



**ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE**  

---

**FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ**  
**Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva**

**Surveillance rezistence *Neisseria gonorrhoeae*  
na antibiotiká**

**Sureveillance of *Neisseria gonorrhoeae*  
antimicrobial resistance**

Bakalářská práce

Studijní program: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví

Autor bakalářské práce: Klaudia Záhorová

Vedoucí bakalářské práce: MUDr. Hana Zákoucká

---

**Kladno 2022**



# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

## I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Záhorová** Jméno: **Klaudia** Osobní číslo: **465768**  
Fakulta: **Fakulta biomedicínského inženýrství**  
Garantující katedra: **Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva**  
Studijní program: **Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví**

## II. ÚDAJE K BAKALÁŘSKÉ PRÁCI

Název bakalářské práce:

**Surveillance rezistence Neisseria gonorrhoeae na antibiotiká**

Název bakalářské práce anglicky:

**Sureveillance of Antimicrobial Resistance of Neisseria Gonorrhoeae**

Pokyny pro vypracování:

V rámci bakalářské práce bude provedena rešerše aktuálního stavu problematiky v ČR, v Evropě a ve světě. U vzorků *Neisseria gonorrhoeae* archivovaných na oddělení STI Státního zdravotního ústavu bude provedeno vyšetření citlivosti na vybraná antibiotika (podle doporučení ECDC) metodou E-test, případně MIC nebo breakpoint agarovou dilucí. Teoretická část bude zaměřena na morfologický popis *Neisserie gonorrhoeae*, její metabolismus, patogenitu a klinický obraz onemocnění. Dále na antibiotika, hlavně vybrané druhy, která jsou používána k léčbě kapavky. Součástí práce budou teoretická východiska diagnostických laboratorních metod, metod k testování antibiotické citlivosti u *Neisseria gonorrhoeae*. V praktické části budou porovnána vlastní data citlivosti k antibiotikům doplněná o data z podobných výzkumů.

Seznam doporučené literatury:

- [1] BENEŠ, Jiří, Antibiotika: systematika, vlastnosti, použití, ed. 1, Grada Publishing, 2018, ISBN 978-80-271-0636-3
- [2] QUILLIN, Sarah Jane a H Steven SEIFERT, *Neisseria gonorrhoeae* host adaptation and pathogenesis, Nature Reviews Microbiology, ročník 16, číslo 4, 2018, ISSN 1740-1526
- [3] RESL, Vladimír, áklady depistáže a organizace venerologické práce: sexuálně přenosné infekce (STI), ed. 1, Západočeská univerzita v Plzni, 2019, ISBN 978-80-7071-387-7

Jméno a příjmení vedoucí(ho) bakalářské práce:

**MUDr. Hana Zákoucká**

Jméno a příjmení konzultanta(ky) bakalářské práce:

**MUDr. Daniela Obitková**

Datum zadání bakalářské práce: **20.09.2021**

Platnost zadání bakalářské práce: **22.09.2023**

doc. Mgr. Zdeněk Hon, Ph.D.  
vedoucí katedry

prof. MUDr. Jozef Rosina, Ph.D., MBA  
děkan

## **PROHLÁŠENÍ**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem *Surveillance rezistence Neisseria gonorrhoeae* k antibiotikům vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů, které uvádím v seznamu bibliografických odkazů.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

V Kladně dne 10.05.2022

.....  
Kludia Záhorová

## **PODĚKOVÁNÍ**

Chtěla bych poděkovat hlavně vedoucí bakalářské práce, paní MUDr. Haně Zákoucké a konzultantce paní MUDr. Daniele Obitkové, za trpělivost a ochotu při každé konzultaci. Dále bych chtěla poděkovat pracovníkům Národní referenční laboratoře pro antibiotika Státního zdravotního ústavu, kteří mi poskytli velkou pomoc při vypracování praktické části a jej hodnocení.

## **ABSTRAKT**

Literární rešerše shrnuje základní vlastnosti antibiotik, jejich rozdělení a charakteristiku, hlavně vybraných skupin používaných v minulosti a současnosti k léčbě kapavky. Dále následuje morfologický popis *Neisserie gonorrhoeae* a její vývoj antibiotické rezistence, která se stává celosvětovým problémem. V rámci těchto kapitol je popsána i kapavka, její klinický průběh s možnými následky a současnou používanou léčbou. Součástí práce jsou teoreticky popsané laboratorní metody využívané na detekci *Neisserie gonorrhoeae* a k posouzení citlivosti k antibiotikům.

Náplní praktické části je porovnání citlivosti kmenů *Neisserie gonorrhoeae* k 6 vybraným antibiotikům, archivovaným ve Státním zdravotním ústavu. Vzorky byly zaslány ze spolupracujících českých pracovišť v rámci plošné studie Surveillance antibiotické rezistence. Postup se bude držet doporučení Evropského centra pro prevenci a kontrolu infekčních chorob (ECDC). Mezi testovanými vzorky byly kmeny rezistentní na azitromycin a ciprofloxacin. Práce také zkoumala souvislost mezi rezistencí, lokalizací infekce a sexuální orientací pacientů.

Výskyt rezistentních kmenů byl zaznamenán jak u heterosexuálů, tak i u mužů majících sex s muži (MSM). Větší procentuální zastoupení rezistencí se však objevilo u MSM s výskytem genitální infekce.

## **Klíčová slova**

Antibiotická rezistence; surveillance program; *Neisseria gonorrhoeae*; antibiotika; E-test; kapavka.

## **ABSTRACT**

The literature review summarizes the basic properties of antibiotics, their division and characteristics, especially of particular groups used nowadays and in the past for the treatment of gonorrhoea. Following part is focused on the morphological description of *Neisseria gonorrhoeae* and its development of antibiotic resistance, which is becoming a worldwide problem. Gonorrhoea, its clinical symptoms with possible after-effects and current treatment are also described within the chapters. The theoretical part also includes description of laboratory methods used to detect *Neisseria gonorrhoeae* and to assess its antimicrobial resistance.

The practical part is dealing with a comparison of the *Neisseria gonorrhoeae* resistance to 6 selected antibiotics, archived in the National Institute of Public Health. The samples were sent from the cooperating Czech institutes within the framework of a nationwide antibiotic resistance surveillance study. The laboratory part will follow the recommendations of the European Centre for the Prevention and Control of Infectious Diseases (ECDC). Among the tested samples, the samples were azithromycin and ciprofloxacin resistant.

The result shows relation between resistance and place of infection. Resistant strains were discovered in heterosexual and men who have sex with men (MSM). The bigger number of resistance appeared in group MSM with genital infection.

## **Keywords**

Antimicrobial resistance; Surveillance program; *Neisseria gonorrhoeae*; E-test; gonorrhoea

## Obsah

1	Úvod.....	11
2	Cíle práce .....	12
3	Přehled současného stavu.....	13
3.1	Antibiotika .....	13
3.1.1	Mechanismus účinku.....	13
3.1.2	Klasifikace antibiotik .....	14
3.2	Antibiotická rezistence.....	21
3.2.1	Přirozená rezistence .....	21
3.2.2	Získaná rezistence .....	21
3.2.3	Přenos rezistence .....	23
3.3	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> .....	24
3.3.1	Morfologie.....	24
3.3.2	Faktory virulence .....	24
3.3.3	Mechanismus průniku <i>N.gonorrhoeae</i> do organismu.....	26
3.3.4	Interakce <i>N.gonorrhoeae</i> s imunitním systémem hostitele.....	27
3.4	Antibiotická rezistence <i>N.gonorrhoeae</i> .....	29
3.4.1	Vývoj antibiotické rezistence .....	30
3.4.2	Aktuální léčba kapavky a její vliv na rezistenci <i>N.gonorrhoeae</i> .....	35
3.5	Kapavka .....	36
3.5.1	Klinické projevy .....	37
3.5.2	Urogenitální kapavka u mužů .....	37
3.5.3	Urogenitální kapavka u žen.....	38
3.5.4	Extraurogenitální kapavka .....	39

3.5.5	Diseminovaná gonokoková infekce .....	39
3.5.6	Infekce způsobené <i>N.gonorrhoeae</i> u gravidních žen, novorozenců a dětí .....	39
3.6	Laboratorní diagnostika <i>N.gonorrhoeae</i> .....	40
3.6.1	Odběr biologického materiálu .....	41
3.6.2	Kultivace <i>N.gonorrhoeae</i> .....	41
3.6.3	Mikroskopické vyšetření .....	42
3.6.4	Molekulární diagnostické metody .....	42
3.7	Laboratorní stanovení citlivosti <i>N.gonorrhoeae</i> na ATB .....	44
3.7.1	Diskový difuzní test .....	45
3.7.2	E-test .....	45
3.7.3	Minimální inhibiční koncentrace – MIC .....	45
3.7.4	Průkaz produkce $\beta$ -laktamáz .....	46
4	Metodika .....	47
4.1	Technické vybavení a materiál .....	48
4.2	Očkování agaru .....	48
4.3	Stanovení antibiotické citlivosti .....	49
4.3.1	E-test .....	49
4.3.2	Stanovení produkce $\beta$ -laktamáz .....	51
5	Výsledky .....	52
5.1	Rozdělení vzorků <i>N.gonorrhoeae</i> dle věku a pohlaví .....	52
5.2	Přehled použitých vzorků podle národnosti infikovaných osob .....	54
5.3	Přehled testovaných vzorků dle místa infekce .....	55
5.4	Přehled citlivosti vzorků na antibiotika .....	56



5.5	Přehled citlivosti vzorků na antibiotika dle místa infekce a sexuální orientace .....	57
5.6	Přehled přidružených a předešlých STI .....	61
5.7	Přehled antibiotické léčby .....	65
6	Diskuze.....	66
7	Závěr .....	72
8	Seznam použitých zkratk.....	73
9	Seznam použité literatury .....	76
10	Seznam použitých obrázků .....	81
11	Seznam použitých tabulek.....	82

# 1 ÚVOD

*Neisserie gonorrhoeae* způsobující pohlavně přenosné onemocnění – kapavku, je už od starověku výhradně lidský patogen. Průběhem staletí si vyvinula faktory virulence a po začátku antibiotické éry, i různé mechanismy rezistence. Bakterie postupně vyvinula rezistenci na penicilin a dále na většinu běžně používaných antibiotik. V současné době zůstávají poslední možností léčby cefalosporiny (cefixim, ceftriaxon) a azitromycin.

Od nárůstu hlášených antibiotických rezistencí se Evropské centrum pro prevenci a kontrolu infekčních chorob (ECDC), rozhodlo založit projekt EURO-GASP, zabývající se výzkumem a kontrolou antibiotické rezistence. Součástí projektu je i Česká republika, která sbíráním, archivací a vyšetřováním rezistence vzorků ve Státním zdravotním ústavu (SZU) přispívá k surveillance antibiotické rezistence *Neisserie gonorrhoeae*.

Vyšetřování rezistence se řídí doporučenými postupy ECDC. Zpracovává se souvislost mezi rezistencí na určité typy antibiotik a mezi pohlavím, způsobem přenosu infekce a místem infekce. Dalším důležitým faktorem jsou též přidružené infekce, které mohou ovlivnit vývoj rezistence.

Všechny známé údaje, které se v rámci projektu získávají, napomáhají nejen v oblasti prevence, ale i probíhajícímu výzkumu gonokokových vakcín. Je důležité, aby se předešlo nárůstu nakažených osob a s tím souvisejícím vývojem nových mechanismů rezistence. Multirezistentní kmeny *N. gonorrhoeae* by mohly znamenat v podstatě nevléčitelnou kapavku.

## 2 CÍLE PRÁCE

Cílem teoretické části je shrnutí poznatků o antibioticích a bakterii *Neisseria gonorrhoeae*, zejména její vzrůstající antibiotické rezistenci. Bude popsána morfologie, faktory virulence, průnik do organismu a interakce s hostitelským imunitním systémem, což souvisí s klinickým obrazem kapavky.

Hlavním cílem práce bude popis rozvoje rezistence k antibiotikům u gonokoků, vyšetřením citlivosti na vybraná antibiotika metodou E-test. Dílčím cílem bude výsledný rozbor výsledků znázorněných v grafech, které budou porovnávat zkoumané souvislosti rezistence a pohlaví, sexuální orientace nakažené osoby, místa nákazy a dalších faktorů.

## 3 PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU

### 3.1 Antibiotika

Antibiotika jsou antimikrobní látky, které mohou být přirozeného nebo umělého původu. Jako přirozený produkt jsou tvořené převážně plísněmi nebo bakteriemi a slouží jim na obranu nebo komunikaci s ostatními organismy. Po chemické stránce, se jedná o různorodé sloučeniny, které selektivně poškozují struktury nebo metabolismus prokaryotních buněk s minimálními účinkem na buňky eukaryotické (Beneš 2018).

#### 3.1.1 Mechanismus účinku

Ve farmakologii existuje velký počet variací antibiotik, které se liší podle velikosti molekul a též chemickou stavbou. Od těchto vlastností se také odvíjejí mechanismy účinku antibiotika na cílovou strukturu. Cílová struktura je místo v buňce, kde se podaný lék váže a zabrání některé funkci bakteriální buňky. Antibiotikum může účinkovat na buněčnou stěnu, ovlivnit syntézu bílkovin, DNA, kyseliny listové nebo i RNA polymerázu a tím inhibovat jejich funkci (Schindler 2014).

Podle mechanismu, jakým antibiotikum působí a poškozuje cílovou strukturu rozlišujeme baktericidní a bakteriostatický účinek. Baktericidní účinek způsobuje degradaci bakterie a bakteriostatický jenom zpomalí nebo zastaví množení bakterie. Parametry vyjadřující účinnost antibiotik jsou:

- 1) Minimální antibakteriální koncentrace (MAC)
  - nejnižší koncentrace antibiotika, která je potřebná na změnu morfologie nebo metabolismu bakterie, aby došlo ke zpomalení infekce, například ovlivnění adheze k buňkám;
- 2) Minimální inhibiční koncentrace (MIC)
  - MIC je nejnižší koncentrace antibiotika, která je potřebná k zastavení růstu kolonií a v praxi se používá jako jediný ukazatel k určení účinnosti antibiotik;

### 3) Minimální baktericidní koncentrace (MBC).

- nejnižší koncentrace antibiotik, která usmrtí bakterie a podobně jako MAC, se v běžné praxi, kvůli náročnosti nepoužívá;

Jelikož jsou některé bakterie citlivější a jiné naopak odolnější je obtížné stanovit hranici mezi bakteriocidním a bakteriostatickým účinkem. Bakteriocidní schopnost antibiotika není absolutní. Vybrané typy baktericidních antibiotik mohou působit na odolné bakterie pouze jako bakteriostatická. Vzhledem k tomuto faktu byla stanovena arbitrární hranice, která udává teoretickou hodnotu, kdy by antibiotikum mělo být baktericidní, nebo bakteriostatické vzhledem ke konkrétní bakterii. Hranice se stanovila podle hodnoty minimální inhibiční koncentrace (MIC), která je charakterizovaná jako minimální koncentrace antibiotika potřebná na zastavení růstu populace bakterií. Za baktericidní jsou považována antibiotika, kterým při dosažení baktericidního účinku potřebují koncentraci v organismu maximálně 2 až 4krát vyšší, než je MIC. Nenastane tak obvykle problém s jejich toxicitou pro makroorganismus. Naopak, pokud musí být minimální koncentrace antibiotika na hranici snášenlivosti přípravku pro organismus, což je většinou o mnoho vyšší koncentrace než MIC, antibiotikum označujeme za bakteriostatické (Beneš 2018; Schindler 2014).

#### 3.1.2 Klasifikace antibiotik

Existuje více způsobů, jak dělit antibiotika. Dle základních schémat můžeme antibiotika dělit podle chemické struktury a podle mechanismu účinku (Beneš 2018).

##### 3.1.2.1 Dělení antibiotik na základě chemické struktury

Podle chemické struktury dělíme antibiotika na: peniciliny, cefalosporiny, karbapenemy, monobaktamy, flurochinolony, aminoglykosidy, glykopeptidy a lipoglykopeptidy, makrolidy, inkosamidy s streptograminy; tetracyklíny, oxazolidinony; sulfoamidy, ketolidy, ,glycinglyciny a makrocyclická antibiotika. Od objevení antibiotik se stále přidávají nové skupiny, které jsou více či méně podobné účinkem a mechanismem působení. Potřeba objevu nových antibiotik souvisí ve velké míře s antibiotickou rezistencí. Jednou z mnoha bakterií, která si rozvinula multirezistenci na níže uvedená antibiotika je *Neisseria gonorrhoeae* (Etebu a Arikekpar 2016).

## 1) Beta-laktamová antibiotika

Společná struktura  $\beta$ -laktamových antibiotik je 3-uhlíkový a 1-nitrogenový kruh, taktéž nazývaný čtyřčlenný  $\beta$ -laktamový kruh, který způsobuje jejich vysokou reaktivitu. Navázáním na speciální penicilin-binding proteins (PBP) inaktivuje enzymy, které jsou potřebné na výstavbu a úpravu peptidoglykanu, např. transpeptidázy. Do této skupiny patří penicilíny, cefalosporiny, karbapenemy a monobaktamy (Etebu a Ariekpar 2016).

Antibiotika z řady  $\beta$ -laktamů se využívají hlavně při akutních infekcích a jich výhodou je použití u velkého spektra pacientů například gravidních žen, novorozenců i seniorů. Výhodou použití je selektivní zásah molekul antibiotika do metabolismu peptidoglykanu, který se přirozeně v lidském těle nevyskytuje.  $\beta$ -laktamy jsou tudíž netoxické a jejich vedlejší účinky jsou mírné a nespecifické. Výjimkou je podávání dávky v řádech desítek gramů na den, kdy se  $\beta$ -laktamy mohou vázat na receptory pro kyselinu  $\gamma$ -aminomáselnou (GABA – receptory) v centrální nervové soustavě a vyvolávají psychotické reakce, nebo křeče (Beneš 2018).

## 2) Makrolidy, azalidy a ketolidy

Makrolidová antibiotika jsou tvořena 14–16členným laktonovým kruhem, na kterém jsou ve dvou místech připojeny glykosidickou vazbou molekuly sacharidu. Podle úpravy a počtu postranních skupin laktonového kruhu, mají jednotlivá antibiotika patřící do této skupiny, rozdílný účinek. Mechanismus účinku spočívá v inhibici proteosyntézy. Naváží se na bakteriální ribozomální podjednotku 50 S a zabrání syntéze peptidového řetězce a následně způsobí předčasné uvolnění transferové ribonukleové kyseliny (tRNA). Do této skupiny patří hlavně klaritromycin, roxitromycin, spiramycin, azitromycin a telitromycin. (Schindler 2014; Etebu a Ariekpar 2016).

Využití makrolidových antibiotik je velice významné hlavně u atypických bakterií, např. mykoplasmata, chlamydie. Taktéž jsou velice účinné na kultivačně náročné gramnegativní bakterie, např. *Bordetella* a *Legionella* (Schindler 2014; Etebu a Ariekpar 2016).

### 3) Tetracykliny

Tetracykliny jsou základní širokospektrá, bakteriostatická antibiotika. Jejich jádro je tvořené čtyřmi lineárními aromatickými kruhy. Dělí se podle metody syntézy na tzv. generace. Tetracykliny, které byly vytvořené biosyntézou, jsou tetracykliny první generace. Jako semisyntetické se označují tetracykliny druhé generace a do třetí generace patří tetracykliny vyrobené synteticky (Etebu a Arikekpar 2016).

Mechanismus účinku spočívá v zabránění přístupu tRNA na ribozomální podjednotku 30 S zablokováním místa A. Jejich akumulace v buňce je závislá na typu transportu, který nebyl prokázán v eukaryotické buňce, a proto je eukaryotická buňka odolná. Základní zástupce tetracyklinových antibiotik shrnuje tabulka 1 (Beneš 2018; Etebu a Arikekpar 2016).

*Tabulka 1- Rozdělení tetracyklinů a příklady antibiotických přípravků*

<b>Podskupina tetracyklinů</b>	<b>Název antibiotika</b>
1.generace	Oxytetracyklin,tetracyklin
2.generace	Doxycyklin
3.generace	Tigecyklin

Tetracykliny 1. a 2.generace účinkují na gram pozitivní a negativní bakterie, ale i na některá mykoplazmata a parazity. Jediné antibiotikum používané z 3.generace je Tigecyklin a je používané pro léčbu řady infekcí způsobených bakteriemi, které si vyvinuli rezistenci na 1. a 2.generaci (Beneš 2018).

### 4) Chinolony

Chinolony jsou antibiotika tvořená odvozením od kyseliny 4-chinolon-3-karboxylové. Základním antibiotikem této skupiny je kyselina nalidixová, která se pak různými úpravami začala synteticky vyrábět v nových a účinnějších formách. Jednou z mnoha úprav bylo přidání fluoru do základní struktury, čímž vznikly fluorochinolony. (Bush et al. 2020)

Fluorochinolony jsou samostatná skupina antibiotik, kterým přidání fluoru na pozici 6. uhlíku, zvýšilo antibakteriální účinek. Mechanismus účinku spočívá v inhibici dvou druhů topoisomerázy II. (gyráza) a topoisomeráza IV. Důležitost správné funkce enzymů ovlivňuje zejména celý průběh transkripce (Beneš 2018; Bush et.al. 2020).

Topoisomeráza, známá též jako gyráza zabezpečuje svinutí molekuly DNA do superšroubovice a topoisomeráza IV zabezpečuje oddělení dceřiného vlákna od mateřského při transkripci. Zablokování enzymu vede k baktericidnímu účinku antibiotika (Beneš 2018; Bush et.al. 2020).

Podle úprav struktury se dělí na generace podobně jako u skupiny tetracyklinových antibiotik, na základě chemické struktury a vztahu reaktivity po navázání funkčních skupin. Spektrum účinku záleží na generaci jednotlivých přípravků, primárně jsou zaměřeny vůči gramnegativním bakteriím. Jejich rozdělení s příklady je uvedené v tabulce č.2 (Beneš 2018; Bush et.al. 2020).

*Tabulka 2- Rozdělení chinolonových antibiotik a příklad nejvýznamnějších přípravků*

Typ	Příklad antibiotika	Bakteriální účinek
1.generace	Non-fluorované: kyselina nalidixová  Fluorované: flumechin	<i>Ecterobakterie, neisserie</i>
2.generace	Ciprofloxacin, norfloxacin	<i>Chlamydie, mykoplazmata, mykobakterie</i>
3.generace	Moxifloxacin, delafloxacin	Gram pozitivní bakterie

### 3.1.2.2 Dělení antibiotik na základě působení

#### 1) Působení na buněčnou stenu bakterii

Základní stavbou stěny bakterií, ať již gram pozitivní nebo gram negativní je peptidoglykan. Peptidoglykan je polymer, který se skládá z N-acetyl-glukosaminu (NAG) a kyseliny N-acetylmuramové (NAMA). Základní funkce spočívá v udržování tvaru buňky a zabránění jejímu rozpínání (Beneš 2018).



Vnitřní prostor buňky je hyperosmolární vůči okolnímu prostředí a samotná buněčná membrána není schopná zadržet velké molekuly, které by způsobili lýzu bakterie. Na syntéze peptidoglykanu se podílejí různé enzymy, které spojují molekuly NAG a NAMA do vláken a posléze do pevné sítě (Beneš 2018).

Pro zajištění nepropustnosti peptidoglykanu, musí jeho molekuly tvořit pevnou a pravidelnou síť. Antibiotikum, které působí na buněčnou stěnu bakterie, zablokuje enzymy potřebné pro syntézu peptidoglykanu a tím nevznikne plně funkční polymer. Velké molekuly nejsou zadrženy, můžou přecházet do buňky a nastává lýza bakterie. Do této skupiny patří antibiotika ze skupiny  $\beta$ -laktamátů (peniciliny, karbapenam, oxapenam, karbapenam, oxapenam, cefalosporiny, karbacefem, moxalaktam) (Beneš 2018).

## **2) Působení na buněčnou membránu**

Obal bakterii je tvořen bakteriální stěnou, pod kterou se nachází cytoplazmatická membrána. U gram negativních bakterií se nachází vnitřní i vnější membrána, mezi kterými je uložený peptidoglykan. Gram pozitivní bakterie mají jenom jednu membránu, která je uložena pod peptidoglykanem a je tvořená lipidovou dvouvrstvou. (Egan 2018).

V bakteriální membráně dochází k buněčnému dýchání a je místem kde je soustředěna tvorba adenozintrifosfátu (ATP). Antibiotika, která působí na bakteriální membránu, poškozují její morfologickou strukturu nebo metabolickou funkci. Proto účinek antibiotik je fatálnější pro aerobní bakterie, než pro anaerobní. Podle stavby antibiotika existuje více účinků na bakteriální membránu. Jestliže má antibiotikum jeden konec hydrofilní nebo hydrofobní, působí jako detergent a antibiotika, která obsahují větší množství aminoskupin působí jako polykationty způsobující rozpad vnější membrány buňky. Tyto účinky se označují poškození morfologie. Účinek na metabolismus mají antibiotika, která vytváří v cytoplazmatické membráně póry nebo kanálky, tím dochází k porušení elektrochemického gradientu buňky a porušení tvorby ATP. Při ztrátě funkce membrány, mají antibiotika rychlejší účinek na bakterie v klidovém stavu i aktivním stavu. Do této skupiny patří antibiotika ze skupiny cyklických lipopeptidů, peptidová antibiotika a aminoglykosidy (Beneš 2018).

### 3) Inhibitory funkce nukleové kyseliny

Nukleové kyseliny jsou lineární polymery. Hlavní funkcí nukleových kyselin je uchovávání a přenos genetické informace. Základní jednotkou nukleových kyselin jsou purinové báze, fragmenty kyseliny trifosforečné a cukerné složky. Cukerná složka může být tvořena  $\beta$ -D-ribózou nebo  $\beta$ -D-2-deoxyribózou. Na základě čehož rozlišujeme DNA (deoxyribonukleová kyselina) a RNA (ribonukleová kyselina). V buňkách se genetická informace uchovává ve formě DNA, ale podle dogmatu molekulární biologie je RNA důležitá především z hlediska přenosu genetické informace a má také enzymatické funkce, které jsou patrně na ribozomech (Beneš 2018; Kodíček et al. 2015).

DNA bakteriální buňky je těsně svinutá do super šroubovice, která zaujímá uvnitř buňky co nejmenší objem. Takto uložená DNA není použitelná pro replikaci a transkripci, a proto se pomocí speciální skupiny enzymů nazývaných topoisomerázy, super šroubovice rozvíjí, čímž se zahajuje proces replikace (Beneš 2018).

Skupina topoisomeráz obsahuje enzymy očíslované od I – IV. Mezi nejznámější topoisomerázy, patří topoisomeráza I, ta nepřímou spojuje a povoluje jedno vlákno DNA. Během tohoto procesu sbaluje či rozbaluje super šroubovici. Na rozdíl od topoisomerázy II, která rozplétá dvě spojené molekuly DNA. Všechny procesy doplňuje topoisomeráza IV, která povoluje torzní napětí a vyrovnává pnutí mezi jejími úseky. Podle inhibice výše popsaných dějů, rozlišujeme antibiotika z této skupiny na inhibitory topoisomeráz a inhibitory RNA-polymerázy (Beneš 2018; Kodíček et al. 2015).

### 4) Inhibitory syntézy bílkovin

Proteiny jsou jedny z nejdůležitějších sloučenin tvořících buňku. Jejich tvorba probíhá v procesu translace, a jedná se proces, který následuje po výše zmíněné replikaci a transkripci. Důležitou součástí procesu transkripce je ribozom, který se skládá z ribozomální RNA (rRNA). Jednotlivé typy rRNA tvoří dvě podjednotky malou a velkou. Na malou podjednotku ribozomu se váže vznikající řetězec mRNA a na velkou podjednotku se naváže tRNA s aminokyselinou (Etebu a Ariekpar 2016; Kodíček et al. 2015).

Následně se podle trojice bazí, tzv. kodonu napojují příslušné aminokyseliny, až do chvíle, kdy dorazí ke stop kodonu způsobujícího navázání molekuly vody místo aminokyseliny. Po oddělení vzniklého proteinu se velká a malá ribozomální podjednotka rozdělí a tím proces translace končí (Etebu a Ariekpar 2016; Kodíček et al. 2015).

Vzniklé proteiny jsou velmi důležité pro metabolismus a další vitální procesy v bakteriální buňce. Jakékoliv porušení procesu syntézy proteinů, vede rozvratu metabolismu bakteriální buňky a ukončení jejího růstu, případně až bakteriolyze. Antibiotika, která inhibují proteosyntézu se dělí na dvě podtřídy, podle inhibice malé nebo velké podjednotky ribozomu. Inhibitory velké podjednotky zabraňují navázání aminokyseliny na již syntetizovaný řetězec. Naopak inhibitory malé podjednotky zabraňují navázání aminoacyl-tRNA na ribozom (Etebu a Ariekpar 2016).

I když do skupiny inhibitorů ribozomů patří antibiotika hlavně bakteriostatická, některá mají i baktericidní účinek. Mezi bakteriostatická patří hlavně erytromycin a klindamycin. Do této skupiny patří i chloramfenikol, který může mít na vybrané bakterie i baktericidní účinek (Beneš 2018; Etebu a Ariekpar 2016).

## **5) Antibiotika inhibující jednotlivé metabolické dráhy**

Metabolické dráhy bakterii se liší od metabolických drah eukaryotických buněk, a proto antibiotika která je blokují, nejméně poškozují ostatní buňky organismu. Existuje celá řada účinků na metabolismus bakterii, ale nejpoužívanější jsou inhibitory syntézy kyseliny listové (Etebu a Ariekpar 2016).

Kyselina listová je důležitá zejména při syntéze kyseliny tetrahydrolystové. Bez ní by nebylo možné uskutečnit metabolické procesy degradace nebo biosyntéza některých aminokyselin a syntézu energetických substrátů jako například ATP. Mechanismus spočívá v napodobení části kyseliny listové. Dochází k navázání substrátu na enzymy místo kyseliny listové. Funkce kyseliny listové v metabolismu je tak inhibována (Beneš 2018).

Mezi nejdůležitější zástupce patří antibiotika z řady sulfonamidů, sulfonů, diaminopyrimidiny a kotrimoxazol (Etebu a Ariekpar 2016).

## **3.2 Antibiotická rezistence**

Antibiotická rezistence je odolnost bakterie vůči účinku antibiotik a v dnešní době je celosvětový problém. Po staletí se musely bakterie stejně jako lidé vyvíjet a přizpůsobovat se okolnímu prostředí. Po objevení antibiotik a jejich používání k léčbě si vůči nim vyvinuly bakterie rezistenci. Během zkoumání účinků antibiotik, jako nové léčebné látky si bakterie vyvinuly rezistenci získanou, nebo naopak mohla být už předem daná, přirozená. Hlavním cílem bakterií je co nejrychlejší množení bez vydávání nadbytečné energie. Při udržení rezistence, je generační čas výrazně prodloužený. Úspora energie není jednoduchá, obzvláště v případech, kdy chce bakterie získanou vlastnost rezistence geneticky přenést do dalších generací. Znamená to vyvíjení nadbytečné energie na replikaci upraveného genomu a tím zvýšení energetické náročnosti nebo využití méně výhodných metabolických drah (Beneš 2018; Schindler 2014).

### **3.2.1 Přirozená rezistence**

Přirozená rezistence takzvaná inherentní je absence cílové struktury vůči danému antibiotiku, tudíž se nemájak aktivovat nebo navázat. Vyplývá ze struktury nebo metabolismu a její charakteristika spočívá v rezistenci celého druhu na jedno nebo více antibiotik (Beneš 2018; Schindler 2014).

### **3.2.2 Získaná rezistence**

Získaná rezistence je charakteristická vývojem mechanismů, které nemusí být přítomné v každé bakterii jednoho kmene. Všeobecně si bakterie vyvinuly sedm typů rezistence (Beneš 2018).

#### **1) Enzymatická inaktivace antibiotika**

Bakterie produkuje širokou škálu enzymů, které jsou schopné štěpit látky v intracelulárním i extracelulárním prostředí. Některé enzymy jsou schopné inaktivovat antibiotika rozštěpením molekuly, nebo navázáním acetylové nebo fosforylové skupiny. Acetylace nebo fosforylace tak způsobí znehodnocení molekuly a její účinek je nedostačující. Patří mezi nejúčinnější a nejekonomičtější způsob rezistence, který neporušuje ve velké míře zdatnost (fitness) bakterie (Beneš 2018).

## **2) Zábřana přístupu antibiotika k cílovému místu**

Mechanismus zábrany přístupu je využíváný převážně gramnegativními bakteriemi. Zevní membrána obsahuje poriny, přes které se dostávají látky do intracelulárního prostředí. V případě detekce antibiotika, tak lze změnit genetickou variabilitu porinů, zmenšit počet anebo je úplně přestat vytvářet. Antibiotikum se nedostane do bakteriální buňky vůbec, nebo jenom v malém množství (Beneš 2018).

Po zevní membráně následuje cytoplazmatická membrána, přes kterou se látky dostávají pomocí transportních systémů. Pokud se jedná o transportní systém, který není nezbytný pro metabolismus, bakterie ho vyřadí. V opačném případě dochází k jeho útlumu (Beneš 2018).

## **3) Aktivní transport antibiotika z bakteriální buňky**

Přirozenou vlastností bakterií je přítomnost efluxních systémů. Jedná se o aktivní transport nežádoucích látek z intracelulárního do extracelulárního prostředí. Nevýhoda je jeho energetická náročnost a s tím související omezená kapacita. Účinnost je také omezena z důvodu, že než je molekula antibiotika vyhodnocena jako škodlivá, část se již dostane na cílové místo, které poškodí. Výhoda spočívá v přenášení vícero nezávislých molekul a tím je bakterie chráněná před účinkem většího počtu antibiotik. Nejvíce potřebné efluxní systémy bakterií se mohou horizontálně přenášet a zdokonalovat (Beneš 2018).

## **4) Zábřana aktivace antibiotika**

Antibiotika, která jsou přijímána v neaktivní formě a aktivují se působením bakteriálních enzymů mohou být inaktivována snížením produkce potřebného enzymu. Tím se účinek antibiotika sníží (Beneš 2018).

## **5) Modifikace cílového místa**

Molekuly antibiotika jsou závislé na navázání na struktury bakteriální buňky jako jsou ribozomy anebo stavební prvky bakteriální membrány. Bakterie zabrání navázání antibiotika modifikací cílových míst a cílových molekul metylací, nebo napodobením potřebné molekuly (Beneš 2018).

## **6) Náhrada zablokované metabolické dráhy**

Po napadení bakteriální buňky molekulami antibiotika a zablokování metabolické dráhy, dochází k poupravění metabolismu. Potřebné látky se získávají méně účinnou cestou, nebo je bakterie začne přijímat z okolí (Beneš 2018).

## **7) Vytvoření cílových míst v nadbytku**

Jedná se o méně energeticky výhodné mechanismy. V případě, že antibiotikum napadá enzym nebo přechází přes bakteriální membránu, se bakterie brání zvýšenou syntézou potřebných látek. Na membráně se začne syntetizovat větší vrstva peptidoglykanu, nebo se syntetizují speciální molekuly, které jsou součástí molekulární mimikry bakterie. Například antibiotikum se místo na DNA naváže na podobnou látku, která je vystavená na membráně bakterie (Beneš 2018).

### **3.2.3 Přenos rezistence**

Rezistence spočívá v upravení genetického kódu bakterie a dědí se přenosem při jejich dělení. Bakterie s takto upraveným genetickým kódem s vyšší rezistencí, prosazuje v koloniích více, čímž umožňuje potlačení slabších kmenů vlastní populace (Beneš 2018).

Dva základní procesy přenosu rezistence jsou vertikální a horizontální. Vertikální přenos znamená přenos na potomstvo při dělení bakterie. Horizontální přenos probíhá mezi buňkami již rozmnoženými. Základním mechanismem horizontálního přenosu je konjugace, transdukce a transformace. Konjugace je přímý přenos z buňky do buňky přes membránové struktury, transdukce je přenos přes bakteriofága nebo virus. Transformace je získávání DNA přímo z okolního prostředí, nejčastěji z uhynulých bakterií (Beneš 2018).

### 3.3 *Neisseria gonorrhoeae*

*Neisseria gonorrhoeae* (*N.gonorrhoeae* nebo *gonokok*) patří do rodu *Neisseria* (*Neisseria spp.*). Je to skupina různých patogenních i non-patogenních bakterií, které mohou být součástí lidské mikroflóry převážně ve orofaryngu nebo mohou způsobit závažné infekce. Kromě již zmíněné *N.gonorrhoeae*, je velice významným zástupcem rodu *Neisseria meningitidis* (*N.meningitidis* nebo *meningokok.*). Obě bakterie mají společného předchůdce, ale momentálně representují dvě odlišné linie způsobující odlišné onemocnění. *N.meningitidis* je původcem infekce horních cest dýchacích neuroinfekce meningitidy, případně sepsise a je odolnější než *N.gonorrhoeae*, dokáže přežít dlouhé měsíce bez hostitele. Přenáší se kapénkovou cestou. *N. gonorrhoeae* je původcem kapavky, která patří k nejrozšířenějším i nejstarším pohlavním chorobám. První zmínky o kapavce pocházejí již z antické doby, kde byla známa jako nemoc přenášená pohlavním stykem mezi muži a nazývaná Venušino potěšení. Ve druhém století si starověký lékař Galén všiml jejích příznaků a pojmenoval kapavku gonorrhea, což v překladu znamená tekoucí semeno. Po dlouhá století se kapavka a syfilis považovaly za stejné nemoci, až v roce 1882 byla poprvé vykultivována *N.gonorrhoeae*. Druhý objev se odehrál v roce 1963 úplným porozuměním a popsáním mechanismu patogenity a rozdílem virulence mezi jednotlivými *gonokoky* (Holmes 2007; Quilllin a Seifert 2018).

#### 3.3.1 Morfologie

Buňka bakterie je zploštěná a vytváří dvojice, které se spojují oploštěnou stranou. Takto spojené buňky se nazývají diplokoky a připomínají kávové zrno. *Gonokoky* mají Gram negativní vnější membránu s tenkou vrstvou peptidoglykanu a cytoplazmatickou membránou. Mnohé bakterie z rodu *Neisseria* obsahují polysacharidové pouzdro, které ale *N.gonorrhoeae* nemá. Proto je oproti jiným bakteriím z rodu velice náchylná na vnější vlivy (Holmes 2007).

#### 3.3.2 Faktory virulence

Bakterie *N.gonorrhoeae* si vyvinula faktory virulence, díky kterým dokáže být odolnější vůči imunitnímu systému. Došlo k vývoji specifických membránových struktur, které napomáhají adhezi ke sliznici až po tvorbu specifických enzymů. (Quilllin a Seifert 2018).

### **3.3.2.1 Pilus**

Jeden z mnoha důležitých faktorů virulence nacházejících se na vnější části membrány jsou pili. Tyto struktury jsou tvořené z jednotlivých fibril a jejich agregátů. Hlavní úlohou je adheze ke sliznici. Existuje mnoho známých variací pilů, které mají rozdílné role v patogenitě. Jsou stejně důležité při bakteriální agregaci, DNA transformaci, pohyblivosti a slouží jako ochrana před neutrofilními granulocyty. Nejdůležitější pilus IV, je dlouhý útvar připomínající vlas, připevněný na membránu bakterie. Přítomnost pilů je podmíněná geny, které se v bakterii nacházejí, ale nemusí se projevovat. U části kmenů dochází k delecí na strukturním genu a bakterii se v tomto případě pili na povrchu membrány nevytvoří. Hlavními geny, jejichž exprese podmiňuje tvorbu pilů jsou PilC1 a PilC2, které zabezpečují jejich hydrofobicitu a zlepšují adhezi ke sliznici (Holmes 2007; Ghanem 2020).

### **3.3.2.2 OPA proteiny**

Skupina OPA proteinů je tvořena 11 až 12 fenotypově i antigenně rozdílnými proteiny, které se nacházejí na vnější membráně bakterie a viditelně zvyšují opacitu kolonií. Skupině tvořící proteiny jsou termostabilní a stejně jako pili jsou podmíněné geny a jejich delece způsobuje průsvitné kolonie. Základním úkolem je napomáhat pili při adhezi na rozdílné buňky, díky tropizmu ke specifickým receptorům (Holmes 2007; Ghanem 2020).

### **3.3.2.3 Poriny**

Na povrchu se kromě OPA proteinů nacházejí i proteiny nazývané poriny. Jsou specifické a vytvářejí v membráně póry, které umožňují přechod ionů a potřebných látek pro metabolismus bakterie. PorB je nejdůležitější protein z porinů. Jeho variace jsou spojené s diseminovanou gonokokovou infekcí a jsou rezistentní vůči receptoru C3 složky komplementu (Ghanem 2020).

### **3.3.2.4 Lipooligosacharidy**

Lipooligosacharidy (LOS) jsou schopné vázat bakteriální buňku na lidské asialoglycoproteiny, nacházející se na hepatických buňkách ale hlavně na buňkách uretry a na spermích (Ghanem 2020; Goerinig et al. 2016).



Navázání způsobuje přenášení z infikovaného na zdravého jedince. Pomocí LOS vytváří bakterie molekulární mimikry, které po navázání na buňku, okamžitě brání rozpoznání imunitním systémem (Ghanem 2020; Goerinig et al. 2016).

### **3.3.2.5 Proteáza IgA**

Stejně jako ostatní enzymy ze skupiny proteáz, i proteáza IgA rozkládá vzniklé imunoglobuliny ve sliznici a tím se bakterie brání vůči imunitnímu systému hostitele. Přesný mechanismus vzniku a způsobení patogenity není zatím úplně prozkoumaný, ale předpokládá se, že je hlavním důvodem vzniku ženských infekcí po infikování *N.gonorrhoeae* (Ghanem 2020; Goering et al. 2016).

## **3.3.3 Mechanismus průniku *N.gonorrhoeae* do organismu**

### **3.3.3.1 Adherence, kolonizace, invaze**

Po průniku bakterie do organismu člověka adhezuje na slizniční povrch, díky Pilus IV. Jednotlivé bakteriální buňky se rozprostírají po povrchu tak, aby se umožnilo pokrytí nejvyššího počtu povrchových struktur epitelu a došlo k invazi a transcytóze. Po adhezi dostatečného množství bakterií se vytvářejí kolonie až biofilmy. Transcytóza způsobuje oddělování LOS, fragmentů membránových struktur, včetně fragmentů samotné membrány, které se navazují na buňky imunitního systému. Reakce spustí aktivaci zánětlivých faktorů a dochází k uvolňování cytokinů a chemokínů s následným vyplavováním neutrofilů a ostatních leukocytů do místa infekce. Příliv neutrofilů vytváří purulentní exsudát (Quillin a Seifert 2018).

Dalším důležitým faktorem virulence podílejícím se na adherenci, jsou OPA proteiny. Jejich multigenové variace zabraňují buňkám imunitního systému rozpoznat a spustit imunitní reakci. Spolu s interakcemi s karcinoembryonálním antigenem a jinými molekulami jako jsou např. heparin sulfát, napomáhají nejen adherenci, ale i následné kolonizaci sliznice (Quillin a Seifert 2018).

Kolonizace sliznice a epitelu se liší, důležitou roli v rozdílu hrají LOS. Jejich struktura je výjimečná při absenci O-antigenů, což ovlivňuje rozpoznávání bakterie imunitními buňkami. Připojení kyseliny sialové na LOS umožňuje nenavázání komplementu a tím je umožněn přenos bakterií (Quillin a Seifert 2018).

Na rozdíl od významné funkce sialylace při kolonizování sliznice, je při kolonizaci epitelu důležitá desialylace LOS. Takto upravené lipopolysacharidy jsou schopné se připojit na receptory cervikálních buněk žen a uretrálních buněk u mužů. Kromě buněk na cervixu a uretře, se navazují i na receptor lutropi-choriogonadotropního hormonu v endometriu a dochází k rozvoji DIG (Quillin a Seifert 2018).

K dokončení úplné kolonizace je důležitý metabolismus a růst bakterie. Vzhledem k odlišnosti prostředí v lidském organismu, kde dochází k infekci, není přezkoumané vyhovující prostředí potřebné pro růst a metabolismus *N.gonorrhoeae*. Laboratorní pokusy ukázaly, že glukóza, glutamin, tiamin, fosfát, železo a oxid uhličitý jsou nezbytné, proto se předpokládá, že pro získání nezbytných živin při kolonizaci musí interagovat s už přítomnými bakteriemi, nebo samotnými neutrofily. Neutrofily obsahují železo, zinek a mangan, které se po rozpadnutí transportují membránovými transportními komplexy do bakteriální buňky (Quillin a Seifert 2018).

*N.gonorrhoeae* je patogen, který infikuje urogenitální, anorektální trakt a farynx. Ve všech třech částech dochází k neustálým změnám podmínek, zejména pH a koncentrace živin jako je např. koncentrace kyslíku. Proto, aby se *N.gonorrhoeae* rozmnožovala, musí se adaptovat na měnící se podmínky prostředí. Vyvinutím transkripčních regulátorů a faktorů, které se vyvinuly v průběhu evoluce, po styku s jinými, převážně lidskými patogeny, je schopná regulovat antimikrobiální efluxní pumpy, přežít v aerobním i anaerobním prostředí a redukovat dusičnany (Quillin a Seifert 2018).

Mnoho genů v genomu *N.gonorrhoeae* je modulováno fázovou variací a ovlivňováno translací a transkripcí, vedoucím ke genové expresi. Nejvíce genových variací můžeme vidět na OPA proteinech ve změnách 11 alel opa genu a ovlivňují adheenci a stimulaci neutrofilů. Dalšími faktory jsou enzym metyltransferáza ModA13 ovlivňující expresi genů faktoru virulence a acetylase, která ovlivňuje anaerobní růst a schopnost tvořit biofilmy (Quillin a Seifert 2018).

### **3.3.4 Interakce *N.gonorrhoeae* s imunitním systémem hostitele**

Imunitní systém je základním obranným mechanismem organismu. Rozeznává molekuly na povrchu antigenů a reaguje na ně složkami vrozených anebo získaných mechanismů (Hořejší et al. 2017).

Mezi vrozené mechanismy patří buněčný systém, tvořený fagocyty a přirozenými cytotoxickými buňkami, humorální systém tvořený složkami komplementu, interferony, lektiny, sérovými proteiny a přirozenými neimunitními obrannými mechanismy. Komplement je soustava 30 sérových a membránových proteinů, které na sebe po vyvolání reakce kaskádovitě navazují a rozkládají membránu bakterie. Hlavní složkou je C3, jehož fragment C3b se váže na mikrobiální povrch. Podle zahájení reakce se komplement aktivuje buď alternativní, nebo klasickou cestou (Hořejší et al. 2017).

#### **3.3.4.1 Interakce *N.gonorrhoeae* s vrozeným imunitním systémem**

*N.gonorrhoeae* se po vniknutí do organismu střetává s nepatogenní (komezální) flórou s kterou musí soutěžit o navázání na povrch sliznice. Po adhezi vyvolá imunitní odpověď, stimulují se prozánětlivé cytokiny a chemokiny, nastává influx neutrofilů do místa infekce a vytváří se purulentní exsudát. OPA proteiny jsou schopny se díky své genetické variabilitě navázat na karcinofetální receptory a dokážou zasahovat do adheze neutrofilů, fagocytózy, oxidačního vzplanutí a dochází k přenosu živých bakterií pomocí neutrofilů v exsudátu na další místa organismu. Kromě neutrofilů se bakterie dostávají do makrofágů, ovlivňují apoptózu a produkci cytokinů, čímž zabraňují proliferaci T-lymfocytů. Pokud nedojde k navázání, neutrofilové usmrtí bakterie a nedochází k vyplavení exsudátu, což se projevuje jako asymptomatická infekce (Quillin a Seifert 2018).

Další imunitní reakci, kterou *Neisseria* vyvolává v hostiteli je vazba komplementu. To, že je výhradně lidský patogen má vysvětlení v citlivosti na zvířecí komplement, proti kterému není odolná. U lidí si vytvořila dva mechanismy, kterými reaguje na vyplavenou kaskádu proteinů. Prvním je navázání proteinu C4b na bakteriální membránu, který inaktivuje a tím se inaktivuje celá komplementová kaskáda (Price a Bash 2019; Quillin a Seifert 2018).

Základem druhého mechanismu je navázání faktoru H, který slouží k rozpoznání vlastních buněk organismu, aby nemohly být napadeny komplementem. Na epitelech se H faktor navazuje pomocí LOS a v séru se navazuje funkčně podobný faktor CD46 na pili. Bez obrany před komplementem by *Neisseria* nebyla schopná kolonizace a rozmnožování (Quillin a Seifert 2018).

### 3.3.4.2 Interakce *N.gonorrhoeae* s adaptivním imunitním systémem

Infekce způsobená *N.gonorrhoeae* nezanechává paměťovou imunitu, což znamená, že může dokázat k několikanásobným, opakovaným reinfekcím. Bakterie na sebe naváže pomocí LOS, porinů a pillus IV receptory, které vytvoří dojem, že jde o vlastní buňky a jsou schopné ovlivňovat vývoj a vyplavování buněk imunitního systému (Quillin a Seifert 2018).

Schopnost spuštění produkce interleukinu 10 (IL-10) a transformujícího růstového faktoru  $\beta$  (TGF $\beta$ ), má za následek zablokování vývoje Th1 a Th2. Dendritické buňky, které byly napadeny *Neisseiriemi*, nejsou schopné vyvolat proliferaci CD4+T buněk a tím se suprimuje rozvoj adaptivní imunity (Quillin a Seifert 2018).

Navzdory výše popsané interakci se v roce 2019, WHO rozhodlo založit výzkumnou platformu pro přípravu vakcíny. Podkladem je zjištěný pokles případů kapavky na Kubě u pacientů, kteří byli očkovaní proti meningitidě. Vakcína je založená proti vnějším membránovým vezikulám (OMV) *N.meningitidis* sérotyp B (OMV-MenB) a ukázala se v některých případech částečně účinná proti infekci způsobené *N.gonorrhoeae* (Hui, 2022; World Health Organization 2021).

Cílem WHO je vytvořit vakcínu, která by byla prevencí proti gonokokové infekci a byla by dostupná globálně pro všechny věkové skupiny. Výzkumy na myších potvrdily malý účinek upravené vakcíny OMV-MenB, což můžeme označit za malý úspěch v tzv. dlouhém běhu. Základem gonokokové vakcíny, by měla být formalinem inaktivovaná buňka *N.gonorrhoeae*, složky LOS epitopů a purifikované proteiny. Prvním cílem má být snížení vývoje antibiotické rezistence, použitím podpůrné vakcíny. Dalším, konečným cílem je vyvinutí multivakcíny pro *N.gonorrhoeae* i *N.meningitidis* (World Health Organization 2021).

## 3.4 Antibiotická rezistence *N.gonorrhoeae*

*N.gonorrhoeae* jako lidský patogen, který adhezuje na sliznice, koexistuje s dalšími patogeny, mezi které patří i komenzální *Neisserie spp.* Při rozmnožování a zanikání komenzálních bakterií dochází k horizontálnímu přenosu plazmidů i na *N.gonorrhoeae* (Unemo a Shafer 2014).

Tím získává včetně zdokonalování faktorů virulence i antibiotickou rezistenci. Konjugace a transformace má v některých případech malý účinek, protože dochází k missense mutacím při replikování plazmidové DNA (Unemo a Shafer 2014).

### **3.4.1 Vývoj antibiotické rezistence**

#### **3.4.1.1 Sulfoamidy**

Jako první lék uvedený na léčbu gonokokových infekcí byl v roce 1935 sulfanilamid. Záznamy uvádějí více než 90% úspěšnosti léčby až do roku 1944, kdy se objevily první případy rezistence. Na konci čtyřicátých let, se už rezistence rozvinula až na 90 %. Mechanismus působení sulfanilamidu je inhibice enzymu dihydropteroátu (DHPS), čímž poškodí syntézu kyseliny listové (Unemo a Shafer 2014).

Příčinou vyvinuté rezistence bylo převzetí bodové mutace od komenzálních *Neisseria spp.* folP genů, které kódují enzym dihydropteroát, a proto molekula antibiotika není schopná navázání na upravenou molekulu enzymu. Druhou možností vývoje rezistence je nadměrná syntéza kyseliny p-aminobenzoové, která zmenšuje účinek sulfonamidových látek (Unemo a Shafer 2014).

#### **3.4.1.2 Penicilin**

Penicilin byl objeven v roce 1928. Od té doby byl hojně využíván proti gonokokovým infekcím očí u novorozenců, ophthalmia neonatorum. Na léčbu gonokokové uretritis se jako lék první volby začal používat po objevení možné rezistence na sulfonamidy v roce 1943. Po propuknutí gonokokové epidemie v USA do roku 1960 se snížila citlivost bakterie na penicilin na minimum. V roce 1976 se objevila vysoká rezistence na penicilín, nejen v USA ale i v Africe, severní Asii a ve Velké Británii. Po objevení vysoké rezistence na penicilín při léčbě gonokokových infekcí, se ve většině států přestal úplně používat. Penicilínová rezistence je zprostředkována plazmidy nebo chromozómy (Unemo a Shafer 2014).

### a) Rezistence podmíněná plazmidy

Penicilín a cefalosporiny patří mezi  $\beta$ -laktamová antibiotika. Základem je  $\beta$ -laktamový kruh, který se naváže na penicilin-vázací protein (PBP). PBP je enzym patřící do transpeptidáz a navázání  $\beta$ -laktamového kruhu na PBP vede k baktericidní aktivitě (Unemo a Shafer 2014).

Po objevení penicilínové rezistence, výzkumy ukázaly, že si *N.gonorrhoeae* převzala od *Haemophilus parainfluenzae* konjugacním přenosem plazmid s genem blaTEM-1. BlaTEM-1 kóduje enzym  $\beta$ -laktamázu typu TEM-1, která hydrolyzuje amidovou vazbu čímž otvírá  $\beta$ -laktamový kruh. Po jeho otevření je penicilín neaktivní. Existuje vícero typů mutací genu blaTEM-1 a jsou pojmenované podle jejich původu. V dnešní době jsou celosvětově rozšířené kmeny s asijským a africkým plazmidem. Jsou objevené ještě plazmidy - Toronto, Ria, Nového Zélandu a Johannesburgu, ale za předka, ze kterého se blaTEM-1 geny vyvinuly delecí a inzercí je považovaný asijský plazmid. V případě, že bude docházet k rozšiřování *N.gonorrhoeae* a k jejím dalším mutacím, je velmi pravděpodobné, že se můžou objevit kmeny s rozšířeným blaTEM-1. Rozvine se ještě k větší rezistenci na cefalosporiny, které jsou v dnešní době lékem první volby (Unemo a Shafer 2014).

### b) Rezistence podmíněná chromozomem

Chromozomová rezistence k penicilínu je způsobená mutací, která modifikuje PBP a ovlivňuje i eflux a influx penicilinu. V genu PenA dochází k 5 až 9 mutacím snižujícím citlivost vůči penicilinu 6 až 8krát. Mutace je získaná z komenzálních *Neisseria spp.* a hlavním mechanismem je inserce aspartátu do výsledného proteinu, který se zároveň zachovává transpeptidázovou aktivitu. Kmeny rezistentní na penicilin nesou navíc i missense mutaci v genu PonA. Vztah mezi mutací v PenA a PonA není úplně známý, uvažuje se o epistáze vzhledem k tomu, že samotná mutace PonA nejeví znaky rezistence vůči penicilinu (Unemo a Shafer 2014).

U gonokoků je dokázaná existence 4 efluxních pump produkovaných všemi kmeny: MtrCDE (multiple transferable resistance), MacAB (macrolide efflux), NorM (multidrug efflux transporter), FarAB (fatty acid efflux). Všechny patří do skupin small multidrug resistance (SMR), the resistance-nodulation cell division (RND), the multidrug and toxic compound extrusion (MATE). U penicilínu je zvýšená míra efluxu závislá na mutaci v MtrR. Jedná se o kódující gen efluxní pumpy MtrCDE. Ve spojení s mutací genu PorB1b se zároveň redukuje influx do bakteriální buňky (Handing et al. 2018; Unemo a Shafer 2014).

### 3.4.1.3 Tetracykliny

V případě alergie na penicilin se jako náhrada používaly tetracykliny. Rovněž jako po vypuknutí epidemie kapavky a vzniku rezistence na penicilin, vznikla i rezistence na tetracykliny. V roce 1980 byly popsány plazmidově a chromozómně podmíněné rezistence. Hlavním účinkem tetracyklínů je zabránění proteosyntézy inhibicí navázáním aminoacyl-tRNA na komplex mRNA-ribosom, konkrétně na 30 S podjednotku ribosomů (Unemo a Shafer 2014).

#### a) Rezistence podmíněná plazmidy

Rezistence je způsobena mutací v genu TetM, který získaly gonokoky od rodů *Streptococcus*. Způsobuje vyšší afinitu k navázání ribosomu a uvolní tetracyklin. TetM plazmid může přenášet i geny kódující  $\beta$ -laktamázu. Poprvé byl objeven v roce 1984 v USA a byl pojmenovaný Americký TetM a další, homologní Americkému byl v roce 1991 objevený jako Holandský. Existuje velká řada variant dalších plazmidů, jako například Uruguajský nebo Jihoafrický (Unemo a Shafer 2014).

#### b) Rezistence podmíněná chromozomem

Kromě mutací v genech MtrR a PenB, jako při rezistenci na penicilin, mají i mutaci Tet-2. Mutace Tet-2 je zmutovaná alela pro kódování záměny aminokyselin z valinu na metionin. Valin označovaný jako Val57 se nachází blízko aminoacyl t-RNA, kde se navazuje molekula tetracyklinu. Místo daných aminokyselin se vytvoří záměna leucinu na glycin způsobující absenci vazebného místa pro tetracykliny. Mutace v MtrR a PenB rovněž jako u penicilínu způsobují zvýšený eflux a snížený influx (Unemo a Shafer 2014).

#### 3.4.1.4 Spektinomycin

Spektinomycin byl syntetizovaný na začátku 60.let 20.století z produktu hub *Streptomyces spectabilis*. V přírodě je produkován mnohými organizmy, hlavně sinicemi. V roce 1981 byl zavedený jako lék první volby na léčení gonokokové infekce u amerického vojska v Jižní Koreji. Po 4 letech byly hlášené první rezistentní kmeny, které se rozšiřovaly do Spojeného království a Nizozemska. Aktuálně nebyli zachyceny kmeny s velkou rezistencí na spektinomycin, ale nedoporučuje se jako lék první volby, využívá se jedinečně jako suboptimální antibiotikum při gonokokové infekci pharyngu (Unemo a Shafer 2014).

Spektinomyciny interagují s ribozomem a inhibují tím proteosyntézu. Přesněji inhibují elongaci polypeptidů blokováním přenosu polypeptidu z A místa ribozomu do P místa. Vyvinula se proto u nich mutace, která vedla k delecí valinu a k znemožnění navázání molekuly spektinomycinu (Unemo a Shafer 2014).

#### 3.4.1.5 Chinolony

Na začátku roku 1980 se začaly používat fluorochinolony – ciprofloxacin a ofloxacin na léčbu kapavky s nízkou potřebnou dávkou, 250mg. V době vyvíjení rezistence se dávka zvýšila až na dvojnásobek. První rezistentní kmen byl objevený v asijských zemích západního Pacifiku. Rychle se rozšířily i do jiných zemí jako je Havaj a USA. Na západním pobřeží Ameriky se rezistentní kmeny vyskytovaly převážně mezi homosexuálními muži (MSM) (Unemo a Shafer 2014).

Centrum účinku chinolonů jsou nukleové kyseliny, inhibují DNA gyrázy a topoisomerázy. Gyráza se skládá z heterotetramerů dvou podjednotek gyrA a dvou podjednotek gyrB. Mutace se nachází na podjednotkách gyrA zabraňuje navázání chinolonů. Topoisomeráza IV je tetramer dvou podjednotek ParC a dvou podjednotek ParE. Rezistence ovlivněná mutací v gyrA je slabá nebo střední, ale na vysokou rezistenci je potřeba komplex mutací na ParC. Mutace v gyrB a v ParE neboli prokázány jako významné pro rezistenci k chinolonům (Unemo a Shafer 2014).



### 3.4.1.6 Makrolidy

V roce 1952 byly objeveny makrolidy z půdního mikroorganismu *Streptomyces erythraeus*, jednalo se o antibiotikum erytromycin. Později v roce 1980 byl synteticky vyrobený azitromycin. Po výzkumech a testech in vitro, se účinek erytromycinu na *N.gonorrhoeae* ukázal jako nedostatečný v porovnání s azitromycinem. V Latinské Americe se azytromycin začal používat při léčbě pohlavních nemocí, zejména infekcí spojených s *Chlamydia trachomatis*. Rezistentní kmeny se z Latinské Ameriky postupně přenášely do Skotska, Itálie, Anglie, Švédska a do USA. Jako monoterapie se azitromycin po objevu rezistentních kmenů vyloučil, ale do dnešní doby je jeden z mála antibiotik používaný v rámci duální terapie (Unemo a Shafer 2014).

Mechanismus účinku makrolidových antibiotik spočívá v navázání na ribozomální podjednotku 50 S, čímž se zablokuje výstupný peptidový kanál v podjednotkách 50 S s interakcí 23 S a dochází k uvolňování neúplných peptidů z ribozomální podjednotky. Na bakterii to má bakteriostatický účinek. Vytvořená modifikace metylací podjednotky 23 S nebo přímou mutací v genu pro podjednotku 23 S zablokuje navázání makrolidů na ribozom. Geny kódující metylázu rRNA se označují jako geny rezistence k makrolidům, linkosamidu nebo Erm geny, přesněji ErmF nebo ErmB. Způsobují velkou rezistenci k erytromycinu (MIC 4-16 $\mu$ g/ml) a nízkou rezistenci ke azitromycinu (MIC 1-4 $\mu$ g/ml). Stejný ErmF gen byl objeven u *Bacteroides fragilis*, odkud byl přenesen konjugací na gonokoky, meningokoky a na *Enterococcus faecalis*. Na to, aby byl gonokok úplně rezistentní na makrolidy, potřebuje mít mutaci ve všech čtyřech alel na genu 23 S rRNA. Pokud má jenom 3 a méně, má sníženou nebo úplnou citlivost na azitromycin. Rezistenci podporují i efluxní systémy, které jsou kódované mutacemi na genech MtrCDE a Mef, podobně jako u předešlých antibiotik (Unemo a Shafer 2014).

### 3.4.1.7 Rezistence k cefalosporinům široké účinnosti

Hlavními determinanty rezistence na ESC jsou změny v genu PenA kódujícího PBP2, který je letální pro cefalosporiny. Téměř shodná mutace se nachází i v kmenech s rezistencí na penicilín. Rozdíl je v absenci inserce Asp345a v genu PenA a v rezistentních kmenech na ESC se alely nacházejí mozaikovitě (Bharat 2016; Unemo a Shafer 2014).

Předpokládá se, že takto upravené geny PenA vznikly transformací DNA a následnou rekombinací s částečnými geny PenA komenzálních druhů *Neisseria*, běžně se vyskytujících v orofaryngu, *Neisseria perflava*, *Neisseria sicca*, *Neisseria polysachcarea*, *Neisseria flavescenc*. Mozaika způsobuje zvyšování MIC cefiximu více než ceftriaxonu. V Kjótu v Japonsku se objevil kmen, který vykazuje velkou míru rezistence na všechny ESC. V alele PenA vykazuje 12 aminokyselinových změn. Po přezkoumání se zjistilo, že pravděpodobně se jedná o záměnu metylového postranního řetězce na smyčce blízko aktivního místa kódujícího PBP2 za objemnější postranní řetězec prolinu (Unemo a Shafer 204). Další faktor rezistence jsou již zmiňované mutace PenB a MtrR. Obě dvě mutace mají vysoký vliv na MIC ceftriaxonu jako na MIC cefiximu. Determinanty rezistence k penicilinu ponA a pilQ jsou mozaikovitě obsažené i v kmenech se sníženou citlivostí na ESC ale nemají na MIC výrazný vliv, spíše to dokazuje horizontální přenos mezi jednotlivými bakteriemi (Bharat 2016; Unemo a Shafer 2014).

### **3.4.2 Aktuální léčba kapavky a její vliv na rezistenci *N.gonorrhoeae***

Léčbu je potřebné začít co nejdříve, aby se zabránilo závažným komplikacím. Problém s pozdním začátkem léčby je spojený s asymptomatickým průběhem infekce u žen, muži mají závažnější symptomy, které je donutí vyhledat lékaře v časném stádiu nemoci. Léčba se liší podle stupně rozvinutí gonokokové infekce, přidružených infekcí, dostupnosti léčby a závisí také na alergii pacienta na léčiva stejně jako dostupnost vybraného antibiotika. U nekomplikovaných infekcích a spolehlivých pacientů se volí ambulantní léčba, v jiných případech se přistupuje k hospitalizaci pacienta (Workowski et al. 2021).

Lékem volby při léčbě nekomplikované gonokokové infekce je ceftriaxon z řady cefalosporinů s rozšířeným účinkem (ESC-extended-spectrum cephalosporines). Podává se jednorázově 1000mg IM (intra muskulárně), podle laboratorních výsledků MIC. V případě nedostupnosti ceftriaxonu je možné použít duální léčbu IM gentamycin 240mg i.m. s per os azitromycin 2g, nebo při neochotě pacienta se nechat vyšetřit, v případě nedostupnosti vyšetření se používá jedna dávka per os 800mg cefiximu s orální léčbou doxycyklinem po dobu 7 dnů (Resl 2019; Workowski et al. 2021; Holland-Hall 2022).

Ve všeobecnosti je lepší léčba ceftriaxonem, který má účinek i na gonokokovou infekci ve faryngu stejně jako na anorektální, urogenitální infekci, je možné použití i v graviditě, u HIV pozitivních pacientů a je bezproblémově kombinovatelná s léčbou chlamydiových infekcí. Při duální léčbě, bylo pozorované vyléčení 100% urogenitální infekce, ale jako léčba extraurogenitální infekce byla nedostatečná. Při spojení s vedlejšími nepříznivými účinky se jako první volba léčby vyloučila. Další možnost léčby byla monoterapie pomocí samotného azitromycinu 2 g, která byla v 99,2% účinná při léčení nekomplikované urogenitální kapavky. Problémem je vysoký výskyt makrolidové rezistence *Neisseria gonorrhoeae*, což způsobovalo selhání léčby. Vysoká míra rezistence způsobila nedoporučení penicilinu, tetracyklinů a starších makrolidů, například erythromycinu, jako volbu efektivní léčby. Při závažnějších a ojedinělých stavech, jako je gonokoková konjunktivitida, diseminovaná gonokoková infekce (DGI) a gonokoková meningitida, popřípadě endokarditida, se používá rovněž ceftriaxon, rozdíl je v podávaných dávkách. Při konjunktivitidě se podává jednorázová injekce IM ceftriaxonu 1 g. DGI s gonokokovou meningitidou a endokarditidou jsou pro léčbu nejkomplicovanější, musí se podávat ceftriaxon 1g intra venózně (IV) každých 8 nebo 24 hodin po dobu 7 dní, podle stavu pacienta (Resl 2019; Workowski et al. 2021; Holland-Hall 2022).

Kapavka u novorozenců se léčí podle projevů. Jestliže matka nebyla testovaná a patří do skupiny osob s rizikovým chováním anebo žije v komunitě s vysokým výskytem pohlavních, či jiných infekcí, preventivně se nanáší do očí novorozence mast s obsahem 0,5 % erytromycinu. V těžších případech se podává 25-50mg ceftriaxonu IV nebo IM případně cefotaxim při výrazné bilirubinemii (Workowski 2021). V ČR je provedení credeisace bezprostředně po porodu ze zákona povinné.

### **3.5 Kapavka**

Kapavka je nemoc způsobená kolonizací sliznice bakterií *N.gonorrhoeae*. Spolu se syfilis, chlamydiemi a mnoha dalšími nemocemi patří mezi pohlavní choroby, tzv. sexually transmitted infections (STI). Přenos je nejčastější sexuálním stykem (koitálním, análním i orálním), ejakulátem nebo se může přenést při porodu z matky na novorozence (Ghanem 2020).

Hlavním postižením je infekce urogenitálního traktu, orofaryngu nebo rekta, oči jsou postižené výjimečně, a to u novorozenců. Při styku sliznice a exsudátu nebo ejakulátu nastává navázání bakterie na epitel sliznice a napadá imunitní systém (Ghanem 2020).

Nejčastější výskyt kapavky je v zemích s nízkým ekonomickým rozvojem jako jsou Asie, Afrika, Latinská Amerika, oblast Karibiku. V Evropě a USA se jedná o nákazu nejvíce rozšířenou mezi homosexuálními muži (MSM), kde tvoří přibližně polovinu nahlášených případů nákazy (Meyer a Buder 2020).

### **3.5.1 Klinické projevy**

Inkubační doba je v průměru 3-6 dní od nakažení. Příznaky jsou rozdílné u mužů, žen i novorozenců. Podle místa prvotní nákazy rozdělujeme kapavku na urogenitální a extragenitální. Komplikací při šíření kapavky je asymptomatický vývoj, který se objevuje u 40 % nakažených mužů a u více jak 85 % nakažených žen (Morgan et al. 2016).

### **3.5.2 Urogenitální kapavka u mužů**

Urogenitální kapavka u mužů začíná přední kapavkou, která se projevuje dysurií, bodavou bolestí při močení s následným výtokem. Výtok je ze začátku hlenovitý s hnisavými vločkami až časem přechází do úplné hnisavé sekrece, která se po čas dvou až tří týdnů úplně ztrácí (Resl 2019; Ghanem 2019).

Přední kapavka progreduje do zadní kapavky, kde jako první příznak nastupuje krvácení, bolestivé erekce a poluce. Přejít do zadní kapavky znamená překonání přirozené překrady močového svěrače, čímž se umožní bakterii přechod do vyšších částí urogenitálního traktu (Resl 2019).

Ve výjimečných případech dochází ke komplikované kapavce, která může vést k akutní fimóze a parafimóze, balanopostitidě, akutní prostatitidě, epidydimitidě a dalším závažným komplikacím způsobujícím neplodnost. Pokud se kapavka dlouhodobě neléčí, dochází k chronické kapavce s ustupujícími příznaky (Resl 2019; Morgan a Decker 2016).

Nejčastějším následkem překonání kapavky u mužů je postgonorrhoidická urethritis. Infikování epitelu uretry způsobí apoptózu buněk, vyplavení cytokinů s následným přetrvávajícím zánětem. Oslabený imunitní systém s poškozenými epiteliálními buňkami zaručuje lehkou kolonizovatelnost přidruženými infekcemi (Resl 2019).

Příznaky spojené s gonokokovou uretritidou po léčbě ustupují a nastupují příznaky způsobené přidruženou infekcí, např. *Chlamydia trachomatis* (*Ch. trachomatis*). Trvalé následky spojené s neplodností vznikají vzácně a jsou spojené s druhotnou neléčenou infekcí chlamydiemi nebo s trvalým poškozením epitelu při epidydimis (Resl 2019).

### 3.5.3 Urogenitální kapavka u žen

Projevem infekce způsobené *N.gornohoeae* u žen je endocervicitis, která přechází do pánevní zánětlivé nemoci (pelvic inflammatory disease-PID). První projev přichází pátý až desátý den po styku s nakaženou osobou. Objevuje se začervenání cervix s hnisavými pseudoerozemi. U žen kapavka rychle přechází do chronické fáze, kdy je pozorovatelný ústup všech symptomů. Po ascenzi infekce nastávají nejasné bolesti břicha, endometritidy a záněty malé pánve (Resl 2019; Morgan a Decker 2016).

Příčinou zánětů a infertility je působení LOS na buňky vejcovodu ovlivňující regulaci faktoru nádorové nekrózy (TNF). Důsledek je apoptóza cílní buněk, které jsou důležité při transportu vajíčka do dělohy (Apari et al. 2014).

Pánevní zánětlivá nemoc je infekční postižení endometria, výstelky vejcovodu a vaječnicků. Hlavními příznaky jsou bolest v podbříšku, vaginální výtok, bolest při pohlavním styku, všechny vyjmenované příznaky jsou doprovázeny horečkou a bolestí hlavy (Resl 2019; Morgan a Decker 2016).

Komplikace při neléčené kapavce způsobuje přechod do zánětu parauretrálních žláz a Skeneových chodeb, což je příčinou tvorby abscesů. Stejně jako u mužů, výskyt sekundární infekce způsobené *Ch. trachomatis*, zhoršuje příznaky a dochází k perihepatitis (Fitz-Hugh-Curtis syndrome). Charakteristikou perihepatitis je infekce jaterního peritonea bez zásahu do jaterního parenchymu (Morgan a Decker 2016).

Následky po komplikované kapavce se objevují jen u 15 % postižených žen. Hlavní postižení je pánevní invalidizmus s následnou sterilitou a méně časté je poškození pochvy a poševního vchodu (Resl 2019; Navrátil 2017).

### 3.5.4 Extraurogenitální kapavka

Do této skupiny patří postižení částí organismu, které jsou prvotně infikované mimo urogenitální trakt a celkové komplikace kapavky. Nejčastějšími prvotně infikovanými částmi těla jsou anorektální oblast a farynx. K infekci anorektální oblasti dochází u žen, již nakažených z cervikální sekrece. Největší část nakažených s příznaky extraurogenitální kapavky v anorektální oblasti jsou MSM. Symptomy infekce anorektální oblasti jsou mucopurulentní výtoky, tenesmus a pruritus. Infekce orofaryngu se vyskytuje jak u MSM, tak i u heterosexuálních žen a její průběh je z větší části asymptomatický (Morgan a Decker 2016).

### 3.5.5 Diseminovaná gonokoková infekce

Vzácný projev přicházející po 2-3 týdnech od nakažení kapavkou je u 0,4-3 % je diseminovaná gonokoková infekce. Je to stav způsobený diseminací *N.gonorrhoeae*, významná je i účast komplementu. Rozděluje se na dvě stádia, prvé je artritid-dermatitis syndrom a druhé je septická artritida. První stadium se projevuje vysokými horečkami, tenosynovitidou, která postihuje kolena, lokty a distální klouby. Po prvotních příznacích se objevují na kůži nebolestivé petechie anebo maculopapuly, při neléčení se rozvíjejí až do nekrózy. V druhém stadiu dochází k endokarditidě a myoperikartitidě. Velké procento pacientů vyhledá lékařskou pomoc už při prvním stadiu, takže velmi zřídka dochází ke zhoršení stavu, které by vedlo k rozvoji druhého stádia (Rice 2005).

### 3.5.6 Infekce způsobené *N.gonorrhoeae* u gravidních žen, novorozenců a dětí

Během 10-17 týdne těhotenství se provádí vyšetření na pohlavní choroby, které by mohla matka přenést na dítě. Vyšetření na kapavku, na rozdíl od syfilis, HIV 1+2 a hepatitidy B, není povinné, ale doporučeno zejména, pro promiskuitní matky nebo pro ty, které se pohybují v sociální skupině s výskytem STI. Pokud dojde ke zjištění STI u matky, je dostatečná doba na podání léčby bez vyššího rizika pro plod. Pokud však matka nepodstoupí preventivní vyšetření a trpí asymptomatickou nebo i symptomatickou kapavkou, dochází k chorioamnionitidě a k předčasným porodům. Po vystavení novorozence infekci během porodu dochází k vzniku konjunktivitidy (Resl 2019; Morgan a Decker 2016).

Vyplachování antibiotickým roztokem, aneb credeisace je preventivní opatření, které se provádí všem novorozencům, aby se předešlo zanesení infekce do očí. Podání antibiotika musí být co nejrychlejší, aby nedošlo k oslepnutí novorozence (Resl 2019; Morgan a Decker 2016).

Kapavka u dětí je velmi raritní, k infekci dochází hlavně v případech dětského zneužívání a je velmi malá pravděpodobnost, že by mohlo dojít k nakažení dítěte nepřímým kontaktem (Morgan a Decker 2016).

### **3.6 Laboratorní diagnostika *N.gonorrhoeae***

Pacient musí být vyšetřen klinickým lékařem a v případě podezření je pacientovi proveden odběr, který je poslán do klinické laboratoře. Kromě specializovaných klinik existují i neziskové organizace, ve kterých mohou lidé požádat o vyšetření na pohlavní choroby. V případě pozitivního výsledku musí být pacient dermatovenerologem nahlášen do evidence pohlavních chorob a dispenzarizován. Dispenzarizace je zdravotnický úkon zahrnující kontrolní vyšetření úspěšnosti léčby a zároveň vyloučení možných přidružených STI s delší inkubační dobou. V případě pozitivity na kapavku jsou osoby vedeny v evidenci po dobu 4 měsíců a kontroly jsou stanovené 3krát po léčbě v týdenních intervalech. Před zahájením léčby a 3 měsíce po léčbě se stanovuje sérologické vyšetření na HIV a syfilis. Po negativním výsledku je pacient z evidence vyřazený (Resl 2019).

V současné době je zásadním problémem nikoliv diagnostika, ale vzrůstající antibiotická rezistence *N.gonorrhoeae*. Z rozšíření antibiotické rezistence se stal celosvětový problém, a proto byl v roce 1986 založený v USA projekt GISP (The Gonococcal Isolate Surveillance Project). Hlavním cílem je především dohlížet na správnou léčbu gonokokových infekcí a zachytit kmeny s novým rozvojem antibiotické rezistence (Centers for disease control and prevention 2021).

Laboratorní diagnostika *N.gonorrhoeae* je založená na přímé detekci patogenu z výtěru nebo ze záchyty první moči. Nejpoužívanějšími metodami je hybridizace a PCR, méně častá je kultivace s následnou mikroskopií. Nepřímé metody pomocí protilátek jsou kvůli nízké specifitě a sensitivitě nevhodné a vůbec se v diagnostické praxi neuplatňují (Meyer a Buder 2020).

### **3.6.1 Odběr biologického materiálu**

Specializované laboratoře na vyžádání dodávají vhodnou odběrovou zkumavku s transportním médiem. Odběr ve formě stěru se u žen provádí z cervikálního kanálu, vagíny nebo uretry, u mužů se jedná o odběr z uretry (Zákoucká 2009).

U mužů je důležité dbát na výtěr z místa kde se nachází nejvíce sekretu. Pacient by před odběrem neměl dvě hodiny močit. Vyšetření je možná provést i z moči pacienta. Odebírá se první ranní moč do sterilní zkumavky bez média. V případě infekce rekta, faryngu nebo gonokokové konjunktivitidy se postupuje stejným způsobem jako při odběru z uretry. Správný odběr a zacházení s odebraným vzorkem je důležité kvůli náchylnosti *N.gonorrhoeae* na teploty a vyschnutí. Je potřebné vzorek co nejrychleji transportovat do laboratoře, ideálně při stálé teplotě 36°C. Při selhání léčby je nutné vyšetření antibiotické rezistence. Takto transportovaný vzorek je umístěn do nevyživového transportního media, které je schopné udržet životaschopnost gonokoků po dobu 48 hodin (Zákoucká 2009).

### **3.6.2 Kultivace *N.gonorrhoeae***

*N.gonorrhoeae* je citlivá na vnější podmínky a proto je její kultivace náročnější než kultivace běžných bakterií. Ke kultivaci se používá čokoládový agar, který je obohacený o beraní krev a vyhovuje požadavku pH 6,75-7,5. Erytorocyty jsou více hemolyzované oproti krevnímu agaru, a proto tvoří dokonalé podmínky se vhodnými látkami pro metabolismus *N.gonorrhoeae*. Před očkovaním bakterie se musí používaná Petriho miska s agarem nahřát na 36-37°C. Pro růst je potřeba velká vlhkost (70-80 %) a atmosféra obohacená o 4-6 % CO<sub>2</sub>. I když se první lesklé, šedé kolonie objevují již po 18-24 hodinách, optimální čas pro kultivaci by měl být 48 hodin (Meyer a Buder 2020).



Nejvhodnějším materiálem na kultivaci je stěr z uretry, děložního hrdla, orofaryngu, rekta nebo spojivky. Obtížnějším materiálem na kultivaci je stěr z vaginy, kvůli osídlení komenzálních druhů bakterií. Důležitým faktorem při odběru materiálu ke kultivaci je absence léčby antibiotiky. Pokud je pacient již léčený, nebo v nejbližší době užíval antibiotika, dochází k inhibici růstu kolonií (Zákoucká 2009; Meyer a Buder 2020).

### **3.6.3 Mikroskopické vyšetření**

Vyšetření pod mikroskopem se provádí pomocí barvení výtoku nebo sekretu z uretry dle Grama. Endocervikální, rektální a faryngeální odběry jsou kvůli nízké citlivosti na barvení nevhodné. Bakterie pomocí purulentního exsudátu putují na jiné místa organismu, a proto je výskyt výtoku na barvení dle Grama potřebný (Meyer a Buder 2020).

V nátěru se pozorují polymorfonukleární leukocyty s intracelulárními, gramnegativními diplokoky ve tvaru kávového zrna. Pozitivní nález není dostačující na prokázání infekce, může se jednat o meningokokovou infekci, která je pod mikroskopem od gonokoků nerozeznatelná. Při negativním nálezu je stále možná asymptomatická infekce, a proto je v obou případech, barvení dle Grama, jako důkaz nedostačující (Centers for disease control and prevention 2021).

### **3.6.4 Molekulární diagnostické metody**

#### **3.6.4.1 Hybridizace**

Hybridizace nukleových kyselin je proces, ve kterém z jednovláknové DNA (ssDNA) vznikne dvouřetězcová molekula DNA (dsDNA), na základě komplementarity. Pro syntézu komplementárního řetězce se používají speciální sondy, které jsou označené fluorescenční látkou. Po její navázání sonda vydá záření, které je možné odčítat pomocí luminometru. Sondy jsou specifické pro jednotlivé patogeny a důležité je správné určení na základě hledaného genu, který je kódovaný známým pořadím nukleotidů (Ng 2005; Šmarda 2005).

Základními kroky je denaturace a renaturace. Denaturace probíhá při 90 °C, dvouřetězcová molekula nukleové kyseliny se vlivem tepla na kovalentní vazby rozpojí a vznikají dva samostatné řetězce. Po navedení původních podmínek dochází k renaturaci a vznikají dvouřetězové molekuly podle principu komplementarity. Po proběhnutí reakce vzniknou homoduplexy a heteroduplexy. Homoduplex je hybridní molekula s úplnými, komplementárně nově navázanými nukleotidy. Heteroduplexy jsou na druhou stranu molekuly, na kterých nedošlo k úplnému navázání úseků na původní řetězec DNA (Šmarda 2005).

Čím víc vzniklo homoduplexů, tím se ve vzorku nachází více předpokládané DNA nebo RNA. Metoda umožňuje i vytváření hybridních molekul, kde jeden řetězec je DNA a druhý, komplementární je RNA (Šmarda 2005).

Metoda je používaná v běžných laboratořích, ale podle doporučení WHO nedosahuje vysokou specifitu a sensitivitu a není vhodná na diagnostiku *N.gonorrhoeae*. Její výhoda je využití pro vaginální výtěry nebo pro jiné vzorky, kde se vyskytuje diverzita bakterií (Centers for disease control and prevention 2021).

#### **3.6.4.2 Polymerázová řetězová reakce**

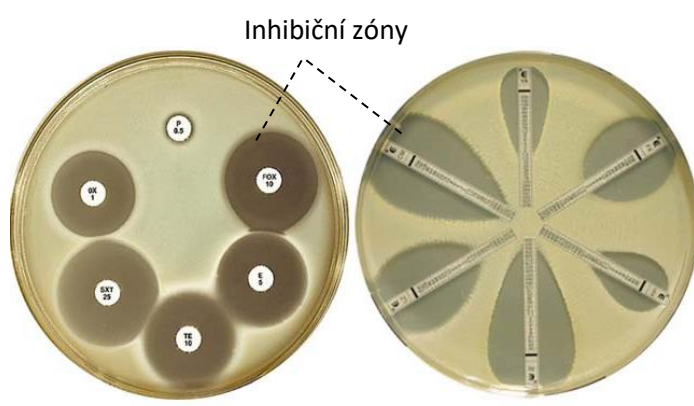
Princip reakce spočívá v řízené amplifikaci a detekci amplifikovaných molekul nukleových kyselin. Roztok pro PCR detekci musí obsahovat kromě zkoumané nukleové kyseliny, templáty, primery, Taq polymerázu (termostabilní polymeráza) a hořčnaté ionty. Reakce probíhá ve třech základních krocích, které na sebe navazují a opakují se. Prvým krokem je zvýšení teploty na 95 °C, dochází k denaturaci dvoušroubovice DNA a vznikají dvě molekuly jednořetězcové DNA. V druhém kroku nastává snížení teploty na 50°C. Tento krok se nazývá hybridizací a nastává v něm dosednutí primerů na začátek a konec vybrané sekvence nukleotidů. Třetí krok probíhá při teplotě 70 °C a dochází k elongaci, extenzi a syntéze. Z jednořetězcové DNA vzniká syntézou dvouřetězcová a všechny kroky se znovu opakují až do dosáhnutí daného množství molekul nukleové kyseliny. Pomocí fluorescence se měří kvantitativní množství vzniklé nukleové kyseliny. Podrobnější princip metody záleží od hledaného patogenu, zvolené nukleové kyseliny, přístroje a firmy, která dodává testovací soupravy (Meyer a Buder 2020).

Na detekci *N.gonorrhoeae* je nejvhodnější materiál výtěr nebo první zachycená moč, hlavně u mužů. Geny, na které jsou soustředěny primery jsou Opa geny nebo Pili geny. Kromě přímého testování výskytu *N.gonorrhoeae* jako jednotlivé bakterie, se přistoupilo k používání multiplex RT-PCR. V jednom cyklu, z jednoho vzorku je možné naráz zjistit přítomnost několika bakterií. Mezi nejpoužívanější testovací soupravy se řadí ty, které jsou schopné zachytit kromě *N.gonorrhoeae* i *Treponema pallidum*, *Trichomonas vaginalis*, *Herpes virus* typu 1 a 2, *Ureplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis* a *Hemophilus ducreyi* (Abrams a Trees 2017).

### 3.7 Laboratorní stanovení citlivosti *N.gonorrhoeae* na ATB

Sekvenování genomu *N.gonorrhoeae* přineslo mnoho poznatků, které se dají využít v hybridizaci na přímé určení genu pro jednotlivé genomové úseky zodpovídající za rezistenci k antibiotikům (Aryal 2021; Abrams a Trees 2017)

Kvůli náročnosti a stále nedokonalým poznatkům se tato volba nevyužívá v běžné praxi. Místo toho se volí ověřený postup stanovení citlivosti na antibiotika, a to pomocí kvantitativní nebo kvalitativní metody (Aryal 2021; Abrams a Trees 2017). Názorná ukázka inhibičních zón je na obrázku 1.



Obrázek 1 - Ukázka diskového testu, zástupce kvalitativní metody (nalevo) a E-testu, zástupce kvantitativní metody (napravo) (Aryal 2021)

### 3.7.1 Diskový difuzní test

Nejpoužívanější kvalitativní metoda je diskový difuzní test. Na kultivační půdu se naočkuje bakterie, vloží se maximálně 6 disků, co jsou celulózové disky napuštěné jednotlivými antibiotiky v deklarované koncentraci. Podle inhibice růstu, v nejbližší oblasti v okolí disku, se odečítá průměr, který vyjadřuje citlivost. Inhibice růstu se porovnává s referenčními hodnotami, tzv. breakpoint (BP). Pro testování citlivosti u *N.gonorrhoeae* není tato metoda dostatečně robustní a spolehlivá, ale kvůli vývoji antibiotické rezistence se častěji používá kvantitativní metoda E-testu (Aryal 2021).

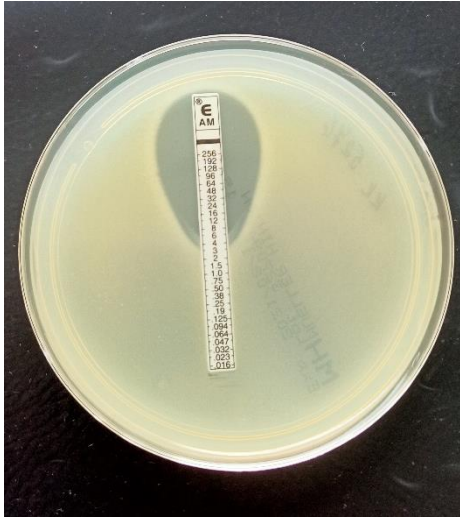
### 3.7.2 E-test

E-test neboli epsilon test je kvantitativní metoda sloužící ke stanovení minimální inhibiční koncentrace. Stupeň citlivosti patogenu na vybrané antibiotikum je důležitý ukazatel zejména u kmenů s vysokou rezistencí k antibiotikům. Princip metody spočívá v napuštění nitrocelulózového proužku antibiotikem v přesném gradientu, na kterém jsou poznačené hodnoty koncentrace. Proužek se položí na naočkovanou půdu stejně jako při diskovém difúzním testu. Inhibiční zóna má tvar elipsy a MIC se odečítá na místě kde inhibiční zóna protne proužek. Tato metoda je velice přesná ale také nákladná, proto se využívá převážně u bakterií s antibiotickou multirezistencí nebo v závažných případech (Amlerová a Fajfrlík 2018).

### 3.7.3 Minimální inhibiční koncentrace – MIC

Pro testování citlivosti *N.gonorrhoeae* se kromě čokoládového agaru používá i Mueller Hinton bujón, ve kterém se rozpustí kličkou odebrané kolonie. Mueller Hinton bujón (MH) je tekuté médium určené na testování kvantitativní citlivosti mikroorganismů metodou kvantitativní titrace MIC, zejména na přímou izolaci gonokoků a meningokoků.

Obsahuje hovězí extrakt, kaseinový hydrolyzát a škrob. Škrob slouží jako absorbent toxických vedlejších produktů (Centers for disease control and prevention 2013).



Obrázek 2 - Inhibiční zóna v tvaru elipsy (vlastní fotografie)

### 3.7.4 Průkaz produkce $\beta$ -laktamáz

Na stanovení  $\beta$ -laktamázy se používá nitrocefinový test.  $\beta$ -laktamázy jsou enzymy hydrolyzující  $\beta$ -laktamový kruh, který je základní chemickou strukturou  $\beta$ -laktamových antibiotik, jako je penicilin či cefalosporiny. Princip testu je reakce enzymu s  $\beta$ -laktamovým řetězcem, ve kterém je navázaný amid. Po rozpadnutí řetězce dochází vlivem amidu k růžovému až červenému zbarvení. Pozitivní test se vyhodnocuje jako necitlivý k penicilinu, ampicilinu a amoxicilinu (Brabencová 2013).

## 4 METODIKA

Od nárůstu globálního výskytu antibiotické multirezistence *N.gonorrhoeae*, byl roku 2011 založený projekt EURO-GASP (European Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme), ve kterém zastupuje Českou republiku Státní zdravotní ústav (SZÚ). Díky tomu, má uchované vzorky ze spolupracujících institucí, na kterých se sleduje antibiotická rezistence. Mezi tato pracoviště patří Fakultní nemocnice Bulovka, Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Nemocnice Na Homolce, Zdravotní ústav Ostrava, Fakultní nemocnice Plzeň, Nemocnice České Budějovice a Fakultní nemocnice Brno.

Vzorky z roku 2020 byly uchované na speciálních kryokonzervačních korálcích, které byly zamrazené a poslané v suchém ledu do Národní referenční laboratoře (NRL) pro syfilis.

Vzorkům bylo přiřazené označení souhlasící se systémem v NRL, pod kterým byly vedené po celý čas práce. Přiřazená označení byla vytisknuta na lepící štítky, které byly nalepené na příslušné zkumavky.

Předtím, než začalo testování citlivosti na antibiotika, bylo potřebné naočkovat agary zamrazenými bakteriemi *N.gonorrhoeae*, počkat na rozmnožení, čisté kolonie rozočkovat a nakonec provést E-test. Postupy pro práci s materiálem jsou popsány v následujících podkapitolách. Odečty a výsledky jsou uvedeny v grafech a tabulkách v kapitole výsledky.

## 4.1 Technické vybavení a materiál

Pro účely bakalářské práce byly využívány materiály a zařízení uvedené v tabulce č.3.

Tabulka 3 - Použitý materiál a zařízení

Obchodný název	Firma
Očkovací jednorázoví kličky	P-lab
Čokoládový agar PolyViteX (PVX)	Biomerieux
Mueller-Hinton bujon	Oxoid
Vysokofrekvenční třepačka	Grant-Bio
Anaeróbní transparentní box	Don whitley scientific
Laminární box Savemate cyto,třída II.	Bioair
Termostat INCUCCELL	BMT Medical technology s.r.o
Sáčky Anaerocult®A	Merc
E-testy	Biomerieux
Nitrocefínový test	Oxoid

## 4.2 Očkování agaru

Vzorky byly zmrazené a uchované při  $-70^{\circ}\text{C}$ . Před začátkem očkování, byly vzorky přemístěny do laminárního boxu z důvodu dodržení hygienických opatření na pracovišti. Zkumavky se vzorky byly přehledně rozmístěné do stojánků.

Kvůli výše popsané náročnosti *N.gonorrhoeae* na kultivační podmínky, byl pro kultivaci zvolen čokoládový agar. Agarové plotny byly popsány přirazeným identifikačním číslem vzorku, datem očkování a vyhřáty na  $36-37^{\circ}\text{C}$ . Na odběr a rozočkování byly použity jednorázové sterilní kličky s objemem  $10\mu\text{l}$ . Korálky byly zachyceny do kličky a přeneseny na agar. Zmrazení nemusí vždy být pro bakterii příznivé, a proto bylo použito více korálků na jedno očkování, vždy s novou sterilní kličkou. Po dokončení se naočkované agarové plotny uzavřely a byly vloženy do anerostatu spolu se sáčky Anaerocult® od firmy Merck, který vytvořil atmosféru s 5 % oxidem uhličitým. Celý box se nechal 24–48 v termostatu při  $36,5^{\circ}\text{C}$ .

Po 48 hodinách již šlo pozorovat kultivované kolonie. Podobně jako při prvním očkovaní bylo postupováno i při rozočkovaní. Sterilní jednorázovou kličkou se nabrala středně velká kolonie, která se rozočkovala na plotnu agaru. Při každém přetínání naočkované kultury, byla použita nová sterilní klička. Po dokončení se agarové plotny znovu uložily do anaerostatu se sáčky Anaerocult® a do termostatu na 18 hodin.

Po 18 hodinách, byly viditelné různě velké kolonie, což splňuje podmínky pro provedení testu citlivosti antibiotické rezistence.

### **4.3 Stanovení antibiotické citlivosti**

#### **4.3.1 E-test**

Z vypěstovaných kultur na čokoládovém agaru, byly pomocí kličky (10 $\mu$ l) kolonie přenesené do přibližně 2ml MH bujónu. Ideální je odběr z místa, kde jsou kolonie izolovány. Množství rozpuštěných kolonií v bujónu, se orientuje podle turbidity suspenze, kterou porovnáváme s 0,5 McFarland BaSO<sub>4</sub> standardem. S použitím vysokofrekvenční třepačky vortexu rozmícháme bujón do úplného vymizení jakýkoliv částic. Po porovnání zakalení bujónu se standardem, koncentrace kolonií odpovídá 10<sup>8</sup> colony forming unit (CFU)/ml. Po důkladném promíchání se MH bujón nalil na připravenou a popsanou plotnu čokoládového agaru. Přibližně 1 minutu se nechal agar s bujónem odstát, aby došlo k dostatečnému vsáknutí a přebytečný MH bujón se vylil do odpadní nádoby. Ze sterilního balení se pinzetou vybral E-test od firmy Biomérieux a opatrně byl položený na agar, tak aby nedošlo ke vzniku bubliny nebo jiných nehomogenit. Na jednu naočkovanou plotnu byly umístěny 2 proužky s různými druhy antibiotik. Kmeny izolované ze vzorků byly testované na azitromycin, cefixim, ceftriaxon, ciprofloxacín, gentamycin a spektomycin. Vyhodnocení citlivosti bylo provedené na základě tabulek breakpointů pro interpretaci MIC vydanými výborem pro testování antibiotické citlivosti z roku 2020, podrobné informace jsou uvedeny v tabulce 4.

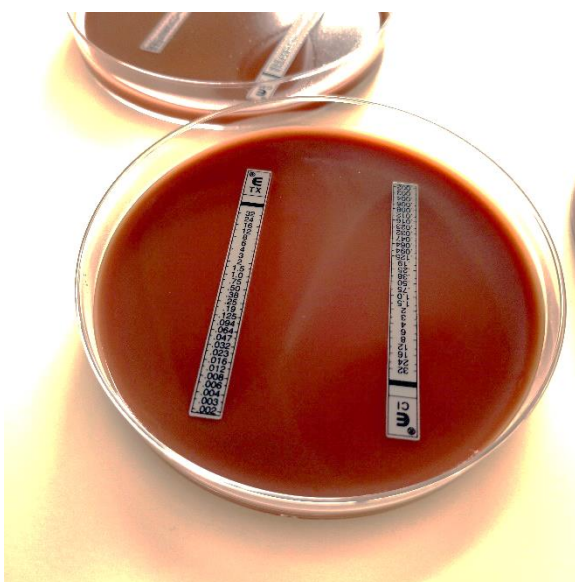


Tabulka 4- Seznam testovaných antibiotik

ATB	Šarže	Exspirace	Zkratka
Azithromycin AZ 256	1008472830	2023-01-04	AZI, AZM
Cefixime IX 256	1008482210	2023-01-08	CIX, CFM
Ceftriaxone TXL 32	1008417610	2021-11-25	CTR, CRO
Ciprofloxacin CI 32	1008344980	2022-10-15	CIP
Gentamicin GM 256	1008472860	2023-01-04	GEN
Spectinomycin SC 1024	1008358870	2022-10-23	SPE, SPT

Plotna s agarem byla přikryta víčkem a nechala se odstát při laboratorní teplotě. Po 15 minutách se všechny plotny vložili do anaerobního boxu se sáčkem Anaerocult® a box byl vložen do termostatu na 20-24 hodin při 35±1°C.

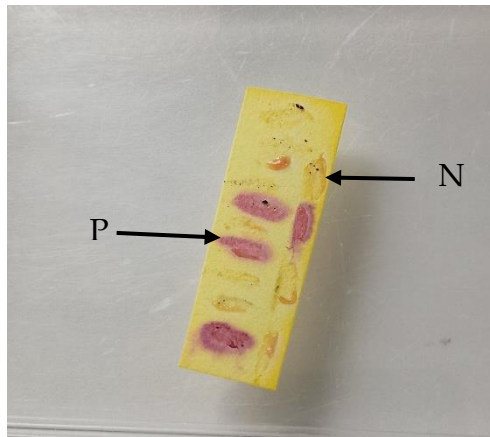
V místě dotyku proužku se při citlivosti patogenu na antibiotikum na patogen objevilo projasnění ve tvaru elipsy, která je viditelná na obrázku č.3. Velikost závisela na koncentraci antibiotika, na kterou je kmen *N.gonorrhoeae* citlivý. Podle hodnoty, kde se protínala elipsa se stripem, se odčítala koncentrace antibiotika a po porovnání s tabulkami od EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) se zapsala výsledná citlivost daného kmene. Výsledky dostupných vzorků, které byly zpracovány, jsou zapsané v tabulkách a statisticky vyhodnoceny v následující kapitole.



Obrázek 3 - Inhibiční zóna vytvořená *N.gonorrhoeae* v blízkosti ciprofloxacinu a ceftriaxonu (vlastní fotografie)

#### 4.3.2 Stanovení produkce $\beta$ -laktamáz

Jako doplňující byl proveden nitrocefínový test. Na nitrocelulózový proužek byly naneseny jednotlivé kolonie, které se nechaly 10 min reagovat. Pozitivní a negativní reakce jsou viditelné na obrázku č. 4. Pozitivní  $\beta$ -laktamáza způsobila změnu barvy na růžovou a roztok s negativními kmeny zůstal bez změny.



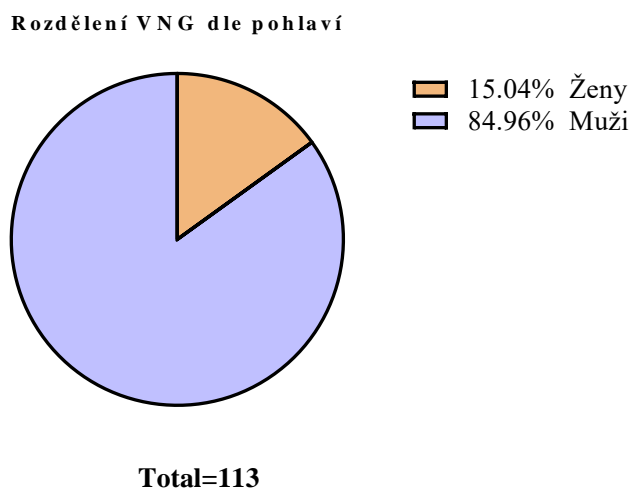
Obrázek 4 - Nitrocefínový test na papírku, P-pozitivní výsledek, N.-negativní výsledek (vlastní fotografie)

## 5 VÝSLEDKY

Celkový počet testovaných vzorků byl 113. Údaje spolu s označením vzorků byly zaslány elektronicky v přehledné tabulce. Tabulka obsahuje číslo vzorku přiřazené instituci, datum narození pacienta, pohlaví, věk, místo pobytu, místo pravděpodobné nákazy, sexuální orientace, místo léčby, lokalizaci infekce, údaje o předešlé infekci a údaje o přidružených pohlavních nemocech. V tabulce je také uvedena léčba a výsledky testování citlivosti na antibiotika. Pro zjednodušení pojmenování grafů a tabulek, budou dále vzorky od infikovaných osob, které byly zpracovány a označeny jako VNG (vzorky *N.gonorrhoeae*).

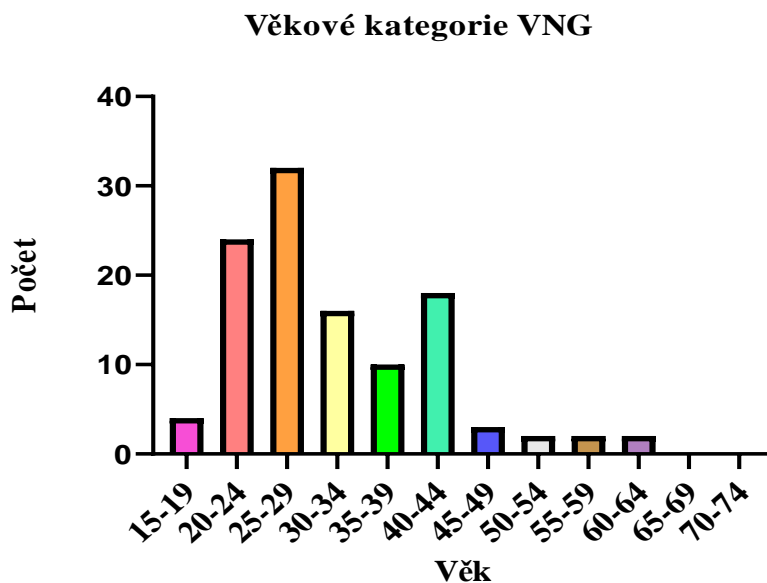
### 5.1 Rozdělení vzorků *N.gonorrhoeae* dle věku a pohlaví

Graf č.1 popisuje procentuální rozložení pohlaví infikovaných osob. Menší počet vzorků byl od žen, které tvořili 15 % (17 vzorků) a 84,96 % (86 vzorků) byly vzorky od mužů. Žádný pacient neuvedl jiné nebo žádné pohlaví. Označení Total v grafu znamená celkový počet vzorků.



Graf 1 - Zastoupení pohlaví v souboru vyšetřovaných vzorků

Věkové rozložení pacientů po pěti letech znázorňuje graf č.2. Je viditelné, že největší počet nakažených pacientů je mezi 25 až 29 rokem.



Graf 2- Věkové kategorie VNG

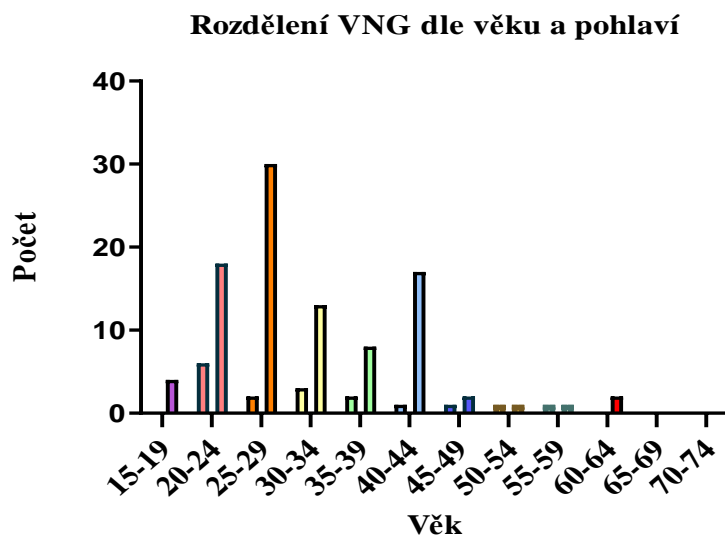
Nejmladším nakaženým pacientem ze získaných údajů o izolátech byl 16letý mladík a nejstarším 64 letý muž. Nejmladší žena měla 20 let a nejstarší měla 56let. Přesné počty s procentuálním zastoupením (PZ) jsou uvedené v tabulce č.5.

Tabulka 5- Věkové rozdělení mužů a žen s procentuálním zastoupením

Věk	Počet*	PZ	Ženy	PZ žen	Muži	PZ mužů
15-19	4	3,5 %	0	0 %	4	4 %
20-24	24	21,2 %	6	5 %	18	16 %
25-29	32	28,3 %	2	2 %	30	27 %
30-34	16	14,2 %	3	3 %	13	12 %
35-39	10	8,8 %	2	2 %	8	7 %
40-44	18	15,9 %	1	1 %	17	15 %
45-49	3	2,7 %	1	1 %	2	2 %
50-54	2	1,8 %	1	1 %	1	1 %
55-59	2	1,8 %	1	1 %	1	1 %
60-64	2	1,8 %	0	0 %	2	2 %
65-69	0	0 %	0	0 %	0	0 %

\*Počet žen a mužů

V grafu č.3 jsou uvedena zastoupení věkových kategorií v porovnání mezi pohlavím. U mužů je největší zastoupení mezi 25-29 lety u žen je převaha kolem 20-24 roku. Nalevo ve dvojicích sloupců stejné barvy je uvedený počet žen vpravo počet mužů.



*Graf 3- Rozdělení VNG dle věku a pohlaví*

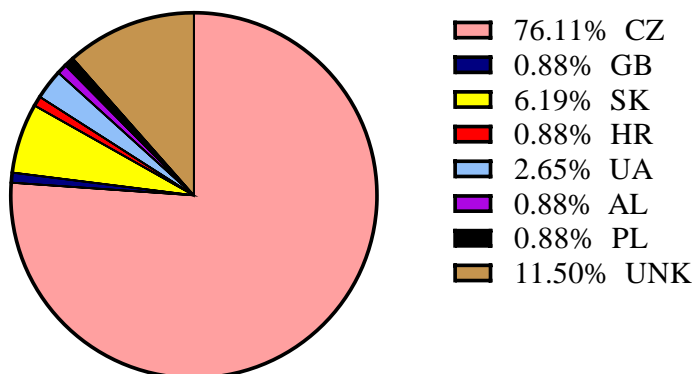
## 5.2 Přehled použitých vzorků podle národnosti infikovaných osob

V tabulce č.6 jsou vypsány národnosti s přiřazenými počty osob jejichž izoláty byly použity. Jako Českou národnost uvedlo 86 lidí, Slovenskou 7 lidí, u 13 osob je národnost neznámá (UNK). Procentuální zastoupení je znázorněno v grafu č.4.

*Tabulka 6 -Přehled národností VNG*

Národnost	Počet lidí
CZ	86
GB	1
SK	7
HR	1
UA	3
AL	1
PL	1
UNK	13

### Zastoupení národnosti VNG



Total=113

Graf 4- Procentuální zastoupení vzorků v závislosti na národnosti pacientů

### 5.3 Přehled testovaných vzorků dle místa infekce

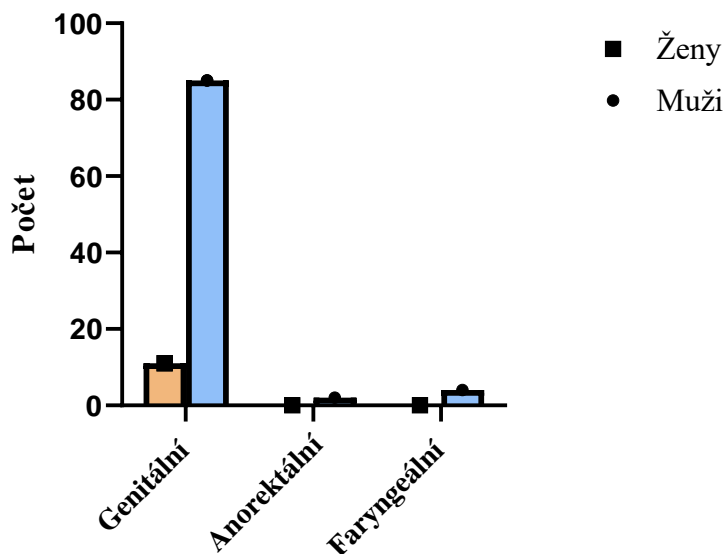
Pod místem infekce se myslí infikovaná část těla, ve které se nachází primární infekce. Izoláty vzorků pocházely z urogenitálního traktu a z extragenitálních lokalit jako je farynx nebo rektum. Počet s procentuálním zastoupením míst infekce je podrobně popsán v tabulce č.7.

Tabulka 7- Rozdělení VNG dle místa infekce a pohlaví

Místo infekce	Počet	PZ
Genitální ženy	11	9,7 %
Genitální muži	85	75,2 %
Anorektální	2	1,8 %
Faryngeální	4	3,5 %
Neznámí	11	9,7 %

V grafu č. 5 je názorné porovnání míst infekcí mezi ženami a muži. V grafu se nevyskytují vzorky s neuvedením místem infekce.

## Porovnání místa infekce a pohlaví



Graf 5- Porovnání VNG dle místa infekce mezi muži a ženami

### 5.4 Přehled citlivosti vzorků na antibiotika

V tabulce č.8 je daný počet citlivých a rezistentních kmenů na testovaná antibiotika. Zkratky antibiotik jsou uvedeny v podkapitole 4.3. Stanovení citlivosti na antibiotika shrnuje tabulka č.4. Rezistence kmenů *N.gonorrhoeae* byla zachycena jenom CIP a AZI, na ostatní testovaná antibiotika byly kmeny citlivé. Proto v této podkapitole v následujících tabulkách budou uvedeny převážně rezistence na CIP a AZI, popř. jejich kombinace. Pro azitromycin je  $MIC \geq 1$  mg/l, pro cefixim a ceftriaxon je  $MIC \geq 0,125$  mg/l, ciprofloxacin je  $MIC \geq 0,06$  mg/l, gentamycin je  $MIC \geq 32$  mg/l a spektinomycin je  $MIC \geq 64$ mg/l. Z 113 vzorků bylo 105 (93 %) citlivých na azitromycin a 8 (7 %) rezistentních. Citlivost na cefixim,ceftriaxon, gentamycin a spektinomycin dosahuje 100%, 113 vzorků. Na ciprofloxacin bylo citlivých 84 (74 %) a rezistentních 29 (26 %),5 mužů, z toho 4 MSM.

Tabulka 8 -Přehled citlivosti a rezistence *N.gonorrhoeae* na antibiotika

Antibiotikum	MIC hranice citlivosti [mg/l]	Počet citlivých vzorků	Počet rezistentních vzorků
AZI	≥1	105	8
CIX	≥0,125	113	0
CTR	≥0,125	113	0
CIP	≥0,06	84	29
GEN	≥32	113	0
SPE	≥64	113	0

### 5.5 Přehled citlivosti vzorků na antibiotika dle místa infekce a sexuální orientace

V tabulce č.9 jsou uvedené počty výskytů izolátů od mužů a žen vzhledem k jejich sexuální orientaci, jejich procentuální zastoupení je znázorněno v grafu č.6. Jak je vidět, žádná žena neuvedla svojí sexuální orientaci jako homosexuální, ale 7 žen svoji orientaci neuvadlo.

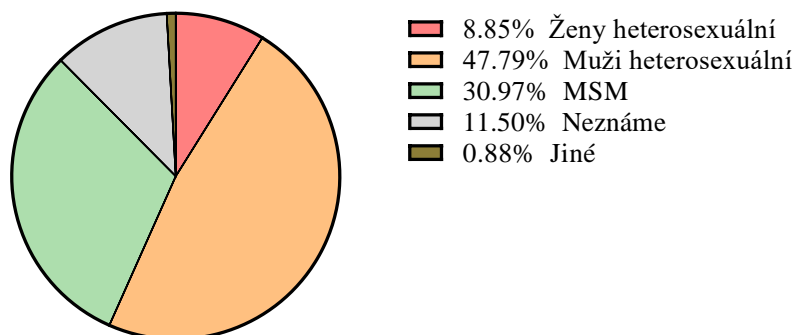
V následujících grafech nejsou započítány vzorky, u kterých nebyly uvedené informace o místě infekce či sexuální orientaci. U 2 vzorků nebyla uvedena sexuální orientace, ale jednalo se o genitální infekci. U 11 vzorků chyběly údaje o sexuální orientaci a o místě infekce.

Tabulka 9- Výskyt izolátů vzhledem na pohlaví a sexuální orientaci

Sexuální orientace	Počet
Heterosexuální ženy	10
Homosexuální ženy	0
Heterosexuální muži	54
MSM	35
Jiná	1
Neznáme	13
Spolu	113



### Pohlaví a orientace



**Total=113**

*Graf 6- Procentuální rozložení VNG dle pohlaví a sexuální orientace*

Podle sexuální orientace, pohlaví a místa infekce jsou v tabulkách č.10,11 a 12 uvedené počty rezistentních kmenů na 6 testovaných antibiotik. V tabulce č.10 jsou uvedené počty rezistentních vzorků od MSM, kteří měli genitální infekci. Kromě korezistence CIP a AZI nebyly zjištěné jiné kombinované rezistence.

*Tabulka 10 - Počet a procentuální zastoupení rezistentních vzorků u MSM genitální infekce*

MSM Genitální infekce	Počet	PZ
Celkem	29	100 %
VNG citlivé na všechny ATB	14	48 %
VNG rezistentní na všechny ATB	0	0 %
Rezistence CIP	14	48 %
Rezistence jenom CIP	10	34,5 %
Rezistence AZI	5	13,8 %
Rezistence jenom AZI	1	3 %
Rezistence CIP+AZI	4	13,8 %
Rezistence CTR	0	0 %
Rezistence GEN	0	0 %
Rezistence CIX	0	0 %
Rezistence SPE	0	0 %

Tabulka č.11 obsahuje společný počet vzorků od MSM u kterých se projevila anorektální nebo faryngeální infekce. Dále obsahuje údaje o citlivosti a rezistenci vzorků.

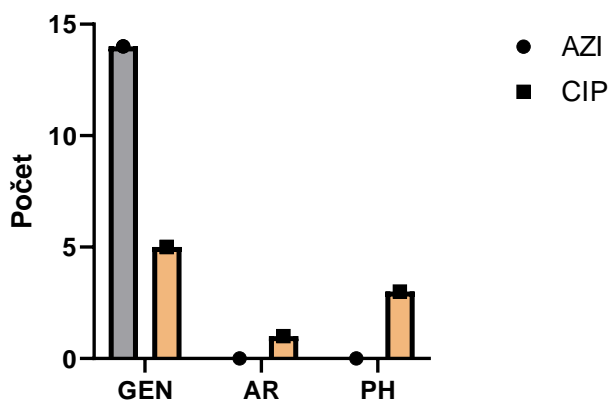
Tabulky neobsahují údaje o všech testovaných antibioticích, a to z důvodu, že nebyly zjištěné rezistentní kmene k jiným antibiotikům než CIP.

Tabulka 11- Rezistence VNG u anorektální a faryngeální infekce MSM

MSM Anorektální infekce	Počet	PZ
Celkem	2	100 %
VNG citlivé na všechny ATB	1	50 %
VNG rezistentní na všechny ATB	0	0 %
Rezistence CIP	1	50 %
<b>MSM Faryngeální</b>		
Celkem	4	100 %
VNG citlivé na všechny ATB	1	25 %
VNG rezistentní na všechny ATB	0	0 %
Rezistence CIP	3	75 %

Údaje o rezistentních vzorcích na AZI a CIP od MSM s genitální, anorektální či faryngeální infekce jsou přehledně porovnané v grafu č.7. Hnědá barva popisuje rezistenci na AZI a šedá rezistenci na CIP. Vzhledem k objevu korezistence CIP a AZI jenom u MSM s genitální infekcí, není v grafu uvedená.

Porovnání rezistence na CIP a AZI



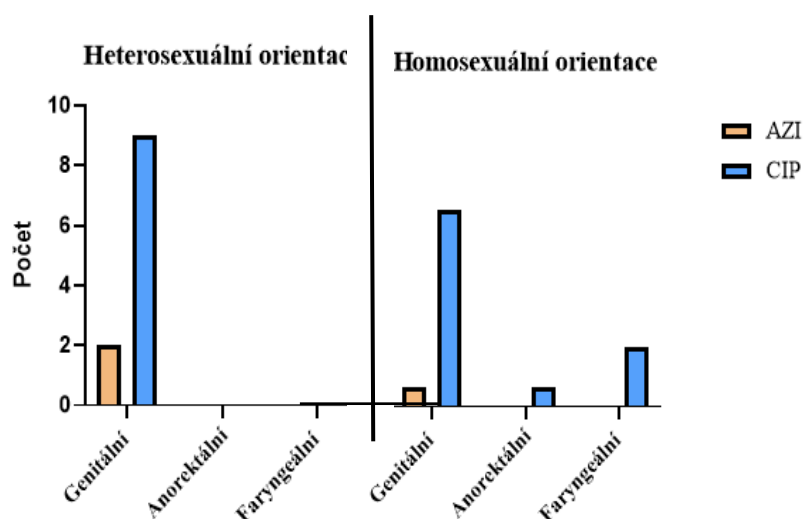
Graf 7 - Porovnání rezistence na CIP a AZI mezi genitální, anorektální a faryngeální infekcí

Tabulka č.12 obsahuje počet a procentuální zastoupení vzorků citlivých na antibiotika u heterosexuálních osob s genitální infekcí. Korezistence CIP a AZI je uvedena v tabulce kvůli porovnání s MSM s genitální infekcí. Jiné kombinované rezistence nebyly zjištěné. Anorektální ani faryngeální infekce u osob s heterosexuální orientací nebyla přítomná.

*Tabulka 12- Výskyt rezistentních vzorků na antibiotika od heterosexuálních osob s genitální infekcí*

Heterosexuální genitální infekce	Počet	PZ
Celkem	64	100 %
VNG citlivé na všechny ATB	53	83 %
VNG rezistentní na všechny ATB	0	0 %
Rezistence CIP	9	14 %
Rezistence AZI	2	3,8 %
Rezistence CIP+AZI	0	0 %
Rezistence CTR	0	0 %
Rezistence GEN	0	0 %
Rezistence CIX	0	0 %
Rezistence SPE	0	0 %

Graf č. 8 porovnává rozdíl mezi rezistencí na antibiotika u mužů heterosexuální a homosexuální orientace. V grafu je rozdělení rezistence i podle místa infekce. Korezistence na CIP a AZI se objevuje jenom při homosexuální orientaci, tudíž není v grafu zahrnutá.



*Graf 8- Porovnání rezistence na antibiotika mezi heterosexuální, homosexuální orientací a místem infekce*

## 5.6 Přehled přidružených a předešlých STI

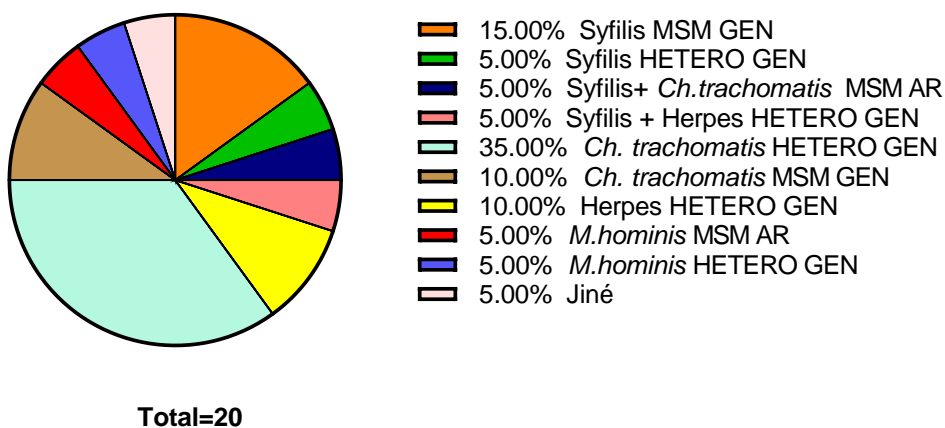
Přidruženou STI mělo celkem 20 osob. Tabulka č.13 není rozdělená dle pohlaví kvůli nedostatečným informacím u žen. U 8 z 10 izolátů nebyla známa přidružená choroba a jedna žena měla současně infekci chlamydiemi. Ostatní vzorky jsou od mužů.

Tabulka 13- Přidružené STI

Přidružená STI	Počet	PZ
Celkem	20	18%
Syfilis	6	30 %
<i>Ch.trachomatis</i>	9	45 %
Genitální herpes	2	10 %
<i>Mycoplasma hominis</i>	2	10 %
Jiné	1	5 %
Neznámé	23	20,4 %
Bez předchozí STI	70	61,9 %

Graf č.9 zobrazuje rozdělení přítomných STI zároveň s kapavkou. Procentuální počet je vypočítaný v závislosti na celkovém počtu vzorků (Total) a je rozdělen na základě sexuální orientace, zahrnující MSM genitální infekci (MSM GEN), MSM anorektální infekci (MSM AR) a heterosexuální orientace s genitální infekci (HETERO GEN). Ve vzorkách se vyskytli různé kombinace přítomných nemocí a také i genitální bradavice, které jsou zahrnuty v kategorii jiné.

### Výskyt přidružených STI



Graf 9 - Výskyt přidružených STI

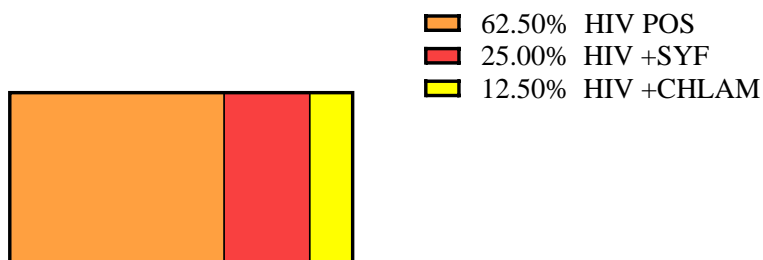
Kromě již zmiňovaných STI se mezi izoláty vyskytly i vzorky HIV pozitivních pacientů. Všechny HIV pozitivní izoláty patřili do kategorie MSM. Ostatní byly negativní nebo neznámí.

Tabulka 14- HIV Status pacientů

HIV Status	Počet	PZ
Pozitivní	8	7 %
Negativní	89	79 %
Neznámí	16	14 %

Tabulka č.14 udává počet jenom HIV pozitivních bez rozdělení s ohledem na jiné STI. Tyto údaje jsou v grafu č.10. Rozdělení je pro HIV pozitivní bez přidružených STI (HIV POS), HIV pozitivní se syfilis (HIV SYPH) a s infekcí *Ch.trachomatis*( HIV+CHLAM).

#### HIV status s přidruženými STI



Total=8

Graf 10- HIV status s přidruženými STI

Rezistence na AZI a CIP u izolátů s přidruženou STI popisuje tabulka č. 15. Výskyt citlivých kmenů na všechny antibiotika převažoval nad rezistentními. Počty rezistentních izolátů se vztahují jenom na MSM, izoláty od osob s heterosexuální orientací, které měly přidruženou STI byly všechny na antibiotika citlivé.

Tabulka 15 - Antibiotická rezistence izolátů s přidruženou infekcí

STI	Rezistence AZI+CIP	Rezistence jenom CIP	Citlivý
Syfilis	0	1	4
<i>Ch.trachomatis</i>	0	1	8
Genitální bradavice	0	1	0
<i>M.hominis</i>	0	0	1
HIV	3	2	3

V tabulce č. 16 jsou uvedené počty a procentuální zastoupení předešlé infekce způsobené *N.gonorrhoeae*. Izoláty s neznámými údaji o předešlé infekci nebudou zpracované v následujících grafech a tabulkách. Celkový počet zpracovaných vzorků bude 99.

Tabulka 16- Předešlá infekce *N.gonorrhoeae*

Předešlá infekce N.G.	Počet	PZ
Ano	29	26%
Ne	70	62%
Neznámá	14	12%

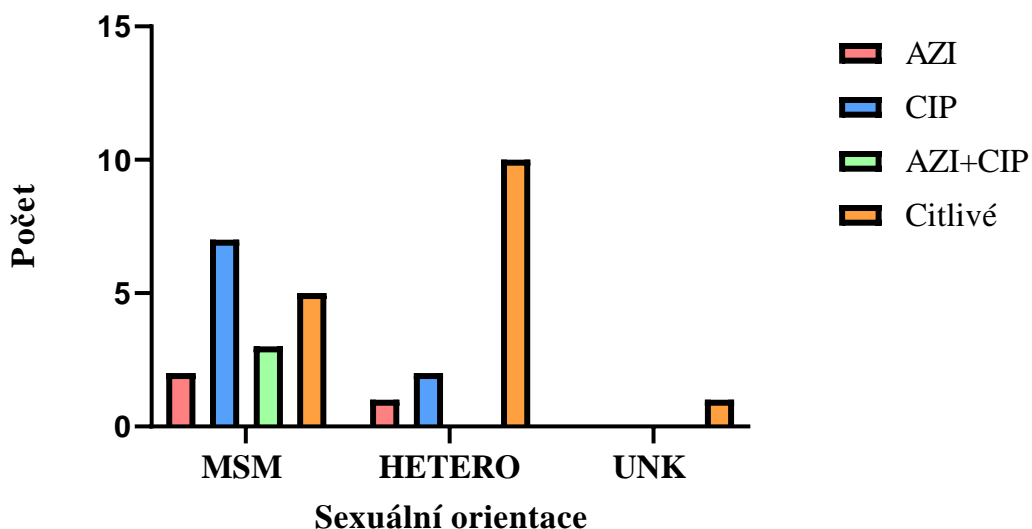
Porovnání rezistence izolátů na CIP a AZI dle výskytu předešlé gonokokové infekce. V tabulce č.16 je celkový počet vzorků s předešlou infekcí 29 a v tabulce č.17 je počet infekcí rozdělen dle sexuální orientace.

Tabulka 17- Rezistence izolátů dle předešlé infekci

Antibiotikum	MSM	PZ	HETERO	PZ	Neznáme	PZ
Rezistence AZI	2	7 %	1	3 %	0	0 %
Rezistence CIP	7	24 %	2	7 %	0	0 %
Rezistence AZI+CIP	3	10 %	0	0 %	0	0 %
Citlivý	5	17 %	8	18 %	1	3 %
Spolu	17	59 %	11	38 %	1	3 %

Názorné a přehledné porovnání počtu rezistencí dle sexuální orientace uvedené v tabulce č.17 jsou v grafu č.11.

### Porovnání rezistence dle předešlé infekce



Graf 11- Porovnání rezistence dle předešlé infekce

$\beta$ -laktamová aktivita (BLA) vzorků je uvedena v tabulce č.18. Hodnoty jsou porovnané s hodnotami zaslányými ze spolupracující laboratoře ve Švédsku, které byly identické s výsledkem ze SZÚ. BLA+ je označení pro pozitivní reakci a BLA – pro negativní.

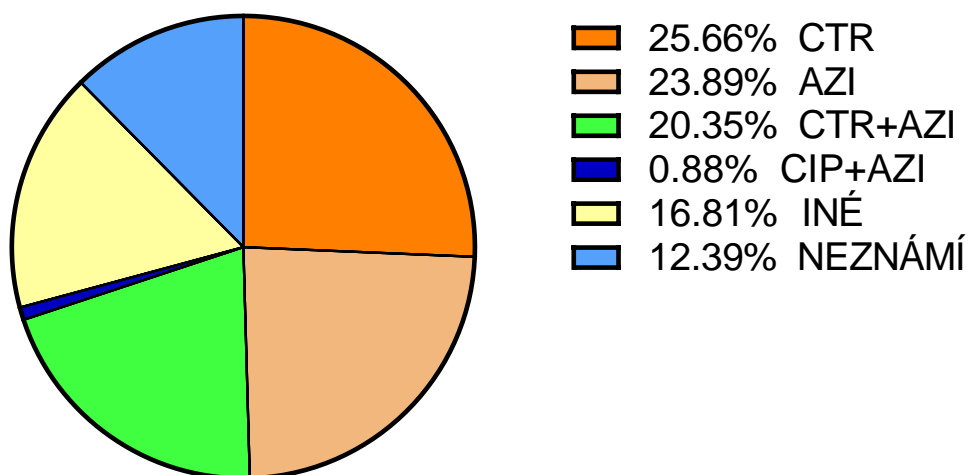
Tabulka 18 -Výsledky nitrocefínového testu na  $\beta$ -laktamázovou aktivitu

BLA	BLA +	PZ	BLA -	PZ
MSM Genitální infekce	8	7 %	21	19 %
MSM Faryngeální infekce	3	3 %	1	1 %
MSM Anorektální infekce	1	1 %	1	1 %
Ženy celkem	0	0 %	17	15 %
HETERO Muži Genitální infekce	0	0 %	54	48 %
Neznáme	0	0 %	6	5 %
Celkem	12	11 %	101	89%

## 5.7 Přehled antibiotické léčby

V graf č. 12 jsou vyobrazeny procentuálně rozdělení předepsané léčby osobám, od kterých byly testované vzorky.

### Antibiotická léčba



Graf 12- Antibiotická léčba osob s gonokokovou infekcí

V tabulce č.19 je uvedený počet vzorků a jejich procentuální zastoupení dle antibiotické léčby a sexuální orientace.

Tabulka 19- Předepsaná léčba antibiotiky rozdělená dle sexuální orientace

Léčba	Počet	PZ
CTR HETERO	19	23%
CTR MSM	10	12%
CTR+AZI HETERO	13	16%
CTR+AZI MSM	0	0%
AZI MSM	3	4%
AZI HETERO	23	28%
CIP HETERO	1	1%
CIP MSM	0	0%
CIX HETERO	0	0%
CIX MSM	1	1%



## 6 DISKUZE

V teoretické části byly uvedeny poznatky z rešerše různých článků, které se zabíraly přiblížením a obecným vysvětlením problémů vyskytujících se ve spojení s infekcí způsobenou *N.gonorrhoeae*. Jak bylo uvedeno v odborném článku od Unema a Shafera z roku 2014, bakterie si vyvinula velký počet mechanismů rezistence na již používaná antibiotika až poslední možností léčby zůstaly cefalosporiny, jmenovitě ceftriaxon a cefixim. Rezistentní kmeny na azitromycin a ciprofloxacin se oproti minulosti, nevyskytují ve velké míře, stejně jako rezistence na spektomycin (Unemo a Shafer 2014).

Na základě výskytu nových rezistentních kmenů a jejich monitorování uvedla ECDC doporučené postupy na vyšetření antibiotické citlivosti odebraných izolátů. Na vyšetření se používá E-test a nitrocefinový test. K dispozici bylo 113 vzorků ze zdravotnických zařízení v ČR archivovaných za rok 2020, s údaji o nakažených osobách. Všechny známé údaje byly u 100 vzorků a u 13 vzorků nebyli zadané informace o sexuální orientaci. Neznámé vzorky nebyli v tabulkách a grafech uvedené, neboť byli uvedené pod názvem Neznámé.

Největší počet nakažených žen bylo mezi 20 – 24let, kde celkový počet byl 6 (5 %) žen a 18 (16 %) mužů. Stejná skupina je druhá nejpočetnější po kategorii 25-29let.

Na třetím místě je věková skupina 40-44 (15,9 %) let, kde 1 (0,88 %) vzorek je od ženy a 17 (15 %) muži, 14,2 % byli vzorky od osob ve věku 30-34. Žádný izolát nebyl od infikovaného novorozence nebo dítěte.

Národnost u výskytu rezistentních kmenů nemá tak velkou roli jako země nákazy. Všechny osoby měli uvedenou pravděpodobnou zemi nákazy Českou republiku. Nakažení se kapavkou v jakékoliv zemi nebo státu a její potenciální roznášení při cestování do dalších zemí, může vést k výskytu rezistentních kmenů, které budou šířené do oblastí kde se před tím nenacházely. WHO varuje před sexuálním turismem v nerozvinutých zemích, kde je ve všeobecnosti nedostatečná STI surveillance a nedostatečně kvalitní zdravotní péče. V dnešní době je jednoduché, a hlavně finančně dostupné cestování do všech končin světa.

Kromě sexuálního turismu do ekonomicky slabších zemí je rozšířené cestování mladých lidí i do vyspělejších států, a ne vždy dbají kvůli nedostatečné informovanosti anebo nezodpovědnosti na bezpečný pohlavní styk. To se netýká jenom kapavky, ale všeobecně všech pohlavních chorob. Důležitá je informovanost o rizicích ale i o možnostech ochrany a o pravidelném testování, či kontrolách u svého lékaře anebo i anonymních testech (praxe je dostupná v zahraničí, nikoliv v ČR) v neziskových organizacích. Další rizikovou skupinou spojenou s cestováním jsou členové armády, kteří využívají sexuální služby jak v zahraničí na misiích, tak i po návratu do země s trvalým pobytem. Rezistenci v tomto případě ovlivňuje i asymptomatická, často dlouhotrvající gonokoková infekce. *N.gonorrhoeae* má tak víc příležitostí převzít rezistenci s kmenziálních nebo jiných patogenních bakterií s jednodušším přenosem.

Quilin a Seifert v článku z roku 2018, popisují náročnost *N.gonorrhoeae* a její variabilitu genových mutací, které jí dovolují měnit metabolismus a tak přežít v organismu na místech s ne vždy ideálními podmínkami na život a množení (Quilin a Seifert 2018).

Tuto schopnost získala z chromozomových a plasmidových přenosů od kmenziálních nebo jiných patogenních bakterií. Proto je pro předpokládanou rezistenci důležité místo primární infekce, sexuální orientace a výskyt přidružené STI nebo předešlé již překonané gonokokové infekci. Největší zastoupení vzorků, přesně 85 vzorků (75,2 %), bylo od mužů s genitální infekcí, 11 (9,7 %) od žen s genitální infekcí, 4 (3,5 %) vzorky od mužů s faryngeální a 2 (4,8 %) s anorektální infekcí. Místo infekce nebylo známé u 11 vzorků (9,7 %). Heterosexuální orientaci mělo 10 žen (8,85 %) a 54 (47,79 %) mužů. Homosexuální orientace byla přítomná jenom u mužů, dohromady 35 (30,97 %) vzorků. Jeden člověk uvedl svoji orientaci jako jinou. 13 (11,5 %) lidí svoji orientaci neuvedlo. Z 29 genitálních infekcí u MSM se u 15 (52 %) vzorků vyskytla rezistence na azitromycin a ciprofloxacin.

Rezistenci na azitromycin měl jeden vzorek (3 %) a na ciprofoxacin mělo rezistenci 10 (34,5 %) vzorků. Byla přítomná i kombinovaná rezistence na azitromycin a ciprofloxacin, celkem ji měly 4 (13,8 %) vzorky. Citlivost na všechna testovaná antibiotika mělo 14 (48 %) vzorků. Kromě genitálních infekcí u MSM se rezistence na ciprofloxacin objevila i u anorektální a faryngeální infekce.

Celkem byli u MSM přítomné 2 anorektální infekce, z toho jeden vzorek byl citlivý na všechna antibiotika a 1 vzorek vykazoval rezistenci na ciprofloxacin. Faryngeálních infekcí bylo více, a to 3 (75 %) rezistentní na ciprofloxacin a 1 (25 %) citlivý na všechny testovaná antibiotika. Heterosexuální orientaci uvedlo dohromady 64 lidí a z nich bylo 53 (83 %) vzorků citlivých na všechna otestovaná antibiotika. Bylo přítomných 9 (14 %) rezistentních vzorků na ciprofloxacin a 2 (3,8 %) vzorky na azitromycin.

Po porovnání citlivostí a rezistence mezi vzorky získanými od pacientů uvádějících heterosexuální a homosexuální orientaci, je viditelný procentuální rozdíl. U pacientů s heterosexuální orientací bylo 83 % vzorků citlivých, u homosexuálních mužů bylo citlivých jenom 48 % vzorků. Tento rozdíl poukazuje na výskyt rezistentnějších kmenů u MSM. Přesný přenos infekce nebyl v datech o vzorcích zahrnutý, ale podle rezistence na ciprofloxacin u extragenitální infekce se dá předpokládat, že kmeny si vyvinutou rezistenci přenášejí a vyskytují v extragenitální ale i genitální oblasti. Přičemž kmeny s rezistencí na azitromycin se pravděpodobně přenášejí a vyskytují hlavně v genitální oblasti. Vyšší míra rezistence u MSM může, být způsobená upřednostňovaným typem pohlavního styku mezi muži, a to je anální, orální, pasivní i aktivní. Stejný typ pohlavního styku může být i u heterosexuálních osob, mezi mužem a ženou, ale třeba vycházet též z informace o možné míře promiskuity. U MSM se předpokládá, že je velká míra promiskuity a s tím související výskyt dalších pohlavních chorob.

Přidruženou STI mělo celkem 20 osob, což je z celkového množství 18 %. Mezi pohlavními chorobami se nacházela syfilis, infekce *Ch.trachomatis*, genitální herpes, onemocnění vyvolané *Mycoplasma hominis* a jejich kombinace. Syfilis mělo 6 (30 %) osob. 15 % tvořili MSM s genitální infekcí, 5 % heterosexuální muži s genitální infekcí, 5 % MSM mělo kombinaci syfilis a chlamydiovou infekci, 5 % bylo heterosexuálních mužů s kombinací genitálního herpesu a syfilis. Infekci vyvolanou *Ch.trachomatis* mělo 9 (45 %) osob, z toho bylo 35 % heterosexuálních mužů a 10 % MSM.

Pozitivní nález na genitální herpes měly 2 (10 %) osoby, z toho pouze jeden heterosexuální muž měl výhradně jenom herpes, druhý vzorek byl již výše popsán v kombinaci syfilis a herpes. Jedna z posledních STI byla infekce způsobená *M.hominis*. Celkem jí měli 2 (10 %) osoby, z toho jeden byl heterosexuální muž a druhý homosexuální muž.

Jako poslední přidružená STI je HIV. Pozitivní status mělo 8 (7 %) osob, negativní 89 (79 %) osob a neznámý 16 (14 %) osob. Dle článku od Price a Bash z roku 2019, přidružená infekce, která nejvíc ovlivňuje gonokokovou rezistenci, je HIV. Výzkum ukázal, že sperma od HIV pozitivního pacienta trpícího gonokokovou uretritidou obsahuje až 8- krát větší koncentraci HIV RNA. Zároveň se aktivují lymfocyty což způsobuje těžší průběh obou onemocnění a tím se zvětšuje i reakce *N.gonorrhoeae* s komenzálními bakteriemi a „propůjčuje“ si jejich mechanismy rezistence (Price a Bash 2019).

Z celkového počtu vzorků od osob s HIV byli 3 rezistentní na azitromycin a zároveň na ciprofloxacin. Jenom na ciprofloxacin byly rezistentní 2 vzorky a další 3 byly citlivé na všechna antibiotika. Ze vzorků pozitivně testovaných na syfilisu se objevila úplná citlivost u 4 vzorků a 1 vzorek byl rezistentní na ciprofloxacin. Osoby s infekcí způsobené *Ch.trachomatis*, měly 8 vzorků citlivých a jeden rezistentní na ciprofloxacin.

Jako doplněk k E-testu byl proveden nitrocefinový test, který dokazuje  $\beta$ -laktamázovou aktivitu bakterie. Výsledky byly porovnané s údaji, které byly zaslány ze spolupracující Švédské laboratoře. Naše i zaslány výsledky byly totožné. Celkový počet pozitivních izolátů na  $\beta$ -laktamázu byl 12 (11 %) a negativních byl 101 (89 %) vzorků. Z 11 % pozitivních bylo 7 % izolátů od MSM s genitální infekcí, 3 % od MSM s faryngeální infekcí a 1 % izolátů od MSM s anorektální infekcí.

Z 89 % negativních izolátů bylo 48 % od heterosexuálních mužů, 19 % od MSM s genitální infekcí, 15 % od heterosexuálních žen s genitální infekcí a 5 % bylo od osob s neznámou orientací a neznámým místem infekce. Jenom 1 % negativních vzorků bylo od MSM s anorektální infekcí a taktéž 1 % od MSM s faryngeální infekcí.

Z toho můžeme usoudit, že když většina izolovaných kmenů *N.gonorrhoeae* ze vzorků neměla  $\beta$ -laktamázovou aktivitu, při porovnání mezi sexuálními orientacemi je zjevný rozdíl. Kvůli malému množství vzorků z anorektální a faryngeální oblasti, není možné z použitých vzorků s jistotou potvrdit vyšší  $\beta$ -laktamázovou aktivitu. Signifikantní rozdíl je, ale při porovnání mezi vzorky MSM a heterosexuálních mužů s genitální infekcí. Oproti heterosexuálním mužům, skupina MSM má 7 % izolátů pozitivních.

Vzhledem na absenci údajů o přenosu, můžeme jenom předpokládat, že nakažení mohlo být oro-genitální nebo ano-genitální, což by podporovalo tvrzení o  $\beta$ -laktamázové aktivitě u kmenů od MSM s anorektální či faryngeální infekcí. Důležitost monitorování  $\beta$ -laktamázové aktivity je významná pro předpokládání snížení citlivosti anebo vývoje rezistence na  $\beta$ -laktamová antibiotika, mezi která patří i cefalosporiny. V souboru izolátů, které byly používány na testy citlivosti, se nevyskytly žádné vzorky, ve kterých by byla rezistence viditelně ovlivněná tvorbou  $\beta$ -laktamáz.

K rezistenci na ciprofloxacin a azitromycin se kromě přidružených chorob, přidává i rezistence na základě předešlé, již léčené gonokokové infekce. Z 113 osob 29 (26 %) překonalo gonokokovou infekci v minulosti. Z toho 17 (59 %) vzorků bylo od MSM, 11 (38 %) vzorků od heterosexuálních mužů a 1 (3 %) vzorek byl neznámý. Největší zastoupení měla rezistence na ciprofloxacin u MSM, což bylo 7 vzorků (24 %). Kombinovanou rezistenci na azitromycin a ciprofloxacin měly 3 vzorky (10 %) a 2 vzorky (7 %) jeví rezistenci jenom na azitromycin. Citlivých na všechna antibiotika bylo 5 vzorků (17 %). Osoby s heterosexuální orientací měly vysokou míru citlivých kmenů, 8 vzorků z 11, to je 18 %. Rezistenci na ciprofloxacin měly 2 izoláty (7 %) a 1 izolát byl rezistentní na azitromycin (3 %). Podle doporučení CDC na léčbu gonokokových infekcí se azitromycin používá jenom jako duální léčba k ceftriaxonu nebo cefiximu. Důvod můžeme vidět v předešlých procentuálních zastoupeních rezistencí, který nebyl oproti citlivosti větší, ale průkaz už jenom 8% rezistence, naznačuje její postupný vývoj. Obava z narůstající rezistence na azitromycin je opodstatněná a to z důvodu, léčby infekcí způsobených *Ch.trachomatis*. Osoby s touto přidruženou infekcí, nemusí tedy snášet méně účinnou anebo méně vhodnou kombinaci antibiotik (Workowski et al. 2021)

Z poskytnutých údajů o léčbě, se lékem volby stal ceftriaxon, bylo ním léčených 19 osob s heterosexuální orientací (23 %) a 10 osob s homosexuální orientací (12 %). Jenom azitromycinem bylo léčeno 26 osob a to 3 (4 %) osoby s homosexuální orientací a 23 (28 %) s heterosexuální orientací. Duální léčba ceftriaxonem a azitromycinem byla u 13 (16 %) osob s heterosexuální orientací a jedna osoba měla přítomnu i chlamydiovou infekci. Azitromycinem byly léčeny 3 (4 %) MSM a jeden MSM byl léčen cefiximem. S dostupných údajů není možné vyvodit závěr, že u našich vzorků byla přidružená infekce, která by ovlivňovala léčbu.

I když vzorky byly již zpracované v jiných zařízeních, je velmi důležité dodržovat doporučený postup pro správný odběr a zpracování vzorků. V laboratorní diagnostice se používají kromě molekulárních metod i kultivace. Všechny použité vzorky byly identifikované na základě kultivace, která nemusí být vždy dostatečně citlivá. Důležitým faktorem mimo odběr je i léčba pacienta, kterou nemusí přiznat. Pokud se jedná o faryngeální infekci, pacient může předpokládat, že se jedná o jiného patogena, který má velmi často stejné příznaky jako gonokoková faryngeální infekce. Lhostejnost nakažených lidí může přerůst až do takové míry, že si sami nastaví léčbu, bez doporučení specializovaného lékaře. Mnohokrát se takové osoby při neustupujících symptomech ani nepřiznají ke snaze o samoléčbu. Odběr, který by byl odebraný od pacienta s už užívaným antibiotikem, není vhodný na kultivaci. Nevhodná volba antibiotik nemusí mít baktericidní účinek, ale určitě omezí její růst a šíření, tudíž inhibovaná bakterie na agaru nemusí vyrůst a laboratorní nález bude negativní. Kromě toho, může podpořit zvýšení rezistence. Proto WHO doporučuje na diagnostiku molekulární metody. Mezi ně patří metody amplifikační, jako RT-PCR, která amplifikuje nukleovou kyselinu bakterie i po jejím uhynutí. Metoda je finančně nákladnější, ale spolehlivější a nemusí se dodržovat složité podmínky na udržení životnosti bakterie při převozu vzorků. Druhá využívaná metoda je hybridizace, kdy je dopředu stanovená sekvence nukleotidů a po komplementárním napojení vyzáří určitý světelný signál, který se odečítá na specializovaném přístroji. Tato molekulární metoda, byla a stále je používána, ale podle CDC je nedostatečně specifická. Problémem je genová multivariabilita některých *N.gonorrhoeae*.

Tím se výrazně zvyšují náklady na diagnostiku a vývoj nových sond, které by byly dostatečně specifické. RT-PCR má v posledních letech i možnost identifikace více patogenů z jednoho vzorku, metoda se nazývá Multiplex RT-PCR a je možné její pomocí identifikovat velké množství patogenů v jednom cyklu. Finanční náklady na potřebný materiál, reagentie a přístroje, záleží na zařízení, které se věnuje identifikaci patogenů.

## 7 ZÁVĚR

Kapavka je druhá nejrozšířenější STI na světě. Od 50. let 20. století je výrazný pokles nakažených, ale je stále nejrozšířenější pohlavní chorobou i v ČR. Hlavním problémem je vzrůstající výskyt multirezistentních kmenů mezi symptomatickými i asymptomatickými infekcemi. I v našem souboru, byla dokázána souvislost mezi rezistencí na antibiotika a místem infekce, která souvisí se sexuální orientací. Vysoký výskyt rezistence na azitromycin a ciproloxacin u homosexuálních mužů, od kterých byly izoláty testované na antibiotika, toto tvrzení jenom podporuje. Je těžké říct, či je to způsobené nedostatečnou informovaností anebo jen lhostejností promiskuitních lidí. Pokud se budou rezistentní kmeny *N.gonorrhoeae* šířit i nadále a globálně, je pravděpodobné, že se z kapavky stane v mnohých případech neléčitelná choroba. Problémovou skupinou budou osoby s asymptomatickou infekcí, která bude ve velké míře přenášena až do objevení symptomů pozdější infekce. Tím, že symptomy se mohou objevit až po několika letech, bude počet přenosů a velký a incidence infekcí vzrůstající.

Aby se předešlo již popsanému riziku, je třeba podporovat nejen informovanost o ochraně a testování ale i spolupráci specializovaných zařízení na programu monitorování antibiotické rezistence. Poznatky z podobných výzkumů mohou pomoci vyvíjení vakcíny, která by byla ze začátku účinná aspoň na omezení citlivosti jednice k infekci a v budoucnost i na kompletní ochranu organismu před *N.gonorrhoeae*.

## 8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ATP – adenosintrifosfát

AZI – azitromycin

BP – breakpoint

CD – diferenciační antigen

CFU-colony forming unit

CIP – ciprofloxacin

CIX – cefixim

CTR – ceftriaxone

DGI – Diseminovaná gonokoková infekce

DHPS – dihydropteorát

ECDC – European Centre for Disease Prevention and Control

ESC – extended spectrum cephalosporines

EUCAST – The European Committe on Antimicrobial Susceptibility Testing

EURO-GASP – European Gonococcal Antimicrobial Surveillance Program

FarAB – fatty acid efflux

GABA – kyselina  $\gamma$ -aminomáslená

GEN – gentamycin



GISP – The Gonococcal Isolate Surveillance Project

GyrA – gyráza typu A

GyrB – gyráza typu B

IgA – imunoglobulin A

IL – interleukin

IM – intra muskulárně

LOS – lipooligosacharidy

MAC – minimální antibakteriální koncentrace

MacAB – macrolide eflux

MATE – the multidrug and toxic compound extrusion

MBC – minimální baktericidní koncentrace

MenB – *N.meningitidis* , sérotyp B

MIC – minimální inhibiční koncentrace

MtrCDE – multiple transferable rezistence

MSM – Men who have sex with men

*N.gonorrhoeae- Neisseria gonorrhoeae*

NAG – N-acetyl-glukosamin

NAMA – kyselina N-acetylmuramová

NorM – multidrug efflux transporter

NRL – Národní referenční laboratoř

OMV – outer membrane vesicles

OPA proteiny – opacity proteins

PBP – Penicilin-binding Proteins

PID – Pelvic Infalmantory Disease

PorB-porin B

RND – the resistance-nodulation cell division

SMR – small drug rezistence

SPE – spektinomycin

STI – Sexual Trasmitted Infection

SZÚ – Státní zdravotní ústav

WHO – World Health Organization

## 9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ABRAMS, A. Jeanine a David L. TREES, 2017. Genomic sequencing of *Neisseria gonorrhoeae* to respond to the urgent threat of antimicrobial-resistant gonorrhea. *Pathogens and Disease* [online]. **75**(4) [cit. 2022-04-18]. ISSN 2049-632X. Dostupné z: doi:10.1093/femspd/ftx041
2. AMLEROVÁ, PHD., MUDr. Jana a RNDr.Karel FAJRLÍK, PHD., 2018. *Mikrobiologie: Vyšetřovací metody v mikrobiologii-stanovení citlivosti k antimikrobním látkám* [online]. [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: <https://www.vovcr.cz/odz/zdrav/183/page00.html>
3. APARI, Péter, João Dinis DE SOUSA, Viktor MÜLLER a Glenn F. RALL, 2014. Why Sexually Transmitted Infections Tend to Cause Infertility: An Evolutionary Hypothesis. *PLoS Pathogens* [online]. **10**(8) [cit. 2022-04-15]. ISSN 1553-7374. Dostupné z: doi:10.1371/journal.ppat.1004111
4. ARYAL, Sagar, 2021. Antimicrobial Susceptibility Testing (AST)- Types And Limitations. *Microbenotes* [online]. 18.4.2021 [cit. 2022-04-18]. Dostupné z: <https://microbenotes.com/antimicrobial-susceptibility-testing-ast-types-and-limitations/>
5. BENEŠ, Jiří, 2018. *Antibiotika: systematika, vlastnosti, použití*. Praha: Grada Publishing, 600 s. ISBN 978-80-271-0636-3.
6. BHARAT, Amrita, Irene MARTIN, Walter DEMCZUK, Vanessa ALLEN, David HALDANE, Linda HOANG a Michael R. MULVEY, 2016. Complete Genome Sequences of *Neisseria gonorrhoeae* with Coresistance to First-Line Antimicrobials. *Genome Announcements* [online]. **4**(5), e00966-16 [cit. 2022-05-03]. ISSN 2169-8287. Dostupné z: doi:10.1128/genomeA.00966-16

7. BRABENCOVÁ, Bc.Sylvia, 2013. *Vývoj rezistence na antibiotika Neisseria gonorrhoeae ve FN Brno*. Hradec Králové. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra biologických a lékařských věd. Vedoucí práce MUDr.Pavla Paterová.
8. BUSH, Natassja G., Isabel DIEZ-SANTOS, Lauren R. ABBOTT a Anthony MAXWELL, 2020. Quinolones: Mechanism, Lethality and Their Contributions to Antibiotic Resistance. *Molecules* [online]. **25**(23) [cit. 2022-02-09]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25235662
9. EGAN, Alexander J. F., 2018. Bacterial outer membrane constriction. *Molecular Microbiology* [online]. **107**(6), 676-687 [cit. 2021-12-24]. ISSN 0950382X. Dostupné z: doi:10.1111/mmi.13908
10. ETEBU, Ebimieowei a Ibemologi ARIKEKPAR, 2016. Antibiotics:Classification and mechanism of action with emphasis on molecular perspectives. *BluePen Journals Ltd.: International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research*. 90-101[cit. 2021-12-24]. ISSN 2053-1818.Dostupné z: [http://www.bluepenjournals.org/ijambr/abstract/2016/October/Etebu\\_and\\_Arikekpar.php](http://www.bluepenjournals.org/ijambr/abstract/2016/October/Etebu_and_Arikekpar.php)
11. GHANEM MD. PHD., Khalil G. *Clinical manifestations and diagnosis of Neisseria gonorrhoeae infection in adults and adolescents* [online]. 17.9.2021 [cit. 2022-04-28]. Dostupné z: <https://medilib.ir/uptodate/show/15893>
12. GOERING, Richard V., Hazel M. DOCKRELL, Mark A. ZUCKERMAN, Ivan M. ROITT a Peter L. CHIODINI, JULÁK, Jaroslav, ed., 2016. *Mimsova lékařská mikrobiologie*. 5. vydání. Přeložil Jan BOBEK, přeložil Renáta ČERMÁKOVÁ, přeložil Karel HOLADA, přeložil Zora MĚLKOVÁ, přeložil Tibor MOŠKO, přeložil Jan NOVÁK, přeložil Ludmila PROKEŠOVÁ, přeložil Jiřina SUCHANOVÁ. Praha: Stanislav Juhaňák - Triton. ISBN 978-80-7387-928-0.

13. Gonococcal Isolate Surveillance Project. *CDC-centers for disease control and prevention* [online]. USA: U.S. Department of Health & Human Services, 2021, 30.8.2021 [cit. 2022-04-12]. Dostupné z <https://www.cdc.gov/std/gisp/default.htm>
14. Gonorrhoea-Agar Dilution: Antimicrobial Agents and Range of dilutions. *CDC-centers for disease control and prevention* [online]. U.S. Department of Health & Human Services, 2013, 10.12.2013 [cit. 2022-04-20]. Dostupné z: <https://www.cdc.gov/std/gonorrhea/lab/agar.htm>
15. HANDING, Jonathan W., Stephanie A. RAGLAND, Urmila V. BHARATHAN a Alison K. CRISS, 2018. The MtrCDE Efflux Pump Contributes to Survival of *Neisseria gonorrhoeae* From Human Neutrophils and Their Antimicrobial Components. *Frontiers in Microbiology* [online]. **9** [cit. 2022-05-04]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2018.02688
16. HOLLAND-HALL, Cynthia, 2022. Sexually Transmitted Infection Treatment Guidelines for Adolescent Health Providers: What's New in 2021?. *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology* [online]. [cit. 2022-03-21]. ISSN 10833188. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpag.2021.12.019
17. HOŘEJŠÍ, Václav, Jiřina BARTŮŇKOVÁ, Tomáš BRDIČKA a Radek ŠPÍŠEK. *Základy imunologie*. 6., aktualizované vydání. V Praze: Stanislav Juhaňák - Triton, 2017. ISBN 978-80-7553-250-3.
18. HOLMES, King.K., P.Frederick SPARLING, Walter E. STAMM, Peter PIOT, Judith N. WASSERHEIT, Lawrence COREY a Myron S. COHEN, 2007. *Sexually Transmitted Diseases, Fourth Edition*. 4rd ed. USA: McGraw Hill / Medical, 607-611. ISBN 9780071593113.

19. HUI, Ben B, Thilini N PADENIYA, Nic REBULI, et al., 2022. A Gonococcal Vaccine Has the Potential to Rapidly Reduce the Incidence of Neisseria gonorrhoeae Infection Among Urban Men Who Have Sex With Men. *The Journal of Infectious Diseases* [online]. **225**(6), 983-993 [cit. 2022-05-03]. ISSN 0022-1899. Dostupné z: doi:10.1093/infdis/jiab581
20. KODÍČEK, Milan, Olga VALENTOVÁ a Radovan HYNEK, 2015. *Biochemie: chemický pohled na biologický svět*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. ISBN 978-80-7080-927-3.
21. MEYER, Thomas a Susanne BUDER, 2020. The Laboratory Diagnosis of Neisseria gonorrhoeae: Current Testing and Future Demands. *Pathogens* [online]. **9**(2) [cit. 2022-04-17]. ISSN 2076-0817. Dostupné z: doi:10.3390/pathogens9020091
22. NAVRÁTIL, Leoš, 2017. *Vnitřní lékařství pro nelékařské zdravotnické obory*. 2., zcela přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing. ISBN 978-80-271-0210-5.
23. NG, Lai-King a Irene E MARTIN, 2005. The Laboratory Diagnosis of Neisseria gonorrhoeae. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology* [online]. **16**(1), 15-25 [cit. 2022-05-03]. ISSN 1712-9532. Dostupné z: doi:10.1155/2005/323082
24. ORGAN, Mackenzie K. a Catherine F. DECKER, 2016. Gonorrhea. *Disease-a-Month* [online]. **62**(8), 260-268 [cit. 2022-03-01]. ISSN 00115029. Dostupné z: doi:10.1016/j.disamonth.2016.03.009
25. PRICE, PHD., Geregory A. a Margaret C. BASH, MD, MPH. *Epidemiology and pathogenesis of Neisseria gonorrhoeae infection* [online]. 10.10.2019 [cit. 2022-05-03]. Dostupné z: <https://medilib.ir/uptodate/show/7587>

26. QUILLIN, Sarah Jane a H Steven SEIFERT, 2018. Neisseria gonorrhoeae host adaptation and pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology* [online]. **16**(4), 226-240 [cit. 2022-02-26]. ISSN 1740-1526. Dostupné z: doi:10.1038/nrmicro.2017.169
27. RESL, Vladimír, 2019. *Základy depistáže a organizace venerologické práce: sexuálně přenosné infekce (STI)*. Plzeň: Západočeská univerzita v Plzni. ISBN 978-80-7071-387-7.
28. RICE, Peter A., 2005. Gonococcal Arthritis (Disseminated Gonococcal Infection). *Infectious Disease Clinics of North America* [online]. **19**(4), 853-861 [cit. 2022-02-28]. ISSN 08915520. Dostupné z: doi:10.1016/j.idc.2005.07.003
29. SCHINDLER, Jiří, 2014. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů. 2., dopl. a přeprac. vyd.* Praha: Grada, 224 s. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-4771-2.
30. ŠMARDA, Jan, 2005. *Metody molekulární biologie*. Brno: Masarykova univerzita. ISBN 80-210-3841-1.
31. UNEMO, Magnus a William M. SHAFER, 2014. Antimicrobial Resistance in Neisseria gonorrhoeae in the 21st Century: Past, Evolution, and Future. *Clinical Microbiology Reviews* [online]. **27**(3), 587-613 [cit. 2022-03-30]. ISSN 0893-8512. Dostupné z: doi:10.1128/CMR.00010-14
32. WORKOWSKI, Kimberly A., Laura H. BACHMANN, Philip A. CHAN, et al., 2021. Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines, 2021. *MMWR. Recommendations and Reports* [online]. **70**(4), 1-187 [cit. 2022-03-21]. ISSN 1057-5987. Dostupné z: doi:10.15585/mmwr.rr7004a1
33. ZÁKOUCKÁ, Hana, 2009. Kapavka – stručné připomenutí aktuálního problému. *INFORMACE Z NRL A ODBORNÝCH PRACOVIŠŤ SZÚ. SZÚ*, Praha: SZÚ - NRL pro diagnostiku syfilis, **18**(12), 371-373. Dostupné také z: [http://www.szu.cz/uploads/371\\_kapavka.pdf](http://www.szu.cz/uploads/371_kapavka.pdf)

## 10 SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

Obrázek 1 - Ukázka diskového testu, zástupce kvalitativní metody (nalevo) a E-testu, zástupce kvantitativní metody(napravo) (Aryal 2021) .....	44
Obrázek 2 - Inhibiční zóna v tvaru elipsy (vlastní fotografie).....	46
Obrázek 3 - Inhibiční zóna vytvořená N.gonorrhoeae v blízkosti ciprofloxacinu a ceftriaxonu (vlastní fotografie) .....	50
Obrázek 4 - Nitrocefínový test na papírku, P-pozitivní výsledek, N.-negativní výsledek (vlastní fotografie) .....	51



## 11 SEZNAM POUŽITÝCH TABULEK

Tabulka 1- Rozdělení tetracyklinů a příklady antibiotických přípravků .....	16
Tabulka 2- Rozdělení chinolonových antibiotik a příklad nejvýznamnějších přípravků .....	17
Tabulka 3 - Použitý materiál a zařízení .....	48
Tabulka 4- Seznam testovaných antibiotik .....	50
Tabulka 5- Věkové rozdělení mužů a žen s procentuálním zastoupením .....	53
Tabulka 6 -Přehled národností VNG .....	54
Tabulka 7- Rozdělení VNG dle místa infekce a pohlaví.....	55
Tabulka 8 -Přehled citlivosti a rezistence N.gonorrhoeae na antibiotika.....	57
Tabulka 9- Výskyt izolátů vzhledem na pohlaví a sexuální orientaci.....	57
Tabulka 10 - Počet a procentuální zastoupení rezistentních vzorků u MSM genitální infekce.....	58
Tabulka 11- Rezistence VNG u anorektální a faryngeální infekce MSM.....	59
Tabulka 12- Výskyt rezistentních vzorků na antibiotika od heterosexuálních osob s genitální infekcí .....	60
Tabulka 13- Přidružené STI .....	61
Tabulka 14- HIV Status pacientů .....	62
Tabulka 15 - Antibiotická rezistence izolátů s přidruženou infekcí.....	63
Tabulka 16- Předešlá infekce N.gonorrhoeae .....	63
Tabulka 17- Rezistence izolátů dle předešlé infekci.....	63
Tabulka 18 -Výsledky nitrocefínového testu na $\beta$ -laktamázu aktivitu .....	64
Tabulka 19- Předepsaná léčba antibiotiky rozdělená dle sexuální orientace.....	65