

MOŽNOSTI INHIBICE MIKROBIÁLNÍHO BIOFILMU

ZDENĚK KODEŠ, ALENA ČEJKOVÁ a IRENA KOLOUCHOVÁ

Ústav biotechnologie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6
kodesz@vscht.cz

Došlo 7.10.21, přijato 20.2.22.

Klíčová slova: biofilm, inhibice, dezinfekce, antibiotika, stilbeny

• <https://doi.org/10.54779/chl20220335>

Obsah

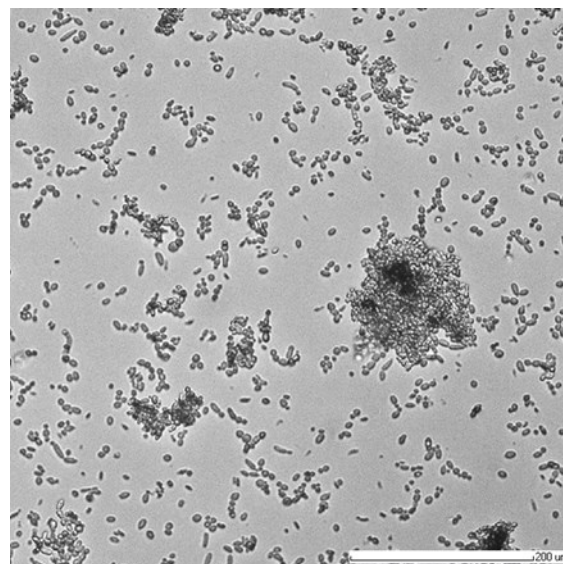
1. Úvod
2. Možnosti inhibice mikrobiálního biofilmu
 - 2.1. Chemická dezinfekce
 - 2.1.1. Dezinfekční látky používané ve zdravotnictví
 - 2.1.2. Účinnost dezinfekčních látek na biofilmy
 - 2.2. Antibiotika
 - 2.2.1. Antibiotika inhibující syntézu buněčné stěny bakterií
 - 2.2.2. Zástupci antibiotik narušující funkci cytoplazmatické membrány
 - 2.2.3. Antibiotika inhibující proteosyntézu
 - 2.2.4. Skupiny antibiotik inhibující syntézu nukleových kyselin
 - 2.3. Antimikrobiální látky rostlinného původu
 - 2.3.1. Stilbeny
3. Závěr

1. Úvod

Častou formou výskytu mikroorganismů v přírodních populacích je tzv. biofilm. Jedná se o seskupení buněk přisedlých k nejrůznějším povrchům. Existence v tomto uskupení je pro mikroorganismy z mnoha důvodů velice výhodná, a proto se v této formě přirozeně vyskytují ve většině prostředí (obr. 1). Trojrozměrná struktura biofilmu (umožněno především díky produkci extracelulárních polymerních struktur) má pro mikroorganismy nejen obrannou funkci vlivem několika vrstev, ale také značně přispívá ke schopnosti rezistence, ve srovnání se suspenzními buňkami. Díky mezibuněčné komunikaci v rámci biofilmu dochází k snadšímu přenosu genetické informace, včetně

genů pro rezistenci vůči antimikrobiálním látkám. Schopnost rezistence mikroorganismů v rámci biofilmu může být dále podpořena přítomností určitých typů enzymů či nejrůznějších povrchových struktur¹.

S biofilmy se setkáváme v medicíně, ale i v dalších odvětvích průmyslu, jako je potravinářský, chemický a biochemický, biotechnologický i farmaceutický. Biofilmy se podílejí např. na korozi kovů, v průmyslových výměnících tepla tvoří tepelnou izolační vrstvu a snižují jejich účinnost². Kdekoli v průběhu výrobního či skladovacího procesu jsou pak nejčastější příčinou kažení potravin a meziproductů v potravinářském průmyslu³. Obdobné problémy způsobují i v biotechnologickém a farmaceutickém průmyslu, kde je dokonalá čistota výrobních zařízení vysokou prioritou. Při výrobě farmaceutických vod je nutné zajistit, aby nedocházelo ke vzniku biofilmů ani žádné jiné formě mikrobiální kontaminace⁴. Biofilmy jsou také zdrojem celé řady infekcí a otrav, jako např. těžkých zánětů plic u pacientů s cystickou fibrózou, infekční endokarditidy (zánětu endokardu a srdečních chlopní) nebo nozokomiálních infekcí (vznikají v souvislosti s hospitalizací pacientů v nemocničním zařízení). Biofilmy se často vyskytují také na kanylách, katétrech, implantátech, kloubních náhradách apod. Nejběžnější formou výskytu biofilmů je zubní plak⁵.



Obr. 1. Ukázka biofilmu kvasinky *Candida krusei* – fotografie pořízena pomocí systému Cellavista, automatizovaného mikroskopu s inverzní optikou

2. Možnosti inhibice mikrobiálního biofilmu

Vzhledem k širokému výskytu mikrobiálních biofilmů je třeba disponovat škálou prostředků pro jejich eliminaci, nejčastěji prostřednictvím chemických dezinfekčních látek a antimikrobiálních látek.

2.1. Chemická dezinfekce

Dezinfekční postupy mohou být fyzikální, chemické nebo kombinované. Jejich cílem je zabránit přenosu nákazy/infekce. Podle vztahu ke konkrétní epidemiologické situaci lze dezinfekci rozdělit na ochrannou a ohniskovou. Ochranná neboli profylaktická dezinfekce nemá vztah ke konkrétnímu ohnisku nákazy a je součástí komplexních hygienických opatření. Ohnisková neboli represivní dezinfekce je zaměřena na zneškodňování patogenních mikroobů v ohnisku nákazy a přerušování dalšího šíření infekce⁶. Účinnost biocidních látek je ovlivňována různými faktory, především koncentrací biocidu, dobou působení, pH, teplotou, přítomností látek narušujících účinnost i vlastnostmi samotných mikroorganismů⁷.

2.1.1. Dezinfekční látky používané ve zdravotnictví

Často užívanými dezinfekčními látkami jsou hydroxidy a jiné alkálie. Jejich účinek závisí na koncentraci hydroxidových iontů, jsou často přidávány pro zvýšení účinnosti k jiným dezinfekčním roztokům⁶. Účinek kyselin a jejich derivátů je založen na působení vodíkových iontů, aniontů nebo celých molekul, povrchové aktivitě, oxidačních nebo dehydratačních schopnostech. Použití anorganických kyselin je značně omezeno nejen ve zdravotnictví, ale také v průmyslu pro jejich korozivní a dráždivé účinky⁶. Látky s oxidačním účinkem způsobují poškození buněčných struktur, DNA a enzymů prostřednictvím uvolňovaných radikálových částic⁸. Halogeny způsobují oxidativní poškození a vznik pro buňku toxických sloučenin⁶. Nejširší využití mají sloučeniny s aktivním chlorem a jodové přípravky ve formě vodných a alkoholových roztoků nebo jodoforů⁸. Alkoholy mají schopnost koagulovat a denaturovat bílkoviny⁶. Nejúčinnější jsou 60–70% vodné roztoky a jejich účinnost není významně ovlivňována ani přítomností organické kontaminace⁸. Fenolové sloučeniny patří mezi látky poškozující buněčné membrány⁸. K dezinfekci je možné použít i sloučeniny různých kovů. Mechanismem účinku jsou reakce s thiolovými skupinami bílkovin, čímž je narušena funkce enzymů. Působí především na gram-negativní bakterie^{6,8}. Povrchově aktivní látky, tenzidy, snižují povrchové napětí svých rozpouštědel. Anionaktivní tenzidy ve vodném prostředí disociují na aktivní anion a neaktivní kation, na rozdíl od kationaktivních tenzidů (kvartérní amoniové sloučeniny), se vyznačují silným membrány poškozujícím účinkem⁸. Působí především na gram-pozitivní bakterie a mikroskopické houby⁶.

2.1.2. Účinnost dezinfekčních látek na biofilmy

Složení extracelulárního matrix biofilmů má zásadní vliv na účinek/účinnost desinfekčních prostředků. Skládá se z mnoha složek především polysacharidového

a proteinového charakteru. Díky této struktuře je ztížena samotná difuze dezinfekčních prostředků biofilmem. Další překážkou je i působení elektrostatických sil, kdy biofilm s negativním nábojem brání difuzi pozitivně nabitých částic. Negativní vliv mohou mít také hydrofobní interakce mezi extracelulárními složkami a dezinfekčními prostředky⁹. Ty bývají často vysoce reaktivní a chemickými reakcemi se složkami matrix se snižuje jejich účinnost. Naopak méně reaktivní dezinfekční látky pronikají biofilmem lépe¹⁰.

Kromě tvorby extracelulární matrix dochází při tvorbě biofilmu také k produkci různých metabolitů. To může způsobovat změny u buněk biofilmu (rychlost růstu, složení buněčných membrán, aktivace obranných mechanismů) a zvyšovat tak rezistenci vůči dezinfekčním látkám. Dále může docházet k aktivaci efluxních pump, které umožňují buňkám vyloučit toxické látky zpět do prostředí. Buňky také dovedou regulovat stresové odpovědi pomocí mechanismu „quorum sensing“, což jim umožňuje řízení produkce ochranných enzymů (katalasy, superoxidodismutasy apod.). Díky tomu se opět zvyšuje rezistence k dezinfekčním prostředkům. Tato rezistence se může také přenášet mezi buňkami biofilmu genetickou informací v podobě plazmidů, transpozomů a integronů⁹.

Účinnost dezinfekcí je snižována také výhodnou symbiózou různých druhů mikroorganismů v biofilmu. Extracelulární matrix je viskóznější, a tudíž méně prostupná pro biocidy. Produkované enzymy poskytují vzájemnou mezidruhovou ochranu a prostorové uspořádání trojrozměrné struktury biofilmu zajišťuje méně odolnému druhu ochranu poskytnutou odolnějším druhem vůči působení biocidů⁹.

Snížení schopnosti rezistence buněk biofilmu lze dosáhnout kombinací použití více dezinfekčních látek najednou nebo společně s antibiotiky či přírodními biologicky aktivními látkami.

2.2. Antibiotika

Antibiotika lze definovat jako látky mikrobiálního původu inhibující růst jiných mikroorganismů při nízkých koncentracích. Do této skupiny patří kromě přírodních antimikrobiálních látek také všechny ostatní látky (semisyntetická analoga, chemoterapeutika apod.) bez ohledu na jejich původ¹¹.

Dle antimikrobiálního spektra (citlivost mikrobiálních druhů a kmenů k dané látce) lze antibiotika dělit na látky s úzkým, rozšířeným a širokým spektrem účinku. Dále se antibiotika dělí dle mechanismu jejich účinku na mikrobistatická a mikrobicidní. První skupina zastavuje množení buněk, mikrobicidní antibiotika buňky usmrcují. Obě skupiny se dají použít k likvidaci mikrokolonií a biofilmů^{11,12}. Účinkují proti různým druhům mikroobů, ale mohou působit také proti houbám, bakteriím a jiná zase proti parazitickým prvokům. Jejich účinek však není zaručený, především díky extracelulární hmotě jsou jejich účinky zpomaleny nebo úplně potlačeny. Je tedy často potřeba znásobit jejich dávkování^{12,13}.

Na základě chemického složení antibiotik společně s předpokládaným mechanismem účinku (způsob zásahu do syntézy biomakromolekul mikrobiální buňky) je lze také dělit do různých skupin¹⁴ na zástupce inhibující syntézu buněčné stěny bakterií (1), narušující funkci cytoplazmatické membrány (2), inhibující proteosyntézu (3) a ty inhibující syntézu nukleových kyselin (4).

2.2.1. Antibiotika inhibující syntézu buněčné stěny bakterií

Mechanismus tohoto účinku spočívá v navázání antibiotika na enzymy potřebné pro tvorbu buněčné stěny (např. transpeptidasy, transglykosidasy a karboxypeptidasy) a zablokování tak jejich aktivity. Buňka se bez schopnosti tvorby buněčné stěny přestává dělit a umírá¹⁴.

Pro β -laktamová antibiotika, patřící do této skupiny, je charakteristická přítomnost čtyřčlenného β -laktamového kruhu ve strukturním jádru. Inhibují syntézu buněčné stěny blokadou transpeptidačních reakcí formujících peptidoglykan ve stěně. Do této skupiny antibiotik patří peniciliny, cefalosporiny, monobaktamy a karbapenemy^{14,15}.

Struktura penicilinů (obr. 2) vychází z kyseliny 6-aminopenicilanové, tvořené thiazolidinovým a β -laktamovým kruhem. Vlastnosti jednotlivých penicilinů se mohou měnit v závislosti na postranních skupinách a řetězcích připojených k základní struktuře. Prvním objeveným antibiotikem byl penicilin G neboli benzylpenicilin s úzkým spektrem účinku, působí především proti grampozitivním mikrobům. Oproti tomu aminopeniciliny a karboxypeniciliny mají širokospektrý účinek. Peniciliny jsou velmi málo toxické, ale často způsobují různé závažné alergické reakce¹⁴⁻¹⁶.

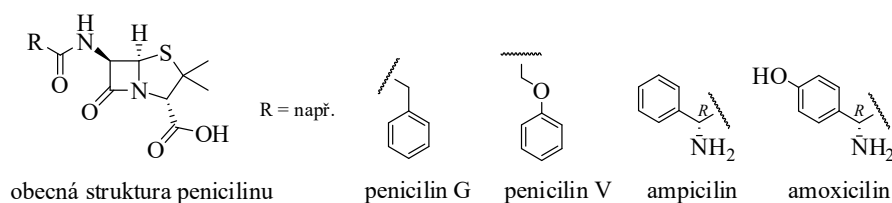
Do skupiny β -laktamových antibiotik patří také cefalosporiny (obr. 3), jejichž základní strukturou je kyselina 7-aminocefalosporánová. Dělí se do čtyř generací podle antimikrobního spektra, odolnosti vůči β -laktamasám, rychlosti průniku skrz buněčnou stěnu bakterií a uvedení do klinické praxe. Mají široké spektrum antibakteriálního působení a jejich toxicita je pro pacienta velmi nízká^{14,15}.

Cefalosporiny 1. generace jsou nejstarší, působí především na grampozitivní stafylokoky a streptokoky a podávají se při raných infekcích, endokarditidách a infekcích respiračního a močového traktu. Pro léčbu infekce močových cest se používají také cefalosporiny 2. generace. Kromě toho jsou indikovány k léčbě horních a dolních cest dýchacích a infekcí měkkých tkání a kůže. Oproti 1. generaci lépe odolávají β -laktamasám a mají širší spektrum antibakteriálního účinku.

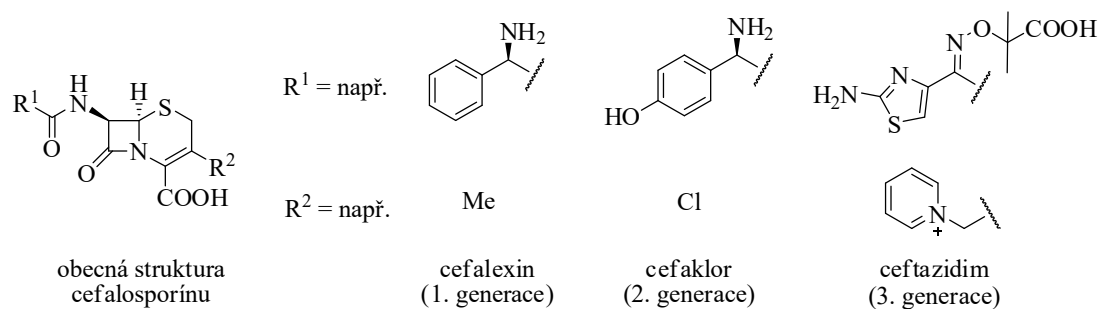
Širokospektrá je i 3. generace, avšak s nižší účinností na grampozitivní bakterie. Zástupci této generace jsou vysoce odolní vůči β -laktamasám a v praxi se používají méně často, především u komplikací vážných infekčních onemocnění (poruchy imunity apod.), k léčbě středně těžkých a těžkých infekcí a u nozokomiálních nákaz.

4. generace cefalosporinů má značnou odolnost vůči β -laktamasám, jsou velice účinné proti řadě gramnegativních i grampozitivních bakterií. Používají se však pouze pro velmi vážné klinické stavy (těžké močové infekce, závažné nozokomiální infekce, septické stavy apod.)^{14,15}.

Přestože monobaktamy jsou novější generací β -laktamových antibiotik, jediným v praxi používaným monobaktamovým antibiotikem je aztreonam. Jeho odolnost vůči β -laktamasám je vysoká, účinek však užší – působí především na gramnegativní bakterie včetně *Pseudomonas aeruginosa*. Špatně se vsřebává v trávicím traktu, proto se podává parenterálně (inhalační formou). Používá



Obr. 2. Příklady chemických struktur penicilinů



Obr. 3. Příklady chemických struktur cefalosporinů

se k léčbě sepse a břišních infekcí, dále pak k léčbě močových infekcí a infekcí horních i dolních cest dýchacích¹⁵.

Poslední skupinou β -laktamových antibiotik jsou karbapenemy. Patří mezi baktericidní antibiotika, jejich spektrum účinku je velmi široké a odolnost vůči většině β -laktamas vysoká. Používají se u těžkých život ohrožujících infekčních komplikací a při nozokomiálních infekcích vyvolaných multirezistentními kmeny. Do této skupiny patří např. meropenem a imipenem¹⁵.

Glykopeptidová antibiotika zamezují inkorporaci *N*-acetylmuramylové kyseliny a *N*-acetylglukosaminu do buněčné stěny a patří do skupiny baktericidních antibiotik¹⁷. Zástupci této skupiny jsou vankomycin a teikoplanin. Vankomycin se používá u závažných enterokokových a stafylokokových infekcí, je výrazně ototoxický a nefrotoxický v závislosti na plazmatické koncentraci. Spektrum účinku teikoplaninu je velice podobné vankomycinu, není však toxický a je lépe snášen¹⁵.

Mezi peptidová antibiotika patří bacitraciny a polymyxiny. Mechanismem inhibice syntézy buněčné stěny se vyznačují bacitraciny, jejichž hlavním představitelem je bacitracin. Patří mezi baktericidní antibiotika s hlavním účinkem na grampozitivní bakterie. Je vysoce toxický (neurotoxická a nefrotoxická) a užívá se lokálním způsobem¹⁴.

2.2.2. Zástupci antibiotik narušující funkci cytoplazmatické membrány

Působením antibiotik s tímto účinkem dochází k narušení permeability membrány, což vede k uvolnění iontů a metabolických látek z buňky. Vlivem takto poškozeného intracelulárního prostředí buňky dochází k jejímu zániku^{14,18}.

Příkladem peptidového antibiotika se zmiňovaným účinkem je polymyxin B (obr. 4). Vyznačuje se cyklickými peptidy s dlouhými hydrofobními konci, které slouží k interakci s lipopolysacharidovými molekulami na vnějším povrchu membrány a umožní tak přístup zbývající části molekuly antibiotika, která je následně příčinou destabilizace buněčné membrány¹⁹. Tímto způsobem dochází k zpřístupnění buňky i pro další látky, proto je polymyxin B vhodný pro použití v kombinaci s dalšími antibiotiky. Účinkuje proti gramnegativním bakteriím²⁰.

Polynová antibiotika jsou účinná především na kvasinky a plísň, proto se v praxi setkáváme s pojmem antimykotika namísto antibiotik. Mezi nejznámější léčiva patří

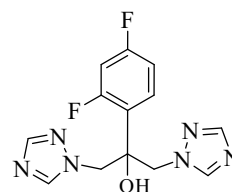
amfotericin B. Tato nízkomolekulární látka využívá iontových kanálů k narušení cytoplazmatické membrány eukaryotických mikroorganismů. Dochází tak k oslabení schopnosti jejich rezistence a následně k úmrtí buněk. Často se podává intravenózně k léčbě systémových mykotických infekcí, vyšší dávky mohou mít toxické účinky na lidské buňky²¹. Pro lokální aplikace se užívá nystatin, opět kvůli značné nefrotoxické a ototoxické.

Spektrum účinku azolových antibiotik je velice podobné polyenovým antibiotikům, proto lze i tyto přípravky nazývat antimykotiky. Nejběžněji užívaným přípravkem je flukonazol (obr. 5). Jedná se o triazolovou antifungální látku první generace a místem jejího účinku jsou fungální buněčné membrány. Působí fungistaticky – inhibuje aktivitu enzymu, který je odpovědný za biosyntézu ergosterolu, nejvýznamnějšího membránového strukturního sterolu hub. Tím dochází k poškození buněčné membrány patogenu, inhibici jeho růstu a replikace. Flukonazol se podává většinou perorálně nebo intravenózně, má široké spektrum účinku a biologická dostupnost je velmi vysoká. Používá se proti řadě houbových infekcí, jako jsou kandidózy, blastomykóza, dermatofytózy a další. Uplatnění nachází také v prevenci kandidóz po transplantacích orgánů a v boji proti biofilmovým infekcím způsobeným nejčastěji mikroorganismy rodu *Candida*^{22–24}. K dalším zástupcům této skupiny antimykotik patří ketokonazol a klotrimazol.

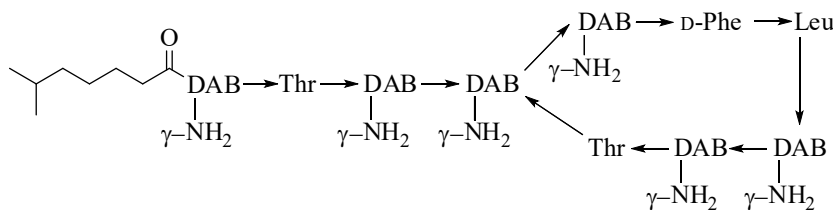
2.2.3. Antibiotika inhibující proteosyntézu

Třetím typem mechanismu účinku antibiotik je inhibice syntézy bílkovin bakterií pomocí interference s pochody probíhajícími na ribosomech. Jedná se o bakteriostatický účinek a taková antibiotika patří mezi nejpoužívanější přípravky v klinické a průmyslové praxi^{15–18}.

Prvním širokospektrým antibiotikem s bakteriostatickým účinkem skupiny amfenikolů je chloramfenikol. Působí na gramnegativní mikroorganismy a používá se



Obr. 5. Chemická struktura Flukonazolu



Obr. 4. Chemická struktura Polymyxinu B (DAB = 2,4-diaminobutanová kyselina)

k léčbě různých infekcí, např. bakteriální meningitidy, infekce dýchacích cest a břišního tyfu. Primární toxicita chloramfenikolu je nízká, způsobuje však řadu nežádoucích účinků, jako např. poruchu krvetvorby nebo ireverzibilní aplastickou anémii. V praxi se více používá analog thiamfenikol¹⁴.

Na obr. 6 je vyobrazena obecná struktura tetracyklinů s variabilními substituenty R. Inhibují tvorbu bílkovin na úrovni ribozomů – reverzibilně se váží na receptor umístěný na 10S podjednotce ribozomu a blokují tak vazbu aminoacyl-tRNA na akceptorové místo na komplexu mRNA. Spektrum jejich bakteriostatického účinku je široké – působí proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím a používají se k léčbě infekcí dýchacích cest. Využívají se i ve veterinárním lékařství a zemědělství. Mají nízkou primární toxicitu, ale vykazují řadu nežádoucích účinků, jako např. fotosenzibilizaci nebo gastrointestinální poruchy. Do této skupiny antibiotik řadíme např. oxytetracyklin, chlortetracyklin a doxycyklin^{14,15}.

Další skupinou antibiotik působící na syntézu bílkovin bakterií jsou makrolidy. Jejich bakteriostatický účinek spočívá v reverzibilním navázání na receptor umístěný na 28S podjednotce ribozomu. Často se užívají jako lék druhé volby při výskytu alergie na penicilin, a to k léčbě pneumokokových, streptokokových a stafylokokových infekcí. Hlavním zástupcem této skupiny je erytromycin (obr. 7). Dalšími zástupci jsou pak azitromycin, roxitromycin a tylosin^{14,15}.

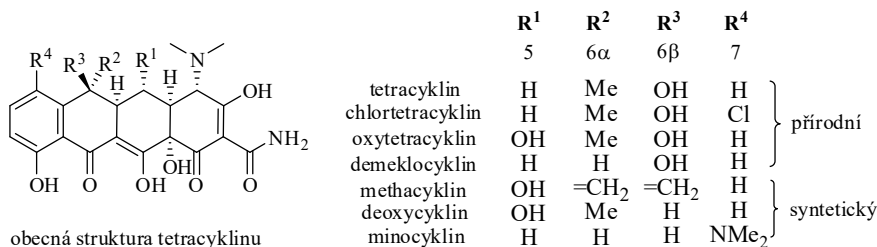
Proteosyntézu inhibují i linkosamidy. Mechanismem jejich účinku je inhibice enzymu peptidyltransferasy, čímž dochází k inhibici vazby aminoacyl tRNA do místa A na

podjednotce 28S ribozomu¹⁷. Jejich účinek je tedy bakteriostatický a podobně jako makrolidy mají užší spektrum účinku. Působí především na grampozitivní a anaerobní bakterie a užívají se k léčbě stafylokokových infekcí. Vykazují relativně nízkou toxicitu. Příkladem látek této skupiny jsou klindamycin a linkomycin^{14,15}.

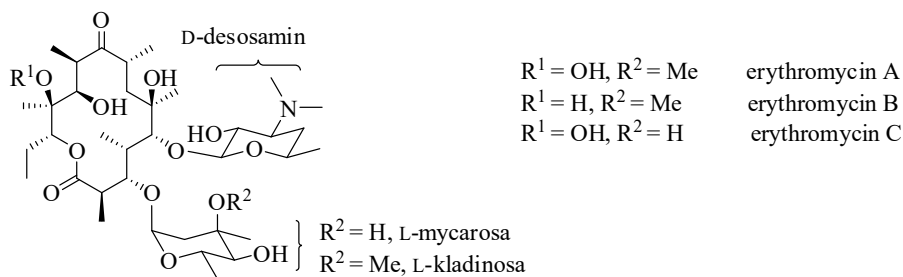
Aminoglykosidy, kromě inhibice tvorby bílkovin, způsobují poškození cytoplazmatické membrány. Jejich baktericidní účinek spočívá v navázání na 10S podjednotku ribozomu a následném posunu čtecího rámce vlivem této vazby. Posunem pak dochází k narušení správné proteosyntézy nebo ke špatnému skládání proteinů¹⁷. Aminoglykosidy mají široké spektrum účinnosti s vlivem na grampozitivní i gramnegativní mikroorganismy. Užívají se k léčbě tuberkulózy, povrchových infekcí kůže a sliznic. Vykazují výrazné nefrotoxické a ototoxické účinky. Aminoglykosidy mají výrazný postantibiotický efekt – inhibiční efekt na bakterie přetrvává i po poklesu plazmatické koncentrace na nízké hodnoty. Z tohoto důvodu je možné antibiotika podávat jednou denně, čímž se výrazně snižuje i jejich toxický efekt. Dále se také využívají v klinické praxi díky značnému vlivu na biofilmy, nejčastěji však v kombinaci s dalšími látkami (např. manitol)²⁵. Do této skupiny antibiotik řadíme streptomycin, neomycin, gentamicin nebo kanamycin^{14,15}.

2.2.4. Skupiny antibiotik inhibující syntézu nukleových kyselin

Mechanismus inhibice syntézy nukleových kyselin při replikaci DNA nebo transkripci téměř nerozlišuje bakteriální buňku patogenu od buněk vyšších organismů.



Obr. 6. Chemické struktury tetracyklinů



Obr. 7. Chemické struktury erytromycinů

Z tohoto důvodu je většina takových antibiotik vysoce toxická. Do této skupiny preparátů patří i rifampicin, jehož detailnějším mechanismem je inhibice DNA-dependentní RNA-polymerasy bakterií, čímž znemožňuje syntézu bakteriální RNA (cit.^{14,18}).

Chinolonová chemoterapeutika fungují na principu inhibice DNA-gyrasy a topoisomerasy IV. Tyto enzymy jsou odpovědné za bezchybné zřetězení a rozvolnění superhelikální DNA během replikace. Chinolony se dělí na nefluorované a fluorované, kdy fluorované mohou být ještě navíc s rozšířeným spektrem účinku^{14,15}. První generaci těchto chemoterapeutik tvoří nefluorované chinolony, mezi něž patří např. kyselina nalidixová, pipemidová a oxolinová. Působí především na enterobakterie a užívají se k léčbě močových infekcí.

Účinnější fluorované chinolony mají ve své struktuře substituovaný fluor a jedná se o chinolony 2. – 4. generace. Mají široké antimikrobní spektrum, působí nejen proti gram pozitivním a gram negativním bakteriím, ale i proti intracelulárním parazitům. Jejich účinek je baktericidní. Do této skupiny patří norfloxacin, pefloxacin, ofloxacin, lomefloxacin a ciprofloxacin. Užívají se k léčbě infekcí močových cest, u těžkých systémových infekcí a při infekcích horních i dolních dýchacích cest. Ciprofloxacin se pak v klinické praxi používá v kombinaci s dalšími látkami (např. tobramycin) k léčbě cystické fibrózy způsobené počínající tvorbou biofilmu bakterie *Pseudomonas aeruginosa*²⁶. Mezi fluorované chinolony s rozšířeným spektrem účinku patří levofloxacin a moxifloxacin, který účinkuje proti téměř celému antimikrobnímu spektru^{14,15}. Fluorované chinolony se vyznačují rovněž protibiofilmovou aktivitou u gram negativních bakterií a setkáváme se s nimi v klinické praxi při léčbě infekcí endoprotéz²⁷.

Sulfonamidová chemoterapeutika mají bakteriostatický účinek – zabraňují syntéze kyseliny listové díky své strukturální podobnosti s kyselinou *p*-aminobenzoovou. Mají široké antibakteriální spektrum a působí proti gram pozitivním a některým gram negativním mikroorganismům. Jelikož je kyselina listová esenciální molekulou pro všechny organismy, mohou mít sulfonamidy vliv i na jednobuněčné řasy, rostliny, bezobratlé a ryby. Široké využití mají především ve veterinární praxi, v menší míře se pak používají v humánní medicíně. Mezi hlavní zástupce patří sulfaguanidin a sulfamethoxazol^{14,15,28}.

Pyrimidinová chemoterapeutika rovněž inhibují syntézu kyseliny listové, jsou také jejími strukturálními analogy. Inhibice probíhá při redukcí kyseliny dihydrolistové na kyselinu tetrahydrolistovou. Hlavními představiteli jsou pyrimetamin a trimetoprim^{14,15}.

Posledním příkladem inhibitorů syntézy nukleových kyselin jsou asanamyciny, mezi které patří rifampicin, rifaximin, rifamycin a rifabutin. Jedná se o baktericidní látky se širokospektrým účinkem. Vyznačují se nízkou toxicitou. Užívají se k léčbě tuberkulózy, malomocenství, stafylokokových infekcí a často se aplikují v kombinacích s jinými antibiotiky^{14,15}. U rifampicinu byla rovněž prokázána účinnost proti biofilmům stafylokoků a zčásti enterokoků a využívá se v klinické praxi při léčbě infekcí endoprotéz²⁷.

2.3. Antimikrobiální látky rostlinného původu

Z řady rostlin se dají získávat různé biologicky aktivní přírodní látky, které disponují antimikrobiální aktivitou. Mezi takové látky řadíme alkaloidy, saponiny, flavonoidy, kumariny, taniny, fenoly, chinony a další²⁹.

Jedním ze zástupců skupiny alkaloidů s antimikrobiální, protizánětlivým a antioxidačním účinkem je berberin. Své využití našel v léčbě střevních infekčních chorob a průjmu především v Číně a USA, je však dostupný i u nás jako doplněk stravy. V kombinaci s antibiotiky (např. neomycin) byl pozitivně hodnocen jeho účinek v několika studiích při léčbě akutního průjmu³⁰.

Další biologicky aktivní přírodní látkou je i monoterpenový fenolový derivát cymenu thymol. U této sloučeniny bylo prokázáno rovněž mnoho pozitivních účinků (antibakteriální, antiseptický apod.), díky kterým má historii využití v praxi jako jedna z možných alternativ pro čištění nemocničních povrchů nebo jako součást přípravku pro ústní hygienu společně s dalšími látkami jako eukalyptol a menthol³⁰.

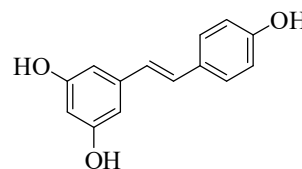
Jelikož se naše vědecká skupina do značné míry zabývá výzkumem stilbenů^{31–33} a experimentální data nám potvrzují značné antimikrobiální účinky i u těchto látek, rádi bychom více přiblížili i tuto skupinu přírodních biologicky aktivních látek.

2.3.1. Stilbeny

Jsou to zástupci fytoalexinů – neflavonoidní rostlinné polyfenolické sloučeniny. Vyznačují se především svými antimikrobiálními účinky. Základní stavební jednotkou je *trans*-substituovaný ethen s navázanými fenolovými skupinami. Hlavním stilbenem, od jehož struktury jsou odvozeny i další zástupci této skupiny, je *trans*-resveratrol (obr. 8)^{34–36}.

Kromě antimikrobiálního účinku mají stilbeny také protirakovinnou a protizánětlivou aktivitu, dále antifungální aktivitu, inhibují agregaci krevních destiček apod.³⁷. Jejich zdrojem je ovoce a zelenina³⁶. Vyskytují se v glykosylovaných formách, díky kterým mají větší stabilitu vůči oxidativní degradaci. I přesto si zachovávají svou biologickou aktivitu a antimikrobiální účinek³⁵.

V rostlinách jsou tyto látky společně také s flavonoidy a dalšími fenolickými sloučeninami syntetizovány fenylypropanoid-acetátovou cestou z aminokyseliny fenylyalaninu. Důležitá je přítomnost enzymu stilbensynthetasy (STS), díky němuž v rostlině může probíhat biosyntéza stilbenů. Zajišťuje katalýzu reakce tří jednotek malonyl-CoA a jedné jednotky *p*-kumaroyl-CoA za vzniku



Obr. 8. Strukturální vzorec *trans*-resveratrolu = 3,5,4'-trihydroxystilbenu

základní kostry stilbenů – *trans-resveratrolu*. Spouštěčem biosyntézy v rostlinách mohou být biotické či abiotické stresy (UV záření, soli, mikrobiální infekce apod.)^{35,38}.

Trans-resveratrol dále podléhá různým modifikacím za vzniku dalších stilbenů jako např. polydatin neboli piceid (glykosylace), pterostilben (metylace), pinosylvin (odstranění hydroxylové skupiny), viniferin (polymerizace) a další^{39,40}.

Resveratrol vykazuje protirakovinný a protizánětlivý, dále antimikrobiální a antioxidantní účinek s pozitivním vlivem na kardiovaskulární systém. Lze jej použít jako přírodní antibiotikum, doplněk stravy nebo v kombinaci s v praxi běžně užívanými antibiotiky^{34,41}. Mechanismem účinku je interakce s membránovými proteiny mitochondrií, čímž dochází ke změně membránového potenciálu nejprve u mitochondrií, a pak u jádra. Důsledkem je ztráta funkce některých organel, porušení buněčné membrány a v závěru až apoptóza. Tento účinek byl popsán nejen u mnoha druhů bakterií, ale i plísní a kvasinek^{42,43}.

3. Závěr

Mikrobiální biofilmy představují v mnoha odvětvích zásadní zdroj problémů a mikrobiální kontaminace. Setkáváme se s nimi napříč průmyslovou výrobou (farmacie, zemědělství, potravinářství apod.), ale i ve zdravotnictví. Jedním z možných řešení této problematiky je inhibice jejich tvorby či eradikace již vytvořeného biofilmu. Pro určité účely (např. ve zdravotnictví) však nelze využít všechny dostupné možnosti inhibice mikrobiálního biofilmu. Velký potenciál tak nabízí možnost kombinace známých a užívaných antibiotik s antimikrobiálními látkami rostlinného původu.

LITERATURA

- Mah T.-F. C., O'Toole G. A.: *Trends Microbiol.* 9, 34 (2001).
- Schindler J.: *Vesmír* 80, 203 (2001).
- Bridier A., Sanchez-Vizuet P., Guilbaud M., Piard J.-C., Naïtali M., Briand R.: *Food Microbiol.* 45, 167 (2015).
- Riedewald F.: *Pharm. Eng.* 17, 6 (1997).
- Holá V.: *Živa* 6, 271 (2012).
- Melicharčíková V., v knize: *Sterilizace a desinfekce ve zdravotnictví*. Grada, Praha 1998.
- Russel A. D.: *Lancet Infect. Dis.* 3, 794 (2003).
- Števkovičová M., v knize: *Dezinfekcia a sterilizácia teória a prax – II*. Vrana, s.r.o, Žilina 2007.
- Bridier A., Briand R., Thomas V., Dubois-Brissonnet F.: *Biofouling* 27, 1017 (2011).
- Stewart P. S., Rayner J., Roe F., Rees W. M.: *J. Appl. Microbiol.* 91, 525 (2001).
- Votava M.: *Lékařská mikrobiologie obecná*. 1. vyd. Neptun, Brno 2001.
- Walsh C.: *Antibiotics: Actions, Origins, Resistance*. American Society for Microbiology (ASM), Washington 2003.
- Hoiby N., Bjarnsholt T., Givskov M., Molin S., Ciofu O.: *Int. J. Antimicrob. Agents* 35, 322 (2010).
- Lincová D., Farghali H.: *Základní a aplikovaná farmakologie*. 2. vyd. Galén, Praha 2007.
- Lochmann O.: *Antimikrobiální terapie v praxi*. 1. vyd. Triton, Praha 2006.
- Lüllmann H., Mohr K., Wehling M.: *Farmakologie a toxikologie: překlad 15., zcela přepracovaného vydání*. vyd. 2. Grada, Praha 2004.
- Jjemba P. K.: *Pharma-ecology: The Occurrence and Fate of Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment*. 2. vyd. John Wiley & Sons, Hoboken 2019.
- Lochmann O.: *Základy antimikrobiální terapie*. Triton, Praha 1994.
- Bergen P. J., Landersdorfer C. B., Zhang J., Zhao M., Lee H. J., Nation R. L., Li J.: *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 74, 213 (2012).
- Falagas M. E., Grammatikos A. P., Michalopoulos A.: *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.* 6, 593 (2008).
- Hamill R.: *Drugs* 73, 919 (2013).
- Haber J., Čermák J., Indrák K., Klener P., Marešová V., Starý J., Ryska M., Švihovec J., Vorlíček J.: *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství* 9, 294 (2003).
- Krcmery V. C.: *Med. Princ. Pract.* 14, 125 (2005).
- Ráčil Z., Kocmanová I., Weinbergerová B., Winterová J., Bohatá Š., Mayer, J.: *Farmakoterapie* 9, 199 (2005).
- Römling U., Balsalobre C.: *J. Intern. Med.* 272, 541 (2012).
- Tajovská E.: *Praktické lékařství* 9, 234 (2013).
- <https://www.infekce.cz/DoporTEP17.htm>, staženo 19. 11. 2021.
- Biaľk-Bieliňska A., Stolte S., Arning J., Uebbers U., Bösch A., Stepnowski P., Matzke M.: *Chemosphere* 85, 928 (2011).
- Gyawali R., Ibrahim S. A.: *Food Control*. 46, 412 (2014).
- Kokoška L., Klouček P., Leuner O., Nový P.: *Curr. Med. Chem.* 26, 5501 (2019).
- Kolouchová I., Maňátková O., Paldrychová M., Kodeš Z., Kvasničková E., Sigler K., Čejková A., Šmidrkal J., Demnerová K., Masák J.: *Folia Microbiol.* 63, 261 (2018).
- Vaňková E., Paldrychová M., Kašparová P., Lokočová K., Kodeš Z., Maňátková O., Kolouchová I., Masák J.: *World J. Microbiol. Biotechnol.* 36, 1 (2020).
- Kodeš Z., Vrublevskaya M., Kulišová M., Jaroš P., Paldrychová M., Pádřová K., Lokočová K., Palyzová A., Maňátková O., Kolouchová I.: *Microorganisms* 9, 2391 (2021).
- Nollet L. M. L., Toldrá F.: *Handbook of Analysis of Active Compounds in Functional Foods*. CRC Press, Boca Raton 2012.
- Flamini R., Mattivi F., Rosso M. D., Arapitsas P., Bavaresco L.: *Int. J. Mol. Sci.* 14, 19651 (2013).
- Kolouchová I., Melzoch K., Šmidrkal J., Filip V.: *Chem. Listy* 99, 492 (2005).

37. De Rosso M., Bavaresco L., De Marchi F., Dalla Vedova A., Panighel A., Gardiman M., Flamini R.: *Nutr. Aging* 2, 179 (2014).
38. Jeandet P., Delaunois B., Aziz A., Donnez D., Vasserot Y., Cordelier S., Courot E.: *J. Biomed. Biotechnol.* 2012, 579089 (2012).
39. Yadav M. K., Mailar K., Masagalli J. N., Chae S. W., Song J. J., Choi W. J.: *Front. Pharmacol.* 2019, 890.
40. Chong J., Poutaraud A., Hugueney P.: *Plant Sci.* 177, 143 (2009).
41. Yang X., Li X., Ren J.: *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* 14, 806 (2014).
42. Chalal M., Klinguer A., Echairi A., Meunier P., Vervandier-Fasseur D., Adrian M.: *Molecules* 19, 7679 (2014).
43. Lee J., Lee D.: *Curr. Microbiol.* 70, 383 (2015).

Z. Kodeš, A. Čejková, and I. Kolouchová (*Institute of Biotechnology, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Possibilities of Microbial Biofilm Inhibition**

Microbial biofilm is a major source of problems and microbial contamination across the industrial production, for example in pharmacy, agriculture or food industry, but also in healthcare. One of the possible solutions to this problem is the inhibition of its formation or eradication of the already formed biofilm. There are many ways to achieve this goal. This review article focuses on the use of chemical disinfectants, antibiotics or biologically active natural substances.

Keywords: biofilm, inhibition, disinfection, antibiotics, stilbenes

● Kodeš Z., Čejková A., Kolouchová I.: *Chem. Listy* 116, 335–342 (2022).

● <https://doi.org/10.54779/chl20220335>