

Received: 2013.01.17
Accepted: 2013.06.19
Published: 2013.10.25

Biofilm bakteryjny jako przyczyna zakażeń układu moczowego – mikroorganizmy patogenne, metody prewencji i eradykacji

Bacterial biofilm as a cause of urinary tract infection – pathogens, methods of prevention and eradication

Kinga Ostrowska¹, Aleksandra Strzelczyk², Antoni Różalski¹, Paweł Stączek²

¹Zakład Immunobiologii Bakterii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

²Zakład Genetyki Drobnoustrojów, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Streszczenie

Zakażenia układu moczowego (ZUM) należą do najczęstszych, przewlekłych i nawracających chorób o podłożu bakteryjnym. Uropatogeny mające zdolność do wzrostu w postaci biofilmu są głównymi czynnikami etiologicznymi w przebiegu infekcji dróg moczowych, zwłaszcza w przypadku pacjentów w podeszłym wieku, poddanych długoterminowej katetyzacji. Spowodowane jest to zdolnością mikroorganizmów do skutecznej i trwałej kolonizacji tkanek, a także adhezją do wielu polimerów wchodzących w skład cewników urologicznych, takich jak propylen, polistyren, silikon, polichlorek winylu czy silikonowany lateks. Antybiotykoterapia stanowi najpowszechniejszą metodę leczenia ZUM. Najczęściej stosuje się fluorochinolony, nitrofurany, antybiotyki beta-laktamowe, aminoglikozydowe, trimetoprim i sulfonamidy. Jednak biofilm dzięki swojej złożonej strukturze stanowi skuteczną barierę dla antybiotyków stosowanych w terapii zakażeń układu moczowego. Ponadto stale wzrastająca liczba szczepów wielolekoopornych, ogranicza możliwości zastosowania wielu dostępnych obecnie chemioterapeutyków. Dlatego też istotnym wydaje się poszukiwanie nowych metod leczenia, takich jak powlekanie cewników niepatogennymi szczepami *E. coli*, konstrukcja szczepionek przeciw białkom adhezyjnym fimbrii komórek bakteryjnych czy zastosowanie bakteriofagów.

Słowa kluczowe:

zakażenia układu moczowego (ZUM) • biofilm • cewniki urologiczne • terapia zakażeń układu moczowego

Summary

Urinary tract infections (UTI) are one of the common chronic and recurrent bacterial infections. Uropathogens which are able to form biofilm constitute a major etiological factor in UTI, especially among elder patients who are subject to long-term catheterization. It is caused by the capacity of the microorganisms for efficient and permanent colonization of tissues and also adhesion to diverse polymers used for urological catheter production such as propylene, polystyrene, silicone, polyvinyl chloride or silicone coated latex. Antibiotic therapy is the most common treatment for UTI. Fluoroquinolones, nitrofurans, beta-lactams, aminoglycosides, trimethoprim and sulfonamides are used predominantly. However, the biofilm due to its complex structure constitutes an effective barrier to the antibiotics used in the treatment of urinary tract infections. In addition, the growing number of multidrug resistant strains limits the usage of many of the currently available chemotherapeutic agents. Therefore, it seems important to search for new methods of treatment such as coating of catheters with non-pathogenic *E. coli* strains, the design of vaccines against fimbrial adhesive proteins of the bacterial cells or the use of bacteriophages.

Keywords:

urinary tract infections (UTI) • biofilm • urological catheters • urinary tract infections treatment catheters • urinary tract infections treatment

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1073567>

Word count: 3157

Tables: –

Figures: –

References: 48

Adres autorki: mgr Kinga Ostrowska, Zakład Immunobiologii Bakterii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Banacha 12/16, 90-237 Łódź; e-mail: ostrowska.uni.lodz@wp.pl

BIOFILM BAKTERYJNY

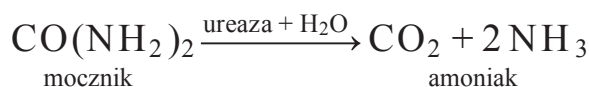
Biofilm jest niezwykle korzystnym dla drobnoustrojów środowiskiem egzystencji. Mikroorganizmy żyjące w tej strukturze zdają się mieć znaczną przewagę nad formami planktonowymi. Komórki bakteryjne stanowiące integralną część biofilmu cechuje znacznie większa odporność (niejednokrotnie, nawet 1000-krotnie większa) na substancje wykazujące działanie degradacyjne, toksyczne czy bakteriobójcze [10]. Poddane wpływowi niekorzystnych warunków środowiska, takich jak brak składników pokarmowych, czy nieodpowiednie pH również wykazują znacznie wyższą przeżywalność niż postaci planktonowe [18]. Ponadto biofilm skutecznie chroni komórkę bakteryjną przed licznymi mechanizmami obronnymi organizmu gospodarza m.in. utrudnia opsonizację, fagocytozę, powoduje zaburzenia chemotaksji i zahamowanie procesu blastogenezy komórek B i T [3]. Tworzenie biofilmu bakteryjnego jest integralną częścią wielu schorzeń zarówno ludzi jak i zwierząt. Kluczem do zrozumienia natury biofilmu jest poznanie mechanizmów warunkujących proces formowania się tej struktury. W przypadku większości gatunków bakteryjnych droga wiodąca do powstania w pełni wykształconego, dojrzałego biofilmu składa się z pięciu etapów, których wypadkową są stopniowo zachodzące zmiany, zarówno w fenotypie jak i genotypie komórek bakteryjnych [42]. Pierwszym etapem, tego dynamicznego i złożonego procesu jest adhezja. Skuteczność przylegania bakterii do kolonizowanej powierzchni jest zależna od wielu czynników. W dużej mierze decyduje o tym charakter powierzchni docelowej, jak i samej komórki bakteryjnej oraz nieswoiste interakcje między powierzchnią docelową a komórką bakteryjną. Duże znaczenie odgrywają tu oddziaływania międzycząsteczkowe, takie jak siły van der Waalsa, wiązania jonowe i wodorowe czy temperatura [2,13]. Podstawowe znaczenie w procesie adhezji mają właściwości hydrofobowe komórki bakteryjnej, za które odpowiedzialne są hydrofobowe grupy polarne lipidów obecne w błonie zewnętrznej lub błonie komórkowej [48]. Istotą drugiej fazy jest adhezja swoista, polegająca na nieodwracalnym związaniu komórki mikroorganizmu z powierzchnią docelową. Rozpoczyna się proces wytwarzania zewnątrzkomórkowych polimerów przez luźno związane komórki bakteryjne [2]. Kolejnym etapem jest tworzenie podstawowych elementów strukturalnych biofilmu – mikrokolonii. Główną rolę odgrywają tu sygnały stymulujące komórki bakteryjne do intensywnych podziałów komórkowych i wzrostu, a także udział niektórych

typów fimbrii bakteryjnych. Na fazę czwartą przypada proces różnicowania mikrokolonii bakteryjnych w pełnowartościowy, dojrzały biofilm. Syntetyzowane są odmienne białka, niż w przypadku form planktonowych. Ostatni etap w procesie powstawania biofilmu to dyspersja, polegająca na odrywaniu się pojedynczych komórek bakteryjnych bądź też większych fragmentów biofilmu celem zasiedlenia nowych powierzchni życiowych [41].

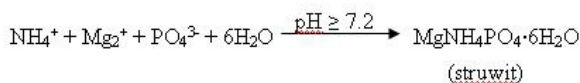
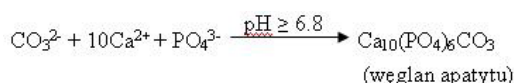
ZAKAŻENIA UKŁADU MOCZOWEGO ZWIĄZANE Z FORMOWANIEM BIOFILMU BAKTERYJNEGO

Szacuje się, iż przeszło 60% infekcji bakteryjnych wiąże się ze zjawiskiem powstawania biofilmu [12]. Odnosi się to również do zakażeń dróg moczowych – infekcji najczęściej dotyczących człowieka w czasie jego życia. Bakteryjne uropatogeny dzięki zdolności do wzrostu w formie biofilmu, są w stanie skutecznie i trwale kolonizować tkanki makroorganizmu, a także przylegać do wielu polimerów wchodzących w skład cewników urologicznych, takich jak propylen, polistyren, silikon, polichlorek winylu czy silikonowany lateks. Ryzyko infekcji dróg moczowych ściśle wiąże się z czasem katetyzacji i wzrasta każdego dnia o 5%. W przypadku utrzymywania się cewnika w drogach moczowych przez okres przekraczający 28 dni, infekcję diagnozuje się u wszystkich pacjentów [29].

Poprzez wydzielinę gromadzącą się w cewce moczowej wokół cewnika, drobnoustroje dostają się do pęcherza. Długotrwała katetyzacja prowadzi nie tylko do dyskomfortu czy obniżenia jakości życia, ale może być także przyczyną poważnych i groźnych dla życia i zdrowia powikłań, wśród których można wymienić ostre odmiedniczkowe zapalenie nerek, posocznice, czy formowanie infekcyjnych kamieni moczowych. Jednak najczęstszą i najgroźniejszą konsekwencją długoterminowego drenażu dróg moczowych jest inkrustacja katetera. Proces ten powodują drobnoustroje wytwarzające w cytoplazmie metaloenzym – ureazę. Ureaza hydrolizuje mocznik, będący stałym komponentem moczu, do dwutlenku węgla i grup amonowych (1):



Konsekwencją tego procesu jest alkalizacja moczu powodująca wytrącanie fosforanu wapnia, a także fosforanu magnezowo-amonowego i tworzenie kryształów węglanu apatyty (2):



Powstające kryształy apatyty i struwitu wraz z drobnoustrojami patogennymi biorą udział w tworzeniu kamieni moczowych [44]. Proces ten wzmagają bakteryjne polisacharydy zewnątrzkomórkowe, dostarczając tzw. jąder krystalizacji czyli miejsc ułożenia pierwszych atomów w kryształach. Strukturę zewnątrzkomórkowych polisacharydów wypełniają kwasy uronowe, czy reszty siarczanowe, które dzięki ujemnemu ładunkowi, mają zdolność do wiązania kationów obecnych w środowisku na zasadzie oddziaływań elektrostatycznych. Kationy, u których stosunek masy cząsteczkowej do ładunku jest mniejszy są wiązane efektywniej. Dodatkowo, polisacharydy te wykazują różne powinowactwo do wiązań określonych metali, w zależności od środowiska wzrostu i budowy chemicznej [33].

Kryształy kumulując się na powierzchni cewnika urologicznego poważnie utrudniają przepływ moczu zarówno z cewnika, pęcherza i nerek, a także powodują nietrzymanie moczu, czy bolesne rozszerzanie się pęcherza moczowego. Patologiczne zjawisko formowania infekcyjnych kamieni moczowych występuje częściej i dotyka rokrocznie przeszło 20% populacji [5].

DROBNOUSTROJE UROPATOGENNE

Zakażenia układu moczowego (ZUM, łac. *infectio tractus urinarii*) są jednymi z najpowszechniej diagnozowanych chorób nerek i dróg moczowych. Stanowią one prawie 50% wszystkich bakteryjnych zakażeń szpitalnych i 10-20% wszystkich zakażeń pozaszpitalnych. Ponadto w 30% przypadków są przyczyną tzw. urosepsy, prowadzącej do wstrząsu septycznego [15,32]. Usytuowanie ujścia cewki moczowej w pobliżu odbytu, powoduje, że układ moczowy jest narażony na częsty kontakt z mikroflorą jelitową. Jednak u osób zdrowych, odznaczających się sprawnie działającym układem immunologicznym, infekcje pojawiają się niezmiernie rzadko, a ich rozwój jest zjawiskiem sporadycznym. Ryzyko pojawienia się zakażenia wzrasta u osób pozostających w grupach ryzyka, tj. osób w podeszłym wieku, obarczonych anatomicznymi lub fizjologicznymi wadami dróg moczowych oraz hospitalizowanych pacjentów poddanych długoterminowemu cewnikowaniu.

Najczęstszymi czynnikami etiologicznymi ZUM są bakterie. Zdecydowanie w mniejszym stopniu za infekcje układu moczowego odpowiedzialne są wirusy, grzyby,

pierwotniaki czy pasożyty. Bakteryjne zakażenia dróg moczowych mają przeważnie charakter infekcji wstępującej, podczas której bakterie kolonizują kolejno cewkę moczową, pęcherz, moczowody, a następnie nerki. Istnieje także niebezpieczeństwo wysiewu drobnoustrojów do krwi. Mikroorganizmy uropatogenne są przyczyną licznych typów infekcji dróg moczowych, od stosunkowo niegroźnych stanów zapalnych pęcherza moczowego po ostre odmiedniczkowe zapalenie nerek, mocznicę i zwężenia światła cewników urologicznych oraz zaburzenia pracy nerek czy formowanie się infekcyjnych kamieni moczowych [9,20]. Wśród czynników etiologicznych zakażeń obejmujących drogi moczowe, zdecydowanie dominują Gram-ujemne pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae*. Najczęściej izolowanym patogenem jest pałeczka okrężnica, odpowiedzialna za 80-90% wszystkich niepowikłanych zakażeń pozaszpitalnych [26] i nawet 50% zakażeń wewnątrzszpitalnych. Kolejnymi pojawiającymi się często patogenami są przedstawiciele rodzaju *Proteus*, a zwłaszcza gatunki *P. mirabilis* i *P. vulgaris*. Pałeczka odmienia jest najczęstszym czynnikiem etiologicznym skomplikowanych ZUM (12%), druga co do częstości przyczyną bakteriurii związanej z długoterminowym cewnikowaniem (15%) [19]. Coraz częściej odnotowuje się udział pałeczek z rodzaju *Providencia* jako czynnika etiologicznego zakażeń dróg moczowych. Biorąc pod uwagę częstość z jaką izoluje się pałeczki *Providencia stuartii* od pacjentów ze schorzeniami układu moczowego, uważa się, iż gatunek ten ma największe znaczenie w ZUM spośród całego rodzaju *Providencia*. Ponadto w etiologii wewnątrzszpitalnych zakażeń układu moczowego często odnotowuje się takie drobnoustroje, jak: *Serratia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* oraz pałeczki niefermentujące: *Pseudomonas* i *Acinetobacter*. Mikroorganizmy Gram-dodatnie, takie jak enterokoki, gronkowce czy paciorkowce rzadziej wywołują zakażenia układu moczowego. Ziarniaki z rodzaju *Enterococcus* również mogą być przyczyną zakażeń dróg moczowych, zwłaszcza u pacjentów leżących oraz poddanych długoterminowej katetyzacji [1]. W przypadku zakażeń niepowikłanych, diagnozowanych u młodych kobiet, w 15% przypadków czynnikiem etiologicznym jest *Staphylococcus saprophyticus* oraz *Enterococcus*. Skład gatunkowy patogenów układu moczowego podlega stałym zmianom, a liczba drobnoustrojów uznawanych za etiologiczne czynniki ZUM stale wzrasta. Zastosowanie analitycznych technik molekularnych, takich jak analiza polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (T-RFLP), elektroforeza w gradiencie czynnika denaturującego (DGGE), elektroforeza kapilarna czy sekwencjonowanie DNA w czasie rzeczywistym (pYROSEKwencjonowanie) pozwoliło na dokładniejsze określenie składu gatunkowego patogennej flory układu moczowego. Badania biofilmu pochodzącego z wewnętrznych kateterów urologicznych wykazały częstą obecność *Edwardsiella*, *Moraxella*, *Yersinia*, *Burkholderia*, *Corynebacterium*, *Achromobacter*, *Citrobacter* czy *Stenotrophomonas*. Wszystkie wymienione grupy drobnoustrojów mają zdolność do wzrostu w postaci biofilmu, co jest jednym z głównych czynników wirulencji, odpowiedzialnym nie tylko za groźne stany chorobowe, ale przede wszystkim silnie ograniczającym skuteczną terapię urologiczną [8].

STRATEGIE PREWENCJI FORMOWANIA BIOFILMU W DROGACH MOCZOWYCH I NA POWIERZCHNI BIOMATERIAŁÓW STOSOWANYCH W UROLOGII

Zapobieganie zakażeniom układu moczowego u pacjentów poddanych katetyzacji, w głównej mierze odnosi się do działań profilaktycznych. Bezwzględne przestrzeganie zasad aseptyki przy wprowadzaniu cewnika do światła pęcherza moczowego, częsta wymiana kateterów, stosowanie układu zamkniętego z workiem na mocz poniżej pęcherza, czy pobór moczu do badań poprzez nakłucie części dystalnej katetera to standardowe metody prewencji przed zakażeniem.

Podjęmowane różne próby zniwelowania ryzyka rozwoju zakażenia u pacjentów cewnikowanych nie przynoszą wymiernych rezultatów. Stosowanie maści bakteriobójczych w okolicy ujścia cewki moczowej czy środków antyseptycznych okazało się niewystarczające, a w przypadku zastosowania cewników trójkanałowych służących do przepłukiwania pęcherza roztworem antybiotyków wręcz szkodliwe, ze względu na selekcję drobnoustrojów opornych na stosowane leki. Stosowanie cewników urologicznych, odgrywa znaczącą rolę w rozwoju zakażeń układu moczowego u pacjentów poddanych hospitalizacji. Ryzyko infekcji dróg moczowych ściśle wiąże się z czasem trwania katetyzacji, rodzajem zastosowanego cewnika oraz typem materiału, z jakiego został wykonany. Konstrukcja cewników urologicznych właściwie nie uległa znamienym modyfikacjom od 1930 r., kiedy to rozpoczęto stosowanie cewników Foleya [22,40].

Nieustannie wprowadzane są natomiast innowacje mające na celu modyfikacje zarówno cech fizyko-chemicznych powierzchni biomateriału, jak również jego struktury, faktury i składu kompozytowego. Jednak wszystkie powszechnie stosowane i dostępne biopolimery oddziałują na tkanki ludzkiego organizmu. Niewątpliwie rodzaj materiału z jakiego jest wykonany cewnik urologiczny ma istotny wpływ na adhezję komórek drobnoustrojów i tempo rozwoju biofilmu bakteryjnego. Badania struktury materiałów stosowanych do produkcji cewników urologicznych, oparte na skaningowej mikroskopii elektronowej wykazały, iż cewniki wykonane z lateksu, są znacznie bardziej podatne na adhezję bakteryjną, niż ich silikonowe odpowiedniki. Ponadto stosowanie cewników wykonanych z lateksu wiąże się z wystąpieniem reakcji zapalnych w warunkach *in vivo*, natomiast przy długoterminowym drenażu dróg moczowych powoduje stany zapalne pęcherza [40]. Cewniki wykonane z silikonu, ze względu na stosunkowo dobrą kompatybilność i brak cytotoksyczności w stosunku do tkanek organizmu gospodarza, uważane są za tzw. złoty standard. Powszechnie stosuje się także cewniki stanowiące kompozycję syntetycznych polimerów, np. cewniki wykonane z poliuretanu, lateksu silikonowanego, Silkolateksu® czy polichlorku winylu. Mimo wielu badań, nie udało się określić cech oraz parametrów biomateriału, który cechowałaby oporność na adhezję bakteryjną. Obecnie liczne badania z zakresu inżynierii materiałowej skupiają się na możliwości wykorzystania w urologii kopolimeru, którego składowymi są

L-laktyd (80%) oraz kwas glikolowy (20%) [4]. Coraz częściej pojawiają się również doniesienia na temat potencjalnych właściwości, odkrytego w 1958 r. nitinolu, będącego stopem niklu (49%) i tytanu (51%). Mimo iż nitinol nie jest nowym materiałem, badania *in vivo* na modelu psim wskazały nowe możliwości aplikacyjne tego metalu, w postaci rozszerzającego cewkę moczową, powleczonego poliuretanem, stentu urologicznego [24].

Niezależnie od badań nad składem kompozytowym materiałów mogących mieć zastosowanie w urologii klinicznej, trwają także prace badawcze nad wykorzystaniem aktywne czynnych substancji farmakologicznych, jako środków do powlekania powierzchni biomateriałów medycznych. Tunney i Gorman wykazali, iż pokrycie poliuretanowych cewników urologicznych warstwą poliwinylpirolidonu (PVP), będącego produktem polimerizacji winylpirolidonu, powoduje spadek inkrustacji hydroksyapatytem $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ oraz zmniejszoną adhezję izolatów *Enterococcus faecalis* [45]. Podobny efekt uzyskano modyfikując powierzchnię termoplastycznego, alifatycznego poliuretanu (Tecoflex®) jodopowidonem, czyli kompleksem jodu z poliwinylpirolidonem (PVP-I) [23]. Ponadto prace eksperymentalne z zastosowaniem skaningowej mikroskopii elektronowej potwierdziły skuteczność fosforylocholino, która zaaplikowana na powierzchni stentów urologicznych, w znacznym stopniu ograniczała adhezję bakteryjną, jak również znacząco redukowała stopień inkrustacji biomateriału. Wiele nadziei budzi również zastosowanie heparyny jako substancji powlekającej powierzchnię biomateriału. W przypadku stentów urologicznych pokrytych warstwą tego organicznego polisacharydu, po sześciu tygodniach nie stwierdzono konglomeratów bakteryjnych ani inkrustacji w obrębie zastosowanego biomateriału [43]. Również pokrycie kateterów warstwą nitrofurazonu, oraz tlenkiem srebra czy też stopami tego metalu, w wielu przypadkach wpływało na znaczny spadek liczby zakażeń i bakteriomoczu [36,37].

Kolejnym związkiem, z którym wiąże się duże nadzieje jest antyseptyczny barwnik Gendine, którego główne składowe to fiolet gencjany oraz syntetyczna pochodna biguanidu, chlorheksydyna. Hachem i wsp. wykorzystując techniki skaningowej mikroskopii elektronowej wykazali dużą oporność na adhezję bakteryjną kateterów urologicznych powleczonych warstwą tego preparatu [16]. Wśród innych związków wykazujących działanie antibakteryjne często wymienia się Triclosan będący inhibitorem enoilo-acylo reduktazy – enzymu, który powoduje zatrzymanie syntezy kwasów tłuszczowych w komórkach bakteryjnych. Zastosowanie inhibitorów ureazy, takich jak kwas aceto-hydroksamowy, powoduje redukcję inkrustacji cewników urologicznych *in vitro*, natomiast w środowisku o wysokim pH powoduje zahamowanie adhezji i formowania biofilmu *P. mirabilis*.

Wieloaspektowe badania prowadzone są również nad inhibitorami mechanizmów *quorum sensing*. Ten chemiczny sposób porozumiewania się drobnoustrojów, polegający na wytwarzaniu i wydzielaniu do otoczenia autoinduktorów, które służą do skoordynowanej regulacji ekspresji

genów, których produkty są zaangażowane w przebiegu różnych procesów fizjologicznych, ma również bardzo istotny wpływ na proces tworzenia biofilmu. Zjawisko *quorum sensing* opisano u kilkudziesięciu gatunków bakterii Gram-ujemnych, a najpowszechniejszy sposób wewnątrzgatunkowej komunikacji w obrębie tej grupy drobnoustrojów jest oparty o autoinduktory, będące N-acylohomoserynowymi laktonami. W przypadku bakterii Gram-dodatnich funkcje sygnałowe pełnią z kolei zmodyfikowane oligopeptydy. Oprócz tych swoistych dla gatunku autoinduktorów, postuluje się także możliwość komunikacji międzygatunkowej za pomocą cząsteczki będącej estrem furanozylo-boranowym, określanym jako autoinduktor typu 2 (AI-2). Tak więc zahamowanie komunikacji wewnątrz- i międzygatunkowej między drobnoustrojami tworzącymi strukturę biofilmu, mogłoby pozwolić na prowadzenie skuteczniejszej terapii antybakteryjnej. Takie działania nie prowadzą do selekcjonowania opornych mutantów, jak to się dzieje w przypadku stosowania antybiotykoaterapii [6,26,28,40,47].

Dodatkowo prowadzone są również prace nad zastosowaniem akustycznych fal powierzchniowych o niskiej energii (AFP). Zakłada się, że fala mechaniczna skierowana bezpośrednio na powierzchnię implantu może zaburzać proces adhezji bakteryjnych komórek planktonowych do powierzchni biomateriału, uniemożliwiając tym samym zapoczątkowanie procesu formowania struktury biofilmu [17].

TERAPIA ZAKAŻEŃ UKŁADU MOCZOWEGO

Pomimo gwałtownego wzrostu odsetka szczepów opornych nadal najpowszechniejszą metodą leczenia zakażeń układu moczowego jest szeroko rozumiana antybiotykoaterapia. Jednak występowanie objawów klinicznych ze strony układu moczowego nie zawsze jest jednoznaczne z zakażeniem.

Podstawą skutecznego leczenia przeciwbakteryjnego jest zastosowanie leku celowanego, ukierunkowanego na czynnik etiologiczny. Niezbędne zatem są: prawidłowo przeprowadzony wywiad lekarski z pacjentem oraz badanie bakteriologiczne moczu [27]. Jeśli posiewy są jałowe należy wykonać dodatkowe badania w celu wykluczenia obecności drobnoustrojów niewykrywalnych w klasycznym badaniu, takich jak: *Chlamydia trachomatis*, *Candida albicans*, *Ureaplasma urealyticum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*. Jednakże leczenie często rozpoczyna się przed otrzymaniem wyniku badania mikrobiologicznego (tzw. leczenie empiryczne). W takiej sytuacji podaje się najczęściej antybiotyki o szerokim zakresie działania [14].

Istnieje kilka grup antybiotyków/chemioterapeutyków wykazujących aktywność wobec uropatogennych szczepów i osiągających odpowiednie stężenie w moczu. W zakażeniach dróg moczowych u dorosłych najczęściej stosuje się fluorochinolony, nitrofurany, antybiotyki beta-laktamowe, aminoglikozydowe, trimetoprim i sulfonamidy [34].

W terapii niepowikłanych zakażeń układu moczowego do leków pierwszego rzutu należą doustne fluorochinolony, takie jak ciprofloksacyna, ofloksacyna, lewofloksacyna, nor-

floksacyna, pefloksacyna. Są to związki bardzo skuteczne, ich działanie obejmuje większość szczepów uropatogennych z *Pseudomonas aeruginosa* włącznie. Jednak, ze względu na niższy koszt i obawę przed wzrostem oporności na fluorochinolony, powszechnie stosuje się trimetoprim często z sulfametoksazolem (TMP/SMX), chociaż obserwuje się znaczny odsetek zakażeń *E. coli* opornych na te związki [14,38]. Do często stosowanych leków przeciwbakteryjnych drugiego wyboru należą: nitrofurantoina, fosfomycyna oraz aminopenicyliny (ampicylina, amoksacylina) bez lub z dodatkiem inhibitora beta-laktamaz (sulbaktam, kwas klawulanowy), które wolniej eliminują patogeny z dróg moczowych oraz mogą doprowadzić do wyselekcjonowania opornych na leczenie szczepów *Klebsiella* sp [14,38]. W przypadku braku efektów leczenia powyższymi lekami można stosować również cefalosporyny III generacji np. cefiksym, cefopodoksym, ale są one mało skuteczne w zakażeniach gronkowcami i zupełnie nieskuteczne w przypadku zakażeń enterokokami i pałeczkami *Pseudomonas*. Zazwyczaj w niepowikłanych ZUM stosuje się fluorochinolony i TMP/SMX przez trzy dni, a w przypadku leczenia preparatami nitrofurantoiny (Furagin) i amoksycyliną, siedem dni. Można również zastosować pojedynczą dawkę TMP/SMX (1920 mg), amoksycyliny lub fosfomycyny (3000 mg) jednakże zaobserwowano większe ryzyko nawrotów choroby oraz nieskuteczność w przypadku zakażeń *Staphylococcus saprophyticus* [14, 38].

Nawracające zakażenia układu moczowego są wskazaniem do przewlekłej terapii trwającej zwykle 2-4 tygodnie, a w niektórych przypadkach nawet 6-12 miesięcy. Nawroty dotyczą najczęściej zakażeń wywołanych przez *E. coli* i w większości są to infekcje ponowne (tzw. reinfekcje), rzadziej zakażenia przetrwałe, po leczeniu. Profilaktyka ciągła polega na przyjmowaniu niewielkich, subterapeutycznych dawek leków przeciwbakteryjnych codziennie lub co drugi dzień na noc. Stosuje się tutaj najczęściej nitrofurantoinę (Furagin), trimetoprim lub TMP/SMX [25].

Powikłane zakażenia układu moczowego są spowodowane głównie przez szczepy *E. coli* oporne na stosowane w terapii ZUM antybiotyki, a także przez pałeczki *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, *Pseudomonas* i *Providencia* oraz enterokoki i gronkowce, choć zakażenia *Staphylococcus saprophyticus* odnotowuje się stosunkowo rzadko. Powikłane ZUM występują zazwyczaj u osób z cewnikiem, przetoką moczową, z upośledzeniem odporności, kamicą moczową, cukrzycą i są szczególnie prawdopodobne u mężczyzn. Diagnozowane są gdy objawy kliniczne, pomimo leczenia, utrzymują się po 72 godzinach od rozpoczęcia antybiotykoaterapii. W przypadku ostrego powikłanego zapalenia pęcherza moczowego stosuje się fluorochinolony w większych dawkach przez okres 7-14 dni. Trimetoprim, TMP/SMX oraz nitrofurantoina są tu zwykle nieskuteczne. Często w powikłanych ZUM uczestniczą również uropatogeny odporne na aminopenicyliny i cefalosporyny I generacji. W niektórych przypadkach, podczas zakażenia florą mieszaną (pacjenci cewnikowani) konieczne jest podanie leków drogą parenteralną do czasu uzyskania poprawy. Najczęściej podaje się fluorochinolony (lewofloksacynę), cefalosporyny I/II generacji (ceftriakson, cefuroksym), antybiotyki beta-laktamowe (piperycynę z ta-

zobaktamem, tikarycylinę z klawulanianem. W zakażeniach z udziałem szczepów *P. aeruginosa* stosuje się ceftazydym, cefepim lub karbapenemy. Często leczenie obejmuje terapię skojarzoną z antybiotykiem aminoglikozydowym [14,19].

Jak wspomniano wyżej, szczególnie narażoną grupą na zakażenia układu moczowego z udziałem biofilmu bakteryjnego są pacjenci cewnikowani. Długotrwałe utrzymywanie cewnika w pęcherzu moczowym prawie zawsze prowadzi do infekcji, często mieszaną florą bakteryjną. Pojawiły się liczne doniesienia na temat korzyści z profilaktycznego stosowania fluorochinolonów. Kandydatami do tej terapii mogą być osoby po operacjach, wymagające cewnikowania jedynie przez krótki okres. Stosuje się wtedy niskie dawki antybiotyku przez okres 3-14 dni, co w znacznym stopniu ogranicza wystąpienie ZUM [11,36]. W przypadku wystąpienia objawów klinicznych, należy usunąć cewnik i wykonać badanie mikrobiologiczne moczu, czasami także krwi i rozpocząć antybiotykoterapię trwającą zwykle 7-14 dni. W zależności od wyniku badania należy stosować odpowiedni antybiotyk, działający na dany drobnoustroj. W zakażeniu Gram-ujemnymi pałeczkami rekomendowane są fluorochinolony i cefalosporyny III generacji (cefotaksym, ceftriakson), koagulazododatnimi gronkowcami – aminoglikozydy i fluorochinolony, a w ostrych infekcjach szpitalnych – wankomycyna, jako lek tzw. „ostatniej szansy”, enterokokami – ampicylina i w ostrych zakażeniach szpitalnych – wankomycyna, a w przypadku *P. aeruginosa* – ceftazydym z dodatkiem aminoglikozydu [31].

Leczenie niepowikłanych zakażeń układu moczowego na ogół nie stwarza lekarzom większych problemów. Sytuacja komplikuje się w przypadku powikłanych infekcji szczepami opornymi na powszechnie stosowane antybiotyki/chemioterapeutyki oraz u pacjentów przewlekle cewnikowanych. Niestety, nadal preferowane jest tzw. leczenie empiryczne związkami o szerokim zakresie działania, nie znając aktualnej oporności uropatogenów. Doprowadzić to może do utraty kontroli nad skutecznością terapii, a także przyczynić się do gwałtownego wzrostu oporności bakterii na antybiotyki. Już dziś skuteczność niektórych leków jest bardzo ograniczona przez narastającą oporność szczepów

E. coli i gronkowców, szczególnie na sulfonamidy, aminopenicyliny a w ostatnim okresie na trimetoprim/sulfametoksazol oraz fluorochinolony [13]. Istotne wydaje się poszukiwanie nowych metod zapobiegania wystąpienia ZUM, polegające m.in. na powlekaniu cewników niepatogennymi szczepami *E. coli* (np. HU2117), co w znacznym stopniu mogłoby ograniczyć wzrost drobnoustrojów wywołujących zakażenia dróg moczowych. Wiele badań skupia się również na poszukiwaniu nowych związków hamujących adhezję bakterii do nabłonka czy formowanie biofilmów, a także tworzeniu specjalnych szczepionek, np. przeciw białkom adhezyjnym fimbrii bakteryjnych. Istotnym składnikiem macierzy biofilmu jest zewnątrzkomórkowy kwas deoksyrybonukleinowy (eDNA), dlatego w badaniach *in vitro*, wykazano również udział DNAzy I w redukcji biofilmu tworzonego przez *Pseudomonas aeruginosa* [30,35]. Ważną rolę w terapii mogą również odegrać bakteriofagi. Istnieje wiele doniesień wskazujących na znaczną redukcję (>90%) formowania biofilmu przez patogenne szczepy, na cewnikach pokrytych bakteriofagami, m.in. wykazano aktywność bakteriofaga T4 wobec *E. coli*, a także mieszaniny złożonej z pięciu fagów przeciw *P. aeruginosa* [7,21,36,39,40].

PODSUMOWANIE

Biofilm jest miejscem niezwykle dogodnym do szerzenia się lekooporności wśród patogennych szczepów. Komórki bakteryjne będące integralną częścią biofilmu są w znacznie większym stopniu odporne na środki bakteriobójcze niż formy planktonowe. Zakażenia układu moczowego z udziałem biofilmu bakteryjnego występują z bardzo dużą częstością u ludzi. Złożoność struktury biofilmu stanowi barierę dla powszechnie stosowanych chemioterapeutyków, powoduje powstawanie chronicznych i nawracających stanów zapalnych układu moczowego. Z punktu widzenia klinicznego terapia infekcji układu moczowego nadal jest wyzwaniem dla współczesnej urologii, dlatego niezbędne jest prowadzenie dalszych badań mających na celu pogłębienie wiedzy z zakresu funkcjonowania i struktury biofilmu bakteryjnego oraz poszukiwanie alternatywnych terapii zakażeń układu moczowego.

PIŚMIENICTWO

- [1] Baka-Ostrowska M.: Zakażenie układu moczowego u dzieci. Przegl. Urol., 2006; 7: 31-33
- [2] Baranowska K., Radziejewicz A.: Molekularne interakcje w biofilmach bakteryjnych. Kosmos, 2008; 57: 278-279
- [3] Bartoszewicz M., Rygiel A.: Biofilm jako podstawowy mechanizm zakażenia miejsca operowanego – metody prewencji w leczeniu miejscowym. Chirurgia Polska, 2006; 8: 171-178
- [4] Beiko D.T., Knudsen B.E., Watterson J.D., Denstedt J.D.: Biomaterials in urology. Curr. Urol. Reports, 2003; 4: 51-55
- [5] Bichler K.H., Peiper E., Naber K., Braun V., Zimmermann R., Lahme S.: Urinary infection stones. Int. J. Antimicrob. Agents, 2002; 19: 488-498
- [6] Chen X., Schaunders S., Potier N., Dorsselaer A.V., Pelczar I., Basler B.L., Hughson F.M.: Structural identification of a bacterial quorum-sensing signal containing boron. Nature, 2002; 415: 545-549
- [7] Chibeu A., Lingohr E.J., Masson L., Manges A., Harel J., Ackermann H.W., Kropinski A.M., Boerlin P.: 8 Bacteriophages with the ability to degrade uropathogenic Escherichia coli biofilms. Viruses, 2012; 4: 471-487
- [8] Choe H.S., Son S.W., Choi H.A., Kim H.J., Ahn S.G., Bang J.H., Lee S.J., Lee J.Y., Cho Y.H., Lee S.S.: Analysis of the distribution of bacteria within urinary catheter biofilm using four different molecular techniques. Am. J. Infect. Control, 2012; 40: 249-254
- [9] Coker C., Poore C.A., Li X., Mobley H.L.: Pathogenesis of Proteus mirabilis urinary tract infection. Microbes Infect., 2000; 2: 1497-1505
- [10] Czaczek K., Myszkowski K.: Mechanizmy warunkujące oporność biofilmów bakteryjnych na czynniki antymikrobiologiczne. Biotechnologia, 2007; 1: 40-52
- [11] Dalhoff A.: Global fluoroquinolone resistance epidemiology and implications for clinical use. Interdiscip. Perspect. Infect. Dis., 2012; 2012: 976273

- [12] Donlan R.M., Costerton J.W.: Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2002; 15: 167-193
- [13] Dunne W.M.: Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? *Clin. Microbiol. Rev.*, 2002; 15: 155-166
- [14] Franz M., Hörl W.H.: Common errors in diagnosis and management of urinary tract infection. II: Clinical management. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 1999; 14: 2754-2762
- [15] Grzesik A., Połetyło A., Wolska A.: Etiological agents of urinary tract infections in children treated at the Institute of Mother and Child. *Med. Wieku Rozwoj.*, 2008; 12: 789-794
- [16] Hachem R., Reitzel R., Borne A., Tinkey P., Uthamanthil R., Chandra J., Ghannoum M., Raad I.: Novel antiseptic urinary catheters for prevention of urinary tract infections: correlation of in vivo and in vitro test results. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009; 53: 5145-5149
- [17] Hazan Z., Zumeris J., Jacob H., Raskin H., Kratysh G., Vishnia M., Dror N., Barliya T., Mandel M., Lavie G.: Effective prevention of microbial biofilm formation on medical devices by low-energy surfaces acoustic waves. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006; 50: 4144-4152
- [18] Hunt S., Werner E., Huang B., Hamilton M., Stewart P.: Hypothesis for the role of nutrient starvation in the biofilm detachment. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004; 70: 7418-7425
- [19] Jacobsen S.M., Stickler D.J., Mobley H.L., Shirliff M.E.: Complicated catheter – associated urinary infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2008; 21: 26-59
- [20] Jansen A.M., Lockatell C.V., Johnson D.E., Mobley H.L.: Visualisation of *Proteus mirabilis* morphotypes in the urinary tract: the elongated swarmer cell is rarely observed in ascending urinary tract infection. *Infect. Immun.*, 2003; 71: 3607-3613
- [21] Jaworski A., Serwecińska L., Stączek P.: Quorum sensing – komunikowanie się komórek w populacjach bakterii przy udziale chemicznych cząstek sygnałowych. *Postępy Biol. Kom.*, 2005; 32: 231-256
- [22] Jiang X., Abgottspoon D., Kleeb S., Rabbani S., Scharenberg M., Wittwer M., Haug M., Schwardt O., Ernst B.: Antiadhesion therapy for urinary tract infections a balanced PK/PD profile proved to be key for success. *J. Med. Chem.*, 2012; 55: 4700-4713
- [23] Khandewkar A.P., Doble M.: Physicochemical characterisation and biological evaluation of polyvinylpyrrolidone-iodine engineered polyurethane (Tecoflex®). *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 2011; 22: 1231-1246
- [24] Ko G.Y., Kim G.C., Seo T.S., Kim T.H., Lim J.O., Lee J.H., Song H.Y.: Covered, retrievable, expandable urethral nitinol stent: feasibility study in dogs. *Radiology*, 2002; 223: 83-90
- [25] Kodner C.M., Thomas Gupton E.K.: Recurrent urinary tract infections in women: diagnosis and management. *Am. Fam. Physician*, 2010; 82: 638-643
- [26] Kupilas A.: Przewlekłe zakażenia układu moczowego. *Przegląd Urologiczny*, 2010; 63: 19-25
- [27] Kupilas A.: Zakażenie układu moczowego. *Przegląd Urologiczny*, 2006; 38: 50-59
- [28] Matejczyk M., Suchowiejska M.: Charakterystyka zjawiska Quorum sensing i jego znaczenie w aspekcie formowania i funkcjonowania biofilmu w inżynierii środowiska, budownictwie, medycynie oraz gospodarstwie domowym. *Civil Environ. Eng.*, 2011; 2: 71-75
- [29] Morris N.S., Stickler D.J., Mc Lean R.J.: The development of bacterial biofilms on indwelling urethral catheters. *World J. Urol.*, 1999; 17: 345-350
- [30] Nemoto K., Hirota K., Murakami K., Taniguti K., Murata H., Viducic D., Miyake Y.: Effect of Varidase (Streptodornase) on biofilm formed by *Pseudomonas aeruginosa*. *Chemotherapy*, 2003; 49: 121-125
- [31] Nicolle L.E.: Catheter-related urinary tract infection. *Drugs Aging*, 2005; 22: 627-639
- [32] Rokosz A., Bednarska A., Łuczak M.: Bakteryjne czynniki zakażeń układu moczowego u hospitalizowanych pacjentów oraz ich wrażliwość na leki przeciwbakteryjne. *Urol. Pol.*, 2005; 58: 119-124
- [33] Różański W.: Kamica struwitowa. *Przegląd Urologiczny*, 2010; 60: 16-21
- [34] Saadeh S.A., Mattoo T.K.: Managing urinary tract infection. *Pediatr. Nephrol.*, 2011; 26: 1967-1976
- [35] Sahu P.K., Iyer P.S., Oak A.M., Pardesi K.R., Chopade B.A.: Characterization of eDNA from the clinical strain *Acinetobacter baumannii* AIIMS 7 and its role in biofilm formation. *ScientificWorld J.*, 2012; 2012: 1-10
- [36] Saint S., Lipsky B.A.: Preventing catheter-related bacteriuria: Should we?, Can we? How? *Arch. Intern. Med.*, 1999; 159: 800-808
- [37] Saint S., Veenstra D.L., Sullivan S.D., Chenoweth C., Fendrick A.M.: The potential clinical and economic benefits for silver alloy urinary catheters in preventing urinary tract infection. *Arch. Intern. Med.*, 2000; 160: 2670-2675
- [38] Salvatore S., Cattoni E., Siesto G., Serati M., Sorice P., Torella M.: Urinary tract infections in women. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2011; 156: 131-136
- [39] Scharenberg M., Schwardt O., Rabbani S., Ernst B.: Target selectivity of FimH antagonists. *J. Med. Chem.*, 2012; 55: 8910-8916
- [40] Siddiq D.M., Darouiche R.O.: New strategies to prevent catheter-associated urinary tract infections. *Nat. Rev. Urol.*, 2012; 9: 305-314
- [41] Stamm W.E., Norrby S.R.: Urinary tract infections: disease panorama and challenges. *J. Infect. Dis.*, 2001; 183: S1-S4
- [42] Stove S.D., Richards J.J., Tucker A.T., Thompson R., Melander C., Cavanagh J.: Anti-biofilm compounds derived from marine sponges. *Mar. Drugs*, 2011; 9: 2010-2035
- [43] Tenke P., Komes B., Nagy K., Hultgren S.J., Mendling W., Wullt B., Grabe M., Wagenlehner F.M., Cek M., Piccard R., Botto H., Naber K.G., Bjerklund Johansen T.E.: Update on biofilm infections in the urinary tract. *World J. Urol.*, 2012; 30: 51-57
- [44] Torzewska A.: Udział drobnoustrojów w powstawaniu kamieni moczowych. *Postępy Mikrobiol.*, 2003; 42: 39-53
- [45] Tunney M.M., Gorman S.P.: Evaluation of a poly (vinylpyrrolidone)-coated biomaterial for urological use. *Biomaterials*, 2002; 23: 4601-4608
- [46] Wagenlehner F.M., Cek M., Naber K.G., Kiyota H., Bjerklund-Johansen T.E.: Epidemiology, treatment and prevention of healthcare-associated urinary tract infections. *World J. Urol.*, 2012; 30: 59-67
- [47] Waters C.M., Bassler B.L.: Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 2005; 21: 319-346
- [48] Wojnicz D.: Wpływ stężeń podprogowych antybiotyków na zdolności adhezyjne bakterii. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2007; 16: 141-148

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.