

Bio

Ročník 28 • Číslo 3/2018

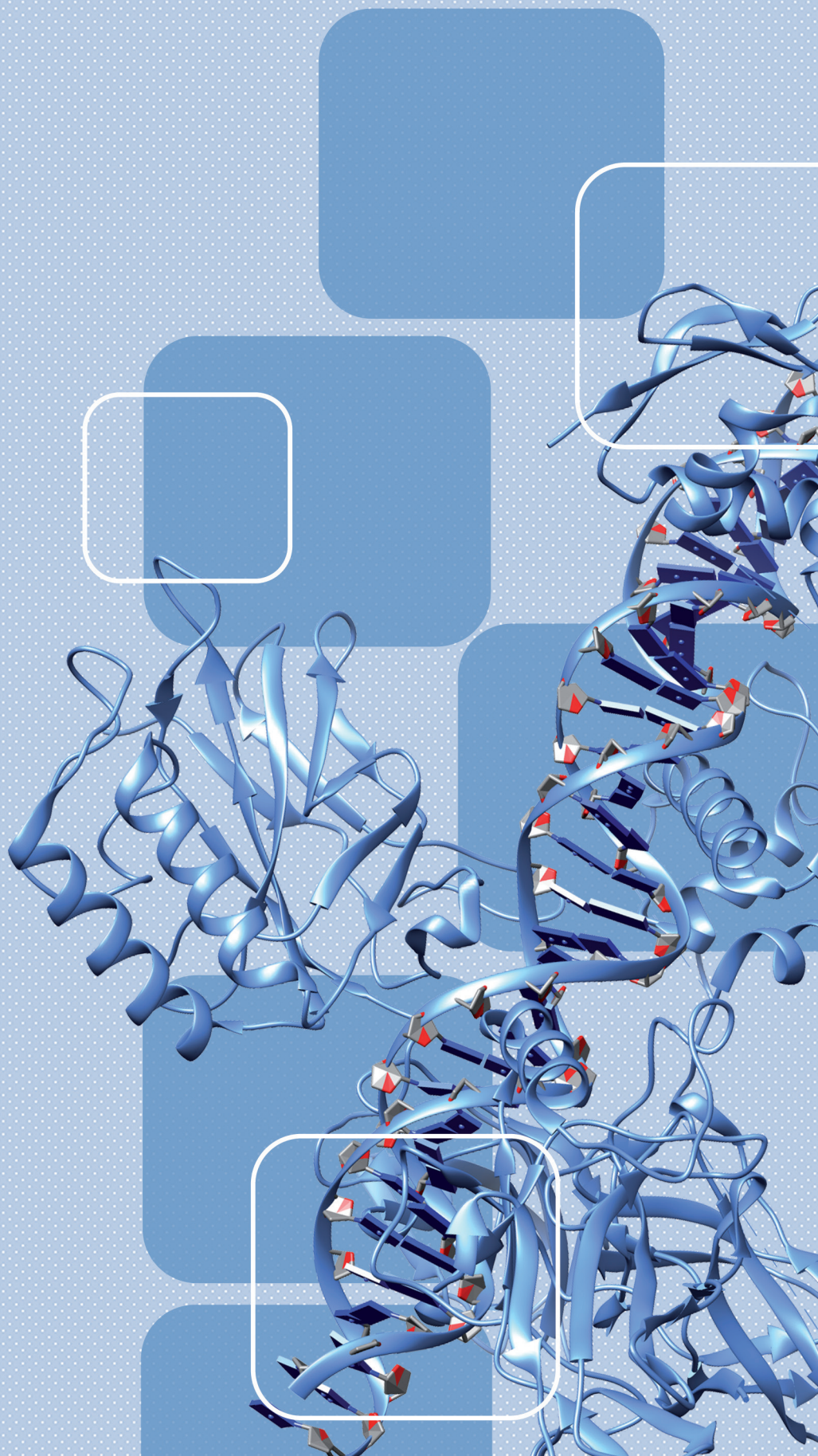
prospect

**BULLETIN
BIOTECHNOLOGICKÉ
SPOLEČNOSTI**

zakládajícího člena
Českého svazu
vědeckotechnických
společností (ČSVTS)

a

člena „European
Federation
of Biotechnology“
(EFB)



Bio prospect

Society address: Institute of Chemical Technology, Technická 3, 166 28 Prague 6, Czech Republic.
Tel.: 420-220 443 151, fax: 420-233 334 769, e-mail: danka.pokorna@vscht.cz, IČO 00570397,
account No.: 19534-061/0100 Komerční banka Praha 6, Dejvická 52, SWIFT CODE: COMBCZTPP

Czech Republic Regional Branch Office as a bridge between European Federation of Biotechnology and Czech Biotechnology Society is located in the Centre of the Region Hana for Biotechnological and Agricultural Research, Šlechtitelů 21, 783 71 Olomouc, Czech Republic

BULLETIN OF CZECH BIOTECHNOLOGY SOCIETY

**founding member of the Czech Association of Scientific
and Technical Societies – <http://en.csvts.cz>**

**and
member of European Federation of Biotechnology
<http://www.efb-central.org>**

Bioprospect, the bulletin of the Biotechnology Society is a journal intended to inform the society members about the most recent developments in this field. The bulletin should supply the vitally important knowledge directly to those who need it and to those who are able to use it properly. In accordance with the rules of the Society, the Bulletin also deals with both theoretical and practical questions of biotechnology. Articles will be published informing about the newest theoretical findings, but many planned papers are devoted to fully practical topics. In Czech Republic there is a growing gap between basic research and production. It is extremely important to reverse as soon as possible the process of further opening of the scissors, and we hope the Bulletin will help in this struggle by promoting both research and practice in our biotechnology. The Bulletin should facilitate the exchange and targeted delivery of information. The editorial board welcome advertisements of products such as chemicals, diagnostics, equipment and apparatus, which have already appeared

on the Czech market, or are projected, enter it. Services, free R&D or production facilities can also be advertised. The editorial board, together with the executive committee of the Biotechnology Society, hope that maybe some information published in the Bulletin, or some new contacts based on it, will give birth to new cooperation with domestic or foreign research teams, to collaborations, joint ventures or strategic alliances providing access to expertise and financing in international markets.

The editorial board invites all of You, who are involved in the field called biotechnology, and who are seeking contacts in Czech Republic, to advertise in the Bulletin BIOPROSPECT, which is mailed directly to more than one and a half thousand Czech biotechnologists.

For more information contacts the editorial board or directly:

Petra Lipovová, Ph.D. (editor in chief)
UCT, Technická 3
166 10 Prague 6, Czech Republic
Phone +420 220 443 028
e-mail: petra.lipovova@vscht.cz

ÚVODEM

Vážení přátelé,

Jak jsme Vás již informovali, od 1. do 4. července 2018 se uskutečnil ve švýcarské Ženevě Evropský biotechnologický kongres (www.ecb2018.com). Kongres probíhal v ženevském konferenčním centru (CICG) lokalizovaném nedaleko Náměstí Národů s budovou Organizace spojených národů a blízko od historického centra Ženevy. Vědecký program byl velmi bohatý. Kromě každodenních plenárních přednášek měli účastníci kongresu možnost si vybrat z 16 symposií zahrnujících širokou oblast biotechnologií. Tematický rozsah kongresu byl dále rozšířen v posterových sekcích, kdy presentované postery byly rozříděny do 36 tematických celků. V programu samozřejmě nechyběla výstava laboratorních přístrojů, obchodní presentace i zprostředkování zaměstnání („job trade“), t.j. hledání a nabídka zaměstnaneckých pozic. Velmi zajímavá byla presentace firmy Jennewein Biotechnologie GmGh, která, jako první, nabízí důležité oligosacharidy mateřského mléka („human milk oligosaccharides“ HMOs), vyrobených originálním fermentačním procesem. Jako doplněk kojenecké výživy dodává 2'-fukosyllaktosu (300 mg) a lakto-N-neotetraosu (150 mg) společně s laktosou (1550 mg) do 250 ml mléka. Tyto oligosacharidy nahrazují nejvýznamnější složky mateřského mléka. Klinické studie prokázaly, že HMOs chrání kojence proti bakteriálním a virovým infekcím, stimulují růst vhodné intestinální mikroflory, chrání před zánětlivými procesy a dále podporují vývoj mozku a nervové soustavy.

Zatímco vědecký program kongresu je možné bezvýhradně pochválit nelze v žádném případě pochválit sociální program, který skřípal prakticky ve všech směrech a dosáhl absolutního propadáku organizací „networking evening“, což organizátoři přiznali, pokusili se omluvit všem účastníkům e-mailem, avšak nedokázali z toho vyvodit důsledky. Kongresové materiály byly vydány v maximální míře úspornosti s tím, že vše lze nalézt na internetu. Kromě útlé kongresové brožury účastníci nedostali ani plán města či informaci o městské hromadné dopravě. Ta je ostatně velmi zajímavá, neboť zahrnuje i dopravu lodí napříč ženevským jezerem. Na druhé straně je možné organizátory kongresu pochválit za to, že všechna abstrakta publikovali v časopise *Journal of Biotechnology*.

Příští evropský biotechnologický kongres (European Congress on Biotechnology) se uskuteční za 2 roky, a to 28. 6. – 1. 7. 2020 v holandském Maastrichtu.

Na závěr našeho úvodníku nám opět dovozte si všimnout některých zajímavostí z aktuální literatury. Všeobecně je známo, že neandrtálci vyhynuli zhruba před 40 000 lety, ale některé jejich genomové sekvence se nacházejí v genomu některých současných populací. Doposud nebyl objasněn jejich význam. Nedávno byl v tomto směru učiněn určitý pokrok (McCoy RC, Wakefield J, Akey JM: Impact of Neanderthal-Introgressed Sequences on the Landscape of Human Gene Expression. *Cell* 2017, 16895é, 916-927, doi: 10.1016/j.cell.2017. 01. 038). Ukazuje se, že neandrtálské geny nejsou pouze „spícími zbytky vložených genetických informací“, ale představují měřitelný vliv na genovou expresi, která ovlivňuje fenotyp moderního člověka. Nízká exprese neandrtálských alel vzhledem k ostatním tkáním byla prokázána ve varlatech a mozku. DNA sekvence zděděné po neandrtálcích jsou prokazatelně spojeny s řadou nemocí, vzniklé mutace v genech současných lidí jsou spojeny s řadou poruch neurologických a psychiatrických. Dále s depresemi, poruchami řeči, sklonem k sebevraždě, obezitě, autismu a snad i Alzheimerově chorobě, či závislosti na nikotinu. Bohužel autoři článku neuvádějí žádná pozitiva, která by nám lidem styk s neandrtálci přinesl.

Uplynulo již 15 let od úspěšného sekvenování celého lidského genomu, ale dosud nemáme zcela jasno, kolik genů charakterizuje lidský proteom. V současnosti se domníváme, že lidský genom má pouze cca 20 000 genů kódujících proteiny, ale u řady z nich nevíme přesně, jakou mají funkci. Ukázalo se, že 4 234 genů, dříve považovaných za exony, patří do oblasti nekódující DNA (Abascal F, Juan D, Fress ML et al.: Loose ends: almost one in five human genes still have unresolved coding status. *Nucleic Acids Res*, 2018 doi: 10.1093/nar/gky587).

Přejeme Vám příjemné počtení článků, které jsme pro Vás v tomto čísle vybrali.

Se srdečnými pozdravy

Vaši

Jan Káš a Petra Lipovová

REKREAČNÍ GENETIKA

Lucie Benešová

Genomac výzkumný ústav, Praha 6; lbenesova@genomac.cz

Úvod

Genetika není jenom věda o vrozených nemocech. V dnešní době už vědci umí v DNA přečíst oblasti, ve kterých jsou zapsány některé vlohy či talenty, odkódovat místa původu Vašich pradávnych předků nebo dokonce vytvořit obraz nebo šperk podle předlohy Vašeho jedinečného genetického kódu zapsaného v DNA.

Genograf aneb historie ukrytá ve Vaší DNA

Asi každý z nás se někdy zamyslel nad svými kořeny. A někteří dokonce sestavují rodokmeny, pátrají v matrikách, hledají potencionální příbuzné. Věděli jste ale, že informaci o tom, kde se nachází místo Vašeho původu a k jaké jazykové rodině náležíte, nosíte stále u sebe, ve Vaší DNA? Ano, skutečně to tak je a test Genograf Vám tuto informaci umí odhalit.



Jedná se o analýzu určitých úseků DNA, které se dědí v nezměněné formě z generace na generaci, a tak je možné, na základě výsledků a jejich porovnání se světovými databázemi a vědeckými publikacemi, určit Váš genetický původ po otcovské nebo mateřské linii několik stovek až tisíců let zpět. Podle kombinace naměřených úseků neboli genetického profilu se nejprve určuje tzv. haploskupina (u otcovské linie) nebo klan (u mateřské linie), ke kterým daný člověk náleží a z nich se pak odvozuje pravděpodobné místo původu a jazyková skupina. A tak se například dozvíte, že jste vlastně germánského původu nebo že Vaši předci pochází z oblasti Francie. Navíc je Váš genetický profil porovnán s ostatními sta tisíci profilem zadanými ve veřejných světových databázích, a pokud je nalezena shoda, získáte informaci o tom, kde se nachází Váš potencionální vzdálený příbuzný.

Výsledkem testu je unikátní certifikát s mapkou zobrazující původ a putování Vašich předků, tabulkou naměřených DNA hodnot, podrobným popisem Vaší

haploskupiny nebo klanu a výpisem počtu a lokalizace lidí se shodným genetickým profilem.

V souvislosti s testy Genograf vznikl před 10 roky projekt Česká národní genografická databáze, kam jsou po souhlasu testovaných osob vkládány jejich genetické profily. V současné době je v databázi téměř 8000 profilů po otcovské nebo mateřské linii od lidí z celé České republiky a tak dává poměrně reprezentativní obraz genetického původu Čechů. Z analýzy dat otcovských linií například vyplývá, že nejpočetnější ovšem nikoliv převažující haploskupinou v České republice je haploskupina R1a, což je typicky slovanská skupina východoevropského původu. Vyskytuje se u více než jedné třetiny Čechů (37 %) a její nejstarší původ (10 – 15 tisíc let zpět) se uvádí v eurasijských stepích tedy na území dnešní jihovýchodní Ukrajiny. Odsud se předchůdci, zejména Slované, šířili na západ a nyní ji evidujeme zejména ve východní a severovýchodní

Evropě, méně pak v jihovýchodní Evropě. Druhou nejzastoupenější haploskupinou je R1b (25 %). Tato typicky germánská, eventuálně románská či keltská haploskupina západoevropského původu má nejstarší původ v jižní a jihozápadní Evropě, zimovišti poslední doby ledové, a dnes se nachází převážně v jihozápadní a západní Evropě a také v severní a jižní Americe. Dále následují, co do zastoupení v české populaci, haploskupiny I2a (8 %), I1 (7 %) a E1b1b (6,5 %). Všechny tři mají nejstarší původ na Blízkém východě či Balkánském poloostrově, ovšem zatímco představitelé typicky jihoslovanské haploskupiny I2a zde mají nejvyšší výskyt

i v dnešní době, nositelé germánské haploskupiny I1 časem osídlili severní, severozápadní a západní Evropu a nyní se nejvíce vyskytují v oblasti Skandinávie a haploskupina E1b1b se z Blízkého východu rozšířila do Středomoří a dnes je nejvíce zastoupena v severní a východní Africe a dále pak v jižní a jihovýchodní Evropě. Ostatní haploskupiny jsou v České republice zastoupeny již v méně než 5 % a pokrývají další oblasti světa.

U mateřské linie převládá v České republice klan Helena (cca 45 %), tak jako i v ostatních částech Evropy, zejména na jihozápadě, odkud původně pochází. Do tohoto klanu například náležela i slavná královna Marie Terezie. Dále následuje Uršula (17 %) s oblastí původu ve Středomoří, Tara (11 %) pocházející ze severní Itálie, Jasmína (9 %) mající svůj původ na Blízkém východě a Kateřina (6 %), která vznikla v oblasti jižní Evropy, konkrétně v dnešní severovýchodní Itálii, na pobřeží Jaderského moře a na jižním úpatí Alp, a která se nejvíce vyskytuje v populaci Aškenázské a evropské židovské populaci.

Každopádně se potvrzuje, že Česká republika je středem a srdcem Evropy, a že kromě typických Slovanů zde máme také významnou část Germánů, Keltů či dokonce Vikingů. Tím se lišíme od většiny ostatních zemí Evropy, kde vždy jedna haploskupina oproti ostatním výrazně převládá. V Německu, Velké Británii, Rakousku, Francii, Itálii, Španělsku, Portugalsku, Belgii, Holandsku a Švýcarsku je to R1b, v Polsku, na Slovensku, v Rusku nebo na Ukrajině zase R1a a ve Švédsku a Norsku I1.

Vaše geny Vám prozradí, co je pro Vás to nejlepší

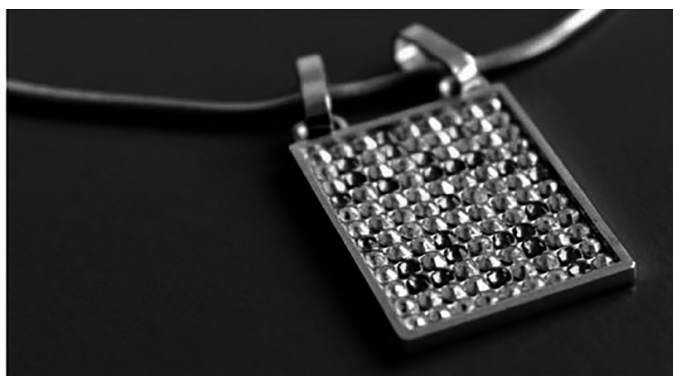
Zatímco pomocí Genografu pátráme ve Vaší minulosti, jiným testem se umíme podívat pro změnu do Vaší budoucnosti, respektive zjistit, jak mohou některé geny ovlivnit aktivity Vašich dětí nebo co můžete udělat pro to, aby Vaše snažení o udržení Vašeho těla v kondici a na správné váze bylo co nejúčinnější. Takovou analýzu představuje test Genoskop, který zkoumá drobné odlišnosti v genech zodpovědných za některé naše vlastnosti a schopnosti. Jak celé naše tělo funguje, je totiž výsledek toho, co se v něm podle našich genů vyrobí, ať už je to například svalové vlákno určené pro dlouhou vytrvalostní práci nebo přenašeč tuku v krvi. A v každém z těchto genů může být drobná odchylka, která způsobí, že sval či přenašeč funguje odlišně a někdo má pak díky tomu nadání na vytrvalostní sporty, jiný zase zvýšené ukládání tuků. Jak se ale tyto vlohы zúročí je také značně ovlivněno psychikou a vnějšími podmínkami jako je výchova, trénink, životní styl, strava a podobně. Když některé tyto geny přečteme například v DNA Vašich dětí, může Vám to pomoci rozhodnout, na který druh sportu je dát, zda u nich rozvíjet vztah k hudbě a cizím jazykům již od útlého věku nebo do jaké míry kontrolovat jejich aktivity ve volném čase.

U dospělých osob lze pak díky jejich znalosti lépe nastavit výživový a pohybový režim při redukci nebo udržování váhy a to na základě určení vrozených dispozic k hospodaření těla s přijatými tuky, vnímání hořké chuti, potřebě sladkého nebo ke zvládání různých typů sportů.

Výsledek testu pro děti, Genoskopu Junior, obsahuje vedle samotné analýzy genů pro sport, absolutní hudební sluch, cirkadiánní rytmy a riziko vzniku závislosti, zejména konkrétní doporučení pro vhodné sporty či ideální denní dobu pro psychické i fyzické aktivity Vašeho dítěte. Výsledek testu Genoskop Linie zahrnuje navíc podrobný „návod“ na typ a složení stravy a sportovní aktivity, obecný jídelníček a další užitečné informace pro efektivní, zdravé a hlavně tělu přirozené snižování váhy. Smyslem tohoto testu tedy je, aby ukázal, co je tělu podle jeho DNA to nejpřirozenější a napomohl tak správně nasměrovat sportovní, psychický či výživový režim.

DNA jako jedinečná předloha pro obraz nebo šperk

DNA každého člověka je zcela unikátní a neopakovatelný biologický objekt, který kromě genů, zodpovědných za vzhled a fungování celého těla, obsahuje také určité variabilní oblasti, jejichž kombinace tvoří tzv. genetický profil člověka. Tento genetický profil je něco jako otisk prstu, který se přímo nabízí jako předloha pro tvorbu obrazu – Genoportrétu či šperku – Genoklenotu. V těch se pak spojují dva fenomény: jedinečnost vzorové DNA a moderní design. Genoklenot je šperk 21. století, ručně vyráběný náramek nebo náhrdelník ze stříbra a krystalů Swarovski, jehož konečná barevná podoba odráží genetický profil zakomponovaný do pozic jednotlivých krystalů. Designový obraz Genoportrét, je stejně jako Genoklenot, odrazem genetického kódu



prostřednictvím pozic barevných linek. Navíc ale umožňuje spojit genetické profily od více osob najednou, a tak můžete mít doma svůj partnerský, sourozenecký či rodinný obraz, který vyjadřuje nejen jedinečnost každé osoby, ale také jejich vzájemnou genetickou podobnost zobrazenou barevnými překryvy. Výsledkem jsou nadčasové, ale zároveň velice osobní obrazy a šperky s duší osoby, jejíž DNA sloužila jako předloha. Hodí se tedy zejména jako dar k mimořádným příležitostem (svatba, promoce, křest, významné narozeniny), protože co víc můžete dát svým nejbližším, než kousek sebe.

Literatura:

1. www.rekreacnigenetika.cz
2. www.umeniDNA.cz
3. Zastera J, Roewer L, Willuweit S, Sekerka P, Benesova L, Minarik M: *Forensic Sci. Int. Genet.* 4(3), 75 (2010).

Souhrn

Benešová L.: Rekreační genetika

Rekreační genetika je zcela nové odvětví genetiky rozvíjející se zejména v posledních deseti letech. Nezaměřuje se na zdraví či identifikaci osob, ale na takovou analýzu DNA, jejíž výsledky poskytují testovanému jedinci zajímavé informace o jeho pradávných kořenech či vrozených talentech a vlastnostech. Díky tomu lze například určit původ mateřské a otcovské linie, vypátrat vzdálené příbuzné anebo pomoci při výběru koníčků a sportů u dětí či volbě vhodného nastavení redukčního programu. V rámci Rekreační genetiky lze také získat zcela osobitý a jedinečný obraz či šperk vytvořený dle předlohy genetického kódu.

Klíčová slova: rekreační genetika, Genograf, haplogrupa, STR-markery, Genoskop, talenty a vloh, Genoportrét, Genoklenot

Summary

Benešová L.: Recreational genetics

Recreational genetics is a completely new branch of genetics that has evolved over the last decade. It does not focus on the human health or identification, but on analysis of such DNA regions which hide the interesting information about ancestral roots or innate potential and skills of tested person. For example, it is possible to determine the origin of the maternal and paternal lines, to find distant relatives, or to help with choosing hobbies and sports for children, or setting the appropriate weight reduction program. Within Recreational Genetics, you can also get a completely personal and unique art or jewel created according to your genetic code.

Keywords: Recreational genetics, Genograf, haplogroup, STR-markers, Genoskop, innate potential and skills, Genoportrait, Genojewel

Jak genetické testy probíhají?

Celkem jednoduše, stačí doma speciálním kartáčkem odebrat sobě nebo svému dítěti z úst vzorek DNA a zaslat do laboratoře spolu s vyplněnými dokumenty. Po obdržení Vašich vzorků se pomocí nejmodernějších přístrojů provede izolace a analýza DNA, následuje vyhodnocování a interpretace získaných dat a konečná tvorba certifikátu, výsledkového protokolu, obrazu či šperku, což trvá zpravidla 3 – 6 týdnů. Všechny genetické testy je možno získat i ve formě dárkových poukazů a překvapit tak své blízké opravdu nevšedním a zcela originálním dárkem.

PŘEHLED LÁTEK S ANTIMIKROBIÁLNÍ A ANTI-BIOFILMOVOU AKTIVITOU OBSAŽENÝCH VE VINNÉ RÉVĚ

Jana Drbohlavová

Ústav Biotechnologie, VŠCHT v Praze; drbohlaj@vscht.cz

Úvod

Negativní vlivy biofilmů jsou současným problémem v medicíně, kde mikroorganismy jsou zodpovědné za široké spektrum mikrobiálních infekcí v lidském těle. Odstranění biofilmů je čím dál tím složitější vzhledem k rostoucí rezistenci mikroorganismů k běžně používaným antibiotikům. To ukazuje na potřebu hledání nových anti-biofilmových látek, které by mohly přispět k odstranění již vytvořeného biofilmu¹. Jednou z možností je využití přírodních látek, sekundárních metabolitů rostlin, například polyfenolů. Tyto metabolity se přirozeně vyskytují v ovoci, zelenině, obilovinách, ale také v rostlinných produktech, jako je, víno, pivo, čaj a kakao². Pozornost se přesunula k rostlinným polyfenolům izolovaným z extraktu rostlin vinné révy (*Vitis vinifera*). Vinná réva obsahuje velké množství polyfenolových látek, např. resveratrolu, quercetinu či polydatinu, které vykazují antimikrobiální a anti-biofilmovou aktivitu³.

Vitis vinifera

Při výrobě vína zůstává 20 % hmotnosti hroznů jako výlisky, zvané matoliny, které patří mezi odpadní produkty a využívají se jako půdní hnojivo. Z důvodu špatné stravitelnosti je nelze použít jako krmivo, ale jsou zdrojem hydrokoloidů, dietní vlákniny a ze semen se lisuje olej^{4,5}. V posledních několika letech se objevil rostoucí zájem o využití vedlejších vinařských produktů pro výrobu přírodních antioxidantů z důvodu obsahu polyfenolových látek. Tyto sloučeniny tvoří aromatické sekundární metabolity, které jsou syntetizovány během metabolismu rostlin šikimátovou cestou nebo z fenypropanoidu. Jejich biosyntéza nastává během normálního vývoje rostlin nebo jako reakce na stresové podmínky, jako je infekce, poranění rostlin a působení UV záření³.

Meziprodukty a odpadní produkty při výrobě vína představují nízkonákladové zdroje mnoha bioaktivních sloučenin používaných v potravinářském, kosmetickém a farmaceutickém průmyslu^{6,7}.

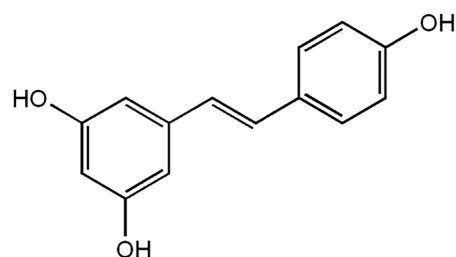
V semenech hroznů jsou přítomny flavonolové a proantokyanidinové sloučeniny (kondenzované taniny). Proantokyanidinové sloučeniny patří mezi důležité senzorké látky, které dodávají červenému vínu na hořkosti a trpkosti. Také jsou odpovědné za antioxidační účinnost vinařských produktů⁴. Další fenolové sloučeniny přítomné v červeném a bílém víně jsou hydroxybenzoové a hydroxykořicové kyseliny, flavonoly a stilbeny. Slupky bobulí představují bohatý zdroj antokyanidinů, hydroxykořicových kyselin a flavanolů. Modré a bílé

odrůdy se liší v množství antokyanidinů, kde modré odrůdy disponují jejich vyšším množstvím⁵. Třapiny hroznů mohou tvořit až 25 % všech zbytků pocházejících z vinařského průmyslu.

Třapiny jsou odstraněny na začátku procesu výroby vína a mohou si zachovat širokou škálu fytochemických látek, jako jsou polyfenolové látky. Třapiny obsahují až 20 % polyfenolových látek, např. proantokyanidinové sloučeniny a průměrné množství kyselin⁸.

Resveratrol

Resveratrol neboli 3,4',5-trihydroxystilben (Obr. 1) patří mezi nejznámější zástupce stilbenů. Vyskytuje se v rostlinách ve formě dvou izomerů *cis* a *trans*, přičemž převažující izomer je *trans* forma⁹.



Obr. 1: Chemická struktura *trans*-resveratrolu.

Trans-resveratrol je syntetizován jako odpověď na biotický a abiotický stres, např. na houbovou infekci¹⁰. *Trans*-resveratrol a jeho glukosid *trans*-piceid (polydatin) představují biosyntetické prekursory různých bioaktivních polyfenolů, jako jsou pterostilbeny nebo α - a ε -viniferin^{11,12}.

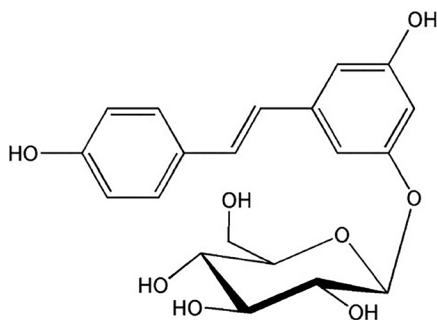
Resveratrol vykazuje protirakovinné, antioxidační a antimikrobiální účinky. V červeném víně je koncentrace resveratrolu v rozmezí 1,5 až 8 mg/l. Antoniolli a kol. (2015) detekovali množství *trans*-resveratrolu v matolinách červeného vína o koncentraci $36,0 \pm 4,9$ mg/kg¹³. Antimikrobiální účinky resveratrolu jsou v poslední době studovány z hlediska mechanismu antifungální aktivity. Přesný mechanismus je stále do značné míry neznámý, ale resveratrol by mohl působit jako induktor apoptosy lidských oportunně patogenních kvasinek *Candida albicans*. Výsledky studie Lee (2015) prokázaly, že resveratrol působí od počátku do pozdních stádií apoptózy a podílí se na aktivitě reaktivních forem kyslíku¹⁴. Další studie prokázaly antimikrobiální účinky resveratrolu proti bakteriím, jako např. *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* a *Pseudomonas aeruginosa*¹⁵. Antimikrobiální aktivita byla také prokázána u *Streptococcus mutants* a *Strep-*

Staphylococcus sanguis, což jsou bakterie ústní mikroflóry zodpovědné za tvorbu plaku, zubního kazu a podílející se na vzniku paradontózy. Resveratrol by v budoucnu mohl sloužit jako alternativa k běžně používaným přípravkům v zubním lékařství¹⁶.

Resveratrol je prokázaným inhibítozem tvorby biofilmu gram-negativní bakterie *Vibrio cholerae*¹⁷. *Trans*-resveratrol obsažený v extraktu *Carex dimorpholepis* inhiboval adhezi gram-negativní bakterie *Escherichia coli* O157:H7 k lidským epitelálním buňkám. Počet adherovaných buněk se po aplikaci 100 mg/l resveratrolu snížil až 3x¹⁸. Anti-biofilmový účinek byl také prokázán u gram-pozitivní bakterie *Propionibacterium acnes*¹⁹.

Polydatin

Polydatin (3,4',5-trihydroxystilben-3-β-D-glukosid) je monokrystalická sloučenina a je jedním z nejčastěji vyskytujících se stilbenů v přírodě (Obr. 2). Farmakologickými studiemi bylo prokázáno, že polydatin pozitivně působí na kardiovaskulární systém²⁰. Ve vinné révě je přítomnost polydatinu detekována například v matolinách, kde byla určena koncentrace 12,3 ± 2,7 mg/kg¹³.

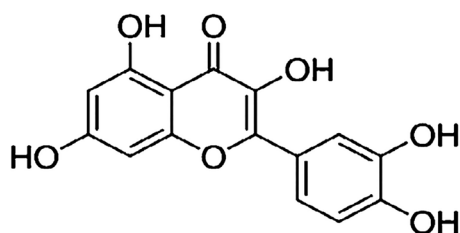


Obr. 2: Chemická struktura polydatinu.

Schulze a kol. prokázali inhibiční účinky polydatinu proti *Venturia inaequalis*, původci strupovitosti listů jabloně. Bylo zjištěno, že polydatin inhibuje klíčení spor a průnik *V. inaequalis* přes kutikulární membránu listů. Experimenty ukázaly, že polydatin by mohl přispět ke zlepšení odolnosti listů jabloní vůči patogenům²¹.

Quercetin

Quercetin neboli 3,5,7-trihydroxy-2-(3,4-dihydroxyfenyl)-4-chromen-4-on je jednou z flavonoidních sloučenin, které se přirozeně vyskytují ve vyšších rostlinách (Obr. 3)²².



Obr. 3: Chemická struktura quercetinu.

V rostlinách je quercetin přítomen v různých glykosidických formách, nejčastěji jako quercetin-3-rutinosid (rutin), quercetin-3-glukosid (isoquercitrin)

a quercetin-3,4'-diglukosid²³. Ve vinné révě je přítomen quercetin, množství je odlišné v různých částech vinné révy. Množství přítomného quercetinu v matolinách bylo detekováno odpovídající hodnotě 0,16 ± 0,01 mg/l, ve slupkách 0,26 ± 0,02 mg/l. Obsah quercetin-3-rutinosid v matolinách byl 0,17 ± 0,01 mg/l, ve slupkách 0,19 ± 0,01 mg/l. Dále byl detekován v třapínách (0,21 ± 0,07 mg/l) a v semenech (0,17 ± 0,02 mg/l)²⁴.

Quercetin má mnoho biologických a farmakologických účinků²⁵. Byla zjištěna jeho antimikrobiální a anti-biofilmová aktivita proti patogenům přenášeným potravinami. U tří testovaných bakteriálních kmenů (*Yersinia enterocolitica*, *P. aeruginosa* a *Klebsiella pneumoniae*) quercetin inhiboval viditelný růst a u všech testovaných kmenů byl také prokázán anti-biofilmový účinek²⁶. Antifungální aktivita quercetinu (obsaženém v propolisu) proti kvasince *C. albicans* byla prokázána ve studii Herrera a kol. (2010)²⁷.

Katechin

Katechiny patří mezi flavanoly a jsou přítomny v mnoha potravinářských produktech, rostlinách a ovoci. Mezi hlavní katechiny přítomné v zeleném čaji patří (-) – epigallokatechin gallát, (-) – epigallokatechin, (-) – epikatechin gallát a (+) – katechin²⁸. Pozitivní účinky zeleného čaje vyráběného z listů *Camellia sinensis*, jsou připisovány těmto katechinům, které jsou zde hojně obsaženy a zodpovídají za jeho vysokou antioxidační a antimikrobiální aktivitu proti růstu oportunních patogenů²⁹.

(+) – katechin a (-) – epikatechin byly detekovány v třapínách vinné révy, v semenech, ve slupce či v matolinách. Semena vinné révy obsahují největší množství (+) – katechinu (22,0 ± 0,1 mg/l) a (-) – epikatechinu (20,1 ± 0,4 mg/l). Naopak v matolinách bylo (+) – katechinu detekováno pouze množství 8 ± 1 mg/l a (-) – epikatechinu 7,2 ± 0,3 mg/l²⁴.

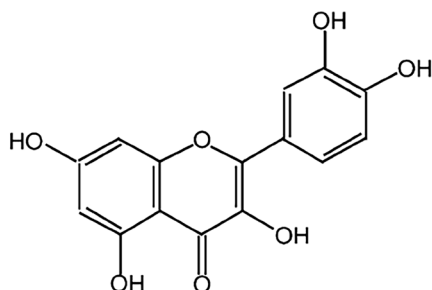
Studie ukázaly, že kombinovaná terapie prostřednictvím epigallokatechin gallátu a antimykotik zvyšuje inhibiční účinek amfotericinu B nebo flukonazolu proti kvasince *C. albicans*³⁰. Kombinovaný antimikrobiální účinek kyseliny gallové a katechinu byl prokázán proti růstu bakterie *E. coli*³¹.

Kaempferol

Kaempferol (Obr. 4) má širokospektré antioxidační, protizánětlivé a protinádorové vlastnosti³². Kaempferol je také přítomen ve vinné révě, kde byl ve slupkách a v třapínách detekován ve stopovém množství. Naopak v matolinách vinné révy a v semenech nebyl vůbec přítomen²⁴.

U kaempferolu a jeho derivátů (zejména kaempferol rhamnosidu) byly prokázány, antibakteriální a antifungální vlastnosti^{33,34,35,36}. V práci Shao a kol. (2016) sledovali vliv kombinace kaempferolu a flukonazolu na potlačení exprese genů kódujících efluxní pumpu kvasinky *C. albicans*. Efluxní pumpy jsou membránové proteiny, které transportují léčivo ven z buňky³⁷. Antifungální aktivita samotného kaempferolu byla slabá u deseti testovaných kmenů *C. albicans*. Byla však prokázána synergická antifungální aktivita kaemp-

ferolu a flukonazolu na potlačení exprese genů efluxní pumpy u třech klinických kmenů. Synergický účinek kaempferolu a flukonazolu pravděpodobně způsobil inhibici exprese genů efluxní pumpy klinických kmenů *C. albicans* rezistentních na flukonazol³⁸.

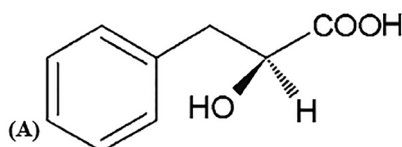


Obr. 4: Chemická struktura kaempferolu.

Fenylmléčná kyselina

Kyselina 3-fenylmléčná neboli 2-hydroxy-3-fenylpropanová (Obr. 5) je organická kyselina, která může být produkována mnoha mikroorganismy, zejména bakteriemi mléčného kvašení³⁹.

Jedná se o antimikrobiální sloučeninu s širokospektrální aktivitou proti bakteriím, např. *Listeria monocytogenes*⁴⁰, *Staphylococcus aureus* a *E. coli* O157:H7⁴¹.



Obr. 5: Chemická struktura L-3-fenylmléčné kyseliny.

Literatura

- Kagan S, Jabbour A, et al.: *J. Antimicrob. Chemother.* 69(2), 416 (2013).
- Guendez R, Kallithraka S, et al.: *Food Chem.* 89(1), 1 (2005).
- Naczek M and Shahidi F: *J. Chromatogr. A* 1054(1-2), 95 (2004).
- Bozan B, Tosun G, et al.: *Food Chem.* 109(2), 426 (2008).
- Kammerer D, Claus A, et al.: *J. Agric. Food Chem.* 52(14), 4360 (2004).
- Louli V, Ragoussis N, et al.: *Bioresour. Technol.* 92(2), 201 (2004).
- Makris DP, Boskou G, et al.: *J. Food Compos. and Anal.* 20(2), 125 (2007).
- Piñeiro Z, Guerrero R, et al.: *J. Agric. Food Chem.* 61(51), 12549 (2013).
- Filip V, Plockova M, et al.: *Food Chem.* 83(4), 585 (2003).
- Dixon RA: *Nature* 411(6839), 843 (2001).
- Douillet-Breuil AC, Jeandet P, et al.: *J. Agric. Food Chem.* 47(10), 4456 (1999).
- Langcake P, Cornford C, et al.: *Phytochemistry* 18(6), 1025 (1979).
- Antoniolli A, Fontana AR, et al.: *Food Chem.* 178(172) (2015).
- Lee J and Lee DG: *Curr. Microbiol.* 70(3), 383 (2015).
- Chan MM-Y: *Biochem. Pharmacol.* 63(2), 99 (2002).
- Yim N, Ha Do T, et al.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 20(3), 1165 (2010).
- Augustine N, Goel AK, et al.: *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology* 21(3), 286 (2014).
- Lee J-H, Cho HS, et al.: *Biofouling* 29(10), 1189 (2013).
- Coenye T, Brackman G, et al.: *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology* 19(5), 409 (2012).
- Liu L-T, Guo G, et al.: *Chin. J. Integr. Med.* 18(9), 714 (2012).
- Schulze K, Schreiber L, et al.: *J. Agric. Food Chem.* 53(2), 356 (2005).
- Liu Y, Tang Z-G, et al.: *Biomed. Pharmacother.* 92(33) (2017).
- De Oliveira MR, Nabavi SM, et al.: *Biotechnol. Adv.* 34(5), 532 (2016).
- Jara-Palacios MJ, Gordillo BN, et al.: *J. Agric. Food Chem.* 62(29), 6975 (2014).
- Yang S, Cao C, et al.: *J. Agric. Food Chem.* 64(48), 9237 (2016).
- Gopu V, Meena CK, et al.: *PloS one* 10(8), e0134684 (2015).

Kromě antibakteriální aktivity byla rovněž prokázána antifungální aktivita proti kvasinkám *Candida pulcherrima*, *Candida parapsilosis* a *Rhodotorula mucilaginosa*⁴² a široké škále mikroskopických vláknitých hub izolovaných z pekařských výrobků, mouky a cereálií včetně některých mykotoxigenních druhů např. *Aspergillus ochraceus*⁴³. Ve studii Dieuleveus a kol. (1998) prokázali antibakteriální aktivitu 3-fenylmléčné kyseliny na suspenzní růst bakterie *L. monocytogenes*. Přesný mechanismus ještě není úplně znám, ale předpokládá se, že dochází k poškození buněčné stěny⁴⁰. Fenylmléčná kyselina inhibuje konidiální růst plísni *Penicillium roqueforti*, *A. ochraceus* a *Aspergillus flavus*⁴³.

Závěr

V různých částech vinné révy jsou přítomny polyfenolové látky, tedy i v odpadních produktech pocházejících z jejího zpracování. Toho by mohlo být využito při nakládání s odpady, jelikož biologicky aktivní látky vykazují nejen antioxidační, ale také antimikrobiální a anti-biofilmovou aktivitu. Využití komplexních směsí vinařských odpadních produktů je i ekonomicky výhodnější, jelikož izolace čistých látek představuje složitější a nákladnější provoz.

Poděkování

Tato práce byla realizována v rámci "Operačního programu Praha – Konkurenceschopnost" (CZ.2.16/3. 1. 00/24503) za podpory "Národního programu udržitelnosti I" – NPU I (LO1601 – č.: MSMT-43760/2015).

27. Herrera CL, Alvear M, et al.: *Cienc. Invest. Agrar.* 37(1), 75 (2010).
28. Zeeb DJ, Nelson BC, et al.: *Anal. Chem.* 72(20), 5020 (2000).
29. Forester SC and Lambert JD: *Mol. Nutr. food res.* 55(6), 844 (2011).
30. Hirasawa M and Takada K: *J. Antimicrob. Chemother.* 53(2), 225 (2004).
31. Díaz-Gómez R, Toledo-Araya H, et al.: *LWT-Food Sci. Technol.* 59(2), 896 (2014).
32. Rajendran P, Rengarajan T, et al.: *Eur. J. Med. Chem.* 86(103) (2014).
33. Kataoka M, Hirata K, et al.: *J. Gastroenterol.* 36(1), 5 (2001).
34. Martino R, Canale F, et al.: *Phytother Res.* 28(6), 917 (2014).
35. Pinho E, Ferreira IC, et al.: *BioMed Res. Int.* 2014((2014).
36. Tatsimo SJN, Tamokou JDD, et al.: *BMC Res. Notes* 5(1), 158 (2012).
37. Chaudhary PM and Roninson IB: *Cell* 66(1), 85 (1991).
38. Shao J, Zhang M, et al.: *Pharm. Biol.* 54(6), 984 (2016).
39. Mu W, Yu S, et al.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 95(5), 1155 (2012).
40. Dieuleveux V, Lemarinier S, et al.: *Int. J. Food Microbiol.* 40(3), 177 (1998).
41. Ohhira I, Kuwaki S, et al.: *Biocontrol Sci.* 9(3), 77 (2004).
42. Schwenninger SM, Lacroix C, et al.: *J. Food Prot.* 71(12), 2481 (2008).
43. Lavermicocca P, Valerio F, et al.: *Appl. Environ. Microbiol.* 69(1), 634 (2003).

Souhrn

Drbohlavová J.: Přehled látek s antimikrobiální a anti-biofilmovou aktivitou obsažených ve vinné révě

Tvorba biofilmů a s ní související rostoucí rezistence mikroorganismů ukazuje na potřebu hledání nových přírodních látek, které při současném podání s antibiotikem zvýší jejich biologickou aktivitu. Zároveň je nutné zajistit netoxicitu těchto látek. Jednou z možných alternativ je použití sekundárních metabolitů rostlin, například polyfenolů. Tyto metabolity se přirozeně vyskytují v ovoci, zelenině, obilovinách, ořechách, ale také v rostlinných produktech jako je víno, pivo, čaj a kakao. V současné době se přesunula pozornost k rostlinným polyfenolům pocházejícím z extraktu vinné révy. Vinná réva obsahuje velké množství polyfenolových látek, např. resveratrolu či polydatinu. Odpadní vinařské produkty jsou bohaté na polyfenolové látky, které by mohly přispět k řešení problému při rezistenci mikroorganismů k běžně používaným antibiotikům, zároveň by se tím vyřešil problém s nakládáním s vinařskými odpady.

Klíčová slova: rezistence, polyfenolové látky, resveratrol, vinařské odpadní produkty

Summary

Drbohlavová J.: An overview of substances with antimicrobial and anti-biofilm activity contained in grapevine

The formation of biofilms and the associated increasing resistance of microorganisms shows the need to search for novel natural substances that would increase the biological activity of antibiotics if used together. It is also necessary to ensure the non-toxicity of these substances. One of the possibilities could be the application of plant secondary metabolites. These metabolites naturally occur in fruits, vegetables, cereals, nuts but also in plant products such as wine, beer, tea and cocoa. At present, attention has been paid to plant polyphenols from the grapevine extracts. Grapevine contains a lot of polyphenols, such as resveratrol or polydatin. Waste wine products are also rich in polyphenol substances that could help solve the problem of antibiotic resistance as well as the management of wine waste.

Keywords: resistance, polyphenols, resveratrol, waste wine product

ANTIBIOFILMOVÁ AKTIVITA NANOČÁSTIC

Ondřej Chlumský, Kateřina Demnerová

Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha; chlumsko@vscht.cz

Úvod

Mikroorganismy jsou schopné, za určitých podmínek, tvořit biofilmy, které jsou, ve srovnání s planktonními buňkami, odolnější vůči vnějším podmínkám. Tato mikrobiální konsorcia jsou rezistentní např. vůči působení antibiotik a dezinfekčních prostředků. V popředí zájmu je tedy vývoj nových postupů a metodik, jejichž použití by směřovalo k odstranění biofilmů, ale i k zabránění (blokadě) jejich tvorby. Jednou z nadějných možností je využití nanočástic připravovaných hlavně z kovových prvků, které i samy o sobě mají antimikrobiální vlastnosti. Výzkumy dosud prováděné v této oblasti ukazují, že nanočástice vhodných rozměrů a koncentrací, se mohou na odstranění biofilmů a blokadě jejich tvorby účinně podílet např. v medicíně (katetry, intubace atd.)^{1,2,3,4,5}. Dalším oborem, kde se tyto nové

postupy mohou využívat, je potravinářský průmysl. V průběhu technologického procesu dochází k tvorbě biofilmů převážně na plochách, které přicházejí do styku s výrobkem.

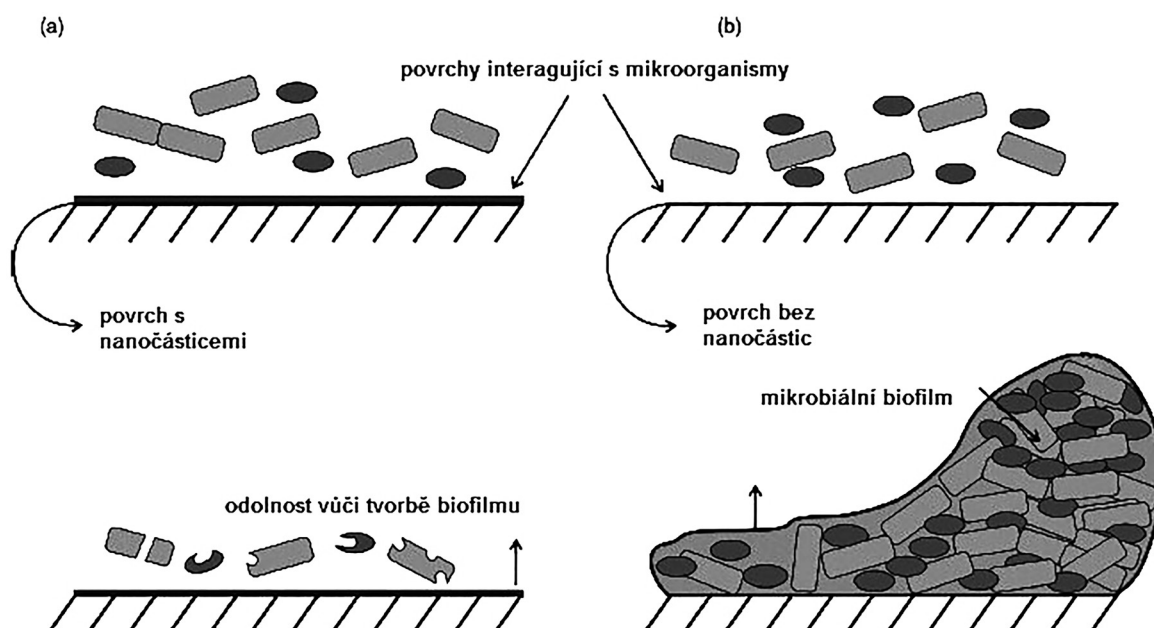
V současné době, kdy komerčně dostupná antibiotika postupně ztrácejí svou účinnost, se nanotechnologie jeví jako jeden z nejslibnějších postupů k odstraňování biofilmů⁶.

Nanočástice jsou strukturované v nanometrickém měřítku (do 100 nm), což jim dovoluje snadno pénétrovat do biofilmové matrice a buněčných membrán⁷. Při své „nano“ velikosti poskytují obrovský povrch a jsou vysoce reaktivní. Dosud bylo ověřeno, že různé skupiny nanočástic jsou účinné při léčbě infekčních onemocnění, a to i těch, které jsou způsobeny mikroby rezistentními k antibiotikům.

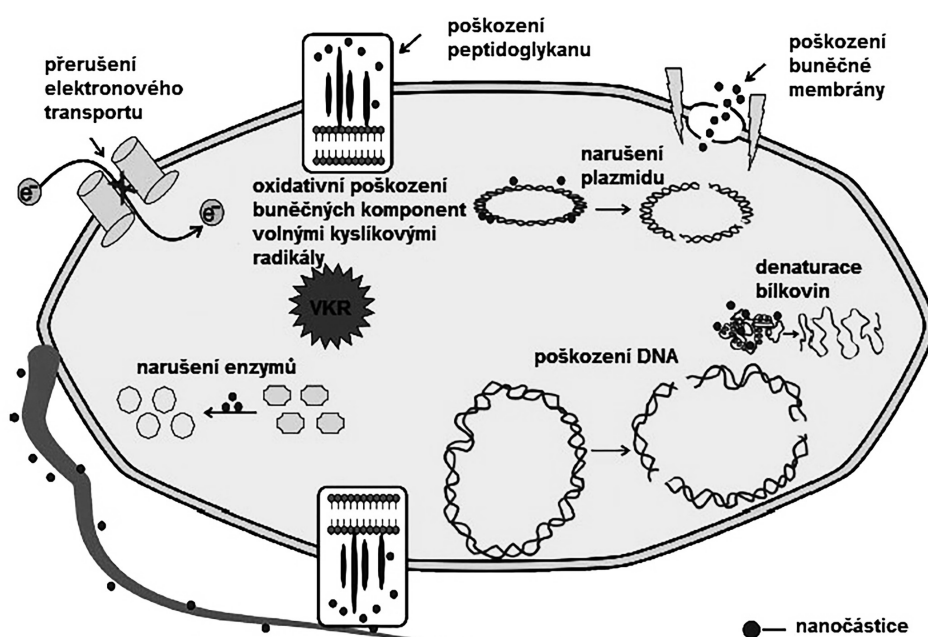
Nanočástice

Velikost nanočástic se obvykle pohybuje v rozmezích od 1 do 100 nm. Zmenšení rozměrů na atomovou úroveň výrazně mění jejich fyzikálně-chemické, optické a biologické vlastnosti. V současné době existuje několik metod využívající nanočástice pro zkoumání antimikrobiálních vlastností. Nanostruktury s vnitřní antimikrobiální aktivitou, nanočástice funkcionizované s antimikrobiálními sloučeninami (používané hlavně jako léčiva) a nanomodifikované povrchy zařízení, které snižují nános a tvorbu biofilmu (Obr. 1)^{8,9,10,11}. Pro léčebné účely lze využít mnoho druhů nanočástic, které jsou obecně rozděleny do tří hlavních kategorií: organické, anorganické a smíšené¹². Jejich velkou výhodou lze využít pro navázání léků, a tak různé sloučeniny

imobilizované na jejich povrchu mohou vést ke zvýšení jejich rozpustnosti a cílené transformace do místa působení^{13,14}. Dále bylo prokázáno, že kombinace nanočástic a antibiotik vykazuje zvýšenou antibiofilmovou aktivitu¹⁵. V odborné literatuře je popsáno, že nanočástice narušují integritu biofilmu interakcí s extracelulárními polymerními látkami, extracelulární DNA, proteiny a lipidy biofilmů¹⁶. Při interakci nanočástic s mikroby pravděpodobně dochází k poškození jejich buněčné stěny, membrány, dalších buněčných struktur a biomolekul (Obr. 2)¹⁷. Nanočástice jsou také využívány pro nanofunkcionalizaci povrchu biomedicínských nástrojů jako jsou katetry, skleněné povrchy apod.¹⁸ Mnoho typů nanočástic vykazovalo významný antimikrobiální účinek. Mezi tyto patří například nanočástice zlata, stříbra, železa, hořčíku, magnetitu a oxidu zinečnatého.



Obr. 1: Ilustrace inhibice tvorby biofilmu na površích pokrytých nanočásticemi (upraveno)³³.



Obr. 2: Obecné mechanismy účinku nanočástic na bakteriální buňku a její komponenty (upraveno)³³.

Nanočástice zlata

Léčebné účinky zlata byly známy již ve starověku. Navíc díky své vysoké biologické kompatibilitě a vlastnostem představuje zlato jeden ze slibných materiálů pro vývoj alternativních způsobů eradikace biofilmu. Přestože ne všechny mechanismy účinku jsou známy, ukázalo se, že nanočástice zlata mají antimikrobiální vlastnosti vůči gramnegativním i grampozitivním bakteriím, zejména pokud jsou funkcionalizovány s malým množstvím dalších antimikrobiálních sloučenin (chitosan, streptomycin, stříbro). Takto upravené nanočástice jsou účinné jak proti citlivým, tak i proti rezistentním mikrobiálním patogenům¹⁹. V současné době jsou nanočástice zlata používány také jako nosiče přírodních a syntetických antimikrobiálních sloučenin s léčebnými vlastnostmi. Funkcionalizace nanočástic zlata se stříbrem prokázala slibné synergické antimikrobiální vlastnosti²⁰.

Nanočástice stříbra

Nanočástice stříbra jsou schopné interagovat s mikroorganismy, jak ve formě planktonních buněk, tak i s biofilmy, čehož se využívá k potlačení infekcí vyvolaných grampozitivními, i gramnegativními bakteriemi event. kvasinkami. Přesný mechanismus antimikrobiální aktivity stříbra nebyl ještě popsán. Stříbrné nanočástice jsou schopny proniknout do bakteriální buněčné stěny, kde působí strukturální změny v buněčné membráně a tím i modifikovat membránovou permeabilitu, čímž indukují smrt buněk. Navíc se zdá, že antimikrobiální účinek stříbrných nanočástic souvisí se schopností těchto struktur interagovat s proteiny obsahujícími síru, které jsou velmi bohatě zastoupené v bakteriální buněčné membráně. Vazba těchto nanočástic na membránu zvyšuje propustnost a vede k tvorbě velkých pórů²¹. Další vysvětlení antimikrobiálního účinku stříbrných nanočástic prostřednictvím poškození membrány představuje tvorba volných kyslíkových radikálů. Uvažuje se i o vazbě stříbrných nanočástic na DNA, která vede k jejímu poškození s následnou buněčnou smrtí²². Antimikrobiální účinek stříbrných nanočástic se zdá být závislý na dávce a velikosti nanočástic, přičemž nejúčinnější jsou částice o velikosti 10 – 15 nm²³.

Nanočástice železa

Nanočástice železa byly již použity v průmyslových i lékařských aplikacích. Feromagnetické nanočástice poškozují DNA a štěpí proteiny přítomné v biofilmech za přítomnosti peroxidu vodíku a společně působí jako katalyzátory degradující biofilm^{24,25}. Bylo zjištěno, že superparamagnetické nanočástice oxidu železa (SPIONy) vykazují významně vysokou antibakteriální aktivitu²⁶. Indukce hypertermie pomocí SPIONů a střídavého magnetického pole pro inaktivaci bakteriálních biofilmů je zcela nový a efektivní přístup. V studii Subbiahdoss a spol. (2012) byly SPIONy modifikovány karboxyethylsilanetriolem a použity k usmrcení bakterií rezistentních na gentamicin²⁷. Tyto modifikované SPIONy vykazovaly 8× vyšší antibakteriální účinnost než gentamicin. SPIONy lze tedy použít k řízené eradikaci biofilmů. Tepelný ohřev vyvolaný SPIONy může poškodit tkáň

přítomné v blízkosti biofilmu, proto je potřeba vyvinout specifické cílené SPIONy.

Nanočástice hořčíku

Nanočástice hořčíku mají též schopnost proniknout do bakteriálních buněk. Narušují zde membránový potenciál, dále dochází k lipidové peroxidaci s následnou vazbou nanočástic na DNA. Tento zásah do funkce buněk snižuje schopnost bakterií vytvářet biofilmy²⁸. Bylo prokázáno, že potažením skleněných povrchů hořčíkovými nanočásticemi (tzv. nanofunkcionalizované povrchy) dochází k omezení tvorby biofilmů zkoumanými bakteriemi. Stejně výzkumné skupině se později podařilo těmito nanočásticemi modifikovat katetry. Na jejich povrch vznikl tzv. stabilní antibiofilmově aktivní povlak. Takto modifikované katetry omezovaly tvorbu biofilmu. Cytotoxicita pro lidské buňky nebyla prokázána⁵.

Magnetické nanočástice

V posledních několika letech byly vyvinuty magnetické nanostruktury určené zejména pro zlepšení antimikrobiální aktivity různých molekul a omezení mikrobiální kolonizace a vývoje biofilmu²⁹. Magnetické nanočástice funkcionalizované s různými přírodními a syntetickými antimikrobiálními sloučeninami zkracují léčbu a zlepšují terapeutické výsledky tím, že působí synergicky. Funkcionalizované magnetické nanočástice byly zkoumány v různých protiinfekčních přístupech. Jednalo se zejména o účinnou a rychlou léčbu těžkých lokalizovaných a systémových infekcí. Dále pak byly sledovány povrchově aktivní látky inhibující mikrobiální adhezi a tvorbu biofilmu. V neposlední řadě modifikované textilie jako jsou obvazy na rány nebo oblečení s antimikrobiálním účinkem; kosmetické prostředky s antibakteriálním účinkem³⁰. Textilní obvazy na rány byly úspěšně modifikovány povlakem funkcionalizovaných magnetických nanočástic a rostlinných esenciálních olejů. Takto modifikovaná textilie prokázala významné antimikrobiální vlastnosti, což značí odolnost jak proti adhezi mikrobiálních buněk, tak rozvoji biofilmu.

Nanočástice oxidu zinečnatého

Nanočástice oxidu zinečnatého mají značnou antibiofilmovou aktivitu a v současné době jsou dobře prozkoumány z hlediska jejich využití k potlačení bakteriálních biofilmů. Nicméně jejich vysoká toxicita a poměrně nízká stabilita omezuje jejich použitelnost v medicíně. Nedávný výzkum dosáhl významného pokroku snížením toxicity nanočástic oxidu zinečnatého na savčí hostitelské buňky se zachováním vysoké mikrobiální aktivity. Studie uvádějí, že tyto nanočástice jsou vysoce účinné proti mnoha potravinovým patogenům, jako jsou *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis* a *Staphylococcus aureus*³¹. Nanočástice oxidu zinečnatého jsou schopné degradovat buněčnou membránu a zvýšit její propustnost³².

Nanočástice funkcionalizované přírodními látkami

Saviuc a spol. (2013) prokázali, že některé izolované molekuly a esenciální oleje z přírodních látek mohou interferovat s virulencí a quorum sensing signalizací³⁴. Tento poznatek se dá využít při funkcionalizaci nanočástic přírodními látkami. Z výše uvedeného stručného přehledu používaných nanočástic byly přírodními látkami funkcionalizované stříbrné a magnetické nanočástice. Stříbrné nanočástice byly funkcionalizované flavonoidy a byla prokázána jejich antibiofilmová aktivita vůči tenké vrstvě biofilmu³⁵. Další látkou uživanou pro funkcionalizaci nanočástic je kyselina usnová, která byla izolována z lišejníků, v malých množstvích působí jako signalizační molekula a v určitých koncentracích má významné antimikrobiální účinky. Bylo prokázáno, že magnetické nanočástice funkcionalizované pomocí kyseliny usnové zvyšují antimikrobiální aktivitu této sloučeniny snížením hodnot minimální inhibiční koncentrace nutných jak pro destrukci planktonních buněk, tak i pro snížení minimální koncentrace eradikující biofilm. Tento zvýšený antimikrobiální účinek se projevuje více u grampozitivních než u gramnegativních bakterií. Další studie ukázaly, že při funkcionalizaci nanomateriálů kyselinou usnovou jsou získány komplexnější nanomateriály, které zajistí zvýšenou biokompatibilitu a kontrolu uvolňování aktivní sloučeniny. Tyto komplexní nanomateriály byly nanášeny pokročilými laserovými technikami na povrch některých zdravotnických prostředků a prokázaly antibiofilmovou aktivitu proti *S. aureus*³⁶. Pro funkcionalizaci nanočástic byla také použita rostlinná sloučenina karvon, terpenoid, který se vyskytuje např. ve fenyklu či kopru. Tato sloučenina prokázala zvýšené antifungální účinky, ale i antibakteriální aktivitu. Magnetické nanočástice funkcionalizované s karvonem omezovaly tvorbu biofilmu u modelu *Candida tropicalis in vitro*³⁷. Další

přírodní látka, eugenol, byla také testována s ohledem na antimikrobiální účinky. Vyskytuje se v esenciálních olejích např. v hřebíčku, muškátovém oříšku či ve skořici. Materiály obsahující magnetické nanočástice funkcionalizované eugenolem byly testovány pro svou potenciální antibiofilmovou aktivitu³⁸. Tato studie ukázala, že materiály vyrobené z těchto funkcionalizovaných nanočástic mohou omezit kolonizaci a následnou tvorbu biofilmu nejen grampozitivními a gramnegativními bakteriemi, ale i kvasinkami.

Závěr

Infekce spojené s tvorbou biofilmu jsou obtížné léčitelné konvenčními antibiotiky. Nanočástice otevřely nové možnosti léčby, protože různé skupiny nanočástic mají nejen antimikrobiální, ale i antibiofilmovou aktivitu. Aplikace nanočástic je krokem k účinnější eradikaci biofilmu a velmi efektivně brání jeho tvorbě. K přípravě biomedicínského povrchu se využívá imobilizace nanočástic nebo impregnace nanočásticemi. Vzhledem k tomu, že z funkcionalizace nanočástic přírodními látkami byly získány slibné výsledky, současné studie se pokoušejí realizovat využití takto funkcionalizovaných nanočástic ke stabilizaci a zesílení antibiofilmové aktivity. Proto se v příštích letech očekávají významné výsledky týkající se dopadu těchto funkcionalizovaných nanočástic na antimikrobiální terapii a kontrolu biofilmů. Avšak jsou tu stále obavy, které využití nanočástic omezují. Zejména se jedná o biomedicínskou a environmentální toxicitu nanočástic. Tyto obavy lze eliminovat novými a ekologicky přijatelnými způsoby jejich přípravy.

Poděkování

Práce byla financována z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 21-SVV/2018). Dále pak grantem GAČR projektu 17-15936S.

Literatura

1. Iannitelli A, Grande R, Di Stefano A, et al.: *Int. J. Mol. Sci.* 12, 5039 (2011).
2. Flemming RG, Capelli CC, Cooper SL, et al.: *Biomaterials* 21, 273 (2000).
3. Beyth N, Hourri-Haddad Y, Baraness-Hadar L, et al.: *Biomaterials* 29, 4157 (2008).
4. Roe D, Karandikar B, Bonn-Savage N, et al.: *J. Antimicrob. Chemotherapy* 61, 869 (2008).
5. Lellouche J, Friedman A, Lahmi R, et al.: *Int. J. Nanomed.* 7, 1175 (2012).
6. Rumbaugh KP and Ahmad I, *Springer Series on Biofilms* vol. 8, 385 (2014).
7. Hajipour MJ, Fromm KM, Ashkarran AA, et al.: *Trends Biotechnol.* 30, 499 (2012).
8. Franci G, Falanga A, Galdiero S, et al.: *Molecules* 20 (5), 8856 (2015).
9. Holban AM, Gestal MC, Grumezescu AM: *Curr. Topics Med. Chem.* 21 (29), 3375 (2014).
10. Romero-Urbina DG, Lara, HH, Velázquez-Salazar JJ, et al.: *J. Nanobiotech.* 6, 2396 (2015).
11. Lara HH, Romero-Urbina DG, Pierce C, et al.: *J. Nanobiotechnol.* 13, 91 (2015).
12. Ravishankar RV, Jamuna BA: *Formatex* 197 (2011).
13. Ansari SA and Husain Q: *Biotechnol. Adv.* 30, 512 (2012).
14. Ansari SA, Husain Q, Qayyum S, et al.: *Food Chem. Technol.* 49, 2107 (2011).
15. Fayaz AM, Balaji K, Girilal M, et al.: *Nanomed.* 6, 103 (2010).
16. Nel AE, Madler L, Velegol D, et al.: *Nat. Materials* 8, 543 (2009).
17. Su HL, Chou CC, Hung DJ, et al.: *Biomaterials* 30, 5979 (2009).
18. Stevens KN, Crespo-Biel O, van den Bosch EE, et al.: *Biomaterials* 30, 3682 (2009).
19. Liakos I, Grumezescu AM, Holban AM: *Molecules* 19 (8), 12710 (2014).
20. Zhou Y, Kong Y, Kundu S, et al.: *J. Nanobiotech.* 10, 19 (2012).
21. Kim JS, Kuk E, Yu KN, et al.: *Nanomed.* 3, 95 (2007).
22. Prabhu S, Poulouse EK: *Int. Nano Lett.* 2, 32 (2012).
23. Shrivastava S, Bera T, Roy A, et al.: *Nanotechnology* 18, 1 (2007).
24. Thukkaram M, Sitaram S, Kannaiyan SK, et al.: *Int. J. Biomaterials* (2014).

25. Gao L, Gqwiglio KM, Nelson JL, et al.: *Nanoscale*, 6, 2588 (2014).
26. Park H, Park HJ, Kim JA, et al.: *J. Microbiol. Methods* 84, 41 (2011).
27. Subbiahdoss G, Sharifi S, Grijsma DW, et al.: *Acta Biomaterialia* 8, 2047 (2012).
28. Lellouche J, Kahana E, Elias S, et al.: *Biomaterials* 30, 5969 (2009).
29. Holban AM, Grumezescu AM: *De Gruyter Open*, 978-3-11-044949-5 (2015).
30. Holban AM: *Curr. Topics Med. Chem.* 15 (16), 1589 (2015).
31. Jiang W, Mashayekhi H, Xing B: *Env. Pollution* 157, 1619 (2009).
32. Jin T, Sun D, Su Y, et al.: *J. Food Sci.* 74, 46 (2009).
33. Qayyum S and Khan AU: *Med. Chem. Comm.* 7, 1479 (2016).
34. Saviuc C, Cotar AI, Holban AM, et al.: *NanoBioSci.* 2 (1), 91 (2013).
35. Cristescu R, Visan A, Socol G, et al.: *App. Surface Sci.* 374, 290, (2016).
36. Iordache F, Grumezescu V, Grumezescu AM, et al.: *App. Surface Sci.* 336, 407 (2015).
37. Holban AM, Grumezescu V, Ficai A, et al.: *Romanian J. Materials* 43, 300 (2013).
38. Grumezescu V, Holban AM, Iordache F, et al.: *App. Surface Sci.* 306, 16 (2014).

Souhrn

Chlumský O., Demnerová K.: Antibiofilmová aktivita nanočástic

Odstranění mikrobiálního biofilmu a potlačení jeho tvorby jsou v současné době velkou výzvou, která vyžaduje citlivější a účinnější strategie s ohledem k nárůstu mikrobiálních rezistencí. Nanočástice zaměřené na eradikaci biofilmu vyvolávají v posledních deseti letech zájem kvůli svým vlastnostem. Tyto nanočástice mají široké spektrum biologických účinků a mezi nimiž je významná antibiofilmová aktivita. Daří se jim proniknout do biofilmové matrice, která působí jako bariéra pro mnoho antibiotik a dezinfekčních prostředků.

Klíčová slova: biofilm, antibiofilmová aktivita, nanočástice

Summary

Chlumský O., Demnerová K.: Antibiofilm activity of nanoparticles

Eradication of microbial biofilm and prevention of its formation is currently a major challenge that requires more sensitive and effective strategies due to increasing resistance of microorganisms. Nanoparticles targeted on biofilm eradication have gained enormous popularity over the last ten years due to their unique properties. These nanoparticles have a wide range of biological applications, including a significant antibiofilm activity. They are able to penetrate into a biofilm matrix that serves as a barrier against many antibiotics and disinfectants.

Keywords: biofilm, antibiofilm activity, nanoparticles

PŮSOBENÍ NÍZKOTEPLNÍHO PLAZMATU NA MIKROORGANISMY

Martina Paldrychová, Jana Michailidu

Ústav Biotechnologie, VŠCHT v Praze; paldrycm@vscht.cz

Úvod

Infekční onemocnění jsou závažnou příčinou morbidity a mortality po celém světě. S objevem antibiotik lidé doufali v jejich vymizení. Nikdo nemohl předvídat dopad, jaký bude jejich plošné používání mít. V budoucí „post-antibiotické éře“ budeme stále častěji konfrontováni s mikroorganismy, rezistentními k antibiotikům¹. Jednou z možností, jak docílit efektivního a šetrného antimikrobiálního účinku, je aplikace nízkoteplotního plazmatu (NTP)².

Plazma

Principiálně je plazma definováno jako neutrální ionizovaný plyn skládající se z částic (fotonů, elektronů, kladně a záporně nabitých iontů, volných radikálů a excitovaných nebo neexcitovaných molekul)^{2,3}. Prostřednictvím přítomnosti nabitých částic vzniká v daném prostoru náboj (např. oblak nabitých částic okolo žhavé elektrody) a také elektrostatické pole, jenž na částice zpětně působí. Výsledkem je, že se plazma navenek projevuje jako elektricky neutrální⁴.

V laboratorním prostředí můžeme plazma generovat více způsoby. Jedním příkladem může být zahřátí

neutrálních částic na vysokou teplotu (okolo 20 000 K), čímž dojde k jejich ionizaci; v tomto případě se jedná o vysokoteplotní neboli termální plazma. K produkci termálního plazmatu je kromě vysoké teploty potřeba také vysoký tlak (více než 100 000 Pa), celý proces je tedy velmi energeticky náročný (až 50 MW).

Dalším způsobem tvorby plazmatu je například využití různých typů elektrických výbojů, u nichž je ionizační energie dodávána především elektronům, které tak mají podstatně vyšší teplotu než okolní těžší částice plynu. Tímto procesem vzniká tzv. netermální plazma, jehož použití je díky běžným podmínkám, při nichž je generováno, vhodné i v přítomnosti termolabilních látek³. NTP je tvořeno prouděním plynu skrze relativně silné elektrické pole. Toto elektrické pole akceleruje přirozeně se vyskytující volné elektrony, které následně ionizují atomy plynu a molekuly, tvoříce tak více volných elektronů². Právě netermální plazma je tak díky absenci potřeby navození extrémních podmínek ve středu zájmu vědců i průmyslu^{3,5}.

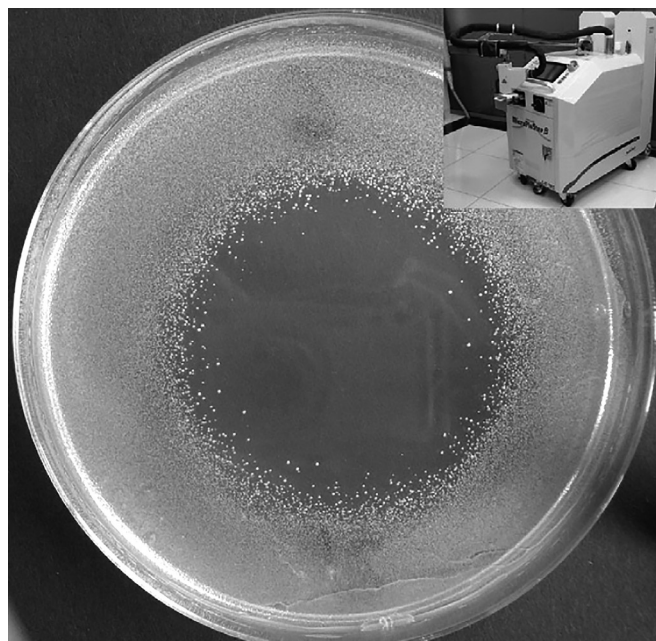
NTP lze použít za sníženého nebo atmosférického tlaku. Vzhledem k jednodušší manipulaci a nižší ceně je přednost dávana použití plazmatu za atmosférického

tlaku. Jako plyn mohou být použity např. vzduch, dusík, kyslík, argon, helium, vodík nebo jejich směsi. Při použití vzduchu vznikají především reaktivní formy kyslíku a dusíku, jako je například ozón, hydroxylové radikály, singletový kyslík, oxid dusnatý, dusitany a dusičnany.

V přítomnosti vlhkosti se tvoří také peroxid vodíku a hydroxylový anion. Složení a množství těchto látek se liší použitým typem zdroje nízkoteplotního plazmatu. Vznikající částice mohou vyvolávat oxidativní stres a jsou zodpovědné za poškození buněk mikroorganismů, se kterými interagují^{2,6}.

Předpokládané mechanismy působení NTP na mikroorganismy

NTP vyvíjené za atmosférického tlaku se dostává do popředí zájmu jako alternativní metoda dekontaminace (Obr. 1). Přestože byla prokázána vysoká účinnost NTP, mechanismus působení stojící za jeho účinkem zůstává nejasný. Existují nicméně předpokládané mechanismy účinku vycházející z teoretických znalostí vlastností plazmatu a interakcí částic v něm vznikajících s buněčnými strukturami mikroorganismů.



Obr. 1: Viditelná inhibiční zóna po 2 min působení NTP (přístroj MicroPlaSter) na meticilin-rezistentní kmen *Staphylococcus aureus*⁸.

Mezi klíčové faktory ovlivňující mikrobiální buňky patří UV záření (vlnová délka 260 nm) působící na pyrimidinové báze v DNA. Vznikající pyrimidinové dimery ovlivňují párování bází a při replikaci DNA mají na svědomí mutace. Množství UV záření obsažené v NTP se liší typem zdroje. Použití zdrojů produkujících UV záření pouze minoritně je žádoucí především pro medicínské aplikace⁷.

Reaktivní částice vznikající generací plazmatického výboje za atmosférického tlaku zahrnují především peroxid vodíku, ozón a oxidy dusíku⁵. Reaktivní částice reagují s buněčnými obaly, např. oxidací mastných kyselin v buněčných membránách dochází ke změně

jejich struktury a funkce. Peroxid vodíku, stejně jako ozón či hydroxylový anion mohou narušit strukturní vazby peptidoglykanu, což vede k destrukci bakteriální stěny⁶. Peroxid vodíku v závislosti na koncentraci buď stimuluje, nebo inhibuje buněčnou proliferaci, může ale také indukovat apoptózu buněk. Oxid dusnatý působí při nízké koncentraci jako protizánětlivé činidlo, nicméně je-li generován vysokou rychlostí, přispívá k porušení buněk a tkání⁸.

Složení a množství jednotlivých reaktivních částic je ovlivněno také vlhkostí. Peroxykyseliny a kyselina dusičná jsou tvořeny při vyšší vlhkosti, která naopak snižuje množství vznikajícího ozónu. Vlivem vyššího obsahu kyselin dochází ke snížení pH, což rovněž ovlivňuje inaktivaci buněk⁹.

Obecně je tedy možné tvrdit, že nízkoteplotní plazma působí na buňky jak biologicky (poškození DNA, peroxidace lipidů, změny ve struktuře proteinů, indukce apoptózy) tak fyzikálně (narušení buněčných struktur elektrostatickými silami, elektroporace)⁷. Oproti selektivním mechanismům působení většiny tradičních antibiotik se tudíž účinek bakteriostatické, či baktericidní terapie za použití NTP jeví jako systémovější.

Vliv nízkoteplotního plazmatu na mikrobiální biofilmy a jiné faktory virulence bakterií

Bylo prokázáno, že NTP je schopno inhibovat růst gram pozitivních i gram negativních mikroorganismů⁸. K inaktivaci mikrobiálních biofilmů (významný faktor virulence) je však zapotřebí nezanedbatelně vyššího času působení NTP. Komponenty extracelulární matrix a trojrozměrná struktura biofilmu hrají důležitou úlohu při zvyšování tolerance mikroorganismů k reaktivním částicím². Bylo však zjištěno, že vliv NTP a běžně používaného antiseptika chlorhexidinu byl při eradikaci biofilmu *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus epidermidis* srovnatelný¹⁰.

Prostřednictvím NTP lze oslabit také další faktory virulence bakterie *P. aeruginosa*, konkrétně tvorbu pyocyaninu a elastasy B¹¹. Antimikrobiální aktivita NTP byla již charakterizována řadou studií, nicméně jeho interakce se signálními molekulami produkovanými bakteriemi byla popsána teprve v roce 2016. Expozice signálních molekul (N-acyl-homoserinových laktonů) produkovaných *P. aeruginosa* NTP snižuje schopnost těchto molekul vyvolat u bakterie odpověď nutnou pro správné fungování mezibuněčného komunikačního systému – quorum sensing^{12,13}. Analýza signálních molekul ve spojení s chemickou charakterizací NTP demonstrovala, že interakce reaktivních částic s těmito molekulami vede k oslabení N-acyl-homoserin-lakton-dependetních systémů a následně (nutně) i k oslabení virulence *P. aeruginosa*¹².

Potenciální aplikace NTP

Možnosti aplikace NTP jsou dnes zkoumány stále častěji. Důvodem jsou nízké investiční a provozní náklady, použití netoxických plynů a absence trvalých škodlivých produktů². Mezi kladné vlastnosti se řadí i nízká provozní teplota; ta je rozhodující při dekontaminaci tepelně

labilních materiálů a surovin. Při vyšších teplotách aplikovaných v potravinářství může docházet k denaturaci proteinů – NTP tak představuje alternativu pro materiály obsahující teplotně labilní látky, neboť denaturaci nezpůsobuje.

NTP lze použít také pro mikrobiologické čištění odpadních vod. Expozice přečištěných odpadních vod NTP vede k redukci počtu mikroorganismů. NTP by tak v této oblasti mohlo nahradit ozon, který je obecně považován za nebezpečný a který je dnes běžně používaným antimikrobiálním činidlem⁶.

Poměrně novým tématem je aplikace NTP v medicíně. Zdroje NTP zde používané lze rozdělit do tří skupin. Přímé zdroje NTP patří do první skupiny vytváří plazma s vyšší homogenitou a využívají především technologie dielektrického bariérového výboje, kde je střídavý proud generován mezi dvěma elektrodami oddělenými pevným dielektrikem. Nevýhodou použití tohoto typu generace plazmatu je nutnost udržení konstantní vzdálenosti zdroje od protielektrody (povrchu těla), kterou vzhledem k nerovnostem nelze dodržet. Další nevýhodou představuje elektrický proud procházející v tomto případě přímo přes tělo. Využití tohoto uspořádání tedy spočívá např. v usnadnění průchodu léčiv přes kožní bariéru.

Do druhé skupiny patří nepřímé zdroje plazmatu, ty generují plazma mezi dvěma elektrodami (elektrický proud tak neprochází tělními tkáněmi). Směs aktivních složek vytvořených jeho prostřednictvím je vlivem nosného plynu dopravena na ošetřované místo⁸. K těmto účelům jsou ve studiích zaměřených na lékařské použití používány různé nástroje (např. plazmové jehly či hořáky)^{14,15,16}.

Pro medicínské účely se začínají používat také hybridní plazmové zdroje, které jsou konstrukčně jednodušší, a lépe se s nimi manipuluje. Elektroda je zde uzemněna pomocí mřížky, která má menší elektrický odpor než tělní tkáň^{8,17}. NTP lze díky jeho mikrobicidním účinkům

použít například k podpoření hojení ran a urychlení léčby kožních onemocnění – bérkových vředů, ekzémů, dermatomykóz a dermatitid^{8,18}.

NTP může být využito také v oblasti stomatologie, např. za účelem preventivní ochrany před tvorbou biofilmu *Streptococcus mutans*, bakterie způsobující zubní kaz, nebo k modifikaci povrchů zubních implantátů a ke zlepšení adhezních vlastností při aplikaci zubních výplní^{19,20}. Jako další zajímavé potenciální využití netermálního plazmatu se jeví preventivní ošetření endotracheálních tubusů, používaných v medicíně pro zajištění průchodnosti dýchacích cest. Pomocí NTP byla zvýšena hydrofilita povrchu a znesnadněna adheze bakterie *P. aeruginosa* na povrch tubusu. Případná kombinace NTP s antimikrobiálními látkami předpokládá dosažení ještě lepších výsledků²¹.

Závěr

V honbě za efektivním a udržitelným řešením problémů způsobených rezistentními mikroorganismy se jako nejvhodnější řešení jeví kombinace známých selektivních metod s komplexněji působícími postupy, mezi něž se řadí mimo jiné i použití nízkoteplotního plazmatu, působícího díky generaci pestré škály látek rozdílnými mechanismy účinku. NTP působí nejen na buněčné obaly a DNA, ale díky interakci se signálními molekulami ovlivňuje také produkci některých faktorů virulence.

Využití NTP je obecně dobře snášeno dokonce u pacientů s kožními onemocněními. Nebyly u nich pozorovány žádné vážné vedlejší účinky²². I přesto je při biomedicínských aplikacích vyžadována opatrnost a provedení důkladných testů pro jednotlivé případy možného využití.

Poděkování

Financováno z účelové podpory na specifický vysokýšolský výzkum (MŠMT č. 20-SVV/2011).

Literatura

1. Lister PD, Wolter D J, Hanson ND: *Clin. Microbiol. Rev.* 22, 582 (2009).
2. Alkawareek MY, Gorman SP, Graham WG, et al.: *Int. J. Antimicrob. Agents* 43, 154 (2014).
3. Moreau M, Orange N, Feuilloley M: *Biotechnol. Adv.* 26, 610 (2008).
4. Eliezer Y, Eliezer S, The fourth state of matter: an introduction to plasma science, IOP, Bristol 2001
5. Niemira BA: *Decontamination of Foods by Cold Plasma*, Academic Press, San Diego 2014
6. Scholtz V, Pazlarova J, Souskova H, et al.: *Biotechnol. Adv.* 33, 1108 (2015).
7. Liao X, Liu D, Xiang Q, Ahn J, Chen S, Ye X, Ding T: *Food Control* 75, 83 (2017).
8. Kong MG, Kroesen G, Morfill G, et al.: *New J. Phys.* 11 (2009).
9. Guo J, Huang K, Wang J: *Food Control* 50, 482 (2015).
10. Matthes R, Koban I, Bender C, et al.: *Plasma Processes Polym.* 10, 161 (2013).
11. Zuzina D, Boehm D, Patil S, et al.: *PloS one* 10 (2015).
12. Flynn PB, Buserti A, Wielogorska E, et al.: *Sci. Rep.* 6 (2016).
13. Hentzer M, Givskov M: *J Clin Invest* 112, 1300 (2003).
14. Kieft IE, van der Laan EP, Stoffels E: *New J. Phys.* 6, 149 (2004).
15. Walsh JL, Kong MG: *Appl. Phys. Lett.* 41, 194008 (2008).
16. Shimizu T, Steffes B, Pompl R, et al.: *Plasma Process Polym.* 5, 577 (2008).
17. Morfill GE, Shimizu T, Steffes B, Schmidt H-U: *New J. Phys.* 11, 115019 (2009).
18. Fridman G, Friedman G, Gutsol A, et al.: *Plasma Processes Polym.* 5, 503 (2008).
19. Cha S, Park YS: *Clinical Plasma Medicine* 2, 4 (2014).
20. Habib M, Hottel TL, Hong L: *Clin Plasma Med.* 2, 17 (2014).
21. Triandafillu K, Balazs D, Aronsson BO, et al.: *Biomaterials* 24, 1507 (2003).
22. Chutsirimongkol Ch, Boonyawan D, Polnikorn N, et al.: *Plasma Medicine* 4, 79 (2014).

Souhrn

Paldrychová M., Michailidu J.: Působení nízkoteplotního plazmatu na mikroorganismy

Jednou z možností, jak efektivně a šetrně bojovat proti bakteriím rezistentním k antibiotikům je aplikace nízkoteplotního plazmatu (NTP). NTP představuje částečně nebo úplně ionizovaný plyn složený z částic vykazujících tzv. kvazi-neutralitu. Mechanismus účinku NTP zůstává nejasný. Vznikající reaktivní částice (ozón, hydroxylové radikály, singletový kyslík nebo oxidy dusíku) a UV záření mohou vyvolávat oxidativní stres a jsou zodpovědné za poškození buněk mikroorganismů, se kterými interagují. NTP působí nejen na buněčné obaly a pyrimidinové báze v DNA, ale ovlivňuje také produkci některých faktorů virulence: tvorbu biofilmu, pyocyaninu a elastasy B a to pravděpodobně díky interakci se signálními molekulami. NTP lze použít k dekontaminaci povrchů, k čištění odpadních vod a k prevenci tvorby biofilmů např. ve stomatologii.

Klíčová slova: nízkoteplotní plazma, reaktivní částice, faktory virulence

Summary

Paldrychová M., Michailidu J.: Effect of non-thermal plasma on microorganisms

Non-thermal plasma (NTP) application is one of the ways to effectively and gently fight against bacteria resistant to antibiotics. NTP is partially or completely ionized gas composed of particles exhibiting quasi-neutrality. The NTP mechanism of action remains unclear. Emerging reactive particles (ozone, hydroxyl radicals, singlet oxygen or nitrogen oxides) and UV radiation can cause oxidative stress and are responsible for cell damage. NTP affect not only cell membrane or pyrimidine bases contained in DNA but also affect the production of some virulence factors: biofilm, pyocyanin and elastase B, probably due to the interaction with signal molecules. NTP can be used for surface decontamination, waste water treatment and for the prevention of biofilm formation, for example in dentistry.

Keywords: non-thermal plasma, reactive particles, virulence factors

O B S A H

Úvod	53
Benešová L.: Rekreační genetika	54
Drbohlavová J.: Přehled látek s antimikrobiální a anti-biofilmovou aktivitou obsažených ve vinné révě	57
Chlumský O., Demnerová K.: Antibiofilmová aktivita nanočástic	60
Paldrychová M., Michailidu J.: Působení nízkoteplotního plazmatu na mikroorganismy	64

C O N T E N T

Editorial	53
Benešová L.: Recreational genetics	54
Drbohlavová J.: An overview of substances with antimicrobial and anti-biofilm activity contained in grapevine	57
Chlumský O., Demnerová K.: Antibiofilm activity of nanoparticles	60
Paldrychová M., Michailidu J.: Effect of non-thermal plasma on microorganisms	64

REDAKČNÍ RADA

doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D., VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6 (vedoucí redaktor)
prof. Ing. Jan Káš, DrSc., VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6 (redaktor)
doc. Ing. Pavel Ulbrich, Ph.D., VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6 (redaktor)
Ing. Michaela Marková, Ph.D., VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6 (redaktor)
doc. RNDr. Petr Skácel, CSc., Ústav biochemie, PřF MU v Brně, Kamenice 753/5, Bohunice, 601 77 Brno (redaktor)
doc. RNDr. Marek Petřivalský, Ph.D., Katedra biochemie, PřF Palackého univerzity, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc (redaktor)
RNDr. Ivan Babůrek, CSc., Ústav experimentální botaniky AV ČR, v.v.i., Rozvojová 263, 165 02 Praha 6
doc. Ing. Radovan Bílek, CSc., Endokrinologický ústav, Národní 8, 116 94 Praha 1
prof. Ing. Alena Čejková, CSc., VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6
prof. RNDr. Gustav Entlicher, CSc., Katedra biochemie PřF UK, Albertrtov 6, 128 43 Praha 2
RNDr. Milan Fránek, DrSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno
prof. Ing. Ladislav Fukal, CSc., VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6
Ing. Jan Kopečný, DrSc., Ústav živočišné fyziologie a genetiky, AV ČR, v.v.i., Videňská 1083, Praha 4
prof. RNDr. Pavel Peč, CSc., Katedra biochemie, Univerzita Palackého v Olomouci, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc
doc. RNDr. Jana Pěkníková, Ph.D., Biotechnologický ústav AV ČR, v.v.i., Průmyslová 59/5, Vestec, 252 42 Jesenice
RNDr. Vladimír Vala, Teva Czech Industries, s.r.o., Ostravská 29, 747 70 Opava – Komárov
doc. RNDr. Petr Zbořil, CSc., Ústav biochemie, PřF MU, Kotlářská 267/2, 611 37 Brno

POKYNY PRO AUTORY

Rukopis musí být opatřen plným jménem autorů, jejich pracovištěm a e-mailovými adresami. Text se předkládá jako soubor MS Word (doc, docx, rtf) ve formátu jednoduchého řádkování písmem fontu Arial o velikosti 11. Rozsah není při dodržení správné publikační praxe omezen.

Článek má tyto části: Název práce, jména autorů a pracoviště, e-mailová adresa autora, úvod, vlastní text členěný do kapitol, závěr, příp. poděkování, citace literatury, český souhrn a klíčová slova a anglický souhrn a klíčová slova. Odkazy na literaturu se číslují v pořadí, v jakém přicházejí v textu a jsou uváděny formou exponentu (bez závorek) v příslušném místě textu (včetně tabulek a obrázků). Zkratky časopisů se používají podle zvyklosti Chemical Abstract Service Source Index.

Příklady citací: Horgan AM, Moore JD, Noble JE, et al.: *Trends Biotechnol.* 28, 485 (2010).

Lowestein KA: *Silicones. A Story of Research.* Wiley, New York 2006.

Fujiki M (2008): Helix generation, amplification, switching, and memory of chromophoric polymers.

In: *Amplification of Chirality, Topics in Current Chemistry* 248 (Soai K ed.), Springer, Berlin, 119–201.

Novák Z: Disertační práce, VŠCHT Praha 2008.

<http://www.fs.fed.us/research/>, staženo 3. září 2011.

Tabulky se označují římskými číslicemi. Každá tabulka je opatřena názvem a popisem umístěným nad tabulkou. Obrázky se číslují arabskými číslicemi (příklad formátu **Obr. 1:**). Každý obrázek musí být opatřen legendou, která jej činí jednoznačně srozumitelným (tj. bez nutnosti hledat nezbytné informace v textu). Obrázky nekládejte do textu rukopisu, ale zasílejte je samostatně v některém z běžných formátů např. tif, jpg (rozlišení 300 dpi).

Rukopisy je třeba zaslat e-mailem na adresu jan.kas@vscht.cz nebo na petra.lipovova@vscht.cz. Bližší informace naleznete na <http://bts.vscht.cz>.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

The manuscript must be provided with the full name of authors, the institutions name and with e-mail addresses. Text is presented in a MS Word (doc, docx, rtf) format, single line spacing, font Arial, font size 11. The size is not restricted.

The article contains the following sections: title, authors and institutions, e-mail address of the corresponding author, introduction, text divided into chapters, conclusions, references, summary and keywords in English, summary and keywords in Czech. References are numbered according to their appearance in the text and as an exponent (without parentheses) in the appropriate place in the text.

Examples: Horgan AM, Moore JD, Noble JE, et al.: *Trends Biotechnol.* 28, 485 (2010).

Lowestein KA: *Silicones. A Story of Research.* Wiley, New York 2006.

Fujiki M (2008): Helix generation, amplification, switching, and memory of chromophoric polymers.

In: *Amplification of Chirality, Topics in Current Chemistry* 248 (Soai K ed.), Springer, Berlin, 119–201.

Novák Z.: Diploma thesis, UCT Prague 2008.

<http://www.fs.fed.us/research/>, downloaded 1st September 2011.

Tables are numbered by Roman numerals. Each table is provided with a name and description placed above the table. Pictures are numbered in Arabic numerals (example format **Fig. 1:**). Each image must be provided with a legend. Pictures should be sent separately in a common format such as tif, jpg (resolution 300 dpi). Manuscripts should be sent to the e-mail address jan.kas@vscht.cz or petra.lipovova@vscht.cz. More information can be found on <http://bts.vscht.cz>.

BIOPROSPECT

Vydavatel:
BIOTECHNOLOGICKÁ SPOLEČNOST
Technická 3
166 28 Praha 6
IČ: 00570397

Zapsán do evidence periodického tisku a bylo mu přiděleno evidenční číslo:
MK ČR E 19409

Zařazen do Seznamu recenzovaných neimpaktovaných periodik
vydáváných v ČR

Tiskne:
VENICE Praha, s.r.o.
Za Hanspaulkou 13/875
160 00 Praha 6

ISSN 1210-1737 (Print)
ISSN 2570-8910 (Online) – <http://bts.vscht.cz/bioprospect.html>

Neprodejné – jen pro členy Biotechnologických společností.

Stránky biotechnologické společnosti (<http://bts.vscht.cz>)
jsou archivovány Národní knihovnou ČR (www.webarchiv.cz).