).

U *Campylobacter* spp. bylo popsáno mnoho aminoglykosid-modifikujících enzymů včetně aminoglykosidových fosfotransferáz typu I, III, IV a VII, aminoglykosid-adenyltransferázy a 6-aminoglykosid-adenyltransferázy. Tyto enzymy spadají do 3 skupin,

z nichž každá má své charakteristické modifikující místo a substráty. Rezistence k aminoglykosidům je zprostředkována enzymatickou modifikací, která snižuje afinitu aminoglykosidů na místo A rRNA. Nicméně všechny tyto enzymy působí podobným mechanismem a to produkcí 3-O-aminoglykosid-fosfotransferázou, který se nejčastěji vyskytuje u *Campylobacter jejuni* a *Campylobacter coli* (Gibreel et al., 2004).

Různé aminoglykosidové geny rezistence byly také nalezeny i u jiných bakteriálních druhů, zejména gram-pozitivních (Aarestrup et al., 2008). Například *apha-7* je gen rezistence na kanamycin, který se vyskytuje u *C. jejuni*. DNA sekvence těchto genů prokázala až 55 % podobnost s genem *apha-3* u streptokoků, nicméně se neshodoval poměr G-C. Je tedy naznačováno, že gen *apha-7* je jedinečným genem u rodu *Campylobacter* (Wierczorek a Osek, 2013). Pomocí plazmidu, který zprostředkovává rezistenci ke kanamycinu a zároveň k tetracyklinům, se rezistence ke kanamycinu mezi *Campylobacter* přenáší společně s rezistencí k tetracyklinům (Gibreel et al., 2004).

#### **4.5 Mechanismus rezistence k ostatním antimikrobiálním látkám**

Mechanismy rezistence *Campylobacter* k některým beta-laktamům jako je ampicilin a cefalosporiny jsou proměnlivé a nejsou jasně definovány. Obecně platí, že většina kamylobakterů je odolných vůči beta-laktamům, zejména penicilinům a cefalosporinům s úzkým spektrem účinku (Wierczorek a Osek, 2013). Beta-laktamy se váží na proteiny a narušují tvorbu buněčné stěny, což má za následek buněčnou smrt. Rezistence je zapříčena i změnami membránové struktury. (Martin a Kaye, 2004). Velká většina izolátu *C. jejuni* a *C. coli* je schopna produkovat beta-laktamázy, které inaktivují molekulu beta-laktamů hydrolýzou laktamového kruhu. Některé druhy *Campylobacter* jsou náchylné hlavně na amoxicilin a ampicilin (Wierczorek a Osek, 2013).

Chloramfenikol je schopný zabránit prodloužení peptidového řetězce a tím inhibuje syntézu bakteriálních proteinů. Reverzibilně se váže na centrum peptidyl-transferázy v 50S ribozomální podjednotce. Rezistence na chloramfenikol je dána plazmidem nesoucím gen, který kóduje acetyl-transferázu a ta modifikuje chloramfenikol (Aarestrup et al., 2008). Tato rezistence byla zaznamenána u *C. coli*, nicméně se jedná o velmi vzácnou rezistenci (Schwarz et al., 2004).

Cíl sulfonamidů a základem jejich selektivity je enzym dihydropteroát syntáza. Sulfonamidová rezistence u kamylobakterů je častá u izolátů *C. jejuni*. Následkem rezistence

je substitucí čtyř aminokyselinových zbytků v dihydropteroát syntetáze (DHPS), což vede ke snížené afinitě k sulfonamidů. U kampylobakterů, nebyli nalezeny žádné další mechanismy rezistence vůči sulfonamidů (Aarestrup et al., 2008).

Souhrn základních mechanismů rezistence k daným antibiotikům je zobrazen v Tabulce 4.

**Tabulka 4. Souhrn základních mechanismů rezistence u *Campylobacter* spp. (Aarestrup et al., 2008; Iovine, 2014)**

<b>Antibiotika</b>	<b>Mechanismus rezistence</b>	<b>Geny rezistence nebo mutace</b>
<b>Aminoglykosidy</b>	Modifikace antibiotika enzymy (AphA, AadE, Sat)	<i>Apha-3</i> <i>Ant-6</i> <i>Ant-3</i> <i>Apha-7</i>
<b>β-laktamy</b>	Enzymatická inaktivace antibiotik pomocí β-laktamáz Snížená prostupnost membrány díky MOMP Efflux přes CmeABC	ND <i>cat</i>
<b>Fluorochinolony</b>	Modifikace cílů DNA gyrázy Efflux přes CmeABC	<i>gyrA</i> ; Ala-70 to Thr; Thr-86 to Ile, Lys, Ala, Val; Asp90 to Ala, Asn, Tyr <i>mfd</i>
<b>Makrolidy</b>	Mutace v místě 23S rRNA Podíl mutace v ribozomálních proteinech L4/L22 Efflux přes CmeABC Snížená prostupnost membrány díky MOMP	23S rDNA; A až G v poloze 2,075; A až C na poloha 2.074
<b>Tetracykliny</b>	Modifikace cílového ribozomálního místa A pomocí vazby <i>TetO</i> Efflux přes CmeABC	<i>TetO</i>

#### **4.6 Epidemiologie výskytu rezistentních *Campylobacter* spp.**

Epidemiologické studie zkoumaly dopad antibiotické rezistence u infekcí *Campylobacter*. V roce 1997 v Minnesotě byla v praxi provedena léčba průjemového onemocnění způsobeného *Campylobacter jejuni* aplikací fluorochinolonů. U pacientů

s citlivými kmeny *Campylobacter* trvalo průměrné onemocnění 7 dní, zatímco u pacientů, u nichž byl objeven *Campylobacter jejuni* s rezistencí na chinolon, trvalo průměrné onemocnění 10 dní (Moore et al., 2006). Onemocnění způsobené rezistentními kmeny je výrazně závažnější. Nicméně i přes tato fakta, podávání fluorochinolonu a erythromycinu při léčbě gastroenteritid způsobených *Campylobacter*, není zakázáno ani omezeno.

Údaje o rezistenci k erythromycinu a azithromycinu u *C. coli* a *C. jejuni* se liší podle zemí. Téměř všechny studie uvádějí vyšší výskyt rezistence na erythromycin u *C. coli* než *C. jejuni*. Odolnost proti erythromycinu vykazuje nízké hodnoty v Japonsku, Kanadě a Finsku. Naopak nedávný vývoj rezistence zaznamenalo Thajsko a Švédsko (Tabulka 5).

**Tabulka 5. Míra rezistence k erythromycinu a azithromycinu v % u lidí po celém světě od roku 1989 (Engberg et al., 2001)**

Země	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i> a <i>C. coli</i>
<b>Rakousko</b>	0,7	5,5	<1-1,4
<b>Kanada</b>	0-3,3	-	-
<b>Dánsko</b>	0	14	0-4
<b>Finsko</b>	-	-	<1,3
<b>Francie</b>	1,1	12	3,5
<b>Maďarsko</b>	-	-	0
<b>Itálie</b>	1,2-6	16-68,4	7,8-11,6
<b>Japonsko</b>	0,8	-	-
<b>Nový Zéland</b>	-	-	1,5
<b>Singapur</b>	-	-	51
<b>Španělsko</b>	0-11	0-35	3,2-7,3
<b>Švédsko</b>	6,4	11,1	7,3
<b>Taiwan</b>	10	50	18,3
<b>Thajsko</b>	-	-	0-31
<b>Spojené království</b>	1	13	1,8
<b>Spojené státy</b>	0-78	-	-

V mnoha zemích se rezistence kampylobakterů na fluorochinolony za posledních deset let výrazně zvýšila (Graf 2). V Evropě byl pozorován rychlý vzestup rezistence po zavedení enrofloxacinu ve veterinární medicíně a fluorochinolonů v humánní medicíně (Engberg et al., 2001).

V Polsku se objevila zvýšená odolnost vůči chinolonům u kampylobakterů izolovaných z drůbeže. V letech 1994-1996 a 2005-2008 bylo 48 - 90 % těchto izolátů rezistentních na ciprofloxacin. Ve Spojených státech amerických byla v polovině 90. let zavedena růstová

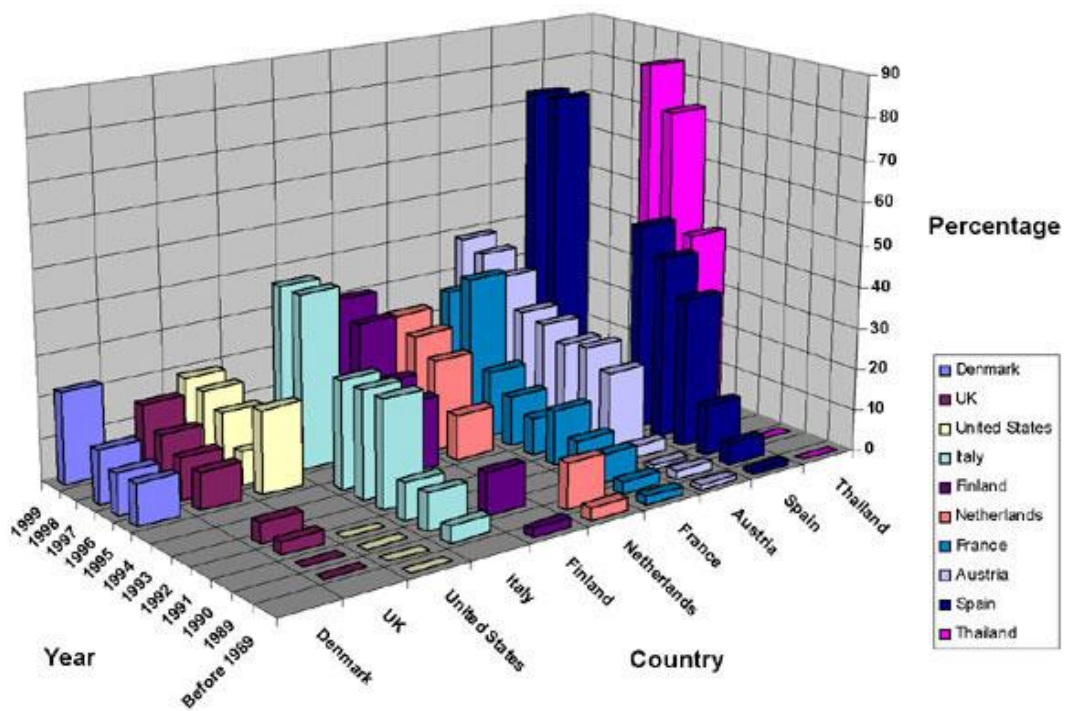
antibiotika do krmiva pro drůbež, což přispělo k nárůstu rezistentních kmenů *Campylobacter* z 1,3 % na 10,2 %.

Existují však studie, které poukazují na nízkou nebo dokonce chybějící rezistenci u *Campylobacter* spp. vůči chinolonům, v Norsku a Finsku.

Tetracykliny byly navrženy jako alternativní léčba klinické kampylobakteriázy, ale v praxi jsou jen zřídka používány. V závažnějších případech infekcí *Campylobacter* spp. je preferována intravenózní terapie aminoglykosidů.

Vyšší míry rezistence na ciprofloxacin byly hlášeny v Číně u kmenů *C. coli* izolovaných z prasat. Podobný výskyt rezistence byl popsán ve Spojených arabských emirátech a v Jižní Africe (Wierczorek a Osek, 2013).

**Graf 2. Míra rezistence *Campylobacter coli* a *Campylobacter jejuni* na chinolony v procentech od roku 1989 až do roku 1999 (Engberg et al., 2001)**



#### 4.7 Porovnání *Campylobacter* a *Arcobacter*

Rod *Arcobacter* je úzce příbuzný s rodem *Campylobacter*. Oba patří do čeledi *Campylobacteraceae*. *Arcobacter* je aerotolerantní druh a je schopen růst i při teplotě nižší než 30 °C. Je známo přibližně 27 druhů *Arcobacter*, z nichž mezi nejznámější řadíme *A. butzleri*,

*A. cryaerophilus* a *A. skirrowii*. Tyto bakterie jsou původce gastroenteritidy, bakteriémie a peritonitidy. *Arcobacter* způsobuje převážně průjmy u dětí a potraty u lidí i zvířat.

*Arcobacter* se stejně jako *Campylobacter* vyskytuje převážně v mase. Nejvyšší výskyt izolovaných druhů *Arcobacter* byl u drůbežího masa. Izolován byl i z masa hovězího a vepřového. Dále mohou být přítomné v mléce a u mořských ryb. Pozitivní výsledky výskytu *Arcobacter* byly také u psů i koček.

Patogenita není tak objasněna jako u *Campylobacter*, ale sekvence genomu odhalila přítomnost klíčových genů, které přispívají k patogenезi - *cadF*, *ciaB*, *pldA*, *tlyA*, *hecA*, a *irgA*.

Biochemické rozdíly čeledi *Campylobacteraceae* jsou znázorněny na Tabulce 6 (Bhunias, 2018).

**Tabulka 6. Biochemické vlastnosti čeledi *Campylobacteraceae* (Bhunias, 2018)**

Charakteristiky	<i>Arcobacter</i>	<i>Campylobacter</i>
Aerobní růst při 25 °C	+	–
Kataláza	+	+ ( <i>C. concisus</i> a <i>C. upsaliensis</i> je –)
Oxidáza	+	+
Ureáza	–	– ( <i>C. lari</i> je +)

+ ... pozitivní test; – ... negativní test

Pro léčbu infekcí způsobených *Arcobacter* spp. se používají cefalosporiny, chinolony, makrolidy i beta-laktamová antibiotika.

Rezistence vůči ciprofloxacinu byla před rokem 2012 zpozorována jen zřídka. Míra rezistence se pohybovala kolem 0 - 4,4 %, nicméně některé zprávy z Portugalska, Kostariky, Pákistánu a Malajsie uváděly 12,5 - 55,8 % izolátů *Arcobacter* rezistentních vůči ciprofloxacinu.

Uvádějí se zprávy, že kmeny *Arcobacter* prokazují rezistenci vůči nefluorovanému chinolonu, kyseliny nalidixové, chloramfenikolu, penicilinu, aminoglykosidu a makrolidům, jejichž spektrum je velmi široké.

Jediné mechanismy rezistence popsané pro *Arcobacter* měly chromozomální povahu. Rezistence na fluorochinolon je spojena s bodovými mutacemi v oblasti QRDR genu *gyrA*. Tato mutace byla objevena u kmenů *A. butzleri* a *A. cryaerophilus*. Nepřítomnost genu *upp*, který kóduje fosforibosyltransferázu v genomu *A. butzleri*, může mít za následek rezistenci k fluouracilu. Mezi další mechanismy rezistence patří aktivní odčerpávání látek z buňky nebo neprostupnost membrány (Bhunias, 2018).

## 5 Závěr

Předkládaná bakalářská práce se zabývá souhrnem mechanismů, které ovlivňují rezistenci u *Campylobacter* spp. Hlavním cílem bylo vytvořit kompletní soubor všech mechanismů, které se na rezistenci podílí a zároveň pochopení daných kroků a základních informací, které napomohou objasnit návaznosti, jenž jsou s rezistencí spojeny.

Práce je strukturována ze základní charakteristiky *Campylobacter* spp., přes rezistenci organismů k antimikrobiálním látkám až po vysvětlení mechanismů rezistence u *Campylobacter* spp.

V práci jsem se zaměřila i na porovnání různých druhů *Campylobacter* spp., z nichž nejdůležitější a zároveň nejodolnější k antibiotikům je *Campylobacter jejuni* a *Campylobacter coli*. Tyto dva druhy se zároveň podílí na jednom z nejrozšířenějších onemocnění střevního traktu, kampylobakterióze, jenž je podle studií v dnešní době více rozšířená než salmonelóza.

V práci jsou popsány i mechanismy, které nepřímo souvisí s rezistencí u *Campylobacter* spp. Jedná se například o tvorbu biofilmu, která velmi přispívá k rezistenci vůči antibiotikům. Odolnost kampylobakterů vůči antibiotikům se neustále vyvíjí a rozšiřuje po celém světě, což může vést k rezistenci k jakékoliv antimikrobiální látce. Hlavním problémem při vývoji rezistence je podávání antimikrobiálních látek i k terapii, která to nevyžaduje, což má za následek vznik rezistentních kmenů.

Díky této práci jsem se hodně naučila a zároveň jsem vytvořila ucelený soupis této problematiky.



## 6 Seznam použité literatury

1. Aarestrup F., Wegenes M., Henrik C. a Mcdermot P. F. Transmission of Antibiotic Resistance from Food Animals to Humans. Blaser, Martin J., Irving Nachamkin a Christine M. Szymanski, ed. *Campylobacter, Third Edition* [online]. American Society of Microbiology. 2008, s. 645-665.  
DOI: 10.1128/9781555815554.ch36.
2. Alanis, A. J. Resistance to Antibiotics: Are We in the Post-Antibiotic Era?. *Archives of Medical Research* [online]. 2005, roč. **36**, č. 6, s. 697-705.  
DOI: 10.1016/j.arcmed.2005.06.009.
3. Andersson, D. I. a Hughes D. “Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance?” *Nature Reviews Microbiology* [online]. 2010, roč. **8**, s. 260-271.  
DOI: 10.1038/nrmicro2319
4. Andrews, J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [online]. 2001, roč. **48**, č. 1, s. 5-16.  
DOI: 10.1093/jac/48.suppl\_1.5.
5. Appleton, H. *Campylobacter rectus*. In: <https://fineartamerica.com/>. Centre For Infectionshealth Protection Agency [online] 2013.
6. Avent, M. L., Rogers B. A., Cheng A. C. a Paterson D. L. Current use of aminoglycosides: indications, pharmacokinetics and monitoring for toxicity. *Internal Medicine Journal* [online]. 2011, roč. **41**, č. 6, s. 441-449.  
DOI: 10.1111/j.1445-5994.2011.02452.x.
7. Balouiri, M., Sadik M. i a Ibsouda S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis* [online]. 2016, roč. **6**, č. 2, s. 71-79.  
DOI: 10.1016/j.jpha.2015.11.005.
8. Bennett, P M. Plasmid encoded antibiotic resistance: acquisition and transfer of antibiotic resistance genes in bacteria. *British Journal of Pharmacology* [online]. 2008, roč. **153**, č. 1, s. 347-357.  
DOI: 10.1038/sj.bjp.0707607.
9. Bhunia A. K. *Campylobacter* and *Arcobacter*. In: Foodborne Microbial Pathogens. Food Science Text Series. New York, NY, Springer: 2018, s. 289-299.  
ISBN 978-1-4939-7347-7.

10. Bibek, R. *Fundamental food microbiology*. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press: 2001, s 663. ISBN 084930045-2.
11. Burgos-Portugal, J. A., Kaakoush N, O., Rafter M. J., Mitchell H. M. a Blanke S. R.. Pathogenic Potential of *Campylobacter ureolyticus*. *Infection and Immunity* [online]. 2012, roč. **80**, č. 2, s. 883-890.  
DOI: 10.1128/IAI.06031-11.
12. Bursová, Š., Dušková M., Necidová L., Karpíšková R. a Myšková P. Mikrobiologické laboratorní metody: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014, s. 80.  
ISBN 978-80-7305-676-6.
13. Byarugaba, D. K. Mechanisms of Antimicrobial Resistance. SOSA, Anibal de J., Denis K. Byarugaba, Carlos F. Amábile-Cuevas, Po-Ren Hsueh, Samuel Kariuki a Iruka N. Okeke, ed. *Antimicrobial Resistance in Developing Countries* [online]. New York, NY: Springer New York. 2010, roč. **9**, č. 5, s. 15-26.  
DOI: 10.1007/978-0-387-89370-9\_2.
14. Castillo, G., Martínez L., Apodaca N. Salmonellosis and campylobacteriosis, the most prevalent zoonosis in the world. *Universidad Nacional Autónoma de México México* [online]. 2008, roč. **1**, č. 39, s. 81-90.  
ISSN 0301-5092.
15. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA [online]. Obr. 5: Bujónová mikrodiluční metoda.  
Dostupné z www: <http://www.cdc.gov/groupbstrep/images/lab-susceptibilityTest-Ig.jpg>.
16. Connell, S. R., Trazc D. M., Nierhaus K. H. a Taylor D. E. Ribosomal Protection Proteins and Their Mechanism of Tetracycline Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [online]. 2003, roč. **47**, č. 12, s. 3675-3681.  
DOI: 10.1128/AAC.47.12.3675-3681.2003.
17. Corcoran, D., Quinn T., Cotter L. a Fanning S. An investigation of the molecular mechanisms contributing to high-level erythromycin resistance in *Campylobacter*. *International Journal of Antimicrobial Agents* [online]. 2006, roč. **27**, č. 1, s. 40-45.  
DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2005.08.019.
18. Davies, J. a Davies D. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* [online]. 2010, roč. **74**, č. 3, 417-433.  
DOI: 10.1128/MMBR.00016-10.
19. Encyclopedia Britannica. Mechanismy rezistence na antibiotika.  
In: <https://www.britannica.com/> [online].

20. Engberg, J., Aarestrup F. M., Taylor D. E., Gerner-Smidt P., Nachamkin I. Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. *Emerging Infectious Diseases*. 2001, roč. **7**, č. 1, s. 24-34.  
DOI: 10.3201/eid0701.700024
21. Epps, S., Harvey R., Hume M., Phillips T., Anderson R. a Nisbet D. Foodborne *Campylobacter*: Infections, Metabolism, Pathogenesis and Reservoirs. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online].  
2013, roč **10**, č. 12, s. 6292-6304.  
DOI: 10.3390/ijerph10126292.
22. Fitzgerald, C., Whichard J., Nachamkin I. Diagnosis and Antimicrobial Susceptibility of *Campylobacter* Species<sup>†</sup>. In Nachamkin I, Szymanski C, Blaser M (ed),  
*Campylobacter, Third Edition*. ASM Press, Washington, DC. 2008, s. 227-243  
DOI: 10.1128/9781555815554.ch12
23. Fluit, A. C., Visser M. R. a Schmitz F. J. Molecular Detection of Antimicrobial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 2001, roč. **14**, č. 4, s. 836-871.  
DOI: 10.1128/CMR.14.4.836-871.2001.
24. Frasaio, B. S., Marin V. A., Conte-Junior C. A. Molecular Detection, Typing, and Quantification of *Campylobacter* spp. in Foods of Animal Origin. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 2017, roč. **16**, č. 4, s. 721-734.  
DOI: 10.1111/1541-4337.12274.
25. Gaynor, M. a Mankin A. Macrolide Antibiotics: Binding Site, Mechanism of Action, Resistance. *Current Topics in Medicinal Chemistry* [online]. 2003, roč. **3**, č. 9, s. 949-960.  
DOI: 10.2174/1568026033452159.
26. Ge, B., McDermott P. F., White D. G. a Meng J. Role of Efflux Pumps and Topoisomerase Mutations in Fluoroquinolone Resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [online]. 2005, roč. **49**, č. 8, s. 3347-3354.  
DOI: 10.1128/AAC.49.8.3347-3354.2005.
27. Gemmell, M., Hsu T., Berry S. H., et al. PWE-026 Elucidating the pathogenic potential of the intestinal pathogen *campylobacter showae*. In: *Colon and anorectum* [online]. BMJ Publishing Group Ltd and British Society of Gastroenterology. 2017, roč. **6**, č. 17, s. 138.  
DOI: 10.1136/gutjnl-2017-314472.271.

28. Gibreel, A., Lawley T. D., Dobryan M., Taylor Tracz a Diane E. Antibiotic Resistance Plasmids. PHILLIPS, Gregory J. a Barbara E. FUNNELL, ed. *Plasmid Biology* [online]. American Society of Microbiology. 2004, s. 473-492.  
DOI: 10.1128/9781555817732.ch23.
29. Greenwood, D., Richard C. B. *Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie*. Praha: Grada, 1999, s. 686.  
ISBN 9788071693659.
30. Hall, R. M. a Collis Ch. M. Antibiotic resistance in gram-negative bacteria: the role of gene cassettes and integrons. *Drug Resistance Updates* [online]. 1998, roč. **1**, č. 2, s. 109-119.  
DOI: 10.1016/S1368-7646(98)80026-5.
31. Hamad, M. A., Austin C. R., Stewart A. L., Higgins M., Vázquez-Torres A. a Voskuil M. I. Adaptation and Antibiotic Tolerance of Anaerobic Burkholderia pseudomallei. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [online]. 2011, roč. **55**, č. 7, s. 3313-3323.  
DOI: 10.1128/AAC.00953-10.
32. Harrison, J. J., et al. "Biofilms: A New Understanding of These Microbial Communities Is Driving a Revolution That May Transform the Science of Microbiology." *American Scientist*. 2005, roč. **93**, č. 6, s. 508–515. *JSTOR*, <http://www.jstor.org/stable/27858674>
33. Havelaar, A. H., Ivarsson S., Lofdahl M., Nauta M. J. *Estimating the true incidence of campylobacteriosis and salmonellosis in the European Union, 2009*[online]. 2012, č. 141, s. 293-302.  
DOI: 10.1017/S0950268812000568.
34. Hochel, I. Metody detekce a charakterizace *Campylobacter* spp. *Chemické listy*. 2009 roč. **103**, č. 10, s. 814-822.  
ISSN 0009-2770.
35. Huq, M., Van T. T. H., Volker G., Eltaher E., Khaled S. A., Smooker P. M. a Istivan T. The ribosomal RNA operon ( *rrn* ) of *Campylobacter concisus* supports molecular typing to genomospecies level. *Gene Reports*[online]. 2017, roč. **6**, s. 8-14.  
DOI: 10.1016/j.genrep.2016.10.008.
36. Chopra, I. a Roberts M. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *American Society for*

- Microbiology* [online]. 2001, roč. **65**, č. 2, s. 232-260.  
DOI: 10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001.
37. Iovine, N. M. Resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni*. *Virulence* [online]. 2014, roč. **4**, č. 3, s. 230-240.  
DOI: 10.4161/viru.23753.
38. Isenbarger, D. W., et al., Comparative Antibiotic Resistance of Diarrheal Pathogens from Vietnam and Thailand, 1996-1999. *Emerging Infectious Diseases* [online]. 2002, roč. **8**, č. 2, s. 175-180.  
DOI: 10.3201/eid0802.010145.
39. Jacoby, G. A. Mechanisms of Resistance to Quinolones. *Clinical Infectious Diseases* [online]. 2005, roč. **41**, č. 2, s. 120-126.  
DOI: 10.1086/428052.
40. Jana, S. a Deb J. K.. Molecular understanding of aminoglycoside action and resistance. *Applied Microbiology and Biotechnology*[online]. 2006, roč. **70**, č. 2, s. 140-150.  
DOI: 10.1007/s00253-005-0279-0.
41. Jovetic, S., Zhu Y., M. G. Letizia, Marinelli F. a Tramper J. B-Lactam and glycopeptide antibiotics: first and last line of defense?. *Trends in Biotechnology*[online]. 2010, roč. **28**, č. 12, s. 596-604. DOI: 10.1016/j.tibtech.2010.09.004. ISSN 01677799.
42. Kohanski, M. A., Dwyer D. J., Hayete B., Lawrence C. A. a Collins J. J. A Common Mechanism of Cellular Death Induced by Bactericidal Antibiotics. *Cell* [online]. 2007, roč. **130**, č. 5, s. 797-810.  
DOI: 10.1016/j.cell.2007.06.049.
43. Kolář, M. Problematika bakteriální rezistence [online]. Zdraví E15: Postgraduální medicína, 2011.  
ISSN 1803-5256.
44. Kolář, M. VÝVOJ BAKTERIÁLNÍ REZISTENCE ÝVOJ BAKTERIÁLNÍ REZISTENCE A NOVÁ ANTIMIKROBNÍ LÉČIVA NOVÁ ANTIMIKROBNÍ LÉČIVA. *INTERNÍ MEDICÍNA PRO PRAXi* [online]. 2007, roč. **5**, s. 213-216 [cit. 2018-06-06].  
ISSN 1803-5256.
45. Kong, K., Schneper L. a Mathee K.. Beta-lactam antibiotics: from antibiosis to resistance and bacteriology. *APMIS*[online]. 2010, roč. **118**, č. 1, s. 1-36.  
DOI: 10.1111/j.1600-0463.2009.02563.x.

46. Kopecká, J. a Rotková G. *Skripta ke cvičení z obecné mikrobiologie, cytologie a morfologie bakterií*. Brno: Tribun EU. 2016  
ISBN 978-80-263-1123-2
47. Kumar, A a Schweizer H. Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2005, roč. **57**, č. 10, s. 1486-1513.  
DOI: 10.1016/j.addr.2005.04.004.  
ISSN 0169409X.
48. Kummerer, K. Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. *Chemosphere* [online]. 2009, roč. **75**, č. 4, s. 417-434.  
DOI: 10.1016/j.chemosphere.2008.11.086.
49. Lagier, M. J. a Deborah S. Threadgill. Identification and Characterization of an Invasion Antigen B Gene from the Oral Pathogen *Campylobacter rectus*. *Indian Journal of Microbiology* [online]. 2014, roč. **54**, č. 1, s. 33-40.  
DOI: 10.1007/s12088-013-0406-z.
50. Lewis, K. Riddle of Biofilm Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [online]. 2001, roč. **45**, č. 4, s. 999-1007.  
DOI: 10.1128/AAC.45.4.999-1007.2001.
51. Lincová, D. a Farghalli H. *Základní a aplikovaná farmakologie. 2., dopl. a přeprac. vyd.* Praha: Galén, 2007.  
ISBN 978-80-7262-373-0.
52. Luangtongkum, T., Byeonghwa J., Jing H., Plummer P., Logue C. M. a Zhang Q. Antibiotic resistance in *Campylobacter*: emergence, transmission and persistence. *Future Microbiology* [online]. 2009, roč. **4**, č. 2, s. 189-200.  
DOI: 10.2217/17460913.4.2.189.
53. Marínková, J. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů*. Praha: Grada, 2007, s. 380  
ISBN 978-80-247-1356-4
54. Martin, S. I. a Kaye K. M.. Beta-lactam antibiotics: Newer formulations and newer agents. *Infectious Disease Clinics of North America* [online]. 2004, roč. **18**, č. 3, s. 603-619.  
DOI: 10.1016/j.idc.2004.04.006.
55. McClure, P. J. a Blackburn W. C. *Foodborne pathogens: hazards, risk analysis and control*. Elsevier. BocaRaton, Fla: CRC Press. 2009, roč. **2**.  
ISBN 9781845693626.

56. McDermott, P. F., Walker R. D. a White D. G. Antimicrobials: Modes of Action and Mechanisms of Resistance. *International Journal of Toxicology* [online]. 2003, roč. **22**, s. 135-143.  
DOI: 10.1080/10915810390198410.
57. Meinersmann, R. J., Bono J. L., Lindsey R. L., Genzlinger L. L., Loparev V. N. a Oakley B. B. Genome Sequence of a Urease-Positive *Campylobacter lari* Strain. *Genome Announcements* [online]. 2015, roč. **3**, č. 5, s. e01191-15.  
DOI: 10.1128/genomeA.01191-15. .
58. Miller, W. G., Chapman M. H., Yee E., et al. Multilocus Sequence Typing Methods for the Emerging *Campylobacter* Species *C. hyointestinalis*, *C. lanienae*, *C. sputorum*, *C. concisus*, and *C. curvus*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [online]. 2012, roč. **2**, č. 45  
DOI: 10.3389/fcimb.2012.00045.
59. Miller, W. G., Yee E. a Bono J. L. Complete Genome Sequence of *the Campylobacter helveticus* Type Strain ATCC 51209. *Genome Announcements* [online]. 2017, roč. **5**, č. 21, s. e00398-17.  
DOI: 10.1128/genomeA.00398-17.
60. Miller, W. G., Yee E., Champan M. H., et al. Comparative Genomics of the *Campylobacter lari* Group. *Genome Biology and Evolution* [online]. 2014, roč. **6**, č. 12, s. 3252-3266.  
DOI: 10.1093/gbe/evu249.
61. Miller, W. G., Yee E., Chapman M. H. a Bono J. L. Comparative Genomics of All Three *Campylobacter sputorum* Biovars and a Novel Cattle-Associated *C. sputorum* Clade. *Genome Biology and Evolution* [online]. 2017, roč. **9**, č. 6, s. 1513-1518.  
DOI: 10.1093/gbe/evx112.
62. Moore, J. E., Barton M. D., Blair I. S., et al. The epidemiology of antibiotic resistance in *Campylobacter*. *Microbes and Infection* [online]. 2006, roč. **8**, č. 7, s. 1955-1966.  
DOI: 10.1016/j.micinf.2005.12.030.
63. Nachamkin I., Szymanski C. M., Blaser M. J. *Campylobacter* (3rd Edition). American Society for Microbiology. 2008, s. 695.  
ISBN: 978-1555814373
64. Nakamura, I., N., Umeda O. A., Ohkusu K., Matsumoto T. a Bourbear P. First Case Report of Fatal Sepsis Due to *Campylobacter upsaliensis*. *Journal of Clinical*

- Microbiology* [online]. 2015, roč. **53**, č. 2, s. 713-715.  
DOI: 10.1128/JCM.02349-14.
65. Nemeth, J., Oesch G. a Kuster S. P.. Bacteriostatic versus bactericidal antibiotics for patients with serious bacterial infections: systematic review and meta-analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [online]. 2015, roč. **70**, č. 2, s. 382-395.  
DOI: 10.1093/jac/dku379.
66. Ngulukun, S. S. Taxonomy and physiological characteristics of *Campylobacter* spp. *Campylobacter* [online]. Elsevier, 2017, s. 41-60.  
DOI: 10.1016/B978-0-12-803623-5.00003-4.
67. Ocampo, P. S., Lázár V., Papp B., et al. Antagonism between Bacteriostatic and Bactericidal Antibiotics Is Prevalent. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [online]. 2014, roč. **58**, č. 8, s. 4573-4582.  
DOI: 10.1128/AAC.02463-14.
68. Oyarzabal, O. A. a Backert S. Varying Pathogenicity of *Campylobacter jejuni* Isolates. Gurtler, Joshua B., Michael P. Doyle a Jeffrey L. Kornacki, ed. *Foodborne Pathogens* [online]. 2017, roč. **6**, č. 16, s. 41-60.  
DOI: 10.1007/978-3-319-56836-2\_2.
69. Park, H., Kim T. H. a Bark K. Physicochemical properties of quinolone antibiotics in various environments. *European Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 2002, roč. **37**, č. 6, s. 443-460.  
DOI: 10.1016/S0223-5234(02)01361-2.
70. Patel, M. M., Widdowson M. A., Glass R. I., Vinjé K.. Parashar. Systematic Literature Review of Role of Noroviruses in Sporadic Gastroenteritis. *Emerging Infectious Diseases*. 2008, roč. **14**, č. 8, s. 1224–1231.  
DOI: 10.3201/eid1408.071114
71. Payot, S., Avrain L., Magras C., Praud K., Cloeckaerta A., Chaslus-Dancla E. Relative contribution of target gene mutation and efflux to fluoroquinolone and erythromycin resistance, in French poultry and pig isolates of *Campylobacter coli*. *International Journal of Antimicrobial Agents*[online]. 2004, roč. **23**, č. 5, s. 468-472.  
DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2003.12.008.
72. Payot, S., Bolla J. M., Corcoran D., Fanning S., F. Zhang M. a Q. Mechanisms of fluoroquinolone and macrolide resistance in *Campylobacter* spp. *Microbes and Infection* [online]. 2006, roč. **8**, č. 7, s. 1967-1971.  
DOI: 10.1016/j.micinf.2005.12.032.



73. Pazlarová, J. *Kampylobakter je tu s námi. Vesmír* [online]. 2011, roč. 90, č. 320, s. 320-321.  
ISSN: 1214-4029
74. Piddock, L. J. V. Clinically Relevant Chromosomally Encoded Multidrug Resistance Efflux Pumps in Bacteria. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. 2006, roč. 19, č. 2, s. 382-402.  
DOI: 10.1128/CMR.19.2.382-402.2006.
75. Poehlsgaard, J. a Douthwaite S. The bacterial ribosome as a target for antibiotics. *Nature Reviews Microbiology*[online]. 2005, roč. 3 č. 11, s. 870-881.  
DOI: 10.1038/nrmicro1265.
76. Pope J. E., Krizova A., Garg A. X., Thiessen-Philbrook H. a Ouimet J. M. *Campylobacter* Reactive Arthritis: A Systematic Review. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2007, roč. 37, č 1. s 48-55.  
DOI:10.1016/j.semarthrit.2006.12.006.
77. Pumbwe, L., Piddock L. J. V. Identification and molecular characterisation of CmeB, a *Campylobacter jejuni* multidrug efflux pump. *FEMS Microbiology Letters* [online]. 2002, roč. 206, č. 2, s. 185-189.  
DOI: 10.1016/S0378-1097(01)00532-8.
78. Rambousková, J. a Hrnčířová D. PREVENCE ONEMOCNĚNÍ Z POTRAVIN. In: *Sborník ze vzdělávacího semináře* [online]. Ministerstvo zemědělství ČR Ústav zemědělských a potravinářských informací 3. lékařská fakulta Univerzity Karlov, 2007.  
<http://www.bezpecnostpotravin.cz/userfiles/file/publikace/sbornik-07.pdf>
79. Roháčová, H. Infekční průjmy. *Odborný časopis Společnosti všeobecného lékařství ČLS JE: practicus* [online]. 2005, roč. 4, č. 5, s. 203-205.  
ISSN: 1213-8711.
80. Schulze, F., Bagon A., Muller W. a Hotzel H. Identification of *Campylobacter fetus* Subspecies by Phenotypic Differentiation and PCR. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. 2006, roč. 44, č. 6, s. 2019-2024.  
DOI: 10.1128/JCM.02566-05.
81. Schwarz S., Kehrenberg C., Doublet B. a Cloeckart A. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. *FEMS Microbiology Reviews* [online]. 2004, roč. 28, č. 5, s. 519-542.  
DOI: 10.1016/j.femsre.2004.04.001.

82. Silva, J., Leite D., Fernandes M., Mena C., Gibbs P. A. a Teixeira P. *Campylobacter* spp. as a Foodborne Pathogen: A Review. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2011, roč. **2**, č. 200, s. 1-12.  
DOI: 10.3389/fmicb.2011.00200
83. Siqueira, J. F. a Rocas I. N.. *Campylobacter gracilis* and *Campylobacter rectus* in primary endodontic infections. *International Endodontic Journal* [online]. 2003, roč. **36**, č. 3, s. 174-180.
84. Smet, A., et al., Broad-spectrum  $\beta$ -lactamases among Enterobacteriaceae of animal origin: molecular aspects, mobility and impact on public health. *FEMS Microbiology Reviews* [online]. 2010, roč. **34**, č. 3, s. 295-316.  
DOI: 10.1111/j.1574-6976.2009.00198.x.
85. Spížek, J. Rezistence na antibiotika: Je třeba hledat nové látky a nové postupy. [Http://www.cts.cuni.cz/vesmir](http://www.cts.cuni.cz/vesmir) [online]. 1999, roč. **78**, č. 289 s. 27-32 [cit. 2018-06-06].  
ISSN 0042-4544
86. Statní zdravotní ústav. Počet hlášených případů kampylobakteriózy a salmonelózy v ČR od roku 2008 do roku 2017.  
<http://www.szu.cz/publikace/data/aktualni-vyskyt-vybranych-hlasenych-infekci-v-ceske-republice>
87. Tatarová, A. Krajská hygienická stanice. *Kampylobakteriózy*. [Http://www.khsstc.cz/Default.aspx](http://www.khsstc.cz/Default.aspx) [online]. 2017 Dostupné z: [http://www.khsstc.cz/dokumenty/kampylobakteriozy\\_4655\\_4655\\_161\\_1.html](http://www.khsstc.cz/dokumenty/kampylobakteriozy_4655_4655_161_1.html)
88. Tendencia, E. A. *Chapter 2. Disk diffusion metho: In Laboratory manual of standardized methods for antimicrobial sensitivity tests for bacteria isolated from aquatic animals and environment*. Tigbauan, Iloilo, Philippines: Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center. 2004, s. 13-29.  
ISBN 1-56238-461-9.
89. Teunis, P. F. M., Bonačić Marinovic A., Tribble D. R., Porter Ch. K. a Swart A. Acute illness from *Campylobacter jejuni* may require high doses while infection occurs at low doses. *Epidemics* [online]. 2018, roč. **23**, č. 8, s. 1755-4365  
DOI: 10.1016/j.epidem.2018.02.001.
90. Vandamme, P., Gevers D. a Debruyne L. Taxonomy of the Family *Campylobacteraceae*. Blaser, Martin J., Irving Nachamkin a Christine M. Szymanski, ed. *Campylobacter, Third Edition* [online]. American Society of Microbiology, 2008, s. 3-25  
DOI: 10.1128/9781555815554.ch1.

91. Vass, M., Hruška K. a Franek M. Nitrofurantoin antibiotics: a review on the application, prohibition and residual analysis. *Veterinarni Medicina* [online]. 2008, roč. **53**, č. 9, s. 469–500.  
ISSN 0357-8427
92. Votava, M. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2. přeprac. vyd. Brno: Neptun, 2005. ISBN 8086850005.
93. Wierczorek, K. a Osek J.. Antimicrobial Resistance Mechanisms among *Campylobacter*. *BioMed Research International*[online]. 2013, s. 1-12.  
DOI: 10.1155/2013/340605.
94. Wilkinson, D. A., O'Donnell J. A., Akhter N. R., et al. Updating the genomic taxonomy and epidemiology of *Campylobacter hyointestinalis*. *Scientific Reports* [online]. 2018, roč. **8**, č. 2393, s. 1-12.  
DOI: 10.1038/s41598-018-20889-x.
95. Winer J. B. An Update Guillain Barré syndrome. *Autoimmune Diseases*. 2014. s. 1-6.  
DOI: 10.1155/2014/793024
96. Wright, G. Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and modification. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2005, roč. **57**, č. 10, s. 1451-1470.  
DOI: 10.1016/j.addr.2005.04.002. ISSN 0169409X.
97. Wrona, I. E., Agouridas V. a Panek J. S. Design and synthesis of ansamycin antibiotics. *Comptes Rendus Chimie*[online]. 2008, roč. **11**, č. 11-12, s. 1483-1522.  
DOI: 10.1016/j.crci.2008.07.003.
98. Zhang, J., Qian Z., Wu X., Ding Y., Li J., Lu Ch. a Shen Y. Juanlimycins A and B, Ansamycin Macrodilactams from *Streptomyces* sp. *Organic Letters* [online]. 2014, roč **16**, č. 10, s. 2752-2755.  
DOI: 10.1021/ol501072t.