

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

Využití přírodních látek v boji s bakteriální rezistencí

Bakalářská práce

**Eva Hanzalová
Výživa a potraviny**

Ing. Lucie Malá

© 2021 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Využití přírodních látek v boji s bakteriální rezistencí" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Lovosicích dne 3. 5. 2021

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Lucii Malé, za nesmírně ochotnou spolupráci a obratnou komunikaci. Také děkuji za užitečné rady a informace, které mi k dokončení práce významně pomohly a navedly mou práci správným směrem.

Využití přírodních látek v boji s bakteriální rezistencí

Souhrn

Předložená bakalářská práce byla věnována bakteriálním infekcím se specializací na infekce kůže a rezistenci patogenů způsobujících povrchové záněty vůči běžně aplikovaným antibiotikům jak v oblasti humánní, tak veterinární medicíny. S ohledem na rezistenci bakterií k antibiotickým látkám se práce dále soustředovala na přírodní látky živočišného, bakteriálního a rostlinného původu a látkám odvozeným od hub a řas, jakožto alternativy k antibiotikům. Literární rešerše byla pomyslně rozdělena na dvě části, kde první část charakterizovala pojmy jako kůže, mikrobiota kůže, povrchové záněty a vybrané druhy bakterií běžně se vyskytující právě v povrchových zánětech kůže lidí a zvířat. Druhá pomyslná část pojednávala o možné antibiotické léčbě těchto zánětů, definovala pojem bakteriální rezistence, a především jmenovala a definovala některé přírodní látky s potvrzenou antimikrobiální aktivitou.

Kůže je největším orgánem lidí a zvířat s hustým mikrobiálním osídlením, kde řadu bakterií představují komensální bakterie a oportunitní patogeny. K významným patogenním bakteriím, které způsobují záněty kůže a sliznic a různě závažná systémová onemocnění, včetně život ohrožujících, patří *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis* a *Corynebacterium* spp., u nichž byla vyvinuta klinicky významná bakteriální rezistence. Bakteriální rezistence je přirozeným obranným mechanismem bakterií ve snaze k jejich přežití a rozmnožování. Současně se jedná o geneticky a biochemicky složitý a obtížně vysvětlitelný proces, kdy může docházet ke vzniku mutací již existujících bakteriálních genů, či horizontálnímu přenosu genů v rámci různých bakteriálních druhů. V klinické medicíně je bakteriální rezistence vysoce závažným problémem, který komplikuje, až znemožňuje léčbu bakteriálních onemocnění a ohrožuje tak životy nakažených jedinců. Z tohoto důvodu je důležité pátrat po látkách nových, využitelných v humánní i veterinární medicíně. Práce byla proto dále věnována přírodním látkám rostlinného, živočišného a bakteriálního původu a látkám odvozeným od hub a řas. Všechna zmíněná prostředí obsahují přirozeně antimikrobiální látky, z nichž některé jsou za určitých podmínek vhodné pro klinické využití. V rostlinné říši je nutno zmínit fytochemikálie, s významným obsahem biologicky aktivních látek s antioxidačními, protinádorovými i protizánětlivými účinky. Z živočišné říše byly zmíněny různé živočišné produkty a některé tělesné komponenty, především pak živočišné enzymy. Dalším diskutovaným zdrojem antimikrobiálních látek byly některé bakteriální produkty, například bakteriální peptidy, či organické kyseliny. Z hub a řas lze izolovat přirozeně antimikrobiální látky různého charakteru, které lze identifikovat například jako steroidy, či lipidy. Antibakteriální látky přírodního charakteru jsou tedy velice perspektivní oblastí, kde lze v následujících letech v důsledku narůstající antimikrobiální rezistence předpokládat hlubší prozkoumání a následně rozšíření přírodních antimikrobiálních látek v klinické medicíně.

Klíčová slova: antibiotika, antimikrobiální látky, bakterie, kůže, povrchové záněty, rezistence

Natural antimicrobial substances and their potential applications to fight against bacterial resistance

Summary

The presented bachelor thesis was devoted to bacterial skin infections and resistance of pathogens causing superficial inflammation to commonly applied antibiotics in both human and veterinary medicine. Due to the resistance of bacteria to antibiotics, the work further focused on natural substances of animal, bacterial and plant origin and substances derived from fungi and algae, as an alternative to antibiotics. The literature search was imaginarily divided into two parts, where the first part characterized terms such as skin, skin microbiota, superficial inflammation and selected species of bacteria commonly found in superficial inflammation of human and animal skin. The second imaginary part dealt with the possible antibiotic treatment of these inflammations, defined the concept of bacterial resistance, and mainly named and defined other natural substances with confirmed antimicrobial activity.

The skin is the largest human and animal organ with a dense microbial population, where many bacteria are commensal bacteria or opportunistic pathogens. Significant pathogenic bacteria that cause inflammation of the skin and mucous membranes and various serious systemic diseases, including life-threatening ones, include *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis* and *Corynebacterium* spp., which have developed clinically significant bacterial resistance. Bacterial resistance is the natural defense mechanism of bacteria in their efforts to survive and multiply. At the same time, it is a genetically and biochemically complex and difficult to explain process, which can lead to mutations in existing bacterial genes or to horizontal gene transfer within different bacterial species. In clinical medicine, bacterial resistance is a highly serious problem that complicates to the point of preventing the treatment of bacterial diseases and thus endangers the lives of infected individuals. For this reason, it is important to look for new substances that can be used in human and veterinary medicine. The work was therefore further devoted to natural substances of plant, animal and bacterial origin and substances derived from fungi and algae. All of these environments naturally contain antimicrobials, some of which are under certain conditions suitable for clinical use. In the plant kingdom, it is necessary to mention phytochemicals, with a significant content of biologically active substances with antioxidant, antitumor and anti-inflammatory effects. From the animal kingdom, various animal products and some body components were mentioned, especially animal enzymes. Another source of antimicrobials discussed is some bacterial products, such as bacterial peptides or organic acids. Naturally, antimicrobial substances of various kinds can be isolated from fungi and algae, which can be identified, for example, as steroids or lipids. Natural antibacterial agents are therefore a very promising area where, in the coming years, due to growing antimicrobial resistance, a deeper investigation and subsequent expansion of natural antimicrobial agents in clinical medicine can be expected.

Keywords: antibiotics, antimicrobial substances, bacteria, skin, superficial inflammation, resistance

Obsah

1	Úvod	1
2	Hypotéza a cíl práce	2
2.1	Hypotéza	2
2.2	Cíl práce	2
3	Literární rešerše	3
3.1	Kůže	3
3.1.1	Mikrobiota kůže.....	4
3.1.1.1	Povrchové záněty u člověka	6
3.1.1.2	Povrchové záněty u zvířat.....	8
3.2	Patogenní bakterie osidlující povrch kůže člověka a zvířat	10
3.2.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	10
3.2.2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	12
3.2.3	<i>Enterococcus faecalis</i>	14
3.2.4	<i>Corynebacterium spp.</i>.....	15
3.3	Antibiotická léčba kožních bakteriálních infekcí.....	17
3.4	Bakteriální rezistence vůči antibiotikům.....	21
3.4.1	<i>Staphylococcus aureus</i> a antibiotická rezistence	24
3.4.2	<i>Streptococcus pyogenes</i> a antibiotická rezistence	24
3.4.3	<i>Enterococcus faecalis</i> a antibiotická rezistence	25
3.4.4	<i>Corynebacterium spp.</i> a antibiotická rezistence	25
3.5	Alternativy antibiotik	26
3.6	Charakteristika přírodních látek a jejich vlastnosti.....	27
3.6.1	Přírodní látky bakteriálního původu	27
3.6.2	Přírodní látky odvozené od hub a řas	29
3.6.3	Přírodní látky živočišného původu.....	30
3.6.4	Přírodní látky rostlinného původu.....	32
3.6.4.1	Fytochemikálie	32
4	Závěr.....	36

1 Úvod

Řada bakteriálních kmenů je považována za běžnou složku mikrobioty kůže a sliznic člověka a zvířat. Při vzniku optimálních podmínek pro růst těchto bakterií, včetně obligátních a oportunitních patogenů, může docházet k dysbióze s případným rozvojem zánětu, jenž bývá typický pro daný druh bakterie (Gallo & Hooper, 2012). K léčbě bakteriálních infekcí je podání antibiotik nutností (Ebell & Radke, 2015), avšak s antibiotickou léčbou bakteriálních onemocnění a zánětů souvisí také vznik a rozvoj antimikrobiální rezistence vůči různým druhům antibiotik (Munita & Arias, 2016).

Bakteriální rezistence je v oblasti humánní a veterinární medicíny často diskutovaným tématem. Tato problematika přináší řadu rizik od kontaminace životního prostředí po šíření rezistentních bakteriálních kmenů a vznik kmenů multirezistentních (Stiborová et al., 2018). S ohledem na tyto události jsou stále více diskutovány látky přírodního charakteru, které mohou oproti syntetickým antibiotikům poskytovat možné výhody (Wright, 2019). Přírodního charakteru je řada již současně využívaných antibiotik, což pouze podporuje teorii o využitelnosti přírodních látek v boji se zánětlivými stavy či bakteriálními nemocemi. Existuje řada neprozkoumaných přírodních oblastí s vysokým potenciálem nálezů nových antimikrobiálních látek, kterým by měla být v budoucnosti věnována pozornost (Gyawali & Ibrahim, 2014).

2 Hypotéza a cíl práce

2.1 Hypotéza

Vybrané přírodní látky s antibakteriálními účinky mohou přispívat k eliminaci antibiotické rezistence.

2.2 Cíl práce

Vypracovat literární rešerši na téma problematiky antibiotické rezistence se zaměřením na vybrané přírodní látky s antibakteriálními účinky ve vztahu k povrchovým zánětům zvířat včetně člověka.

3 Literární rešerše

3.1 Kůže

Kůži lze považovat za největší orgán pokrývající celý povrch těla člověka a zvířat. Mezi důležité funkce kůže patří zajištění údržnosti vody v organismu a komunikace s prostředím při současné ochraně organismu vůči nepříznivým vnějším podmínkám (Menon, 2002). Složení kůže je u lidí a zvířat mírně odlišné. Lidská kůže je specifická nízkou hustotou vlasů a chlupů, u zvířat je tomu ve většině případů naopak. Na tento fakt je vázána rozdílnost hmatové citlivosti mezi lysou a osrstěnou kůží. Srst zde funguje jako bariéra, je tedy očekávána nižší citlivost. Současně je osrstěná kůže výrazně tenčí než kůže lysá. Konkrétní struktura a složení jsou ale odlišné u jednotlivých druhů zvířat a lidí, i těch příbuzných. Z pokožky savců vznikají mimo jiné i kožní útvary, které mohou zajišťovat ochranu a pohyb jedince. Například peří chrání ptáky před podchlazením i přehřátím, zabraňuje prostupu vody a nečistot ke kůži a umožňuje létání. U některých druhů ptáků mohou být vyvinuty plovací blány, usnadňující pohyb a tím i zajištění potravy (Montagna, 1974).

Kůže je složena z vnější vrstvy epidermis a dermis, vnitřní pojivové tkáně (Menon, 2002). Směrem dovnitř pokožky se dále nachází různě silná tuková vrstva a plochá vrstva kosterního svalstva zajišťující oddělení kůže od zbylých tělesných tkání. Epidermis je také dělena na vrstvy. Stratum malpighii tvoří vnitřní vrstvu životaschopných buněk. Směrem k povrchu těla se nachází vrstvy stratum granulosum, stratum lucidum a vnější rohovatějící vrstva, stratum corneum (Montagna, 1974). V kůži jsou také zakotveny vlasové folikuly společně s potními a mazovými žlázami (Byrd et al., 2018).

Stratum corneum, která je konečným produktem epidermální diferenciace, zajišťuje chemickou bariéru (Forslind et al., 1997). Z chemického hlediska je tvořena především polárními lipidy, u kterých dominují ceramidy, cholesterol a volné mastné kyseliny (VMK) (Lampe et al., 1983). Ve srovnání s ostatními živočichy je více než třetina lipidů lidské stratum corneum tvořena uhlíkatými řetězci o délce 22 atomů uhlíku a více, přičemž u ostatních savců byly objeveny převážně řetězce o délce 16-18 atomů uhlíku. Obsah ceramidů v lidské stratum corneum tvoří až 50 hmotnostních % množství lipidů, nejvíce v porovnání s obsahem ceramidů stratum corneum u ostatních savců. Obecně lze říci, že metabolismus lipidů v kůži je poměrně složitý proces (Feingold, 2009). Právě lipidy a na ně působící fyzikální síly mají vliv na příjem a výdej vody pokožkou (Forslind et al., 1997) a hrají zásadní roli při tvorbě a udržování kožních antimikrobiálních bariér (Feingold, 2009). Co se týče fyzikálních sil, pohyb vody přes pokožku je ovlivněn především teplotou vnějšího prostředí a tělesnou teplotou člověka. Optimální fyziologická teplota pokožky v klidu se pohybuje okolo 32° C. Teploty hluboko pod touto hodnotou zamezují pohybu vody dovnitř i vně buňky. Při fyziologickém rozmezí teplot zamezuje průniku vody a chemických látek uspořádání extracelulárních lipidů s dlouhým řetězcem do dvouvrstvé organizace, která může vytvářet chemickou bariéru pro další látky, především vysoce polární a vysoce nepolární. Molekuly rozpustné v polárním i nepolárním prostředí může dále zastavit obsah tuhých uhlovodíkových řetězců. Mezi takové látky patří například propylenglykol (Forslind et al., 1997) běžně se vyskytující v kosmetických přípravcích a řadě léčivých přípravcích určených k místní aplikaci, avšak může způsobovat více, či méně závažné alergické reakce (Hannuksela et al., 1975). Žádoucí je nulová

propustnost pokožky pro vodu, přičemž ztráty perspirací jsou kompenzovány příjmem tekutin a potravy. Dostatečný obsah vody v pokožce je důležitý pro vláknitý protein keratin, který se nachází v kůži, vlasech i nehtech (Forslind et al., 1997). Silnou antimikrobiální aktivitu vykazují nasycené i nenasycené mastné kyseliny přítomné na povrchu kůže. Aktivita těchto látek byla potvrzena především vůči bakteriím druhu *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* a kvasince *Candida albicans* (Feingold, 2009).

Kůže má také metabolické vlastnosti, mezi které patří například schopnost redukce konkrétních steroidů. Dokáže přetvořit testosteron na aktivnější androgen a ze steroidních prekursorů je schopna vytvořit některé steroidní hormony a částečně tak ovlivnit jejich aktivitu. Mimo hormonů může být v kůži obsaženo množství glukosy, závislé na hladině cukru v krvi (Montagna, 1974).

3.1.1 Mikrobiota kůže

Kromě výše zmíněných funkcí, má kůže úlohu jakožto první obranná bariéra vůči patogenům (Gallo & Hooper, 2012). Mikrobiotu lidské kůže tvoří miliony bakterií, hub i virů (Rodrigues Hoffman, 2017). Běžně ji tvoří bakterie rodu *Proteobacteria* spp., *Actinobacteria* spp. či *Propionibacterium* spp. Mikroskopické houby představují především rody *Malassezia* spp., *Aspergillus* spp. či *Cryptococcus* spp. Větší část kožního viromu je tvořena bakteriofágy, tedy DNA viry útočícími na přítomné bakterie. Dominantní jsou bakteriofágy cílící na bakterie rodu *Propionibacterium* spp. a *Staphylococcus* spp. Méně často se objevují papillomaviry, polyomaviry a poxviry (Rodrigues Hoffmann, 2017). Nejvýznamnější kolonizace probíhá v prvních letech života, kdy se mikrobiom formuje do podoby mikrobiomu dospělého člověka a stabilizuje se přibližně ve věku 3 let (Byrd et al., 2018). V lidském těle se nachází mnoho různých rodů bakterií, jejichž rozmístění je závislé na oblasti, která je zkoumána. Mikrobiotou jsou osídleny a ovlivňovány i plíce, mozek, či játra a v neposlední řadě i kůže (Zheng et al., 2020).

Mimo funkce obranné mají mikroorganismy osidlující povrch kůže, podobně jako u mikrobioty střev, funkci ve vývoji imunitního systému a funkci v degradaci přírodních produktů. Kůži můžeme definovat na základě fyziologických charakteristik, jako je mastnota, vlhkost či suchost kůže. Při porušení kožní bariéry může dojít k participaci patogenních bakterií a ke vzniku povrchových zánětů. Růstu a kolonizaci nežádoucích bakterií brání pot z potních žláz. V potu jsou obsaženy VMK a peptidy, které inhibují mikrobiální kolonizaci (Gallo & Hooper, 2012).

Bylo zjištěno, že mikrobiální společenství je do značné míry stabilní i přes neustálé změny prostředí. Na základě analýz byla tato stabilita připsána spíše udržování kmenů v průběhu času, než opakované kolonizaci běžnými druhy z prostředí (Byrd et al., 2018). Přesto existují rozdíly v rámci geografického hlediska, kde významným vlivem zůstává rozdílná expozice UV záření, u něhož byl potvrzen a dobře zdokumentován smrtící účinek vůči bakteriím (Grice & Segre, 2011). Nejstabilnější společenství tvoří bakteriální a houbová společenství v sebaceózních oblastech. Oproti tomu, nejméně stabilní mikrobiální společenství lze nalézt v oblasti nohou, přičemž relativní nestabilitu připisují autoři přechodné přítomnosti hub v prostředí. Při sekvenování zdravých dospělých lidí bylo shledáno, že mikrobiální složení

je odlišné v závislosti na již zmíněných fyziologických parametrech kůže. Dominující druhy bakterií byly odlišné v různých oblastech lidské kůže. Ukázalo se, že v sebaceozních oblastech, včetně ohybů loktů a nohou, dominovaly lipofilní bakteriální druhy rodu *Propionibacterium* spp. (Byrd et al., 2018). Sebaceozní neboli mazové žlázy, jsou místa s relativně nízkým obsahem kyslíku, což je optimální pro růst fakultativně anaerobních bakterií, k nimž se *Propionibacterium* spp. řadí (Grice & Segre, 2011). Oproti tomu ve vlhkých oblastech dominovaly bakterie rodu *Staphylococcus* spp. a *Corynebacterium* spp. (Byrd et al., 2018), kde vlhké oblasti těla zahrnují axilární klenbu, tříselný záhyb, gluteální záhyb, podkolení jamku a vnitřní loket. *Staphylococcus* spp. zde sídlí v oblastech s přístupem kyslíku a pravděpodobně profituje z močoviny, jakožto zdroji dusíku, přítomné v potu. Suché oblasti jako předloktí, hýždě a různé části dlaně vykazují smíšené zastoupení rody *Actinobacteria* spp., *Proteobacteria* spp., *Firmicutes* spp. a *Bacteroidetes* spp. (Grice & Segre, 2011). Narozdíl od bakterií bylo složení fungální komunity podobné napříč celým povrchem těla, a to bez ohledu na fyziologické složení. Houby rodu *Malassezia* spp. dominovaly v oblasti středu těla a na horních končetinách. Spodní končetiny byly kolonizovány různorodější kombinací mikrobiálních rodů, jako *Malassezia* spp., *Aspergillus* spp., *Cryptococcus* spp., *Rhodotula* spp., *Epicoccum* spp. a další. Obecně by se dalo říci, že nejvíce rozšířené byly bakterie, nejméně houby. Všechny uvedené rody mají vlastní mechanismy, pomocí kterých na kůži přežívají. Například *Staphylococcus* spp. se dokázal vyvinout v halotolerantní organismus, tedy organismus, který dobře snáší vysoké koncentrace soli v potu (Byrd et al., 2018).

Bakteriální osídlení lidské kůže může souviset mimo jiné s používáním kosmetických produktů, deodorantů a antiperspirantů. Používání deodorantů a antiperspirantů bylo spojeno se zvýšenou rozmanitostí mikrobiálních společenstev v místě účinku, především zvýšeným podílem rodů *Staphylococcus* spp. a *Corynebacterium* spp. (Rodrigues Hoffmann, 2017). K rozličnému osídlení mikroorganismy může přispívat také dramaticky se měnící vztah mezi domácími zvířaty a lidmi. Způsobem takového přenosu může být sdílená domácnost se zvířaty nebo přímý kontakt (Grandolfo, 2018).

Mezi mikrobiálním osídlením lidské a zvířecí kůže existují značné rozdíly (Rodrigues Hoffmann et al., 2014). Tento jev byl studován například u psů, kde byl zjištěn rozmanitější kožní mikrobiom v porovnání s lidským (Rodrigues Hoffman, 2017), což bylo potvrzeno i u mnoha dalších zvířecích druhů (Ross et al., 2019). Odlišnost ve zvířecím mikrobiomu je připisována hustému osrstění většiny psů a jiných živočichů. U psů také dochází k odlišné distribuci pachových a potních žláz a rovnoměrnější distribuci žláz mazových, což prakticky znemožňuje obvyklé rozdělení kožních oblastí na suché, vlhké a mazové jako je tomu u lidí (Rodrigues Hoffman, 2017). Nejčastěji se vyskytujícími druhy jsou bakterie rodu *Proteobacteria* spp., *Firmicutes* spp., *Actinobacteria* spp., *Bacteroidetes* spp. a *Cyanobacteria* spp., avšak dominující druhy se liší v závislosti na oblasti místa odebrání vzorku. Vyšší diverzita byla pozorována ve vzorcích z osrstěné kůže v porovnání se vzorky z povrchů sliznic, kde nejnižší druhovou bohatost měly vzorky z nosních dírek a spojivek (Rodrigues Hoffmann et al., 2014). Bakterie rodu *Micrococcus* spp. a *Staphylococcus* spp. byly identifikovány u domácích, hospodářských i divokých zvířat. Například rod *Staphylococcus* spp. byl potvrzen u 100 % testovaných krav a prasat, 90 % koní a lidí, 77 % laboratorních myší a 40 % psů (Ross et al., 2019).

3.1.1.1 Povrchové záněty u člověka

Systém lidské antimikrobiální obrany lze zjednodušeně dělit na 3 úrovně. První úroveň je specifikována jako anatomické a fyziologické bariéry, druhá úroveň jako vrozená imunita a třetí úroveň jako imunita adaptivní. Selhání kteréhokoliv z těchto tří systémů výrazně zvyšuje vnímavost těla k potenciální infekci a riziko jejího vzniku. V první a rozhodující linii stojí anatomické a fyziologické bariéry, kam patří například neporušená kůže, nízké pH žaludku nebo bakteriolytický enzym lysozym v slzách, slinách a dalších sekretech. V druhé linii, po expozici patogenu, dojde v řádu několika minut ke kaskádě imunitních reakcí, které vedou k ochraně těla vůči infekci. Rychlost účinku a aktivace adaptivního imunitního systému jsou ústřední rolí vrozené imunity. Imunitní odpověď třetí linie je adaptivní obranný systém, který je znám také jako imunita specifická (Turvey & Broide, 2010). Jedná se o imunitní reakci vytvořenou po prvotním setkání s patogenem. V případě opětovné expozice patogenu by měla být schopna rychlé a efektivní obranné reakce (Bonilla & Oettgen, 2010). Na druhé straně stojí vrozená imunita, imunita nespecifická. Nutno dodat, že specifická a nespecifická imunita jsou úzce spolupracující složky imunitního systému, nikoliv jeho samostatné oddíly (Beutler, 2004).

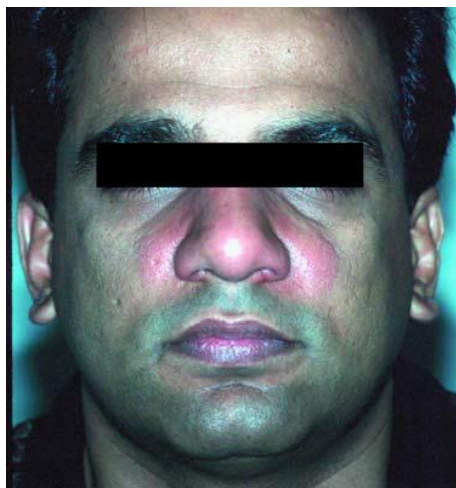
Se zánětlivými stavy kůže je spojena mikrobiální dysbióza, která je definována jako nerovnováha ve složení mikrobiálních populací. Studie hodnotící mikrobiom kůže při zánětlivých stavech jsou spíše popisné a stále není jasné, zda je mikrobiální dysbióza příčinou nebo výsledkem zánětlivých stavů kůže u lidí a zvířat. I přes nízký počet publikovaných studií je expozice danému mikrobiomu kůže považována za klíčovou složku imunitní reakce. Bylo zjištěno, že v důsledku zvýšené čistoty městských domácností má za důsledek sníženou expozici komensálním mikroorganismům, a tak i zesílení imunitní odpovědi v pozdějších letech života (Rodrigues Hoffmann, 2017). Důležitým zástupcem zánětlivých onemocnění kůže je například atopická dermatitida. Jedná se o chronické kožní onemocnění diagnostikované u lidí, nejčastěji však u dětí (Grice & Segre, 2011). Výskyt tohoto onemocnění se v posledních desetiletích celosvětově zvýšil. Pro pacienty s diagnostikovanou atopickou dermatitidou jsou charakteristické suché a svědivé léze. Tito pacienti mají pozměněnou funkci kožní bariéry v důsledku mutací tzv. filaggrin genů (Rodrigues Hoffmann, 2017), zodpovědných za finální strukturu epidermis (O'Regan et al., 2008), což má za následek snazší průnik cizích antigenů a následnou hypersenzitivitu. Bylo prokázáno, že pokožka dětí s atopickou dermatitidou se vyznačuje nižší mikrobiální diverzitou v porovnání s pokožkou zdravého dítěte. Kůže pacientů s atopickou dermatitidou se vyznačuje zvýšeným podílem bakterií *S. aureus* (Rodrigues Hoffmann, 2017). V některých případech mohou být důležitými spouštěči tohoto onemocnění alergeny v podobě roztočů a potravinových alergenů, ale i mechanické nebo chemické narušení funkce kožní bariéry (Williams, 2005). Jsou známa i další zánětlivá kožní onemocnění, která jsou atopické dermatitidě podobná. Stále více vědeckých studií poukazuje na to, že klíčovým faktorem u vzniku a závažnosti kožních lézí je *S. aureus*. Byly provedeny pokusy na myších, u kterých se v důsledku deficitu konkrétního proteinu vyvinul ekzém. V této experimentální studii bylo prokázáno, že příčinou vzniku ekzému byl *S. aureus*, a také byla vyvolána následná buněčná reakce vyvolaná kolonizací *Corynebacterium bovis* (Rodrigues Hoffmann, 2017).

Za další zánětlivé bakteriální onemocnění kůže je považována celulitis neboli flegmóna. Jedná se o lokalizovatelný zánět pokožky a podkoží, u něhož lze jen obtížně stanovit hranice

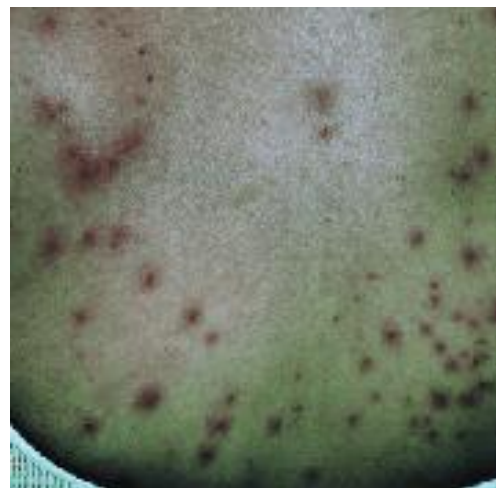
(Stulberg et al., 2002). Flegmóna je způsobena především bakteriálními rody *Staphylococcus* spp. a *Streptococcus* spp. (Raff & Kroshinsky, 2016) a projevuje se především jako zarudnutí a otok, obvykle v oblasti otevřené rány například po chirurgickém zákroku. Výjimkou není výskyt na zdánlivě neporušené a zdravé kůži. Toto onemocnění mohou provázet horečnaté stavy a zvýšený počet bílých krvinek (Stulberg et al., 2002). Povrchová forma flegmóny je označována jako tzv. erysipel (*erysipelas*) (Obrázek 1), která se projevuje jako ostře ohraničená a jasně červená oblast zvýšené vrstvy kůže (Raff & Kroshinsky, 2016). Výlučným bakteriálním rodem tohoto onemocnění je rod *Streptococcus* spp. Autoři studie Stulberg et al. (2002) také uvádí, že ve většině případů toto onemocnění provází příznaky podobné chřipce. Další odlišností od flegmóny je absence povrchové vstupní rány, což však nemusí být pravidlem (Stulberg et al., 2002).

Mezi vysoce nakažlivá kožní onemocnění patří tzv. impetigo (Hartman-Adams et al., 2014), vyskytující se především u dětí ve věku od dvou do pěti let (Stulberg et al., 2002). Existuje ve dvou formách, bulózní a nebulózní. Objevuje se v místě porušené kůže a jeho projevem jsou bolestivé kožní útvary naplněné infekční žlutou tekutinou. Impetigo je způsobeno infekcemi bakteriálních rodů *Staphylococcus* spp. nebo *Streptococcus* spp. (Hartman-Adams et al., 2014).

Zánětlivé onemocnění vlasového folikulu je známo pod názvem folikulitida (Obrázek 2). Tyto zánětlivé stavy jsou nejčastěji pouze povrchové a bezbolestné a vznikají v důsledku fyzického, chemického či bakteriálního poranění vlasového folikulu (Stulberg et al., 2002). Výskyt lézí se objevuje nejčastěji v důsledku osídlení folikulů patogenem *S. aureus* s doprovodným výskytem bakterií *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp. a *Proteus* spp. Léze se mohou objevit ve vlasových folikulech v oblasti obličeje, podpaží, hýždí (Luelmo-Aguilar & Santandreu, 2004), ale i ve vlasech, krku, trupu a končetinách. Výjimečně folikulitidu způsobují jiné mikroorganismy, jako jsou houby a kvasinky. Léze většinou vymizí samy. V případě nutné léčby antibiotiky jsou doporučována antibiotika účinná proti grampozitivním organismům, jejichž účinnou látkou jsou azithromycin, clarithromycin nebo amoxicillin. Za pacienty náchylnější k infekcím způsobených gramnegativními bakteriemi jsou považovány děti, pacienti s diabetem a imunodeficientní pacienti. Zde bývají využívány cefalosporiny druhé, třetí a čtvrté generace (Stulberg et al., 2002).



Obrázek 2: Erysipel (Stulberg et al., 2002)



Obrázek 1: Folikulitida (Stulberg et al., 2002)

3.1.1.2 Povrchové záněty u zvířat

Podobně jako lidé, i zvířata mohou trpět různými chorobami. Výjimkou nejsou zánětlivá onemocnění kůže. Mezi tyto choroby řadíme již zmiňovanou atopickou dermatitidu. Toto onemocnění bylo sledováno například u psů, kdy se u obou pohlaví objevovaly kožní léze, které byly lokalizovány především v oblasti tlamy, podpaží, třísel a tlap (Mueller et al., 2012). Kromě psů, je znám výskyt tohoto onemocnění také u dalších druhů zvířat, včetně koček a koní (Marsella & De Benedetto, 2017). U psů se atopická dermatitida vyznačuje především zvýšenou reakcí na všudypřítomné alergenů. Dále se u tohoto druhu zvířete může vyvinout přecitlivělost na grampozitivní bakterii *Staphylococcus pseudintermedius* nebo kvasinku *Malassezia pachydermatis*. Nejčastější bakterií ovlivňující zvířecí organismus, je bakterie druhu *S. pseudintermedius*, dříve pouze *S. intermedius*. Nejčastějším místem nálezu bývají nosní dutiny, ústa, konečník, třísla a čela zdravých jedinců, především tedy psů a koček (Mueller et al., 2012). Při nežádoucím přemnožení v místě výskytu lézí (Marsella & De Benedetto, 2017) může tato bakterie vyvolat povrchové záněty, které v posledních letech vykazují zvýšenou obranyschopnost vůči antibiotiku methicilin ze třídy penicilinů. Počet infekcí způsobených touto bakterií u psů a koček celosvětově roste. Jedná se především o onemocnění způsobené dvěma převládajícími klony, které lze jen obtížně zvládnout, a to z důvodu jejich multirezistentních profilů (Grandolfo, 2018), přičemž multirezistence je definována jako získaná necitlivost minimálně k jednomu přípravku ze tří nebo více antimikrobiálních kategorií (Magiorakos et al., 2012). Infekce způsobené *S. pseudintermedius* jsou považovány především za zvířecí hrozbu, přesto byla roku 2010 nahlášena i u člověka. Jednalo se konkrétně o linii MDR ST71-MRSP a nakaženými byli majitelé napadených zvířat. Tato událost poukazuje na fakt, že *S. pseudintermedius* může být přenosný i na člověka, byť jen s malou pravděpodobností. Úspěšná zdatnost této bakterie je způsobena několika potenciálními faktory virulence, kterými jsou proteiny ukotvené v buněčné stěně, exoenzymy a ekotoxiny. Lépe lze tyto faktory popsat u jiného typu stafylokoka, konkrétně u *S. aureus*, který je dobře známý především v lidské medicíně (Grandolfo, 2018).

Také hospodářská zvířata jsou ohrožena bakteriemi, jakožto původci kožních onemocnění. Digitální dermatitida neboli *Dermatitis digitalis* (Obrázek 3), je kožní onemocnění vyskytující se především u přežvýkavců a projevuje se kulháním pozorovaných jedinců (Rodrigues Hoffmann, 2017). Ke kulhání dochází v důsledku vzniku bolestivých lézí, kdy dochází k povrchové ztrátě tkáně v oblasti drápů a paspárků (Brizzi, 1993). Nejčastěji se projevuje u mléčného skotu, méně často u skotu hovězího. Jedná se o infekční zánětlivé onemocnění způsobené řadou bakterií, zpravidla kmeny *Firmicutes* spp., *Spirochateae* spp., *Bacteroidetes* spp. a *Actinobacteria* spp. U povrchových a středních lézí dominuje kmen *Firmicutes* spp., u hlubších poranění převládá rod *Treponema*. V aktivní i neaktivní formě digitální dermatitidy byl identifikován druh *Treponema denticola* a *T. vincentii* (Rodrigues Hoffmann, 2017). Nejen hospodářská zvířata, ale i kočky a psi mohou být postiženi touto chorobou. V metanogenomické studii bylo popsáno mikrobiální osídlení u koček s digitální dermatitidou. V důsledku koupelí obsahujících měď a zinek, jakožto prevence digitální dermatitidy, byl pozorován vyšší počet genů spojených s rezistencí na tyto prvky. Stejně tak byly objeveny geny rezistentní na antibiotika (Grandolfo, 2018). Dalším příkladem

rezervoáru polymikrobiálních onemocnění jsou ovce a kozy. Příčinou kožních infekcí u těchto hospodářských zvířat mohou být především *Dichelobacter nodosus* a *Fucobacterium necrophorum*. Opět se zde objevuje již zmiňované onemocnění, a to *dermatitis digitalis*. Ta může přecházet do chronické formy známé jako „virulentní noha“. Tato forma způsobuje oddělení rohoviny rohu od citlivé tkáně (Rodrigues Hoffmann, 2017).

Houba *Batrachochytrium dendrobatidis*, dále jen BD, byla studována z důvodu výrazné úmrtnosti obojživelníků, která byla způsobena závažnými kožními infekcemi (Morgan et al., 2007). V důsledku těchto studií byla blíže prozkoumána i bakteriální mikrobiota osidlující jejich kůži. Bylo prokázáno, že infekce BD způsobila výrazné změny bakteriální mikrobioty. Dokonce se předpokládá, že by tato houba mohla být schopna řídit změny v kožních bakteriálních komunitách. Byla zjištěna silná korelace mezi zátěží chytridiové infekce a složením bakteriální komunity. I přes tuto silnou korelaci nebyla prokázána žádná souvislost mezi přežitím a bakteriální mikrobiotou a u postmetamorfních žab nastala 100% úmrtnost. Zjištění této studie naznačilo významný a relativně předvídatelný vztah mezi kožní mikrobiotou a infekcí způsobenou *Batrachochytrium dendrobatidis* (Rodrigues Hoffmann, 2017), avšak mechanismus účinku nebyl prozatím ve všech směrech prozkoumán (De León et al., 2019).

Výše popsané studie poukazují na hypotézu, že kožní mikrobiom lidí i zvířat hraje významnou roli při udržování zdravé pokožky i vzniku povrchových infekcí. Mikrobiom kůže je velmi různorodý a existují významné rozdíly mezi druhy i jednotlivci. Bylo potvrzeno, že mikrobiom kůže může ovlivňovat výskyt infekčních onemocnění i jejich závažnost. Existuje tak prokazatelná interakce mezi kožním mikrobiomem a imunitním systémem (Rodrigues Hoffmann, 2017).



Obrázek 3: Digitální dermatitida skotu (Andrea Fiedler, 2019)

3.2 Patogenní bakterie osidlující povrch kůže člověka a zvířat

Jak již bylo zmíněno, bakterie jsou hlavní složkou mikrobioty člověka i zvířat (Zheng et al., 2020). Ve většině případů se jedná o komensální typy mikroorganismů, které jsou známé pro své neutrální až pozitivní účinky na hostitelské organismy. Některé mikroorganismy mohou ale vyvolat různě závažná povrchová onemocnění, která bývají charakteristická pro jednotlivé bakteriální druhy. Patogenní vliv mohou mít také doposud komensální mikroorganismy. K tomu může dojít jejich přemnožením a porušením rovnováhy ve sledovaném organismu (Kong & Segre, 2012). Ve složitém mikrobiálním ekosystému, který má speciální roli ve vývoji zánětlivých stavů, je známo málo o složení mikrobiální populace zapříčiňující tyto záněty (Gao et al., 2007). Nejběžněji vznikají povrchové záněty v důsledku osídlení bakteriálními rody *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp. a *Corynebacterium* spp. (Rodrigues Hoffmann, 2017), přičemž všechny jsou z kůže izolovatelné i za fyziologických podmínek (Gao et al., 2007).

Bakteriální rody vyskytující se na kůži zvířat jsou odlišné v závislosti na druhu daného zvířete a na prostředí, ve kterém se pohybuje. Nejčastěji se jedná o rody *Proteobacteria* spp., *Firmicutes* spp., *Bacteroidetes* spp. nebo *Actinobacteria* spp. Méně často se ve zvířecí říši objevují rody *Sphingobacteria* spp. izolovatelné z kůže různých druhů žab a *Moraxella* spp. izolovatelné z nosních dírek čenichu psů (Rodrigues Hoffmann, 2017).

3.2.1 *Staphylococcus aureus*

Bakterie rodu *Staphylococcus* spp. patří mezi grampozitivní, fakultativně anaerobní organismy, které lze poměrně snadno kultivovat. Buňky stafylokoků tvoří jednotlivé nepohyblivé a nesporotvorné koky, které mohou vyrůstat v hroznovité útvary. *S. aureus* je schopen růstu při 10% obsahu soli a teplotách v rozmezí mezi 18 °C až 40 °C. Kolonie nabývají nejčastěji žlutého až zlatého zbarvení (Taylor & Unakal, 2021). Objev těchto mikroorganismů sahá do konce 19. století. Prvním objeveným druhem byl *S. aureus*, po něm následoval *S. epidermidis*. Velmi rozsáhlé studie zabývající se bakteriálním rodem *Staphylococcus* spp. společně s *Micrococcus* spp. se odehrály začátkem 60. let minulého století. V tomto období došlo také k objevu druhu *S. saprophyticus*. Tyto mikroorganismy byly rozčleněny do skupin odlišujících se od sebe „na základě snadno stanovitelných morfologických, fyziologických a biochemických znaků.“ (Pantůček, 2007).

Oportunitní patogen *S. aureus* se nejčastěji vyskytuje na kůži a sliznici savců a ptáků. K přenosu této bakterie může dojít z člověka na člověka, či přenosem z okolních předmětů (Taylor & Unakal, 2021). Vysoce obávaným patogenem je methicilin-rezistentní *S. aureus* (MRSA), který je znám pro mnohačetnou antibiotickou rezistenci vůči naprosté většině β -laktamových antibiotik a dalších. Jedná se tedy o patogen zapříčiňující obtížně léčitelné záněty (Lee et al., 2018). Za hostitele MRSA jsou považována domácí zvířata, která jsou zkoumána jako rezervoáry tohoto kmenu pro přenos z člověka na zvíře a naopak. Bylo také zjištěno, že klony spojené s hospodářskými zvířaty byly adaptovány po přenosu lidských kmenů z člověka na zvíře. Zpětný přenos již adaptovaných kmenů ze zvířete na člověka je ojedinělý, stejně jako přenos specializovaných kmenů *S. aureus* mezi jednotlivými druhy

zvířat, například ze psa na kočku a opačně. Avšak přenos jednotlivých kmenů *S. aureus* mezi jednotlivými druhy savců a ptáků závisí na jejich hostitelské specifitě (Peton & Le Loir, 2014).

S. aureus může být nazýván jako „zlatý stafylokok“. Jedná se o rozšířený, v nemocničním prostředí velice obávaný bakteriální druh. U přibližně jedné čtvrtiny zdravé lidské populace nevyvolává žádné obtíže, avšak při náhlém snížení obranyschopnosti kolonizovaného jedince může způsobit různě závažná zánětlivá onemocnění od hnisavých kožních onemocnění až po celkovou sepsi organismu (Pantůček, 2007). Rizikovou skupinou jsou pacienti s diabetem prvního typu, uživatelé přípravků podávaných intravenózně, pacienti podstupující hemodialýzu, pacienti se syndromem získané imunodeficiencie a v neposlední řadě chirurgičtí pacienti (Lowy, 1998), kde *S. aureus* představuje hlavního původce závažných pooperačních komplikací. Často se tak stává v případě aplikace ortopedických implantátů či katetrů, přičemž se na infekci mohou podílet i další druhy rodu *Staphylococcus* spp. (Pantůček, 2007). Stafylokoky jsou při lokálních infekcích chráněny polysacharidovou kapsulí, která brání protilátkám, bakteriofágům a dalším ochranným mechanismům organismu v jejich účinku (Chavakis et al., 2007). K rozšíření infekce do krevního řečiště přispívá hyaluronidáza, enzym hydrolyzující hyaluronovou kyselinu. Tato kyselina je přítomna v mezibuněčné hmotě a po hydrolyze přispívá k rozšíření *S. aureus* i jeho produktů (Pantůček, 2007).

Z hlediska virulence je *S. aureus* považován za vysoce virulentní bakterii (Tristan et al., 2007). *S. aureus* produkuje rozmanité množství virulentních faktorů, například superantigeny, enzymy degradující tkáň, tkáňové specifické adheziny, cytolytické toxiny a faktory umožňující unikat imunitnímu systému. Vzhledem k velkému množství genetických možností u jednotlivých kmenů, může vznikat široké spektrum onemocnění způsobených *S. aureus* (Pantůček, 2007). Jedním z hlavních míst nákazy jsou povrchové rány nebo sliznice horních cest dýchacích. Typickým onemocněním jsou již zmiňované folikulitidy, záněty mléčné žlázy, závažnější kožní infekce nebo pneumonie, záněty kostní dřeni a celkové sepse (Chavakis et al., 2007). Stafylokové bakterie jsou schopny produkovat toxiny, které mohou organismus výrazně ohrozit na životě a způsobovat takzvané enterotoxikózy neboli otravy z jídla kontaminovaného těmito toxiny. Enterotoxikózy jsou doprovázeny horečnatými stavy, bolestmi břicha, a především nevolností a zvracením (Pantůček, 2007). Velmi závažné stavy způsobené *S. aureus* jsou syndrom toxického šoku a syndrom opařené kůže. Syndrom toxického šoku je život ohrožující stav, který je typický nervovými poruchami, výrazně sníženým krevním tlakem, vysokými horečkami, selháváním orgánů a vyrážkou (Lowy, 1998), kdy se během dvou týdnů od počátku začne odlupovat kůže. Syndrom obvykle vznikne u pacientů s jiným stafylokokovým onemocněním. V druhém případě tento syndrom propukne u menstruuujících žen, jako důsledek přemnožení *S. aureus* ve vaginální mikrobiotě. Nejčastěji k tomu dochází v souvislosti s používáním tampónů (Pantůček, 2007). Úmrtnost je vyšší u pacientů, u nichž byl syndrom toxického šoku vyvinut bez souvislosti s menstruací (Lowy, 1998). Syndrom opařené kůže je způsoben toxiny exfoliatiny. Dochází k narušení vrchní vrstvy kůže a jejímu následnému odloučení. Ve většině případů se jedná o mírnou formu této nemoci, obvyklá je u novorozenců v porodnicích. V tomto případě se obvykle projevuje tvorbou puchýřů (Pantůček, 2007).

U zvířat může *S. aureus* způsobovat širokou škálu onemocnění od povrchových zánětů, po celkovou sepsi organismu, obdobně jako je tomu u lidí. Ve volné přírodě byl hlášen výskyt *S. aureus* u veverek, medvědů, zeber, delfinů, nosorožců, kanců, lidoopů, pěnkav i divokých

kachen (Peton & Le Loir, 2014). U zvířat z domácího či hospodářského prostředí byl *S. aureus* izolován například ze vzorků zdravé i napadené kůže koní. Autoři studie potvrdili jeho výskyt v případech řady známých onemocnění napadajících koně, k nimž řadíme různé druhy dermatitid a ekzémů. Z těchto onemocnění lze zmínit např. dermatitidu zad, končetin, ocasu, hyperkeratózu či alopecii (Devriese et al., 1985). *S. aureus* bývá také původcem zánětů mléčné žlázy neboli mastitidy u hospodářských zvířat (Peton & Le Loir, 2014). U králíků způsobuje tento patogen méně, či více závažné záněty kůže, podkoží, vnitřních orgánů a mléčných žláz (Viana et al., 2007). Stafylokokové infekce jsou nezdědka pozorovány u ptáků, jejichž kůže a horní cesty dýchací jsou běžným rezervoárem těchto bakterií. Toto je dáno v souvislosti s drůbeží a zhoršenými hygienickými podmínkami chovů slepic, kde je *S. aureus* často přítomen v prachu a krmivu (Peton & Le Loir, 2014).

Léčba *S. aureus* závisí na typu infekce a přítomnosti či absenci kmenů rezistentních na potřebné léky. Na základě rozboru izolátu je rozhodnuto o způsobu a délce léčby, např. u methicilin citlivých kmenů je využíváno antibiotikum penicilin (Taylor & Unakal, 2021).

3.2.2 *Streptococcus pyogenes*

Rod *Streptococcus* spp. jsou grampozitivní aerobní hemolytické bakterie tvořící koky. Jednotlivé koky mohou tvořit dvojice či řetězce (Pählman, 2007). *S. pyogenes* je výhradně lidský patogen, jehož optimální teplota růstu se pohybuje okolo 37 °C. Jedná se o nutričně náročný organismus s přísnými požadavky na růst. energii získává fermentací cukrů, při které dochází k tvorbě mléčné kyseliny a jedná se tak o homofermentativní bakterii mléčného kvašení (BMK) (Gera & McIver, 2013). *Streptococcus* spp. dělíme do tří různých skupin podle jejich schopnosti rozkladu hostitelských červených krvinek, erytrocytů. Skupina α způsobuje redukci krevního železa, skupina β je schopna způsobit kompletní rozklad červených krvinek a skupina γ tuto schopnost nemá. Bakterie skupiny β jsou na základě specifických sacharidů obsažených v buněčné stěně dále děleny do skupin označených písmenem A-H, K-M a O-V, přičemž bakterie druhu *S. pyogenes* jsou klasifikovány jako β -hemolytické bakterie skupiny A (Pählman, 2007).

Interakce mezi hostitelem a patogenem je u *S. pyogenes* ovlivněna řadou proteinů. Například adhezí streptokoků na eukaryotickou buňku zajišťuje vazba na fibronectin, kolagen či protein matrice. Fibronectin je nerozpustný globulin, který je schopný měnit svůj tvar podle aktuálních podmínek prostředí a interagovat s látkami v extracelulárním prostoru. Fibronectinové vazebné proteiny jsou tedy prostředkem pro adhezí *S. pyogenes* na lidské epiteliální buňky a jedná se o jeden z významných faktorů virulence streptokoků skupiny A (Passali et al., 2007).

S. pyogenes byl označen za jeden z nejvíce virulentních mikroorganismů způsobujících lidská zánětlivá onemocnění prostřednictvím exotoxinů (Musser et al., 1991). V hltanu se asymptomaticky vyskytuje až u 26 % dětí, v případě dětí stěžujících si na bolesti v krku byl detekován ve 23 až 58 % případů. *S. pyogenes* je přenášen kapénkami, přímým kontaktem s nakaženou osobou, či předměty, na kterých *S. pyogenes* ulpěl. Vzhledem k faktu, že je *S. pyogenes* schopný přežít na neživých objektech v řádu týdnů, je možné označit prach

a neživé objekty za další významný zdroj lidské infekce. Významný je přenos skrze potraviny, příkladem mohou být vejce či mléko v důsledku nedodržování požadovaných technologických postupů (Passali et al., 2007).

Pro *S. pyogenes* jsou typické běžně se vyskytující „bolesti v krku“, kožní záněty, flegmóna spojovaná převážně se *S. aureus* či artritida. *S. pyogenes* způsobuje také spálu, známé onemocnění dětí (Påhlman, 2007). Některé infekce způsobené rodem *Streptococcus* spp. mohou vyústit v mnohem závažnější život ohrožující onemocnění, kterými je například septikémie, puerperální horečka, nekrotizující fascitida či streptokokový toxický šokový syndrom (Luca-Harari et al., 2009). Tato závažná onemocnění mohou v krajním případě skončit až smrtí pacienta (Påhlman, 2007).

Poměrně známým onemocněním dětí je spála. Před začátkem 20. století byla spála epidemiologicky obávané onemocnění s vysokou úmrtností. Ve 20. století docházelo k postupnému ústupu tohoto onemocnění, avšak v poslední dekádě se její výskyt obnovil. Spála způsobuje převážně onemocnění horních cest dýchacích, často dochází také k výskytu kožních lézí. Inkubační doba se pohybuje v řádu dnů a prvotními příznaky jsou horečka, bolesti hlavy, otok a červené zbarvení jazyka. Ve většině případů se následně objeví vyrážka postupující od tváře ke krku a končetinám (Wong & Yuen, 2019).

Nekrotizující fascitida je vzácné zánětlivé onemocnění způsobené streptokoky skupiny A, především *S. pyogenes*. Byly identifikovány také další druhy bakterií i hub, například *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Clostridium* spp. či *Candida* spp. Vstupní branou do organismu mohou být drobné povrchové rány, kousnutí hmyzem, pohmožděniny, místa vpichu, popáleniny a další drobná či větší povrchová poranění, přesto nelze zhruba u 45 % případů jednoznačně určit příčinu vzniku tohoto onemocnění (Bellapianta et al., 2009).

Nekrotizující fascitida způsobuje poškození měkkých tkání, které postupuje podél svalové fascie (Påhlman, 2007). Zánět se šíří rychle do okolních tkání včetně tělesného tuku, nervů a oběhového systému. Při nedostatečně rychlé diagnóze dochází k nekróze poškozené tkáně a postupující zánět může způsobit celkovou sepsi organismu. Jedná se tak o závažné a život ohrožující onemocnění. Léčba antibiotiky musí být často doprovázena chirurgickým zákrokem odstraňujícím úseky nekrotizující svalové tkáně, kde rychlost jejího odstranění hraje největší roli v úmrtnosti na toto onemocnění. Nejohroženější skupinou jsou osoby trpící chorobou diabetes mellitus, obezitou, alkoholismem a osoby disponující dalšími rizikovými faktory (Bellapianta et al., 2009).

Streptokokový toxický syndrom je taktéž onemocnění způsobené streptokoky skupiny A (Stevens, 1995). Prakticky dochází k celkové systémové toxicitě organismu, která bývá doprovázena nízkým krevním tlakem a postupným selháním orgánů (Påhlman, 2007). Závažnou komplikací je nekrotizující fascitida, která je přítomna zhruba u 70 % pacientů trpících tímto syndromem. Streptokokový syndrom toxického šoku je život ohrožující onemocnění vyskytující se ve všech věkových skupinách obyvatelstva s 30% až 70% úmrtností (Stevens, 1995).

K léčbě bakteriálních infekcí způsobených bakterií *S. pyogenes* je doporučeno využití antibiotik s případnou doplňující léčbou, kterou mohou být akutní chirurgické zákroky odstraňující poškozenou tkáň, jako je tomu v případě nekrotizující fascitidy. Na základě rozsáhlých vědeckých studií bylo zjištěno, že nejvhodnější skupinou k léčbě streptokokových infekcí jsou makrolidy. Jedná se o skupinu antibiotik, k nimž patří penicilinová antibiotika.

Další vhodnou skupinou antibiotik jsou β -laktamová antibiotika (Passali et al., 2007). U osob alergických na penicilin je doporučována léčba jinými makrolidy, například antibiotikem erythromycin (Bassetti et al., 2000), u vysoce citlivých kmenů je obvykle využíváno antibiotikum klindamycin (Wong & Yuen, 2019).

3.2.3 *Enterococcus faecalis*

Bakterie rodu *Enterococcus* spp. jsou fakultativně anaerobní grampozitivní bakterie. Jedná se o nesporoformní bakterie tvořící koky vyskytující se jednotlivě, v párech nebo krátkých řetězcích (Švec & Devriese, 2015). Podobně jako streptokoky, i enterokoky patří do skupiny homofermentativních BMK (Gomes et al., 2008). Jsou schopny růstu v rozmezí teplot od 10 °C do 45 °C, avšak teplotní optimum pro růst většiny enterokoků je v rozmezí 35 °C a 37 °C (Švec & Devriese, 2015). Současně má většina enterokoků schopnost růstu až při 6,5% koncentraci soli (Morandi et al., 2005). Jedná se o bakteriální druh, běžně se vyskytující ve střevní mikrobiotě člověka a dalších živočišných druhů, včetně much. Často se setkáváme s antibioticky rezistentními druhy, které dokážou rezistenci přenášet i na jiné mikroby. Vysoké procento lidských enterokokových infekcí způsobuje bakterie *Enterococcus faecalis* (McBride et al., 2007). Na konci 20. století byl rod *Enterococcus* spp. ve Spojených státech amerických považován za třetího nejčastějšího původce zánětů rozšířených v nemocničním prostředí (Gray & Pedler, 1992). Podle těchto autorů většina studií popisuje *E. faecalis* jako původce 80 % až 90 % infekcí způsobených *Enterococcus* spp. Předpokládá se, že tato bakterie získala prostřednictvím horizontálního přenosu značné množství variabilních znaků virulence, což jí pomáhá přežít obranné systémy hostitele a přetrvávat v nemocničním prostředí (McBride et al., 2007).

Přestože je *E. faecalis* součástí přirozené mikrobioty, může způsobovat řadu méně, či více závažných onemocnění (Vágnerová & Kolář, 2003). Obvykle se jedná o infekce močových cest, chirurgických ran (McBride et al., 2007) a respiračního traktu. Méně obvyklé jsou infekce krevního řečiště, ke kterým většinou dochází u pacientů s předchozí léčbou širokospektrálními antibiotiky a dlouhodobou hospitalizací. Významné jsou endogenní nozokomiální infekce způsobené přestupem zánětu ze střevní sliznice do krve a některých orgánů. K tomu dochází například u osob, které se léčí chemoterapií a současně přijímají nevhodně zvolená antibiotika jako lék na enterokokovou infekci. V této situaci dochází k narušení střevní rovnováhy a následné kolonizaci rezistentními druhy rodu *Enterococcus* spp. V důsledku chemoterapeutické léčby dochází k narušení střevní sliznice a následnému přestupu zánětu do okolních tkání, kde může způsobit těžké nozokomiální infekce (Vágnerová & Kolář, 2003). Bylo zjištěno, že rod *Enterococcus* spp. je jedním z mnoha patogenů podílejících se na velmi závažném zánětlivém onemocnění zvaném nekrotizující fascitida (Bellapianta et al., 2009). Jedná se o stejné onemocnění, které bylo popsáno v podkapitole 3.2.2 *Streptococcus pyogenes* (Vágnerová & Kolář, 2003).

Ve veterinární medicíně je *E. faecalis* původcem řady onemocnění a jedná se o jednu z řady bakterií způsobujících mastitidy krav (Yang et al., 2019). Výskyt enterokokových infekcí u hospodářských zvířat je nebezpečný z hlediska pravděpodobného výskytu rezistentních linií tohoto oportunitního patogenu a možného přenosu rezistentních genů

prostřednictvím potravinového řetězce (Aarestrup et al., 2002). Obecně lze však říci, že výskyt enterokokových infekcí u zvířat je spíše vzácný a jejich léčbě není přikládán takový význam, jako je tomu u infekcí lidských (Butaye et al., 2001).

K léčbě infekcí způsobených bakterií *E. faecalis* je doporučována aplikace aminopenicilinů. Jestliže se jedná o linii rezistentní na aminopenicilin, doporučuje se léčba glykopeptidy, tedy antibiotikem jako je vankomycin či teikoplanin (Vágnerová & Kolář, 2003).

3.2.4 *Corynebacterium* spp.

Corynebacterium spp. jsou grampozitivní fakultativně anaerobní bakterie vyskytující se ve vodě a v půdě (Zoysa & Efstratiou, 2006). Zpravidla mají tvar bacilů či kokobacilů (Bernard, 2012) a netvoří spory ani kapsuly (Zoysa & Efstratiou, 2006). Optimální růstové podmínky jednotlivých druhů *Corynebacterium* spp. se liší, avšak platí, že většina druhů obvykle dobře roste za standardních růstových podmínek při teplotách okolo 37 °C. Výjimečně mohou některé druhy růst lépe při teplotách okolo 30 °C a koncentraci CO₂ pod 5 %. *Corynebacterium* spp. jsou oportunitní patogeny (Bernard, 2012) běžně se vyskytující na kůži a sliznicích lidí i zvířat jako součást běžné mikrobioty (Watts et al., 2000).

Patogenní bakterie *Corynebacterium* spp. mohou způsobovat řadu onemocnění, k nimž řadíme například jamkovou keratolýzu. Jedná se o kožní onemocnění způsobující dráždivé a ve většině případů i bolestivé léze na chodidlech (Lockwood et al., 2010). Tyto léze jsou jamkovitého charakteru a jejich viditelnost bývá zvýšena při otoku nejsvrchnější vrstvy pokožky v důsledku delšího pobytu ve vlhkém prostředí. U osob žijících v tropických oblastech je výskyt běžný, především pokud chodí naboso. V západních zemích se toto onemocnění vyskytuje především u osob nosících nevhodnou obuv a bývá spojováno s nedostatečnou hygienou a macerací kůže. Nejohroženější skupinou jsou farmáři, vojenský personál a někteří atleti (Nikkels et al., 2008).

Výhradně lidským druhem korynebakterií je *C. diphtheriae*, která způsobuje záškrť. Jedná se o kapénkové onemocnění způsobující horečku a komplikace v místě výskytu. Infekce může působit na horní cesty dýchací nebo způsobit kožní záněty charakteristické chronickými a obtížně hojitelnými vředy. Častěji však dochází ke vzniku infekce v již existující ráně, například v tržných ranách, popáleninách nebo v místě bodnutí hmyzem. Současně s *C. diphtheriae* lze většinou izolovat také streptokoky skupiny A a bakterii *S. aureus* (Zoysa & Efstratiou, 2006). Tento druh bakterií je zodpovědný za řadu dalších kožních onemocnění, například erythrasma nebo trichobakteriózu. Ve většině případů k infekci dochází v důsledku lokálních změn kůže, jako je zvýšená teplota a vlhkost. Kontaminace z vnějšího prostředí nebyla prokázána (Nikkels et al., 2008).

Erythrasma je kožní infekce způsobená bakterií *C. minutissimum* (Turk et al., 2011). Tato infekce se projevuje začervenalými skvrnami v oblastech, které jsou vystaveny zvýšené vlhkosti a tření. Takovými oblastmi jsou například třísla a různé kožní záhyby. Může, ale nemusí být přítomno svědění. Nejvíce jsou ohroženi pacienti s nadváhou až obezitou, starší osoby a osoby trpící nemocí diabetes mellitus. U imunodeficientních osob se může toto onemocnění vyvinout až v bakteriémie, těžkou celulitis, kostochondrální absces nebo pyelonefritidu. K systémové léčbě je obvykle využíváno antibiotikum erythromycin,

alternativou mohou být například clarithomycin nebo chloramfenicol (Nikkels et al., 2008), avšak v některých případech je přistupováno pouze k lokální léčbě antibiotiky (Turk et al., 2011).

Trichobakteriόza, dříve také trichomykόza, je asymptomatické bakteriální onemocnění ovlivňující chlupové kanálky ve velkých kožních záhybech, například v podpaží. Ve většině případů je způsobeno bakterií *C. tenuis* a je klinicky charakterizováno nažloutlou, načervenalou až načernalou lepkavou hmotou obklopující vlasové šachty a přítomnost dalších druhů korynebakterií není vyloučena. Ve své podstatě dochází ke vzniku útvarů uzavírajících chlupový kanálek tvořených z bakteriálního biofilmu, přičemž může také docházet k poruchám produkce potu (Salim & Zahra, 2014). Léčba probíhá obdobně jako u erythrasma. K podpoře léčby je doporučováno pravidelně holit postižené oblasti a pravidelně používat antiperspiranty, například s obsahem chloridu hlinitého. Bohužel mohou být tato onemocnění chybně diagnostikována. Například jamkovou keratolýzu mohou praktičtí lékaři chybně označit jako mykózu a nasadit tak nevhodnou a neúčinnou léčbu (Nikkels et al., 2008).

Ke korynebakteriím vyskytujícím se v nemocničním prostředí řadíme například *C. jeikeum* (Bratcher, 2018). Jedná se o jednu z řady bakterií participujících se na zánětech protetických zařízení, na kterých se ve většině případů podílí také *C. amycolatum* a *C. urimucosum* (Cazanave et al., 2012). *C. jeikeum* byla také označena za častou příčinu vzniku infekce krevního řečiště u pacientů s transplantací kostní dřeně, u imunokompetentních a imunosuprimovaných pacientů. S touto bakterií bývají spojovány také záněty v okolí zavedených katetrů či jiných povrchových ran. Nejúčinnější léčbou je aplikace antibiotik obsahujících vankomycin. V případě opakovaných infekcí spojovaných s protetickou náhradou bývá doporučováno její odstranění (Bratcher, 2018).

Corynebacterium spp. nezpůsobují výhradně lidská onemocnění. Příkladem bakterie způsobující záněty na zvířatech je *C. bovis*. Tato bakterie způsobuje záněty mléčné žlázy dojných krav, tzv. mastitidu (Obrázek 4) a bývá spojována se sníženou produkcí mléka. K intenzivnímu růstu a tvorbě kolonií dochází v přítomnosti mléčného tuku. Kolonizace *C. bovis* bývá v této souvislosti sledována a využívána jako indikátor hygienické jakosti mléka (Watts et al., 2000). Bylo také zjištěno, že infekce způsobené *C. bovis* mohou působit jako konkurenti infekcí způsobených jinými bakteriemi, například *S. agalactiae* a *S. aureus* (Pankey et al., 1985). Z pokožky krav můžeme také izolovat bakterii *C. amycolatum*. Jedná se o druh, který se často vyskytuje také na pokožce lidí (Watts et al., 2000).



Obrázek 4: Mastitida krav (Náš chov, 2014)

3.3 Antibiotická léčba kožních bakteriálních infekcí

U kožních bakteriálních infekcí přichází v potaz lokální aplikace antibiotik. Toto je možné v případě, že se jedná o infekci méně závažnou a snadno lokalizovatelnou. K lokálnímu podání jsou předepisována baktericidní antibiotika s omezeným vstřebáváním do organismu, například bacitracin a neomycin. K zajištění vyšších tkáňových i sérových koncentrací jsou antibiotika podávána perorálně, tedy ústy. U závažných bakteriálních infekcí, například sepsí, je nutné parenterální podání léčiva, kdy dochází k vstřebání látky přímo do krve a sérové a tkáňové koncentrace léčiva jsou tak vyšší než u perorálního podání (Lochmannová et al., 2004). Koncentrace antibiotik ve tkáních a tkáňových tekutinách závisí na mnoha faktorech. Důležitým faktorem jsou chemické vlastnosti použitého antibiotika a vlastnosti jiné, více závislé na hostiteli. Tím lze chápat aspekty jako typ tkáně a kapilár, průtok krve, infekce apod. Například vazba léčiva na bílkoviny je vlastnost specifická pro danou sloučeninu. Jejím hlavním účinkem je zveličování celkových přítomných hladin, především v plasmě. Přesto mohou být místní tkáňové hladiny antibiotik ovlivňovány bez změny převládajících plasmatických koncentrací (Ryan, 1993).

Antibiotika dělíme na bakteriostatická, tedy inhibující růst mikroorganismu, a antibiotika baktericidní, u nichž dochází k zániku bakteriální buňky. V případě závažných bakteriálních infekcí je přístupováno k léčbě baktericidními antibiotiky, u nichž se nástup účinku pohybuje v rámci 48 hodin. U bakteriostatických antibiotik dochází ke klinickému efektu v rámci 3 až 4 dnů a jsou využívána v případě, že imunitní systém hostitele funguje a je schopen bakterie sám zlikvidovat (Lovečková, 2012). Klinické využití mají takzvaná širokospektrální antibiotika a antibiotika s úzkým spektrem účinku (SÚKL, 2020). Rozdíl mezi těmito typy antibiotik je ten, že širokospektrální přípravky účinkují na bakterie grampozitivní i gramnegativní. Přípravky s úzkým spektrem účinku jsou schopny napadat převážně jednu z těchto dvou skupin bakterií. K širokospektrálním přípravkům řadíme mimo jiné tetracykliny, některé β -laktamy a novější makrolidy (Lovečková, 2012). V optimálním případě by mělo převládat podávání antibiotik s cílením na úzkou skupinu mikroorganismů, která je pokládána za původce daného onemocnění. Toto se však ve většině případů neděje. Pozitivním příkladem mohou být některé severské státy Evropy, včetně Finska a Norska, kde jsou širokospektrální antibiotika využívána minimálně. Opačným příkladem jsou některé státy jižní Evropy, například Itálie, Řecko, Malta a Španělsko, kde oproti antibiotikům s úzkým spektrem účinku, bývají širokospektrální antibiotika předepisována více než 50krát častěji (SÚKL, 2020).

K nejčastěji využívaným antibiotikům při léčbě kožních infekcí patří β -laktamová antibiotika s baktericidním účinkem (Lovečková, 2012). Jedná se o deriváty β -laktamu, čtyřčlenného heterocyklického kruhu. Tento kruhový systém je společným strukturním rysem řady širokospektrálních β -laktamových antibiotik, k nimž řadíme peniciliny, cefalosporiny, karbapenemy, klavulanovou kyselinu, sulbaktamy a tazobaktamy. Tyto látky zabraňují biosyntéze buněčné stěny a řada z nich byla izolována z přírodních zdrojů či syntetizována chemicky po objevu penicilinu. Některé mohou být polosyntetickými deriváty přírodních skeletů produkovaných mikroorganismy (Gupta & Halve, 2015). Peniciliny a cefalosporiny jsou neribozomální peptidy izolované z plísní rodu *Penicillium* a *Acremonium*. Tyto antimikrobiální látky jsou účinné v léčbě infekcí způsobených rody *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. a *Clostridium* spp. Jedná se však o skupinu antibiotik, proti které

se vyvinula rezistence. To vede k potížím při léčbě již rezistentních bakterií, např. MRSA, kde byla β -laktamová antibiotika náhradní volbou. Kromě rezistence byla u 10 % populace zjištěna alergická reakce na peniciliny a u 1 % alergie na cefalosporiny. Přestože se tyto alergie vyskytují s nízkou četností, jedná se o významnou překážku klinického využití z důvodu znemožnění preventivního střídání β -laktamových antibiotik tak, aby byl co nejlépe omezen vývoj multirezistentních linií (Jakubczyk & Dussart, 2020). Karbapenemy jsou stejně populární β -laktamová antibiotika, u nichž tvoří narůstající rezistence problém v klinickém využití (Codjoe & Donkor, 2018). Klavulanová kyselina má sama o sobě pouze slabou antimikrobiální aktivitu, kterou lze však podpořit antimikrobiální aktivita jiného β -laktamového antibiotika, amoxicilinu. Spojení klavulanové kyseliny a amoxicilinu zvyšuje citlivost amoxicilin rezistentních kmenů gram pozitivních i gram negativních bakterií, včetně patogenního *S. aureus*, *E. coli*, *Bacteriodes* spp., *Haemophilus* spp. a mnoho dalších. Na bakterie k amoxicilinu citlivé nemá přidání klavulanové kyseliny žádný vliv (Todd & Benfield, 1990).

Další rozšířenou skupinou baktericidních antibiotik jsou látky aminoglykosidické povahy (Lovečková, 2012). Jedná se o ve vodě rozpustné látky s širokým spektrem účinku. Všechna aminoglykosidová antibiotika obsahují zabudovaný šestičlenný aminocyklitolový kruh (Wright et al., 1998). Lze je rozdělit do několika různých tříd na základě jejich chemické struktury a biosyntézy. Obecně lze strukturu charakterizovat jako inositolový derivát připojený alespoň k jednomu aminocukru, kde celá struktura obsahuje volné OH- skupiny a alespoň dvě aminoskupiny. Mechanismus využití aminoglykosidů nebyl prozatím plně objasněn. Pravděpodobně však existují rozdíly mezi jednotlivými druhy (Becker & Cooper, 2013). Aminoglykosidická antibiotika typu streptomycin, neomycin, spectinomycin, kanamycin, tobramycin a ribostamycin jsou vedlejšími produkty různých druhů rodu *Streptomyces* spp. Známý gentamicin je produkován bakterií *Micromonospora purpurea*, sisomicin bakterií *M. inyoensis* a zdrojem butirosinu je *Bacillus circulans* (Wright et al., 1998). K aminoglykosidickým antibiotikům řadíme několik polosyntetických derivátů zmíněných bakteriálních produktů. Jsou řazeny mezi aminoglykosidy druhé generace a jsou jimi amikacin, netilmicin a isepamicin. Antimikrobiální látky aminoglykosidické povahy byly mezi prvními antibiotiky využívanými klinicky. Jejich význam však spolu s vývojem dalších širokospektrálních antimikrobiálních látek klesal, a to v důsledku četných vedlejších účinků, které mohla tato antibiotika způsobovat. Mezi vedlejší účinky řadíme nefrotoxicitu a ototoxicitu, tedy poškození ledvin a sluchu (Becker & Cooper, 2013). Jednou z dalších možných překážek je zhoršená absorpce při orálním podání. Ve většině případů tak dochází k intravenóznímu či injekčnímu podání (Wright et al., 1998). V 21. století je k nim vzhledem k narůstající rezistenci postupně navraceno, jakožto k náhradní antibiotické léčbě především u gram negativních patogenů. K pokročilejším antibiotikům tohoto typu řadíme plazomicin, získaný chemickou syntézou ze sisomicinu. Kombinuje strukturální vlastnosti více aminoglykosidů, což vede ke zlepšení aktivity proti mnoha rezistentním kmenům a potlačení některých nežádoucích účinků (Becker & Cooper, 2013).

Další klinicky využívaná antibiotika v boji s kožními infekcemi s baktericidním účinkem jsou polypeptidy, glykopeptidy, cyklické lipopeptidy, co-trimoxazol a fluorochinolony. Mezi známé glykopeptidy, účinné především proti gram pozitivním bakteriím, řadíme například

vankomycin a teikoplanin. Obvykle využívaný daptomycin řadíme právě k cyklickým lipopeptidům (Lovečková, 2012).

Z řady účinných bakteriostatických antibiotik lze zmínit tetracykliny, glycylycykliny, makrolidy a linkosamidy. Obzvláště erythromycin z řady makrolidů je hojně využívaným antibiotikem v lidské (Lovečková, 2012) i veterinární medicíně (LeBlanc et al., 1986). Tato látka je účinná převážně proti grampozitivním patogenům, včetně některých kmenů *S. aureus*, a rodů *Enterococcus* spp. a *Streptococcus* spp. (Haight & Finland, 1952). Dalšími makrolidy jsou například klarithromycin a azithromycin. Linkosamidy jsou také účinné převážně proti grampozitivním bakteriím (Lovečková, 2012). Jedná se o sekundární metabolity některých bakteriálních druhů, kde například linkosamin A produkuje bakterie druhu *Streptomyces lincolnensis* (Zhang et al., 2018).

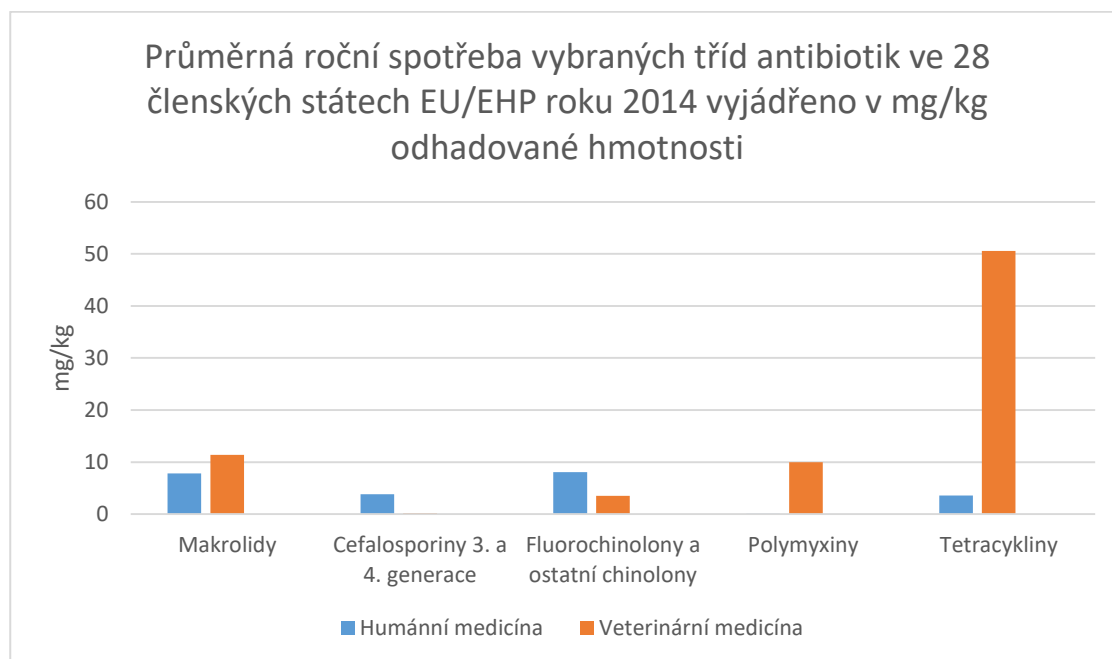
Využití antimikrobiálních látek ve veterinární medicíně je stejně důležité jako v medicíně humánní. Podle vědeckých doporučení Evropské agentury pro léčivé přípravky (EMA) byla zhodnocena rizika využití antibiotik u zvířat a jejich dopady na veřejné zdraví. V tomto kontextu byl hodnocen především vývoj antimikrobiální rezistence a doporučení byla navržena tak, aby byla podporována úzká spolupráce mezi humánní a veterinární medicínou. V tomto směru byla antibiotika využívána jak v humánní, tak ve veterinární medicíně rozdělena do 4 skupin značených od A do D. Kategorie A je označena jako „avoid“, tedy antibiotika, která nejsou k veterinárnímu použití vhodná. Tyto antimikrobiální látky nejsou autorizovanými veterinárními přípravky a využití u zvířat určených k produkci potravin je naprosto nevhodné. Jedná se o přípravky využívané primárně v humánní medicíně, avšak ve výjimečných případech je lze využít u zvířat společenských (EMA, 2020). Řadíme k nim některé amdinopeniciliny ze třídy penicilinů (Kalpana et al., 2017), karbapenemy, ostatní cefalosporiny a penemy včetně kombinací cefalosporinů 3. generace s inhibitory β -laktamázy, u nichž je známý účinek například proti MRSA a *S. pneumoniae* (EMA, 2019), vankomycin z řady glykopeptidů, daptomycin z řady lipopeptidů a mnoho dalších přípravků. Kategorie B, značena jako „restrict“, je tvořena látkami, jimž by se mělo ve veterinární medicíně vyhýbat. Antibiotika této kategorie jsou kriticky důležitá v humánní medicíně a k aplikaci u zvířat by mělo být přistupováno pouze v případě, že nebyly nalezeny účinné přípravky v kategoriích C a D. Jedná se o skupinu nejméně početnou, co se týče antibiotických tříd. Řadíme k nim cefalosporiny 3. a 4. generace kromě kombinací inhibitorů β -laktamázy, colistin a polymyxin B ze třídy polymyxinů a fluorochinolony a další chinolony ze třídy chinolonů (EMA, 2020). Jedná se o přípravky využívané především při léčbě akutních a život ohrožujících sepsí způsobených například bakteriemi *Enterobacterales* a onemocnění trávicího traktu (EMA, 2019). V kategorii C jsou zařazeny veterinární přípravky, k nimž existují alternativy v humánní medicíně. Tyto přípravky jsou aplikovány v případě, že nebyla nalezena vhodná antibiotika ve zbývajících skupině, která by měla být primární volbou při hledání vhodných antibiotik. Do kategorie C, značené jako „caution“, řadíme aminoglykosidová antibiotika vyjma spektinomycinu. Z nich lze zmínit například gentamicin, kanamycin, streptomycin a neomycin. Dále sem spadají cefalosporiny 1. a 2. generace a cefamyciny, aminopeniciliny s inhibitory β -laktamázy, chloramfenicol a další amfenicoly, linkosamidy, makrolidy a další antimikrobiální přípravky (EMA, 2020). Opět se jedná o antibiotika účinná v boji s *Enterobacterales*, infekcemi močových či dýchacích cest i některými kožními infekcemi (EMA, 2019). Do poslední kategorie označené jako „prudence“ jsou zařazeny veterinární přípravky mnoha tříd, včetně spektinomycinu ze třídy

aminoglykosidů, aminopenicilinů bez inhibitorů β -laktamázy, antistafylokokových penicilinů rezistentních na β -laktamásu, přírodních penicilinů s úzkým spektrem účinku, steroidních antibiotik, nitroimidazolů, tetracyklinů, cyklických polypeptidů a dalších antimikrobiálních přípravků (EMA, 2020). Obecně by měl veterinář před předepsáním léčivého přípravku ohodnotit, zda je nezbytně nutné použití širokospektrálního antibiotika. V opačném případě je doporučováno volit přípravky s úzkým spektrem účinku tak, aby bylo v co největší míře zabráněno vývoji a šíření bakteriální rezistence. V optimálním případě by mělo dojít k testování antimikrobiální citlivosti a volbě vhodného antibiotika podle výsledku testů (EU, 2015).

V důsledku nárůstu rezistentních patogenů narůstá potřeba antibiotik a je tak vyvíjen tlak na vývoj látek nových. Tento vývoj probíhá ve třech možných přístupech. V prvním případě jsou vyvíjeny látky stávajících chemických tříd, které působí na stanovené cíle. Druhým případem je vývoj látek spadajících do nových chemických tříd a působících na stanovené cíle a v posledním případě je účelem vývoj látek nových chemických tříd současně působících na cíle nové (De Souza Mendes & De Souza Antunes, 2013). Obecně platí, že by měla být antibiotika předepisována pouze v případech, kdy jsou mikroby skutečným původcem onemocnění, nikoliv pokud se jedná o neinfekční stavy, či virózy. Antibiotikum by také mělo být dávkováno s ohledem na celkovou funkci jater a ledvin a v neposlední řadě by měl lékař, či veterinář, brát v zřetel celkovou místní situaci, co se týče bakteriálních rezistencí (Lovečková, 2012).

V následujícím grafu (Graf 1) je zobrazeno porovnání průměrné roční spotřeby vybraných tříd antibiotik v humánní a veterinární medicíně roku 2014. Údaje byly čerpány z oficiální společné zprávy Evropského střediska pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC), Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA) a Evropské agentury pro léčivé přípravky (EMA).

Graf 1: ECDC/EFSA/EMA druhá společná zpráva o integrované analýze spotřeby antimikrobiálních látek a výskytu antimikrobiální rezistence bakterií u lidí a zvířat určených k produkci potravin, 2017



3.4 Bakteriální rezistence vůči antibiotikům

Revoluci v moderní medicíně způsobily antimikrobiální látky, které jsou využívány k léčbě zánětlivých onemocnění a jsou také potřebné k rozvoji komplexních chirurgických zákroků, transplantací orgánů a dalších lékařských úkonů. Nárůst antibiotické rezistence tento vývoj ohrožuje a znemožňuje tak léčbu u některých akutně nemocných pacientů (Munita & Arias, 2016). Podle Světové zdravotnické organizace (WHO) je antibiotická rezistence jednou ze tří největších hrozeb 21. století (WHO, 2014). Nárůst antibiotické rezistence má přímou spojitost s nárůstem úmrtí pacientů i s ekonomickými ztrátami. S narůstající rezistencí a nedostatkem účinných antibiotik nebo jejich alternativ se tak situace stále zhoršuje (Munita & Arias, 2016).

Vznik antibiotické rezistence je typickým obranným mechanismem bakterií vůči snaze léčit onemocnění těmito preparáty. Z genetického hlediska existují dva známé mechanismy vzniku rezistence. Prvním mechanismem je vznik mutací již existujících genů, druhým je horizontální přenos genů v rámci druhů (Pantůček, 2007). Rozhodujícím faktorem přispívajícím ke vzniku a šíření antibiotické rezistence je vysoká míra spontánních mutací a široce převládající mechanismy výměny DNA (Peterson & Kaur, 2018). K mutacím genů dochází u bakteriálních buněk pocházejících z méně odolných populací. Tyto mutace ovlivňují aktivitu antibiotika a umožňují tak přežití bakteriálních buněk v jeho přítomnosti. Z toho vyplývá, že rezistentní nejsou všechny bakteriální buňky, ale pouze jejich část. Antibiotika mohou být tedy částečně účinná na náchylné populace, rezistentní bakterie budou poté převládat. Mutace způsobující antibiotickou rezistenci působí na základě různých mechanismů, kterými jsou například modifikace antimikrobiálního cíle nebo modulace regulačních sítí (Munita & Arias, 2016). Modifikace antimikrobiálního cíle způsobuje snížení afinity k léčivu, což představuje hrozbu nejen pro lidské zdraví (Peterson & Kaur, 2018). Následkem modulace regulačních sítí jsou globální změny v metabolických cestách. Mutačních změn je mnohem více a odlišuje je složitost a intenzita antibiotické rezistence (Munita & Arias, 2016).

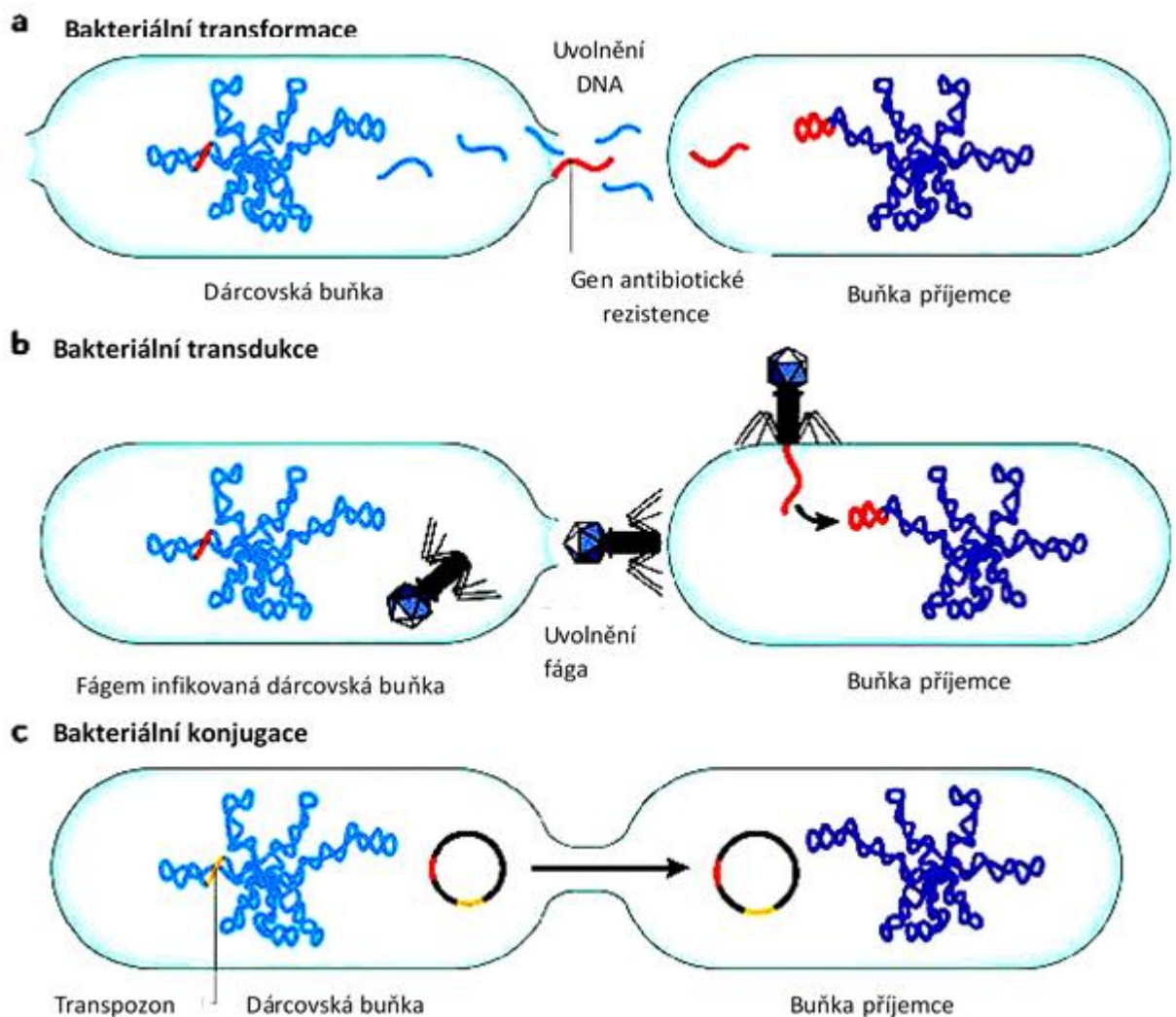
Teorie o přenosu rezistence skrze horizontální přenos byla původně představena v 70. letech 20. století (Peterson & Kaur, 2018). Horizontální genetický přenos (HGT) (Obrázek 5) je jedním z nejdůležitějších evolučních faktorů u bakterií, který může být zodpovědný za rozvoj rezistence získáváním cizího materiálu DNA. Většina klinických antibiotik je odvozena od přírodních produktů běžně se vyskytujících v životním prostředí. Bakterie sídlící v prostředí těchto molekul mají genetické determinanty rezistence, které se ke klinicky významným bakteriím dostávají genetickou výměnou. K výměně dochází třemi různými způsoby (Munita & Arias, 2016). Začleněním a transformací čisté DNA, transdukcí zprostředkovanou fágem nebo konjugací buněk. V přírodě jsou široce využívány všechny tři mechanismy HGT, avšak některé druhy bakterií upřednostňují jeden mechanismus před ostatními. Příkladem mohou být enterobakterie upřednostňující transfer genetické informace skrze konjugativní plasmidy, transformaci upřednostňující *S. pneumoniae* či transdukcí upřednostňující *S. aureus* (Peterson & Kaur, 2018). Nejjednodušším typem HGT je pravděpodobně začlenění a transformace čisté DNA, ale jen málo klinických bakterií je schopno tuto DNA využít. Konjugace zahrnuje mezibuněčný kontakt, kdy dochází k výměně genetické informace skrze mobilní genetické prvky, například plasmidy, nebo přímo mezi

chromozomy. Jedná se o velmi účinný způsob přenosu rezistentních genů, který je často zdrojem bakteriální rezistence v nemocničním prostředí. Přidávání nových genů a jejich expresi zajišťují rekombinační systémy zvané integrony. Jedná se o jeden z neúčinnějších mechanismů akumulace genů (Munita & Arias, 2016). Z důvodu obtížnosti detekce rekombinačních událostí v přírodě zůstává celý mechanismus HGT nejasný a za aktivní místa genetické výměny jsou považovány odpadní vody z nemocnic a zemědělství, čistírny a v neposlední řadě odpady z jatek, což je předpokládáno z důvodu vysoké koncentrace bakterií, fágů a plazmidů v těchto oblastech (Peterson & Kaur, 2018).

Z biochemického hlediska existuje několik možných mechanistických strategií bakteriální rezistence na antimikrobiální látky, a to na základě jejich specifických biochemických drah. Může dojít k modifikaci antimikrobiální molekuly, snížení rizika dosažení cíle antibiotika na ribozomu, změně cílového místa nebo úplnému vyhnutí tohoto místa a vzniku rezistence v důsledku globálních adaptačních procesů. Munita & Arias (2016) dále uvádí, že u některých bakteriálních druhů dochází k preferenci určitých mechanismů rezistence na základě toho, zda jsou bakterie takzvaně grampozitivní, či gramnegativní. Tento jev se přisuzuje odlišné stavbě buněčných obalů u těchto dvou typů bakterií (Munita & Arias, 2016). Modifikace antibiotické molekuly produkcí enzymů je úspěšnou strategií většiny bakterií, včetně klinických izolátů. Tento proces je nejčastěji dáván v souvislost s rezistencí vůči aminoglykosidovým antibiotikům (Peterson & Kaur, 2018). Enzymy způsobují inaktivaci či destrukci antimikrobiální látky přidáním některých specifických chemických látek do této sloučeniny (Munita & Arias, 2016). Inaktivace antibiotik změnou jejich chemického složení je mechanismus známý u grampozitivních i gramnegativních bakterií (Peterson & Kaur, 2018). Většina biochemických reakcí vzniklých vlivem modifikujících enzymů zahrnuje acetylaci, fosforylaci a adenylaci. Některé enzymy mohou mít vyvinuto více biochemických aktivit, nikoliv pouze jednu. Cestou k omezení transportu antibiotik do buňky může být snížení permeability buněčné membrány. Dojde tak k omezení prostupu antibiotik k cílovému místu a snížení příjmu antimikrobiální látky (Munita & Arias, 2016). Antibiotickou rezistencí podporují či způsobují také efluxní pumpy, zajišťující cestu antimikrobiální látky z buňky ven (Peterson & Kaur, 2018). Tento systém je pravděpodobně substrátově specifický, avšak ovlivňuje širokou škálu antimikrobiálních látek. Běžnou strategií antimikrobiální rezistence jsou také změny ribozomálního cílového místa různého charakteru. Obecně může dojít ke geometrickým, mutačním či enzymatickým změnám (Munita & Arias, 2016). Typickým příkladem modifikace cílového místa je antibiotická rezistence MRSA k β -laktamovým antibiotikům (Peterson & Kaur, 2018).

Úrovně citlivosti některých rezistentních mikroorganismů k antibiotikům se mohou lišit v závislosti na některých farmakologických parametrech, například na lokaci infekce nebo koncentraci antimikrobiálních látek v krvi. Také velikost bakteriálního inokula může způsobit rozdíly v citlivosti patogenu na konkrétní antibiotikum (Munita & Arias, 2016). Důvodem vývoje mnoha multirezistentních bakterií může být také nekontrolovatelná aplikace antibiotik a látek antibiotikům podobných, jakožto promotorů růstu hospodářských zvířat (Pantůček, 2007). Antibiotika byla v tomto směru aplikována nejčastěji u drůbeže, s cílem co nejrychlejšího růstu v co nejkratším čase. To však může u zvířat způsobovat dysfunkce prospěšné střevní mikrobioty a zvýšit odolnost mikrobiálních patogenů. K zabránění výskytu antibiotických reziduí v mase určeném k lidské spotřebě byly stanoveny tzv. ochranné lhůty,

kdy by po uplynutí této doby mělo dojít k vyloučení reziduí tělem živočicha. Při nedodržování ochranných lhůt může docházet k šíření antibiotických reziduí dále do potravního řetězce a ohrožení lidské medicíny šířící se antibiotickou rezistencí. Kromě antibiotické rezistence mohou u lidí rezidua způsobovat alergické reakce a dysfunkce střevní mikrobioty (Muaz et al., 2006). Většina států Evropské unie stanovila vlastní směrnice týkající se antibiotik, jakožto potravinových aditiv, již v 60. letech 20. století (Muaz et al., 2018). Aplikace antibiotik jako promotorů růstu byla u zvířat určených k produkci potravin v EU zakázána roku 2006. V zemích mimo EU je však toto použití stále povoleno (EU, 2019).



Obrázek 5: Horizontální genetický přenos (Pathmalal M. Manage, 2018; upraveno)

3.4.1 *Staphylococcus aureus* a antibiotická rezistence

S. aureus je známý pro svou schopnost rychlé adaptace na téměř všechny třídy používaných antibiotik. U tohoto patogenu byla prokázána přítomnost řady variabilních genetických elementů, některých dokonce mobilních. Tento jev znamená, že je *S. aureus* schopen přenosu nikoliv pouze z generace na generaci, ale i horizontálně. Klinicky nejvýznamnější je rezistence vůči antibiotiku methicilinu, jejímž důsledkem je rezistence vůči celé třídě β -laktamových antibiotik (Pantůček, 2007). Do této třídy patří nejpoužívanější antibiotika methiciliny, cefalosporiny a karbapenemy (Lowy, 1998). První bakterie MRSA byly izolovány již 6 měsíců po uvedení methicilinu na trh. V řádu několika let byly objeveny další stafylokoky, rezistentní na širokou řadu antibiotik. V tomto důsledku se zvyšuje riziko rozvoje infekce nejen *S. aureus*, ale i dalších druhů jako je *S. sciuri*, který je typický pro hlodavce nebo přirozeně rezistentní *S. haemolyticus* (Pantůček, 2007). V případě penicilinu zůstává citlivých méně než 5 % izolátů *S. aureus*, kde dochází k hydrolýze β -laktamového kruhu a tím i jeho inaktivaci (Lowy, 1998).

Po roce 1993 byly objeveny závažnější kmeny *S. aureus* nesoucí gen vytvářející nový dvousložkový typ cytotoxinu, Pantonův-Valentinův leukocidin (PVL). Kmeny produkující PVL způsobují závažné kožní infekce, které mohou vyústit v nekrózu postižených oblastí. Roku 2007 bylo až 70 % těchto genů methicilin-rezistentních a riziko úmrtnosti dětí postižených nekrózou se související pneumonií dosahovalo až 40 % (Pantůček, 2007).

3.4.2 *Streptococcus pyogenes* a antibiotická rezistence

Vzhledem k obecnému nadužívání antibiotik byla u *S. pyogenes*, podobně jako u dalších bakteriálních druhů, rozvinuta antibiotická rezistence. Rezistenci u tohoto patogenu podmiňuje modifikace rRNA a způsobuje tak odolnost vůči makrolidům, linkosamidům a streptograminu (Sutcliffe et al., 1996). Čekanová & Kolář (2007) uvádí, že „je nejčastěji způsobena geny *erm* (*erythromycin ribosomal methylase*)“. Makrolidová antibiotika jsou využívána jako alternativní léčba u osob s alergií na cefalosporin a penicilin. Právě z tohoto důvodu se z hlediska rezistence na makrolidy jedná o klinicky významnou záležitost (Čekanová & Kolář, 2007). Jedním z příkladů rezistentních kmenů tohoto patogenu lze zmínit studii hodnotící klinické kmeny *S. pyogenes*, jenž byly izolovány z Finska, Austrálie, Spojeného království a Severní Ameriky. Zde byla zjištěna rezistence vůči makrolidům se současnou citlivostí vůči linkosamidům a streptograminu (Sutcliffe et al., 1996). Jiná studie, odehrávající se v Olomouckém kraji České republiky, hodnotila řadu významných patogenů, včetně *S. pyogenes*. V letech 2000 až 2006 byl vyhodnocován vývoj výskytu rezistentních linií vůči vybraným antibiotikům, kde byly u *S. pyogenes* zjištěny kmeny rezistentní na antibiotika s účinnou látkou erythromycin, klindamycin a tetracyklin. V roce 2000 bylo sledováno okolo 20 % rezistentních linií na všechny 3 typy antibiotik a v roce 2006 se tato hodnota pohybovala okolo 10 %. Sledována byla také rezistence na antibiotikum penicilin, která se u *S. pyogenes* v žádných z let 2000 až 2006 nepotvrdila. Podle autorů této studie lze dát do kontextu četnost užívání konkrétních druhů antibiotik s výskytem rezistentních linií vůči těmto antibiotikům (Čekanová & Kolář, 2007). Erythromycin-rezistentní linie byla poprvé izolována roku 1955 ve Spojeném království

a později v dalších zemích světa včetně Finska, Taiwanu, Austrálie a Itálie (Bassetti et al., 2000). Kombinace antibiotik klindamycin a penicilin je často využívána k léčbě závažných streptokokových onemocnění skupiny A, především u nekrotizující fascitidy (Edlich et al., 2010) a streptokokového šokového syndromu. Léčbu těchto závažných onemocnění ohrožuje vznik klindamycin-rezistentních linií *S. pyogenes*. Nárůst rezistence vůči tomuto typu antibiotik byl sledován v mnoha zemích světa, například v Itálii a Japonsku. Navzdory tomu nebyl ve Spojených státech amerických, před začátkem 20. století, sledován výrazný výskyt, který by ohrožoval zdraví pacientů se závažnou streptokokovou infekcí (Walsh et al., 2004).

3.4.3 *Enterococcus faecalis* a antibiotická rezistence

E. faecalis disponuje vlastními i získanými geny rezistence, což způsobuje vznik linií rezistentních na široké spektrum antibiotik. Mezi tato antibiotika patří například erythromycin, klindamycin, tetracyklin, chloramfenikol i β -laktamása (McBride et al., 2007). Bylo zjištěno, že *E. faecalis* dobře reaguje na aminopeniciliny a v krajním případě také na glykopeptidy, které obsahuje například antibiotikum vankomycin (Vágnerová & Kolář, 2003). Dále bylo zjištěno, že bakterie rodu *Enterococcus* spp. jsou obecně více rezistentní na penicilin a ampicilin než rod *Streptococcus* spp. Rezistence na ampicilin, jakožto na preferované β -laktamové antibiotikum, byla u *E. faecalis* poprvé popsána roku 1983 v mnoha zemích (Gray & Pedler, 1992). V důsledku nadměrné léčby antibiotikem vankomycinem došlo ke vzniku a rozšíření vankomycin-rezistentní linie enterokoků. V České republice byl izolát této linie poprvé zachycen roku 1997 ve Fakultní nemocnici Olomouc. V dalších zdravotnických zařízeních v ČR se vankomycin-rezistentní enterokoky objevily v následujících letech (Vágnerová & Kolář, 2003). Roku 1970 byla poprvé popsána rezistence *E. faecalis* na antibiotikum streptomycin, roku 1979 rezistence na gentamicin. Výskyt gentamicin-rezistentních linií s vysokou intenzitou rezistence je běžný v mnoha zemích světa, včetně Spojených států amerických a Spojeného království (Gray & Pedler, 1992).

3.4.4 *Corynebacterium* spp. a antibiotická rezistence

U rodu *Corynebacterium* spp. je využíváno množství antibiotik, u kterých lze očekávat vysokou účinnost na většinu bakteriálních izolátů. Přesto byla u řady bakterií tohoto rodu rozvinuta antibiotická rezistence (Soriano et al., 1995). U bakterie *C. jeikeium* byla vyvinuta rezistence nejen na β -laktamová antibiotika, aminoglykosidy, erythromycin a tetracyklin, ale také na vankomycin, který bývá zatím nejúčinnější formou léčby (Bratcher, 2018). Vývoj rezistence na β -laktamásu byl objeven u dalších korynebakterií, například u *C. urealyticum* způsobující záněty močových cest či *C. xerosis*, která bývá za fyziologických podmínek komensálem a její role jakožto patogenu je nejasná (Zoysa & Efstratiou, 2006). Rezistenci na tetracyklin, především doxycyklin, lze pozorovat u menšího množství korynebakterií. Ze zmíněných se jedná o *C. jeikeium* a *C. urealyticum*. Rezistence na gentamicin se vyskytla opět u druhů *C. jeikeium* a *C. urealyticum* a některých kmenů *C. xerosis*

a *C. minutissimum*. Vzhledem k výskytu vícenásobné rezistence u bakterií *C. jeikeium* a *C. urealyticum* je lze označit za multirezistentní (Magiorakos et al., 2012).

Za cílem eliminace neúspěšnosti léčebného procesu a snížení rizika vzniku nových rezistentních linií je před stanovením léčby doporučováno testování *in vitro*, lokace konkrétní infekce a zhodnocení dalších aspektů včetně předchozí klinické zkušenosti (Soriano et al., 1995).

3.5 Alternativy antibiotik

V případě primární bakteriální infekce existuje řada alternativ, které mohou snížit selekci antibiotické rezistence nebo antibiotika zcela nahradit. Tyto alternativy mohou představovat přírodní sloučeniny s antimikrobiálními účinky, či jiné látky inhibující bakterie. K nim řadíme bakteriofágy, bakteriociny a dravé bakterie. Výhodou těchto metod je možnost zacílit léčbu na konkrétní bakterie, což u antibiotik chybí a je důvodem pro selekci rezistence necílených bakterií (Allen et al., 2014).

Takzvaná fágová terapie je ve své podstatě léčba pomocí virů napadajících patogenní bakterie (Gordillo Altamirano et al., 2019). Viry využívané ve fágové terapii jsou označovány jako lytické fágy, neboli fágy způsobující rozpad hostitelské buňky (Allen et al., 2014). Po předání virového genetického materiálu dochází v bakteriální buňce k pomnožení tohoto viru, dokud nedojde k syntéze specifických derivátů zpřičinujících rozpad a tedy i smrt bakteriální buňky (Gordillo Altamirano et al., 2019). Tuto metodu lze využít u systémových infekcí, primárně je však využívána u infekcí lokálních, včetně kožních (Allen et al., 2014).

Zajímavou alternativou k antibiotikům jsou také antimikrobiální peptidy (Allen et al., 2014). Z chemického hlediska se jedná o oligopeptidy s různým počtem aminokyselin a širokým spektrem cílených organismů včetně virů, bakterií a parazitů (Bahar & Ren, 2013). Mnoho těchto látek je však pro savce toxických, z tohoto důvodu nejsou k využití vhodné. Využitelnou podkategorií jsou bakteriociny. Jedná se o bakteriální peptidy, které inhibují růst příbuzných druhů. Fungují obdobně jako zmiňované fágové endolysiny – způsobí lýzu buňky patogenu. Odhaduje se, že minimálně jeden bakteriocin je produkován až u 99 % všech bakterií. Z tohoto důvodu lze předpokládat různorodost v potenciaálním využití nejen k terapeutickým účelům (Allen et al., 2014). Bakteriociny využívané k léčbě lidských patogenů mohou být účinné také proti multirezistentním liniím. Například vankomycin-rezistentní *Enterococcus* lze léčit enzymem produkovaným bakterií *E. faecium* (Shokri et al., 2014).

Méně prozkoumanou a nekonvenční metodu představují dravé bakterie. Jedním z identifikovaných druhů je *Bdellovibrio* a organismy podobné, které obsahují enzymy sloužící k trávení kořisti (Allen et al., 2014). Jedná se o malé gramnegativní proteobakterie, které jsou schopné vstupovat do dalších gramnegativních bakterií a zabíjet je. Jejich přítomnost je běžná ve vodním a suchozemském prostředí, dokonce i ve střevech zdravého jedince (Monnappa et al., 2016). Výhodou těchto bakterií je jejich schopnost napadat biofilmy, které vykazují až tisíckrát nižší citlivost vůči antibiotikům, oproti volným buňkám patogenů. Právě tato schopnost může představovat jistou terapeutickou výhodu při léčbě lidských

i zvířecích infekcí. Vhodné může být využití u infekcí způsobených složitými mikrobiálními společenstvími či strukturami, kde je léčba klasickými antibiotiky neúčinná. Potenciál využití dravých bakterií je vysoký, proto si tato problematika žádá další prozkoumání (Allen et al., 2014).

3.6 Charakteristika přírodních látek a jejich vlastnosti

Přírodní produkty jsou bohatým a v poslední době často používaným zdrojem antimikrobiálních látek. V současné době představují polovinu protinádorových léků a více než dvě třetiny využívaných antibiotik (Jakubczyk & Dussart, 2020). Obvykle jsou přítomny v rostlinách, houbách a dalších zdrojích, proto je vždy důležité vybrat správnou metodu extrakce požadované látky nebo skupiny látek. Pro extrakci z potravinářského materiálu bývají obvykle používány jiné látky než pro extrakci látek z přírodních matric, kde může být použití rozpouštěděl nežádoucí z důvodu potřeby zachování životaschopnosti extrahované látky (Kitzberger et al., 2007).

Přírodní látky se od kombinatorických, k nimž řadíme polo- i plně syntetické látky, liší mnoha aspekty. Rozdílnost tvoří především upravená struktura kombinatorických látek tak, aby vykazovaly vyšší účinnost. Zde lze zmínit rozdílnost v počtu chirálních center, zavedení komplexních kruhových systémů, stupeň nasycení molekuly i počet a poměr různých heteroatomů. Přírodní látky bývají velmi rozmanité a jejich biologická aktivita bývá vysoce specifická. Oproti syntetickým látkám obsahují přírodní produkty více kyslíku, což může mít spojitost také s fotosyntézou a tvorbou různých sacharidů u produktů rostlinných. Molekuly přírodních látek obsahují také, na rozdíl od léčiv a kombinatorických látek, molekuly s vysokým počtem chirálních center, což v mnoha případech přispívá k selektivě těchto molekul pro jejich specifická vazebná místa. U syntetických látek se chirální centra odstraňují a tvoří se látky méně specifické a účinné oproti látkám přírodním (Feher & Schmidt, 2003). Přírodní produkty se tak zdají být potenciálním zdrojem k výrobě modernizovaných chemických sloučenin podobných lékům, což může představovat vlastnosti látky jako je cílení na specifické tkáně hostitele či stabilita vůči biochemickým procesům hostitele (Wright, 2019).

3.6.1 Přírodní látky bakteriálního původu

Existuje řada bakteriálních druhů, jejichž produkty lze využít jako látky inhibující růst nežádoucích bakterií. Použití těchto látek je obvyklé především v potravinářství, kde jsou uplatňovány jako konzervanty (Gyawali & Ibrahim, 2014).

V potravinářství jsou často využívány BMK, které produkují řadu antimikrobiálních látek včetně organických kyselin, peroxidu vodíku, bakteriocinů a látek jim podobných (Oh et al., 2000). Bakteriociny jsou silné antimikrobiální peptidy produkované některými mikroorganismy, včetně BMK. Na základně primárních struktur, molekulárních hmotností, posttranslačních modifikací a genetických charakteristik jsou bakteriociny rozděleny do tří základních tříd. Bakteriociny třídy I jsou charakterizovány na základě jejich posttranslační

modifikace, která vede k tvorbě neobvyklých aminokyselin – lantioninu a methyllanthioninu. Obecně jsou nazývány jako lantibiotika a jejich zástupci jsou nisin a laktocin (Mokoena, 2017). Nisin je látka produkovaná bakterií *Lactococcus lactis* (Gyawalli & Ibrahim, 2014). Tento peptid je účinný ve vysoce nízkých koncentracích a jeho toxicita je nulová. Z tohoto důvodu je velice často využíván jako bezpečný potravinový konzervant. Napojení nisinu na buňku probíhá prostřednictvím elektrostatických sil, kdy se pozitivně nabitý nisin váže na negativně nabitou plasmatickou membránu bakterií. Následně narušuje biosyntetické procesy odehrávající se v buněčné stěně citlivých bakterií a zabraňuje jejich růstu a množení (Hyde et al., 2006). Toto přírodní antibiotikum je účinné proti grampozitivním a sporoforním bakteriím včetně *S. aureus*, *M. luteus* a *B. cereus* (Gyawalli & Ibrahim, 2014). Aktivita proti gramnegativním bakteriím byla také potvrzena, avšak značně nižší než proti bakteriím grampozitivním. Zvýšena může být přidáním látek narušujících vnější membránu, například chelátů (Hyde et al., 2006). Bakteriociny třídy II jsou tepelně stabilní a hydrofobní peptidy. Dále jsou rozděleny do dalších skupin IIa, IIb a IIc, kde první z nich obsahuje aktivní peptidy podobné pediocinu. Skupina IIb obsahuje bakteriociny, které vyžadují synergickou aktivitu dvou komplementárních peptidů k podpoře antimikrobiální aktivity. Některé mohou existovat a fungovat samostatně, ale přidání komplementárního peptidu jejich aktivitu zesílí. Příkladem skupiny IIb mohou být plantaricin A a enterocin X. Pediocin je bakteriocin skupiny IIa (Mokoena, 2017). Tento termostabilní peptid je produkován kmeny rodu *Pediococcus* spp. a jeho funkčnost se pohybuje v širokém rozsahu hodnot pH. Byla zde potvrzena antimikrobiální aktivita proti patogenním bakteriím včetně *S. aureus*, *E. faecalis*, *L. monocytogenes* a *Clostridium perfringens* (Tiwari et al., 2009). Bakteriocin skupiny IIb, plantaricin, je peptid produkovaný mléčnou bakterií *Lactobacillus plantarum*. Existují různé varianty tohoto bakteriocinu, avšak u většiny je spektrum jejich antimikrobiální aktivity úzké a nezahrnuje gramnegativní bakterie. Výjimku tvoří plantaricin MG, u něhož byla potvrzena antimikrobiální aktivita proti řadě grampozitivních i gramnegativních bakterií, včetně *S. aureus*, *M. luteus*, *B. cereus* a *E. coli* (Gong et al., 2010). Reuterin je bakteriocin třídy IIc a je produkován některými kmeny *Lactobacillus reuteri* během anaerobní fermentace glycerolu. Opět se jedná o látku účinnou v širokém rozmezí hodnot pH. Současně se jedná o látku odolnou vůči proteolytickým a lipolytickým enzymům (Arqués et al., 2004). Jeho účinnost je vyšší proti grampozitivním bakteriím, avšak u bakterií gramnegativních byla také potvrzena. K citlivým bakteriím řadíme druhy *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* a *C. jejuni*. K zesílení antimikrobiální aktivity potravinových biokonzervantů lze využít kombinace různých bakteriocinů, například kombinaci reuterinu s nisinem (Gyawalli & Ibrahim, 2014). Bakteriociny skupiny III zahrnují velké a tepelně nestabilní proteiny, například helveticin J. Dříve existující třída IV byla překlasifikována a znovu začleněna do současných 3 tříd (Mokoena, 2017). Vzhledem k relativní specifitě bakteriocinů ve srovnání s antibiotiky lze předpokládat aktivní úsilí v pátrání po bakteriocinech s širším spektrem účinku. Lze však předpokládat jejich širší využití jako antimikrobiálních přípravků v boji s patogeny. Některé bakteriociny jsou v medicíně již využívány. Například mutacin při ošetřování zubního kazu, či nisin při respiračních onemocněních jako prevence růstu rezistentního *S. aureus* nebo *S. pneumonia* (Bemena et al., 2014).

Kromě BMK existují další druhy bakteriálních přírodních látek využitelných v klinické medicíně (Clardy et al., 2006). Příkladem může být platensimycin, jehož antimikrobiální

aktivita je založena na inhibici syntézy mastných kyselin. Platensimycin je antibiotikum nové třídy produkované bakterií *Streptomyces platensis*, prvně izolované z jihoafrického půdního izolátu (Singh et al., 2007). Jeho účinnost byla popsána v boji s patogenními bakteriemi *S. aureus* a *S. pneumoniae*. Acyldepsipeptidolaktony jsou bakteriální látky, z nichž nejznámější je antibiotikum daptomycin. Některé byly izolovány z bakterie *Streptomyces hawaiiensis*. Například semisyntetický acylpeptidolakton byl lehce upraven tak, aby byla jeho antimikrobiální aktivita značná proti závažným onemocněním způsobených *S. aureus*, *E. faecalis* a *S. pneumoniae* (Clardy et al., 2006).

3.6.2 Přírodní látky odvozené od hub a řas

Bylo objeveno velké množství bioaktivních látek odvozených od hub a řas, u nichž byly stanoveny vlastnosti antioxidační, protizánětlivé, antivirové, a dokonce i antimikrobiální. (Gyawali & Ibrahim, 2014). Novým potenciálním zdrojem mohou být druhy mořské, u kterých je dostupný zdroj přírodních produktů prozatím nedostatečně prozkoumaný (Jakubczyk & Dussart, 2020).

Řasy vykazující antimikrobiální aktivitu byly po objevu využívány především v potravinářství jako ochrana před patogenními bakteriemi, včetně *E. coli*. Rovněž byl u některých řas zjištěn inhibiční vliv na bakterie antibioticky rezistentní (Gyawali & Ibrahim, 2014). U mořských řas byla zjištěna tvorba antimikrobiálních látek, jako jsou steroidy, lipidy a phlorotaniny. Konkrétně phlorotaniny jsou polyfenolickým sekundárním metabolitem vyskytujícím se pouze u hnědých mořských řas a jsou považovány za bezpečnou variantu využitelnou jako antimikrobiální látky pro boj s rezistentními bakteriemi v lidské medicíně. Byl prokázán inhibiční účinek vůči *S. aureus* včetně methicilin-rezistentní linie tohoto druhu (Eom et al., 2012). U sedmi vysoce antibioticky aktivních testovaných rodů mořských řas byla zkoumána aktivita proti multirezistentním patogenním bakteriím včetně *E. faecalis*, *S. epidermidis*, *S. aureus* a *M. luteus*., přičemž každý rod vykazoval aktivitu alespoň k jednomu testovanému organismu. Zástupce hnědých řas, *Stocheospermum marginatum*, vykazoval aktivitu proti všem testovaným druhům vyjma *E. coli* a oproti ostatním testovaným řasám vykazovaly hnědé řasy největší antimikrobiální aktivitu vůči různým druhům patogenů v porovnání se zástupci řas zelených a červených (Shanmughapriya et al., 2008). U sladkovodní zelené řasy *Chlorococcus humicola* byly sledovány především lipofilní a fenolické sloučeniny vykazující inhibiční vliv vůči patogenním bakteriím. Stejný účinek byl zjištěn také u extraktů barviv β -karotenu a chlorofylu, kde došlo k inhibici řady hub a bakterií včetně *Aspergillus flavus*, *E. coli* a *S. aureus*. Aktivity jednotlivých extraktů se lehce liší v závislosti na látce, která byla k extrakci využita (Bhagavathy et al., 2011).

Říše hub (fungi) zahrnuje mnoho organismů od plísní po jedlé druhy hub využívané v potravinářství (Gyawali & Ibrahim, 2014). Jedlé houby jsou považovány za nízkokalorickou potravinu s nízkým obsahem tuku a vysokým obsahem vitaminů, bílkovin a minerálních látek, především však draslíku, fosforu a železa (Öztürk et al., 2011). Bylo zjištěno, že houby obsahují značné množství bioaktivních látek s využitelnou antimikrobiální aktivitou. Například u nelupenatých jedlých hub byla potvrzena antimikrobiální aktivita proti gramnegativním i grampozitivním bakteriím *E. coli* a *S. aureus*. K těmto houbám řadíme

pýchavku obecnou (*Lycoperdon perlatum*), kyjanku červovitou (*Clavaria vermicularis*), hlívu plicní (*Pleurotus pulmonarius*) a další, které obsahují zdraví prospěšné látky jako jsou fenoly, flavonoidy a askorbová kyselina neboli vitamin C (Gyawali & Ibrahim, 2014). Extrakty jedlých hub skupiny *Agaricus* spp., které jsou známy jako žampiony či pečárky, byly testovány v aktivitě proti oběma typům bakterií, kde bakterie grampozitivní vykazovaly vyšší antimikrobiální citlivost než bakterie gramnegativní. Nejvyšší inhibiční vliv vykazovaly druhy rodu *Micrococcus* spp., především *M. flavus* a *M. luteus*, nejnižší *S. aureus*. Mezi třemi sledovanými druhy hub *Agaricus* spp. byly nejúčinnější extrakty žampionu pochvatého (*A. bitorquis*). Extrakty žampionu hlíznatého (*A. essettei*) a žampionu dvouvýtrusného (*A. bisporus*) byly účinné nejméně. Hlavní složku extraktů *Agaricus* spp. tvořily mastné kyseliny, fenoly, flavonoidy a β -karoten-linolová kyselina (Öztürk et al., 2011). Za další zdraví prospěšné houby jsou považovány houby shiitake, jinak známé jako houževnatec jedlý (*Lentinula edodes*). Podobně jako ostatní druhy hub obsahují jisté množství antioxidačních a antimikrobiálních látek, přičemž houby shiitake obsahují navíc látky protinádorové a hypocholesterolemické, tedy snižující hladinu cholesterolu v krvi. Mezi účinné látky obsažené v houbách shiitake patří složky flavonoidů, linolová kyselina, palmitová kyselina a ergosterol. Antimikrobiální aktivita byla potvrzena proti patogenům *M. luteus* a *Bacillus cereus* (Kitzberger et al., 2007). Fenoly a flavonoidy jsou bioaktivní látky izolovatelné z dřevokazné houby *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill, která se česky nazývá jako sírovec žlutooranžový nebo choroš sírový. Extrakty tohoto choroše byly testovány v antimikrobiální aktivitě vůči řadě grampozitivních a gramnegativních bakterií, přičemž spektrum antibakteriální aktivity vůči gramnegativním bakteriím bylo úzké. U grampozitivních bakterií tomu bylo naopak, kde nejvyšší inhibiční vliv vykazoval *M. flavus* a *M. luteus*. U organismů gramnegativních byla sledována patrná účinnost proti enterobakteriím *E. coli* a *Salmonella enteritidis* (Turkoglu et al., 2007).

3.6.3 Přírodní látky živočišného původu

Existuje řada živočišných látek využitelných v boji s patogenními bakteriemi. Mohou jimi být živočišné lipidy, mléčné složky, složky vajec či jiné bílkovinné i nebílkovinné látky (Gyawali & Ibrahim, 2014).

Jednou z často konzumovaných živočišných potravin je mléko a mléčné výrobky, přičemž savčí mléko slouží primárně pro výživu mláďat a podporu jejich imunity. Mléčnými složkami rozumíme bílkovinu α -laktalbumin, laktoferrin, mléčný tuk a v neposlední řadě také osteopontin, glykoprotein přítomný v kostní matici a dalších tkáních. α -laktalbumin je mléčná bílkovina obsahující řadu esenciálních aminokyselin a antibakteriální peptidy (Lønnerdal, 2011). Laktoferrin je mléčný protein vázající atomy železa a jeho struktura má podobnosti se strukturou transferrinu. Antimikrobiální aktivita laktoferrinu je připisována afinitě k železu a schopnosti bojovat o železo s bakteriemi (Legrand et al., 2005). Potvrzena byla aktivita proti patogenní *Enterobacter sakazakii* způsobující zažívací obtíže kojenců. Následně byla objevena antimikrobiální aktivita proti *Vibrio cholerae* a *S. aureus*, která již s kompetecí o železo nesouvisí a lze předpokládat, že je vyvíjena peptidy vznikajícími během trávení laktoferrinu (Lønnerdal, 2011). Imunoglobuliny jsou látky zajišťující specifickou

imunitu a jsou přítomné v krvi i mléku jedinců. Dokáží způsobit aglutinaci mikroorganismů a zabránit jim tak v produkci toxinů a adhezii na tkáni organismu. Vysoký obsah imunoglobulinů je v hovězím kolostru, ale jeho sekrece probíhá pouze v řádu dnů. Vysoká výtěžnost specifických imunoglobulinů je u slepičích vajec, konkrétně žloutků. Současně se jedná o poměrně jednoduchou metodu, při níž nejsou potřeba vysoké finanční či pracovní náklady (Korhonen & Rokka, 2011).

Dle Korhonen & Rokka (2011) je v živočišném mléku obsažena řada enzymatických proteinů, které jsou součástí přirozeného obranného systému savců (Korhonen & Rokka, 2011). Laktoperoxidáza je glykoprotein obsažený v lidském a zvířecím mateřském mléku a v řadě dalších sekretů. Jedná se o nejhojnější enzym hovězího mléka, snadno izolovatelný ze syrovátky. Je známý pro své baktericidní účinky, kdy prostřednictvím oxidace sulfhydrylových skupin (-SH) mikrobiálních enzymů způsobuje inhibici jejich růstu či smrt (Wolfson & Sumner, 1993). Ve vědeckých studiích byla potvrzena aktivita proti řadě bakterií, virů, plísní, hub i prvoků. Mimo jiné mikroorganismy vykazovala laktoperoxidáza aktivitu proti *E. coli*, *S. mutans*, *Staphylococcus* spp. i *Streptococcus* spp. (Korhonen & Rokka, 2011). Druhým obranným enzymem je lysozym, vyskytující se v ptačích vejcích a zvířecích sekretech včetně mléka. Antimikrobiální aktivita je založena na schopnosti hydrolýzy peptidoglykanu bakteriální buněčné stěny (Jollès & Jollès, 1984). Specifita a rozsah baktericidních účinků se liší v závislosti na zdroji tohoto enzymu, obecně lze však říci, že je tato aktivita vysoká zejména u grampozitivních bakterií z důvodu vysokého obsahu peptidoglykanu v jejich buněčných stěnách. Stěna gramnegativních bakterií je složena z lipopolysacharidů tvořících silnou fyzikální bariéru. Využití lysozymu u těchto bakterií lze však podpořit použitím detergentů a chelátorů, které dokážou vytvořit komplexy rozpustné ve vodě a tuto bariéru narušit. Antibakteriální aktivita byla potvrzena u *Bacillus stearothermophilus*, *Clostridium tyrobutyricum* i *S. aureus* (Gyawali & Ibrahim, 2014).

Živočišnou přírodní látku s antimikrobiálním účinkem představují nejen živočišné produkty, ale také jejich tělesné komponenty. Jednu takovou látku představuje chitosan. Jedná se o heteropolysacharid, který je přirozenou částí vnější kostry korýšů a členovců a buněčných stěn některých hub (Leleu et al., 2011). Je nerozpustný ve vodě, ale rozpustný v některých slabých organických kyselinách, např. octové či mléčné kyselině. Také se jedná o látku biologicky rozložitelnou, biokompatibilní a netoxickou. Antimikrobiální aktivita byla potvrzena proti řadě grampozitivních i gramnegativních bakterií včetně *E. coli*, *M. luteus* i *S. aureus*. Chitosan je využíván především v potravinářství ve formě jedlých ochranných fólií (Gyawali & Ibrahim, 2014), ale také v biotechnologické, biomedicínské, zemědělské a farmaceutické sféře. Bylo zjištěno, že je chitosan schopný inhibovat růst hub a plísní a vyvolat obrannou reakci rostlin (Yang et al., 2005).

3.6.4 Přírodní látky rostlinného původu

Za účinné rostlinné látky jsou označeny především sekundární metabolity, které rostlině poskytují jisté výhody, například v podobě ochrany rostliny proti patogenům. Za rostlinnou antimikrobiální aktivitu jsou zodpovědné chemické sloučeniny včetně fenolů a fenolových kyselin, saponinů, flavonoidů, taninů, kumarinů, terpenoidů a alkaloidů (Lai & Roy, 2004). Rozdíly v intenzitě účinku těchto sloučenin tvoří především odlišnosti v jejich struktuře a chemickém složení (Gyawali & Ibrahim, 2014). Souhrnně nazýváme tyto bioaktivní rostlinné látky fytochemikáliemi. Zájem o využívání fytochemikálií vzrostl až na konci 90. let 20. století, kdy vzrůstala neúčinnost konvenčních antibiotik z důvodu nevhodného či nadměrného používání antibiotik při infekcích savců (Simões et al., 2009).

3.6.4.1 Fytochemikálie

Fytochemikálie jsou produkty sekundárního metabolismu rostlin (Simões et al., 2009), jejichž biologická aktivita směřuje k biochemii a metabolismu zvířat včetně člověka. Jedná se o potenciálně nutričně účinné látky s příznivým vlivem na zdraví organismu. Zdravotní výhody mohou poskytovat jako substráty pro biochemické reakce, kofaktory či inhibitory enzymatických reakcí, lapače reaktivních nebo toxických látek, sloučeniny zvyšující vstřebávání či stabilitu základních živin a mohou zastávat mnoho dalších rolí. Jedná se tak o látky, které mohou mít antikancerogenní, antimikrobiální, antiparazitické, antivirotické účinky a pozitivní vliv na osoby trpící diabetem, koronárním onemocněním srdce, křečovými žilami, psychotickými chorobami i chorobnými stavy u zvířat a lidí (Dillard & German, 2000).

Fytochemikálie obsahují obrovské množství přírodních sloučenin. Uzanou antibakteriální aktivitu mají především látky spadající do strukturálních podtříd jako jsou fenoly a fenolové kyseliny, chinony, flavony, flavonoly, flavonoidy, taniny, kumariny, terpenoidy a silice, alkaloidy a další (Simões et al., 2009). Další známé fytochemikálie, nikoliv pro svou antimikrobiální aktivitu, jsou například tokoferoly a karotenoidy jako prekursor vitamínů E a A. Známé fytosteroly mohou působit jako protizánětlivé látky a látky snižující hladinu cholesterolu v krvi, díky jejich schopnosti nahrazovat živočišné steroly v organismu (Dillard & German, 2000).

Flavonoidy jsou významnou a početnou skupinou přírodních látek s prokázaným antimikrobiálním, antitrombotickým, antimutagenním a antikancerogenním vlivem. Lze je označit také za kvalitní antioxidanty, díky jejich vlastnosti vázat volné radikály a zamezit tak dalším řetězovým reakcím (Turkoglu et al., 2007). Antimikrobiální aktivita přírodních i syntetických flavonoidů je značná, u některých byla dokonce prokázána účinnost proti bakteriím včetně kmenů MRSA. Účinnost flavonoidů vůči této nebezpečné rezistentní bakterii byla prokázána u chalkonů, flavanonů a flavonů, kde chalkony vykazovaly nejvyšší účinnost. V této souvislosti bylo poukázáno na důležitost pozice OH skupiny těchto látek a systému delokalizace elektronů, které spolu úzce souvisí (Alcaráz et al., 2000). Do skupiny flavonoidů řadíme také známé anthokyany, které jsou zodpovědné za modré, fialové a červené zbarvení různých částí rostlin. Anthokyany byly potvrzeny jako silné antioxidanty, antikancerogenní látky a látky protizánětlivé. Obvykle se vyskytují v bobulovinách, ale i exotických druzích

ovoce jako je acerola, jambolão či jussara známá jako bobule acai (Cisowska et al., 2011). Další fytochemikálie, terpenoidy, jsou obvykle klasifikovány jako rostlinné přírodní produkty. Existují také terpenoidům příbuzné látky metabolizované některými houbami, které vykazují antimikrobiální aktivitu vůči některým patogenům. Například periconicin A a B mohou být využitelné v boji se *S. aureus* a *Salmonella typhimurium*, enfumafungin a ergokonin A v boji s *Cryptococcus neoformans* a *albicans* a další látky odvozené od terpenoidů. Jejich potenciální klinické využití vyžaduje další prozkoumání, je však předpokládán objev látek aktivních proti bakteriím, virům i rakovinotvorným buňkám (Jakubczyk & Dussart, 2020).

Rozdílnost ve struktuře jednotlivých chemických látek je enormní, a nejen u rostlin má vliv na výslednou antimikrobiální aktivitu (Gyawali & Ibrahim, 2014). Strukturálně rozmanitou skupinou jsou fenoly, u nichž je inhibiční vliv pravděpodobně způsoben hydroxylovými skupinami v molekule (Robards, 2003). OH skupiny narušují buněčnou membránu a metabolismus mikrobiální buňky a inhibují tak její růst. Inhibici růstu nežádoucích organismů pravděpodobně podporuje také antioxidační aktivita fenolových sloučenin, kdy dochází k omezení vzniku reaktivních forem kyslíku a záchytu volných radikálů, což má za následek snížení redoxního potenciálu růstového média. Důkaz o důležitosti konfigurace poskytuje studie, kde byly sledovány aktivity karvakuolu a thymolu. Tyto dvě sloučeniny odlišuje pouze pozice OH skupiny, avšak rozdíl mezi jednotlivými antimikrobiálními aktivitami byl znatelný (Gyawali & Ibrahim, 2014). Na důležitost pozice OH skupiny upozorňuje také Griffin et al. (2005), který sledoval antimikrobiální aktivitu terpenů. U jiných zkoumaných rostlinných látek bylo poukázáno na důležitost počtu dvojných vazeb v molekule, kdy látky s vyšším počtem dvojných vazeb vykazovaly větší antimikrobiální aktivitu. Mezi tyto látky patří citronelol, geraniol a nerol, kde citronelol s pouze jednou dvojnou vazbou vykazoval aktivitu nejnižší. Jedná se o látky izolované z olejnaté růže (*Rosa alba*) (Gochev et al., 2014), která je využívána především k produkci esenciálních olejů využívaných v aromaterapii, fytoterapii, kosmetice či při výrobě parfémů (Jovtchev et al., 2018). Vědecká studie zkoumající 2 obchodní šarže růžových esenciálních olejů vyrobených Institutem růží a aromatických rostlin v Bulharsku potvrdila účinnost všech tří výše zmíněných chemických látek proti široké škále patogenních bakterií. Vyšší citlivost byla zjištěna u grampozitivních, oproti gramnegativním bakteriím. Mezi úspěšně inhibované bakterie patřily kmeny *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* a také *Bacillus cereus*. Naopak rezistenci vykazovaly bakterie rodu *Pseudomonas* spp. (Gochev et al., 2014). Podle autorů Cueva et al. (2010) je důležitá nejen pozice OH skupin v aromatickém jádře fenolových kyselin, ale také délka nasycených vedlejších řetězců (Cueva et al., 2010). Roli v antimikrobiální aktivitě těchto kyselin hraje pravděpodobně i velikost přidané alkylové nebo alkenylové skupiny a platí – čím větší, tím silnější antimikrobiální aktivita. Antimikrobiální aktivita však nezávisí pouze na chemickém složení, ale také na lipofilních vlastnostech, účinnosti funkčních skupin, rozpustnosti ve vodě a dalších vlastnostech látky, které ovlivňují mikrobiální buňku a způsobují nejen biochemické procesy končící narušením integrity buněčné membrány s následným zánikem organismu. V laboratorních testech se účinnost rostlinných antibiotik liší také v závislosti na typu organismu, extrakční metodě, typu kultivačního média, velikosti inokula a metodě stanovení (Gyawali & Ibrahim, 2014).

Již od starověku jsou byliny a koření používány jako dochucovadla potravin, přírodní konzervační látky, a především jako součást tradiční medicíny díky jejich antioxidačním

a antimikrobiálním účinkům. Existuje mnoho důkazů o pozitivním účinku bylin na organismus. Příkladem může být snižování hladiny krevního cholesterolu či antikancerogenní účinky. Výjimkou není antimikrobiální aktivita vůči široké škále patogenů, včetně některých rezistentních linií (Lai & Roy, 2004). Například česnek, u kterého byla potvrzena inhibice gram pozitivních i gram negativních bakterií (Goncagul & Ayaz, 2010) včetně rezistentního stafylokoka známého jako MRSA i jeho nerezistentní formy, je pro tyto účely konzumován již více než 4500 let. Ony bioaktivní látky inhibující růst bakterií jsou organické sloučeniny síry, z nichž např. alicin je současně zodpovědný za štiplavost česneku a cibule. Bylo zjištěno, že některé druhy bakterií nejsou schopny vyvinout rezistenci proti této chemické látce. Jedná se však o termolabilní látku, která je prekursorem řady derivátů, z nichž některé antimikrobiální aktivitu postrádají (Lai & Roy, 2004). Dalším dobrým zdrojem látek odvozených od fenolů, včetně kofeinu, taninů, flavanolů a látek podobných, jsou čaje. Příkladem může být zelený čaj, u kterého byla potvrzena antibakteriální aktivita proti *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* a *Bacillus coagulans* (Gyawali & Ibrahim, 2014). Ze silic lze zmínit silice obsažené v sušených listech oregána, u nichž byly objeveny antimikrobiální účinky proti *S. aureus*, *E. coli* a *L. monocytogenes* (Friedman et al., 2013). Obecně silice aromatických léčivých rostlin, např. fenyklu, máty, tymiánu či levandule, obsahují účinné látky monoterpeny, seskviterpeny a další, které vykazují aktivitu proti gram pozitivním i gram negativním bakteriím, kvasinkám, houbám i virům (Savoia, 2012). K léčbě onemocnění je využívána řada dalších bylin a koření. Jejich rostlinné produkty jsou využívány v mnoha rozvojových zemích včetně Německa, USA, Kanady a Japonska, přičemž každá kultura má své vlastní metody bylinné léčby. Důležité je neopomenout, že i některé blahodárné rostliny mohou být při neuváženém dávkování toxické a nebezpečné (Lai & Roy, 2004).

Rostlinné vedlejší produkty včetně ovocných výlisků, semen, dužin či slupek jsou obvykle považovány za odpad. Některé studie však upozorňují na přítomnost užitečných antimikrobiálních látek, například fenolových sloučenin, v těchto běžně nezpracovávaných částech rostlin. V některých případech může být obsah bioaktivních látek dokonce vyšší, než je tomu v hlavních částech ovoce a zeleniny. Výlisky obsahující i části semen a stonků jsou důležitým vedlejším produktem, který obsahuje velké množství látek včetně fenolických sloučenin, flavonoidů, polyfenolů, minerálních látek i vlákniny (Gyawali & Ibrahim, 2014). Účinným antimikrobiotikem proti potravinovým patogenům se zdá být například 10% ethanolový extrakt výlisků hroznového vína, který vykazoval inhibiční vliv na enterobakterie, *S. aureus* a *Salmonella* v hovězím mase. Hroznová semena obsahují vysoký obsah fenolových sloučenin včetně katechinu a epikatechinu, jakožto antimutagenních a antivirotických látek (Sagdic et al., 2011). Dalšími vedlejšími produkty s antimikrobiálním účinkem jsou olivové výlisky a prášek z olivové šťávy, kde byla potvrzena inhibiční aktivita proti citlivým i rezistentním kmenům patogenních bakterií včetně *E. coli* a *S. aureus*. Za biologicky aktivní látky jsou zde považovány 4-hydroxytyrosol a oleuropein, které jsou odvozené od fenolových sloučenin (Friedman et al., 2013). Také slupky granátového jablka obsahují fenoly, flavonoidy a taniny. Taniny jsou ve své podstatě pouze vysokomolekulární fenolické sloučeniny, které mohou způsobovat „svíravost“ buněk. Proto byly extrakty těchto slupek již dříve využívány nejen k léčbě povrchových ran, ale například i zažívacích obtíží jako jsou průjemy a bolesti břicha (Al-Zoreky, 2009). Přírodní antimikrobiální látky s obsahem polyfenolů, flavonoidů, taninů a mnoho dalších, lze izolovat téměř z jakýchkoliv druhů ovoce

a zeleniny. Vedlejší produkty plodin obsahující látky účinné proti *S. aureus* lze podle Gyawali & Ibrahim (2014) extrahovat z mandlových slupek, rajčatových semen, žaludů a kaštanů, kokosových slupek, kořenové řepy a mnoha dalších. U extraktu z rajčatových semen byla potvrzena inhibice nejen *S. aureus*, ale i *S. epidermidis*, *M. luteus* a *E. faecalis*. Inhibice *S. aureus* a *E. faecalis* byla zjištěna také u extraktů červené řepy a inhibice koliformních bakterií včetně *E. coli* u testů kávové drti (Gyawali & Ibrahim, 2014).

4 Závěr

Na základě studií odborné literatury byl vytvořen systematický přehled zabývající se využitím přírodních látek s ohledem na bakteriální rezistenci, především na rezistenci bakteriálních patogenů vyskytujících se na povrchových infekcích kůže člověka a zvířat. V současné době je bakteriální rezistence závažným problémem moderní medicíny, proto je důležité dbát na uvážlivost v předepisování antimikrobiálních přípravků a v ideálním případě provádět klinické testy citlivosti patogenních bakterií na dané třídy antibiotik. Používání antibiotických preparátů v humánní a veterinární medicíně přispívá k navýšení počtu rezistentních kmenů bakterií a v některých případech k razantnímu úbytku účinných látek. Spolu s narůstající rezistencí poroste v budoucnu potřeba alternativních látek, z tohoto důvodu by měla být věnována větší pozornost novým potenciálním zdrojům. Slibným zdrojem antimikrobiálních látek jsou látky přírodního charakteru. Dosavadní studie přírodních látek rostlinného, živočišného a bakteriálního původu a látek odvozených od hub a řas nabízí nepřehledné množství potenciálně využitelných látek v oblasti humánní i veterinární medicíny. Tato oblast soustřeďuje obrovské množství doposud neprozkoumaných látek, které by mohly značně eliminovat bakteriální rezistenci. Látky využitelné v tomto kontextu by však měly být podrobně prozkoumány z hlediska případného toxického vlivu na lidi a zvířata, nikoliv pouze z hlediska účinnosti v otázce bakteriální rezistence.

5 Seznam literatury

- Aarestrup FM, Hasman H, Jensen LB, Moreno M, Herrero IA, Dominguez L, Finn M, Franklin A. 2002. Antimicrobial Resistance among Enterococci from Pigs in Three European Countries. *Applied and Environmental Microbiology* **68**(8): 4127–4129.
- Alcaráz LE, Blanco SE, Puig ON, Tomás F, Ferreti FH. 2000. Antibacterial Activity of Flavonoids Against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Journal of Theoretical Biology* **205**(2): 231-240.
- Allen HK, Trachsel J, Looft T, Casey TA. 2014. Finding alternatives to antibiotics. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1323**(1): 91-100.
- Al-zoreky NS. 2009. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum L.*) fruit peels. *International Journal of Food Microbiology* **134**(3): 244-248.
- Arqués JL, Fernández J, Gaya P, Nuñez M, Rodríguez E, Medina M. 2004. Antimicrobial activity of reuterin in combination with nisin against food-borne pathogens. *International Journal of Food Microbiology* **95**(2): 225-229.
- Bahar A, Ren D. 2013. Antimicrobial Peptides. *Pharmaceuticals* **6**(12): 1543-1575.
- Bassetti M, Manno G, Collidà A, Ferrando A, Gatti G, Ugolotti E, Cruciani M, Bassetti D, 2000. Erythromycin Resistance in *Streptococcus pyogenes* in Italy. *Emerging Infectious Diseases* **6**(2): 180-183.
- Becker B, Cooper MA. 2013. Aminoglycoside Antibiotics in the 21st Century. *ACS Chemical Biology* **8**(1): 105-115.
- Bellapianta JM, Ljungquist K, Tobin E, Uhl R. 2009. Necrotizing Fasciitis. *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons. American Academy of Orthopaedic Surgeons* **17**(3): 174-182.
- Bemena LD, Mohamed LA, Fernandes AM, Leel BH. 2014. Applications of bacteriocins in food, livestock health and medicine. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* **3**(12): 924-949.
- Bernard K. 2012. The Genus *Corynebacterium* and Other Medically Relevant Coryneform-Like Bacteria. *Journal of Clinical Microbiology* **50**(10): 3152-3158.
- Beutler B. 2004. Innate immunity: an overview. *Molecular Immunology*: **40**(12): 845-859.

Bhagavathy S, Sumathi P, Bell IJS. 2011. Green algae *Chlorococcum humicola*-a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* **1**(1): S1-S7.

Blaise G, Nikkels AF, Hermanns-Lê T, Nikkels-Tassoudji N a Piérard GE. 2008. Corynebacterium-associated skin infections. *International Journal of Dermatology* (47): 884–890.

Bonilla FA, Oettgen HC. 2010. Adaptive immunity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **125**(2): S33-S40.

Bratcher DF. 2018. Other Corynebacteria. Pages 778-781 in Long SS, Fischer M a Prober CG. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*, 5th Edition. Elsevier.

Brizzi A. 1993. Bovine Digital Dermatitis. *The Bovine Practitioner* (27): 33-37.

Butaye P, Devriese LA, Haesebrouck F. 2001. Differences in Antibiotic Resistance Patterns of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* Strains Isolated from Farm and Pet Animals. *Antimicrobial agents and Chemotherapy* **45**(5): 1374–1378.

Byrd AL, Belkaid Y, Segre J. 2018. The human skin microbiome. *Nat Rev Microbiol* **16**: 143–155.

Cazanave C, Greenwood-quaintance KE, Hanssen AD, Patel R. 2012. Corynebacterium Prosthetic Joint Infection. *Journal of Clinical Microbiology* **50**(5): 1518-1523.

Chavakis T, Preissner KT a Herrmann M. 2007. The anti-inflammatory activities of *Staphylococcus aureus*. *Trends in Immunology* **28**(9): 408-418.

Cisowska A, Wojnicz D, Hendrich AB. 2011. Anthocyanins as Antimicrobial Agents of Natural Plant Origin. *Natural Product Communications* **6**(1): 149-156.

Clardy J, Fischbach MA, Walsh CT. 2006. New antibiotics from bacterial natural products. *Nature Biotechnology* **24**(12): 1541-1550.

Codjoe FS, Donkor ES. 2018. Carbapenem Resistance: A Review. *Medical Sciences* **6**(1): 1-3.

Cueva C, Moreno-Arribas MV, Martín-Álvarez PJ, Bills G, Vicente MF, Basilio A, Rivas CL, Requena T, Rodríguez JM, Bartolomé B. 2010. Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Research in Microbiology* **161**(5), 372-382.

Čekanová L, Kolář M. 2007. Vývoj rezistence komunitních respiračních patogenů k antimikrobiálním přípravkům v Olomouckém regionu. *Interní medicína pro praxi* **9**(9): 405-407.

De León ME, Zumbado-Ulate H, García-Rodríguez A, Alvarado G, Sulaeman H, Bolaños F, Vredenburg VT. 2019. *Batrachochytrium dendrobatidis* infection in amphibians predates first known epizootic in Costa Rica. PLOS ONE **14**(12): 1-2.

De Souza Mendes CD, De Souza Antunes AM. 2013. Pipeline of Known Chemical Classes of Antibiotics. Antibiotics **2**(4): 500-534.

Devriese LA, Nzuambe D, Godard C. 1985. Identification and characteristics of staphylococci isolated from lesions and normal skin of horse. Veterinary Microbiology **10**(3): 269--277.

Dillard CJ, German JB. 2000. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. Journal of the Science of Food and Agriculture **80**(12): 1744-1756.

Ebell MH, Radke T. 2015. Antibiotic Use for Viral Acute Respiratory Tract Infections Remains Common. The American Journal of Managed Care **21**(10): e567-e575.

Edlich RF, Cross CL, Dahlstrom JJ, Long WB. 2010. Modern Concepts of the Diagnosis and Treatment of Necrotizing Fasciitis. The Journal of Emergency Medicine **39**(2): 261-265.

Eom SH, Kim YM a Kim SK. 2012. Antimicrobial effect of phlorotannins from marine brown algae. Food and Chemical Toxicology (9): 3251-3255.

European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), European Food Safety Authority (EFSA) and European Medicines Agency (EMA). 2017. ECDC/EFSA/EMA second joint report on the integrated analysis of the consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals. EFSA Journal **15**(7): 30-34.

European Medicines Agency. 2019. Categorisation of antibiotics in the European Union. Netherlands. EMA/CVMP/CHMP/682198/2017.

European Medicines Agency. 2020. Categorisation of antibiotics used in animals promotes responsible use to protect public and animal health. Netherlands. EMA/688114/2020.

Evropská Unie. 2019. Usnesení Evropského parlamentu ze dne 13. září 2018 o Evropském akčním plánu „Jedno zdraví“ proti antimikrobiální rezistenci (AMR) (2017/2254(INI)). Úřední věstník Evropské unie **62**: C 433/172.

European Union. 2015. Guidelines for the prudent use of antimicrobials in veterinary medicine. Official Journal of the European Union (58): 11-12.

Feher M, Schmidt JM. 2003. Property Distributions: Differences between Drugs, Natural Products, and Molecules from Combinatorial Chemistry. Journal of Chemical Information and Computer Sciences **43**(1): 218-227.

Feingold KR. 2009. The outer frontier: the importance of lipid metabolism in the skin. *Journal of Lipid Research* **50**: S417-S422.

Fiedler A. 2019. Digitální dermatitida: Akutní stadium onemocnění. Agropress.cz. Česká republika. Available from <https://www.agropress.cz/system-pece-o-paznehty-v-chovech-skotu-2-dil-onemocneni-kuze-prstu-a-meziprsti-paznehtu/>

Forslind B, Engström S, Engblom J, Norlén L. 1997. Novel approach to the understanding of human skin barrier function. *Journal of Dermatological Science* **14**(2): 115-125.

Friedman M, Henika PR, Levin CE. 2013. Bactericidal Activities of Health-Promoting, Food-Derived Powders Against the Foodborne Pathogens *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Food Science* **78**(2): M270-M275.

Gallo RL, Hooper LV. 2012. Epithelial antimicrobial defence of the skin and intestine. *Nat. Rev. Immunol.* **12**(7): 503–516.

Gao Z, Tseng CH, Pei Z, Blaser MJ. 2007. Molecular analysis of human forearm superficial skin bacterial biota. *PNAS. National Academy of Sciences* **104**(8): 2927-2932.

Gera K, McIver KS. 2013. Laboratory Growth and Maintenance of *Streptococcus pyogenes* (The Group A Streptococcus, GAS). *Current Protocols in Microbiology* **30**(1): 9D.2.1.

Gochev V, Dobрева A, Girova T, Stoyanova A. 2014. Antimicrobial Activity of Essential Oil from *Rosa Alba*. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* **24**(sup1): 512-515.

Gomes BC, Esteves CT, Palazzo ICV, Darini ALC, Felis GE, Sechi LA, Franco BDGM, De Martinis ECP. 2008. Prevalence and characterization of *Enterococcus* spp. isolated from Brazilian foods. *Food Microbiology* **25**(5): 668-675.

Goncagul G, Ayaz E. 2010. Antimicrobial Effect of Garlic (*Allium sativum*). *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery* **5**(1): 91-93.

Gong HS, Meng XC, Wang H. 2010. Plantaricin MG active against Gram-negative bacteria produced by *Lactobacillus plantarum* KLDS1.0391 isolated from “Jiaoke”, a traditional fermented cream from China. *Food Control* **21**(1): 89-96.

Gordillo Altamirano FL, Barr JJ. 2019. Phage Therapy in the Postantibiotic Era. *Clinical Microbiology Reviews* **32**(2): 1-18.

Grandolfo E. 2018. Looking through *Staphylococcus pseudintermedius* infections: Could SpA be considered a possible vaccine target? *Virulence* **9**(1): 703–706.

- Gray JW, Pedler SJ. 1992. Antibiotic-resistant enterococci. *Journal of Hospital Infection* **21**(1): 1-14 .
- Grice EA, Segre JA. 2011. The skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology* **9**(4): 244-253. ISSN 1740-1526.
- Griffin SH, Wyllie SG, Markham JL. 2005. Antimicrobially Active Terpenes Cause K Leakage in *E. coli* Cells. *Journal of Essential Oil Research* **17**(6): 686-690.
- Gupta A, Halve AK. 2015. β -lactams: A mini review of their biological activity. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* **6**(3): 978-987.
- Gyawali R, Ibrahim SA. 2014. Natural products as antimicrobial agents. *Food Control* (46): 412-429.
- Haight TH, Finland M. 1952. Resistance of Bacteria to Erythromycin. *Experimental Biology and Medicine* **81**(1): 183-188.
- Hannuksela M, Pirilä V, Salo OP. 1975. Skin reactions to propylene glycol. *Contact Dermatitis* **1**(2): 112-116.
- Hartman-Adams H, Banvard C, Juckett G. 2014. Impetigo: diagnosis and treatment. *Am Fam Physician* **90**(4): 229-235.
- Hyde AJ, Parisot J, McNichol A, Bonev BB. 2006. Nisin-induced changes in *Bacillus* morphology suggest a paradigm of antibiotic action. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **103**(52): 19896-19901.
- Jakubczyk D, Dussart F. 2020. Selected Fungal Natural Products with Antimicrobial Properties. *Molecules* **25**(4): 1-12.
- Jollès P, Jollès J. 1984. What's new in lysozyme research? *Molecular and Cellular Biochemistry* **63**(2): 165-189.
- Jovtchev G, StankoV A, Georgieva A, Dobрева A, Bakalova R, Aoki I, Mileva M. 2018. Cytotoxic and genotoxic potential of Bulgarian *Rosa alba L.* essential oil – in vitro model study. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* **32**(2): 513-519.
- Kalpana S, Kandeepan G, Muthukumar M, Reddy PB. 2017. Technical brochure on Antimicrobials of veterinary importance-Classification and mode of action. ICAR-NATIONAL RESEARCH CENTRE ON MEAT. Hyderabad: National Livestock Mission, 1-2. Available from <http://krishi.icar.gov.in/jspui/handle/123456789/27262>

Kong HH, Segre JA. 2012. Skin Microbiome: Looking Back to Move Forward **132**(3): 933-939.

Korhonen HJ, Rokka S. 2011. Properties and Applications of Antimicrobial Proteins and Peptides from Milk and Eggs. Pages 49-81 in Hettiarachchy NS, Marshall MR, Sato K, Kannan A, editors. Bioactive Food Proteins and Peptides. CRC Press, Taylor & Francis Group, England.

Kitzberger CSG, Smânia A, Pedrosa RC, Ferreira SRS. 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of shiitake (*Lentinula edodes*) extracts obtained by organic solvents and supercritical fluids. *Journal of Food Engineering* **80**(2): 631-638.

Lai PK, Roy J. 2004. Antimicrobial and Chemopreventive Properties of Herbs and Spices. *Current Medicinal Chemistry* **11**(11): 1451-1460.

Lampe MA, Burlingame AL, Whitney J, Williams ML, Brown BE, Roitman E, Elias PM. 1983. Human stratum corneum lipids: characterization and regional variations. *Journal of Lipid Research* **24**(2): 120-130.

LeBlanc DJ, Inamine JM, Lee LN. 1986. Broad geographical distribution of homologous erythromycin, kanamycin, and streptomycin resistance determinants among group D streptococci of human and animal origin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **29**(4): 549-555.

Lee AS, De Lencastre H, Garau J, Kluytmans J, Malhotra-Kumar S, Peschel A, Harbarth S. 2018. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nature Reviews Disease Primers* **4**(1): 1-2.

Legrand D, Elass E, Carpentier M, Mazurier J. 2005. Lactoferrin. *Cellular and Molecular Life Sciences* **62**: 2549-2550.

Leleu S, Herman L, Heyndrickx M, De Reu K, Michiels CW, De Baerdemaeker J, Messens W. 2011. Effects on Salmonella shell contamination and trans-shell penetration of coating hens' eggs with chitosan. *International Journal of Food Microbiology* **145**(1): 43-48.

Lochmannová J, Kolář M, Urbánek K, Koukalová D. 2004. Antibiotická léčba bakteriálních infekcí z pohledu klinika, mikrobiologa a farmakologa. *Interní medicína pro praktické lékaře* **6**(1): 15-20.

Lockwood LL, Gehrke S, Navarini AA. 2010. Dermoscopy of Pitted Keratolysis. *Case Reports in Dermatology* **2**(2): 146-148.

Lovečková Y. 2012. Antibiotika v dermatologii z pohledu mikrobiologa. *Dermatologie pro praxi* **6**(2), 74-76.

- Lowy FD. 1998. *Staphylococcus aureus* Infections. *New England Journal of Medicine* **339**(8): 520-532.
- Lönnerdal B. 2011. Biological Effects of Novel Bovine Milk Fractions. *Milk and Milk Products in Human Nutrition* **67**: 41-54.
- Luca-Harari B et al. 2009. Clinical and Microbiological Characteristics of Severe *Streptococcus pyogenes* Disease in Europe. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY* **47**(4): 1155–1165.
- Luelmo-Aguilar J, Santandreu MS. 2004. Folliculitis. *American Journal of Clinical Dermatology* **5**(5): 301-310.
- MAGIORAKOS AP et al. 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection* **18**(3): 268-281.
- Manage PM. 2018. Heavy use of antibiotics in aquaculture: Emerging human and animal health problems – A review. *Sri Lanka Journal of Aquatic Sciences* **23**(1): 13-27.
- Marsella R, De Benedetto A. 2017. Atopic Dermatitis in Animals and People: An Update and Comparative Review. *Veterinary Sciences* **4**(3): 1-4.
- McBride SM, Fischetti VA, LeBlanc DJ, Moellering RC, Gilmore MS. 2007. Genetic Diversity among *Enterococcus faecalis*. *PLOS ONE* **2**(7): 1-19.
- Menon GK. 2002. New insights into skin structure: scratching the surface. *Advanced Drug Delivery Reviews* **54**: S3-S17.
- Mokoena MP. 2017. Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens. *Molecules* **22**(8). ISSN 1420-3049.
- Monnappa AK, BarI W, Choi SY, Mitchell RJ. 2016. Investigating the Responses of Human Epithelial Cells to Predatory Bacteria. *Scientific Reports* **6**(1): 1-10.
- Montagna W. 1974. *The Structure and Function of Skin*. Third edition. Academic Press, United States of America. Page 448.
- Morandi S, Brasca M, Alfieri P, Lodi R, Tamburini A. 2005. Influence of pH and temperature on the growth of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. *Le Lait* **85**(3): 181-192.
- Morgan JAT et al. 2007. Population genetics of the frog-killing fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104**(34): 13845-13850.

Muaz K, Riaz M, Akhtar S, Park S, Ismail A. 2018. Antibiotic Residues in Chicken Meat: Global Prevalence, Threats, and Decontamination Strategies. *Journal of Food Protection* **81**(4): 619-627.

Mueller RS, Bergvall K, Bensignor E, Bond R. 2012. A review of topical therapy for skin infections with bacteria and yeast. *Veterinary Dermatology*: 330-338.

Munita JM a Arias CA. 2016. Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology Spectrum* **4**(2): 1-21.

Musser JM, Hauser AR, Kim MH, Schlievert PM, Nelson K, Selander RK. 1991. *Streptococcus pyogenes* causing toxic-shock-like syndrome and other invasive diseases: clonal diversity and pyrogenic exotoxin expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **88**(7): 2668-2672.

Oh S, Kim SH, Worobo RW. 2000. Characterization and Purification of a Bacteriocin Produced by a Potential Probiotic Culture, *Lactobacillus acidophilus* 30SC. *Journal of Dairy Science* **83**(12): 2747-2752.

O'Regan GM, Sandilands A, WH McLean I, Irvine AD. 2008. Filaggrin in atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **122**(4): 689-693.

Öztürk M, Duru ME, Kivrak S, Mercan-Doğan N, Türkoglu A, Özler MA. 2011. In vitro antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activity studies on three *Agaricus* species with fatty acid compositions and iron contents: A comparative study on the three most edible mushrooms. *Food and Chemical Toxicology* **49**(6): 1353-1360.

Pankey JW, Nickerson SC, Boddie RL, Hogan JS. 1985. Effects of *Corynebacterium bovis* Infection on Susceptibility to Major Mastitis Pathogens. *Journal of Dairy Science* **68**(10): 2684-2693.

Pantůček R. 2007. Bakterie *Staphylococcus* jako častý zdroj nebezpečí pro člověka. *Universitas* (2): 17-29.

Passàli D, Lauriello M, Passàli GC, Passàli FM, Bellussi L. 2007. Group A *Streptococcus* and its antibiotic resistance. *ACTA otorhinolaryngologica ita lica* **27**(1): 27-32.

Påhlman L. 2007. On the induction of inflammatory reactions by *Streptococcus pyogenes* [Doctoral Thesis]. Lund University, Lund.

Peterson E, Kaur P. 2018. Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria: Relationships Between Resistance Determinants of Antibiotic Producers, Environmental Bacteria, and Clinical Pathogens. *Frontiers in Microbiology* (9): 1-15.

Peton V, Le Loir Y. 2014. *Staphylococcus aureus* in veterinary medicine. *Infection, Genetics and Evolution* **21**: 602-615.

Profipress.cz. 2014. Mastitida – strašák ve výrobě mléka: dojený skot. *Náš chov: Odborný časopis pro chovatele hospodářských zvířat a veterinární lékaře* (10): 22-23.

Raff AB, Kroshinsky D. 2016. Cellulitis. *JAMA* **316**(3): 325-337.

Robards K, 2003. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. *Journal of Chromatography A* **1000**(1-2): 657-691.

Rodrigues Hoffmann A et al. 2014. The Skin Microbiome in Healthy and Allergic Dogs. *PLoS ONE* **9**(1): 1-11.

Rodrigues Hoffmann A. 2017. The cutaneous ecosystem: the roles of the skinmicrobiome in health and its association withinflammatory skin conditions in humans and animals. Pages 71-83 in Torres SMF a Roudebush P, editors. *Advances in Veterinary Dermatology: Proceedings of the Eighth World Congress of Veterinary Dermatology Volume 8*. Wiley Blackwell. Bordeaux, France.

Ross AA, Rodrigues Hoffmann A, Neufeld JD. 2019. The skin microbiome of vertebrates. *Microbiome* **7**(1): 1-5.

Ryan DM. 1993. Pharmacokinetics of antibiotics in natural and experimental superficial compartments in animals and humans. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **31**(suppl D): 1-16.

Sagdic O, Ozturk I, Yilmaz MT, Yetim H. 2011. Effect of Grape Pomace Extracts Obtained from Different Grape Varieties on Microbial Quality of Beef Patty. *Journal of Food Science* **76**(7): M515-M521.

Salim G, Zahra MF. 2014. Trichobacteriosis: contribution of dermoscopy. *Dermatology Online Journal* **20**(9): 1-3.

Savoia D. 2012. Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics. *Future Microbiology* **7**(8): 979-990.

Shanmughapriya S, Manilal A, Sujith S, Selvin J, Kiran GS, Natarajaseenivasan K. 2008. Antimicrobial activity of seaweeds extracts against multiresistant pathogens. *Annals of Microbiology* **58**(3): 535-541.

Shokri D, Zaghian S, Khodabakhsh F, Fazeli H, Mobasherizadeh S, Ataei B. 2014. Antimicrobial activity of a UV-stable bacteriocin-like inhibitory substance (BLIS) produced by

Enterococcus faecium strain DSH20 against vancomycin-resistant Enterococcus (VRE) strains. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* **47**(5): 371-376.

Singh SB, Herath KB, Wang J, Tsou N, Ball RG. 2007. Chemistry of platensimycin. *Tetrahedron Letters* **48**(31): 5429-5433.

Soriano F, Zapardiel J, Nieto E. 1995. Antimicrobial Susceptibilities of Corynebacterium Species and Other Non-Spore-Forming Gram-Positive Bacilli to 18 Antimicrobial Agents. *Antimicrobial agents and Chemotherapy* **39**(1): 208-214.

Simões M, Bennett RN, Rosa EAS. 2009. Understanding antimicrobial activities of phytochemicals against multidrug resistant bacteria and biofilms. *Natural Product Reports* **26**(6): 746-757.

Státní ústav pro kontrolu léčiv. 2020. Státní ústav pro kontrolu léčiv: Spotřeby antibiotik v České republice v letech 2008-2018 - 2. část, 2020. FARMAKOTERAPEUTICKÉ INFORMACE: Měsíčník pro lékaře a farmaceuty (2): 1-2.

Stevens DL. 1995. Streptococcal Toxic-Shock Syndrome: Spectrum of Disease, Pathogenesis, and New Concepts in Treatment. *Emerging Infectious Diseases* **1**(3): 69-78.

Stiborová H, Bačáková A, Musilová L, Demnerová K. 2018. Od přirozeného fenoménu výskytu genů rezistence k antibiotikům v životním prostředí ke vzniku multirezistentních kmenů. *Chemické listy* **112**(12): 833-839.

Sutcliffe J, Tait-Kamradt A, Wondrack L. 1996. *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* resistant to macrolides but sensitive to clindamycin: a common resistance pattern mediated by an efflux system. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **40**(8): 1817-1824.

Stulberg DL, Penrod MA, Blatny RA, July 1. 2002. Common Bacterial Skin Infections **66**(1): 119-125.

Švec P, Devriese LA. 2015. Enterococcus. In Whitman WB et al., editors. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. John Wiley & Sons, Inc., in association with Bergey's Manual Trust. Available from <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00600>

Taylor TA, Unakal CG. 2021. *Staphylococcus aureus*. Statpearls publishing, Treasure Island (FL). Available from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/#_NBK441868_pubdet_

Tiwari BK, Valdramidis VP, Donnell CPO', Muthukumarappan K, Bourke P, Cullen PJ. 2009. Application of Natural Antimicrobials for Food Preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**(14): 5987-6000.

- Todd PA, Benfield P. 1990. Amoxicillin/Clavulanic Acid. *Drugs* **39**(2): 264-307.
- Tristan A, Ferry T, Durand G, Dauwalder O, Bes M, Lina G, Vandenesch F, Etienne J. 2007. Virulence determinants in community and hospital meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Hospital Infection* **65**: 105-109.
- Turk BG, Turkmen M, Aytimur D. 2011. Antibiotic susceptibility of *Corynebacterium minutissimum* isolated from lesions of Turkish patients with erythrasma. *Journal of the American Academy of Dermatology* **65**(6): 1230-1231.
- Turkoglu A, Duru ME, Mercan N, Kivrak I, Gezer K. 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. *Food Chemistry* **101**(1): 267-273.
- Turvey SE, Broide DH. 2010. Innate immunity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **125**(2): S24 - S32.
- Vágnerová I, Kolář M. 2003. Možnosti terapie infekcí způsobených vankomycin-rezistentními enterokoky. PŘEHLEDOVÉ ČLÁNKY FARMAKOTERAPIE **17**(3): 170-173.
- Viana D, Selva L, Segura P, Penadés JR, Corpa JM. 2007. Genotypic characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from rabbit lesions. *Veterinary Microbiology* **121**(3-4): 288-298.
- Vila J, Juiz P, Salas C, Almela M, De La Fuente CG, Zboromyrska Y, Navas J. 2012. Identification of Clinically Relevant *Corynebacterium* spp., *Arcanobacterium haemolyticum*, and *Rhodococcus equi* by Matrix- Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology* **50**(5): 1745-1747.
- Watts JL, Lowery DE, Teel JF, Rossbach S. 2000. Identification of *Corynebacterium bovis* and other Coryneforms Isolated from Bovine Mammary Glands. *Journal of Dairy Science* **83**(10): 2373-2379.
- Walsh SR, Ferraro MJ, Durand ML. 2004. Clindamycin-resistant *Streptococcus pyogenes*: report of a case. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* **49**(3): 223-225.
- Williams HC. 2005. Atopic Dermatitis. *New England Journal of Medicine* **352**(22): 2314-2324.
- Wolfson LM, Sumner SS. 1993. Antibacterial Activity of the Lactoperoxidase System: A Review. *Journal of Food Protection* **56**(10): 887-892.
- Wong SSY, Yuen KY. 2019. *Streptococcus pyogenes* and re-emergence of scarlet fever as a public health problem **1**(1): 1-10.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2014. Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance. Geneva Switzerland. Page 257.

Wright GD, Berghuis AM, Mobashery S. 1998. Aminoglycoside Antibiotics. Pages 27-69 in Rosen BP a Mobashery S, editors. Resolving the Antibiotic Paradox. Springer, Boston.

WRIGHT GD. 2019. Unlocking the potential of natural products in drug discovery. *Microbial Biotechnology* **12**(1): 55-57.

Yang F, Zhang S, Shang X, Wang X, Yan Z, Li H, Li J. 2019. Short communication: Antimicrobial resistance and virulence genes of *Enterococcus faecalis* isolated from subclinical bovine mastitis cases in China. *Journal of Dairy Science* **102**(1): 140-144.

Yang TX, Chou CC, Li CF. 2005. Antibacterial activity of N-alkylated disaccharide chitosan derivatives. *International Journal of Food Microbiology* **97**(3): 237-245.

Zhang D, Tang Z, Liu W. 2018. Biosynthesis of Lincosamide Antibiotics: Reactions Associated with Degradation and Detoxification Pathways Play a Constructive Role. *Accounts of Chemical Research* **51**(6): 1496-1506.

Zheng D, Liwinski, Elinav E. 2020. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Research* **30**: 492-506.

Zoysa AD, Efstratiou A. 2006. *Corynebacterium* spp. Pages 115-125 in Gillespie SH a Hawkey PM, editors. Principles and Practice of Clinical Bacteriology, Second edition. John Wiley, England.

6 Seznam příloh

Obrázky

Obrázek 1: Erysipel (Stulberg et al., 2002)	7
Obrázek 2: Folikulitida (Stulberg et al., 2002)	7
Obrázek 3: Digitální dermatitida skotu (Andrea Fiedler, 2019)	9
Obrázek 4: Mastitida krav (Náš chov, 2014)	16
Obrázek 5: Horizontální genetický přenos (Pathmalal M. Manage, 2018; upraveno)	23

Grafy

Graf 1: ECDC/EFSA/EMA druhá společná zpráva o integrované analýze spotřeby antimikrobiálních látek a výskytu antimikrobiální rezistence bakterií u lidí a zvířat určených k produkci potravin, 2017	20
---	----