

MEDICINÁLNÍ ASPEKTY MIKROBIÁLNÍCH BIOFILMŮ

EVA KVASNIČKOVÁ, MARTINA
PALDRYCHOVÁ, OLGA MAŤÁTKOVÁ
a JAN MASÁK

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

Došlo 10.11.15, přijato 11.1.16.

Klíčová slova: biofilm, EPS, rezistence, infekce, prevence

Obsah

1. Úvod
2. Definice biofilmu
3. Struktura biofilmu
4. Výhody života buněk v biofilmu
5. Přirozený výskyt biofilmu
6. Typická biofilmová onemocnění
7. Původci biofilmových infekcí
8. Strategie v boji s biofilmem
9. Závěr

1. Úvod

V únoru roku 1970 poprvé sepsal J. W. Costerton, který je považován za „otce biofilmu“, vědeckou publikaci zabývající se již dlouhou dobu známou schopností bakterií přichytit se a vytvářet slizké a kluzké povlaky na pevném povrchu¹. Nezávisle na této práci v podstatě potvrdil tato fakta v prosinci téhož roku R. J. Gibbons ve své studii, týkající se klinického významu uskupení vznikajícího na zubní sklovině mutantními kmeny rodu *Streptococcus*, které dnes považujeme za biofilm². Zájem o studium tvorby a významu tohoto mikrobiálního společenství díky těmto uveřejněným faktům prudce vzrostl. Přestože se poměrně záhy podařilo objasnit mechanismy vzniku této přisedlé formy života mikroorganismů, mnoho jevů a zásadních otázek zůstává i v současné době nevysvětleno a nezodpovězeno³. Největší úskalí přináší tvorba biofilmu patogenních či oportunně patogenních mikroorganismů, které jsou spojeny s vysokou rezistencí vznikajících, často chronických a velmi obtížně léčitelných infekcí.

2. Definice biofilmu

Obecně je za biofilm považováno společenství mikroorganismů obalené extracelulární polymerní matrix, nevratně přichycené k povrchu či mezifázovému rozhraní⁴. Na úrovni genové transkripce dochází ve srovnání s planktonně žijícími buňkami k výrazným rozdílům. Z tohoto důvodu může být tvorba biofilmu chápána jako postupně se vyvíjející evoluční proces⁵. Rozdílnost genové exprese buněk žijících v biofilmu planktonní formy způsobuje, že i fenotyp buněk v biofilmu je pozměněn⁶.

3. Struktura biofilmu

V oblasti studia biofilmu došlo k významným objevům, které prokázaly, že biofilmy nejsou jen slizovitá vrstva mikroorganismů, ale představují komplexní, strukturované a koordinované systémy s vysokou úrovní organizace⁷.

Struktura biofilmů je heterogenní v prostoru i čase. Tato mikrobiální společenství mohou existovat jako více či méně splývající agregáty, jednovrstevné nebo trojrozměrné struktury, které jsou protkány vodními kanálky, které umožňují transport esenciálních živin, kyslíku a odpadních složek v celém společenství k buňkám či od buněk do okolního prostředí a mají tendence fungovat jako filtr, který do své struktury zachytává různé částice (např. minerály). Dostupnost živin a diverzita mikrobiálních druhů jsou rozhodujícími faktory pro výslednou tloušťku biofilmu, která může dosahovat řádově až stovek mikrometrů⁵.

Extracelulární polymerní látky (EPS) představují až 90 % celkového organického uhlíku v biofilmu a tvoří hlavní část matrix biofilmu. Liší se u jednotlivých mikroorganismů v chemických i fyzikálních vlastnostech. Nejvíce zastoupenou složkou jsou převážně neutrální nebo polyanionické polysacharidy, které umožňují sdružování dvoj- a trojmocných iontů (např. vápníku a hořčíku), což vede k propojování polymerních vláken a zvýšení vazebné schopnosti biofilmu. Další významnou složkou EPS jsou proteiny, které jsou zastoupeny především enzymy a strukturními proteiny. Enzymy přítomné v extracelulární matrix (ECM) mají převážně funkci degradace ve vodě rozpustných (např. některé polysacharidy, proteiny, nukleové kyseliny) i nerozpustných biopolymérů (celulosa, chitin, lipidy) a ostatních organických sloučenin nebo se podílí na ochraně biofilmu před působením biologicky aktivních látek. V poslední době velice diskutovanou součástí ECM je extracelulární DNA (eDNA), jejíž funkce a původ výskytu v obalových vrstvách biofilmu není doposud zcela znám. Předpokládá se, že může plnit roli přenašeče elektronů,

sloužit jako komunikační prostředek či pomocná struktura pro pohyb buněk v rámci biofilmu, napomáhá zvýšit strukturální integritu biofilmu⁸.

Vrstva EPS je vysoce hydratovaná, prostřednictvím vodíkových můstků dokáže do svých struktur inkorporovat velké množství molekul vody⁹.

4. Výhody života buněk v biofilmu

Přichycení k povrchu a tvorba mikrobiálních společenství jsou účinnými prostředky k přetrvání v příznivém prostředí, oproti volně žijícím buňkám, které mohou být snadno odplaveny⁵. Tato schopnost adaptace přímo souvisí s mutacemi, které představují získání nového, či regulaci exprese stávajícího genového materiálu. Patogenní mikroorganismy jsou velice kreativní ve svých regulačních procesech, které jim pomáhají odolávat běžné antimikrobiální léčbě. Především pak ve formě biofilmu je koncentrace antibiotik potřebná pro jejich usmrcení až 1000× vyšší, než je tomu u planktonně žijících populací¹⁰.

Dalším významným faktorem je metabolická rozmanitost v případě heterogenních biofilmů. Celkově má totiž trojrozměrná struktura biofilmu za následek difuzní limitaci, která má vliv na lokální změny v dostupnosti živin, pH a v obsahu kyslíku. Tohoto faktu mikroorganismy v biofilmu s výhodou využívají. Produkt jednoho druhu mikroorganismu může sloužit jako substrát pro jiný komenzální druh¹⁰.

Ve formě biofilmu dochází také k výraznému zvýšení odolnosti mikroorganismů vůči fyzikálním silám (např. střížné síly), působení kyslíkových radikálů, fagocytóze, vlivu dezinfekčních prostředků a antibiotik, apod. A právě zmiňovaná rezistence biofilmů vůči antibiotikům je z lékařského hlediska nejvíce závažným problémem. Přestože důvod snadného vzniku rezistence není doposud zcela znám, předpokládá se, že s tímto faktem souvisí především ochranná vrstva EPS, která znemožní penetraci řady antibiotik do vnitřní struktury biofilmu. Dále může být odolnost spojena s pomalým růstem buněčné populace především ve spodních vrstvách zralého biofilmu, kde jsou buňky ve stacionární fázi 15× odolnější k antimikrobiálním látkám než buňky planktonní nacházející se ve stejné růstové fázi¹¹.

5. Přirozený výskyt biofilmu

Mikroorganismy žijící ve volné přírodě velmi často přežívají ve formě biofilmu. Přichyceny k povrchu vytváří společenství, které přináší lepší podmínky pro snazší průběh jejich životního cyklu. V přirozeném prostředí je biofilm téměř vždy tvořen více mikrobiálními druhy s propracovanou organizační strukturou⁵.

Vlivy biofilmu mohou být pozitivní i negativní. Z medicínského hlediska pozitivní stránku představuje například kolonizace lidského gastrointestinálního traktu mikroorganismy, které vytvářejí na povrchu přirozený

biofilm ochraňující sliznici před infekcí patogenními mikroorganismy¹².

Existuje také řada pozitivních vlivů, kterými mikrobiální biofilmy podporují růst rostlin. Například bakterie rodu *Pseudomonas* asociované s kořeny rostlin v mnoha případech podporují růst hostitelské rostliny a slouží jako biokontrolní agens. Proteobakterie *Azospirillum brasilense* podporují růst obilovin (například pšenice či kukuřice), na jejichž kořenech vytváří biofilmy¹³.

Velmi atraktivním pozitivním faktorem biofilmů je schopnost usnadnění bioremediace, zejména v případě rostlinných olejů, tuků i dalších látek, které tvoří kontaminanty průmyslových odpadních vod¹⁴. Biofilmy některých mikroorganismů dokáží akumulovat také těžké kovy a radionuklidy¹⁵.

Ne vždy je ale přítomnost biofilmů žádoucí. Často dochází ke vzniku biofilmu v potravinářských provozech, kde je vlhké a na živiny bohaté prostředí, příznivé pro osídlení rozmanitých povrchů kontaminujícími mikroorganismy. Nepříjemné komplikace vznikají například při výrobě piva, mléka, zpracování ryb, drůbeže a červeného masa. Nejčastějšími mikroorganismy znehodnocujícími potraviny tvorbou biofilmu jsou *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, rod *Salmonella*, a další. Návrh provozních zařízení musí být v souladu s hygienickými požadavky. Cílem je co nejvíce omezit konstrukční prvky, jako jsou například špatně přístupné rohy, těsnění nebo ventily, které jsou pro tvorbu biofilmu velmi atraktivní¹⁶.

Biofilmy tvořící se na tkáních či materiálech používaných v medicíně jsou velice problematické především pro jejich obtížnou eliminaci. Vysoká odolnost těchto mikrobiálních společenství vůči dostupným biologicky aktivním látkám i hostitelskému obrannému systému znesnadňuje jejich odstranění či následnou léčbu infikovaných tkání¹⁷.

6. Typická biofilmová onemocnění

Biofilmové infekce s nejvyšší mírou výskytu jsou chronické plicní infekce u pacientů s cystickou fibrózou, chronické záněty středního ucha, vrozené záněty endokardu chlopní, obtížně se hojící rány či infekce různých druhů implantátů¹⁸.

Cystická fibróza je dědičné autozomálně recesivní onemocnění způsobené mutací genu CFTR na sedmém chromosomu, která způsobí poškození transportu chloridových aniontů apikální membránou. Jedná se o celkové napadení více orgánů najednou (slinivky, jater, gastrointestinálního traktu, potních žláz a dýchacího traktu)¹⁹. Pacienti trpící touto chorobou mají dýchací trakt nejčastěji kolonizován bakterií *Pseudomonas aeruginosa*, která způsobuje chronické plicní infekce. Možnost léčby takových infekcí bývá pouze v počáteční fázi tvorby biofilmu. Pozdější stádia bývají nevratná a je možné v takových případech pouze zmírnit projevy infekce²⁰.

Otitis media (zánět středního ucha) je onemocnění, které se vyskytuje velmi často převážně u dětí. Existuje akutní i chronická forma, která bývá spojena s výskytem

vysoce viskózní tekutiny v místě infekce, bráníci prostupu antibiotik. V případě výše zmíněných projevů je potřeba provádět tympanometrii, kdy se do středního ucha zavede malá trubička, čímž se dosáhne snížení tlaku. Další zdravotní komplikace nastává v případě kolonizace této trubice biofilmem např. *Streptococcus pneumoniae*, který je nejčastějším původcem zánětu středního ucha⁹.

Periodontitida neboli zánět ozubice je onemocnění periodontálních tkání, jehož chronická forma může vést až k jejich destrukci. Původci jsou nejčastěji bakterie *Porphyromonas gingivalis* a *Fusobacterium nucleatum*. Léčba této nemoci spočívá v mechanickém odstranění biofilmu bakterií z místa infekce s následnou antibiotickou léčbou⁹. Mezi onemocnění biofilmového původu řadíme i chronický zánět prostaty, který bývá spojen s infekcemi močového měchýře či refluxem kontaminované moči do prostatických kanálů, kde dochází k rychlému namnožení bakterií (především gramnegativních uropatogenních bakterií), a s tím spojené odezvě imunitního systému hostitele. Pokud není infekce léčena v počátečních stádiích vývoje vznikajícího biofilmu, dochází bohužel velmi často k relapsu a reinfekci^{9,21}.

Alergická bronchopulmonální aspergilóza (ABPA) je imunologicky podmíněné plicní onemocnění, při kterém dochází ke kolonizaci dolních cest dýchacích plísní *Aspergillus fumigatus*. Významným způsobem tak komplikuje život pacientů, trpících astmatem či cystickou fibrózou, jelikož zhoršuje průběh těchto onemocnění. Velice důležité je včasné určení diagnózy, protože u pacientů s již vzniklými bronchiektáziemi nelze již zcela účinně provést dekolonizaci²².

Nejčastěji infikovaným typem implantátů jsou centrální žilní katetry používané k podávání tekutin, výživy a cytotoxických léčiv, močové katetry, zubní a kloubní implantáty¹⁸. Infekce umělých náhrad vznikají nejčastěji současným působením širokého spektra mikroorganismů (např. stafylokoky, streptokoky, zástupci gramnegativních bakterií, ale i kvasinek a plísní). Kolonizace těchto implantátů je spojena se sekundární infekcí okolní tkáně, což významně komplikuje možnosti léčby. V současné době není v takovém případě známa jiná možnost, než reoperace s intenzivní antimikrobiální léčbou²³.

Kromě infekcí různých druhů chirurgických implantátů často dochází i k napadení kontaktních čoček, převážně bakteriemi *P. aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* či kvasinkami rodu *Candida*⁹. Infekce spojené s nošením kontaktních čoček jsou například vředy rohovky či zánět spojivek²⁴.

7. Původci biofilmových infekcí

Mezi nejběžnější bakteriální původce infekcí patří koagulasa-negativní stafylokoky *S. aureus*, zástupci streptokoků, především *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus*, méně často *Streptococcus pneumoniae*, enterokoků, gramnegativních bacilů (např. *Escherichia coli*, *P. aeruginosa*) a anaerobních bakterií (např. *Clostridium*

spp., *Bacteroides fragilis*, *Peptostreptococcus spp.* a *Actinomyces spp.*)^{25,26}. Ze zástupců mykobakterií lze uvést *Mycobacterium tuberculosis*. Nejčastějšími původci infekcí ze skupiny eukaryotních mikroorganismů jsou kvasinky *Candida albicans* a *Candida parapsilosis*²⁷ či zástupci plísní *Aspergillus spp.*²⁵, například *A. fumigatus*²⁸.

S. aureus je virulentní patogen, který je nejčastější příčinou infekcí u hospitalizovaných pacientů. Tato gram-pozitivní, fakultativně anaerobní, nepohyblivá bakterie, která tvoří spory, může způsobit infekci v podstatě jakéhokoliv orgánu v lidském těle. Jeho schopnost způsobovat takto rozsáhlé infekce je založena na široké škále virulentních faktorů. Neustále vzrůstající rezistence tohoto mikroorganismu vůči antimikrobiálním činidlům spolu s vysokou prevalencí jako nozokomiálního patogenu jsou hlavními problémy při hledání řešení boje proti těmto infekcím. Velkým problémem perzistentních kmenů *S. aureus* izolovaných z nemocničních zařízení je jejich odolnost vůči methicilinu²⁹.

Mezi pět etap patogeneze infekcí *S. aureus* patří kolonizace, lokální infekce, systémové šíření nebo sepse a následné rozšiřování díky působení toxinů. Zhruba 30 % zdravých jedinců má touto bakterií osídlené především okrajové oblasti nosních dírek, vagíny či perianální oblasti. Tyto oblasti mohou být několik týdnů či měsíců kolonizovány bez jakékoliv reakce hostitele, přesto ve většině případů kolonizace předchází vzniku infekce²⁹.

S. epidermidis běžně kolonizuje povrch lidské pokožky a je nedílnou součástí mikroflóry, která se vyskytuje na lidské sliznici a jen velice zřídka způsobuje infekci u imunokompetentních ambulantně ošetřovaných pacientů. Přesto stejně jako další zástupci skupiny koagulasa-negativních stafylokoků může být původcem nozokomiálních infekcí u imunosupresivních pacientů. Běžným zdrojem těchto infekcí jsou lékařské nástroje a zdravotnická zařízení (např. intravaskulární a intratekální katetrizační systémy, kardiostimulátorové elektrody, katetry v močových cestách a kovové implantáty), jejichž povrchy jsou osidlovány právě *S. epidermidis* a dalšími oportunně patogenními mikroorganismy. Bylo prokázáno, že kmeny *S. epidermidis* izolované v nemocničním prostředí se liší od běžně známých zástupců schopností vytvářet biofilmy, rezistencí k antibiotikům a přítomností mobilních prvků DNA. Jejich genom je velice flexibilní, a proto jsou považovány za rezervoáry pro vznik a šíření rezistence napříč nemocniční bakteriální komunitou³⁰.

Další ze zástupců gram-pozitivních bakterií rodu *Staphylococcus* je *S. mutans*, který je považován za jeden z nejčastějších původců zubního kazu. Při tvorbě biofilmu na zubech (zubního plaku), který není včas odstraněn, *S. mutans* produkuje velké množství kyseliny mléčné, která působí demineralizaci povrchu zubu, je tak přímo zodpovědná za vznik zubního kazu. Schopnost této bakterie adherovat na tvrdý povrch zubu souvisí s produkcí extracelulárních polysacharidů, zejména dextranu³¹.

P. aeruginosa je oportunně patogenní gramnegativní bakterie izolovaná především z půdy a vlhkých prostředí, dále z povrchu rostlin a výjimečně i kůže zvířat³². Tato

bakterie je schopna osidlovat prostředí s limitovaným množstvím živin a využívat široké spektrum organických sloučenin. Důkazem toho je její izolace z mýdel, dřezů, mopů, léčiv, bazénů určených k hydroterapii, kontaktních čoček a v neposlední řadě z respiračních pomůcek v nemocnicích³³. Infekce, které tato bakterie způsobuje, jsou často fatální a jsou velmi obtížně léčitelné. Spektrum těchto infekcí se neustále rozrůstá. Příkladem může být folikulitida či syndrom „horkých nohou“ související s pobytem ve vířivých vanách a bazénech, septická artritida (náhlá a velice bolestivá infekce kloubů), zánět vnějšího ucha, který může přerůst v maligní, pro mnoho imunodeficientních pacientů neléčitelnou formu. Dále řada respiračních onemocnění včetně bronchiektázie, která je charakterizována ireverzibilní dilatací části bronchiálního stromu způsobenou destrukcí svalů a elastické tkáně, nebo cystické fibrózy (viz výše). Velice často tato bakterie osidluje chirurgické implantáty a může způsobit až celkové bakteriémie, pneumonie, urosepsy či infekce ran³⁴. Velikým problémem pojícím se s výskytem této bakterie a především její existencí ve formě biofilmu je extrémně vysoká multi-rezistence vůči antibiotikům³⁵.

Typická a nejvíce prostudovaná fakultativně anaerobní, gramnegativní bakterie *E. coli* také disponuje schopností tvorby biofilmu. Tento mikroorganismus obvykle kolonizuje dětský gastrointestinální trakt během prvních hodin života a následně koexistuje přirozeně v lidském zažívacím traktu, obvykle ke vzájemnému prospěchu. Přesto u pacientů s oslabenou imunitou nebo při porušení gastrointestinální sliznice způsobují i nepatogenní kmeny *E. coli* poměrně závažné povrchové či systémové infekce. Může se jednat nejčastěji o infekce močových cest, sepse – meningitidu či enterosolventní – průjemová onemocnění. Vzhledem k tomu, že *E. coli* je typickým zástupcem kolidiformní bakterie, bývá často používána jako ukazatel hygienické jakosti vody a potravinářských výrobků³⁶.

Candida albicans je jedním z nejčastěji se vyskytujících lidských patogenů, způsobující houbové infekce nejen na povrchu sliznic a kůže, ale také v krevním oběhu a v přilehlých tkáních. Běžně se vyskytuje jako součást normální mikroflóry gastrointestinálního a urogenitálního traktu, a právě vzhledem k jejímu širokému výskytu je tento druh velmi pečlivě studován a je využíván jako modelový mikroorganismus při sledování vlastností kvasinek rodu *Candida*³⁷. Nejčastějším onemocněním je orální, gastrointestinální a vaginální kandidóza či stomatitida³⁸.

C. albicans také tvoří biofilmy téměř na jakémkoli zařízení užívaném v nemocnicích včetně implantátů, katetrů, kloubních náhrad či pacemakerů³⁹.

Candida parapsilosis je běžným komenzálem lidské pokožky, zároveň je však původcem celé řady onemocnění u imunosuprimovaných pacientů. Mezi nejvíce rozšířené infekce patří nehtové mykózy, fungémie, endokarditida (zánět vnitřní výstelky srdce), meningitida (zánět mozkových blan) či peritonitida (zánět pobřišnice)^{40,41}. Tato kvasinka je také specifická tím, že velmi často způsobuje infekce u novorozenců⁴². U nedonošených novorozenců,

kterí jsou nuceni dlouhodobě přijímat výživu parenterální cestou, například pomocí centrálního žilního katétru tento způsob výživy s sebou přináší velké riziko vzniku infekce spojené s osídlením katétru biofilmem^{40,43}.

Candida krusei v organismu nejčastěji kolonizuje trávicí trakt, horní cesty dýchací a nejméně močovou soustavu. Bylo prokázáno, že tato kvasinka je méně virulentní, avšak mnohem více hydrofobní než *C. albicans*. Právě zmiňovaná vysoká hydrofobita buněčných obalů *C. krusei* má za následek její vysokou schopnost adherovat na epitelové buňky hostitele i na nebiologické povrchy (protézni materiály, implantáty, katetry, apod.). Díky svým strukturálním a metabolickým vlastnostem projevuje odlišné chování od ostatních lékařsky významných *Candida spp.*, vhodné k napadení hostitelova obranného systému. *C. krusei* je tedy významný lidský patogen, jehož spektrum klinických projevů je velice obdobné jako u příbuzné kvasinky *C. parapsilosis*. Jedná se například o fungemii, endoftalmitidu (akutní zánět nitroočních tkání a struktur), artritidu a endokarditidu⁴⁴.

Trichosporon cutaneum je vláknitá kvasinka, kterou můžeme izolovat z půdy, tlejícího dřeva, vzduchu, řek, jezer, mořské vody i zvířat, lidského gastrointestinálního traktu, zubních kazů či z dýchacích cest. Je schopna vytvářet biofilm a kolonizovat žilní katetry či jiné peritoneální implantáty, což vede u pacientů s oslabenou imunitou až k rozvoji systémové trichosporonózy⁴⁵. Tímto onemocněním jsou ohroženi zejména pacienti s různými druhy leukémií, neutropenií, pacienti po chemoterapii, imunosupresivní terapii nebo po dlouhodobém užívání širokospektrálních antibiotik. Méně závažné infekce způsobené *T. cutaneum* jsou bílá piedra, charakterizovaná tvorbou nepravidelných bílých uzlíků ve vlasech či onychomykóza, což je onemocnění nehtového lůžka⁴⁶.

Konidie *A. fumigatus*, které se uvolňují do okolní atmosféry, dokáží díky svému dostatečně malému průměru (2–3 μm) proniknout až do plicních alveol. Nejvíce náchylným orgánem pro zasažení a rozvoj infekce jsou plíce. Většina jedinců je schopna likvidace těchto konidií vrozenými imunitními mechanismy. Z tohoto důvodu byl *A. fumigatus* v minulosti považován pouze za slabý patogen způsobující lehká alergická onemocnění. V dnešní době ho již řadíme mezi oportunně patogenní mikroorganismy²⁸. *A. fumigatus* rostoucí ve formě biofilmu je původcem řady chronických aspergilových infekcí (plicní aspergilom, aspergilová bronchitida a tracheobronchitida, alergická bronchopulmonální aspergilóza, infekce biomateriálů a další). Antifungální léčba je často neúčinná, což může mít souvislost s fenotypem tohoto biofilmu. *A. fumigatus* kolonizuje nejen plíce, ale také může osidlovat různé druhy chirurgických implantátů, např. katetry, kloubní náhrady, kardiostimulátory, umělé srdeční chlopně a prsní implantáty. Dále bývá spojován se vznikem tzv. sinus infekcí, což jsou infekce vedlejších dýchacích dutin nebo jiných anatomických struktur⁴⁷.

8. Strategie v boji s biofilmem

Jelikož mikroorganismy v biofilmu obecně velmi snadno vytváří rezistenci vůči tradičním antibiotikům, není možné léčit infekce pouhým podáváním léků. Existují dvě možnosti antibiofilmových strategií. První z nich je preventivní – zabránění mikrobiální adheze na příslušný materiál a tím i předejití tvorby samotného biofilmu. Druhou možností je eradikace již vytvořeného mikrobiálního biofilmu⁴⁸.

Identifikace a ovlivnění všech rizikových faktorů, ve smyslu jejich eliminace, před operací pacienta jsou zásadní pro prevenci vzniku infekce. Mezi tyto faktory patří např. kontrola hladiny glukosy v krvi u diabetiků, u kuřáků podpora odvykání kouření a dále také diagnostika jakékoliv stávající infekce v těle pacienta, apod.²⁵. Dobrou prevencí je poctivé a pravidelné čištění pracovních nástrojů, veškerého vybavení a samozřejmě také mytí a desinfekce rukou či lékařských rukavic. Dezinfekční prostředky mohou být ovšem při vyšší spotřebě toxické pro životní prostředí a navíc jejich velká spotřeba značně zvyšuje náklady celého procesu. Bylo prokázáno, že použití měděných nástrojů mnohonásobně snižuje riziko kontaminace. Měď je totiž všeobecně známa svými antibakteriálními vlastnostmi⁴⁸. Velký význam má také aplikace předoperační antimikrobiální profylaxe za účelem předejití případným infekcím (často se používají antibiotika cefazolin a vankomycin)²⁵.

Pro prevenci tvorby biofilmu na jakémkoliv chirurgickém implantátu či jiném materiálu se používají antiadhezní či antimikrobiální povrchy. Tím se buď zabráni adhezi bakterií na povrch, nebo jsou zničeny veškeré buňky, které již na povrch adherovaly. Drsnost povrchu materiálů, za účelem získání antiadhezivních vlastností, lze upravit např. pomocí fyzikální modifikace, dále také změnou povrchové energie nebo imobilizací antiadhezivních látek, mezi něž patří polysacharidy nebo poly(ethylenglykol). Pro tvorbu biocidního povrchu lze použít imobilizaci antibiotik inkorporací nebo kovalentní vazbou přímo k povrchu. Často se také používá stříbro či kvartérní dusík²⁵.

Jelikož jsou přisedlé mikroorganismy výrazně odolnější vůči antibiotikům (oproti buňkám v suspenzi až 1000×), biocidům a také hydrodynamickým střízným silám, je eradikace biofilmu značně obtížná. Postupné navyšování koncentrace antibiotik vede ke zvýšené rezistenci mikroorganismů. Biofilm je možné odstraňovat rovněž mechanicky. Tato varianta může být ovšem pro pacienta velmi bolestivá. Enzymově je možné biofilm odstranit použitím enzymu dispersinu B (cit.⁴⁸).

Celkově je lepší vzniku biofilmu předcházet, namísto odstraňování již rozvinutých infekcí, jejichž léčba je velice obtížná⁴⁸.

9. Závěr

Infekce způsobené mikrobiálními biofilmy představují pro lidstvo také významnou socioekonomickou zátěž.

Vzhledem k tomu, že v mnoha případech nelze konvenčními antimikrobiálními přípravky odstranit biofilmové infekce, je nezbytně nutné pracovat na alternativních postupech. Nové anti-biofilmové strategie vyžadují podrobné znalosti týkající se biologie biofilmů, mikrobiologie infekcí, mechanismu tvorby biofilmu a s ním spojené antimikrobiální tolerance⁴⁹. Tyto inovativní strategie (možnosti, jak čelit biofilmovým infekcím a zároveň zabránit rozvoji mikrobiální rezistence k antibiotikům) jsou teprve na začátku výzkumu. Současná medicína je velice špatně připravena na léčbu infekcí způsobených rezistentními kmeny. Proto by zavedení efektivní léčby infekcí spojených s tvorbou biofilmů mohlo zachránit mnoho životů a snížit náklady spojené s léčbou či potenciální výměnou infikovaných implantátů. Účinná profylaxe by mohla rapidně snížit nemocnost a následně redukovat náklady spojené se vznikem nosokomiálních infekcí⁵⁰.

Financováno z GAČR grantu 14-23597S.

LITERATURA

- Costerton J. W., Geesey G. G., Cheng G. K.: *Sci. Am.* 238, 86 (1978).
- Gibbons R. J., Qureshi J. V.: *Infect. Immun.* 22, 665 (1978).
- Kaplan J. B.: *J. Dent. Res.* 89, 205 (2010).
- Stoodley P., Boyle J. D., Dodds I., Lappin-Scott H. M.: *Biofilms: Community Interactions and Control*. BioLine, Powys 1997.
- Watnick P., Kolter R.: *J. Bacteriol.* 182, 2675 (2000).
- Chavant P., Gaillard-Martinie B., Talon R., Hébraud M., Bernardi T.: *J. Microbiol. Methods* 68, 605 (2007).
- Davey M. E., O'Toole G. A.: *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64, 847 (2000).
- Flemming H.-C., Neu T. R., Wozniak D. J.: *J. Bacteriol.* 189, 7945 (2007).
- Donlan R. M., Costerton J. W.: *Clin. Microbiol. Rev.* 15, 167 (2002).
- Jefferson K. K.: *FEMS Microbiol. Lett.* 236, 163 (2004).
- Mah T.-F. C., O'Toole G. A.: *Trends Microbiol.* 9, 34 (2001).
- Willey J., Sherwood L., Woolverton Ch.: *Prescott's Microbiology*, McGraw-Hill, The McGraw-Hill Companies, New York 2008.
- Ramey B. E., Koutsoudis M., Bodman S. B. v., Fuqua C.: *Curr. Opin. Microbiol.* 7, 602 (2004).
- El-Masry M., El-Bestawy E., El-Adl N.: *World J. Microbiol. Biotechnol.* 20, 551 (2004).
- Jain A., Marsili E., Bhosle N.: *Microbes and Microbial Technology* (Ahmad I., Ahmad F., Pichtel J., ed.), str. 59, Springer, New York 2011.
- Simões M., Simões L. C., Vieira M. J.: *LWT--Food Sci. Technol.* 43, 573 (2010).
- Douglas L. J.: *Rev. Iberoam. Micol.* 19, 139 (2002).
- Donlan R. M.: *Clin. Infect. Dis.* 33, 1387 (2001).

19. Gaspar M. C., Couet W., Olivier J. C., Pais A. A. C. C., Sousa J. J. S.: *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 32, 1231 (2013).
20. Strateva T., Mitov I.: *Ann. Microbiol.* 61, 717 (2011).
21. Weidner W., Schiefer H. G., Dalhoff A.: *Am. J. Med.* 82, 280 (1987).
22. Greenberger P. A., Bush R. K., Demain J. G., Luong A., Slavin R. G., Knutsen A. P.: *J. Allergy Clin. Immunol.: In Practice* 2, 703 (2014).
23. Zimmerli W., Trampuz A., Ochsner P. E.: *N. Engl. J. Med.* 351, 1645 (2004).
24. Gordon G. M., Moradshahi N., Jeong S., Lane C., Fini M. E.: *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.* 52, 9188 (2011).
25. Tande A. J., Osmon D. R., Greenwood-Quaintance K. E., Mabry T. M., Hanssen A. D., Patel R.: *Am. Soc. Microbiol.* 5, 302 (2014).
26. Pandey R., Berendt A. R., Athanasou N. A.: *Arch. Orthop. Unfall-Chir.* 120, 570 (2000).
27. Azzam K., Parvizi J., Jungkind D., Hanssen A., Fehring T., Springer B., Bozic K., Della Valle C., Pulido L., Barrack R.: *J. Bone Jt. Surg., Am. Vol.* 91, 142 (2009).
28. Maiorana A., Papi M., Bugli F., Torelli R., Maulucci G., Cacaci M., Posteraro B., Sanguinetti M., De Spirito M.: *Appl. Surf. Sci.* 279, 409 (2013).
29. Archer G. L.: *Clin. Infect. Dis.* 26, 1179 (1998).
30. Ziebuhr W., Hennig S., Eckart M., Kränzler H., Batzilla C., Kozitskaya S.: *Int. J. Antimicrob. Agents* 28, Supplement 1, 14 (2006).
31. Senadheera D., Cvitkovitch D., v knize: *Bacterial Signal Transduction: Networks and Drug Targets*, str. 178, (Utsumi R., ed.). Springer, New York 2008.
32. Iglewski B. H.: *Medical Microbiology*, (Baron S.), str. 583. University of Texas Medical Branch at Galveston, Galveston 1996.
33. Lister P. D., Wolter D. J., Hanson N. D.: *Clin. Microbiol. Rev.* 22, 582 (2009).
34. Kerr K. G., Snelling A. M.: *J. Hosp. Infect.* 73, 338 (2009).
35. Breidenstein E. B. M., de la Fuente-Núñez C., Hancock R. E. W.: *Trends Microbiol.* 19, 419 (2011).
36. Van Houdt R., Michiels C. W.: *Res. Microbiol.* 156, 626 (2005).
37. Lachance M. A., Boekhout T.: *The Yeast: a Taxonomic Study*, Elsevier, Amsterdam 2011.
38. Naglik J. R., Moyes D. L., Wächtler B., Hube B.: *Microbes Infect.* 13, 963 (2011).
39. Finkel J. S., Mitchell A. P.: *Nat. Rev. Microbiol.* 9, 109 (2011).
40. Trofa D., Gácsér A., Nosanchuk J. D.: *Clin. Microbiol. Rev.* 21, 606 (2008).
41. Garzoni C., Nobre V. A., Garbino J.: *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 26, 915 (2007).
42. Fernandez M., Moylett E. H., Noyola D. E., Baker C. J.: *Clin. Infect. Dis.* 31, 458 (2000).
43. Kuhn D. M., Chandra J., Mukherjee P. K., Ghannoum M. A.: *Infect. Immun.* 70, 878 (2002).
44. Samaranayake Y. H., Samaranayake L. P.: *J. Med. Microbiol.* 41, 295 (1994).
45. Colombo A. L., Padovan A. C. B., Chaves G. M.: *Clin. Microbiol. Rev.* 24, 682 (2011).
46. Carvalho A. M. R. d., Melo L. R. B. d., Moraes V. L., Neves R. P.: *Braz. J. Microbiol.* 39, 59 (2008).
47. Ramage G., Rajendran R., Gutierrez-Correa M., Jones B., Williams C.: *FEMS Microbiol. Lett.* 324, 89 (2011).
48. Thebault P., Lequeux I., Jouenne T.: *J. Wound Technol.* 21 (2013).
49. Rybtker M., Hultqvist L. D., Givskov M., Tolker-Nielsen T.: *J. Mol. Biol.* 427, 3628 (2015).
50. Quave C. L., Plano L. R. W., Pantuso T., Bennett B. C.: *J. Ethnopharmacol.* 118, 418 (2008).

E. Kvasničková, M. Paldrychová, O. Mařátková, and J. Masák (*Department of Biotechnology, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Medicinal Aspects of Microbial Biofilm**

The formation and development of bacterial as well as yeast or filamentous fungi biofilms, which is connected with dangerous or even fatal human infections, represents a relatively new and poorly studied problem in current medicine. The understanding of the processes running in biofilms of pathogenic microorganisms and finding of new possibilities of the biofilm prevention or eradication and also the regulation of biofilm resistance development is necessary for proposing advanced treatment procedures for wide range of illnesses.