

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2025

Pavína Škárková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Role biofilmu v infekcích horních cest dýchacích
Bakalářská práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Pavína Škárková**
Osobní číslo: **C22249**
Studijní program: **B0914P360019 Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví**
Téma práce: **Role biofilmu v infekcích horních cest dýchacích**
Téma práce anglicky: **The Role of Biofilm in Upper Respiratory Tract Infections**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Seznamte se s literárními prameny v dané oblasti a vypracujte rešerši na zadané téma. V úvodu práce se věnujte popisu soustavy horních cest dýchacích.
2. Zpracujte rešerši o mikrobiálních agens podílejících se na infekcích horních cest dýchacích.
3. Definujte mikrobiální biofilm a jeho roli při vzniku a perzistenci infekcí horních cest dýchacích.
4. Bakalářskou práci zpracujte v souladu se Směnicí č. 7/2019 Univerzity Pardubice "Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací".

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. David Šilha, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2024**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2025**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

prof. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2025

Prohlašuji:

Práci s názvem Role biofilmu v infekcích horních cest dýchacích jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 01. 07. 2025

Pavλίna Škárková v.r.

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych touto cestou poděkovala všem, kteří mě během mého studia a během psaní mé bakalářské práce podporovali.

Na prvním místě děkuji své rodině za jejich trpělivost, povzbuzení a stálou podporu nejen během studia, ale po celý můj život. Velké díky patří mému příteli za jeho pochopení, motivaci a psychickou oporu i v nejnáročnějších chvílích.

Zvlášť chci poděkovat vedoucímu mé bakalářské práce **doc. Ing. Davidu Šilhovi, Ph.D.** za jeho ochotu, trpělivost a odborné vedení, které mi pomohlo práci úspěšně dokončit.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zabývá problematikou biofilmů v souvislosti s infekcemi horních cest dýchacích. Úvodní část je věnována popisu anatomie a funkce horních cest dýchacích. Následuje charakteristika biofilmu jako specifické formy existence mikroorganismů, včetně jeho vzniku, vlastností i role v patogenezi. Zmíněné jsou i možnosti detekce biofilmu. Práce se věnuje také nejčastějším bakteriálním původcům infekcí horních cest dýchacích a onemocněním, která vyvolávají. Část textu je věnována prevenci onemocnění horních cest dýchacích. V závěru je rozebrána antibiotická terapie a další moderní terapeutické přístupy k eradikaci biofilmu.

KLÍČOVÁ SLOVA

Horní cesty dýchací, patogen, biofilm, antibiotika, léčba, prevence

TITLE

The Role of Biofilm in Upper Respiratory Tract Infections

ANNOTATION

This bachelor's thesis addresses the issue of biofilms in relation to infections of the upper respiratory tract. The introductory part focuses on the anatomy and function of the upper respiratory tract. It is followed by a characterization of biofilm as a specific form of microbial existence, including its formation, properties, and role in pathogenesis. The thesis also outlines the methods of biofilm detection. It further deals with the most common bacterial pathogens responsible for upper respiratory tract infections and the prevention of these infections. The final section discusses antibiotic therapy and other modern treatment approaches aimed at biofilm eradication.

KEYWORDS

Upper respiratory tract, pathogen, biofilm, antibiotics, treatment, prevention

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK.....	10
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	11
TERMINOLOGIE	12
ÚVOD	13
1. HORNÍ CESTY DÝCHACÍ.....	14
1.1. Nosní dutina a vedlejší nosní dutiny.....	16
1.2. Hltan.....	17
2. BAKTERIÁLNÍ BIOFILM	19
2.1. Proces tvorby a vlastnosti biofilmů	20
2.2. <i>Quorum sensing</i>	21
2.3. Lokalizace biofilmů	22
2.4. Metody detekce biofilmu	23
3. INFEKCE HORNÍCH CEST DÝCHACÍCH.....	25
3.1. Nejčastější bakteriální původci.....	25
3.1.1. <i>Streptococcus pyogenes</i>	26
3.1.2. <i>Haemophilus influenzae</i>	27
3.1.3. <i>Moraxella catarrhalis</i>	28
3.1.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	29
3.2. Nejčastější druhy infekcí	30
3.2.1. Faryngitida	30
3.2.2. Rinosinitida	31
3.2.3. Laryngitida.....	33
3.2.4. Akutní a chronický zánět středního ucha.....	34
3.2.5. Tonsilitida	35
3.3. Prevence infekcí dýchacích cest	36
3.3.1 Nekonvenční přístupy k prevenci	37
4. ANTIMIKROBIÁLNÍ A ANTIBIOFILMOVÁ TERAPIE.....	39
4.1. Antibiotika	39
4.1.1. Mechanismy působení antibiotik.....	40

4.1.2. Rezistence k antibiotikům.....	41
4.1.3. Zachování účinnosti antibiotik.....	43
4.2. Antimikrobiální peptidy.....	44
4.3. Nanotechnologie	44
4.4. Bakteriofágy.....	45
4.5. Inhibitory <i>QS</i>	46
4.6. Inhibitory efluxních pump	46
4.7. Další možnosti inhibice biofilmu a léčby infekcí	47
ZÁVĚR	49
POUŽITÁ LITERATURA	50

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1. Dýchací soustava člověka	14
Obrázek 2. Mikrobiom jednotlivých částí horních cest dýchacích	15
Obrázek 3. Vedlejší nosní dutiny	16
Obrázek 8. Cyklus vývoje biofilmu.....	20
Obrázek 9. Zobrazení <i>S. aureus</i> pomocí SEM	24
Obrázek 4. <i>Streptococcus pyogenes</i> pozorovaný pomocí elektronové mikroskopie	26
Obrázek 5. <i>Haemophilus influenzae</i> tvořící biofilm.....	27
Obrázek 6. <i>Moraxella catarrhalis</i> (v zelené pseudobarvě) adherující k humánním tkáním...28	
Obrázek 7. Biofilm tvořený stafylokoky	29
Obrázek 10. Akutní streptokoková faryngitida u dospívajícího jedince	31
Obrázek 11. Hnisavý výtok z nosohltanu pacienta s recidivující akutní rinosinuitidou.....	31
Obrázek 12. Přítomnost biofilmu v paranazálních dutinách pacientů s chronickou rinosinuitidou	32
Obrázek 13. Laryngoskopický obraz chronické laryngitidy	33
Obrázek 14. Vyboulený bubínek u zánětu středního ucha	34
Obrázek 15. Dutina ústní pacienta s akutní tonsilitidou.....	36
Obrázek 16. Působení bakteriofágů na buňky v biofilmu	46
Obrázek 17. Biofilm tvořený bakteriemi <i>Enterococcus faecalis</i> a <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47
Tabulka 1. Druhy antibiotické rezistence	42

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

AI	Autoinduktory
AMP	Antimikrobiální peptidy
AOM	Akutní zánět středního ucha
CLSM	Konfokální laserová skenovací mikroskopie
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
ECM	Extracelulární matrix
EIS	Elektrochemická impedanční spektroskopie
FISH	Fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace
GAS	Streptokok skupiny A
<i>H.</i>	<i>Haemophilus</i>
HCD	Horní cesty dýchací
HIV	Virus lidské imunodeficiency
HVC	Virus hepatitidy C
CHOPN	Obstrukční plicní nemoc
<i>M.</i>	<i>Moraxella</i>
MIC	Minimální inhibiční koncentrace
MS	Hmotností spektrometrie
OM	Zánět středního ucha
PDT	Fotodynamická terapie
PTT	Fototermální terapie
<i>QS</i>	<i>Quorum sensing</i>
RNA	Ribonukleová kyselina
RS	Rinosinusitida
<i>S.</i>	<i>Staphylococcus</i>
SEM	Rastrovací elektronová mikroskopie
<i>Str.</i>	<i>Streptococcus</i>
TEM	Transmisní elektronová mikroskopie
WHO	Světová zdravotnická organizace

TERMINOLOGIE

Dormantní	V klidovém stavu
Edém	Otok
Epiglottitida	Zánět příklopky hrtanové
Eradikace	Úplné odstranění, vymýcení
Erytém	Začervenání
Exudát	Zánětlivý výpotek
Faryngitida	Zánět hltanu
Fenotyp	Soubor všech pozorovatelných znaků organismu
<i>In situ</i>	Na místě, v původní poloze
Komezální	Symbiotický s hostitelem
Kraniofaciální skelet	Kostra lebky a obličeje
Meningitida	Zánět mozkových blan
Morbidita	Nemocnost
Mortalita	Úmrtnost
Nika	Specifické prostředí
Otitida	Zánět středního ucha
Prevalence	Počet případů nemoci za určité období
Rinosinitida	Zánět sliznice nosu
Sinusitida	Zánět vedlejších dutin nosních
Sputum	Hlen, sekret dýchacích cest
Stridor	Patologický poslechový nález, slyšitelný bez fonendoskopu
Tonsilitida	Zánět krčních mandlí

ÚVOD

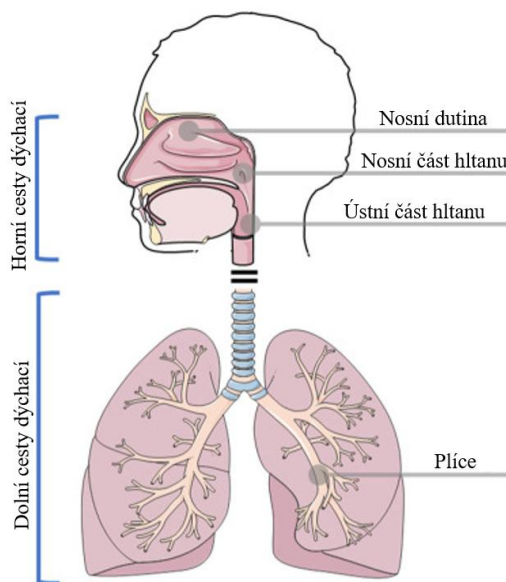
Záněty horních cest dýchacích způsobené bakteriální infekcí patří mezi nejčastější zdravotní potíže, se kterými se lidé potýkají. Často se jedná o infekce akutní a ve většině případů je terapie relativně krátká. Infekce horních cest dýchacích však mohou mít významný dopad na život pacienta. Problémem je hlavně častá recidiva a chronicita onemocnění. Bakteriální biofilmy hrají spolu s dalšími faktory hlavní roli v přetrvávání a opakování těchto infekcí.

Biofilm je struktura tvořená mikroorganismy adhezujícími k povrchu a obklopujícími se ochrannou vrstvou. Ochranná vrstva je chrání před nepříznivými vlivy okolí (např. před reakcemi imunitního systému hostitele, antimikrobiální léčbou, atp.). Díky těmto vlastnostem odolávají mikroorganismy běžným léčebným postupům a ztěžují léčbu chronických onemocnění. Tento typ infekce může vést k opakovaným zánětům, nevratnému poškození tkáně, a v neposlední řadě také k selekci rezistentních forem bakterií.

Cílem této práce je seznámit se s patogeny způsobující infekce horních cest dýchacích, a to zejména se zaměřením na mikroorganismy se schopností tvořit biofilmy. Záměrem této práce je prozkoumat mechanismy tvorby těchto biofilmů a zhodnotit jejich dopad na léčbu infekcí, včetně rezistence k antibiotikům. Součástí práce je také posouzení možností prevence těchto infekcí. Dále je zvážena možnost moderní léčby, která by mohla pomoci v boji proti chronickým infekcím, které jsou ovlivněny přítomností biofilmů.

1. HORNÍ CESTY DÝCHACÍ

Horní cesty dýchací (HCD) je společné označení pro oblast lidského těla zahrnující dutinu nosní (*cavitas nasi*) a na ni navazující nosohltan (*pars nasalis pharyngis*) (Čihák, 2013). Obrázek 1 znázorňuje rozdělní dýchací soustavy a jednotlivých částí.

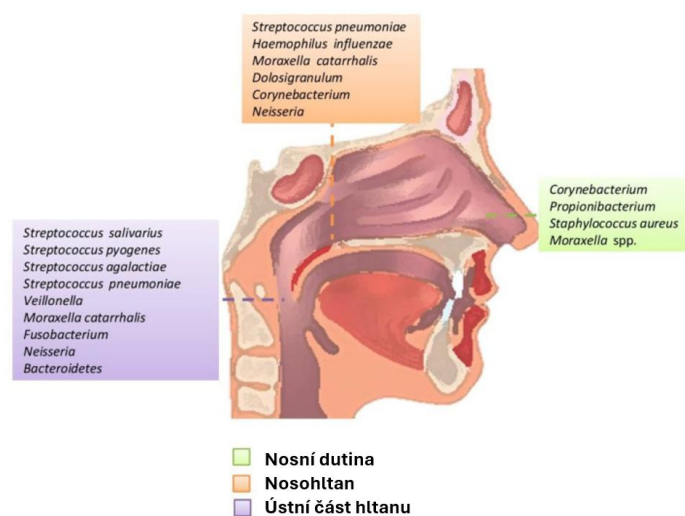


Obrázek 1. Dýchací soustava člověka (upraveno dle Cruz *et al.*, 2021)

Prenatálně vzniká systém dýchací (*systema respiratorium*) společně s ústrojím trávicím. Vznikem tvrdého a měkkého patra se rozdělí primitivní ústní dutina na vlastní dutinu ústní a na dutinu nosní (nad patrem), která začíná zevním nosem a nozdrami (nosními dírkami) a vzadu se otvírá choanami (vnitřními nozdrami) do nosohltanu (Čihák, 2013). Dýchací cesty jsou vystlány řasinkovým cylindrickým a kubickým epitelem s mucinózními buňkami (Kittnar, 2020). Horní cesty dýchací mají anatomickou hranici definovanou dalšími tkáněmi (kostními, chrupavčitými a měkkými). Jejich funkcí je dýchání, příjem potravy (žvýkání a deglutace), jakožto i řeč. Odtud pochází označení založené na funkci, a to „aerodigestivní a hlasový trakt“. HCD jsou první linií kontaktu lidského těla s okolním prostředím. Jejich úkolem je zejména průchod, úprava a ohřev dýchacích plynů dále pokračujících do dolních cest dýchacích. Dýchací plyny (kyslík a oxid uhličitý) hrají klíčovou roli v procesu buněčného dýchání a metabolismu. Kyslík je nezbytný pro uvolňování živin prostřednictvím oxidativní fosforylace, oxid uhličitý je vedlejším produktem tohoto procesu a musí být z těla vylučován. Tyto plyny se v těle přenášejí krví, kyslík ve vazbě na hemoglobin červených krvinek, zatímco oxid uhličitý je přenášen ve formě hydrogenuhličitanového iontu (Chuang *et al.*, 2022).

Dýchání je autonomní proces, který zahrnuje výměnu plynů s vnějším prostředím a je regulován nervovým systémem. Jelikož jsou ve vzduchu přítomny různé patogeny a znečišťující látky, které se s každým nádechem dostávají do dýchacího traktu, hrají HCD také klíčovou roli v obraně proti mikrobiálním patogenům (Chen *et al.*, 2024).

Důležitou roli v ochraně proti patogenům hraje symbióza komenzálních bakterií s hostitelem. Lidské tělo je ekosystém skládající se z různých anatomických mikroprostředí, jako jsou dýchací cesty, gastrointestinální trakt a kůže. Každá mikrobiální nika má specifické fyzikálně-chemické vlastnosti a je kolonizována specializovaným mikrobiomem. Nosní dutina, nosohltan, vedlejší nosní dutiny a orofarynx utvářejí specifická mikroprostředí v horních cestách dýchacích. Jsou neustále omývány proudem vzduchu z vnějšího prostředí a vystaveny atmosférickým faktorům (např. mění se vlhkost plynů, imunologické faktory, organické materiály, aj.). Nosní sliznice je prvotní obrannou linií proti vzdušným patogenům. Tyto a další sliznice jsou kolonizovány specializovanou rezidentní mikroflórou (Zeng a Liang, 2022). Na Obrázku 2 jsou uvedeny příklady typických kolonizátorů horních cest dýchacích.



Obrázek 2. Mikrobiom jednotlivých částí horních cest dýchacích (upraveno dle Santacroce *et al.*, 2020)

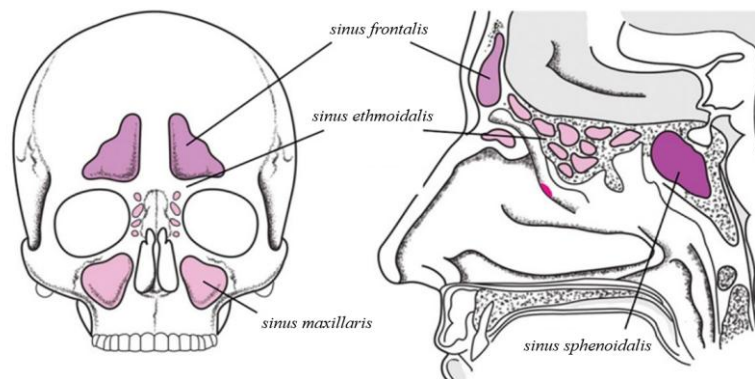
Evolučně se utvořila symbióza mezi hostitelem a kolonizujícími bakteriemi, která je nezbytná pro zdraví a imunitní obranu člověka. Lokální změny mění tuto symbiózu a vytvářející tak stav dysbiózy, vedou k různým onemocněním (např. respirační infekce, alergie a astma). Příčinou těchto onemocnění může být prvotní kolonizace, ta je ovlivněna především způsobem porodu (císařský řez, vaginální porod) (Santacroce *et al.*, 2020). U malých dětí je běžně pozorována nasofaryngeální kolonizace *Str. pneumoniae*. Avšak pneumokoková

kolonizace nosohltanu je u dospělých jedinců relativně vzácná (Miellet *et al.*, 2024). Stearns *et al.* (2015) uvedli, že v nosohltanu malých dětí dominuje malý počet bakteriálních skupin, které jsou však přítomny ve vysoké buněčné denzitě. Naopak u dospělých se nachází rozmanitější komunita bakterií ovšem v nižší buněčné denzitě.

1.1. Nosní dutina a vedlejší nosní dutiny

Nosní dutina je prostor ohraničený kostěnými výběžky horní čelisti, kostí čelní a čichovou a v malém rozsahu i nosními kůstkami (Dylevský, 2009). Je první částí horních cest dýchacích, kterou prochází vdechovaný vzduch. Její úlohou je produkce hlenu a vychytávání prachu a mikroorganismů. Primárním účelem nosu je ohřát, zvlhčit a filtrovat vzduch před jeho vstupem do plic (Greeley, 2017). Díky bohaté síti krevních cév v nosní sliznici se vzduch při průchodu ohřívá na tělesnou teplotu. Zároveň je také zvlhčován sekrety sliznice, což zajišťuje ochranu dolních cest dýchacích před podrážděním a vysušením. Tento proces je nezbytný pro správnou funkci plic a celý proces výměny plynů.

Nosní dutina obsahuje také oblast zprostředkovávající čich. S nosní dutinou jsou spojené vedlejší nosní dutiny. Největší dutina leží v horní čelisti (*sinus maxillaris*), menší pak v kosti čelní (*sinus frontalis*) a v kosti čichové a křídlaté (*sinus ethmoidalis*, *sinus sphenoidalis*) (Dylevský, 2009). Na Obrázku 3 je znázorněno umístění vedlejších nosních dutin.



Obrázek 3. Vedlejší nosní dutiny (upraveno dle Lee *et al.*, 2022)

Paranasální dutiny plní řadu funkcí. Především čistí, ohřívají a zvlhčují vdechovaný vzduch a vyrovnávají tlakový rozdíl při dýchání. Kromě toho chrání lebku před zraněním, protože vytvářejí prostory v kostech lebky. Během traumatu se poškozené lebeční kosti nejprve dostanou do sinusového prostoru. Kromě toho dutiny poskytují vrstvu tepelné izolace, prohřívají spodinu lebky a očníce a snižují hmotnost kraniofaciálního skeletu. Fungují také jako nárazník (rezonující prostor) chránící vnitřní ucho (Michalík a Krawczyk, 2024).

Důležitou součástí nosní dutiny a vedlejších nosních dutin je nosní mikrobiom. Ten se vyvíjí velmi rychle od narození do raného dětství. Některé komenzální bakterie (např. *Corynebacterium*, *Dolosigranulum*, aj.) jsou spojovány s žádoucím nosním mikrobiomem, protože hrají důležitou roli v ochraně dýchacího traktu (González-García *et al.*, 2024). Nos však kolonizuje také široká škála potenciálních patogenních bakterií. Bylo pozorováno, že mikrobiom předních nosních dutin je u zdravých jedinců kolonizován hlavně bakteriemi rodu *Actinobacteria*, *Firmicutes* a *Proteobacteria*, avšak součástí jsou i bakterie rodu *Staphylococcus* nebo *Moraxella*. *S. aureus* byl doposud identifikován jako bakteriální druh podílející se na rozvoji chronické rinosinuitidy (Aggarwal *et al.*, 2023).

1.2. Hltan

Hltan je dutá svalová trubice, která začíná u spodiny lebeční a pokračuje k dolnímu okraji kricoidní chrupavky a je nedílnou součástí aerodigestivního traktu. Slouží jako společná cesta pro vedení vzduchu, potravy a tekutin, spojující nosní a ústní dutinu s hrtanem a jícnem. Dělí se na tři hlavní oblasti, a to nasofarynx, orofarynx a hypofarynx (Rahim *et al.*, 2023). Nosohltan je část hltanu navazující na nosní dutinu. Obsahuje nosní tonsily (*tonsilla pharyngealis*), které vycytávají a ničí patogeny vdechnuté nosem a tím tvoří součást imunitního systému. Nosohltan se spojuje s dutinou ústní, konkrétně ústní částí nosohltanu (*pars oralis pharyngis*), a proto je možný průchod vzduchu i během dýchání ústy. Na nosohltan navazuje hltan spojující horní a dolní cesty dýchací. Obsahuje hlasivky vytvářející zvuk při vibracích. Hranicí mezi nosohltanem a ústní částí hltanu je měkké patro a čípek (*uvula*) (Dylevský, 2009). Nosohltan je stejně jako nosní dutina lemován řasinkovým, sloupcovým epitelem. Orofarynx umístěný bezprostředně za ústy je lemován nekeratinizovatelným vrstevnatým dlaždicovým epitelem (Lemon *et al.*, 2010).

Orofarynx je díky své poloze vystaven působení široké škály mikroorganismů endogenního i exogenního původu. Tyto mikroorganismy mohou být přenášeny do dolních cest dýchacích. Studie prokázaly, že nosohltan zdravého jedince je kolonizován zejména bakteriemi rodu *Streptococcus*, *Haemophilus* a *Neisseria*, mezi další často přítomné patří *Veillonella*, *Prevotella*, *Leptotricha* a *Fusobacterium* řadící se mezi Gram-negativní anaerobní bakterie (Santacroce *et al.*, 2020).

Dýchací trakt byl dlouho považován za sterilní, z velké části kvůli obtížnosti vykultivování bakterií z této oblasti. Mikroorganismy z vnějšího prostředí se však mohou dostat nejprve

do horního traktu (hltan a hrtan) a následně do dolního traktu (průdušnice) ústní nebo nosní cestou. Z tohoto důvodu můžeme kultivovat větší množství bakterií z oblasti horních cest dýchací ve srovnání s oblastí dolních cest dýchacích (Aggarwal *et al.*, 2023). Bakteriální společenstva hltanu tvoří mikroprostředí v okolí epitelálních buněk s důležitými interakcemi mezi nimi. Znalost složení a prevalence mikrobioty v hltanu jsou však stále nedostatečné (González-García *et al.*, 2024).

2. BAKTERIÁLNÍ BIOFILM

Biofilmy jsou společenství mikrobiálních buněk, zasazená do matrice extracelulárních polymerů a dalších biomolekul. Jedná se o složité trojrozměrné struktury, které mohou obsahovat různé mikrobiální druhy s různými genotypy. Biofilmy se dynamicky přizpůsobují prostředí a interagují mezi sebou a prostředím (Coenye *et al.*, 2024). Téměř všechny bakterie mohou vytvářet biofilmy (Zhao *et al.*, 2023). Bakteriální biofilmy jsou zásadním problémem v ohledu rezistence k antibiotikům, rezistence k imunitnímu obrannému systému hostitele a dalším vnějším vlivům. Biofilmy se běžně vyskytují v přírodním prostředí, v potravinářském průmyslu i na tkáních lidského těla. Mohou se však vyskytovat i na površích různých materiálů, vč. lékařských instrumentů a implantátů, kde jejich přítomnost představuje zdravotní riziko.

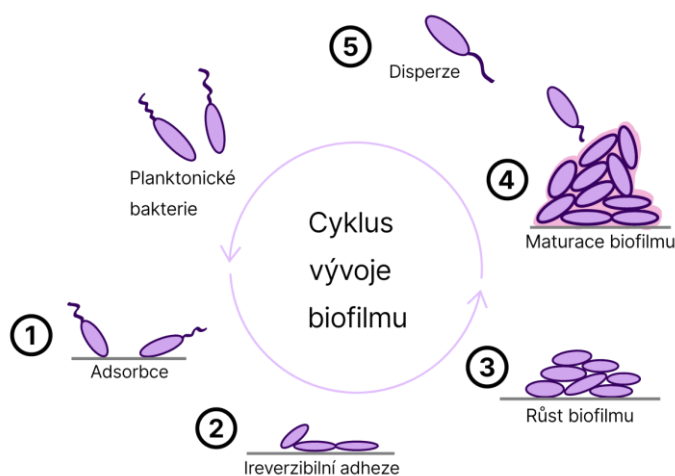
Historicky byly bakterie studovány jako jednobuněčné planktonní organismy. Biofilmy byly pravděpodobně objeveny již v 80. letech 17. století (Perry a Tan, 2023). Antoni van Leeuwenhoek (1684) popsal přítomnost mikroorganismů a vláknitých struktur ve „slupce zubů“ (zubní plak). Až v 70. letech 20. století začala být přítomnost bakteriálních biofilmů rozpoznávána i na dalších místech v lidském těle (Høiby, 2017), nejčastěji pomocí technik jako je elektronová mikroskopie a fluorescenční *in situ* hybridizace (Perry a Tan, 2023). Termín „biofilm“ byl zaveden až na počátku 70. let 20. století mikrobiologem J. Williamem Costertonem a jeho kolegy, kteří studovali bakteriální společenství tvořící se na površích ve vodním prostředí (Bamford *et al.*, 2023).

Mikrobiální biofilmy mají škodlivé dopady v klinické i průmyslové praxi a v přírodním prostředí, ale zároveň mohou být i přínosné. Zlepšená povrchová adheze a vitalita buněk může překonat dvě hlavní omezení buněčných biosenzorů, tj. potřebu imobilizovat buňky a udržovat je životaschopné a aktivní po delší dobu. Proto je možné biofilmy využívat jako snímací prvky v detekčním zařízení. Konkrétně byly biosenzory založené na biofilmu použity pro monitorování životního prostředí a procesů v reálném čase *in situ*. Detekční systémy založené na činnosti mikroorganismů obvykle využívají luminiscenční a elektroaktivní bakterie, které mohou spontánně generovat fluorescenci a elektrické výstupy v reakci na stresový faktor bez potřeby jakékoli další genetické modifikace (Funari a Shen, 2022).

2.1. Proces tvorby a vlastnosti biofilmů

Formování biofilmu začíná přichycením mikroorganismů k povrchu. To je umožněno interakcí mezi povrchem a mikroorganismy. Postupně začnou bakterie produkovat látky tvořící extracelulární matici, která slouží jako ochranná vrstva k zajištění stability biofilmu. V průběhu času dochází k organizaci buněk do složitějších struktur zajišťujících optimální podmínky pro přežití bakterií. Biofilm může být složen z jednoho nebo více druhů bakterií a je schopen se dynamicky přizpůsobovat prostředí. Biofilmy se mohou tvořit na biotických površích (např. pojivová tkáň, hlen, epitel, endotel, srdeční chlopeň, kostní dřeň a kůže), ale i na površích abiotických (např. protézy, implantáty, stenty a katetry) (Sionov a Steinberg, 2022).

Tradiční model tvorby biofilmů zahrnuje pět kroků (Perchikov *et al.*, 2024). Prvním krokem je iniciační vratná vazba mezi bakterií a vhodným povrchem. Následuje nevratná vazba vedoucí k vytvoření monovrstvy extracelulární matrix (ECM) (Mirghani *et al.*, 2022). ECM se skládá z konglomerátu různých látek zajišťujících strukturální integritu biofilmu. Obecně se může skládat z vody, polysacharidů, proteinů, lipidů, povrchově aktivních látek, glykolipidů, extracelulární DNA, extracelulární RNA, membránových vezikul a iontů (např. Ca^{2+}). U mnoha bakterií jsou extracelulární polysacharidy a extracelulární DNA prominentními složkami ECM (Uruén *et al.*, 2021). V následujícím stádiu dochází k růstu biofilmu a zahájení *quorum sensing*. Ve čtvrtém stádiu (maturace) dochází k obalení biofilmu extracelulární polymerní látkou pomáhající interakcím buněk mezi sebou a mezi maticí. Pátou fází je disperze, tj. oddělení buněk od vzniklého biofilmu a opakování cyklu na jiném místě (Mirghani *et al.*, 2022). Obrázek 8 zachycuje jednotlivá stádia tvorby biofilmu.



Obrázek 4. Cyklus vývoje biofilmu (upraveno dle Mirghani *et al.*, 2022)

U nepohyblivých druhů zvyšují jednotlivé bakterie expresi adhezínů na vnějším povrchu (tedy zvyšují tzv. „lepivost“). Tato zvýšená lepivost podporuje přilnavost mezi buňkami navzájem i mezi buňkami a povrchem. U pohyblivých mikrobiálních druhů se bakteriální buňky přichycují k povrchu a dochází u nich ke ztrátě pohyblivosti v podmínkách podporujících tvorbu biofilmu. Začínají také produkovat ECM (Lemon *et al.*, 2008).

Proces tvorby bakteriálního biofilmu je ovlivňován vnějšími faktory (např. teplota, změny pH krve, atd.). Dále tvorbu biofilmu ovlivňuje i současná přítomnost různých druhů bakterií (Zhao *et al.*, 2023). Pro vznik a růst biofilmu jsou důležité také parametry jako smáčivost, drsnost, tuhost a topografie povrchu (Perchikov *et al.*, 2024). Hydrofobnost hraje zásadní roli při přichycení mikroorganismů k povrchům. Hydrofobní povrch je pro mikrobiální kolonizaci vhodnější než povrch hydrofilní. Hydrofobní materiál totiž snižuje odpor mezi buňkou a povrchem (Zhao *et al.*, 2023). Růst v biofilmu poskytuje buňkám v mnoha případech výrazně větší ochranu proti působení antibiotik a dezinfekčních prostředků v porovnání s jejich planktonními formami. Odolnost biofilmů vzniká prostřednictvím řady různých mechanismů (např. nepropustnost matrice biofilmu pro antibiotika, snížená rychlost růstu buněk uvnitř biofilmové struktury v důsledku sníženého gradientu živin a kyslíku, přítomnost perzistentních buněk tolerujících antibiotika a zvýšená exprese efluxních pump, aj.) (Alav *et al.*, 2018).

Buňky v biofilmech s různými fenotypy a genotypy využívají odlišné metabolické dráhy, stresové reakce i biologické vlastnosti. Některé buňky mění produkci extracelulárních polysacharidů, a dokonce i svoji buněčnou morfologii během výskytu v biofilmu. Populace v biofilmech jsou komplexní struktury vykazující chemickou, fyziologickou a genetickou variabilitu (Zhang *et al.*, 2020). Biofilm jako celek tedy pracuje synchronně na řízení a regulaci mechanismů přežití jednotlivých členů společenství. Požadavky biofilmů (např. připojení k cílovému místu, stimulace mechanismů stárnutí buněk hostitele, aby se zabránilo uvolňování bakterií a produkce plazmatického exsudátu pro výživu prostřednictvím lokálního zánětu, atd.) jsou modulovány genofondem celého biofilmu (Anju *et al.*, 2022).

2.2. Quorum sensing

Quorum sensing (QS) je proces chemické komunikace mezi bakteriálními buňkami založený na detekci extracelulárních signálních molekul označovaných jako autoinduktory (Mukherjee a Bassler, 2019). QS je schopnost bakterií kontrolovat genovou expresi pomocí

detekce minimální prahové koncentrace určitých metabolitů produkovaných bakteriemi. Souvisí to s kontrolou chování bakterií, např. se sekrecí faktorů virulence, konjugací, sporulací a organizovaným pohybem, vznikem bioluminiscence, i s tvorbou biofilmů (Ni *et al.*, 2009).

Všechny dosud známé systémy *QS* jsou založeny na třech základních vlastnostech, a to bez ohledu na rozdíly v jejich regulaci a mechanismech. První vlastností je produkce autoinduktorů (AI) bakteriální komunitou. Druhou je detekce AI cytoplazmatickými nebo membránovými receptory. Třetí vlastností je, že rozpoznání AI nejen stimuluje expresi genů potřebných pro správnou koordinaci buněk v biofilmu, ale zároveň spouští další syntézu AI (Hetta *et al.*, 2024).

U Gram-negativních bakterií jsou autoinduktory detekovány dvěma receptory (cytoplazmatické transkripční faktory nebo transmembránové dvousložkové histidinové kinázy). V obou případech komplex autoinduktoru s receptorem řídí expresi cílových genů pro *quorum sensing*. U Gram-pozitivních bakterií jsou receptory tvořeny transmembránovými dvousložkovými histidinovými senzorovými kinázami. Komplex tvořený AI a receptorem aktivuje expresi genu kódujícího autoinduktorsyntázu. Autoinduktorsyntáza zvyšuje extracelulární koncentraci autoinduktoru. Předpokládá se, že tato autoindukční smyčka synchronizuje chování napříč bakteriální populací (Mukherjee a Bassler, 2019).

2.3. Lokalizace biofilmů

Během několika posledních desetiletí byl výskyt biofilmů popsán na mnoha tkáních. Biofilmy byly také pozorovány na tkáních s různou komenzální mikroflórou (Perry a Tan, 2023). Přítomnost biofilmů totiž nemusí vždy znamenat přítomnost bakteriálních agens způsobujících infekce (např. ženský reprodukční trakt, gastrointestinální trakt, aj.). Přirozeně se vyskytující biofilm je např. zubní plak, který je přirozeně tvořen více mikrobiálními druhy. V ileu a tlustém střevě jsou běžně detekovány u zdravých lidí rozsáhlé mikrobiální biofilmy v těsném kontaktu s epitelem (Perry a Tan, 2023).

Bakteriální biofilmy ovšem mohou způsobovat závažné infekce (Zhao *et al.*, 2023). V současné době je více než 80 % bakteriálních infekcí způsobeno tvorbou biofilmů (Fleming a Rumbaugh, 2017). Mezi infekce spojené s biofilmem patří např. zánět středního ucha, chronická rinosinusitida, faryngitida, laryngitida, pneumonie, bakteriální vaginóza, infekční endokarditida, mastitida a další (Sionov a Steinberg, 2022). Tyto biofilmy mohou

být spojeny s lékařskou instrumentací a implantáty (Schulze *et al.*, 2021). Mikroorganismy mohou na povrchu lékařských instrumentů vytvářet biofilmy podporující rozvoj infekčních onemocnění v organismu po jejich zavedení do lidského těla. Lékařské implantáty tak mohou zvyšovat riziko infekcí (Zhao *et al.*, 2023). Avšak biofilmy mohou vznikat také vlivem cizorodých agens kolonizujících hostitelskou tkáň, což je typické zejména u chronických infekcí (Schulze *et al.*, 2021).

2.4. Metody detekce biofilmu

Existuje celá řada metod vhodných pro detekci biofilmu. Mezi tyto metody patří např. **fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH)**, **konfokální laserová skenovací mikroskopie (CLSM)**, **rastrovací elektronová mikroskopie (SEM)** a **transmisní elektronová mikroskopie (TEM)**. V prvotních studiích zaměřených na detekci biofilmu byly použity právě nescifické techniky jako je SEM a TEM. Tyto techniky umožňovaly ultrastrukturální analýzu biofilmu, ale neumožňovaly identifikaci mikroorganismů (Fastenberg *et al.*, 2016). Zobrazovací metody umožňují vizualizovat biofilm (např. zvýraznění specifických rysů biofilmu pomocí barviv). Zaměřují se na kvantifikaci analytů nebo charakterizaci vlastností biofilmu. Nová snímací zařízení mají za cíl překonat omezení současných metod studia biofilmu. Současné metody analýzy jsou založeny na invazivním a destruktivním zpracování vzorku (Funari a Shen, 2022).

Fluorescenční *in situ* hybridizace

Technika fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) se stala zásadním nástrojem pro lepší pochopení mezidruhových interakcí. Tato metoda totiž umožňuje identifikovat a pozorovat umístění různých mikroorganismů přímo v biofilmu, aniž by došlo k narušení jejich 3D struktury. Základem této techniky je hybridizace fluorescenčně značené, sekvenčně specifické komplementární sondy (typicky DNA sondy) s cílovou nukleovou kyselinou (např. DNA, mRNA, rRNA) uvnitř buněk nebo tkání (Barbosa *et al.*, 2023).

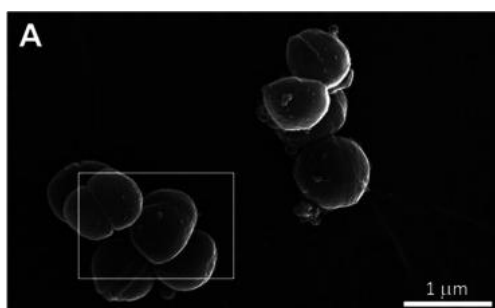
Konfokální laserová skenovací mikroskopie (CLSM)

CLSM je výkonná a univerzální technika umožňující nedestruktivní *in situ* studium živých biofilmů v reálném čase. Umožňuje také 3D rekonstrukci vzorku. Funguje na principu excitace fluorescenčních signálů z různých rovin biofilmu (tzn. detailní snímání celé hloubky biofilmu). Díky tomu je možné kvalitativně pozorovat klinické, enviromentální i laboratorní biofilmy a získat klíčové poznatky (např. vznik, vývoj, morfologie, struktura a architektura

biofilmů za různých podmínek). S určitými úpravami je tato metoda využívána i k hodnocení životaschopnosti a druhové diverzity biofilmů (Mhade a Kaushik, 2023).

Rastrovací elektronová mikroskopie a transmisní elektronová mikroskopie

Mezi další metody mikroskopické analýzy biofilmu patří rastrovací elektronová mikroskopie (SEM) a transmisní elektronová mikroskopie (TEM). Hlavní rozdíl mezi těmito dvěma metodami spočívá v tom, že v SEM jsou 3D povrchové obrazy vytvářeny detekcí sekundárních elektronů emitovaných z povrchu biofilmu po excitaci primárním elektronovým paprskem. Naopak v TEM prochází primární paprsek biofilmem, následně je difraktován a poté znovu zaostřen. Tím vzniká 2D projekce obrazu (Cleaver *et al.*, 2023). Na Obrázku 9 je záznam *S. aureus* pořízený pomocí SEM.



Obrázek 5. Zobrazení *S. aureus* pomocí SEM (upraveno dle Rimal *et al.*, 2024)

Další metodou pro zkoumání biofilmu je využití **ultrazvukové technologie**. Pomocí této technologie mohou být monitorovány nečistoty na površích instrumentů v reálném čase, nebo může být monitorován růst mikroorganismů. V kombinaci s dalšími metodami může zlepšit možnosti detekce bakteriálních biofilmů (Zhao *et al.*, 2023). Hojně využívanou metodou je **kolorimetrický test v mikrotitrační destičce**. Tento test je založený na **barvení biofilmu krystalovou violetí**. Jedná se o velice jednoduchou a levnou metodu vhodnou pro kvantifikaci biofilmu v klinické praxi (Filipić *et al.*, 2024). Ke spektroskopickými metodám se řadí **elektrochemická impedanční spektroskopie (EIS)**. Tato metoda je vhodná pro monitorování tvorby a růstu biofilmu v reálném čase a bez nutnosti značení. EIS je nedestruktivní technika, která měří impedanční odezvu elektrochemického signálu pomocí aplikovaného střídavého proudu (Zafer *et al.*, 2024). Pro získání komplexních informací se využívá **multimodální zobrazování**. Metoda kombinuje dvě i více zobrazovacích modalit. Poskytnutím doplňkových informací o vzorku (např. molekulární informace, struktura, funkce a dynamika) lze získat hlubší znalost o charakteristikách nebo procesech probíhajících v biofilmu (van Hoogstraten *et al.*, 2024).

3. INFEKCE HORNÍCH CEST DÝCHACÍCH

Infekce horních cest dýchacích jsou častým onemocněním, které mohou být způsobeny různými mikroorganismy (bakterie, viry i houby). Nejčastěji se tyto infekce vyskytují v raném dětství, což je věk s nejrychlejším rozvojem imunitního a dýchacího systému (van Meel *et al.*, 2017). Infekční agens mohou v těchto oblastech působit jak akutní, tak i chronické onemocnění, a to od běžného nachlazení až po závažnější infekce (např. sinusitida, faryngitida a tonsilitida). Mezi nejčastěji se vyskytující patogeny způsobující infekce HCD můžeme zařadit *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* a *Staphylococcus aureus*. Pro izolaci a následnou identifikaci mikroorganismů způsobujících problémy pacienta je odebírán klinický materiál. Mezi základní klinický materiál odebíraný v souvislosti s onemocněním horních cest dýchacích patří sputum, výtěr z krku, nosní výtěr či výplach z nosních dutin.

3.1. Nejčastější bakteriální původci

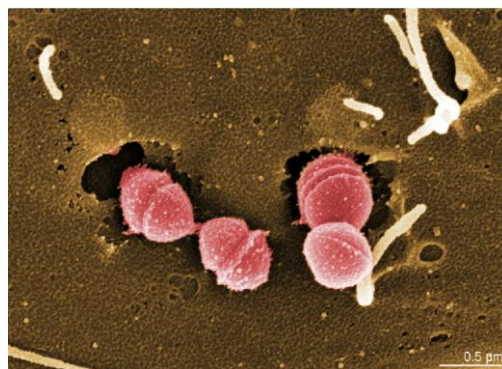
Bakterie působící infekce horních cest dýchacích můžeme rozdělit na Gram-negativní a Gram-pozitivní. Experimentálně to lze provést pomocí Gramova barvení. Toto barvení zahrnuje použití roztoků krystalové violeti, Lugolova roztoku, alkoholu a karbolfuchsinu. Gram-pozitivní bakterie mají silnou buněčnou stěnu se silnými vrstvami peptidoglykanu. Naopak Gram-negativní bakterie mají tenkou vrstvu peptidoglykanu a také vysoký podíl lipidů v buněčné stěně (Paray *et al.*, 2023). Šíře buněčné stěny u Gram-negativních bakterií dosahuje velikosti méně než 10 nm, zatímco u Gram-pozitivních bakterií se šíře buněčné stěny pohybuje v řádu 20–80 nm. U Gram-negativních bakterií se ale v buněčné stěně vyskytuje také mnoho pórů (Mai-Prochnow *et al.*, 2016). Použitá krystalová violet' ve vodném roztoku disociuje na kationty krystalové violeti (CV^+) a chloridové anionty (Cl^-). Tyto ionty následně pronikají buněčnou stěnou a membránou jak Gram-pozitivních, tak Gram-negativních buněk. CV^+ následně interaguje se záporně nabitými složkami buněčné stěny bakteriálních buněk. Tím dochází k obarvení buněk (Gram-pozitivních i Gram-negativních) na fialovou barvu. Po přidání roztoku jódu (Lugolův roztok) dochází k interakci s CV^+ a tvorbě komplexů barviva v cytoplasmě buněk. V dalším kroku interaguje vymývací roztok (alkohol) s lipidy buněčné membrány Gram-negativních buněk. Buněčná stěna Gram-negativních buněk se stává netěsnou a umožňuje vymytí komplexů barviva (Gram-pozitivní buňky zůstávají obarveny fialově krystalovou violetí, zatímco z Gram-negativních je barvivo vymyto a jsou opět bezbarvé). Stěna

Gram-negativních bakterií je následně obarvena roztokem karbolfuchsinu. Po barvení můžeme pozorovat fialově zbarvené Gram-pozitivní a červeně zbarvené Gram-negativní buňky (Paray *et al.*, 2023).

Pro diagnostiku bakterií lze použít i jiné techniky barvení, dále testy založené na přítomnosti specifických enzymů (např. kataláza nebo oxidáza) a v neposední řadě také různé druhy selektivně-diagnostických médií. Selektivní média poskytují vybraným organismům živiny potřebné k jejich růstu a zároveň obsahují látky potlačující růst doprovodné (nežádoucí) mikroflóry. Další možností diagnostiky je využití metody PCR nebo detekce pomocí hmotnostní spektrometrie přístrojem MALDI-TOF MS. Velký význam je kladen také na testy rezistence k antibiotikům. Ty umožňují určit nejvhodnější antibiotikum působící na daný mikroorganismus a zvyšující procento úspěšnosti eradikace bakterií způsobujících infekci.

3.1.1. *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes je Gram-pozitivní bakterie řadící se do rodu *Streptococcus* a tvořící dvojice koků nebo jejich řetízky. Jedná se o fakultativně anaerobní bakterii. Na Obrázku 4 je pomocí elektronové mikroskopie vyobrazena bakterie *Str. pyogenes* tvořící koky. Tato bakterie je opouzdřená, nesporeující a nepohyblivá. Po kultivaci této bakterie na krevním agaru pozorujeme β -hemolýzu kolem drobných mukózních kolonií. *Str. pyogenes* je řazen do skupiny A, a to dle klasifikace podle Lancefieldové. Tato klasifikace je založena na přítomnosti specifického C-polysacharidu v buněčné stěně.



Obrázek 6. *Streptococcus pyogenes* pozorovaný pomocí elektronové mikroskopie (upraveno dle Brouwer *et al.*, 2016)

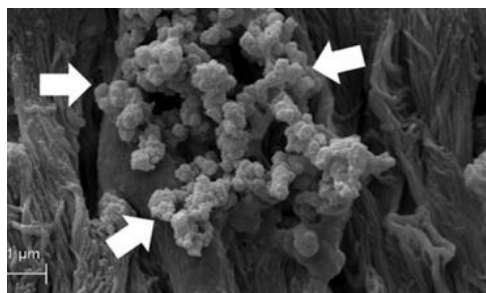
Tato bakterie je patogenem způsobujícím výhradně onemocnění člověka. Celosvětově způsobuje významná onemocnění a představuje velkou zátěž pro národní systémy zdravotní péče (Fiedler *et al.*, 2015). *Str. pyogenes* je spojován s širokou škálou nemocí od infekcí krku (faryngitida) a kůže (impetigo) až po invazivní infekce, které se mohou projevit jako syndrom

toxického šoku (TSST) (Jespersen *et al.*, 2020). Infekce začíná nejčastěji kolonizací horních cest dýchacích nebo poraněním kůže (Marks *et al.*, 2014).

Str. pyogenes je zajímavou bakterií z hlediska velkého počtu faktorů virulence. Patří mezi ně povrchové proteiny (M proteiny, proteiny vázající fibronectin, povrchové dehydrogenázy, C5a peptidáza, aj.), pouzdro z kyseliny hyaluronové, vylučované degradační enzymy (různé druhy DNáz, cysteinová proteáza, NAD⁺-glykohydroláza, hyaluronidáza, aj.) a mnoho vylučovaných toxinů (streptolysin S, streptolysin O, pyrogenní exotoxiny, streptokokové superantigeny, streptokináza, aj.) (Cho *et al.*, 2019). Důležitou roli v patogenezi této bakterie hraje také schopnost tvorby biofilmů. Přítomnost biofilmu může podpořit rezistenci *Str. pyogenes* k antibiotikům, a tím podporovat recidivu onemocnění (Nazzari *et al.*, 2015).

3.1.2. *Haemophilus influenzae*

Haemophilus influenzae je Gram-negativní bakterie řadící se do rodu *Haemophilus* a tvoří kokobacily. Jedná se o nepohyblivou, nesporulující opouzdřenou fakultativně anaerobní bakterii. Pro růst vyžaduje hemin (faktor X) a NADH (faktor V). Opouzdřené kmeny této bakterie mohou způsobit invazivní infekce (např. meningitida, sepse a akutní epiglottitida). Prevalence těchto infekcí se dramaticky snížila po zavedení očkování proti *H. influenzae* typu b (*Hib*) konjugovanou vakcínou. Naproti tomu kmeny netypovatelné (*NTHi*) postrádající kapsulární polysacharidy se často šíří a způsobují oportunní infekce lokalizované obvykle na povrchu dýchacích sliznic. Mezi tyto infekce řadíme bronchitidu, rinosinusitidu a *otitis media* (zánět středního ucha) a jsou zvláště rozšířené u pacientů s defekty mukociliární clearance (Pang *et al.*, 2018). Na Obrázku 5 je elektronovým mikroskopem zachycena bakterie *H. influenzae* tvořící strukturu biofilmu.



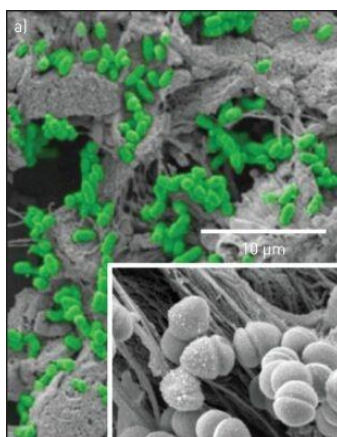
Obrázek 7. *Haemophilus influenzae* tvořící biofilm (upraveno dle Morawska-Kochman *et al.*, 2017)

Mezi faktory virulence *H. influenzae* patří např. pouzdro, pili, adheziny, IgA proteázy a další. Jejich úkolem je zprostředkování bakteriální adheze, kolonizace a invaze a v konečném

důsledku také tvorba biofilmu. Mají značný klinický význam, proto se některé faktory virulence staly potenciálními cíli pro vývoj nových léků a výzkum vakcín (Xiao *et al.*, 2023).

3.1.3. *Moraxella catarrhalis*

Dle Morris *et al.* (2022) je *Moraxella catarrhalis* Gram-negativní diplokok a oportunní patogen způsobující onemocnění člověka. Je běžným komenzálem dýchacích cest, avšak dříve byla bakterie *M. catarrhalis* považována za nepatogenní bakterii. Její patologický potenciál byl prokázán v 70. letech 20. století izolací z biologického materiálu odebraného pacientům. Dnes je považována za jednoho z nejčastějších původců infekcí dýchacích cest. Je hlavním etiologickým agens akutního zánětu středního ucha a akutní exacerbace chronické obstrukční plicní nemoci. Mezi další závažné infekce způsobené touto bakterií můžeme zařadit např. meningoencefalitidu a komunitní pneumonii (Liu *et al.*, 2022). Při kultivaci na krevním agaru můžeme pozorovat růst v hladkých šedobílých koloniích bez hemolýzy. Obrázek 6 zachycuje *M. catarrhalis* elektronovým mikroskopem.



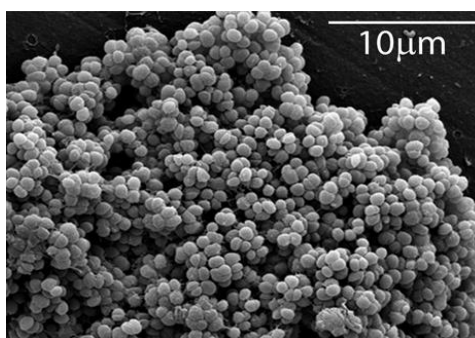
Obrázek 8. *Moraxella catarrhalis* (v zelené pseudobarvě) adherující k humánním tkáním (upraveno dle Paulsson a Riesbeck, 2018)

Rozsáhlé studie studovaly mechanismy kolonizace a patogeneze *M. catarrhalis* a dodnes bylo identifikováno mnoho faktorů virulence a jejich mechanismů působení. Mezi nejdůležitější virulentní působení této bakterie patří schopnost unikání působení komplementu především prostřednictvím interference s regulačními proteiny. V těle hostitele dochází dále k polyklonální nescifické aktivaci B buněk a přesměrování adaptivní imunity v přítomnosti *M. catarrhalis*. Virulentní působení této bakterie zahrnuje také skrývání uvnitř lymfoidní tkáně, tvorbu biofilmu a účast na nerovnováze mezi proteázou a antiproteázou (Augustyniak *et al.*, 2018). Již dříve popsané faktory virulence *M. catarrhalis* (např. UspA1, UspA2, UspA2H, *M. catarrhalis* adherence protein a *Moraxella* lipooligosacharid) podporují

sérovou rezistenci, napomáhají bakterii uniknout působení humorální imunity, také fungují jako adheziny (Liu *et al.*, 2022).

3.1.4. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus je nesporulující Gram-pozitivní bakterie z rodu *Staphylococcus*. Tvoří shluky neopouzdřených a nepohyblivých koků. Na krevním agaru pozorujeme růst v charakteristických jasně žlutých koloniích s úplnou hemolýzou. Dle tohoto charakteristického rysu je tato bakterie někdy nazývána jako zlatý stafylokok. *S. aureus* je častým kolonizátorem lidského těla a je jedním z nejčastějších oportunních bakteriálních patogenů způsobujících onemocnění člověka. Infekce vykazují celosvětově značnou morbiditu a mortalitu. Infekce se mohou projevovat mírným zasažením měkkých tkání až po závažné invazivní infekce (např. osteomyelitida a septická artritida, bakteriémie nebo septikémie, zápal plic, endokarditida, aj.). Infekce mohou být akutní, recidivující nebo chronické a přetrvávající (Howden *et al.*, 2023). Obrázek 7 znázorňuje typický růst ve stafylokokovém biofilmu.



Obrázek 9. Biofilm tvořený stafylokoky (upraveno dle VanEpps a Younger, 2016)

Faktory virulence *S. aureus* lze rozdělit do několika kategorií. Jsou to secernované faktory virulence (např. toxiny a superantigeny), jejichž hlavní funkcí je narušit membrány hostitelské buňky a indukovat lýzu a zánět cílových buněk. *S. aureus* dále produkuje extracelulární enzymy, které slouží především k rozkladu buněk a molekul hostitelského organismu za účelem získání živin. Na povrchu této bakterie se nacházejí proteiny umožňující přilnutí k buňkám a proniknutí do těchto buněk. Tím buňky *S. aureus* unikají imunitnímu systému hostitele. Kromě toho tato bakterie také exprimuje látky typické pro patogeny, které aktivují zánětlivou reakci (Chen *et al.*, 2022). Při kolonizaci je *S. aureus* součástí polymikrobiálního společenství, které tvoří převážně další druhy bakterií z rodu *Staphylococcus*. Biofilmy *S. aureus* tvořené *in vivo* při infekcích jsou typičtěji monomikrobiálním společenstvím (Howden *et al.*, 2023).

3.2. Nejčastější druhy infekcí

Respirační infekce jsou časté u starších osob a také u velmi malých dětí. Tyto infekce představují velkou zátěž pro zdravotní systém, a to zejména v zimních měsících. Kromě přímého dopadu respiračních infekcí existují příčinné souvislosti mezi akutními respiračními infekcemi a zhoršováním chronických respiračních onemocnění (např. chronická obstrukční plicní nemoc, astma, postcovidový syndrom, aj.) (Govers *et al.*, 2022). Jedinci s respiračními onemocněními mohou být zvláště náchylní k infekcím dýchacích cest. Mezi další rizikové faktory pro infekce dýchacích cest u dospělých patří např. faktory spojené s životním stylem jako je aktivní a pasivní kouření, nedostatek fyzické aktivity, směnnost pracovní doby i nekvalitní spánek. Roli hraje také nízká hladina vitamínu D, náhlé změny teploty prostředí, nedostačené mytí rukou i psychický stres (Kisiel *et al.*, 2021). Také kolonizace hostitelského organismu jedním mikroorganismem může ovlivnit kolonizaci dalšími mikroorganismy. Při současném výskytu virových a bakteriálních infekcí HCD podporuje přítomnost virů bakteriální infekci (např. potlačení imunitního systému, poškozování epitelálních buněk, zvýšení exprese molekul nezbytných pro adhezi bakterií) (Anju *et al.*, 2022).

3.2.1. Faryngitida

Faryngitida je zánětlivé onemocnění hltanu doprovázené bolestí v krku a potížením s polykáním (Pham *et al.*, 2017). Akutní faryngitida je celosvětově běžné onemocnění. Ačkoli je faryngitida ve 40–80 % případů způsobena virovými původci, setkáváme se i faryngitidou působenou bakteriálními původci. Nejčastějším bakteriálním původcem bakteriální infekce jsou streptokoky skupiny A (GAS) zodpovídající za přibližně 15–30 % případů faryngitidy (Oliver *et al.*, 2018). Faryngitida způsobená streptokoky skupiny A se běžně projevuje symptomy, jako je bolest v krku, citlivost přední krční lymfatické uzliny, přítomnost faryngálního erytému nebo exudátu, palatální petechie a horečka. Zároveň nejsou pozorovány běžné virové respirační příznaky (např. rýma, kašel, chrapot) (Miller *et al.*, 2022). U některých pacientů trpících streptokokovou faryngitidou se může objevit také červená „šarlatová“ vyrážka začínající v oblasti třísel a podpaží. Onemocnění odezní bez léčby obvykle do 5 dnů. Mohou však nastat některé komplikace, např. postinfekční syndrom poststreptokokové glomerulonefritidy a akutní revmatická horečka (Pham *et al.*, 2017). Na Obrázku 10 je typický klinický obraz faryngitidy.



Obrázek 10. Akutní streptokoková faryngitida u dospívajícího jedince, A – intenzivní hyperémie hltanu, tonsil a uvuly, B – červené skvrny na měkkém patře a lingvální hyperkeratóza (Miron a Craiu, 2021)

V několika studiích byly identifikovány biofilmy *in situ* po adenolektomii a tonsilektomii s použitím technik rastrovací elektronové mikroskopie, konfokální mikroskopie a světelné a transmisní elektronové mikroskopie. Není jisté, zda biofilm může také přispět k rozvoji klinických příznaků, avšak několik studií naznačuje souvislost mezi přítomností biofilmů a chronickým průběhem těchto infekcí (Vestby *et al.*, 2020).

3.2.2. Rinosinusitida

Rinosinusitida (RS) je zánět sliznice nosu a vedlejších nosních dutin. Ročně postihuje asi 15 % populace, má tedy vysokou incidenci a nepříznivě ovlivňuje kvalitu života. Vznik a rozvoj RS je usnadněn mimo jiné také genetickými a environmentálními faktory. RS je klinicky definována jako zánět charakterizovaný přítomností dvou nebo více symptomů, z nichž jedním by měla být nasální obstrukce a dechové obtíže, výtok z nosu a/nebo bolest obličeje a ztráta čichu (Michalik a Krawczyk, 2024). Na Obrázku 11 je typický hnisavý výtok u pacienta s RS.

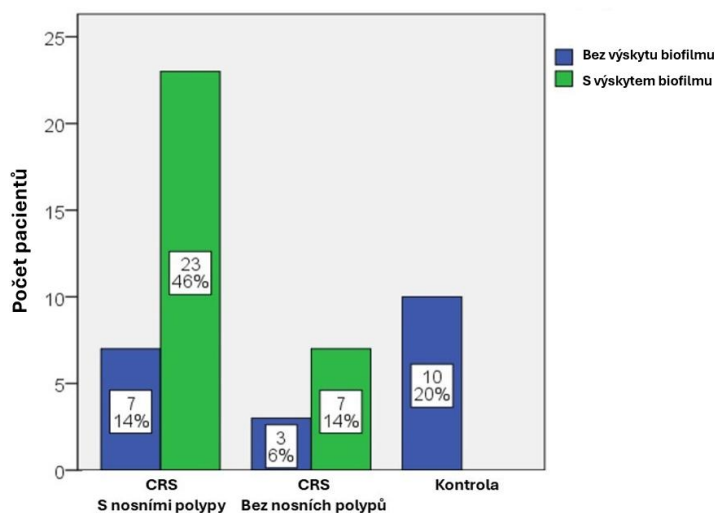


Obrázek 11. Hnisavý výtok z nosohltanu pacienta s recidivující akutní rinosinusitidou (Eloy a Govindaraj, 2008)

Toto onemocnění se dělí dle délky trvání, a to na akutní (trvajících méně než 4 týdny), subakutní (trvajících 4–12 týdnů) a chronickou formu (trvajících více než 12 týdnů) (Huang *et al.*, 2024). Léčba akutní a subakutní formy RS spočívá v podávání lokálních vazokonstriktorů, systémových dekonjestiv a vhodných antibiotik (Eloy a Govindaraj, 2008). Standardní léčba

chronické formy zahrnuje výplachy dutin fyziologickým roztokem, lokální nebo systémové podávání steroidů, popř. užívání antibiotik. Významná část pacientů s chronickou formou rinosinuitidy (CRS) musí podstoupit endoskopickou operaci dutin (Vanderpool a Rumbaugh, 2023).

Chronická forma je považována za multifaktoriální onemocnění spojené s imunologickými faktory, superantigeny, zánětem a přidruženými komorbiditami. Toto onemocnění můžeme dělit na CRS bez nosních polypů a CRS s nosními polypy (Manciula *et al.*, 2020). Přítomnost biofilmových struktur v paranazálních dutinách pacientů s CRS byla detekována až u 80 % pacientů. V případě onemocnění i v souvislosti s výskytem biofilmu je často popisována vyšší klinická závažnost před i po endoskopické operaci dutin. Bakteriální druhy izolované z nosních dutin pacientů s CRS vykazují vyšší tendenci tvořit robustní biofilm ve srovnání s druhy izolovanými z nosních dutin zdravých jedinců (Vanderpool a Rumbaugh, 2023). Manciula *et al.* (2020) provedli studii do níž bylo zahrnuto 50 pacientů. 30 (60 %) pacientů účastnících se studie trpělo CRS s výskytem nosních polypů, 10 (20 %) pacientů trpělo CRS bez nosních polypů a 10 (20 %) z nich byli kontrolní pacienti (pacienti po septoplastice). Biofilm byl detekován u 23 (76,6 %) pacientů s CRS s nosními polypy, u 7 (70 %) pacientů s CRS bez nosních polypů a u žádného z pacientů z kontrolní skupiny. Na obrázku 12 je graf zahrnující výsledky této studie.



Obrázek 12. Přítomnost biofilmu v paranazálních dutinách pacientů s chronickou rinosinuitidou (upraveno dle Manciula, *et al.*, 2020)

V letech 2010–2012 byla provedena průřezová studie v *Akershus University Hospital* v Norsku. Do studie bylo zahrnuto 86 pacientů, z nichž 61 pacientů bylo s diagnózou CRS podstupující operaci sinů. Kontrolní skupinu tvořilo 25 pacientů bez diagnózy CRS

a podstupující pouze septoplastiku. Pacienty tvořili ženy i muži a medián věku byl 40 let. Vzorky odebrané během operací byly zpracované a vyhodnocené metodou konfokální laserové skenovací mikroskopie. U 90,2 % pacientů s CRS byl detekován biofilm. Relativně vysoké procento výskytu biofilmu bylo pozorováno i u pacientů z kontrolní skupiny (56,0 %). Důvodem vysokého procenta výskytu biofilmu u pacientů z kontrolní skupiny může poukazovat na roli biofilmů i u neinfekčních nasálních obstrukcí. V ostatních studiích, kde byl podíl biofilmu u kontrolní skupiny nižší, byly kontrolní skupiny tvořeny pacienty bez přítomnosti obtíží týkajících se nasálních dutin (Danielsen *et al.*, 2014).

3.2.3. Laryngitida

Laryngitida neboli zád' je časté onemocnění, dokonce jedna z nejčastějších příčin akutních respiračních obtíží u malých dětí (Pham *et al.*, 2017). Akutní laryngitida je běžný typicky spontánně odeznívající zánět hrtanu trvající několik týdnů. U chronické laryngitidy však trvají příznaky infekce měsíce (Kinnari *et al.*, 2012). Je charakterizována různým stupněm inspiračního stridoru (chrapot při nádechu), štěkavým kašlem a chraplavým hlasem. Tyto projevy jsou důsledkem obstrukce dýchacích cest. Dnes jsou k léčbě akutní laryngitidy běžně doporučovány kortikosteroidy (Pham *et al.*, 2017). Obrázek 13 zachycuje typický projev chronické laryngitidy, a to edém, erytém, krusty a exudát, který je nejčastěji spojen s bakteriální etiologií onemocnění.



Obrázek 13. Laryngoskopický obraz chronické laryngitidy (upraveno dle Thomas, Jetté a Clary 2017)

Ačkoli je toto onemocnění obvykle virového původu, u dospělých pacientů bývají z nosohltanu izolovány také bakteriální patogeny (např. *M. catarrhalis*, *H. influenzae*, *Str. pyogenes*) (Pham *et al.*, 2017).

Kinnari *et al.* (2012) provedli studii zkoumající výskyt biofilmů u pacientů s chronickou laryngitidou způsobenou rezidentními patogeny. Kontrolní skupinu tvořili pacienti s laryngálními polypy. Do studie bylo zařazeno 18 pacientů (13 pacientů

s chronickou laryngitidou, 5 pacientů s polypy hlasivek). Vzorky získané od pacientů byly následně analyzovány metodami polymerázové řetězové reakce (PCR) a konfokální laserové skenovací mikroskopie (CSLM). U 9 vzorků byl metodou CSLM odhalen růst bakterií v biofilmu. 8 z 9 pozitivních vzorků pocházelo od pacientů s chronickou laryngitidou. Výsledky PCR byly pozitivní ve 13 případech, včetně všech 9 případů potvrzených i metodou CSLM. Biofilm byl nalezen u 62 % případů chronické laryngitidy. Toto je dle autorů studie první zpráva o souvislosti bakteriálních biofilmů s chronickou laryngitidou (Kinnari *et al.*, 2012).

3.2.4. Akutní a chronický zánět středního ucha

Akutní zánět středního ucha (AOM) je spojován s rychlým nástupem symptomů ušní infekce. AOM je jedním z nejčastějších onemocnění postihujících jedince dětského věku a je častým onemocněním, pro jehož léčbou jsou předepisována antibiotika. AOM může vést k dlouhodobým následkům, jako je ztráta sluchu a perforace bubínku. Na Obrázku 14 je nafouknutý ušní bubínek jako příznak *otitis media* (OM).



Obrázek 14. Vyboulený bubínek u zánětu středního ucha (Wald, 2011)

Toto onemocnění mohou provázet život ohrožující komplikace, jako je mastoiditida a mozkové abscesy. Ačkoli jsou tyto komplikace vzácné, mohou mít za následek morbiditu a mortalitu zejména v rozvojových zemích s hůře dostupnou lékařskou péčí (Davies *et al.*, 2025). Vedle příznaků akutní infekce a bolesti ucha je AOM charakterizován přítomností tekutiny ve středním uchu (Sirota *et al.*, 2025). Chronický zánět středního ucha (CSOM) je přetrvávající infekce ve středním uchu charakterizována přítomností perforované membrány a sekrecí tekutiny nebo výtoky z ucha trvající déle než 2 měsíce. Může se vyskytovat nepřetržitě nebo periodicky (Zafer *et al.*, 2024).

Biofilmy hrají klíčovou roli zejména v CSOM, protože přispívají k perzistenci a odolnosti bakteriálních infekcí ve středním uchu. Výzkumy objasnily, že bakteriální patogeny spojené

s CSOM mohou přežívat intracelulárně nebo v biofilmech. Pochopení těchto mechanismů je proto klíčové pro efektivní léčbu CSOM (Ghosh Moulic *et al.*, 2024).

Akyıldız *et al.* (2013) provedli studii, ve které byly pacienti rozděleni do dvou skupin, v první skupině byly pacienti rozděleni do dvou podskupin. Podskupina A (SSA) se skládala z 10 pacientů s anamnézou výtoku z ucha v posledních šesti měsících. Zatímco podskupinu B (SSB) tvořilo 9 pacientů bez anamnézy výtoku z ucha v posledních šesti měsících. Do druhé (kontrolní skupiny) bylo zařazeno 9 pacientů po kochleární implantaci s neporušeným bubínkem a se zdravým středním uchem. U všech pacientů ze skupiny SSA byla prokázána tvorba biofilmů. Ze skupiny SSB byl biofilm přítomen u 2 pacientů. U žádného z pacientů z kontrolní skupiny nebyla identifikována přítomnost biofilmové struktury.

V nemocnici v australském Perthu bylo zařazeno do studie 20 dětí (dívek i chlapců) ve věku 0–10 let. Z nich bylo 6 (30 %) s diagnózou chronického zánětu středního ucha s výpotkem, 6 (30 %) s diagnózou recidivujícího akutního zánětu středního ucha a 8 (40 %) s oběma diagnózami. Získané vzorky byly analyzovány pomocí TEM, FISH, a CLSM. V kontrolním vzorku nebyly přítomny žádné bakterie. Ve 2 ze 3 biopsiích zobrazených pomocí TEM byly pozorovány bakterie v hlenu, avšak biofilm pozorován nebyl. Pomocí FISH a CLSM byly bakterie pozorovány v 15 ze 17 analyzovaných vzorků. V této skupině bylo 11 (65 %) ze 17 biopsií sliznice středního ucha obsahovalo biofilm. Nebyly pozorovány žádné rozdíly mezi biopsiemi vzorků získaných od dětských pacientů s CSOM a recidivujícím AOM (Thornton *et al.*, 2011).

3.2.5. Tonsilitida

Tonsilitida je zánět hltanových tonsil. Zánět však může postihnout i další části krku, včetně adenoidů a jazykových tonsil (Abu Bakar *et al.*, 2018). *Streptococcus pyogenes* je často izolován z výtěru z krku pacientů trpících tonsilitidou. Mezi hlavní projevy tonsilitidy patří bolest v krku, horečka a cervikální lymfadenopatie (Singh *et al.*, 2023). Akutní tonsilitida je infekce tonsil vyvolaná bakteriemi nebo viry. V průběhu onemocnění se mohou objevit i peritonzilární abscesy. Chronická tonsilitida může vyústit také v tonsilové kameny. Chronická tonsilitida nastává, když jedinec trpí několika případy tonsilitidy za rok (Abu Bakar *et al.*, 2018). Na Obrázku 15 je zobrazen typický projev akutní tonsilitidy, patrný je zejména edém a erytém.



Obrázek 15. Dutina ústní pacienta s akutní tonsilitidou (Jenkins a Saunders, 2009)

Možným vysvětlením závažnosti a chronicity může být přítomnost bakterií v biofilmu. Prozatím ovšem existuje jen velmi málo studií zkoumajících přítomnost biofilmů na tonsilách. Jedna z mála doposud publikovaných studií používala světelnou a elektronovou mikroskopii zkoumající vzorky tonsil pacientů s hypertrofií tonsil. Přítomnost biofilmu na tonsilách byla prokázána u 11 z 15 studovaných vzorků. Autoři došli k závěru, že krypty tonsil jsou častým zdrojem početných kolonií bakterií různých druhů. Tyto krypty poskytují rezervoár bakterií způsobujících rekurentní infekce. Biofilmy byly však také prokázány v neinfikovaných vzorcích tonsil. To naznačuje, že ačkoli jsou možným zdrojem bakterií způsobující chronické infekce, mohou biofilmy také tvořit součást normální bakteriální architektury tonsil (Denton *et al.*, 2024).

3.3. Prevence infekcí dýchacích cest

Prevence onemocnění závisí hlavně na **dodržování hygieny a správném mytí rukou**. Důležité je zabránit šíření orálních sekretů. K prevenci některých z těchto onemocnění jsou k dispozici **vakcíny** (Pham *et al.*, 2017). Vakcíny stimulují imunitní reakce organismu. Většinu vakcín lze rozdělit do dvou širokých skupin, jmenovitě na profylaktické vakcíny a terapeutické vakcíny. Profylaktická vakcína stimuluje získanou imunitu u zdravých jedinců, což je jedna z neúčinnějších strategií prevence proti infekčním onemocněním způsobeným bakteriemi nebo viry. S rozvojem imunoterapie by terapeutické vakcíny mohly poskytnout léčebné strategie proti vážným onemocněním. Jsou navrženy tak, aby aktivovaly imunitní systém hostitele (Wu *et al.*, 2024). Také léčba **monoklonálními protilátkami** významně snižuje tvorbu biofilmu a vykazuje slibné terapeutické účinky v prevenci infekce s přítomností biofilmu. Za účelem inhibice tvorby biofilmu u *S. epidermidis* byly použity monoklonální protilátky 12C6, 12A1 a 3C1. Tyto protilátky se specificky vážou na protein spojený s bakteriální akumulací (Mirghani *et al.*, 2022).

Dalším významným preventivním opatřením je udržování správných hladin vitaminů v těle a v případě potřeby doplnění vitaminů užíváním vhodných doplňků stravy. **Vitamíny** jsou multifunkční sloučeniny patřící do kategorie mikroživin. Jsou biologicky aktivní a esenciální pro kompletní enzymatických procesů i pro zdraví lidského těla. Některé z nich také modulují funkce imunitního systému (Chiappini *et al.*, 2021). Např. vitamin C přispívá k podpoře vrozené a adaptivní imunitní obrany, stejně jako k fyzickým bariérám omezujícím vstup patogenů. Vitamin D zvyšuje integritu epitelu a indukuje syntézu antimikrobiálního peptidu v epitelálních buňkách a makrofázích (Calder *et al.*, 2022). Kromě vitaminů hrají klíčovou roli také **stopové prvky** (např. zinek, měď, železo). Ačkoli jsou v těle přítomny ve velmi malém množství, hrají zásadní roli v metabolismu a správném fungování imunitního systému. Zvýšené riziko infekce v deficitních stavech vedlo k hypotéze, že doplňky stravy obsahující stopové prvky mohou zlepšit imunitní odpověď (Chiappini *et al.*, 2021).

3.3.1 Nekonvenční přístupy k prevenci

Otužování je nejčastěji plavání ve studené vodě v zimních měsících nebo chladných oblastech. V posledních letech je otužování stále oblíbenější a vyvinulo se v celoroční sport, ve kterém plavci soutěží. Několik studií naznačilo, že plavání ve studené vodě má řadu pozitivních účinků na zdraví člověka, způsobuje např. změny hematologických a endokrinních funkcí. Také přispívá k nižšímu výskytu infekcí horních cest dýchacích, zmírňuje poruchy nálad a přispívá k pocitu celkové pohody. Výskyt onemocnění horních cest dýchacích byl u otužilců o 40 % nižší ve srovnání s kontrolní skupinou, která tuto aktivitu neprovozuje. Ačkoli se ukázalo, že chronické vystavení chladnějším teplotám vody je pro zdraví člověka prospěšné, jiné studie poukazují i na určitá rizika (Knechtle *et al.*, 2020).

Dalším nekonvenčním přístupem k prevenci onemocnění HCD je užívání **probiotik**. Probiotika jsou tvořena živými mikroorganismy, a při správném podávání mají blahodárný účinek na konzumenta. U mnoha probiotických bakterií (např. *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., atd.) byly prokázány příznivé vlastnosti. Zmíněný rod *Lactobacillus* je nejpoužívanější k výrobě probiotik. Tento rod zahrnuje více než 200 druhů bakterií (Du *et al.*, 2022). Probiotika lze považovat za slibnou alternativu k antibiotikům, protože dokážou různými mechanismy eradikovat patogenní bakterie (Bustamante *et al.*, 2020). Probiotika obecně inhibují tvorbu biofilmu různými způsoby,

jako je snížení virulence patogenních bakterií, potlačení systémů *QS*, produkce antiadhezivních látek a změna optimálního mikroprostředí biofilmu změnou pH, výživy a kyslíkového gradientu (Mirghani *et al.*, 2022). Bylo také zjištěno, že probiotika jsou výhodná pro zkrácení epizod infekcí dýchacích cest a při užívání antibiotik (Li *et al.*, 2022). Alfahemolytické streptokoky *S. salivarius* a *S. oralis* jsou dva počáteční kolonizátoři HCD u zdravých lidí. O těchto bakteriích je známo, že chrání epiteliální buňky před kolonizací patogeny. Byl studován jejich potenciál jako probiotického kmene proti interakcím v polymikrobiálním biofilmu. Bylo prokázáno, že vykazují probiotickou aktivitu a inhibují tvorbu smíšeného biofilmu patogenů HCD (např. *Str. pyogenes* a *S. aureus*) (Anju *et al.*, 2022).

Dalším značně nekonvenčním preventivním principem je užívání **ženšenu**. Studie provedené na zvířatech prokázaly, že ženšen vyvolává silnou imunitní odpověď, která chrání před bakteriálními a virovými infekcemi. Působí disperzi zralých biofilmů a také potlačuje jejich vývoj (Alsayari *et al.*, 2021).

4. ANTIMIKROBIÁLNÍ A ANTIBIOFILMOVÁ TERAPIE

V současnosti je podání antibiotik klíčovým terapeutickým přístupem používaným k léčbě infekcí způsobených bakteriemi v planktonní formě, tak i k léčbě infekcí spojených s bakteriemi v biofilmu. Mechanismus působení antibiotik se zaměřuje na procesy, které jsou nezbytné pro růst a přežití bakterií. Zcela konvenční antimikrobiální léčba většinou není účinná proti chronickým infekcím. Infekce spojené s biofilmem vykazují až tisíckrát vyšší rezistenci vůči antibiotikům než infekce vyvolané planktonními bakteriemi (Ahsan *et al.*, 2024). V boji proti infekcím způsobeným bakteriemi rostoucími v biofilmu se zkoumají inovativní přístupy, jako je použití **antimikrobiálních peptidů**, **nanotechnologie**, povrchové modifikace lékařských instrumentů a také aplikace **bakteriofágů** (Mayorga-Ramos *et al.*, 2024).

4.1. Antibiotika

Antibiotika mohou být klasifikována jako bakteriostatická (inhibující buněčný růst) nebo baktericidní (způsobující buněčnou smrt). Účinky antibiotik jednotlivých tříd se specificky zaměřují na jednu z mnoha buněčných funkcí (např. syntéza DNA a RNA, tvorba buněčných proteinů nebo buněčné stěny) (Benyamini, 2024). Hueber *et al.* (2017) uvedli, že antibiotika jsou často předepisována při infekcích dýchacích cest. Nedávná analýza dat z německé ambulantní péče uvádí, že antibiotika byla předepisována u 30 % všech pacientů s infekcemi dýchacích cest, kteří svůj stav konzultovali s praktickým lékařem. Avšak většina infekcí dýchacích cest jsou virového původu a antibiotická léčba tak není účinná (Hueber *et al.*, 2017).

Chronické infekce způsobené multirezistentními patogeny představují velkou výzvu pro jejich eradikaci. Tyto infekce jsou velice odolné vůči konvenčním antibiotikům, a to i z důvodu přítomnosti bakterií ve formě biofilmu. Dále mohou tyto infekce ovlivnit také imunitní odpověď hostitele. Přetrvávající infekce související s tvorbou biofilmů představují významnou hrozbu, pokud jde o morbiditu a mortalitu pacientů a také náklady spojené se zdravotní péčí (Zafer *et al.*, 2024). Bakteriální biofilmy poskytují vynikající a stabilní prostředí homeostázy. Brání imunitním buňkám hostitelského organismu a stejně tak antibiotikům vstoupit do komunity bakteriálního biofilmu. Zároveň chrání mikroorganismy ve struktuře biofilmu před účinky změn pH krve, osmotického tlaku

a nedostatku živin. Poskytnutím fyzické bariéry vůči okolnímu prostředí spolu bakterie mohou komunikovat a koexistovat i v nepříznivých podmínkách (Zhao *et al.*, 2023).

4.1.1. Mechanismy působení antibiotik

Antibiotika inhibující replikaci DNA

Binární štěpení je způsob buněčného dělení, při kterém bakterie vytvářejí dvě dceřiné buňky (Bhattacharyya, 2012). Před samotným dělením musí bakterie vytvořit přesné kopie kruhové DNA (replikace DNA). Řetězec dvoušroubovice DNA je rozdělen na dva jednoduché řetězce enzymem DNA helikázou. Následně enzym DNA polymeráza syntetizuje nová vlákna DNA, která jsou komplementární k původním řetězcům. Aktivita DNA polymerázy a DNA helikázy způsobuje vznik pozitivních superhelikálních zákrutů DNA. Pokud tyto zákruty nejsou odstraněny, replikace DNA je zastavena. Odstranění těchto pozitivních superhelikálních zákrutů zajišťuje enzym DNA gyráza (topoizomeráza II). V případě, že jsou superhelikální zákruty odstraněny, replikace pokračuje a je dokončena za vzniku dvou kruhových DNA. Následně dochází k rozdělení buňky. Mezi antibiotika ovlivňující tento proces patří fluorochinolová antibiotika, která brání syntéze bakteriální DNA inhibicí aktivity DNA gyrázy a topoizomerázy IV (Halawa *et al.*, 2024).

Antibiotika inhibující syntézu bílkovin

Syntéza bílkovin je základní proces probíhající ve všech buňkách. Ribozom překládá genetickou informaci uloženou v *messenger* RNA (*mRNA*) do struktury proteinů (Lin *et al.*, 2018). Bakteriální ribozom se skládá ze tří typů *mRNA* (16S, 23S a 5S) a z více než 50 proteinů tvořících dvě samostatné podjednotky, a to malou podjednotku (30S) a velkou podjednotku (50S). Tyto dvě podjednotky tvoří ribozom 70S (Ramakrishnan, 2002). Pro efektivní translaci je nezbytné zapojení mnoha proteinových faktorů postupně interagujících s ribozomem. Translační faktory řídí ribozom cyklem syntézy proteinu prostřednictvím vysoce regulovaných a koordinovaných kroků. Tento proces můžeme rozdělit do čtyř základních fází, a to iniciace, elongace, terminace a recyklace ribozomu (Lin *et al.*, 2018).

Mezi antibiotika, která cílí na inhibici ribozomální podjednotky 30S, patří aminoglykosidy. Tato antibiotika mají kladný náboj, což je přitahuje k negativně nabitě vnější membráně bakterií. Tato antibiotika způsobují tvorbu velkých pórů v membráně. Cílem aminoglykosidů je 16S *rRNA* v 30S podjednotce ribozomu (Halawa *et al.*, 2024). Mezi inhibitory 50S podjednotky patří např. makrolidy, linkosamidy, streptogramin, amphenicol a oxazolidinon.

Tato antibiotika působí tak, že fyzicky blokují zahájení translace proteinu, nebo translokaci peptidyl-*t*RNA. Tím dochází k inhibici reakce peptidyltransferázy, která prodlužuje peptidový řetězec (Kohanski *et al.*, 2010).

Antibiotika inhibující syntézu buněčné stěny

Většina bakterií má buněčnou membránu uzavřenou v buněčné stěně. Bakteriální buněčná stěna plní dvě hlavní funkce, udržuje charakteristický tvar bakterie a zabraňuje jejímu prasknutí při osmotickém proudění vody do buňky. Peptidoglykan je klíčovou částí buněčné stěny. Střídají se v něm N-acetylmuramová kyselina a N-acetylglukosamin. Tyto dvě látky jsou spojeny řetězcí aminokyselin. Syntéza peptidoglykanu zahrnuje několik kroků vedoucích ke tvorbě buněčné stěny (Halawa *et al.*, 2024). β -laktamová antibiotika se vážou na enzymy zapojené do syntézy buněčné stěny známé jako proteiny vázající penicilin a tím inhibují syntézu peptidoglykanu. Inhibice těchto proteinů oslabuje buněčnou stěnu, což vede k inhibici buněčného růstu a často i k buněčné smrti (Rice, 2012).

Antibiotika inhibující metabolismus kyseliny listové

Tato antibiotika jsou navržena tak, aby selektivně inhibovala některý z klíčových enzymů, které jsou zapojeny do metabolické dráhy kyseliny listové. Na dihydropteroátsyntázu se zaměřují sulfonamidová antibiotika. Na dihydrofolátreduktázu, další důležitý enzym v metabolické dráze kyseliny listové, cílí trimethoprimová antibiotika (Halawa *et al.*, 2024).

4.1.2. Rezistence k antibiotikům

Odolnost biofilmu k antimikrobiálním látkám se zásadně liší od antimikrobiální rezistence, kterou můžeme pozorovat u planktonních bakterií. Tato antimikrobiální tolerance je připisována mnoha faktorům, jako je omezená penetrace antibiotika přes matici biofilmu a fyziologická heterogenita mikrobiálních buněk (předpokládá se, že biofilmy udržují buňky v několika stavech současně, a to rostoucí, adaptované na stres, dormantní i neaktivní). Důležitou roli hraje také exprese genů specifických pro biofilm (Zafer *et al.*, 2024). Složení extracelulární polymerní matrice biofilmu se mění v závislosti na okolním prostředí. Tento jev může činit biofilmy až zcela nepropustnými pro různá antibiotika (Mirghani *et al.*, 2022), což může výrazně snížit účinnost orálně podávaných β -laktamů, chinolonů, aminoglykosidů a makrolidů. β -laktamy mohou být navíc hydrolyzovány bakteriálními β -laktamázami (Gallant *et al.*, 2005). Některé složky tvořící biofilmy nesou kladný náboj, čímž vytvářejí elektrochemickou bariéru bránící průniku některých kationtových antibiotik (např. aminoglykosidy) (Xiao, Li a Sun, 2023).

Efluxní pumpy jsou membránové proteiny kódované geny umístěnými v chromozomech, i v plasmidech. Efluxní pumpy existují u všech druhů bakterií a jsou schopny vytlačit z buněk široké spektrum substrátů (např. antibiotika, biocidy, barviva, těžké kovy, toxiny, metabolity, atd.). Nadměrná exprese efluxních pump tedy vede k antibiotické rezistenci tím, že brání intracelulární akumulaci léčiva (Ren *et al.*, 2024). Mezi látky transportované z buněk pomocí efluxních patří např. chinolony, aminoglykosidy a makrolidy (Reza *et al.*, 2019).

Celková odolnost biofilmu se skládá jak z rezistence jednotlivých buněk mikroorganismů, tak také odolnosti celé biofilmové struktury. Rezistence se týká tedy především schopnosti mikroorganismu přežít a růst při zvýšených koncentracích antibiotik. Je kvantifikovatelná stanovením minimální inhibiční koncentrace (MIC). Zahrnuje mechanismy, které brání vazbě antibiotika na jeho cíl (např. enzymatické deaktivace, aktivního efluxu léku, aj.). Tyto mechanismy zabraňují tomu, aby antibiotika změnila funkci nebo poškodila cíl jejich působení. Dále zabraňují produkci toxických produktů, které by nakonec poškodily buňku. Rezistence může být dále klasifikována na vnitřní, získanou, nebo adaptivní rezistenci (Uruén *et al.*, 2021). V Tabulce 1 jsou blíže popsány jednotlivé klasifikace antibiotické rezistence.

Tabulka 1. Druhy antibiotické rezistence (upraveno dle Uruén *et al.*, 2021)

Druh rezistence	Stručný popis
Vnitřní rezistence	Přírozená vlastnost bakterií odolávat antibiotikům. Např. Gram-negativní bakterie jsou obecně odolnější kvůli přítomnosti vnější membrány snižující propustnost antibiotik.
Získaná rezistence	Vzniká genetickými modifikacemi původně citlivých bakterií.
Adaptivní rezistence	Schopnost bakterie rychle měnit genovou expresi nebo produkci proteinů v reakci na antibiotika nebo nepříznivé podmínky prostředí.
Heterorezistence	Přítomnost jedné nebo několika subpopulací v dané populaci bakterií vykazujících zvýšenou úroveň antibiotické rezistence ve srovnání s hlavní populací. Často souvisí s přítomností nestabilních genů.

Hobby *et al.* (1942) zjistili, že penicilin může usmrtit pouze 99 % streptokokové kultury, a že zbývající 1 % buněk zůstává životaschopné. Termín antibiotická tolerance se používá k označení fenotypu bakteriální populace vykazující pomalejší rychlost usmrcení působením antibiotik. K tomu obvykle dochází v důsledku snížené rychlosti růstu v nepříznivém prostředí. Subpopulace tolerantní k antibiotikům může být také označena jako „přetrvávající“, pokud během antimikrobiální léčby vykazuje výrazně vyšší úroveň tolerance k antibiotiku než zbytek mikrobiální populace a není ji možné eliminovat ani při dlouhodobému užívání antibiotika (Wan *et al.*, 2024).

Rezistence na antibiotika je důsledkem dvou typů genetických událostí, a to mutacemi obecně (včetně přeuspořádání genomu a amplifikace) a získání genů rezistence na antibiotika. Mutace vedoucí k antibiotické rezistenci jsou výsledkem používání antibiotik k léčbě infekcí. Totéž platí pro získání mobilních genů rezistence, které se dříve u bakteriálních patogenů nevyskytovaly. V tomto případě však musely být tyto geny přítomny v jiných bakteriích (Martínez a Baquero, 2023). Získaná antibiotická rezistence je často důsledkem rezistence interakcí s plazmidem, mutací v chromozomálních genech nebo získáním externích genetických prvků rezistence (Sinha *et al.*, 2024).

4.1.3. Zachování účinnosti antibiotik

Světová zdravotnická organizace (WHO) zdůrazňuje potřebu lepšího a koordinovaného celosvětového úsilí o omezení antimikrobiální rezistence. V roce 2001 představila WHO *Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance*, která nabízí rámec intervencí zaměřených na zpomalení vzniku rezistence a omezení šíření mikroorganismů odolných vůči antimikrobiálním látkám. V roce 2012 WHO publikovala dokument *The Evolving Threat of Antimicrobial Resistance – Options for Action*. Tento dokument zahrnuje kombinaci intervencí, jako je posílení zdravotnických systémů, zlepšení používání antimikrobiálních látek v klinické praxi, dále také prevenci a kontrolu infekčních agens, podporu vývoje nových léků a vakcín (Prestinaci *et al.*, 2015).

Většina intervencí k omezení antibiotické rezistence je založena na snížení množství používání antibiotik. Přestože jsou tyto strategie potřebné, nestačí to. Jak bylo uvedeno výše, rezistence na antibiotika je nevyhnutelným výsledkem léčby infekcí antibiotiky (Martínez a Baquero, 2023). Jednou ze strategií boje proti rostoucí antimikrobiální rezistenci je zaměřit se na faktory virulence patogenních bakterií. Faktory virulence přispívají

k onemocnění tím, že buď poškozují hostitele, nebo umožňují bakteriím unikat imunitnímu systému hostitele. Antivirulentní látky proto mají schopnost snížit potřebu antibiotik a snížit vznik a šíření rezistence k antibiotikům (Filipić *et al.*, 2024).

4.2. Antimikrobiální peptidy

Antimikrobiální peptidy (AMP) lze klasifikovat na základě jejich původu, aktivity, strukturních charakteristik a procesu syntézy. Relativně vysoké náklady spojené s chemickou syntézou AMP vedou k většímu zájmu o peptidy mikrobiálního původu (Singh *et al.*, 2023). Přírodní AMP mají širokospektrou aktivitu proti Gram-pozitivním a Gram-negativním bakteriím, virům (např. HIV, HCV), houbám i parazitům. Vykazují také cytostatické vlastnosti (Mazurkiewicz-Pisarek *et al.*, 2023). AMP lze izolovat z obojživelníků a hmyzu. Příkladem AMP izolovaného z hmyzu je melittin, který je hlavní složkou včelího jedu (Uruén *et al.*, 2021). Jako zdroj můžou sloužit také různé mikroorganismy (např. bakterie a houby). Např. nisin a gramicidin jsou klasickými příklady těchto peptidů pocházejících z bakterií *Lactococcus lactis*, *Bacillus subtilis* a *Bacillus brevis*.

Mezi hlavní účinky AMP patří narušení integrity bakteriální buněčné stěny a interference s intracelulárními metabolickými procesy. Přesné mechanismy působení peptidů se liší v závislosti na druhu mikroorganismu. Zatímco iniciace interakce závisí výhradně na elektrostatických silách, účinky AMP na membránu jsou závislé na vlastnostech peptidů (např. struktura, velikost, náboj, amfipatičnost a složení samotné membrány). Obecně jsou uplatňovány dva mechanismy, prvním z nich je přímá eradikace buněk narušením buněčné membrány a druhým je imunomodelační působení (Mba a Nweze, 2022).

Bakare *et al.* (2023) uvedli, že AMP mají vlastnosti umožňující narušovat tvorbu biofilmu, inhibovat růst a eradikovat již vytvořené biofilmy. AMP mohou pronikat do matrice biofilmu, interagovat zde s mikrobiálními buňkami a uplatňovat své antimikrobiální účinky prostřednictvím mechanismů, jako je narušení membrány, tvorba pórů, inhibice produkce matrice biofilmu a modulace mikrobiálních signálních drah.

4.3. Nanotechnologie

Nanotechnologie se zabývá částicemi o velikosti 10–100 nm. Tyto částice jsou široce používány v různých oblastech včetně medicíny a somatologie (Anju *et al.*, 2022). Nástup nanotechnologií a zejména nanomedicíny umožnil nové možnosti diagnostiky a léčby

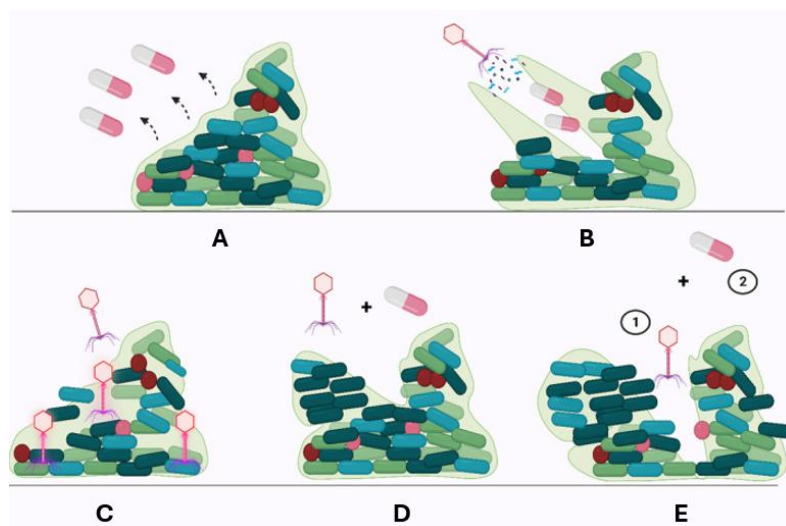
mnoha onemocnění. Nanomateriály mají díky své velikosti a povrchovým vlastnostem potenciál překonat mnohé bariéry. Nanočástice byly v posledním desetiletí rozsáhle studovány jako nosiče léků např. v onkologii, imunoterapii a neurovědách. Nabízejí také mnoho možností pro eradikaci odolných bakterií, zejména v kombinaci s aktivními molekulami (Sahli *et al.*, 2022).

Nanotechnologie byly také popsány jako vhodná alternativa nebo doplňková terapeutika pro eradikaci biofilmů. Mohou pronikat vnější EPS membránou a dopravovat antimikrobiální látky přímo do cílových buněk patogenů bez degradace účinné látky. Mohou též zlepšit dobu uvolňování a retence antimikrobiálních látek. Navíc prokázaly antimikrobiální vlastnosti, které by mohly být využity k vývoji nových materiálů nebo jejich povrchové úpravy (Rao *et al.*, 2021).

4.4. Bakteriofágy

Bakteriofágy patří mezi obligátní intracelulární parazity. Tyto částice jsou tvořeny nukleovou kyselinou, která je obklopena trojrozměrnou kapsidou, ta může nebo nemusí být obklopena lipoproteinovým obalem. Některé bakteriofágy disponují ocasovou strukturou se spirálovou pochvou, kde jsou obvykle vlákna prezentující proteiny zodpovědné za vazbu na receptor (membránu cílového hostitele) (Elois *et al.*, 2023).

Penetrace bakteriofágů do matrice bakteriálního biofilmu je ovlivňována řadou faktorů (např. stáří biofilmu, hustota, molekulární struktura, extracelulární enzymy inaktivující fágy vylučované různými bakteriemi) (Singh *et al.*, 2022). Mezi klíčové vlastnosti bakteriofágů patří schopnost sebereplikace v hostitelských bakteriích rostoucích v biofilmu a rychlá replikace díky níž dosahují rychle vysoké populační hustoty. Bakteriofágy navíc vykazují lytickou aktivitu a produkují enzymy, které degradují matici biofilmu, čímž usnadňují jeho penetraci (Mayorga-Ramos *et al.*, 2024). Kombinace fágové terapie s antibiotiky se v současnosti jeví jako nejúčinnější strategie v boji proti biofilmu. V praxi se často osvědčuje kombinace i s dalšími látkami, např. desinfekčními prostředky pro eradikaci biofilmu na površích. Avšak v některých případech může aplikace fágů paradoxně vést ke zvýšené agregaci bakterií v biofilmu, vyšší povrchové adhezi a produkci fimbrií. To je často pozorováno u Gram-negativních bakterií. Důsledkem je inhibice pronikání fágů přes biofilm (Talapko a Škrlec, 2020). Obrázek 16 znázorňuje možnosti využití bakteriofágů k eradikaci bakterií v biofilmu.



Obrázek 16. Působení bakteriofágů na buňky v biofilmu, A – biofilmová kultura rezistentní k antibiotiku, B – bakteriofág ničící extracelulární matrix a umožňující vstup antibiotika, C – penetrace bakteriofága přes biofilm a D, E – postupné ošetření biofilmů fágem a antibiotikem (Shariati, Noei a Chegini, 2023)

4.5. Inhibitory *QS*

Bakterie, které dokážou rozpoznat signály *QS*, mohou tuto formu komunikace cíleně narušovat v různých fázích jejího průběhu. Mezi hlavní mechanismy účinku inhibitorů *QS* patří inhibice syntézy signálních molekul a štěpení signálních molekul enzymatickou degradací. Inhibitory mohou také soutěžit se signálními molekulami o vazbu na receptory. Mají schopnost blokovat vazby signálních molekul na genové promotory a inhibovat expresi genů. Další strategií je vychytávání autoinduktorů pomocí protilátek nebo makromolekul, jako jsou cyklodextriny (Hetta *et al.*, 2024).

Narušení *QS* komunikace zvyšuje zranitelnost bakterií vůči imunitní odpovědi hostitele i vůči antibiotické léčbě. Inhibitory *QS* navíc mohou snižovat produkci faktorů virulence a podporovat účinnost imunitního systému. Dosud bylo identifikováno velké množství látek s potenciálem ovlivnit *OS* signalizaci. Jejich využití umožňuje snižovat dávky podávaných antibiotik a zároveň snižuje riziko vzniku antimikrobiální rezistence (Mitra, 2024).

4.6. Inhibitory efluxních pump

Jako bylo již zmíněno dříve, efluxní pumpy jsou membránové proteiny. Existují u všech druhů bakterií a mají schopnost vytlačit z buněk široké spektrum substrátů vč. antibiotik. Jejich nadměrná exprese tedy vede k antimikrobiální rezistenci, jelikož brání intracelulární akumulaci léčiva. Předchozí výzkum dokázal, že nedostatek efluxních pump pozitivně ovlivňuje tvorbu biofilmu, tedy zabraňuje jeho tvorbě a růstu. V této souvislosti lze efluxní pumpy považovat za potenciální cíle pro inhibici biofilmu. Obecně platí, že pozitivní účinky

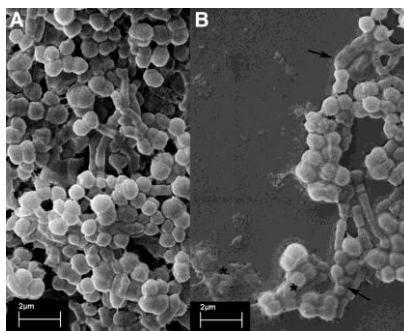
efluxních pump spoléhají hlavně na zprostředkování motility mikroorganismů a produkci extracelulární matrix. Absence těchto čerpadel tedy může ohrozit přilnavost organismů nebo vytvoření zralých struktur biofilmu, což vede ke snížení tvorby biofilmu (Ren *et al.*, 2024).

Zack *et al.* (2024) uvedli, že inhibitory efluxních pump (EPI) představují potenciální řešení v boji proti antibiotické rezistenci. Lze je rozdělit dle zdroje na rostlinné, syntetické a pocházející z mikroorganismů. Cílem EPI je učinit rezistentní bakterie vnímavé k požadovanému antibiotiku zablokováním jejich efluxních pump. Mohou tak činit pomocí různých mechanismů, včetně kompetitivní nebo nekompetitivní inhibice, disipace protonového gradientu, potlačení exprese genů kódujících efluxní pumpy (Zack *et al.*, 2024).

4.7. Další možnosti inhibice biofilmu a léčby infekcí

V lékařských zařízeních a protetice může být k inhibici tvorby biofilmu použito nanosení **antiadhezní vrstvy** omezující adhezi mikroorganismů. Povlak tvoří drsnou strukturu nebo nabitý povrch, a to ho činí méně kompatibilní s proteiny mikroorganismů. Příklady těchto nátěrových sloučenin jsou trimethylsilan a kyselina selenocyanatodioctová (Mirghani *et al.*, 2022). Fyzikální metody zahrnují ionizující a ultrafialové záření (Zhao *et al.*, 2023).

Další možností je **fotodynamická terapie (PDT)** a **fototermální terapie (PTT)**. Tyto metody jsou uznávány jako úspěšné přístupy k léčbě biofilmových infekcí. PTT zvyšuje infiltraci antimikrobiálních látek do biofilmů a brání vzniku antibiotické rezistence. Infračervené světlo redukuje biofilm přibližně o 50 %. Avšak vysoké dávky ozařování a koncentrace fotosenzibilátorů používané v PTT a PDT k odstranění biofilmů mohou potenciálně vést k poškození tkání a k zánětu (Zafer *et al.*, 2024). Na Obrázku 17 je vizualizace účinku PDT.



Obrázek 17. Biofilm tvořený bakteriemi *Enterococcus faecalis* a *Pseudomonas aeruginosa*, A – před ošetřením a B – po ošetření pomocí PDT (Garcez *et al.*, 2013)

Enzymy narušující ECM jsou také potenciálně vhodnými inhibitory biofilmu. Přidání exogenních enzymů jako je dispersin B nebo DNáza I hydrolyzující extracelulární DNA v kombinaci s antibiotiky, dochází k eradikaci biofilmů různých druhů (Uruén *et al.*, 2021). Další možností jsou **esenciální oleje** extrahované z rostlin obsahují složité směsi těkavých látek (terpeny, terpenoidy a fenoly). Některé z těchto sloučenin mají antimikrobiální aktivitu a tvoří součást imunitního obranného mechanismu rostlin. Několik studií uvádí také antibiofilmovou aktivitu těchto sloučenin. Mnohé z nich poškozují bakteriální membrány, jiné regulují expresi genů zapojených do tvorby a šíření biofilmu (Uruén *et al.*, 2021). Další slibnou strategií k léčbě infekcí spojených s bakteriemi rezistentními k antibiotikům je **kombinovaná terapie**. Dodatečný stres způsobený kombinací léčiv může způsobit vyšší účinnost terapie než při použití léčiva samostatně (Xiao a Sun, 2023).

ZÁVĚR

Infekce horních cest dýchacích patří mezi nejčastější onemocnění postihující lidskou populaci napříč věkovými skupinami. Ačkoli bývají často označovány za onemocnění banální, v řadě případů mohou vést k závažnými komplikacím, a to zejména při recidivujícím či chronickém průběhu. Infekce horních cest dýchacích mohou být virového i bakteriálního původu. Nejčastějšími bakteriálními původci jsou *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* a *Staphylococcus aureus*. Tyto bakterie způsobují širokou škálu onemocnění jako je rinosinitida, faryngitida, laryngitida, zánět středního ucha nebo tonsilitida. Mnohé studie popisují výskyt těchto bakteriálních původců ve formě biofilmu. Biofilm poskytuje bakteriím ochranu před vnějšími vlivy a tím napomáhá k perzistenci infekce, obtížnější eradikaci a nárůstu antibiotické rezistence. Biofilmové uspořádání hraje klíčovou roli v patogenezi infekcí jimi způsobených a významně to ovlivňuje diagnostiku i léčbu vyvolaného onemocnění. Porozumění tvorbě biofilmu je proto zásadní pro pochopení patogeneze infekcí horních cest dýchacích a také pro vývoj nových terapeutických strategií. Do budoucna je důležité zaměření výzkumu na hledání účinných metod prevence, detekce a léčby infekcí souvisejících s biofilmem.

POUŽITÁ LITERATURA

- Abu Bakar, M., McKimm, J., Haque, S. Z., Majumder, A. A., & Haque, M.** (2018). Chronic tonsillitis and biofilms: A brief overview of treatment modalities. *Journal of Inflammation Research*, *11*, 329–337.
<https://doi.org/10.2147/JIR.S162486>
- Aggarwal, N., Kitano, S., Pua, G. R. Y., Kittelmann, S., Hwang, I. Y., & Chang, M. W.** (2023). Microbiome and human health: Current understanding, engineering, and enabling technologies. *Chemical Reviews*, *123*(1), 31–72.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.2c00431>
- Ahsan, A., Thomas, N., Barnes, T. J., Subramaniam, S., Loh, T. C., Joyce, P., & Prestidge, C. A.** (2024). Lipid nanocarriers-enabled delivery of antibiotics and antimicrobial adjuvants to overcome bacterial biofilms. *Pharmaceutics*, *16*(3), 396.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16030396>
- Akyıldız, I., Take, G., Uygur, K., Kızıl, Y., & Aydil, U.** (2013). Bacterial biofilm formation in the middle-ear mucosa of chronic *otitis media* patients. *Indian Journal of Otolaryngology and Head and Neck Surgery : Official Publication of the Association of Otolaryngologists of India*, *65*(Suppl 3), 557–561.
<https://doi.org/10.1007/s12070-012-0513->
- Alav, I., Sutton, J. M., & Rahman, K. M.** (2018). Role of bacterial efflux pumps in biofilm formation. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *73*(8), 2003–2020.
<https://doi.org/10.1093/jac/dky042>
- Alsayari, A., Muhsinah, A. B., Almaghaslah, D., Annadurai, S., & Wahab, S.** (2021). Pharmacological efficacy of ginseng against respiratory tract infections. *Molecules*, *26*(13), 4095.
<https://doi.org/10.3390/molecules26134095>
- Anju, V. T., Busi, S., Imchen, M., Kumavath, R., Mohan, M. S., Salim, S. A., Subhaswaraj, P., & Dyavaiah, M.** (2022). Polymicrobial infections and biofilms: clinical significance and eradication strategies. *Antibiotics*, *11*(12), 1731.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics11121731>
- Augustyniak, D., Sereďyński, R., McClean, S., Roszkowiak, J., Roszniowski, B., Smith, D. L., Drulis-Kawa, Z., & Mackiewicz, P.** (2018). Virulence factors of *Moraxella catarrhalis* outer membrane vesicles are major targets for cross-reactive antibodies and have adapted during evolution. *Scientific Reports*, *8*(1), 4955.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-23029-7>
- Bakare, O. O., Gokul, A., Niekerk, L. A., Aina, O., Abiona, A., Barker, A. M., Basson, G., Nkomo, M., Otomo, L., Keyster, M., & Klein, A.** (2023). Recent progress in the characterization, synthesis, delivery procedures, treatment strategies, and precision of antimicrobial peptides. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(14), 11864.
<https://doi.org/10.3390/ijms241411864>

- Bamford, N. C., MacPhee, C. E., & Stanley-Wall, N. R.** (2023). Microbial primer: An introduction to biofilms – what they are, why they form and their impact on built and natural environments. *Microbiology*, *169*(8), 001338.
<https://doi.org/10.1099/mic.0.001338>
- Barbosa, A., Miranda, S., Azevedo, N. F., Cerqueira, L., & Azevedo, A. S.** (2023). Imaging biofilms using fluorescence in situ hybridization: Seeing is believing. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *13*, 1195803.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1195803>
- Benyamini, P.** (2024). Beyond antibiotics: What the future holds. *Antibiotics*, *13*(10), 919.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics13100919>
- Bhattacharyya, S.** (2012). Do bacteria age? *Resonance*, *17*(4), 347–364.
<https://doi.org/10.1007/s12045-012-0037-4>
- Brouwer, S., Barnett, T.C., Rivera-Hernandez, T., Rohde, M. & Walker, M.J.** (2016), *Streptococcus pyogenes* adhesion and colonization. *FEBS Letters*, *590*, 3739–3757.
<https://doi.org/10.1002/1873-3468.12254>
- Bustamante, M., Oomah, B. D., Oliveira, W. P., Burgos-Díaz, C., Rubilar, M., & Shene, C.** (2020). Probiotics and prebiotics potential for the care of skin, female urogenital tract, and respiratory tract. *Folia Microbiologica*, *65*(2), 245–264.
<https://doi.org/10.1007/s12223-019-00759-3>
- Calder, P. C., Ortega, E. F., Meydani, S. N., Adkins, Y., Stephensen, C. B., Thompson, B., & Zwickey, H.** (2022). Nutrition, immunosenescence, and infectious disease: an overview of the scientific evidence on micronutrients and on modulation of the gut microbiota. *Advances in Nutrition*, *13*(5), S1–S26.
<https://doi.org/10.1093/advances/nmac052>
- Cleaver, L., & Garnett, J. A.** (2023). How to study biofilms: Technological advancements in clinical biofilm research. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *13*, 1335389.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1335389>
- Coenye, T., Ahonen, M., Anderson, S., Cámara, M., Chundi, P., Fields, M., Foidl, I., Gnimpieba, E. Z., Griffin, K., Hinks, J., Loka, A. R., Lushbough, C., MacPhee, C., Nater, N., Raval, R., Slater-Jefferies, J., Teo, P., Wilks, S., Yung, M., et al.** (2024). Global challenges and microbial biofilms: Identification of priority questions in biofilm research, innovation and policy. *Biofilm*, *8*, 100210.
<https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2024.100210>
- Cruz, C. S., Ricci, M. F., & Vieira, A. T.** (2021). Gut microbiota modulation as a potential target for the treatment of lung infections. *Frontiers in Pharmacology*, *12*, 724033.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2021.724033>
- Čihák, R.** (2013). *Anatomie 2: Třetí, upravené a doplněné vydání*. Grada. ISBN: 978-80-247-4788-0, 186–194.
<https://www.bookport.cz/kniha/anatomie-2-2222/>

Danielsen, K. A., Eskeland, O., Fridrich-Aas, K., Orszagh, V. C., Bachmann-Harildstad, G., & Burum-Auensen, E. (2014). Bacterial biofilms in patients with chronic rhinosinusitis: a confocal scanning laser microscopy study. *Rhinology Journal*, *52*(2), 150–155.

<https://doi.org/10.4193/Rhino13.053>

Davies, T., Peng, X., Salem, J., Elcioglu, Z. C., Kremneva, A., Gruber, M. -yin, Milinis, K., Mather, M. W., Powell, J., & Sharma, S. (2025). A systematic review and meta-analysis of the efficacy of antimicrobial chemoprophylaxis for recurrent acute *otitis media* in children. *Clinical Otolaryngology*, *50*(1), 1–14.

<https://doi.org/10.1111/coa.14240>

Denton, O., Wan, Y., Beattie, L., Jack, T., McGoldrick, P., McAllister, H., Mullan, C., Douglas, C. M., & Shu, W. (2024). Understanding the role of biofilms in acute recurrent tonsillitis through 3D bioprinting of a novel gelatin-pegda hydrogel. *Bioengineering*, *11*(3), 202.

<https://doi.org/10.3390/bioengineering11030202>

Du, T., Lei, A., Zhang, N., & Zhu, C. (2022). The beneficial role of probiotic *Lactobacillus* in respiratory diseases. *Frontiers in Immunology*, *13*, 908010.

<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.908010>

Dylevský, I. (2009). *Funkční anatomie*. Grada. ISBN: 978-80-247-3240-4, 342–344.

<https://www.bookport.cz/kniha/funkcni-anatomie-1888/>

Elois, M. A., Silva, R. D., Pilati, G. V. T., Rodríguez-Lázaro, D., & Fongaro, G. (2023). Bacteriophages as biotechnological tools. *Viruses*, *15*(2), 349.

<https://doi.org/10.3390/v15020349>

Eloy, J. A., & Govindaraj, S. (2008). Microbiology and immunology of rhinosinusitis. *Rhinosinusitis: A Guide for Diagnosis and Management*, 1–12.

https://doi.org/10.1007/978-0-387-73062-2_2

Fastenberg, J. H., Hsueh, W. D., Mustafa, A., Akbar, N. A., & Abuzeid, W. M. (2016). Biofilms in chronic rhinosinusitis: Pathophysiology and therapeutic strategies. *World Journal of Otorhinolaryngology - Head and Neck Surgery*, *2*(4), 219–229.

<https://doi.org/10.1016/j.wjorl.2016.03.002>

Fiedler, T., Köller, T., & Kreikemeyer, B. (2015). *Streptococcus pyogenes* biofilms - formation, biology, and clinical relevance. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *5*, 15.

<https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00015>

Filipić, B., Ušjak, D., Rambaher, M. H., Oljatic, S., & Milenković, M. T. (2024). Evaluation of novel compounds as anti-bacterial or anti-virulence agents. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *14*, 1370062.

<https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1370062>

Fleming, D., & Rumbaugh, K. (2017). Approaches to dispersing medical biofilms. *Microorganisms*, *5*(2), 15.

<https://doi.org/10.3390/microorganisms5020015>

- Funari, R., & Shen, A. Q.** (2022). Detection and characterization of bacterial biofilms and biofilm-based sensors. *ACS Sensors*, 7(2), 347–357.
<https://doi.org/10.1021/acssensors.1c02722>
- Gallant, C. V., Daniels, C., Leung, J. M., Ghosh, A. S., Young, K. D., Kotra, L. P., & Burrows, L. L.** (2005). Common β -lactamases inhibit bacterial biofilm formation. *Molecular Microbiology*, 58(4), 1012–1024.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.04892.x>
- Garcez, A. S., Núñez, S. C., Azambuja, N., Jr, Fregnani, E. R., Rodriguez, H. M., Hamblin, M. R., Suzuki, H., & Ribeiro, M. S.** (2013). Effects of photodynamic therapy on Gram-positive and Gram-negative bacterial biofilms by bioluminescence imaging and scanning electron microscopic analysis. *Photomedicine and Laser Surgery*, 31(11), 519–525.
<https://doi.org/10.1089/pho.2012.3341>
- Ghosh Moulic, A., Deshmukh, P., & Gaurkar, S. S.** (2024). A comprehensive review on biofilms in otorhinolaryngology: Understanding the pathogenesis, diagnosis, and treatment strategies. *Cureus* 16(4), e57634.
<https://doi.org/10.7759/cureus.57634>
- González-García, S., Hamdan-Partida, A., Pérez-Ramos, J., Aguirre-Garrido, J. F., Bustos-Hamdan, A., & Bustos-Martínez, J.** (2024). Comparison of the bacterial microbiome in the pharynx and nasal cavity of persistent, intermittent carriers and non-carriers of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Medical Microbiology*, 73(12), 001940.
<https://doi.org/10.1099/jmm.0.001940>
- Govers, C., Calder, P. C., Savelkoul, H. F. J., Albers, R., & van Neerven, R. J. J.** (2022). Ingestion, immunity, and infection: Nutrition and viral respiratory tract infections. *Frontiers in Immunology*, 13, 841532.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.841532>
- Greeley M. A.** (2017). Immunopathology of the respiratory system. *Immunopathology in Toxicology and Drug Development: Volume 2, Organ Systems*, 419–453.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-47385-7_8
- Halawa, E. M., Fadel, M., Al-Rabia, M. W., Behairy, A., Nouh, N. A., Abdo, M., Olga, R., Fericean, L., Atwa, A. M., El-Nablaway, M., & Abdeen, A.** (2024). Antibiotic action and resistance: Updated review of mechanisms, spread, influencing factors, and alternative approaches for combating resistance. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1305294.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1305294>
- Hetta, H. F., Ramadan, Y. N., Rashed, Z. I., Alharbi, A. A., Alsharif, S., Alkindy, T. T., Alkhamali, A., Albalawi, A. S., Battah, B., & Donadu, M. G.** (2024). Quorum sensing inhibitors: An alternative strategy to win the battle against multidrug-resistant (MDR) bacteria. *Molecules*, 29(15), 3466.
<https://doi.org/10.3390/molecules29153466>

- Hobby, G. L., Meyer, K., & Chaffee, E.** (1942). Observations on the mechanism of action of penicillin. *Experimental Biology and Medicine*, *50*(2), 281–285.
<https://doi.org/10.3181/00379727-50-13773>
- Høiby, N.** (2017). A short history of microbial biofilms and biofilm infections. *APMIS*, *125*(4), 272–275.
<https://doi.org/10.1111/apm.12686>
- Howden, B. P., Giulieri, S. G., Wong Fok Lung, T., Baines, S. L., Sharkey, L. K., Lee, J. Y. H., Hachani, A., Monk, I. R., & Stinear, T. P.** (2023). Staphylococcus aureus host interactions and adaptation. *Nature Reviews Microbiology*, *21*(6), 380–395.
<https://doi.org/10.1038/s41579-023-00852-y>
- Huang, F., Liu, F., Zhen, X., Gong, S., Chen, W., & Song, Z.** (2024). Pathogenesis, diagnosis, and treatment of infectious rhinosinusitis. *Microorganisms*, *12*(8), 1690.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms12081690>
- Hueber, S., Kuehlein, T., Gerlach, R., Tauscher, M., Schedlbauer, A., & Liu, C.** (2017). "What they see is what you get": Prescribing antibiotics for respiratory tract infections in primary care: Do high prescribers diagnose differently? An analysis of German routine data. *PLOS One*, *12*(12), e0188521.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188521>
- Chen, H., Zhang, J., He, Y., Lv, Z., Liang, Z., Chen, J., Li, P., Liu, J., Yang, H., Tao, A., & Liu, X.** (2022). Exploring the role of staphylococcus aureus in inflammatory diseases. *Toxins*, *14*(7), 464.
<https://doi.org/10.3390/toxins14070464>
- Chen, J., Lai, X., Song, Y., & Su, X.** (2024). Neuroimmune recognition and regulation in the respiratory system. *European Respiratory Review: An Official Journal of the European Respiratory Society*, *33*(172), 240008.
<https://doi.org/10.1183/16000617.0008-2024>
- Chiappini, E., Santamaria, F., Marseglia, G. L., Marchisio, P., Galli, L., Cutrera, R., de Martino, M., Antonini, S., Becherucci, P., Biasci, P., Bortone, B., Bottero, S., Caldarelli, V., Cardinale, F., Gattinara, G. C., Ciarcià, M., Ciofi, D., D'Elia, S., Di Mauro, G., Doria, M., Villani, A., *et al*** (2021). Prevention of recurrent respiratory infections: Inter-society consensus. *Italian Journal of Pediatrics*, *47*(1), 211.
<https://doi.org/10.1186/s13052-021-01150-0>
- Cho, K. H., Port, G. C., & Caparon, M.** (2019). Genetics of group A Streptococci. *Microbiology Spectrum*, *7*(2).
<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0056-2018>
- Chuang, Y. J., Hwang, S. J., Buhr, K. A., Miller, C. A., Avey, G. D., Story, B. H., & Vorperian, H. K.** (2022). Anatomic development of the upper airway during the first five years of life: A three-dimensional imaging study. *PLOS One*, *17*(3), e0264981.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264981>

- Jenkins, I. A., & Saunders, M.** (2009). Infections of the airway. *Pediatric Anesthesia*, 19(s1), 118–130.
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9592.2009.02999.x>
- Jespersen, M. G., Lacey, J. A., Tong, S. Y. C., & Davies, M. R.** (2020). Global genomic epidemiology of *Streptococcus pyogenes*. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 86, 104609.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104609>
- Kinnari, T. J., Lampikoski, H., Hyyrynen, T., & Aarnisalo, A. A.** (2012). Bacterial biofilm associated with chronic laryngitis. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery*, 138(5), 467–470.
<https://doi.org/10.1001/archoto.2012.637>
- Kisiel, M. A., Zhou, X., Björnsson, E., Holm, M., Dahlman-Höglund, A., Wang, J., Svanes, C., Norbäck, D., Franklin, K. A., Malinowski, A., Johannessen, A., Schlünssen, V., & Janson, C.** (2021). The risk of respiratory tract infections and antibiotic use in a general population and among people with asthma. *ERJ Open Research*, 7(4), 00429–2021.
<https://doi.org/10.1183/23120541.00429-2021>
- Kittnar, O.** (2020). *Lékařská fyziologie: 2., přepracované a doplněné vydání*. Grada. ISBN: 978-80-247-1963-4.
<https://www.bookport.cz/kniha/lekarska-fyziologie-6172/>
- Knechtle, B., Waśkiewicz, Z., Sousa, C. V., Hill, L., & Nikolaidis, P. T.** (2020). Cold water swimming-benefits and risks: a narrative review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(23), 8984.
<https://doi.org/10.3390/ijerph17238984>
- Kohanski, M. A., Dwyer, D. J., & Collins, J. J.** (2010). How antibiotics kill bacteria: From targets to networks. *Nature Reviews Microbiology*, 8(6), 423–435.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro2333>
- Lee, S., Fernandez, J., Mirjalili, S. A., & Kirkpatrick, J.** (2022). Pediatric paranasal sinuses-development, growth, pathology, & functional endoscopic sinus surgery. *Clinical Anatomy (New York, N.Y.)*, 35(6), 745–761.
<https://doi.org/10.1002/ca.23888>
- Leewenhoek, A.** (1684). An abstract of a letter from Mr. Anthony Leewenhoek at Delft, dated Sep. 17. 1683. Containing some microscopical observations, about animals in the scurf of the teeth, the substance call'd worms in the nose, the cuticula consisting of scales. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 14(159), 568–574.
<https://doi.org/10.1098/rstl.1684.0030>
- Lemon, K. P., Earl, A. M., Vlamakis, H. C., Aguilar, C., & Kolter, R.** (2008). Biofilm development with an emphasis on *bacillus subtilis*. In t. Romeo (ed.), *Bacterial Biofilms* (pp. 1–16). Springer Berlin Heidelberg.
https://doi.org/10.1007/978-3-540-75418-3_1

Lemon, K. P., Klepac-Ceraj, V., Schiffer, H. K., Brodie, E. L., Lynch, S. V., Kolter, R., & Mekalanos, J. J. (2010). Comparative analyses of the bacterial microbiota of the human nostril and *oropharynx*. *MBio*, *1*(3), e00129–10.

<https://doi.org/10.1128/mBio.00129-10>

Li, X., Wang, Q., Hu, X., & Liu, W. (2022). Current status of probiotics as supplements in the prevention and treatment of infectious diseases. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *12*, 789063.

<https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.789063>

Lin, J., Zhou, D., Steitz, T. A., Polikanov, Y. S., & Gagnon, M. G. (2018). Ribosome-targeting antibiotics: modes of action, mechanisms of resistance, and implications for drug design. *Annual Review of Biochemistry*, *87*, 451–478.

<https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-062917-011942>

Liu, Y. -li, Ding, R., Jia, X. -miao, Huang, J. -jing, Yu, S., Chan, H. T., Li, W., Mao, L. -li, Zhang, L., Zhang, X. -yao, Wu, W., Ni, A. -ping, & Xu, Y. -chun. (2022). Correlation of *Moraxella catarrhalis* macrolide susceptibility with the ability to adhere and invade human respiratory epithelial cells. *Emerging Microbes & Infections*, *11*(1), 2055–2068.

<https://doi.org/10.1080/22221751.2022.2108341>

Mai-Prochnow, A., Clauson, M., Hong, J., & Murphy, A. B. (2016). Gram positive and Gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma. *Scientific Reports*, *6*(1), 38610.

<https://doi.org/10.1038/srep38610>

Manciula, L. G., Jeican, I. I., Tudoran, L. B., & Albu, S. (2020). Biofilms and inflammation in patients with chronic rhinosinusitis. *Medicine and Pharmacy Reports*, *93*(4), 374–383.

<https://doi.org/10.15386/mpr-1691>

Marks, L. R., Mashburn-Warren, L., Federle, M. J., & Hakansson, A. P. (2014). *Streptococcus pyogenes* biofilm growth in vitro and in vivo and its role in colonization, virulence, and genetic exchange. *The Journal of Infectious Diseases*, *210*(1), 25–34.

<https://doi.org/10.1093/infdis/jiu058>

Martínez, J. L., & Baquero, F. (2023). What are the missing pieces needed to stop antibiotic resistance? *Microbial Biotechnology*, *16*(10), 1900–1923.

<https://doi.org/10.1111/1751-7915.14310>

Mayorga-Ramos, A., Carrera-Pacheco, S. E., Barba-Ostria, C., & Guamán, L. P. (2024). Bacteriophage-mediated approaches for biofilm control. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *14*, 1428637.

<https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1428637>

Mazurkiewicz-Pisarek, A., Baran, J., & Ciach, T. (2023). Antimicrobial peptides: Challenging journey to the pharmaceutical, biomedical, and cosmeceutical use. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(10), 9031.

<https://doi.org/10.3390/ijms24109031>

- Mba, I. E., & Nweze, E. I.** (2022). Antimicrobial peptides therapy: An emerging alternative for treating drug-resistant bacteria. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 95(4), 445–463.
- Mhade, S., & Kaushik, K. S.** (2023). Tools of the trade: Image analysis programs for confocal laser-scanning microscopy studies of biofilms and considerations for their use by experimental researchers. *ACS Omega*, 8(23), 20163–20177.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.2c07255>
- Miellet, W. R., Mariman, R., van Veldhuizen, J., Badoux, P., Wijmenga-Monsuur, A. J., Litt, D., Bosch, T., Miller, E., Fry, N. K., van Houten, M. A., Rots, N. Y., Sanders, E. A. M., & Trzciński, K.** (2024). Impact of age on pneumococcal colonization of the nasopharynx and oral cavity: An ecological perspective. *ISME communications*, 4(1), ycae002.
<https://doi.org/10.1093/ismeco/ycae002>
- Michalik, M., & Krawczyk, B.** (2024). Chronic rhinosinusitis—microbiological etiology, potential genetic markers, and diagnosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(6), 3201.
<https://doi.org/10.3390/ijms25063201>
- Miller, K. M., Tanz, R. R., Shulman, S. T., Carapetis, J. R., Cherian, T., Lamagni, T., Bowen, A. C., Pickering, J., Fulurija, A., Moore, H. C., Cannon, J. W., Barnett, T. C., Van Beneden, C. A., Carapetis, J., & Van Beneden, C.** (2022). Standardization of epidemiological surveillance of group A streptococcal pharyngitis. *Open Forum Infectious Diseases*, 9(Supplement_1), S5-S14.
<https://doi.org/10.1093/ofid/ofac251>
- Mirghani, R., Saba, T., Khaliq, H., Mitchell, J., Do, L., Chambi, L., Diaz, K., Kennedy, T., Alkassab, K., Huynh, T., Elmi, M., Martinez, J., Sawan, S., & Rijal, G.** (2022). Biofilms: Formation, drug resistance and alternatives to conventional approaches. *AIMS Microbiology*, 8(3), 239–277.
<https://doi.org/10.3934/microbiol.2022019>
- Miron, V. D., & Craiu, M.** (2021). "Red throat" or acute pharyngitis - challenges in real life clinical practice. *Germs*, 11(3), 351–353.
<https://doi.org/10.18683/germs.2021.1271>
- Mitra, A.** (2024). Combatting biofilm-mediated infections in clinical settings by targeting quorum sensing. *The Cell Surface*, 12, 100133.
<https://doi.org/10.1016/j.tcs.2024.100133>
- Morawska-Kochman, M., Marycz, K., Jermakow, K., Nelke, K., Pawlak, W., & Bochnia, M.** (2017). The presence of bacterial microcolonies on the maxillary sinus ciliary epithelium in healthy young individuals. *PLOS One*, 12(5), e0176776.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176776>
- Morris, D. E., Osman, K. L., Cleary, D. W., & Clarke, S. C.** (2022). The characterization of *Moraxella catarrhalis* carried in the general population. *Microbial Genomics*, 8(5).
<https://doi.org/10.1099/mgen.0.000820>

- Mukherjee, S., & Bassler, B. L.** (2019). Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. *Nature Reviews Microbiology*, *17*(6), 371–382.
<https://doi.org/10.1038/s41579-019-0186-5>
- Nazzari, E., Torretta, S., Pignataro, L., Marchisio, P., & Esposito, S.** (2015). Role of biofilm in children with recurrent upper respiratory tract infections. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, *34*(3), 421–429.
<https://doi.org/10.1007/s10096-014-2261-1>
- Ni, N., Li, M., Wang, J., & Wang, B.** (2009). Inhibitors and antagonists of bacterial quorum sensing. *Medicinal Research Reviews*, *29*(1), 65–124.
<https://doi.org/10.1002/med.20145>
- Oliver, J., Malliya Wadu, E., Pierse, N., Moreland, N. J., Williamson, D. A., Baker, M. G., & Somily, A. M.** (2018). Group A *Streptococcus* pharyngitis and pharyngeal carriage: a meta-analysis. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *12*(3), e0006335.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006335>
- Pang, B., Armbruster, C. E., Foster, G., Learman, B. S., Gandhi, U., & Swords, W. E.** (2018). Autoinducer 2 (ai-2) production by nontypeable *Haemophilus influenzae* 86-028np promotes expression of a predicted glycosyltransferase that is a determinant of biofilm maturation, prevention of dispersal, and persistence *in vivo*. *Infection and Immunity*, *86*(12), e00506–18.
<https://doi.org/10.1128/IAI.00506-18>
- Paray, A. A., Singh, M., & Amin Mir, M.** (2023). Gram staining: A brief review. *International Journal of Research and Review*, *10*(9), 336–341.
<https://doi.org/10.52403/ijrr.20230934>
- Paulsson, M., & Riesbeck, K.** (2018). How bacteria hack the matrix and dodge the bullets of immunity. *European Respiratory Review*, *27*(148), 180018.
<https://doi.org/10.1183/16000617.0018-2018>
- Perchikov, R., Cheliukanov, M., Plekhanova, Y., Tarasov, S., Kharkova, A., Butusov, D., Arlyapov, V., Nakamura, H., & Reshetilov, A.** (2024). Microbial biofilms: Features of formation and potential for use in bioelectrochemical devices. *Biosensors*, *14*(6), 302.
<https://doi.org/10.3390/bios14060302>
- Perry, E. K., & Tan, M. W.** (2023). Bacterial biofilms in the human body: Prevalence and impacts on health and disease. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *13*, 1237164.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1237164>
- Pham, L. L., Bourayou, R., Maghraoui-Slim, V., & Koné-Paut, I.** (2017). Laryngitis, epiglottitis and pharyngitis. *Infectious Diseases*, 229–235.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6285-8.00025-3>
- Prestinaci, F., Pezzotti, P., & Pantosti, A.** (2015). Antimicrobial resistance: A global multifaceted phenomenon. *Pathogens and Global Health*, *109*(7), 309–318.
<https://doi.org/10.1179/2047773215Y.0000000030>

- Rahim, I., Napolitano, A., Burd, C., & Lingam, R. K.** (2023). Imaging of pharyngeal pathology. *The British Journal of Radiology*, *96*(1149), 20230046.
<https://doi.org/10.1259/bjr.20230046>
- Ramakrishnan V.** (2002). Ribosome structure and the mechanism of translation. *Cell*, *108*(4), 557–572.
[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(02\)00619-0](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)00619-0)
- Rao, H., Choo, S., Rajeswari Mahalingam, S. R., Adisuri, D. S., Madhavan, P., Md. Akim, A., & Chong, P. P.** (2021). Approaches for mitigating microbial biofilm-related drug resistance: A focus on micro- and nanotechnologies. *Molecules*, *26*(7), 1870.
<https://doi.org/10.3390/molecules26071870>
- Ren, J., Wang, M., Zhou, W., & Liu, Z.** (2024). Efflux pumps as potential targets for biofilm inhibition. *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1315238.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1315238>
- Reza, A., Sutton, J. M., & Rahman, K. M.** (2019). Effectiveness of efflux pump inhibitors as biofilm disruptors and resistance breakers in gram-negative (ESKAPEE) bacteria. *Antibiotics*, *8*(4), 229.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics8040229>
- Rice, L. B.** (2012). Mechanisms of resistance and clinical relevance of resistance to β -lactams, glycopeptides, and fluoroquinolones. *Mayo Clinic Proceedings*, *87*(2), 198–208.
<https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2011.12.003>
- Rimal, B., Chang, J. D., Liu, C., Kim, H., Aderotoye, O., Zechmann, B., & Kim, S. J.** (2024). Scanning electron microscopy and energy-dispersive x-ray spectroscopy of *staphylococcus aureus* biofilms. *ACS Omega*, *9*(36), 37610–37620.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.4c01168>
- Sahli, C., Moya, S. E., Lomas, J. S., Gravier-Pelletier, C., Briandet, R., & Hémadi, M.** (2022). Recent advances in nanotechnology for eradicating bacterial biofilm. *Theranostics*, *12*(5), 2383–2405.
<https://doi.org/10.7150/thno.67296>
- Santacroce, L., Charitos, I. A., Ballini, A., Inchingolo, F., Luperto, P., De Nitto, E., & Topi, S.** (2020). The human respiratory system and its microbiome at a glimpse. *Biology*, *9*(10), 318.
<https://doi.org/10.3390/biology9100318>
- Shariati, A., Noei, M., & Chegini, Z.** (2023). Bacteriophages: The promising therapeutic approach for enhancing ciprofloxacin efficacy against bacterial infection. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, *37*(9–10), e24932.
<https://doi.org/10.1002/jcla.24932>
- Schulze, A., Mitterer, F., Pombo, J. P., & Schild, S.** (2021). Biofilms by bacterial human pathogens: clinical relevance - development, composition and regulation - therapeutical strategies. *Microbial Cell*, *8*(2), 28–56.
<https://doi.org/10.15698/mic2021.02.741>

Singh, A., Duche, R. T., Wandhare, A. G., Sian, J. K., Singh, B. P., Sihag, M. K., Singh, K. S., Sangwan, V., Talan, S., & Panwar, H. (2023). Milk-derived antimicrobial peptides: Overview, applications, and future perspectives. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, *15*(1), 44–62.

<https://doi.org/10.1007/s12602-022-10004-y>

Singh, A., Padmesh, S., Dwivedi, M., & Kostova, I. (2022). How good are bacteriophages as an alternative therapy to mitigate biofilms of nosocomial infections. *Infection and Drug Resistance*, *15*, 503–532.

<https://doi.org/10.2147/IDR.S348700>

Singh, H., Bhatt, A., Kumar, M., & Deshmukh, P. (2023). Tonsillitis and sinusitis: A narrative review of pathogenesis, diagnosis, and management. *Cureus*, *15*(10), e47192.

<https://doi.org/10.7759/cureus.47192>

Sinha, S., Aggarwal, S., & Singh, D. V. (2024). Efflux pumps: Gatekeepers of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* biofilms. *Microbial Cell*, *11*, 368–377.

<https://doi.org/10.15698/mic2024.11.839>

Sionov, R. V., & Steinberg, D. (2022). Targeting the holy triangle of quorum sensing, biofilm formation, and antibiotic resistance in pathogenic bacteria. *Microorganisms*, *10*(6), 1239.

<https://doi.org/10.3390/microorganisms10061239>

Sirota, S. B., Doxey, M. C., Dominguez, R. -M. V., Bender, R. G., Vongpradith, A., Albertson, S. B., Novotney, A., Burkart, K., Carter, A., Abdi, P., Abdoun, M., Abebe, A. M., Abegaz, K. H., Aboagye, R. G., & Abolhassani, H. (2025). Global, regional, and national burden of upper respiratory infections and otitis media, 1990–2021: A systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet Infectious Diseases*, *25*(1), 36–51.

[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(24\)00430-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(24)00430-4)

Stearns, J. C., Davidson, C. J., McKeon, S., Whelan, F. J., Fontes, M. E., Schryvers, A. B., Bowdish, D. M., Kellner, J. D., & Surette, M. G. (2015). Culture and molecular-based profiles show shifts in bacterial communities of the upper respiratory tract that occur with age. *The ISME journal*, *9*(5), 1246–1259.

<https://doi.org/10.1038/ismej.2014.250>

Talapko, J., & Škrlec, I. (2020). The principles, mechanisms, and benefits of unconventional agents in the treatment of biofilm infection. *Pharmaceuticals*, *13*(10), 299.

<https://doi.org/10.3390/ph13100299>

Thomas, C. M., Jetté, M. E., & Clary, M. S. (2017). Factors associated with infectious laryngitis: A retrospective review of 15 cases. *The Annals of Otolaryngology, Rhinology, and Laryngology*, *126*(5), 388–395.

<https://doi.org/10.1177/0003489417694911>

- Thornton, R. B., Rigby, P. J., Wiertsema, S. P., Filion, P., Langlands, J., Coates, H. L., Vijayasekaran, S., Keil, A. D., & Richmond, P. C.** (2011). Multi-species bacterial biofilm and intracellular infection in *otitis media*. *BMC Pediatrics*, *11*, 94.
<https://doi.org/10.1186/1471-2431-11-94>
- Uruén, C., Chopo-Escuin, G., Tommassen, J., Mainar-Jaime, R. C., & Arenas, J.** (2021). Biofilms as promoters of bacterial antibiotic resistance and tolerance. *Antibiotics*, *10*(1), 3.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics10010003>
- van Hoogstraten, S. W. G., Kuik, C., Arts, J. J. C., & Cillero-Pastor, B.** (2024). Molecular imaging of bacterial biofilms-a systematic review. *Critical Reviews in Microbiology*, *50*(6), 971–992.
<https://doi.org/10.1080/1040841X.2023.2223704>
- van Meel, E. R., Jaddoe, V. W. V., Bønnelykke, K., de Jongste, J. C., & Duijts, L.** (2017). The role of respiratory tract infections and the microbiome in the development of asthma: A narrative review. *Pediatric Pulmonology*, *52*(10), 1363–1370.
<https://doi.org/10.1002/ppul.23795>
- Vanderpool, E. J., & Rumbaugh, K. P.** (2023). Host-microbe interactions in chronic rhinosinusitis biofilms and models for investigation. *Biofilm*, *6*, 100160.
<https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2023.100160>
- VanEpps, J. S., & Younger, J. G.** (2016). Implantable device-related infection. *Shock*, *46*(6), 597–608.
<https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000000692>
- Vestby, L. K., Grønseth, T., Simm, R., & Nesse, L. L.** (2020). Bacterial biofilm and its role in the pathogenesis of disease. *Antibiotics*, *9*(2), 59.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics9020059>
- Wald, E. R.** (2011). Acute *otitis media* and acute bacterial *sinusitis*. *Clinical Infectious Diseases*, *52*(suppl_4), S277-S283.
<https://doi.org/10.1093/cid/cir042>
- Wan, Y., Zheng, J., Chan, E. W. -C., & Chen, S.** (2024). Proton motive force and antibiotic tolerance in bacteria. *Microbial Biotechnology*, *17*(11), e70042.
<https://doi.org/10.1111/1751-7915.70042>
- Wu, L., Xu, W., Jiang, H., Yang, M., & Cun, D.** (2024). Respiratory delivered vaccines: Current status and perspectives in rational formulation design. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, *14*(12), 5132–5160.
<https://doi.org/10.1016/j.apsb.2024.08.026>
- Xiao, G., Li, J., & Sun, Z.** (2023). The combination of antibiotic and non-antibiotic compounds improves antibiotic efficacy against multidrug-resistant bacteria. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(20), 15493.
<https://doi.org/10.3390/ijms242015493>

Xiao, J., Su, L., Huang, S., Liu, L., Ali, K., & Chen, Z. (2023). Epidemic trends and biofilm formation mechanisms of *Haemophilus influenzae*: Insights into clinical implications and prevention strategies. *Infection and Drug Resistance*, *16*, 5359–5373.

<https://doi.org/10.2147/IDR.S424468>

Zack, K. M., Sorenson, T., & Joshi, S. G. (2024). Types and mechanisms of efflux pump systems and the potential of efflux pump inhibitors in the restoration of antimicrobial susceptibility, with a special reference to *Acinetobacter baumannii*. *Pathogens*, *13*(3), 197.

<https://doi.org/10.3390/pathogens13030197>

Zafer, M. M., Mohamed, G. A., Ibrahim, S. R. M., Ghosh, S., Bornman, C., & Elfaky, M. A. (2024). Biofilm-mediated infections by multidrug-resistant microbes: A comprehensive exploration and forward perspectives. *Archives of Microbiology*, *206*(3), 101.

<https://doi.org/10.1007/s00203-023-03826-z>

Zeng, Y., & Liang, J. Q. (2022). Nasal microbiome and its interaction with the host in childhood asthma. *Cells*, *11*(19), 3155.

<https://doi.org/10.3390/cells11193155>

Zhang, K., Li, X., Yu, C., & Wang, Y. (2020). Promising therapeutic strategies against microbial biofilm challenges. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *10*, 359.

<https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00359>

Zhao, A., Sun, J., & Liu, Y. (2023). Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *13*, 1137947.

<https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1137947>