

UNIVERZITA PARDUBICE

Fakulta chemicko-technologická

Mechanismus účinku antibiotik na mikroorganismy

Klára Kopečková

**Bakalářská práce
2012**

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Klára Kopečková**
Osobní číslo: **C09285**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název tématu: **Mechanismus účinku antibiotik na mikroorganismy**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

- Zpracujte literární rešerši obsahující:
1. Charakteristika antibiotik a jejich rozdělení
 2. Mechanismy účinku antibiotik na mikroorganismy
 3. Mechanismy rezistence mikroorganismů na antibiotika
 4. Metody určování citlivosti mikroorganismů na antibiotika

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy: **ca 30 stran**

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce:

Mgr. Eva Kusáková

Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **3. října 2011**

Termín odevzdání bakalářské práce: **22. června 2012**


prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.
děkan

L.S.


doc. RNEr. Zuzana Bílková, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 23. února 2011

Prohlašuji:

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.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 22. 6. 2012

.....

Klára Kopečková

Poděkování

Touto cestou bych chtěla poděkovat vedoucím mé bakalářské práce Mgr. Evě Kusákové a Mgr. Radku Slehovi za odborné vedení, rady a pomoc při vypracování této práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za velkou psychickou podporu, za dodání odvahy a nemalou finanční pomoc po celou dobu studia.

ANOTACE

Bakalářská práce se zabývá mechanismy účinku antibiotik na mikroorganismy. Rovněž je v práci shrnuta historie, základní charakteristika a rozdělení antibiotik, jež jsou běžně užívány v terapiích infekčních onemocnění. Dále jsou zpracovány základní metody testování citlivosti mikroorganismů na antibiotika. Zmíněna je také problematika rezistence infekčních agens na látky s antimikrobiálním účinkem.

KLÍČOVÁ SLOVA

Antibiotikum, mechanismus účinku, mikroorganismus

TITLE

The mechanism of action of antibiotics on microorganisms

ANNOTATION

This thesis deals with the mechanisms of action of antibiotics on microorganisms. It is also summarized in the work history, basic characteristics and distribution of antibiotics that are commonly used in the treatment of infectious diseases. The following are the basic processing methods for testing the sensitivity of microorganisms to antibiotics. Mentioning the issue of resistance to infectious agents, substances with antimicrobial activity.

KEYWORDS

Antibiotic, mechanism of action, microorganism

SEZNAM ZKRATEK

ATB	antibiotikum
D-Ala-D-Ala	D-alanyl-D-alanin
DNA	deoxyribonukleová kyselina
E-test	epsilometrický test (z angl. Epsilometer test)
CHI	chemoterapeutický index
MBC	minimální baktericidní koncentrace
MIC	minimální inhibiční koncentrace
M-H	Mueller-Hinton agar
MRSA	methicilin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
PABA	kyselina paraaminobenzoová
sp.	druh (z lat. species)
RNA	ribonukleová kyselina
mRNA	mediátorová RNA
rRNA	ribozomální RNA
tRNA	transferová RNA
UDP	uridindifosfát
VRSA	vankomycin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>

OBSAH

1. ÚVOD.....	9
1. 1 Historie antibiotik	10
1. 2 Obecná charakteristika.....	11
1. 3 Rozdělení antibiotik podle účinku	12
1. 3. 1 Baktericidní antibiotika.....	12
1. 3. 2 Bakteriostatická antibiotika	12
1. 4 Struktura a vlastnosti antibiotik	13
1. 4. 1 Beta-laktamová antibiotika	13
1. 4. 2 Peptidová antibiotika	14
1. 4. 3 Fluorochinolony.....	15
1. 4. 4 Aminoglykosidová antibiotika.....	15
1. 4. 5 Fosfomycin	16
1. 4. 6 Glykopeptidová antibiotika.....	16
1. 4. 7 Tetracyklinová antibiotika	16
1. 4. 8 Chloramfenikol	17
1. 4. 9 Makrolidová antibiotika.....	17
1. 4. 10 Linkosamidy	18
1. 4. 11 Sulfonamidy.....	18
1. 4. 12 Mupirocin.....	18
1. 4. 13 Diterpeny	18
1. 4. 14 Ansamycinová antibiotika	19
2. MECHANISMUS ÚČINKU ANTIBIOTIK.....	20
2. 1 Inhibice buněčné stěny.....	20
2. 2 Inhibice syntézy proteinů.....	22
2. 3 Inhibice syntézy nukleových kyselin.....	24
2. 4 Porušení cytoplasmatické membrány	25
2. 5 Inhibice metabolismu.....	25
3. TESTOVÁNÍ CITLIVOSTI.....	27
3. 1 Kvantitativní metody	28
3. 1. 1 Agarová diluční metoda.....	28
3. 1. 2 Bujónová diluční metoda	28

3. 1. 4 E-test	29
3. 2 Kvalitativní metody	30
3. 2. 1. Diskový difúzní test	30
4. REZISTENCE NA ANTIBIOTIKA	32
ZÁVĚR	34
SEZNAM LITERATURY	35
INTERNETOVÉ ZDROJE.....	45

1. ÚVOD

Antibiotika jsou látky převážně přírodního charakteru, které inhibují růst a množení mikroorganismů nebo je přímo usmrcují. Jejich uplatnění spočívá především v terapii infekčních onemocnění. Zavedení antibiotik do léčebné praxe představuje významný mezník v historii lidstva.

Jedná se o poměrně početnou a strukturně různorodou skupinu látek, lišících se mechanismem antimikrobiálního působení. Antibiotika mohou inhibovat syntézu buněčné stěny, působit na cytoplasmatickou membránu, blokovat buněčný metabolismus nebo syntézu proteinů a nukleových kyselin.

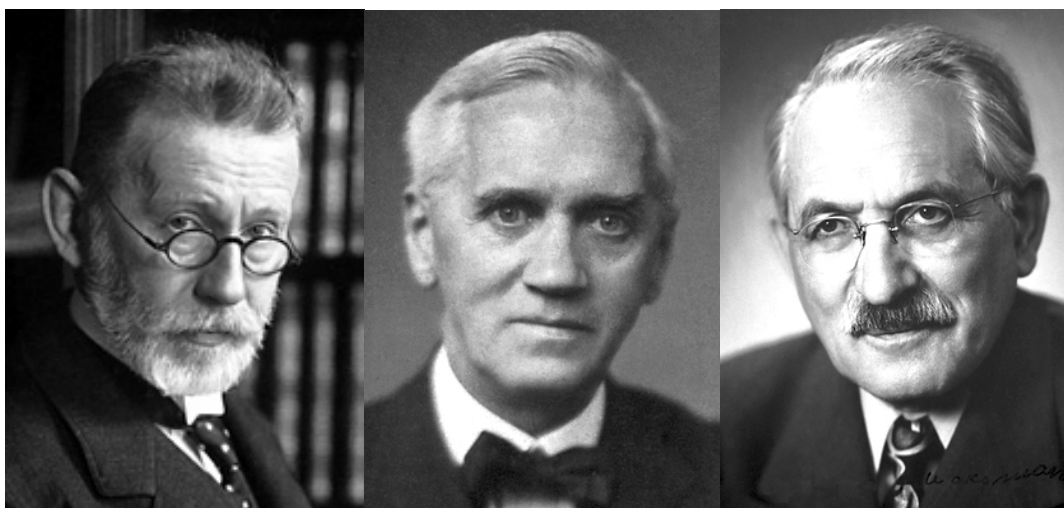
V současné době narůstá počet hlášení o zvyšující se odolnosti mikroorganismů na běžně užívaná antibiotika. Příčinou vzniku této rezistence dříve citlivých kmenů je nadměrné a nesprávné užívání antibiotik. Dochází tak k nutnosti hledání nových antibiotik, případně využívání kombinací antimikrobiálních látek s přihlédnutím na jejich terapeutické účinky a zatížení makroorganismu.

Předpokladem úspěšné terapie infekčních onemocnění je testování citlivosti mikroorganismů na antibiotika. Tato citlivost se běžně ověřuje metodami kvalitativními nebo kvantitativními. V praxi jsou nejčastěji využívány disková difúzní metoda, diluční metody na pevných a v tekutých půdách nebo E-test.

Cílem bakalářské práce je vytvoření literární rešerše, zabývající se mechanismy účinku antibiotik na mikroorganismy.

1. 1 Historie antibiotik

Léčba infekčních onemocnění byla v dřívějších dobách velmi náročná a často neúspěšná. Ve starověku se k léčbě infekcí užívali různé přírodní látky bez znalosti jejich účinku (Todar, 2009, Bellis, 2012). Louis Pasteur například prokázal, že infekční onemocnění způsobují patogenní mikroorganismy, Joseph Lister se zase na konci 19. století pokusil o aseptickou chirurgii (Toledo-Pereyra, 2010). Antimikrobiální látky ovšem nejsou pouze přírodního charakteru. V roce 1910 poprvé užil Paul Ehrlich synteticky připravenou látku Salvarsan v terapii pohlavně přenosného onemocnění syfilis (Miller *et al.*, 2002; Maartens *et al.*, 2011).



Obrázek č. 1: Paul Ehrlich, Alexander Fleming, Selman Abraham Waksman (nobelprize.org)

První antibiotikum objevil v roce 1928 Alexander Fleming. Jednalo se o penicilin, produkovaný plísní *Penicillium chrysogenum*, který inhiboval růst stafylokoků na pevných půdách (Kong *et al.*, 2010; Henk *et al.*, 2011; Bellis, 2012). Další významná antibiotika byla objevena roku 1940, jednalo se produkty bakterií *Streptomyces rimosus* a *Streptomyces aureofaciens*, izolovaná ATB byla označena jako tetracyklinová (Chopra *et al.*, 2001). V roce 1943 izoloval Selman Waksman streptomycin z bakterie *Streptomyces griseus*, který je dodnes užíván při léčbě tuberkulózy (Kresge *et al.*, 2004, Waksman *et al.*, 2010). Počátkem roku 1960 byla objevena skupina chinolových ATB strukturně podobných chininu (Andersson *et al.*, 2003).

Termín antibiotikum byl zaveden v roce 1942 Selmanem Waksmanem, který izoloval antimikrobiální látku actinomycin z bakterie *Actinomyces antibioticus* (Waksman *et al.*, 1942; Kresge *et al.*, 2004).

1. 2 Obecná charakteristika

V dnešní době je termín „antibiotikum“ používán k označení látek s antimikrobiálním účinkem, produkovaných mikroorganismy nebo rostlinami, které působí na životní pochody jiných mikroorganismů. Tato skupina látek byla později rozšířena o polosyntetické deriváty, odvozené od těchto přírodních ATB. Látky s antimikrobiálním účinkem, které jsou syntetického původu, se označují jako chemoterapeutika (Maartens *et al.*, 2011).

ATB a chemoterapeutika způsobují na rozdíl od dezinfekčních prostředků menší poškození makroorganismu (Urbášková, 2001). Antimikrobiální látky působí na mikroorganismy, ale nepoškozují hostitele (makroorganismus). Tento jev je označován jako selektivní toxicita. ATB například působí na struktury, které chybí eukaryotickým buňkám a tím nedochází k jejich poškození (Neubauerová *et al.*, 2009).

Toxicita ATB je vyjadřována pomocí chemoterapeutického indexu (CHI), který odráží velikost terapeutické dávky. CHI je definován jako poměr maximální přípustné dávky ATB na kilogram hmotnosti pacienta a minimální dávky ATB, která je schopna zastavit mikrobiální růst. CHI se vypočítá dle rovnice:

$$CHI = \frac{\text{dávka toxická pro hostitele}}{\text{dávka účinná na mikroba}}$$

CHI poskytuje informace o množství ATB, které není toxické pro pacienta. (Fossard, 2005).

1. 3 Rozdělení antibiotik podle účinku

Dle typu účinku se ATB rozdělují na bakteriostatická nebo baktericidní. Mezi jednotlivými skupinami ovšem není přesně oddělená hranice. Každé nově objevené ATB je testováno nejen v jaké koncentraci je schopno léčit, ale hlavně zda mikroorganismus usmrcuje nebo pozastavuje jeho růst (Pankey *et al.*, 2004).

1. 3. 1 Baktericidní antibiotika

Baktericidní ATB daného mikroba usmrcují, působí ireversibilně a rychleji než bakteriostatická. Účinek se dostavuje do 48 hodin (Votava, 2005). Ne vždy se podaří daný mikroorganismus zcela usmrtit, a to zejména v případě, kdy je koncentrace ATB nižší než množství bakteriálního kmene. Dochází tak pouze k zastavení růstu (Pankey *et al.*, 2004). Míra působení baktericidních antibiotik je udávána jako koncentrace potřebná k usmrcení mikroba, tzv. minimální baktericidní koncentrace (Andrews *et al.*, 2001).

Do skupiny ATB s baktericidním účinkem jsou řazena beta-laktamová, glykopeptidová a polypeptidová ATB (Pankey *et al.*, 2004).

1. 3. 2 Bakteriostatická antibiotika

Bakteriostatická ATB mají pomalejší nástup účinku ve srovnání s baktericidními. Reverzibilně zastavují růst mikroorganismů a udržují bakterie ve stacionární fázi po celou dobu jejich působení. Klinický efekt se dostavuje za 3 až 4 dny (Pankey *et al.*, 2004). Míru účinku bakteriostatických ATB udává tzv. minimální inhibiční koncentrace. Jedná se o nejnižší koncentraci ATB, která viditelně inhibuje růst mikroorganismu.

Mezi bakteriostatická ATB řadíme tetracykliny, chloramfenikol nebo sulfonamidy (Votava, 2005).

Tabulka č. 1: Rozdělení bakteriostatických a baktericidních ATB

Baktericidní ATB	Bakteriostatická ATB
Beta-laktamy	Tetracykliny
Aminoglykosidy	Chloramfenikol
Polypeptidy	Makrolidy
Glykopeptidy	Linkosamidy
Nitroimidazoly	Sulfonamidy
Fluorochinolony	Trimethoprim

1. 4 Struktura a vlastnosti antibiotik

ATB jsou látky přírodního nebo polosyntetického původu. Po chemické stránce jsou složena z mastných kyselin nebo cukrů. Řada z nich má peptidickou strukturu a jsou tvořena aminokyselinami jako je ornitin nebo valin (Šípal, 1992).

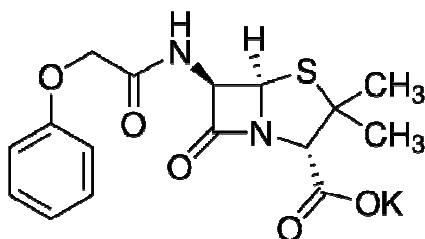
1. 4. 1 Beta-laktamová antibiotika

Jedná se o rozmanitou skupinu látek, pro něž je společným znakem přítomnost beta-laktamového kruhu v jejich struktuře. Tento kruh je tvořen čtyřčlenným cyklem, který má ve své struktuře zabudovaný dusík a na druhé pozici vázaný kyslík. Neporušenost kruhu je jednou z podmínek účinnosti beta-laktamových antibiotik. Další je schopnost průniku buněčnou stěnou k cílovým enzymům (Táborská, 2002).

Hlavním mechanismem účinku beta-laktamů je inhibice syntézy buněčné stěny (Guzmán, 2008). Bakterie rezistentní na tato ATB produkují enzymy, které brání jejich správné funkci. Tyto enzymy se označují jako beta-laktamázy. V současné době je známo více než 470 typů beta-laktamáz (Wilke et al., 2005).

Do skupiny beta-laktamových antibiotik řadíme i cefalosporiny. Jedná se o polosyntetické deriváty kyseliny 7-aminocefalosporanové, které se od beta-laktamových ATB liší odolností vůči beta-laktamázám (Táborská, 2002; McPhee *et al.*, 2012).

Cefalosporiny jsou děleny do čtyř generací, 1. generace je odolná vůči penicilináze a působí na gram-pozitivní bakterie stejně jako 2. generace. Oproti tomu 3. generace působí na gram-negativní bakterie a 4. generace cefalosporinů působí jak na gram-pozitivní, tak na gram-negativní bakterie. Nejvýznamnější cefalosporiny jsou např. cefalotin, cefaripin nebo cefipoin (Táborská, 2002)



Obrázek č. 2: Struktura penicilinu (převzato ze Sigma-Aldrich, 2012)

Do skupiny beta-laktamových antibiotik jsou dále řazeny karbapenemy. Tato antibiotika jsou odvozena od thienamycinu, látky produkované *Streptomyces cattleya* (Kahan *et al.*, 1983; Táborská, 2002). Mezi nejvýznamnější karbapenemy patří imipenem, který působí na gram-negativní bakterie, dále propenem a doripenem, tyto látky působí hlavně proti infekcím *Escherichia coli* a *Klebsiella sp.* Dalším zástupcem je ertapenem, který působí proti aerobním gram-pozitivním mikroorganismům (McPhee *et al.*, 2012).

1. 4. 2 Peptidová antibiotika

Peptidová antibiotika obsahují ve své struktuře aminokyseliny, které tvoří cyklické nebo lineární oligopeptidy, lišící se od proteinů menší molekulovou hmotností. Ve své struktuře obsahují vedle aminokyselin i imino nebo mastné kyseliny. Uvedená antibiotika jsou vysoce odolná vůči působení peptidáz rostlinného původu (Katz, 1971).

Zástupcem peptidových ATB je bacitracin, produkovaný kmeny *Bacillus licheniformis* a *Bacillus subtilis*. Vzhledem k jeho nežádoucí nefrotoxicitě je používán pouze pro léčbu povrchových lézí (McPhee *et al.*, 2012).

Další významná ATB z této skupiny jsou polymyxiny, zejména polymyxin B a kolistin, neboli polymyxin E (Krupovic *et al.*, 2007). Kolistin je produkován *Bacillus polymyxa ssp colistinus*. Má široké spektrum účinku, působí i na multirezistentní kmeny rodu *Acinetobacter* a *Klebsiella* (Falagas *et al.*, 2008). Polymyxin B je řazen mezi kation-aktivní ATB, spolu s kolistinem působí hlavně na buněčnou stěnu gram-negativních bakterií (Krupovic *et al.*, 2007).

1. 4. 3 Fluorochinolony

Fluorochinolony jsou syntetická ATB odvozená od kyseliny nalidixové. Uvedená ATB působí na syntézu DNA ovlivněním DNA-gyrázy a topoizomerázy IV (Mandell *et al.*, 2002; Bradley *et al.*, 2011). Mají široké spektrum účinku. Fluorochinolony jsou užívány v terapii infekcí vyvolaných gram-negativními i gram-pozitivními bakteriemi, chlamydiemi, mykoplazmaty nebo anaerobními patogeny. Velkou výhodou přináší i jejich dobré vstřebávání v gastrointestinálním traktu, a tím i možnost perorálního užití (Hanulík *et al.*, 2010).

Fluorochinolová ATB mohou procházet placentou a negativně působit na plod. Bylo prokázáno, že děti, které byly fluorochinolonom vystaveny již v prenatálním vývoji, mají vyšší sklon k mutagenním změnám (Loebstein *et al.*, 1998; Mandell *et al.*, 2002).

Významnými fluorochinolony jsou norfloxacin, ciprofloxacin, ofloxacin, pefloxacin a levofloxacin (Beneš, 2004). Jsou využívány hlavně u pneumokokových nebo nosokomiálních infekcí (Mandell *et al.*, 2002).

1. 4. 4 Aminoglykosidová antibiotika

Aminoglykosidy jsou po chemické struktuře hydrofilní cukry, které mají několik amino a hydroxy substituentů (Kotra *et al.*, 2000). Jedná se o poměrně velké molekuly, tvořené hydrofobními lipidy, které jsou schopny zablokovat přenos signálu pomocí iontových kanálů (Marcotti *et al.*, 2005). Aminoglykosidová ATB působí bakteriostaticky inhibicí syntézy proteinů a působením na mRNA při přepisu genetické informace.

Používají se hlavně pro léčení závažných infekcí způsobených gram-negativními bakteriemi (McPhee *et al.*, 2012). Do skupiny aminoglykosidů patří streptomycin, gentamycin, tobramycin, kanamycin a amikacin (Greenwood, 1995).

1. 4. 5 Fosfomycin

Jedná se o ATB produkované kmenem *Streptomyces fradiae* (Schweifer *et al.*, 2008). Fosfomycin je derivátem kyseliny fosfonové a jedná se o malou hydrofilní molekulu, která je dobře rozpustná ve vodě, není odolná vůči kyselému prostředí (Michalopoulos *et al.*, 2011; Raz, 2012).

Fosfomycin se řadí mezi baktericidní ATB, působící zábranou syntézy buněčné stěny již v prvním kroku při vzniku fosfoenolpyruvátu. Využívá se při léčbě infekcí způsobených gram-pozitivními i gram-negativními bakteriemi (Michalopoulos *et al.*, 2011).

1. 4. 6 Glykopeptidová antibiotika

Mechanismus účinku glykopeptidů je založen na inhibici syntézy buněčné stěny mikroorganismů (Finch *et al.*, 2003). Jedná se o antibiotika s baktericidním účinkem.

Nejvíce využívaná ATB z této skupiny jsou vankomycin a teicoplanin (James *et al.*, 2012). Vankomycin se skládá z tricyklických glykosylovaných peptidů, které jsou napojeny k disacharidu. Teicoplanin se liší od vankomycinu přítomností aromatických aminokyselin a mastných kyselin v řetězci, které přispívají antimikrobiální aktivitě připojením ATB k bakteriální membráně (Finch *et al.*, 2005).

Glykopeptidová ATB působí především na gram-pozitivní bakterie, zejména na methicilin rezistentní kmeny *Staphylococcus aureus* (MRSA) (Finch *et al.*, 2003).

1. 4. 7 Tetracyklinová antibiotika

Tetracykliny jsou tvořeny čtyřmi lineárně spojenými šestičlennými cykly, na které jsou napojeny různé funkční skupiny, jako jsou např. dimethylaminy, hydroxy nebo methylové substituenty. Jsou produkovány kmeny *Streptomyces aureofaciens*

a *Streptomyces rimosus* (Chopra *et al.*, 2001; Zakeri *et al.*, 2008). Tetracykliny brání sdružení aminoacyl-tRNA, a tím inhibují proces proteosyntézy (Zakeri *et al.*, 2008).

Tetracyklinová ATB se vyznačují širokospektrálním účinkem, působí na gram-pozitivní i gram-negativní bakterie. Užívají se jako prevence proti malárii, není vhodné požívat tetracyklinová ATB u těhotných žen vzhledem k jejich průchodu placentou a působení na vyvíjející se plod.

Nejvýznamnějšími tetracyklinovými ATB jsou doxycyklin, tetracyklin a oxytetracyklin (Sukhorukikh, 1965; Chopra *et al.*, 2001).

1. 4. 8 Chloramfenikol

Jedná se o ATB produkované bakterií *Streptomyces venezuelae*. Chloramfenikol má široké spektrum účinku díky substituentům p-nitrofenylu a N-dichloracetylu (Chatterjee *et al.*, 1979; Schwarz *et al.*, 2004). Chloramfenikol působí na ribozomální podjednotky, čímž inhibuje syntézu proteinů v mikroorganismu. Je řazen mezi širokospektrální ATB (Finch *et al.*, 2003).

Chloramfenikol je využíván v terapii onemocnění vyvolaných anaeroby, spirochetami, rickettsiemi a některými mykobakteriemi. Je účinný i proti některým rezistentním patogenům vůči penicilinu, jako je *Streptococcus pneumoniae* nebo *Staphylococcus aureus* (Urbášková, 2003).

Nevýhodou je riziko vzniku aplastické anemie, v jehož důsledku se od užití chloramfenikolu upouští (Falagas *et al.*, 2008).

1. 4. 9 Makrolidová antibiotika

Makrolidová ATB jsou tvořena aminokyselinami nebo cukry, které jsou připojeny na 14-ti nebo 15-ti členný laktonový kruh. (Leclercq, 2002).

Makrolidy se specificky váží na 50S podjednotku ribozomu, a tím inhibují syntézu proteinů v bakteriální buňce. Působí především proti gram-pozitivním bakteriím. Gram-negativní bakterie jsou vůči makrolidovým ATB rezistentní díky metylaci vazebného místa, které je přítomno na ribozomu (Finch *et al.*, 2003).

Nejčastěji užívaná makrolidová antibiotika jsou erythromycin, azithromycin nebo klarithromycin. (Leclercq, 2002).

1. 4. 10 Linkosamidy

Ve své struktuře ATB obsahují vedle aminokyselin i cukr, který brání vazbě transferázy a prodlužování peptidového řetězce (Finch *et al.*, 2003).

Nejvýznamnější z linkosamidů jsou klindamycin nebo linkomycin, které působí zejména na gram-pozitivní bakterie (Leclercq, 2002; Tenson *et al.*, 2003).

1. 4. 11 Sulfonamidy

Sulfonamidy jsou strukturní analogy kyseliny p-aminobenzoové (PABA), prekursoru při syntéze kyseliny listové. Při kombinaci trimethoprimu a sulfomethoxazolu se jedná o baktericidní ATB, která blokuje enzym dihydrofolátreduktázu pro přeměnu kyseliny tetrahydrolistové. Tím nepřímo ovlivňují i syntézu DNA (Finch *et al.*, McPhee *et al.*, 2012).

Kombinace těchto ATB se využívá při léčbě infekcí způsobených *Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae* (Julák, 2006; Brolund *et al.*, 2010; McPhee *et al.*, 2012).

1. 4. 12 Mupirocin

Mupirocin je metabolit produkovaný *Pseudomonas fluorescens*, ovlivňující syntézu proteinů v bakteriální buňce. Má vynikající antibakteriální aktivitu in vitro proti primárním a sekundárním kožním infekcím, způsobeným především gram-pozitivními bakteriemi např. *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus pyogenes* (Erdur *et al.*, 2008; McPhee *et al.*, 2012).

1. 4. 13 Diterpeny

Diterpeny neboli pleuromutiliny byly izolovány z *Pleurotus mutilus* (Patočka, 2009). Svojí přítomností v bakteriální buňce působí na ribozomální podjednotky.

Diterpeny jsou širokospektrální ATB používaná u onemocnění způsobených mykoplasmaty, gram-pozitivními nebo gram-negativními mikroorganismy. Mezi významné zástupce patří tiamulin a valnemulin, jež jsou využívány zejména ve veterinární praxi (Long *et al.*, 2006).

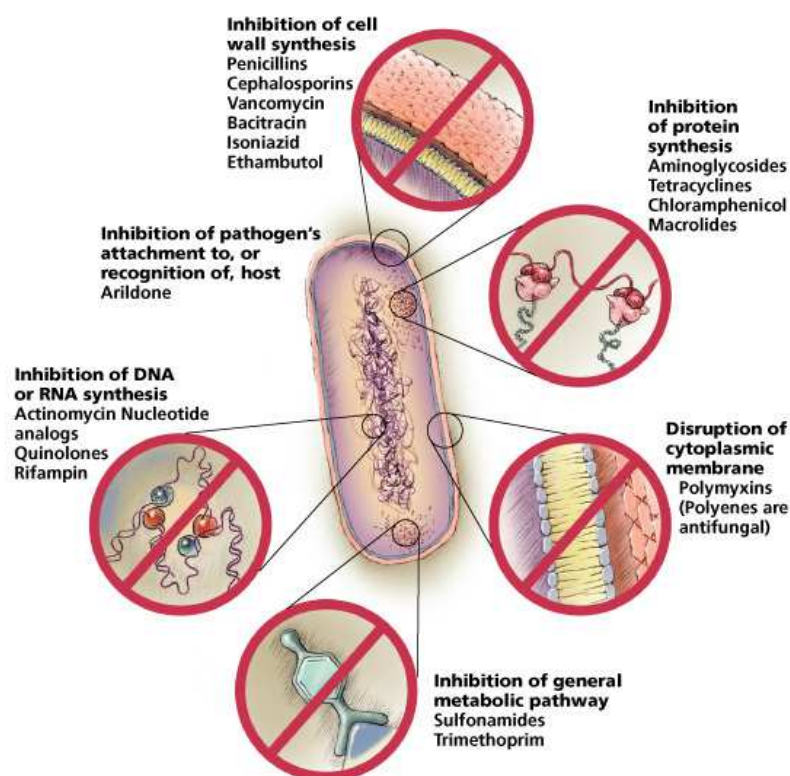
1. 4. 14 Ansamycinová antibiotika

Ansamyciny jsou polosyntetická ATB se širokým spektrem účinku. Působí proti gram-pozitivním a gram-negativním bakteriím i anaerobům.

Do skupiny ansamycinů řadíme rifampicin a rifaximin. Rifampicin i rifamixin blokuje DNA dependentní RNA polymerázu (Campbell *et al.*, 2001; Végh, 2008). Rifampicin se používá v kombinaci s dalšími léky při léčbě tuberkulózy. Rifamixin se uplatňuje především u chorob gastrointestinálního traktu (Donoval *et al.*, 2005; Julák, 2006).

2. MECHANISMUS ÚČINKU ANTIBIOTIK

Antimikrobiální látky zahrnují široké spektrum rozličných sloučenin, lišících se nejen chemickým složením a strukturou, ale i použitím a účinky, jimiž na mikroorganismy působí (Brazas et al., 2005).



Obrázek č. 3: Mechanismy účinku antibiotik (převzato z <http://www2.bc.cc.ca.us/>)

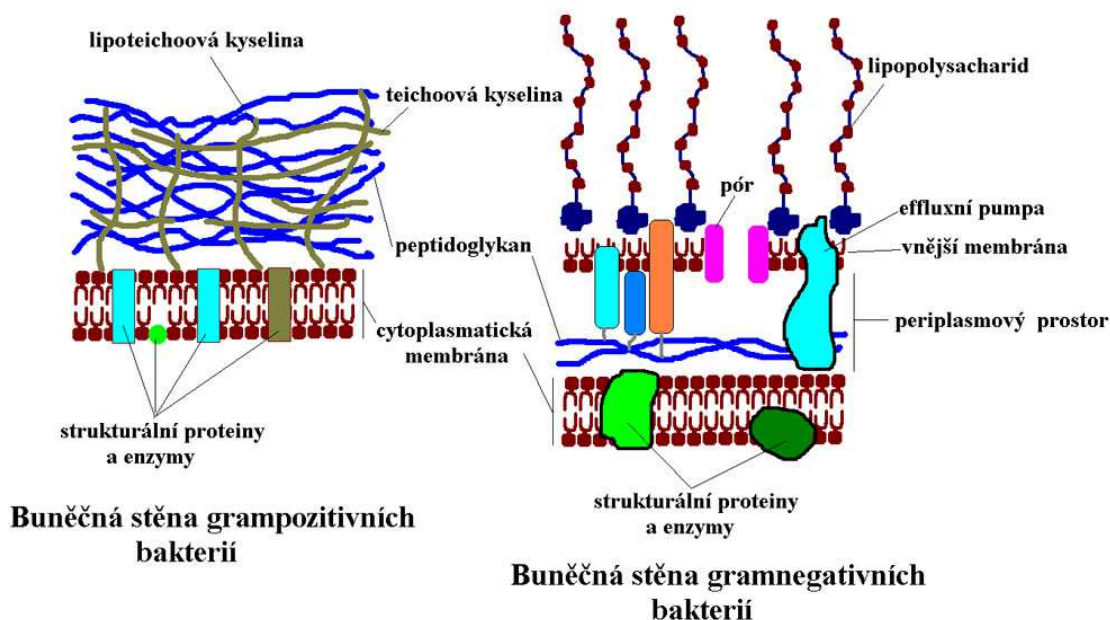
2. 1 Inhibice buněčné stěny

Na povrchu bakteriálních buněk se vyskytuje buněčná stěna. Jedná se o pevný útvar, chráníci buňku před mechanickými i chemickými vlivy. Na základě její struktury, složení a barvitelnosti dle Grama, se rozlišují dvě skupiny mikroorganismů, tzv. gram-pozitivní nebo gram-negativní bakterie.

Bakteriální buněčná stěna je nejvhodnější cíl pro působení ATB, vzhledem k její absenci u živočišných eukaryotických buněk. ATB působící na syntézu buněčné stěny tak vykazují relativně nízkou toxicitu (Konings *et al.*, 2002).

Gram-pozitivní bakterie mají buněčnou stěnu tvořenou silnou vrstvou navzájem spojených řetězců peptidoglykanu (Josephine *et al.*, 2006). Jeho základem jsou dva aminocukry, β -vázaný N-acetylglukosamin a N-acetylmuramová kyselina, které jsou propojeny peptidovými řetězci zakončenými aminokyselinami D-alanyl-D-alaninem (D-Ala-D-Ala) (Macheboeuf *et al.*, Josephine *et al.*, 2006). Kompletní buněčná stěna vzniká odštěpením D-alaninu a napojením k polypeptidovému řetězci.

Gram-negativní bakterie obsahují slabší vrstvu peptidoglykanu. Oproti gram-pozitivním bakteriím obsahuje buněčná stěna navíc vnější membránu, tvořenou fosfolipidy a lipopolysacharidy. Na svém povrchu má mnoho receptorů pro cukry, aminokyseliny a vitamíny. Vnější membrána brání průniku hydrofilních ATB a jejich vazbě na proteiny (Beveridge, 1999).



Obrázek č. 4: Struktura buněčné stěny gram-pozitivních a gram-negativních bakterií

(převzato z <http://www.betalaktamazy.cz>)

Syntéza buněčné stěny probíhá ve třech krocích, v první fázi dochází k vytvoření UDP-acetylmuramyl-pentapeptidu a jeho hromadění v buňce. Poté dochází ke spojení s UDP-acetylglukosaminem v polymerní řetězec. Kondenzace prvního peptidu je spjata s D-alanyl-D-alanin syntetázou. V poslední etapě syntézy buněčné stěny nastává traspeptidázová reakce, kdy dochází ke spojení terminálního glycinu a zbytku

pentapeptidu D-alaninu. Transpeptidázy účastnící se této reakce, se označují jako penicilin-vazebné proteiny (PBP) a jsou inhibovány beta-laktamovými ATB (Guzmán, 2008).

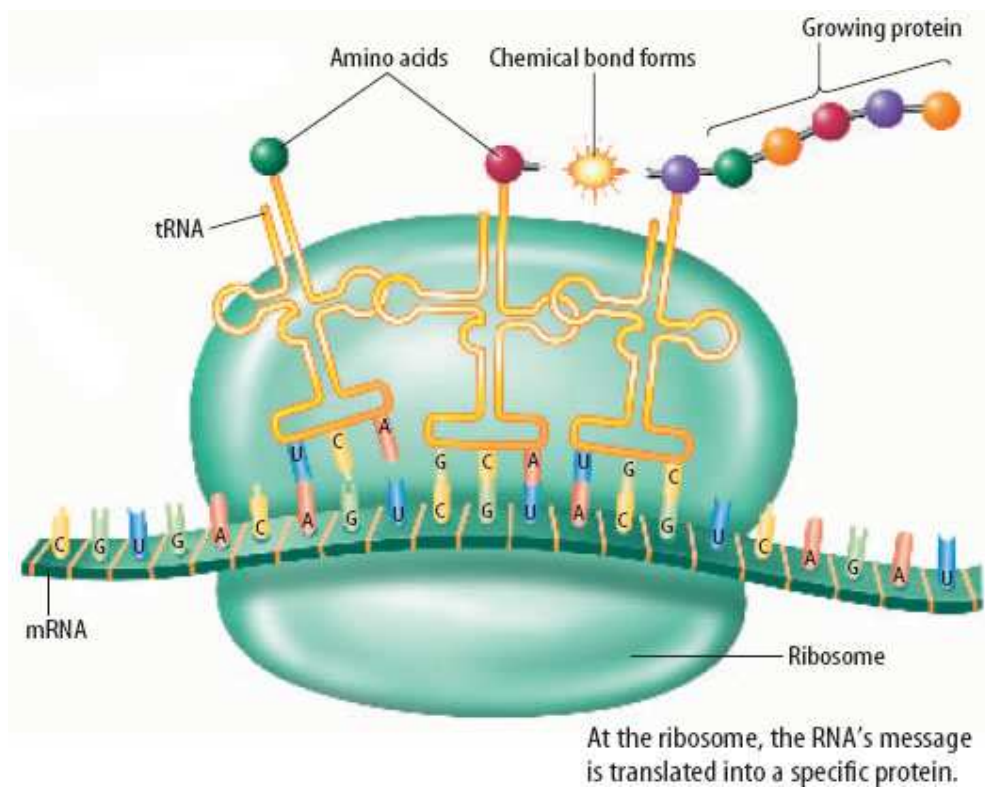
Vznik buněčné stěny ovlivňují ATB v různých fázích. Glykopeptidy inhibují poslední krok syntézy (Ghooi *et al.*, 1995; Gurmáz, 2008). Cefalosporiny se váží především na PBP u gram-negativních bakterií a působí na autokatalytické enzymy (McPhee *et al.*, 2012).

Fosfomycin se dostává do bakteriální buňky aktivním transportem. Dochází k blokaci fosfoenolpyruvát syntetázy a blokaci kyseliny acetylmuramové. Fosfomycin spolupůsobí například s beta-laktamy, aminoglykosidy či fluorochinolony (Finch *et al.*, 2003; Michalopoulos *et al.*, 2011).

Glykopeptidová antibiotika působí při vzniku muramylpeptidu, který je součástí peptidoglykanu gram-pozitivních bakterií. Gram-negativní bakterie jsou vůči těmto ATB rezistentní. Pokud buňka tato ATB přijme, dochází k zablokování terminálního konce pro acyl-D-alanyl-D-alaninu a tím k poškození buněčné stěny. Enterokoky mají schopnost nahradit D-alanin za D-laktát, a proto jsou proti glykopeptidům rezistentní (Finch *et al.*, 2003).

2. 2 Inhibice syntézy proteinů

Proteosyntézou vznikají proteiny, jejichž přesný tvar a složení je zadán v genetické informaci uložené v nukleových kyselinách. Jedná se o složitý mechanismus, který probíhá u bakteriálních buněk přímo v cytoplasmě. Syntéza probíhá na ribozomálních podjednotkách 30S a 50S, kde dochází k prodlužování peptidového řetězce a vzniku nových proteinů důležitých pro stavbu buněčné stěny. Proteosyntézu lze rozdělit do několika kroků, aktivace aminokyselin, iniciace, elongace a terminace (Šípal, 1992).



Obrázek č. 5: Schéma proteosyntézy (převzato z <http://forum.crtddb.com/>)

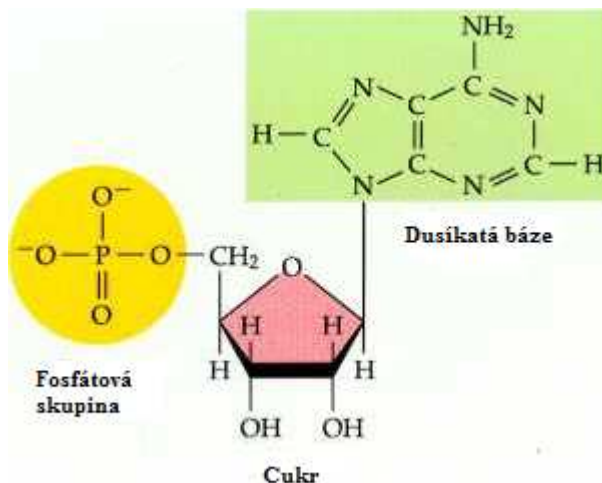
ATB působící na 30S podjednotku ribozomu, brání prodlužování peptidového řetězce. Tímto mechanismem účinkují aminoglykosidová ATB, kdy dochází k nesprávnému čtení mRNA na ribozomu a celkovému zastavení syntézy bílkovin (Greenwood, 1995; Finch *et al.*, 2003). Tetracyklinová ATB jsou aktivně transportována do bakterií, kde brání spojení aminoacyl-tRNA s vazebným místem na ribozomální podjednotce. Tím blokuje prodloužení řetězce (Chopra *et al.*, 2001).

Některá ATB působí na 50S podjednotku, mezi ně řadíme chloramfenikol, jehož místem účinku je transferáza, která spojuje aminokyseliny v peptidový řetězec (Finch *et al.*, 2003). Na tento typ podjednotky působí i makrolidy, linkosamidy nebo diterpeny (Leclercq, 2002). Makrolidy se vážou na volné ribozomy a tím brání vzniku iniciačního komplexu (Finch *et al.*, 2003). Linkosamidy brání peptidyltransferáze v prodlužování řetězce vazbou do místa, které je složeno výhradně z RNA (Tenson *et al.*, 2003). Diterpeny inhibují vazbou na ribozom peptidyltransferázu a následnou proteosyntézu (Long *et al.*, 2006).

Mupirocin inhibuje RNA-syntetázu, tím dochází k ovlivnění vzniku mRNA a nepřímo i syntézy bílkovin (Erdur *et al.*, 2008).

2. 3 Inhibice syntézy nukleových kyselin

Nukleové kyseliny jsou součástí genetické výbavy buňky. Jsou rozlišovány dvě formy, DNA a RNA (Wilson *et al.*, 2010). Tyto molekuly nesou genetickou informaci o struktuře a pořadí aminokyselin v peptidovém řetězci (Šípál, 1992).



Obrázek č. 6: Struktura nukleotidu (převzato z <http://www.scfbio-iitd.res.in/tutorial/gene.html>)

Syntéza nukleových kyselin může být pozastavena v různých krocích. Může docházet k inhibici purinových a pyrimidinových nukleotidů, špatné funkci templátové DNA, blokaci polymerázy účastnící se replikace a špatnému přepisu mRNA k sestavení proteinového řetězce.

Na DNA-gyrázu působí společně s chinoliny i aminoglykosidy a novobiocin. Chinolony, jsou synteticky vyráběná ATB působící na enzymy potřebné k syntéze DNA, DNA-gyrázu a topoizomerázu (Weigel *et al.*, 2002). Oba enzymy se skládají za dvou variant, z nichž jedna GyrA je u gram-negativních bakterií, a topoizomeráza IV je u gram-pozitivních bakterií (Onodera *et al.*, 2002).

Fluorochinolony, které mají menší toxicitu než chinoliny, svou přítomností uvnitř bakterie rozplétají dvoušroubovici DNA (Bradley *et al.*, 2011; McPhee *et al.*, 2012). Dalším antibiotikem blokujícím syntézu nukleových kyselin je rifampicin, Finch *et al.* (2003) uvádí, že jeho účinek spočívá v inhibici DNA dependentní RNA polymerázy, čímž zabraňuje transkripci v bakteriální buňce.

2. 4 Porušení cytoplasmatické membrány

Cytoplasmatická membrána je obal, ohraničující vnitřní prostor bakteriální buňky, vyplněný cytoplasmou. Je tvořena dvěma vrstvami fosfolipidů, mezi nimiž se vyskytují četné proteiny. Cytoplasmatická membrána je odpovědná za stabilitu a osmotickou integritu buňky. Mimo to, jsou na ní lokalizovány enzymy, účastníci se energetického metabolismu. Celistvost a správná funkce membrány je nezbytná pro přežití bakteriální buňky (Cooper, 2000).

Funkci cytoplasmatické membrány mohou narušit kationové antimikrobiální látky, zejména polymyxiny B a E (Julák, 2006). ATB působící na úrovni cytoplasmatické membrány jsou baktericidní.

Bacitracin, patřící do skupiny polypeptidových ATB, působí baktericidně na gram-pozitivní organismy, váže na isoprenyl pyrofosfátu (Pavli *et al.*, 2006). Polymyxin B, který nevstupuje přímo do buňky, je pouze kovalentně vázán k membráně a reaguje s jejími fosfolipidy. Tím dochází k rychlé změně v propustnosti membrány a úniku iontů z buňky, což vede k jejímu úmrtí (Evans *et al.*, 1999). Kolistin (polymyxin E) způsobuje depolarizaci membrány díky změně zastoupení Ca^{2+} a Mg^{2+} na povrchu membrány (Conway *et al.*, 1997). Tato depolarizace může být ovlivněna okolní teplotou, rovnováhou mastných kyselin nebo růstovou fází buňky (Finch *et al.*, 2003).

2. 5 Inhibice metabolismu

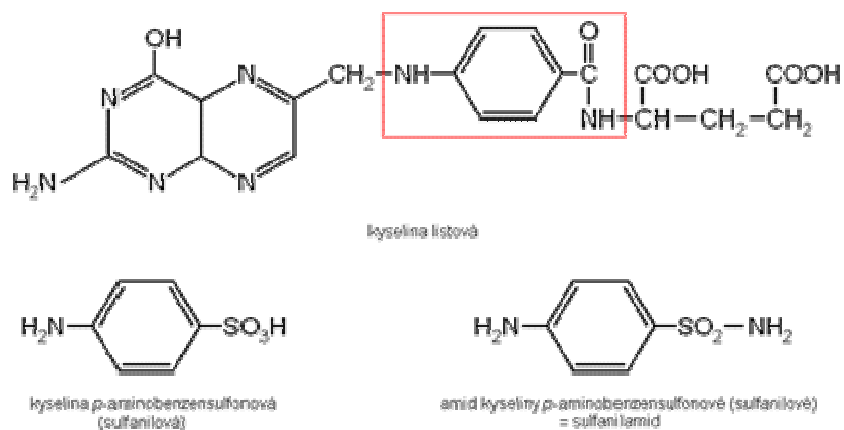
Představuje další možný způsob, jak mohou ATB působit na bakteriální buňku. Významné jsou především látky zasahující do syntézy kyseliny listové, která představuje esenciální sloučeninu, nezbytnou pro syntézu purinů a nukleových kyselin. Metabolismus kyseliny listové, vzhledem k jeho absenci u lidí, představuje ideální selektivní cíl pro působení ATB (Birmingham *et al.*, 2002).

Syntézu kyseliny listové ovlivňují zejména sulfonamidy a trimethoprim, s velkou výhodou se využívá i jejich vzájemná kombinace (Julák, 2006).

Sulfonamidy, díky strukturní podobnosti s PABA, soutěží po vniknutí do bakterie o přeměnu PABA na dihydrofolát (Finch *et al.*, 2003; McPhee *et al.*, 2012).

Trimethoprim, vazbou na dihydrofolátreduktázu kompetitivně inhibuje syntézu tetrahydrofolátu (Julák, 2006).

Sulfonamidy, stejně jako trimethoprim působí bakteriostaticky. Jejich vzájemnou kombinací se dosahuje účinku baktericidního (Süzer, 2008; McPhee *et al.*, 2012).



Obrázek č. 7: Amidy sulfonových kyselin (<http://inf3.lf1.cuni.cz/>)

3. TESTOVÁNÍ CITLIVOSTI

Testování citlivosti mikroorganismů na ATB je jedním z nejvýznamnějších postupů při práci v mikrobiologické laboratoři (Kerr, 2005). Vyšetření citlivosti se provádí za účelem zjistit, zda a do jaké míry je mikroorganismus citlivý na dané ATB. Výsledky získané v různých laboratořích se mohou značně lišit (Ataee *et al.*, 2012).

Ke zjišťování účinnosti antibiotik se využívají metody kvalitativní a kvantitativní (Valdivieso-García *et al.*, 2009). Za referenční techniku je považována agarová diluční metoda, vyznačující se vysokou přesností výsledku. Nejvyužívanější metodou stanovení je však disková difúzní metoda pro relativně snadné provedení (Votava, 2010).

Souhrn citlivostí bakterie na soubor antibiotik vyjadřuje tzv. antibiogram, který slouží ke správné interpretaci výsledků. Díky jeho zavedení se lékař snáze rozhoduje, jaké ATB při daném onemocnění podá a v jaké koncentraci (Zapantis *et al.*, 2005).

Citlivost mikroorganismů na ATB je vyjadřována hodnotami minimální inhibiční koncentrace (MIC) nebo minimální baktericidní koncentrace (MBC). MIC je definována jako nejnižší koncentrace ATB, která je schopná viditelně pozastavit růst mikroorganismu (Andrews *et al.*, 2001). MBC je koncentrace, která je schopna vyšetřovaný kmen usmrtit. Hodnoty MIC a MBC jsou nejčastěji udávány v jednotkách mg/l nebo $\mu\text{g/ml}$ (Espinosa-Cristobal *et al.*, 2012).

Hodnoty MIC a MBC se srovnávají s tzv. hodnotou break-pointu. Jedná se o koncentraci ATB, podle níž lze posoudit, zda je mikroorganismus na dané ATB citlivý nebo rezistentní. Hodnota se stanovuje na základě hodnot stanovených *in vitro*, farmakokinetiky a farmakodynamiky ATB a klinického projevu infekce (Turnidge *et al.*, 2007).

U většiny bakteriálních kmenů se k testování citlivosti používá Mueller-Hinton agar č. 2 či bujón, standardizovaný na obsah Ca^{2+} , Mg^{2+} , thyminu a tymidinu. V případě, že testovaný kmen je citlivý na vyschnutí či náročný na živiny, se pevná půda obohacuje o 5 % beraní nebo koňské krve, např. rod *Streptococcus*. (Pike *et al.*, 2002).

Bakteriální suspenze pro testování citlivosti na ATB je připravována z 24 hodinové kultury ve fyziologickém roztoku. Její intenzita by měla odpovídat 0,5 stupni McFarlandovi zákalové stupnice, což odpovídá přibližně koncentraci 1×10^8 bakteriálních buněk/ml (Swenson *et al.*, 2001; Steinhauserová *et al.*, 2008).

3. 1 Kvantitativní metody

Kvantitativní metody umožňují přesné stanovení MIC nebo MBC. Jejich nevýhodou je manuální náročnost a vysoká spotřeba materiálu. Zkumavková diluční metoda patří k nejstarším technikám v testování citlivosti (Jorgensen *et al.*, 2009).

3. 1. 1 Agarová diluční metoda

Agarová diluční metoda je považována za referenční metodu. Vyznačuje se velmi přesným stanovením hodnoty MIC, ovšem její nevýhodou jsou vysoké finanční náklady (Saiman *et al.*, 1999; Steinhauserová *et al.*, 2008).

MIC se u této metody hodnotí na agarových půdách, jež obsahují přímo zvolené koncentrace antibiotik. Nejčastěji se připravuje 12 - 15 koncentrací jednoho ATB ve dvojkovém ředění. Jedna miska vždy obsahuje jednu koncentraci ATB, ale může být na ni naočkováno větší množství bakteriálních kmenů (Kelly *et al.*, 1999).

Po naočkování se plotny inkubují 24-48 hodin při 37°C (Saiman *et al.*, 1999). Po provedené inkubaci se odečítá MIC, jako nejnižší koncentrace ATB, která viditelně potlačuje růst mikroorganismu (Kelly *et al.*, 1999).

3. 1. 2 Bujónová diluční metoda

Bujónová diluční metoda může být prováděna ve zkumavkách nebo v jamkách mikrotitračních destiček. Standardní metoda k určení citlivosti není doposud jasně definovaná. Ke stanovení se používá M-H bujón s obsahem ATB v odstupňované koncentraci, např. dvojkovým ředěním. Bujón se poté očkuje připraveným inokulem o vhodné hustotě bakteriálních buněk. Následně jsou zkumavky inkubovány za optimálních podmínek při 37°C po dobu 24-48 hodin. Po proběhlé inkubaci se sleduje,

při jaké nejnižší koncentraci došlo k viditelné zástavě růstu mikroorganismu (Kelly *et al.*, 1999).

Minimalizací diluční metody získáváme tzv. bujónovou diluční mikrometodu, která se provádí v mikrotitračních destičkách. Vyznačuje se snadnou proveditelností, možností testovat na jedné destičce více kmenů na různá ATB a menší spotřebou materiálu. Nevýhodou této metody je ovšem nesnadné rozeznání kontaminace (Jorgensen *et al.*, 2009).

Koncentrace testovaného ATB jsou v každém řádku mikrotitrační destičky různé, bakteriální suspenze, by měla odpovídat 0,5 stupni dle McFarlanda. Naočkované destičky jsou inkubovány při 37°C po dobu 24 hodin, poté se hodnotí MIC. Odečet se provádí proti kontrole po umístění na tmavou podložku. Hodnotí se zákal, případně sediment, který značí nárůst mikroorganismu. MIC je první jamka bez viditelného růstu (San Gabriel *et al.*, 2004).

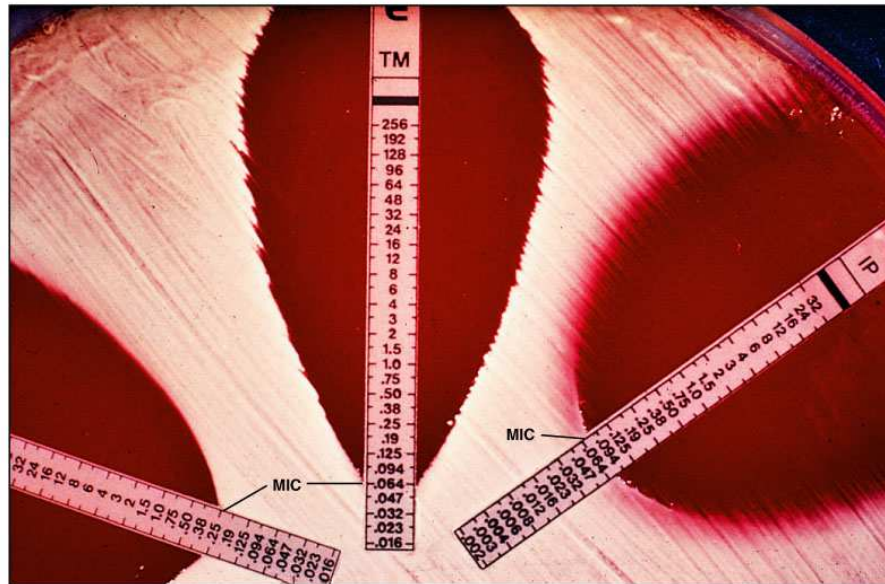


Obrázek č. 8: Mikrodiluční metoda (převzato z <http://old.lf3.cuni.cz/>)

3. 1. 4 E-test

E-test je hojně využívanou metodou v mikrobiologických laboratořích po celém světě. Jedná se o techniku kombinující principy kvalitativních a kvantitativních metod, která je založena na principu difuzních metod.

Na agarovou plotnu s M-H agarem, která je naočkovaná bakteriální suspenzí, je přikládán inertní proužek napuštěný řadou koncentrací jednoho ATB. Po inkubaci 24 hodin při 37°C se u citlivých kmenů vytváří inhibiční zóna ve tvaru kapky. V místě, kde se špička kapky dotýká proužku, se odečítá hodnota MIC (Kelly *et al.*, 1999; Votava, 2010; Erfani *et al.*, 2012).



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

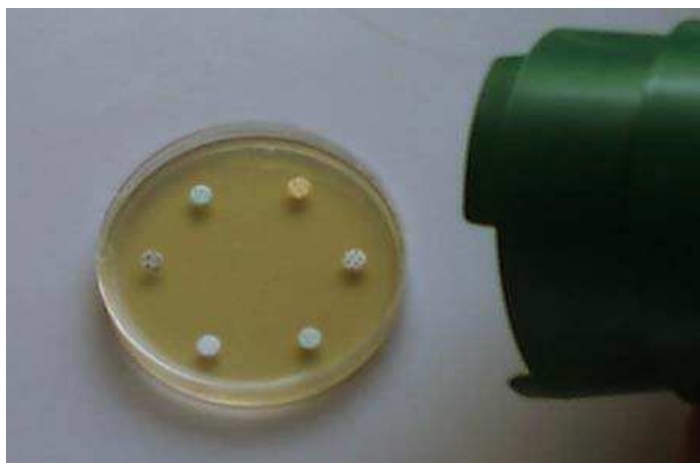
Obrázek č. 9: Vzhled inhibiční zóny u E-testu (převzato z <http://classes.midlandstech.edu/>)

3. 2 Kvalitativní metody

Kvalitativními testy jsme schopni určit, zda je testovaný kmen na dané ATB citlivý nebo rezistentní. Nejdůležitějším a nejpoužívanějším testem je disková difúzní metoda, jejíž výhodou je snadná proveditelnost a relativně nízké náklady. Nevýhodou testu je nemožnost jejího užití u náročných mikroorganismů (Jorgensen *et al.*, 2009; Atae *et al.*, 2012).

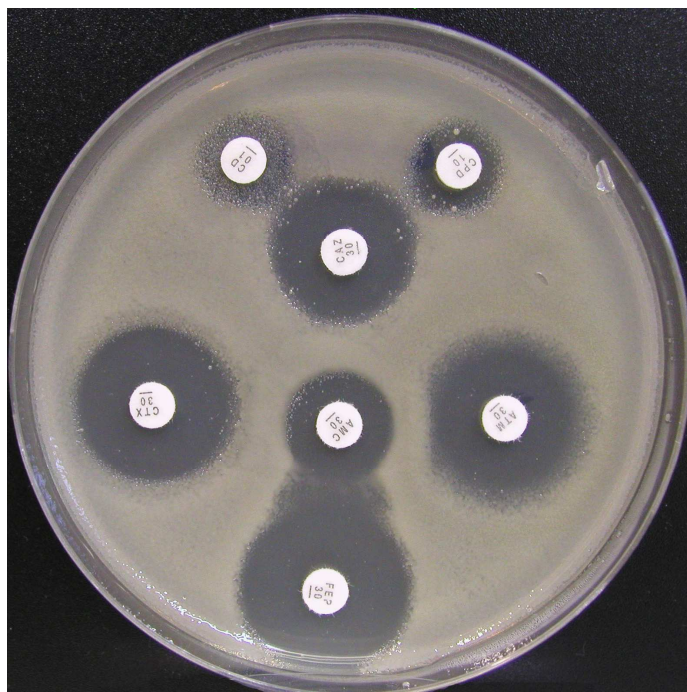
3. 2. 1. Diskový difúzní test

Diskový difúzní test se provádí na M-H agaru, který pro náročné bakterie může být obohacen o 5% beraních erytrocytů. Na naočkovanou plotnu jsou nanášeny disky s určitou koncentrací ATB (Kelly *et al.*, 1999).



Obrázek č. 10: Disková difúzní metoda (<http://old.lf3.cuni.cz/>)

Během inkubace dochází k difúzi ATB do půdy a zároveň vytváření koncentračního gradientu okolo disku. Po 24-48 hodinové inkubaci při 37°C jsou měřeny průměry inhibičních zón, které jsou srovnávány s tabelovanými hodnotami pro citlivé kmeny (Jorgensen *et al.*, 2009). Pokud je mikrob citlivý, je inhibiční zóna větší než zóna udaná výrobcem. V opačném případě je kmen k ATB rezistentní (Votava, 2010).



Obrázek č. 11: Inhibiční zóny u diskového difúzního testu (převzato z <http://www.szu.cz/>)

4. REZISTENCE NA ANTIBIOTIKA

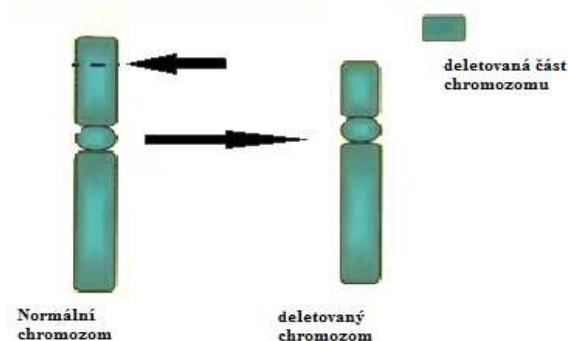
Závažné infekce vyvolané bakteriemi rezistentními k běžně používaným ATB, jsou jedním z hlavních problémů 21. století v celosvětovém zdravotnictví. V dnešní době je léčba antibiotiky samozřejmostí a mnohdy i nutností.

V odborné literatuře lze najít informace o vzrůstajícím počtu rezistentních bakterií na ATB, dochází ke vzniku multirezistentních kmenů, vznikající hromaděním genů, které kódují rezistenci nebo genů pro efluxní čerpadla (Nikaido, 2009). Obecně lze rezistenci rozdělit na přirozenou a získanou (Spížek, 1999, Alanis, 2005).

Rezistence vůči antibiotikům ohrožuje moderní léčebné postupy, jakými jsou například transplantace orgánů, implantátů a protéz, kde antibiotika hrají významnou roli v bezpečnosti pacientů (Spížek, 1999). Rezistence může vzniknout opakovaným podáváním nevhodných antibiotik.

Přirozená rezistence

Přirozená rezistence je dána druhem bakterie a jejími přirozenými vlastnostmi (Tenover, 2006). Je způsobená nízkou citlivostí cílové struktury nutné pro navázání antibiotika. Může tak dojít ke strukturálním změnám buněčné stěny, ribozomů, vazebného místa nebo vypuzením ATB z buňky (Julák, 2006; Tenover, 2006).



Obrázek č. 12: Delece chromozomu (upraveno dle <http://www.pronatal.cz/>)

Přirozeně rezistentní jsou například gram-negativní tyčinky na beta-laktamové ATB penicilin, z důvodu produkce beta-laktamázy, které otevírají beta-laktamový kruh a tím činí antibiotika nefunkčními (Spížek, 1999; Julák, 2006).

Efluxní mechanismus se uplatňuje hlavně při kolonizaci a během infekce, kdy patogen napadá hostitelskou tkáň (Nikaido *et al.*, 2012). Bakterie jsou schopny ATB z buňky odstranit pomocí efluxního čerpadla před obsazením cílové struktury (Tenover, 2006). Streptokoky jsou odolné vůči aminoglykosidům, dochází k deaktivaci funkční skupiny (Toth *et al.*, 2012).

Získaná rezistence

Získaná rezistence se dá rozdělit na chromozomální a extrachromozomální. Chromozomální rezistence vzniká změnou v genetické informaci (Tenover, 2006). Extrachromozomální rezistence je přenášena pomocí rezistentních genů z mateřské do dceřiné buňky pomocí plasmidů, transpozonů či genových kazet (Cohen *et al.*, 1972).

Při chromozomální změně se může jednat o delecii, substituci či adici. V případě delece dochází k odstranění plně funkčního genu. U substituce je naopak původní gen nahrazen jiným, s jinou genetickou informací. Adice je spojena s přidáním nového genu do celkové genetické informace (Toland, 2011).

Přenos rezistentního genu může být zprostředkován plasmidy, což je nejvýznamnější mechanismus, uplatňující se u mikroorganismů. Dochází tak ke vzniku velice stabilní rezistence (Julák, 2006). Plasmidy jsou kruhové molekuly DNA, které se replikují nezávisle na bakteriálním chromosomu. Mohou bez problému prostupovat přes překážky, kdy rychlost šíření je závislá na různorodosti bakterií (Svara *et al.*, 2011).

Dále mohou rezistentní geny přenášet tzv. transpozony neboli skákající geny, kdy dochází ke vkládání krátkých úseků DNA do genetické výbavy bakterie (Houser, 2008).

Rezistentní geny mohou být přenášeny i pomocí genových kazet, krátkých úseků DNA, které umožňují pohyb restričních genů. Schopnost bakterie genové kazety přijímat je spojená s přítomností transpozonů a integrinů (Spížek, 1999; Julák, 2006).

ZÁVĚR

Antibiotika jsou látky přírodního nebo polosyntetického původu, které jsou využívány v terapii infekčních onemocnění. Dle jejich účinku se antibiotika rozlišují na bakteriostatická, zastavující růst a množení mikroorganismů nebo baktericidní, schopná mikroorganismy přímo usmrtit.

Látky s antimikrobiálním účinkem tvoří velmi různorodou skupinu, lišící se nejen strukturou, ale i schopností průniku skrze bakteriální stěnu a mechanismem účinku na mikroorganismy. Antibiotika mohou působit na syntézu buněčné stěny, nukleových kyselin nebo bílkovin, dále mohou způsobit porušení cytoplasmatické membránu a jejích funkcí nebo ovlivňovat metabolismus mikroorganismů.

Studování jednotlivých mechanismů účinku je důležité pro specifickou léčbu. Kombinováním antibiotik s různým mechanismem účinků, se může zabránit vzniku rezistence. K nejvíce používaným antibiotikům patří beta-laktamy, tetracykliny a fluorochinolony.

V současné době je stále větším problémem zvyšující se rezistence mikroorganismů na běžně užívaná antibiotika. Nejčastější příčinou této rezistence jsou změny v genetické informaci mikroorganismů, které vznikají v důsledku nadměrného užívání antibiotik. Vznikají tak multirezistentní kmeny, vyskytující se nejčastěji v nemocničním prostředí, kde napadají imunodeficitní pacienti. Proti těmto kmenům se v současnosti provádí řada výzkumů s cílem objevit nové účinné látky s antimikrobiálním působením.

Stanovení citlivosti mikroorganismu na antimikrobiální látky, je jedním ze základních úkonů prováděných v mikrobiologické laboratoři. Rutinně jsou využívány metody kvalitativní, jejichž principem jsou tzv. difuzní techniky a metody kvantitativní, umožňující stanovit účinnou koncentraci ATB. Z kvalitativních metod je běžně užívána disková difuzní technika. Do skupiny kvantitativních metod jsou řazeny agarová a bujónová diluce nebo E-test, kombinující princip dilučních a difuzních technik. Za referenční metodu je považována agarová diluční metoda.

SEZNAM LITERATURY

ALANIS, A. J. Resistance to Antibiotics: Are We in the Post-Antibiotic Era?. *Archives of Medical Research*. 2005, roč. 36, č. 6, s. 697-705. ISSN 01884409.

ANDERSSON, M. I., MACGOWAN, A. P. Development of the quinolones. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003, roč. 51, č. 1, s. 1-11.

ANDREWS, J. M., L. H. HANSEN, L. JAKOBSEN, VESTER, B. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2001, roč. 48, č. 1, s. 5-16. ISSN 0305-7453.

ATAEE, R. A., MEHRABI-TAVANA, A., HOSSEINE, S. M. J., MORIDI, K., ZADEGAN, M. G. A Method for Antibiotic Susceptibility Testing: Applicable and Accurate. *Jundishapur Journal of Microbiology JJM*. 2012, roč. 5, č. 1, s. 341-345. ISSN 2008-3645.

BENEŠ, J, infekční klinika 3. LF UK a FN Na Bulovce, Praha, Základy používání fluorochinolonů, zdn.cz, 2004/08/24.

BELLIS, M. History of Antibiotics, Antibiotic Timeline. *About.com Guide*. 2012.

BERMINGHAM, A., DERRICK, J. P. The folic acid biosynthesis pathway in bacteria: evaluation of potential for antibacterial drug discovery. *BioEssays*. 2002, roč. 24, č. 7, s. 637-648. ISSN 0265-9247.

BEVERIDGE, TJ. Structures of Gram-negative Cell Walls and Their Derived Membrane Vesicles. *Journal of Bacteriology*. 1999, roč. 181, č. 16, s. 4725-4733. ISSN 0021-9193.

BRADLEY, J. S., JACKSON, A. M. The Use of Systemic and Topical Fluoroquinolones. *Pediatrics*. 2011, roč. 128, č. 4, s. E1034-E11045. ISSN 0031-4005.

BRAZAS, M. D., HANCOCK, R. E. W. Using microarray gene signatures to elucidate mechanisms of antibiotic action and resistance. *Drug Discovery Today*. 2005, roč. 10, č. 18, s. 1245-1252. ISSN 1359-6446.

BROLUND, A., SUNDQVIST, M., KAHLMETER, G., GRAPE, M., MYLONAKIS, E. Molecular Characterisation of Trimethoprim Resistance in *Escherichia coli* and

Klebsiella pneumoniae during a Two Year Intervention on Trimethoprim Use. *PLoS ONE*. 2010, roč. 5, č. 2, s. e9233-1-6. ISSN 1932-6203.

CAMPBELL, E. A., KORZHEVA, N., MUSTAEV, A., MURAKAMI, K., NAI, S., GOLDFARB, A., DARST, S. A. Structural Mechanism for Rifampicin Inhibition of Bacterial RNA Polymerase. *Cell*. 2001, roč. 104, č. 6, s. 901-912. ISSN 0092-8674.

COHEN, S. N., HSU, L., CHANG, A. C. Y. Nonchromosomal Antibiotic Resistance in Bacteria: Genetic Transformation of *Escherichia coli* by R-Factor DNA. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1972, roč. 60, č. 8, s. 2110-2114.

CONWAY, SP., POND, HN., WATSON, A., ETHERINGTON, C., ROBEY, HL., GOLDMAN, MH. Intravenous colistin sulphomethate in acute respiratory exacerbations in adult patients with cystic fibrosis. *Thorax*. 1997, roč. 52, č. 11, s. 987-993. ISSN 0040-6376.

COOPER, G. M. Structure of the Plasma. *The cell: a molecular approach. 2nd ed.* Washington (DC): ASM Press, 2000. ISBN 08-789-3106-6.

DONOVAL, R., LUKÁŠ, M. Rifaximinum. *Remedia, Lékové profily*, 2005, roč. 15, č. 5, s. 355-361

ERDUR, B., ERSOY, G., YILMAZ, O., OZKUTUK, A., SIS, B., KARCIOGLU, O., PARLAK, I., AYRIK, C., AKSAY, E., GURYAY, M. A comparison of the prophylactic uses of topical mupirocin and nitrofurazone in murine crush contaminated wounds. *The American Journal of Emergency Medicine*. 2004, roč. 206, č. 2, s. 137-143. ISSN 0735-6757.

ERFANI, Y., RASTI, A., REZAEI, M., JAFARI, S. Comparison of Iranian disc diffusion agar and epsilometer test (E-test) accuracy, in antibiotic susceptibility of *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection. *African journal of microbiology research*. 2012, roč. 6, č. 14, s. 3571-3573. ISSN 1996-0808.

ESPINOSA-CRISTOBAL, L. F., MARTINEZ-CASTANON, GA, MARTINEZ-MARTINEZ, RE, LOYOLA-RODRIGUEZ, JP, PATINO-MARIN, N REYES-MACIAS, JF, RUIZ, F. Antimicrobial sensibility of *Streptococcus mutans* serotypes to silver nanoparticles. *Materials Science*. 2012, roč. 32, č. 4, s. 896-901. ISSN 0928-4931.

EVANS, M. FEOLA, DJ. RAPP, RP. Polymyxin B sulfate and colistin: old antibiotics for emerging multiresistant gram-negative bacteria. *Annals of Pharmacotherapy*. 1999, roč. 33, č. 9, s. 960-967. ISSN 1060-0280.

FALAGAS, M. E, GRAMMATIKOS A. P, MICHALOPOULOS A. Potential of old-generation antibiotics to address current need for new antibiotics. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2008, roč. 6, č. 5, s. 593-600. ISSN 1478-7210.

FINCH, R., GARROD L. P. *Antibiotic and chemotherapy: anti-infective agents and their use in therapy*. 8th ed., 2003. Reprinted 2003. New York: Churchill Livingstone, 2003, s. 11-24. ISBN 04-430-7129-2

FINCH, RG., ELIOPOULOS, GM. Safety and efficacy of glycopeptide antibiotics. *The journal of antimicrobial chemotherapy*. 2005, roč. 55, č. 2, s. 5-13. ISSN 0305-7453.

FOSSARD, R. Chemotherapeutic index. *Plant- Tissue Culture Monthly Archive*. 2005.

GHOUI, R. B., THATTE, S. M. Inhibition of cell wall synthesis - is this the mechanism of action of penicillins?. *Medical hypotheses*. 1995, roč. 44, č. 2, s. 127-131. ISSN 0306-9877.

GREENWOOD, D. *Antimicrobial chemotherapy*. 3rd ed. Brno: Oxford University Press, xiv, 428 p. 1995. ISBN 01-985-4839-7.

GUZMÁN, F. Mechanism of action of the beta lactam antibiotics (penicillins and cephalosporins). <http://pharmacologycorner.com>. 2008

HANULÍK, V., SEDLÁKOVÁ, M. H., PETRŽELÁKOVÁ, J., KOLÁŘ, M. Možnosti fluorochinolonů v současné klinické praxi. *Klinická farmakologie a farmacie*. 2010, roč. 24, č. 4, s. 184 -186. ISSN 1212-7973.

HENK, D. A., EAGLE C. E., BROWN K., VAN DEN BERG M. A., DYER P. S., PETERSON S. W., FISHER M.C. Speciation despite globally overlapping distributions in *Penicillium chrysogenum*: the population genetics of Alexander Fleming's lucky fungus. *Molecular Ecology*, 2011, roč. 20, č. 20, s. 4288–4301. ISSN 0962-1083.

HOUSER, P. Nadbytečná odolnost k antibiotikům – záhadné determinanty rezistence. *Medicína, Science World*. 2008.

CHATTERJEE, C., DATTA GUPTA, J. K., SAHA, N. N., SAENGER, W., MULLER, K. Crystal and molecular-structure of chloramphenicol. *Journal of crystal and molecular structure*. 1979, roč. 9, č. 6, s. 295-304. ISSN 0308-4086.

CHOPRA, I., ROBERTS, M. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and Molecular Biology reviews: MMBR*. 2001, roč. 65, č. 2, s. 232. ISSN 1092-2172.

JAMES, R. C., PIERCE, J. G., OKANO, A., XIE, J., BOGER, D. L. Redesign of Glycopeptide Antibiotics: Back to the Future. *ACS Chemical Biology*. 2012, roč. 7, č. 5, s. 797-804. ISSN 1554-8929.

JORGENSEN, J. H., FERRARO, M. J. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. *Clinical Infectious Diseases*. 2009, roč. 49, č. 11, s. 1749-1755. ISSN 1058-4838.

JOSEPHINE, H. R., CHARLIER, P., DAVIES, Ch., NICHOLAS, R. A., PRATT, R. F. Reactivity of Penicillin-Binding Proteins with Peptidoglycan-Mimetic β -Lactams: What's Wrong with These Enzymes. *Biochemistry*. 2006, roč. 45, č. 51, s. 15873-15883. ISSN 0006-2960.

JULÁK, J. *Úvod do lékařské bakteriologie*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2006, 404 s. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 80-246-1270-4.

KAHAN, FM, H KROPP, SUNDELOF, JG., BIRNBAUM, J. Thienamycin-development of imipenem-cilastatin. *The journal of antimicrobial chemotherapy*. 1983, roč. 12, č. D, s. 1-35. ISSN 0305-7453.

KATZ, E. Biosynthesis of polypeptide antibiotics. *Georgetown University Schools of Medicine and Dentistry*. 1971, roč. 28, č. 4, s. 551-570.

KELLY, LM, JACOBS, MR., APPELBAUM, PC. Comparison of-agar dilution, microdilution, E-test, and disk diffusion methods for testing activity of cefditoren against *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of Clinical Microbiology*. 1999, roč. 10, č. 37, s. 3296-3299. ISSN 0095-1137.

KERR, J R. Antibiotic treatment and susceptibility testing. *Journal of Clinical Pathology*. 2005, roč. 58, č. 8, s. 786-787. ISSN 0021-9746.

KONG, KF., SCHNEPER, L., MATHEE, K.. Beta-lactam antibiotics: from antibiosis to resistance and bacteriology. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy: acta pathologica, microbiologica et immunologica Scandinavica*. 2010, roč. 118, č. 1, s. 1-36. ISSN 0903-4641.

KONINGS, W. N., ALBERS, SW., KONING, S., DRIESSEN, A. J. M. The cell membrane plays a crucial role in survival of bacteria and archaea in extreme environments. *Antonie van Leeuwenhoek*. 2002, roč. 81, č. 1/4, s. 61-72. ISSN 0003-6072.

KOTRA, L. P., HADDAD J., MOBASHERY S. Aminoglycosides: Perspectives on Mechanisms of Action and Resistance and Strategies to Counter Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2000, roč. 44, č. 12, s. 3249-3256. ISSN 0066-4804.

KRESGE, N., SIMONI, R. D., HILL, R. L. Selman Waksman: the Father of Antibiotics. *The Journal of Biological Chemistry*, 2004, roč. 279, č. 48. ISSN 0021-9258.

KRUPOVIC, M., DAUGELAVICIUS, R., BAMFORD, D. H. Polymyxin B Induces Lysis of *Marine Pseudoalteromonads*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2007, roč. 51, č. 11, s. 3908-3914. ISSN 0066-4804.

LECLERCQ, R. Mechanisms of Resistance to Macrolides and Lincosamides: Nature of the Resistance Elements and Their Clinical Implications. *Clinical Infectious Diseases*. 2002, roč. 34, č. 4, s. 482-492. ISSN 1058-4838.

LOEBSTEIN, R., ADDIS, A., HO, E., ANDREOU, R., SAGE, S., DONNENFELD, A. E., SCHICK, B., BONATI, M., MORETTI, M., LALKIN, A., PASTUSZAK, A., KOREN, GI. Pregnancy outcome following gestational exposure to fluoroquinolones: a multicenter prospective controlled study. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1998, roč. 42, č. 6, s. 1336-1339. ISSN 0066-4804.

LONG, K. S., HANSEN, L. H., JAKOBSEN, L., VESTER, B. Interaction of Pleuromutilin Derivatives with the Ribosomal Peptidyl Transferase Center: from antibiosis to resistance and bacteriology. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy: acta*

pathologica, microbiologica et immunologica Scandinavica. 2006, roč. 50, č. 4, s. 1458-1462. ISSN 0066-4804.

MAARTENS, M. M. J., SWART, CH. W., POHL, C. H., KOCK, L. J. F. Antimicrobials, chemotherapeutics or antibiotics?. *Scientific research and essays*. 2011, roč. 6, č. 19, s. 3927-3929. ISSN 1992-2248.

MACHEBOEUF, P., CONTRERAS-MARTEL, C., JOB, V., DIDEBERG, O., DESSEN, A. Penicillin Binding Proteins: key players in bacterial cell cycle and drug resistance processes. *FEMS Microbiology reviews*. 2006, roč. 30, č. 5, s. 673-691. ISSN 0168-6445.

MANDELL, L., TOLLOTTSON, G. Safety of fluoroquinolones: An update. *The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology*. 2002, roč. 13, č. 1, s. 54-61.

MARCOTTI, W., VAN NETTEN, S. M., KROS, C. J. The aminoglycoside antibiotic dihydrostreptomycin rapidly enters mouse outer hair cells through the mechano-electrical transducer channels. *The Journal of physiology*. 2005, roč. 567, č. 2, s. 505-521. ISSN 0022-3751.

McPHEE, S. J., PAPADAKIS, M. A., RABOW, M. W. *Current medical diagnosis*. 2012, kap. e1. ISSN 0092-8682.

MICHALOPOULOS, A. S., LIVADITIS, I. G., GOUGOUTAS, I. G. The revival of fosfomycin. *International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 2011, roč. 15, č. 11, e732-e739 ISSN 1201-9712.

MILLER, W. H., SCHIPPER, H. M., LEE, J.S., SINGER, J., WAXMAN, S. Mechanisms of action of arsenic trioxide. *Cancer research: the official organ of the American Association for Cancer Research, Inc*. 2002, roč. 62, č. 14, s. 3983-3903. ISSN 0008-5472.

NEUBAUEROVÁ, T., MACKOVÁ, M., MACEK, T., KOUTEK B. Kationické antimikrobiální peptidy. *Chemické listy*. 2009, roč. 103, č. 6, s. 460-468. ISSN 1213-7103.

NIKAIDO, H. Multidrug odpor bakterií. *Annual Review of Biochemistry* . 2009, roč. 78, č.. 1, s.. 119-146. ISSN 0066-4154.

NIKAIDO, H., PAGES, JM. Broad-specificity efflux pumps and their role in multidrug resistance of Gram-negative bacteria. *FEMS microbiology reviews*. 2012, roč. 36, č. 2. ISSN 0168-6445.

ONODERA, Y., OKUDA, J., TANAKA, M., SATO, K. Inhibitory activities of quinolones against DNA gyrase and topoisomerase IV of *Enterococcus faecalis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2002, roč. 46, č. 6, s. 1800-1804. ISSN 0066-4804.

PANKEY, G. A., SABATH, L. D. Clinical Relevance of Bacteriostatic versus Bactericidal Mechanisms of Action in the Treatment of Gram-Positive Bacterial Infections. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2004, roč. 38, č. 6, s. 864-870. ISSN 1058-4838.

PATOČKA, J. Retapamulin – antibiotikum z hlívy, 2009. online <http://toxicology.cz>

PAVLI, V., KMETEC, V. Pathways of Chemical Degradation of Polypeptide Antibiotic Bacitracin. *Biological*. 2006, roč. 29, č. 11, s. 2160-2167. ISSN 0918-6158.

PIKE, R., STAPLETON, P., LUCAS, V., ROBERTS, G., ROWBURY, R., RICHARDS, H., MULLANY, P., WILSON, M. Effect of Medium Composition on the Susceptibility of Oral Streptococci to Mercuric Chloride. *Current Microbiology*. 2002, roč. 45, č. 4, s. 272-276. ISSN 0343-8651.

RAZ, R. Fosfomycin: an oldunew antibiotic. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2012, roč. 18, č. 1, s. 4-7. ISSN 1198-743x.

SAIMAN, L., BURNS, J. L., WHITTJER, S., KRZEWINSKI, J., MARSHALL, S. A., JONES, R. N. Evaluation of reference dilution test methods for antimicrobial susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients with cystic fibrosis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1999, roč. 37, č. 9, s. 2987-2991. ISSN 0095-1137.

SAN GABRIEL, P., ZHOU, J., TABIBI, S., CHEN, Y., TRAUZZI, M., SAIMAN, L. Antimicrobial Susceptibility and Synergy Studies of *Stenotrophomonas maltophilia* Isolates from Patients with Cystic Fibrosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2004, roč. 48, č. 1, s. 168-171. ISSN 0066-4804.

SCHWARZ, S., KEHRENBERG, C., DOUBLET, B., CLOECKAERT, A. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. *FEMS microbiology reviews*. 2004, roč. 28, č. 5, s. 519-542. ISSN 0168-6445.

SCHWEIFER, A., HAMMERSCHNIDT, F. On the conversion of structural analogues of (S)-2-hydroxypropylphosphonic acid to epoxides by the final enzyme of fosfomycin biosynthesis in *S-fradiae*. *Bioorganic*. 2008, roč. 18, č. 10, s. 3056-3059. ISSN 0960-894x.

SÜZER, Ö. Sulphonamides and trimethoprim. www.onersuzer.com. 2008

SPÍŽEK, J. Rezistence na antibiotika. *Vesmír*. 1999, roč. 78, č. 1, s. 27-32. ISSN 1214-4029.

STEINHAUSEROVÁ, I., BOŘILOVÁ, G. Hodnocení antibiotické rezistence kmenů *Campylobacter coli* izolovaných z člověka, drůbeže a prasat. *Veterinářství*. 2008, roč. 58, č. 5, s. 315-318.

SUKHORUKIKH, S. V. Tetracyclines in Pregnancy. *British Medical Journal*, 1965, roč. 1, č. 5437, s. 743-744. ISSN 0959-8138.

SVARA, F., RANKIN, D. J. The evolution of plasmid-carried antibiotic resistance. *BMC evolutionary biology*. 2011, roč. 11, č. 130. ISSN 1471-2148.

SWENSON, J. M., WILLIAMS, P. P., KILLGORE, G., O'HARA, C. M., TENOVER, F. C. Performance of Eight Methods, Including Two New Rapid Methods, for Detection of Oxacillin Resistance in a Challenge Set of *Staphylococcus aureus* Organisms. *Journal of Clinical Microbiology*. 2001, roč. 39, č. 10, s. 3785-3788. ISSN 0095-1137.

ŠÍPAL, Z. *Biochemie*. 1. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1992, 479 s. Učebnice pro vysoké školy. ISBN 80-042-1736-2.

TÁBORSKÁ, J. Beta-laktamová antibiotika. *Zdravotnické noviny, Lékařské listy*. 2002.

TENOVER, F. C. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *The American Journal of Medicine*. 2006, roč. 119, č. 6, S3-S10. ISSN 0002-9343.

TENSON, T., LOVMAR, M., EHRENBERG, M.. Mechanism of Action of Macrolides, Lincosamides and Streptogramin B Reveals the Nascent Peptide Exit Path in the Ribosome. *Journal of Molecular Biology*. 2003, roč. 330, č. 5, s. 1005-1014.

TODAR, K. Bacterial Resistance to Antibiotics. *The Microbial World*. 2009

TOLEDO-PEREYRA, L. H. Joseph Lister's Surgical Revolution. *Journal of Investigative Surgery: the official journal of the Academy of Surgical Research*. 2010, roč. 23, č. 5, s. 241-243. ISSN 0894-1939.

TOTH, M., VAKULENKO, S. B., SMITH, C. A. Purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of the aminoglycoside-6'-acetyltransferase AAC (6')-Im. *Acta crystallographica. Section F, Structural biology and crystallization communications*. 2012, roč. 68, č. 4, s. 472-475. ISSN 1744-3091.

TURNIDGE, J., PATERSON, D. L.. Setting and Revising Antibacterial Susceptibility Breakpoints. *Clinical Microbiology reviews*. 2007, roč. 20, č. 3, s. 391-408. ISSN 0893-8512.

URBÁŠKOVÁ, P. Antibiotika a antibiotická rezistence z hlediska mikrobiologa. *Remedia*. 2001, č. 3, s. 170-176.

URBÁŠKOVÁ, P. Srovnání účinnosti cefotaximu, chloramphenicolu, tetracyclinu, erythromycinu, clindamycinu, co-trimoxazolu, rifampicinu, ciprofloxacinu a levofloxacinu u kmenů *Streptococcus pneumoniae*, citlivých a rezistentních k penicilinu. *Remedia*. 2003, roč. 13, č. 3, s. 209-214.

VALDIVIESO-GARCÍA, A., IMGRUND, R., DECKERT, A., VARUGHESE, B. M., HARRIS, K., BUNIMOV, N., REID-SMITH, R., MCEWEN, S. Cost analysis and antimicrobial susceptibility testing comparing the E test and the agar dilution method in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2009, roč. 65, č. 2, s. 168-174. ISSN 0732-8893.

VÉGH, V. Rifaximin v prevenci a léčbě cestovatelských průjmů. *Gastroenterologie, Edukafarm*. 2008.

VOTAVA, M. *Lékařská mikrobiologie obecná. 2.*, přepracované vydání Brno: Neptun, 2005, 351 s. ISBN 80-868-5000-5.

VOTAVA, M. *Lékařská mikrobiologie - vyšetřovací metody*. Brno: Neptun, c2010, 495 s. ISBN 978-80-86850-04-7.

WAKSMAN, S. A., SCHATZ, A., REYNOLDS, D. M.. Production of antibiotic substances by Actinomycetes. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2010, roč. 1213, č. 1, s. 112-124. ISSN 0077-8923.

WAKSMAN, S. A., TISHLER, M. The chemical nature of aktinomycin, an anti-microbial substance produced by *Actinomyces antibioticus*. *The Journal of Biological Chemistry*. 1942, roč. 142, s. 519-528.

WEIGEL, LM., ANDERSON, GJ., TENOVER, FC. DNA gyrase and topoisomerase IV mutations associated with fluoroquinolone resistance in *Proteus mirabilis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2002, roč. 46, č. 8. ISSN 0066-4804.

WILKE, M. S, LOVERING, A. L, STRYNADKA, N. CJ. Beta-Lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. *Current Opinion in Microbiology*. 2005, roč. 8, č. 5, s. 525-533. ISSN 1369-5274.

WILSON, D. M., SIMEONOV, A. Small molecule inhibitors of DNA repair nuclease activities of APE1. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2010, roč. 67, č. 21, s. 3621-3631. ISSN 1420-682x.

ZAKERI, B., WRIGHT, G. D. Chemical biology of tetracycline antibiotics. *Biochemistry and cell biology = Biochimie et biologie cellulaire*. 2008, roč. 86, č. 2, s. 124-136. ISSN 0829-8211

ZAPANTIS, A., LACY, M. K., HORVAT, R. T., GRAUER, D., BARNES, B. J., O'NEAL, B., COULDRY, R. Nationwide Antibigram Analysis Using NCCLS M39-A Guidelines. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005, roč. 43, č. 6, s. 2629-2634. ISSN 0095-1137.

INTERNETOVÉ ZDROJE

Obr. č. 1: <http://www.nobelprize.org/> [19. 6. 2012] – Paul Ehrlich, Alexander Fleming, Selman Abraham Waksman

Obr. č. 2: <http://www.sigmaaldrich.com/> [26. 6. 2012] – Struktura penicilinu

Obr. č. 3: <http://www2.bc.cc.ca.us/> [9. 7. 2012] - Mechanismy účinku antibiotik

Obr. č. 4: <http://www.betalaktamazy.cz> [18. 6. 2012] – Struktura buněčné stěny gram-pozitivních a gram-negativních bakterií

Obr. č. 5: <http://forum.crtdb.com/> [27. 6. 2012] – Schéma proteosyntézy

Obr. č. 6: <http://www.scfbio-iitd.res.in/tutorial/gene.html> [30. 7. 2012] - Struktura nukleotidu

Obr. č. 7: <http://inf3.lf1.cuni.cz/> [19. 6. 2012] – Amidy sulfonových kyselin

Obr. č. 8: <http://old.lf3.cuni.cz/> [18. 7. 2012] – Mikrodiluční metoda

Obr. č. 9: <http://classes.midlandstech.edu/> [13. 7. 2012] – Vzhled inhibiční zóny u E-testu

Obr. č. 10: <http://old.lf3.cuni.cz/> [19. 6. 2012] – Disková difúzní metoda

Obr. č. 11: <http://www.szu.cz/> [19. 6. 2012] – Inhibiční zóny u diskového difúzního testu

Obr. č. 12: <http://www.pronatal.cz/> [19. 6. 2012] – Delece chromozomu