

Received: 2006.12.07
Accepted: 2007.03.15
Published: 2007.04.13

Bakterie z rodzaju *Proteus* – cechy i czynniki chorobotwórczości

Proteus bacilli: Features and virulence factors

Antoni Różalski¹, Iwona Kwil¹, Agnieszka Torzewska¹, Magdalena Baranowska¹, Paweł Stączek²

¹ Zakład Immunobiologii Bakterii, Instytut Mikrobiologii i Immunologii Uniwersytetu Łódzkiego

² Zakład Genetyki Drobnoustrojów, Instytut Mikrobiologii i Immunologii Uniwersytetu Łódzkiego

Streszczenie

W artykule omówiono zagadnienia dotyczące czynników chorobotwórczości bakterii z rodzaju *Proteus* (*P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. penneri* i *P. hauseri*). Są to patogeny warunkowo chorobotwórcze, powodujące różne rodzaje zakażeń; najczęściej dróg moczowych. Bakterie te wykształciły wiele cech warunkujących ich patogenność. Należą do nich: zdolność do przylegania, związana z występowaniem fimbrii lub afimbrialnych adhezyn, inwazyjność, zjawisko rozpełzłego wzrostu, aktywność hemolityczna, zdolność do rozkładu mocznika, właściwości proteolityczne oraz wytwarzanie endotoksyny (LPS). Przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat molekularnych podstaw chorobotwórczości ww. bakterii.

Słowa kluczowe:

pałeczki *Proteus* • patogeny oportunistyczne • czynniki wirulencji

Summary

In this article, different aspects of virulence factors of *Proteus bacilli* (*P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. penneri* i *P. hauseri*) are presented. These are opportunistic pathogens that cause different kinds of infections, most frequently of the urinary tract. These bacteria have developed several virulence factors, such as adherence due to the presence of fimbriae or afimbrial adhesins, invasiveness, swarming phenomenon, hemolytic activity, urea hydrolysis, proteolysis, and endotoxicity. Below we focus on data concerning the molecular basis of the pathogenicity of *Proteus bacilli*.

Key words:

Proteus bacilli • opportunistic pathogens • virulence factors

Full-text PDF:

http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_61/10351.pdf

Word count:

6469

Tables:

2

Figures:

3

References:

164

Adres autora:

prof. dr hab. Antoni Różalski, Zakład Immunobiologii Bakterii, Instytut Mikrobiologii i Immunologii, Uniwersytet Łódzki, Banacha 12/16, 90-237 Łódź; e-mail: rozala@biol.uni.lodz.pl

WSTĘP

Bakterie z rodzaju *Proteus* zaliczone do rodziny *Enterobacteriaceae* są urzęsionymi, Gram-ujemnymi pałeczkami, opisanymi przez Hausera w 1885 r. Pierwotnie w tym rodzaju bakterii wyróżniano dwa gatunki *P. mirabilis* i *P. vulgaris*. Klasyfikacja pałeczek *Proteus* spp. zmieniała się, wymiennie tworzone i przenoszono gatunki w obrębie trybu *Proteae*, który tworzyły rodzaje *Proteus*, *Providencia* i *Morganella*. Na przykład obecne gatunki *Morganella morgani* i *Providencia rettgerii* w przeszłości były zaliczane do rodzaju *Proteus* i były odpowiednio nazwane: *Proteus morgani* i *Proteus rettgerii* [48]. Obecnie rodzaj *Proteus* obejmuje pięć gatunków: *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. penneri*, *P. hauseri* i *P. myxofaciens*. Ostatni gatunek nie odgrywa żadnej roli w chorobotwórczości u ludzi; bakterie te zostały wyizolowane z larw brudnicy nieparki *Porthetia dispar*. Pozostałe gatunki są względnie patogenami człowieka. Gatunki *P. penneri* i *P. hauseri* zostały utworzone jako nowe dla szczepów wyodrębnionych z *P. vulgaris*, który jak wykazały badania genetyczne okazał się najbardziej heterogenny. Gatunek *P. penneri* został utworzony w miejsce biogrupy I, po analizie homologii DNA/DNA w obrębie trzech biogrup *P. vulgaris*. Biogrupa 2 *P. vulgaris* charakteryzuje się dużą homogennością, natomiast w biogrupie 3 wyszczególniono, najpierw 4 gatunki genomowe 3, 4, 5 i 6, a następnie gatunek genomowy 3, który po ustaleniu charakterystycznych cech biochemicznych nazwano *P. hauseri* [99].

Drobnoustroje z rodzaju *Proteus* są znane z właściwości proteolitycznych, zdolności do oksydatywnej deaminacji aminokwasów w warunkach tlenowych i względnie beztlenowych, a także hydrolizy mocznika do amoniaku i dwutlenku węgla. Odgrywają więc bardzo ważną rolę w środowisku naturalnym rozkładając materię organiczną pochodzenia zwierzęcego. Bakterie te występują w zanieczyszczonych wodach, glebie, nawozie naturalnym; znaleźć je też można w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt [104]. *P. mirabilis* jest drobnoustrojem bardzo często izolowanym z przewodu pokarmowego psów, krów i ptaków. Dwa ostatnie z wymienionych zwierząt są też częstymi nosicielami *P. vulgaris*. Gatunek ten jest częściej niż *P. mirabilis*, izolowany z przewodu pokarmowego świń, natomiast znacznie rzadziej od psów. Ptaki drapieżne (sokół, sowa, sęp) są również często kolonizowane przez pałeczki z rodzaju *Proteus*, z dominującym udziałem *P. mirabilis*. Bakterie te występują także jako flora naturalna gadów zwłaszcza węży. U tych organizmów stwierdzono obecność przede wszystkim *P. vulgaris*. Pałeczki z rodzaju *Proteus* wykryto również w organizmach ryb zarówno słodko- jak i słonowodnych [48].

Pałeczki *Proteus* stanowią patogeny oportunistyczne, które w określonych warunkach wywołują następujące rodzaje zakażeń: dróg oddechowych, ran (w tym po oparzeniach), kości, przewodu pokarmowego, szpitalnych (zwłaszcza na oddziałach psychiatrycznych), w domach opieki osób starszych, zapalenie stawów, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, czy infekcje dróg moczowych – te ostatnie z największą częstością. $\frac{2}{3}$ wszystkich przypadków to zakażenia szpitalne. Najważniejszym czynnikiem etiologicznym zakażeń jest *P. mirabilis* [48,154]. Z badań epidemiologicznych wynika, iż wywołuje on 5% wszystkich zakażeń szpitalnych, aczkolwiek ostatnio obserwuje się tendencję spadkową. Częstość występowania zapalenia opon móz-

gowo-rdzeniowych po infekcji *Proteus* spp. przedstawiana jest w zależności od źródeł informacji i wynosi 0,2–4% wszystkich przypadków. Udział pałeczek *Proteus* w zakażeniach ran ocenia się na 4% ogólnej liczby tego typu infekcji. Bakterie te mogą powodować też groźne bakteriemie (zakażenia krwi), dane z piśmiennictwa wskazują na 13–15% częstość takich przypadków. Dla przykładu, analiza statystyczna tego typu zakażeń w jednym ze szpitali w Korei Południowej w latach 1991–2000 wykazała, iż 65% przypadków bakteriemii powoduje *P. mirabilis*, 32% *P. vulgaris* i 3% *P. penneri* [48].

Bakterie z rodzaju *Proteus* mogą być też przyczyną zapalenia opon mózgowych u dzieci, najczęściej u noworodków i powyżej 15 roku życia. Zakażenia te wywołuje najczęściej *P. mirabilis*, znaczenie pozostałych gatunków *P. vulgaris* i *P. penneri* jest zdecydowanie mniejsze i ogranicza się do pojedynczych przypadków. *P. mirabilis* jest też przyczyną zakażeń ran (4% ogólnej liczby przypadków), zwłaszcza w zakażeniach mieszanych [48].

Nierozstrzygniętą kwestią jest rola pałeczek *Proteus* sp. w wywoływaniu reumatoidalnego zapalenia stawów (RA – rheumatoid arthritis). Na taką zależność wskazuje wysoki poziom przeciwciał skierowanych przeciwko *P. mirabilis* w surowicach osób z rozpoznaniem RA [38] i podwyższony poziom przeciwciał klas IgM, IgG oraz IgA we krwi i moczu oraz wykazanie u 17% pacjentów z potwierdzonym RA zakażeń *P. mirabilis* [126]. Prawdopodobny mechanizm wywoływania RA w trakcie zakażeń tymi pałeczkami jest związany z istnieniem molekularnej mimikry. Stwierdzono, że powstające podczas infekcji *P. mirabilis* przeciwciała reagują krzyżowo z ludzkimi komórkami mającymi na swej powierzchni markery genetyczne RA – antygenami zgodności tkanowej HLA-DR4, z charakterystycznym motywem składającym się z 6 aminokwasów EQRRAA. Podobną sekwencję ESRRAL odkryto w hemolizynie HpmA, a jej strukturalny homolog to IRRET w ureazie *P. mirabilis*. Zakłada się więc, iż pojawiające się w trakcie chronicznych infekcji tymi bakteriami przeciwciała przeciwko hemolizynie i ureazie reagują krzyżowo z wymienionymi wcześniej antygenami powierzchniowymi, umiejscowionymi na takich komórkach jak limfocyty B i fibroblasty. Prowadzi to do stanu zapalnego i zmian, których skutkiem jest RA. Taką możliwość potwierdza obserwacja, że w surowicach pacjentów z rozpoznaniem RA wykrywa się przeciwciała reagujące z antygenami zawierającymi podobne sekwencje aminokwasowe jak w antygenach HLA DR4 i HpmA [39,44,109].

ZAKAŻENIA DRÓG MOCZOWYCH

Zakażenia dróg moczowych (UTI – urinary tract infections) w literaturze polskiej są też określane jako zakażenia układu moczowego (ZUM). Bakterie z rodzaju *Proteus* częściej wywołują zakażenia wstępujące, podczas których bakterie kolonizują kolejne partie układu moczowego: ujście cewki moczowej, cewkę moczową, pęcherz, moczowód i nerki. Dane statystyczne wskazują, iż 80–90% zakażeń dróg moczowych tymi mikroorganizmami to zakażenia wyższych odcinków dróg moczowych [117]. Rzadziej zakażenia dróg moczowych mają charakter infekcji ogólnych, rozprzestrzeniających się przez krew. Najważniejszą rolę w tych zakażeniach odgrywa *P. mirabilis*. Wcześniejsze raporty wykazywały 5% udział *P. mirabilis* wśród czyn-

Tabela 1. Czynniki wirulencji bakterii z rodzaju *Proteus* [48,114,115,120, Kwil i wsp. – dane nieopublikowane]

Czynnik (właściwość)	Fenotyp	Operon	<i>P. mirabilis</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>P. penneri</i>	<i>P. hauseri</i>	Gatunki genomowe	Funkcja (znaczenie)
Fimbrie	MR/P	<i>mrp</i>	+	+	+	+	+	adherencja, kolonizacja pęcherza i nerek (ATF bez znaczenia w zakażeniu) • wzrost w postaci biofilmu
	MR/K	?	+	–	+	nb	nb.	
	PMF	<i>pmf</i>	+	+	+	+	+	
	NAF (UCA)	<i>uca</i>	+	–	–	–	–	
	ATF	<i>atf</i>	+	–	–	nb	nb	
	PMP	<i>pmp</i>	+	–	–	–	–	
Inwazyjność			+	+	+	nb	nb	zdolność penetracji komórek eukariotycznych
Rzęski	Mot	<i>flaA-flaC</i>	+	+	+	+	+	ruch bakterii • zakażenia wstępujące
Wzrost rozpełzliwy	Mot	wiele genów	+	+	+	–	+	ruch bakterii, zakażenia wstępujące
Ureaza	Ure	<i>ure</i>	+	+	+	+	+	tworzenie kamieni moczowych • cytotoksyczność
Proteazy	Zap	<i>zap</i>	+	+	+	+	+	hydroliza przeciwciał IgA i IgG i innych białek
Deaminazy aminokwasów	Aad	<i>aad</i>	+	+	+	nb	nb	pozyskiwanie żelaza
Hemolizyny	HpmA	<i>hpm</i>	+	+	+	+	+	cytotoksyczność
	HlyA	<i>hly</i>	–	+	+	–	–	
CPS (capsular polysaccharide) – polisacharyd otoczkowy	CPS	<i>cmfA</i>	+	+	nb	nb	nb	ułatwianie przemieszczania się „swarm cells”. formowanie kamieni moczowych • wzrost w postaci biofilmu
LPS			+	+	+	+	+	endotoksyna – MSOF, niewrażliwość na działanie surowicy • formowanie kamieni • wzrost w postaci biofilmu

ników etiologicznych UTI, podczas gdy udział *P. vulgaris* wahał się 0,5–1,8% [149,155]. Dane opublikowane później wskazują na większy udział *P. mirabilis* w UTI – 7,7% [27]. Opisano też wiele przypadków UTI wywołanych przez *P. penneri*, brak jednak danych zbiorczych, które pozwoliłyby na ustalenie wskaźnika procentowego częstości zakażeń [64]. Pałeczki *Proteus* są izolowane z materiału klinicznego pacjentów w postaci czystych kultur lub wraz z innymi patogenami powodującymi zakażenia dróg moczowych najczęściej z rodzajów *Klebsiella* lub *Serratia*. Przebiegające bez komplikacji zakażenia *Proteus* spp. występują najczęściej u starszych kobiet, rzadziej u dzieci, u tych ostatnich częściej u chłopców [48,127]. Bakterie z rodzaju *Proteus* częściej wywołują zakażenia u osób z określonymi dysfunkcjami w układzie moczowym, niż u osób w dobrym stanie ogólnym [155]. Pałeczki *Proteus* wywołują zakażenia układu moczowego u osób z wadami anatomicznymi, defektami fizjologicznymi w tym układzie lub dysfunkcjami o charakterze neurologicznym, u pacjentów poddanych

zabiegom chirurgicznym oraz u osób poddanych cewnikowaniu. Bakterie te zajmują drugie miejsce po *Providencia stuartii* pod względem wywoływania bakteriiurii związanej ze stosowaniem cewników (15% przypadków) [155]. *P. mirabilis* jest wykrywany w 12% przypadków zakażeń dróg moczowych przebiegających z komplikacjami polegającymi m.in. na formowaniu kamieni moczowych, destrukcji dróg moczowych, zapaleniu pęcherza moczowego (cystitis) oraz ostrym i chronicznym odmiedniczkowym zapaleniu nerek (pyelonephritis). *P. mirabilis* jest też częstym czynnikiem etiologicznym zakażeń dróg moczowych u osób przebywających w domach opieki. Częstość tych zakażeń waha się 20–38%, przy czym okolicznością wydatnie sprzyjającą infekcji jest cewnikowanie [96].

CZYNNIKI WIRULENCJI PAŁECZEK *PROTEUS*

Czynniki wirulencji (chorobotwórczości, patogenności) bakterii pozwalają im skutecznie skolonizować określone

tkanki i/lub narządy makroorganizmu gospodarza. Mogą to być składniki komórkowe wspólne dla wielu gatunków bakterii, takie np. jak lipopolisacharyd (LPS, endotoksyna), typowy czynnik patogenności bakterii Gram-ujemnych. Rolę czynników chorobotwórczości mogą też spełniać określone właściwości, struktury komórkowe lub produkty typowe dla poszczególnych rodzajów czy nawet gatunków bakterii. Wykształcenie odpowiednich struktur wiąże się z koniecznością przeżycia i przystosowania się patogenów do konkretnych środowisk, w których przebiega zakażenie [40]. Czynniki chorobotwórczości pałeczek *Proteus* zestawiono w tabeli 1. Poniżej dokonano przeglądu najnowszych danych dotyczących molekularnych podstaw chorobotwórczości tych patogenów.

Adherencja

Zjawisko adherencji (adhezja, przyleganie) warunkują molekularne oddziaływania między powierzchnią bakterii i kolonizowanych komórek gospodarza. U bakterii Gram-ujemnych za te oddziaływania są odpowiedzialne fimbrie, glikokaliks oraz właściwości hydrofobowe powierzchni komórkowej [98]. Przyleganie bakterii warunkuje nie tylko skuteczną kolonizację tkanek makroorganizmu, ale także może stanowić sygnał aktywujący ekspresję genów kodujących czynniki wirulencji bakterii [133]. Bakterie, wykorzystując te same mechanizmy, które umożliwiają adherencję do tkanek, mogą przylegać także do powierzchni materiałów biomedycznych, kolonizując na przykład sztuczne implanty czy cewniki, co obecnie stanowi poważny problem kliniczny [24]. Adherencja jest też jednym z czynników warunkujących wzrost bakterii w postaci biofilmu, tak w organizmie zakażonym, jak i na powierzchniach sztucznych [98].

Fimbrie, adhezyny afimbriowe

U bakterii z rodzaju *Proteus* zidentyfikowano dotychczas 6 rodzajów fimbrii lub adhezyn afimbrialnych, mogących występować na tych samych komórkach. Są to fimbrie MR/P (mannose resistant *Proteus* like fimbriae), hemaglutyniny MR/K (mannose resistant *Klebsiella* like fimbriae), fimbrie PMF (*Proteus mirabilis* fimbriae), fimbrie ATF (ambient temperature fimbriae), fimbrie NAF (nonagglutinating fimbriae), fimbrie PMP (*P. mirabilis* P-like fimbriae). Nie dla wszystkich rodzajów fimbrii potwierdzono ich znaczenie w chorobotwórczości. Stopień poznania organizacji operonów kodujących poszczególne rodzaje fimbrii, jak i ich biogenezy jest też zróżnicowany [22,89,114].

Fimbrie MR/P są kodowane przez operon *mrp* (7293 pz), składający się z 10 genów *mrpA-J*, kodujących białka strukturalne i regulatorowe w procesie syntezy. Główne białko strukturalne MrpA tych fimbrii wykazuje duże podobieństwo do głównego białka strukturalnego fimbrii SmfA *Serratia marcescens* [6]. Białko MrpB (terminator) jest przyłączane jako ostatnie „kończąc” biosyntezę fimbrii [74]. Funkcję platformy (kotwicy) mocującej strukturę fimbrii w błonie zewnętrznej bakterii pełni białko MrpC. Białko MrpI jest białkiem regulatorowym procesu transkrypcji operonu *mrpABCDEFGHIJ*, a tym samym zjawiska inicjacji i wstrzymywania biosyntezy fimbrii (zmienność fazowa fimbrii). Białko MrpD jest białkiem opiekuńczym (chaperon protein), pełniącym podczas biogenezy funk-

cje transportowe i pomocnicze [22]. Ważną rolę w procesie biosyntezy fimbrii oraz w ich biologicznej funkcji odgrywa białko MrpG, umiejscowione blisko szczytu fimbrii. Adhezynę stanowi białko MrpH umiejscowione na wierzchołku fimbrii [73,75]. Białko MrpJ jest zdolne do inhibicji transkrypcji rzęskowego operonu *flhDC* podczas wytwarzania fimbrii MR/P, co prowadzi do zahamowania wytwarzania rzęsek [73]. Fimbrie te wykrywa się najczęściej w szczepach *P. mirabilis* powodujących odmiedniczkowe zapalenie nerek. Stwierdzono ich większe wytwarzanie *in vivo* niż *in vitro* [90,161].

Hemaglutyniny MR/K są bardzo słabo scharakteryzowane na poziomie genetycznym i molekularnym. Występują częściej u *P. penneri* i uczestniczą w wiązaniu się bakterii do kłębuszków nerkowych, są też odpowiedzialne za adherencję do cewników urologicznych, co jest czynnikiem sprzyjającym bakteriurii [114,115].

Fimbrie PMF są kodowane przez operon *pmf* obejmujący 5 genów (*pmfA, C, D, E i F*) [84]. Zidentyfikowano białko PmfA jako podjednostkę strukturalną, wykazującą dużą homologię z białkiem SmfA fimbrii *S. marcescens* i mniejszą z białkiem MrkA fimbrii *Klebsiella pneumoniae* [5]. Do niedawna utrzymywano, iż fimbrie PMF są odpowiedzialne przede wszystkim za kolonizację pęcherza [83]. Badania Zunino i wsp. [164] wykazały również ich udział w kolonizacji nerek.

Fimbrie ATF są kodowane przez operon *atf*, w którym zidentyfikowano jak dotąd tylko 3 geny *atfa-c*, kodujące trzy białka: podjednostkę strukturalną (AtfA), białko opiekuńcze (AtfB) oraz platformę w błonie zewnętrznej (AtfC) [81,82]. Białko AtfA wykazuje dużą homologię z białkami strukturalnymi (FimA i PilA) fimbrii typu I (fimbrie mannozowrażliwe) *Salmonella* i *Escherichia coli* oraz słabszą z białkiem SfaA i PapA odpowiednio fimbrii S i P *E. coli*, a także MrpA i PmfA fimbrii *P. mirabilis*. Białka AtfB i AtfC charakteryzowały się znaczną homologią odpowiednio z białkiem opiekuńczym FimC i Fim D – kotwicą fimbrii typu I *E. coli* [82]. Pomimo podobieństw nie stwierdzono ich udziału w infekcji dróg moczowych [163].

Fimbrie NAF wcześniej opisano jako UCA – uroepithelial cell adhesin. Główne białko strukturalne tych fimbrii stanowi UcaA. Fimbrie NAF wykazują homologię z fimbriami S szczepów *E. coli* i fimbriami *Haemophilus influenzae* [48]. Na poziomie molekularnym zidentyfikowano receptor wiążący te fimbrie, jest nim dwucukier GalNAc-(β 1,4)-Gal, umiejscowiony w glikolipidach pozbawionych kwasu sialowego typu ganglio w nabłonku [71].

Jak już wspomniano wcześniej, białka fimbrii są antygenami o silnych właściwościach immunogennych. Wykazano, iż immunizacja całymi fimbriami MR/P lub adhezyną MrpH prowadzi do uzyskania odporności na zakażenie bakteriami drogą wstępującą [115,124]. Podobny efekt uzyskano w odniesieniu do białka UcaA [103].

Glikokaliks

Adherencję bakterii do tkanek organizmu gospodarza może również warunkować glikokaliks, zbudowany z nierozpuszczalnych, naładowanych ujemnie polisacharydo-

wych łańcuchów, uformowanych w fibryle o średnicy 0,5–1 nm. U bakterii Gram-ujemnych jest on przyłączony do łańcuchów O-swoistych lipopolisacharydu, tworząc rodzaj otoczki. Łańcuchy polisacharydowe glikokaliksu wiążą się najczęściej za pośrednictwem lektyn lub przez oddziaływania elektrostatyczne z oligosacharydami stanowiącymi fragmenty glikolipidów tkanek gospodarza [23]. Struktura chemiczna polisacharydów tworzących glikokaliks szczepów *Proteus* spp., poza nielicznymi wyjątkami, nie została wyjaśniona. Otoczkę glikokalikсовą bakterii tworzą najczęściej polisacharydy identyczne pod względem budowy chemicznej lub bardzo podobne do części O-swoistej LPS [115]. Glikokaliks przede wszystkim warunkuje wzrost bakterii w postaci biofilmu, ponadto może chronić bakterie przed fagocytami i bakteriofagami oraz dzięki śluzowatemu charakterowi ułatwia bakteriom rozprzestrzenianie się przez tzw. ruch ślizgowy.

Hydrofobowość powierzchni bakterii

Właściwości hydrofobowe powierzchni bakterii (CSH – cell surface hydrophobicity) sprzyjają przyleganiu oraz wnikaniu ich do tkanek gospodarza [69]. Hydrofobowość bakterii warunkuje nie tylko brak otoczki, czy zredukowana część O-swoista LPS, ale także charakter niektórych struktur powierzchniowych, np. fimbrii oraz występowanie fosfolipidów w błonie zewnętrznej. Można przyjąć, iż bakterie w trakcie infekcji mogą zmieniać charakter powierzchni z hydrofilowej na hydrofobową, regulując syntezę części O-swoistej LPS, polisacharydów otoczkowych lub fimbrii, co może im zapewnić lepsze właściwości adhezyjne (hydrofobowość), a także ochronę przed działaniem dopełniacza lub fagocytozą (hydrofilowość) [31]. Badania szczepów *P. mirabilis* wyizolowanych z biofilmu uformowanego na cewnikach urologicznych dowiodły, że większość tych bakterii charakteryzuje się właściwościami hydrofobowymi, co zapewne warunkuje ich przyleganie do sztucznej powierzchni. Z kolei szczepy izolowane z moczu pacjentów miały w większości charakter hydrofilowy [A. Torzewska i wsp. dane nieopublikowane].

Biofilm

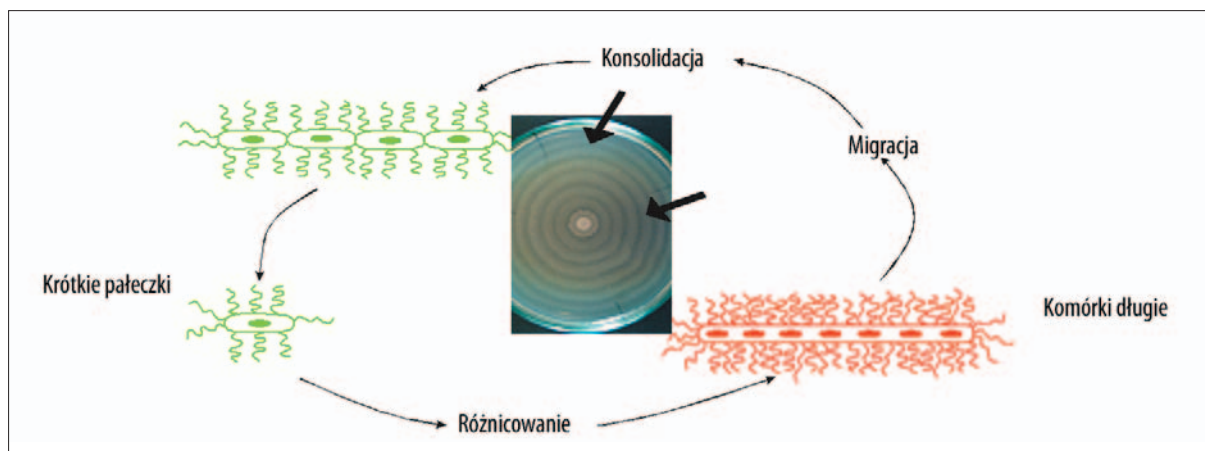
Biofilm, to zespół wzajemnie komunikujących się mikroorganizmów osiadłych na określonym podłożu, przylegających do siebie i osłoniętych otoczką. Biofilm może być utworzony przez jeden lub wiele gatunków drobnoustrojów [21]. Powstawanie biofilmu jest procesem kilkietapowym. Pierwszym etapem jest powstanie warstwy kontaktowej na powierzchni stałej, która w wypadku tworzenia się biofilmu na cewniku moczowym, powstaje przez odkładanie się substancji organicznych i nieorganicznych zawartych w moczu. Komórki planktoniczne zdolne do ruchu przemieszczają się ze środowiska płynnego i przylegają do tej warstwy. Początkowo adhezja jest odwracalna, gdyż jest warunkowana słabymi oddziaływaniami np. o charakterze hydrofobowym. Z czasem zjawisko to przybiera postać nieodwracalną, warunkowaną wytworzonymi egzopolisacharydami, rzęskami lub fimbriami. Związanie się bakterii z powierzchnią wzmaga syntezę otoczki glikokaliksowej, która umożliwia łączenie się bakterii nie tylko z powierzchnią stałą, na której formuje się biofilm, ale także wzajemne przyleganie bakterii. Prowadzi to do utworzenia mikrokolonii, która jest podstawową strukturą

biofilmu. Mikrokolonie o różnych kształtach przypominających grzyby, wieże lub słupy tworzy skupisko drobnoustrojów jednego lub kilku gatunków ściśle osłonięte wspólną otoczką polisacharydową. Między strukturami mikrokolonii powstają kanały, którymi przepływają woda i substancje odżywcze, produkty metabolizmu bakterii oraz płyny ustrojowe, np. mocz w przypadku powstawania biofilmu na cewnikach moczowych. Niekiedy biofilm przestrzenie przypomina dywan, z ułożonymi jedna na drugiej warstwami drobnoustrojów. Ostatni etap stanowi formowanie dojrzałego biofilmu. Ma on charakter wielowarstwowy przy czym składa się z trzech głównych warstw: warstwy wewnętrznej stykającej się z powierzchnią stałą np. cewnika, warstwy podstawowej, w której ułożone są zwarcie komórki drobnoustrojów oraz warstwy powierzchniowej. W tej ostatniej drobnoustroje są ułożone luźniej, mają kontakt ze środowiskiem zewnętrznym, charakteryzują się szybkim metabolizmem dzięki dobremu dostępowi do substancji odżywczych i tlenu, ale też są narażone na działanie czynników odpornościowych gospodarza, czy też stosowanych w terapii środków bójących lub hamujących wzrost bakterii. Mikroorganizmy mogą się odrywać od powierzchni biofilmu i przemieszczać w celu znalezienia bardziej dogodnego miejsca do rozwoju [9,26,29,30].

Szczególną rolę w powstawaniu i dojrzewaniu biofilmu odgrywają bakteryjne polimery pozakomórkowe (EPS – extracellular polymeric substances) – polisacharydy, białka czy fosfolipidy pośredniczące w adhezji, tworzące otoczki utrzymujące strukturę biofilmu, składającą się z mikrokolonii oddzielonych kanałami [24]. U bakterii Gram-ujemnych rolę EPS pełnią najczęściej ujemnie naładowane polisacharydy (zawierające kwasy uronowe, grupy siarczanowe i fosforanowe) tworzące glikokaliks; ich poszczególne cząsteczki są wiązane krzyżowo przez kationy wapnia lub magnezu.

Dojrzały, rozwinięty biofilm jest przyrównywany do społeczności wielkich miast, gdzie zbiorowiska drobnoustrojów pozostają ze sobą we wzajemnych związkach oraz zależnościach i mogą się porozumiewać [157]. Komunikacja bakterii w biofilmie odbywa się przez wysyłanie drobnych cząsteczek sygnałowych, którymi najczęściej są acyloowane laktony homoseryny, wiązane przez swoje receptory występujące na komórkach [10,51,157]. Zjawisko komunikacji między bakteriami znane jest jako „quorum sensing”, bowiem wydzielanie cząstek sygnałowych występuje najczęściej wtedy, kiedy populacja bakterii osiągnie określoną gęstość [28]. Obserwujemy wtedy skoordynowaną reakcję bakterii polegającą na aktywacji lub represji genów, a tym samym na osłabieniu metabolizmu, oraz intensyfikacji lub zahamowaniu wytwarzania określonych czynników wirulencji np. polisacharydów zewnątrzkomórkowych, syntezy rzęsek, biosyntezy fimbrii, dojrzewaniu biofilmu, jego formowaniu w trójwymiarową postać, czy oporności na chemioterapeutyki, a także inicjację procesu przekształcania się form osiadłych w planktoniczne, odrywaniu się ich i przemieszczaniu w inne miejsca [135].

Drobnoustroje występujące w głębokiej warstwie biofilmu charakteryzują się większą opornością na chemioterapeutyki niż formy planktoniczne. Oporność ta może wynikać z trudności przenikania chemioterapeutyków do wewnętrznych warstw biofilmu, pojawiają się wśród drobnoustro-



Ryc. 1. Schemat wzrostu rozpełzłego *Proteus mirabilis* na płytce z podłożem bulion + agar; etapy tego zjawiska [120, Kwil i wsp. dane nieopublikowane]

jów osiadłych form niewrażliwych lub o obniżonej wrażliwości. Dzieje się to na skutek zmian fenotypowych oraz takich zmian w metabolizmie, które prowadzą do jego spowolnienia, a tym samym „osłabienia tarczy działania” [33]. Specjalną rolę w zjawisku oporności odgrywają „persister cells” („persisters”) – komórki zdolne do przetrwania w środowisku czynników antybakteryjnych np. antybiotyków. Stanowią one liczbowo małą część populacji bakteryjnej biofilmu, nie rosną, ale też nie giną charakteryzując się wieloraką opornością na chemioterapeutyki [72].

Dane na temat wzrostu bakterii z rodzaju *Proteus* w postaci biofilmu są, jak dotychczas, fragmentaryczne, dotyczą różnych aspektów jego tworzenia, daleko jednak jeszcze do pełnej wiedzy na ten temat. Doniesienia w większości informują o obecności tych bakterii w postaci biofilmu na cewnikach urologicznych [93]. Biofilm wytwarzany przez bakterie ma unikalny charakter, towarzyszy mu bowiem krystalizacja struwitu i węglanu apatytu w moczu o podwyższonym pH. Prowadzi to bowiem do inkrustacji i zatykania cewników kryształami wspomnianych soli, tym samym zatrzymywania moczu w pęcherzu, co stanowi poważne zagrożenie dla pacjenta i może doprowadzić do wstępującego zakażenia kończącego się odmiedniczkowym zapaleniem nerek, a nawet szokiem septycznym [92,136,138].

Zjawisko wzrostu rozpełzłego (swarming phenomenon)

Pałeczki z rodzaju *Proteus* charakteryzuje dimorfizm związany ze środowiskiem, w którym występują. Podczas wzrostu na podłożu płynnym bakterie rozwijają się jako krótkie pałeczki z kilkoma (maksymalnie) rzęskami na komórkach, określane jako komórki pływające („swimmer cells”). Po przeniesieniu na podłoże stałe np. płytkę – agar z bulionem zmienia się ich morfologia i przekształcają się w komórki długie („swarmer cells”) ze zwiokrotnioną liczbą rzęsek oraz nukleoidów nieoddzielonych przegrodami. Populacja „swarmer cells” w sposób skoordynowany przemieszcza się po powierzchni podłoża, a kiedy bakterie „rozejdą się” i pojedyncze komórki znajdą się z dala od siebie, zatrzymują się i rozpadają na krótkie pałeczki [11,13]. Zjawisko przekształcania krótkich pałeczek w komórki długie, ich

migrację na podłożu stałym, rozpad do form krótkich (tzw. konsolidacja), określono jako zjawisko „rojenia się” (swarming phenomenon), powodujące wzrost rozpełzły (swarming growth). Ma ono charakter cykliczny, co wyraźnie widać na płytce agarowej pokrytej koncentrycznymi kręgami, w których strefy konsolidacji przedzielają strefy migracji „swarmer cells” (ryc. 1).

Proces różnicowania krótkich pałeczek do form długich jest inicjowany przez kontakt z podłożem stałym, zahamowanie rotacji rzęsek np. przez zwiększenie lepkości środowiska oraz pojawienia się cząsteczek sygnałowych [25,110]. Migrację „swarmer cells” ułatwia występujący na komórkach kwaśny polisacharyd powierzchniowy określany jako cmf (colony migration factor) [46]. Posługując się techniką mutagenyzy transpozonowej zidentyfikowano wiele genów kodujących czynniki warunkujące lub wpływające na zjawisko wzrostu rozpełzłego [18]. Jednym z nich jest gen *cheW* – mutant z zablokowaną jego funkcją nie wykazywał zdolności do wzrostu tego typu. Produkt genu – białko CheW – odgrywa ważną rolę w procesie przekazywania informacji w zjawisku chemotaksji. Nieznane jest znaczenie białka we wzroście rozpełzłym *P. mirabilis*; prawdopodobnie jest ono wówczas jednym ze składników systemu przekazywania informacji między bakteriami. Jak należało się spodziewać, wyłączenie genów odpowiedzialnych za syntezę rzęsek silnie wpływa na różnicowanie się lub migrację „swarmer cells”. Wykazano, że wyłączenie ekspresji genu *flaA* kodującego flagelinę w szczepach *P. mirabilis* prowadzi do zahamowania wydłużania się komórek krótkich, co ma związek z zaburzeniem wytwarzania rzęsek [12]. Podobny efekt obserwowano po wyłączeniu genu *flhA* kodującego jedno z białek (FlhA) systemu eksportującego białkowe elementy rzęsek tych bakterii [45]. Głównym składnikiem systemu zawiadującego transkrypcją genów kodujących flagelinę oraz różnicowaniem komórek jest czynnik FlhDC. Zwiększenie ekspresji tego czynnika prowadzi do zwiokrotnienia liczby rzęsek na komórkach bakteryjnych oraz wcześniejszego przekształcania się form krótkich w długie [43]. Stwierdzono, iż ekspresję operonu *flhDC* reguluje białko Lrp (leucine-responsive regulatory protein) oraz białka UmoA-D, umiejscowione w błonie komórkowej i przestrzeni peryplazmatycznej (umo – upregulated expression of the *flhDC* master operon) [36,47]. Lrp jest globalnym regula-

torem biosyntezy aminokwasów, ich degradacji, transportu peptydów i syntezy piliny [110]. Wykazano też związek między zjawiskiem wzrostu rozpełzłego a ekspresją dwóch genów związanych z biosyntezą LPS: *galU* – kodującego urydylotransferazę glukozo-1-fosforanu oraz *rfaD* odpowiedzialnego za syntezę 6-epimerazy ADP-L-glicero-D-mannoheptozy. Mutacja w genie *galU* prowadzi do zaburzenia syntezy rzęsek i ich rotacji. Drugi enzym jest zaangażowany w biosyntezę regionu rdzeniowego LPS. Mutacja w genie *rfaD* powoduje zahamowanie wydłużania się komórek krótkich [14,110]. Prawdopodobnie zaburzenia w syntezie LPS wpływają znacząco na organizację błony zewnętrznej i pośrednio na umocowanie w niej rzęski, a tym samym na jej rotację, a to zaś przekłada się na dezorganizację procesu tworzenia „swarmer cells”. Na ważną rolę błony zewnętrznej w zjawisku wzrostu rozpełzłego wskazują też wyniki badań mutantów pozbawionych opiekuńczego białka SurA asystującego w składaniu białek błony zewnętrznej, zahamowanie jego wytwarzania prowadzi do zatrzymania różnicowania pałeczek *Proteus* [52]. Dwa inne zidentyfikowane czynniki wpływające na proces wzrostu rozpełzłego to enzym PepQ – dipeptaza proliny [14] oraz ATP-aza typu P (P-type ATP-aza) [70]. Pierwszy enzym ma związek z wytwarzaniem zewnątrzkomórkowego sygnału biochemicznego (proliny), potrzebnego do inicjacji różnicowania komórek *Proteus*, drugi reguluje jonową homeostazę podczas tego różnicowania. Także zahamowanie wytwarzania putrescyny – innego czynnika komunikacji pomiędzy bakteriami, zaburza zjawisko wzrostu rozpełzłego [139]. Być może prowadzi to do zakłóceń w „quorum sensing”, co nie pozwala bakteriom „wyczuć” odpowiedniej gęstości populacji, niezbędnej do skoordynowanej migracji. Kolejnym enzymem ważnym dla prawidłowego przebiegu omawianego procesu jest oksydoreduktaza DsbA, odpowiedzialna za tworzenie mostków dwusiarczkowych w białkach peryplazmy, brak jej bądź ograniczenie wytwarzania też hamuje proces różnicowania bakterii [18]. Niedawno wykazano, iż resweratrol – fitoaleksyna o działaniu przeciwzapalnym, będąca równocześnie antyutleniaczem hamuje wzrost rozpełzły oraz ekspresję czynników chorobotwórczości *P. mirabilis* ureazy i hemolizyny, a także właściwości inwazyjnych tzn. zdolności bakterii do penetracji komórek eukariotycznych [154]. Działanie to występuje na skutek zahamowania wytwarzania białka RsbA – kinazy histydynowej, składnika systemu sygnałowego u tych bakterii. Jak już wykazano wcześniej także ważnego czynnika regulującego zjawisko rozpełzłego wzrostu (RsbA – regulation of swarming behaviour) [16]. Podobną rolę odgrywa białko FliL – składnik ciała podstawowego rzęsek *P. mirabilis*. Białko to jest zaangażowane w transdukcję sygnału uruchamiającego różnicowanie „swarmer cells” oraz ekspresję genów *zapA* i *hpmB* kodujących cechy wirulencji, odpowiednio – proteazę i białko transportujące hemolizynę (patrz niżej) [17].

Skoordynowane zachowanie się bakterii wymaga skutecznej komunikacji pomiędzy nimi polegającej na wysyłaniu sygnałów biochemicznych, ich rozpoznawania i właściwej reakcji. Jak wspomniano wcześniej, proces komunikowania się bakterii określa się terminem „quorum sensing” [51,88,135]. Zewnątrzkomórkowe cząsteczki sygnałowe biorące udział w porozumiewaniu się między komórkami *Proteus* zidentyfikowano jako autoinduktor 2, cykliczne peptydy oraz putrescynę [125,134,139,140]. Znaczenie

putrescyny potwierdzono w różnicowaniu się pałeczek *Proteus* podczas rojenia się. Wykazano bowiem, iż zahamowanie wytwarzania enzymów biorących udział w biosyntezie putrescyny powoduje opóźnienie różnicowania się krótkich pałeczek w formy długie – „swarmer cells”. Warto wspomnieć, że putrescyna występuje w niektórych lipopolisacharydach *Proteus*, gdzie podstawia reszty kwasu galakturonowego (GalA) w regionie rdzeniowym [151]. CPS (capsular polysaccharide) – kwaśny, powierzchniowy polisacharyd, ułatwiający migrację komórek długich zawiera także GalA [46,108], można zatem przyjąć, iż putrescyna razem z cząsteczkami polisacharydu stanowi sygnał uruchamiający proces różnicowania bakterii. Inną wcześniej wykrytą cząsteczką sygnałową jest glutamina [2]. Wykazano, że jej obecność w podłożach minimalnych warunkuje wzrost rozpełzły, do którego nigdy nie dochodzi, gdy bakterie rosną na podłożach bez tego aminokwasu [110].

Rola „swarmer cells” w patogenezie *Proteus* spp. jest obecnie dyskutowana. Stwierdzono silniejsze właściwości inwazyjne komórek długich, a także zwiększenie wytwarzania przez te postaci bakterii hemolizyny HpmA, ureazy i metaloproteazy ZapA [1,2,41,153]. W regulacji ekspresji genów kodujących hemolizynę znaczącą rolę odgrywają czynniki FlhDC, Lrp i UmoB, zaangażowane w nadzór na działaniem genów ważnych w powstawianiu „swarmer cells”. Jednak wspomniane regulatory nie pełnią tej funkcji w wytwarzaniu proteaz [41]. Nie potwierdzono obecności komórek długich w nerkach myszy zakażonych drogą wstępującą, a w pęcherzu pojawiają się one w niewielkiej liczbie [50,162]. Može to wynikać z faktu, iż w środowisku płynnym „swarmer cells” szybko rozpadają się na krótkie pałeczki [67]. Można też przypuszczać, iż w zakażonym organizmie krótkie pałeczki stanowią formy osiadłe, które przylegają do nabłonka za pomocą fimbrii. Tam są zwalczane przez różne mechanizmy m.in. przez niszczące działanie przeciwciał IgA. Przeciwciała te są hydrolizowane przez proteazy do aminokwasów, które (np. glutamina) są, oprócz lepkiego środowiska, sygnałem biochemicznym do różnicowania się komórek krótkich do „swarmer cells”, bez fimbrii, ale za to ze zwiokrotnioną liczbą rzęsek. Są to postaci wędrujące, warunkujące ucieczkę bakterii z miejsca, gdzie zostały zaatakowane przez układ immunologiczny do nowego „nieprzygotowanego” jeszcze do obrony miejsca w drogach moczowych. Tam rozpadają się do form krótkich ufimbriowanych i z mniejszą liczbą rzęsek, zdolnych do adherencji. Cykl zaczyna się od początku [14].

Rzęski

Rzęski, struktury odpowiedzialne za ruch bakterii w wilgotnym środowisku, są ważne nie tylko ze względu na opisaną uprzednio rolę w zjawisku rozpełzłego wzrostu. Są też czynnikami chorobotwórczości, w dużym stopniu odpowiedzialnymi za rozprzestrzenianie się bakterii i kolonizację makroorganizmu podczas infekcji. Będąc silnym antygenem H, skutecznie stymulują układ odpornościowy gospodarza do odpowiedzi humoralnej. Oprócz przeciwciał IgG ważną rolę w oddziaływaniach z drobnoustrojami odgrywają przeciwciała IgA wydzielane przez nabłonek, które wiążąc się z rzęskami zlepiają je, co prowadzi do zahamowania lub spowolnienia migracji bakterii. Dlatego tak duże znaczenie dla bakterii ma zjawisko zmienności fazowej rzęsek. U pałeczek

Proteus polega ono na wytwarzaniu flagelliny (FlaA), budującej włókno rzęski o zmiennej sekwencji aminokwasów i antygenowej swoistości [12,80]. Daje to bakteriom możliwość uniknięcia immobilizacji i zahamowania migracji. Synteza włókna rzęski jest kodowana przez geny *flaA-flaD*, z tym że geny *flaB* i *flaC* są kopiami „milczącymi” genu *flaA*, a gen *flaD* koduje białko warunkujące polimeryzację flagelliny [94]. Podstawą zmienności antygenowej jest rearanżacja genów *flaA* i *flaB*, co prowadzi do wytwarzania białek hybrydowych zbudowanych z N-terminalnej części FlaA i C-terminalnej FlaB. Różnią się one swoistością antygenową, zdolnością do ruchu w lepkim środowisku i w zmieniającym się pH oraz rozmieszczeniem na komórkach długich i krótkich, w hodowlach *in vitro* i *in vivo* [79,94].

Hemolizyny

Właściwości hemolityczne pałeczek *Proteus* zostały dobrze poznane. Bakterie te wytwarzają dwie hemolizyny – związaną z komórką HpmA i zewnątrzkomórkową HlyA. Pierwszą, wytwarzają wszystkie chorobotwórcze gatunki tych bakterii, drugą zaś szczepy *P. vulgaris* i *P. penneri* [63,113,119, Kwil i wsp. dane nieopublikowane]. Hemolizyna związana z komórką *P. mirabilis*, jest kodowana przez operon hpm składający się z dwóch genów: *hpmA*, kodującego białko cytolizynę oraz *hpmB*, kodującego białko przenoszące i aktywujące toksynę [158]. Stwierdzono dużą homologię na poziomie DNA oraz między białkami HpmA i HpmB *P. mirabilis* oraz analogicznymi białkami ShlA (hemolizyna) i ShlB (transporter/aktywator) *Serratia marcescens* [148]. Hemolizyna HlyA jest zaliczana do białek RTX (repeat in toxin) ze względu na obecność powtarzających się w białku sekwencji 9 aminokwasów, z których glicyna występuje najczęściej [62,159]. Działanie tej hemolizyny, w odróżnieniu od HpmA, jest niezależne od obecności w środowisku jonów wapnia. Obie hemolizyny HpmA i HlyA są zaliczane do toksyn tworzących kanały w błonie komórkowej (pore forming toxins) [113], więc działają nie tylko na eryocyty. Na przykład hemolizyna HlyA jest silną cytolizyną powodującą lizę także komórek nabłonka dróg moczowych oraz niektórych komórek układu immunologicznego [118]. Rola biologiczna hemolizyny HpmA nie jest dotychczas wyjaśniona, ale być może jej poznanie będzie w najbliższym czasie łatwiejsze, bowiem została niedawno skryształizowana [7]. Hemolizyna ta wzmacnia właściwości inwazyjne bakterii wobec linii komórkowych [116]. Badania *in vivo* z użyciem mutantu HpmA⁻ wykazały, iż nie jest to czynnik chorobotwórczości znacząco wpływający na przebieg zakażenia układu moczowego drogą wstępującą [89].

Zdolność bakterii do penetracji komórek eukariotycznych

Zdolność pałeczek *Proteus* do penetracji komórek eukariotycznych ludzkich i zwierzęcych, zarówno linii komórkowych, jak i komórek świeżo izolowanych z makroorganizmów, uważana jest za cechę inwazyjności [102]. Mechanizm tego procesu opiera się na internalizacji bakterii przez komórki i badany był głównie na komórkach pochodzących z układu moczowego człowieka lub zwierząt, tj. z nerek (VERO, HRPTEC), pęcherza moczowego (T24, HCV 29T) i moczowodu (Hu 609) oraz z innych komórek (HeLa, fibroblasty mysie L929, limfocyty) [8,102,116,123]. Wśród uczonych

są zdania podzielone na temat mechanizmu procesu internalizacji. Dotyczy to w szczególności zagadnień czy proces ten przebiega z tworzeniem czy bez tworzenia mikrofilamentów aktywny w komórkach, oraz gdzie w spenetrowanych komórkach bakterie przebywają i czy mogą się tam dzielić [20,97]. Natomiast nie budzi wątpliwości znaczenie hemolizyn podczas inwazji bakterii na komórki organizmów wyższych. Szczepy wytwarzające hemolizynę HpmA nie niszczą komórek w czasie ich penetracji, bowiem ta cytolizyna charakteryzuje się słabymi właściwościami cytotoxicznymi wobec linii komórkowych [102,116]. Inaczej zachowują się pałeczki *P. vulgaris* i *P. penneri*, wytwarzające hemolizynę HlyA wewnątrz komórek eukariotycznych, lub wydzielających tę toksynę w ich otoczeniu. Penetracji komórek makroorganizmu przez te bakterie towarzyszy duża cytotoxiczność białka HlyA, co powoduje spadek ich liczby proporcjonalny do wzrostu stężenia hemolizyny w środowisku [118,141]. Warto też podkreślić, że bakterie charakteryzujące się właściwościami hydrofobowymi powierzchni komórkowej np. formy fenotypowo szorstkie są bardziej inwazyjne [66]. Krótkie pałeczki przenikają łatwiej komórki eukariotyczne, niż „swarmer cells”, których właściwości inwazyjne wciąż budzą kontrowersje. Wykazano je tylko wobec linii komórkowych Vero, EJ 128 i 5637 i jednocześnie brak ich u mutantów z zaburzoną syntezą rzęsek niewykazujących zdolności do wzrostu rozpełzłego [1,67]. Nie ulega wątpliwości, iż rozwój bakterii wewnątrz komórek nabłonka nerek lub pęcherza moczowego może być przyczyną wielu patologicznych zmian. Pojawianie się bakterii *P. mirabilis* w tych narządach badano posługując się mysim modelem zakażenia wstępującego. Zaobserwowano wówczas liczne drobne pałeczki w nabłonku nerek oraz ich agregaty w nabłonku pęcherza i sporadycznie występujące „swarmer cells”. Nie wiadomo jednak czy niewielka liczba komórek długich jest wynikiem braku właściwości inwazyjnych *in vivo*, czy też te długie, wędrujące formy po okresie migracji rozpadły się na krótkie pałeczki, które po internalizacji widzimy wewnątrz komórek eukariotycznych [50,162].

Enzymy

Deaminazy aminokwasów (pozyskiwanie żelaza)

Pałeczki *Proteus* nie wytwarzają typowych dla większości bakterii sideroforów będących głównym składnikiem systemów pozyskiwania żelaza podczas infekcji makroorganizmu. Ich rolę spełniają: α-ketokwasy – fenilopirogronowy i indolopirogronowy, produkty deaminacji aminokwasów odpowiednio feniloalaniny i tryptofanu [32]. Kompleksy żelaza z tymi kwasami są pobierane przez bakterie poprzez oddziaływanie hydrofobowe. Jak dotychczas opisano w szczególności jedną deaminazę – Aad (amino acid deaminase) występującą w szczepach *P. mirabilis*. Enzym ten, o masie cząsteczkowej 51.1 kDa składa z 437 aminokwasów i jest kodowany przez gen *aad* [85]. Znaczenie tego enzymu w chorobotwórczości bakterii nie jest poznane, nie udało się bowiem dotychczas uzyskać mutantów z zablockowaną możliwością jego syntezy.

Proteazy IgA i IgG

Właściwości proteolityczne pałeczek *Proteus* warunkują ich znaczenie w środowisku naturalnym jako bakterii rozkładających materię pochodzenia zwierzęcego. Zewnątrzkomórkowe

Tabela 2. Struktury chemiczne oligosacharydów stanowiących część zewnętrzną rdzenia w LPS wybranych szczepów *Proteus* spp. [151]

Szczep <i>Proteus</i>	Struktura chemiczna oligosacharydu
<i>P. mirabilis</i> O3; R110	α -DD-Hep-(1→6)- α -GlcN
<i>P. mirabilis</i> O6	β -Qui4NAIaAla-(1→3)- α -Gal-(1→6)- α -GlcNAc-(1→4)- α -GalN
<i>P. mirabilis</i> O27	β -Glc-(1→5)-(1S)-GaloNAc-(1→4,6)- α -GalN
<i>P. mirabilis</i> O28, <i>P. penneri</i> 42	β -GalAlYs4PEtn-(1→3)- β -GlcNAc-(1→6)-GlcNGly
<i>P. mirabilis</i> O57	β -Qui4NAIaAla-(1→3)- α -GalNAc-(1→6)- α -Glc-(1→4)- α -GalN
<i>P. vulgaris</i> O2, O4, O8, OX19, <i>P. penneri</i> 2,11,17,19,107	β -Gal-(1→4)-(1S)-GaloNAc-(1→4,6)- α -GalN
<i>P. vulgaris</i> O25	β -Kdo-(2→3)- β -GlcNAc-(1→2)- β -Gal-(1→6)- α -GlcN
<i>P. penneri</i> 7,14,21	α -Glc-(1→4)- α -GalNAc-(1→2)- α -DD-Hep-(1→6)- α -GlcNGly
<i>P. penneri</i> 16,18	α -FucNHb-(1→4)- α -Gal-(1→6)- β -Glc-(1→3)- α -GalN6P-Etn

enzymy proteolityczne wytwarzane przez te drobnoustroje charakteryzuje duża swoistość substratowa, umożliwiającą rozkład różnych białek w tym przeciwciał IgA obu podklas IgA1 i IgA2 oraz przeciwciał IgG [76,77]. Zidentyfikowano dotychczas dwie proteazy ZapA i ZapE kodowane przez operon *zap*. Są to metaloproteazy zawierające w swej strukturze atom cynku. Ze względu na duży procent homologii aminokwasowej zaliczane są do wspólnej rodziny serralizyn. Rodzinę tę tworzą proteazy wytwarzane przez następujące bakterie: *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Erwinia chrysanthemi*. Operon *zap* obejmuje pięć genów *zapA-zapE*, kodujących dwie proteazy ZapA i ZapE oraz białka warunkujące transport proteaz ZapB (transporter ABC), ZapC (białko rodziny MFP – membrane spanning fusion protein) i białko błony zewnętrznej ZapD [156].

Proteazy działają w środowisku o wysokim pH (optimum działania pH 8), co wskazuje na korelację między działaniem tych enzymów i ureazy [77]. Walker i wsp. [153], posługując się mutanem niewytwarzającym proteazy ZapA wykazali na modelu mysim, iż enzym ten jest ważnym czynnikiem wirulencji szczepów *P. mirabilis*. Okazało się bowiem, że ich mutanty nie były tak chorobotwórcze jak postacie dzikie; izolowano je w mniejszej liczbie zarówno z nerek jak i z pęcherza. Nie jest pewne w jaki sposób działanie proteaz osłabia makroorganizm podczas infekcji. Przyjmuje się, że w wyniku działania enzymów proteolitycznych dochodzi do zaburzenia opsonizacji bakterii i osłabienia procesów fagocytozy [77]. Nie można też wykluczyć osłabiania mechanizmów obronnych gospodarza na skutek trawienia przez proteazy białek dopełniacza lub białek zewnątrzkomórkowej macierzy, takich jak fibronektyna i kolagen oraz peptydów o antybakteryjnym działaniu, co ułatwia rozprzestrzenianie się bakterii w tkankach i narządach [15,100].

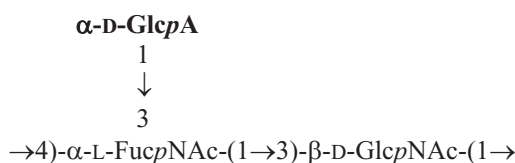
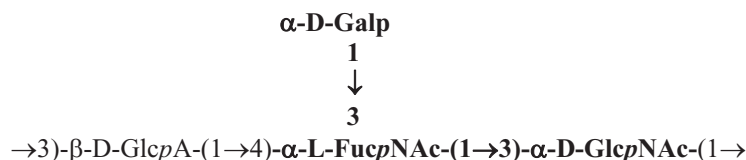
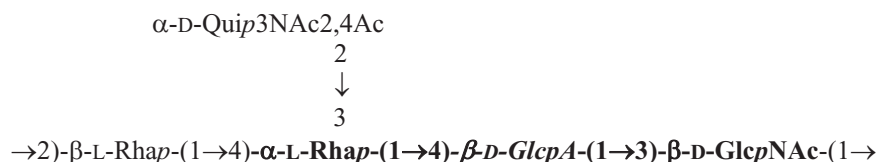
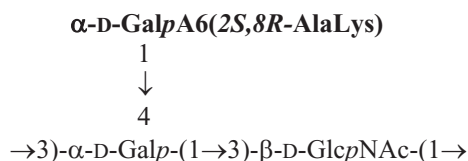
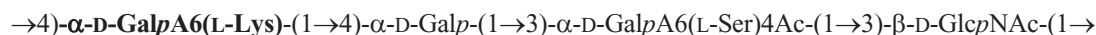
Ureaza

Ureaza jest metaloenzymem zawierającym w centrum katalitycznym atom niklu. Jest ona kodowana przez operon *ure* składający się z ośmiu genów; trzy spośród nich determinują syntezę trzech podjednostek enzymu, pozostałe innych białek

uczestniczących w jego składaniu i aktywacji [91]. Działanie ureazy, która rozkłada mocznik do amoniaku i dwutlenku węgla, powoduje alkalizację moczu, który u osób zdrowych charakteryzuje się pH lekko kwaśnym. Ma to poważne konsekwencje patologiczne polegające na krystalizacji struwitu (fosforanu magnezowo-amonowego) oraz węglanu apatytu. Proces krystalizacji i agregacji kryształów powoduje formowanie się kamieni moczowych, poważnie komplikujące zakażenia układu moczowego wywołwane przez pałeczki *Proteus*. [86]. Jak wspomniano proces tworzenia kamieni moczowych „wspomaga” glikokaliks zawierający kwaśne polisacharydy otoczkowe lub te, które stanowią część O-swoistą LPS. Te ujemnie naładowane elementy powierzchniowe ściany komórkowej pałeczek *Proteus* wiążą słabymi wiązaniami kationy wapnia i magnezu. Wiązania te mają charakter przejściowy, wspomniane kationy z czasem uwalniają się, co prowadzi do miejscowego przesylenia środowiska solami mineralnymi, które stanowią materiał budulcowy dla tworzącego się kamienia moczowego [37,146]. Kamienie moczowe są bardzo dobrym siedliskiem dla bakterii, które zamknięte w ich strukturach są niewrażliwe na działanie antybiotyków oraz innych chemioterapeutyków. Zasadnicze niebezpieczeństwo tkwi jednak w tym, że blokują przepływ moczu, zaś u pacjentów cewnikowanych czopują katetery, co w konsekwencji prowadzi do poważnych komplikacji, dochodzi bowiem do refluksu moczu i bakteriiurii związanej ze stosowaniem cewników [143].

Lipopolisacharyd (LPS, endotoksyna)

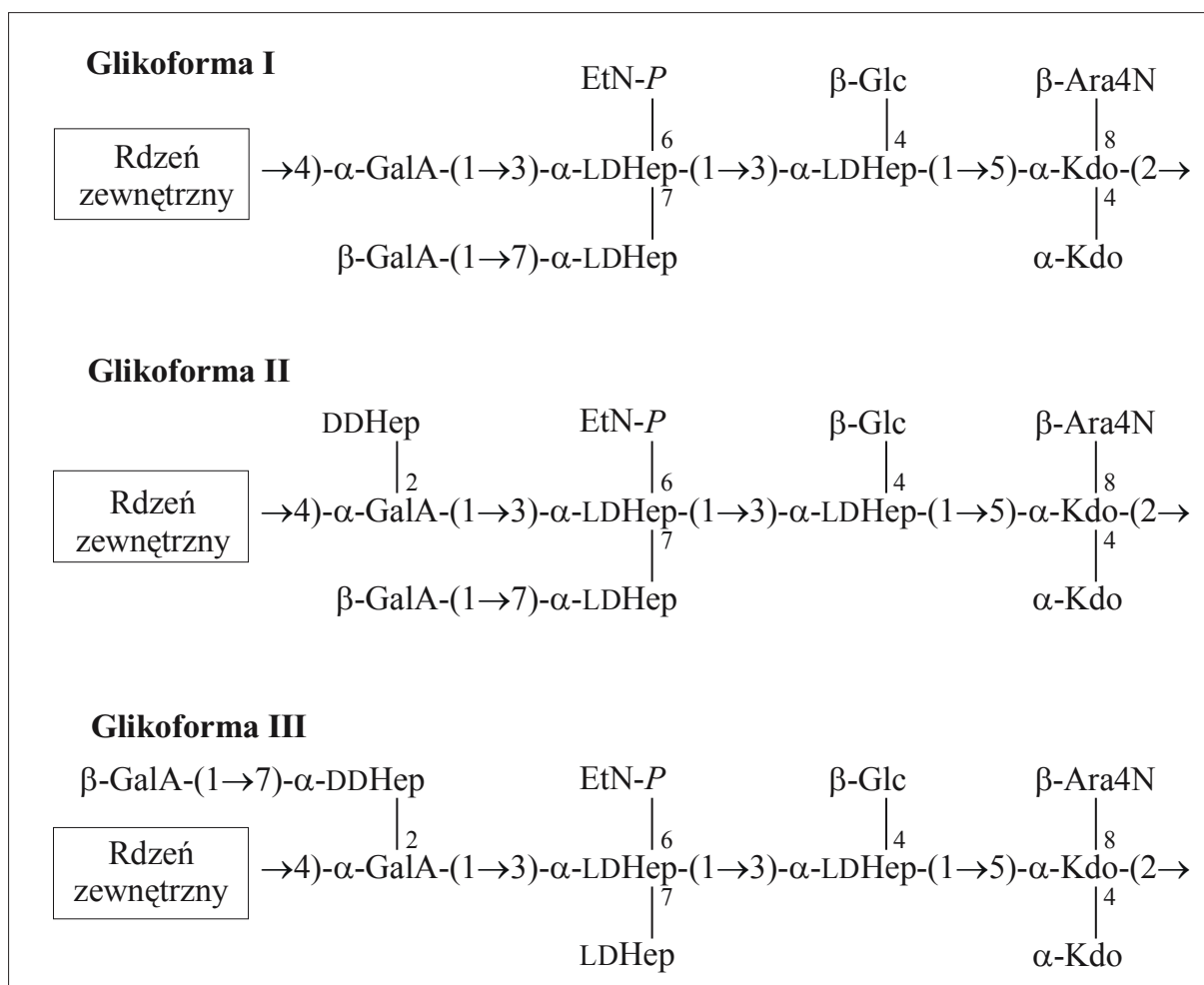
Lipopolisacharyd u gładkich bakterii Gram-ujemnych składa się z trzech regionów: części O-swoistej (polisacharyd O-swoisty tj. antygen O), regionu rdzeniowego oraz lipidu A. Część O-swoistą u bakterii charakteryzuje duża zmienność struktury chemicznej, natomiast region rdzeniowy i lipid A są pod tym względem bardziej konserwatywne [55,111]. Ta zasada nie odnosi się jednak do LPS pałeczek *Proteus*, u których stwierdzono też duże zróżnicowanie w obrębie regionu rdzeniowego [151]. LPS pełni wiele funkcji i ze względu na wspomnianą odmienność strukturalną części O-swoistej u pałeczek *Proteus* stanowi podsta-

P. mirabilis* O6 [19]**P. vulgaris* O8 [105]*****P. vulgaris* O22 [147]*****P. mirabilis* O13 [142]*****P. mirabilis* O28 [107]*****P. vulgaris* O39 [60]**

Ryc. 2. Struktury chemiczne wybranych antygenów O *Proteus* spp. Epitopy związane przez swoiste przeciwciała anti-O lub odpowiedzialne za reakcje krzyżowe zaznaczono tłustym drukiem

wę ich serologicznej klasyfikacji. Jest ona oparta na schemacie Kauffmanna i Perch obejmującym 49 serogrup, do których zaliczono szczepy dwóch gatunków *P. mirabilis* i *P. vulgaris* [56]. Badania strukturalne i immunochemiczne antygenów O, pochodzących ze szczepów reprezentujących poszczególne serogrupy, doprowadziły do wyjaśnienia podstaw molekularnych tej klasyfikacji (tabela 2) [57,115,122]. Schemat klasyfikacji serologicznej *Proteus* rozszerzono o nowe serogrupy, utworzone dla szczepów nowych gatunków *P. penneri*, *P. myxofaciens*, *P. hauseri* i gatunków genomowych lub szczepów *P. mirabilis* i *P. vulgaris* niesklasyfikowanych za pomocą oryginalnego schematu Kauffmanna i Perch. Obecnie schemat klasyfikacji szczepów z rodzaju *Proteus* obejmuje 76 serogrup [34,35,121,160].

Badania serologiczne doprowadziły do identyfikacji wielu epitopów (determinant antygenowych) związanych przez swoiste przeciwciała anti-O otrzymane dla szczepów reprezentujących poszczególne serogrupy (ryc. 2). Cechą charakterystyczną antygenów O szczepów *Proteus* jest ich kwaśny charakter, wynikający z częstej obecności kwasów uronowych, reszt kwasów organicznych oraz fosforanu [57,122]. Wykazano, iż kwasy uronowe – glukuronowy (GlcA) i galakturonowy (GalA) – bardzo często wchodzą w skład epitopów związanych przez surowice anti-O. Dzieje się tak m.in. w przypadku antygenów O *P. mirabilis* O6 oraz *P. vulgaris* O22 i O32 [9,19,147]. Podobną rolę pełnią N-acetylowane aminocukry np. glikozamina (GlcN) w antygenie O *P. mirabilis* O27 [67,150].

Ryc.3. Struktura chemiczna regionu rdzeniowego LPS pałeczek *Proteus* [151]

Jednakże najczęściej identyfikowanymi epitopami są amidy kwasów uronowych i aminokwasów lizyny i treoniny { α -D-GalA(-L-Lys) w *P. mirabilis* O3, O26 i O28; α -D-GalA(-L-Thr) w *P. mirabilis* O11 i *P. penneri* 11 (O58)} [4,53,107,128,130].

Często, choć nie jest to normą, rolę immunodominujących składników w epitopach nadających swoistość pełni rzadkie składniki np. alaninolizyna (AlaLys) związana z GalA w *P. mirabilis* O13 i GlcA w *P. myxofaciens* (O60) [129,142]. Znając strukturę chemiczną antygenów O można wyjaśnić częstą w przypadku *Proteus* spp. reaktywność krzyżową surowic anti-O z heterologicznymi lipopolisacharydami bakterii z gatunków w obrębie rodzaju lub innych gatunków. Najczęściej spotykanym disacharydem wspólnym, odpowiedzialnym za wspomniane reakcje krzyżowe jest α -L-FucNAc-(1 \rightarrow 3)- α / β -D-GlcNAc. Warunkuje on wyraźne podobieństwo serologiczne antygenów O *P. mirabilis* O6 oraz *P. vulgaris* O8, O12 i O39 [60,105,106]. Wymieniony wcześniej składnik AlaLys warunkuje pokrewieństwo antygenowe LPS szczepów *P. mirabilis* O13 *P. myxofaciens* i LPS *Providencia rustigianii* O14 i *Providencia alcalifaciens* O23 [59,129,142,144]. Wspólny epitop zawierający 4-amino-4,6-dideoxy-D-glukozę (D-Qui4N) podstawioną kwasem N-acetyloasparaginowym jest odpowiedzialny za reakcje krzyżowe surowic

przeciwko szczepom *P. mirabilis* O38, *P. stuartii* O4 i O33 z heterologicznymi LPS [58,61,145]. Przyczyną reakcji krzyżowych mogą być też wspólne epitopy w antygenie O jednego LPS i części rdzeniowej drugiego, jak to wykazano w przypadkach lipopolisacharydów *P. vulgaris* O21 i O25, *P. vulgaris* O12 i *P. mirabilis* O28, a także *P. vulgaris* O45 i *P. penneri* 28 [115,122].

Region rdzeniowy LPS składa się z dwóch części, wewnętrznej, bardziej konserwatywnej pod względem budowy, ale nie identycznej dla wszystkich szczepów (trzy glikoformy – ryc. 2) i zróżnicowanego rdzenia zewnętrznego, zawierającego oligosacharydy typowe dla określonych szczepów *Proteus* (tabela 2) [115,151].

Lipid A szczepów *P. mirabilis* zawiera dwie reszty glukozaminy podstawione resztami fosforanowymi oraz kwasami tłuszczowymi. Cechą charakterystyczną lipidu A tych bakterii jest występowanie reszty 4-amino-4-deoksy-arabino-L-arabinozy, która jest także obecna w regionie rdzeniowym, podstawiając Kdo (kwas 2-keto-3-deoksy-oktonowy) [131,152].

Jak wspomniano wcześniej, LPS jest endotoksyną o szerokim zakresie aktywności biologicznej. Uwolniona z bakterii do krwi podczas sepsy jest wiązana przez białka, głównie LPB (lipopolysaccharide binding protein) i w takiej

postaci jest rozpoznawana przez receptory komórek makroorganizmu CD14 oraz TLR2 i TLR4 (tool like receptors 2 i 4). Zwiążanie jej z receptorami uruchamia przekazanie transmembranowego sygnału i indukcję komórek do wytwarzania mediatorów m.in.: TNF (tumour necrosis factor), interleukin (IL-1, IL-6, IL-8), wolnych rodników (O_2^- , H_2O_2 , NO). W zależności od stężenia mediatorzy te mogą odgrywać rolę pozytywną pobudzając układ obronny gospodarza do eliminacji bakterii, jednakże w dużym stężeniu efekty ich działania są negatywne. Dochodzi wtedy do gwałtownego wzrostu temperatury ciała, a także do wewnątrznacyniowego wykrzepiania krwi, zaburzenia oddychania i z czasem do szoku septycznego objawiającego się wieloraką systemową niewydolnością organizmu, co prowadzi często do śmierci [78,112].

Lipopolisacharydy pełnią też rolę bariery chroniącej bakterie Gram-ujemne przed bójczym działaniem surowicy. Działanie bakterioobójcze polega przede wszystkim na aktywacji dopełniacza, który po zadziałaniu MAC (membrane attack complex) powoduje lizę komórek. MAC ma hydrofobowy charakter dzięki czemu łatwo przenika bakterie o podobnym charakterze powierzchni, czyli formy szorstkie – R. W przypadku bakterii gładkich (S), mających na powierzchni hydrofilową osłonę zbudowaną z części O-swoistej LPS, penetracja MAC przez membranę zewnętrzna jest niemożliwa lub utrudniona, co chroni bakterie przed działaniem dopełniacza [49,54,87]. Tę hipotezę w pełni potwierdziły wyniki badań wrażliwości na działanie surowicy mutantów R szczepów *P. mirabilis* niewytwarzających części O-swoistej LPS. Były one wrażliwe na działanie surowicy, w przeciwieństwie do większości form gładkich tego gatunku i około 50% szczepów gładkich *P. penneri* i *P. vulgaris*, które okazały się odporne [42,46,68, Kwil i wsp. dane nieopublikowane].

ZAKOŃCZENIE

Bakterie z rodzaju *Proteus* charakteryzują się unikatowymi cechami, rzadko spotykanymi u innych bakterii. Do nich zaliczyć należy przede wszystkim zjawisko wzrostu rozpełzłego, w trakcie którego krótkie pałeczki przekształcają się do długich „swarmer cells”. Rola tych ostatnich w chorobotwórczości nie jest pewna, wiele danych przemawia za tym, iż są to postaci migrujące, warunkujące zakażenia wstępujące. Za postaci osiadłe należałoby wtedy uznać bakterie krótkie, jakkolwiek podział ten nie jest wyraźny. Wprawdzie krótkie pałeczki, w przeciwieństwie do „swarm cells”, wytwarzają fimbrie odpowiedzialne za przyleganie, ale mają też rzęski, warunkujące ruch. Ponadto w środowisku płynnym formy długie szybko rozpadają się na pałeczki krótkie, trudno więc bezspornie przypisać określone cechy obu formom *Proteus*. Trudno też ustalić, hierarchię czynników wirulencji tych bakterii. Działają one wspólnie, choć aktywność ureazy jest, jeżeli nie najważniejsza, to w skutkach groźna, bowiem formowanie się kamieni moczowych w następstwie działania tego enzymu powoduje poważne komplikacje o długofalowych dla pacjenta konsekwencjach. Ostatnio, w badaniach porównawczych wykazano brak korelacji między wirulencją i pochodzeniem izolatów pałeczek *P. mirabilis*. W badaniach *in vitro* i *in vivo* na modelu mysim nie stwierdzono związków między ekspresją czynników chorobotwórczości a miejscem izolacji szczepów [132]. Ważnym i jak dotychczas niezbyt dobrze poznanym jest zjawisko wzrostu pałeczek *Proteus* w postaci biofilmu. Zachowanie się populacji bakterii rosnących na podłożu stałym jest odmienne od zachowań, kiedy występują w środowisku płynnym. Pełniejsze poznanie tych wzajemnych relacji, a przede wszystkim znalezienie skutecznych sposobów prewencji tworzenia biofilmu przez szczepy *Proteus* na cewnikach, podobnie jak i formowania kamieni moczowych, stanowi wyzwanie dla badaczy tych bakterii na najbliższe lata.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Allison C., Coleman N., Jones P.L., Hughes C.: Ability of *Proteus mirabilis* to invade urothelial cells is coupled to motility and swarming differentiation. *Infect. Immun.*, 1992; 60: 4740–4746
- [2] Allison C., Emody L., Coleman N., Hughes C.: The role of swarm cell differentiation and multicellular migration in the uropathogenicity of *Proteus mirabilis*. *J. Infect Dis.*, 1994; 169: 1155–1158
- [3] Allison C., Lai H.C., Gygi D., Hughes C.: Cell differentiation of *Proteus mirabilis* is initiated by glutamine, a specific chemoattractant for swarming cells. *Mol. Microbiol.*, 1993; 8: 53–60
- [4] Arbatsky N.P., Shashkov A.S., Literacka E., Widmalm G., Kaca W., Knirel Y.A.: Structure of the O-specific polysaccharide of *Proteus mirabilis* O11, another *Proteus* O-antigen containing an amide of d-galacturonic acid with l-threonine. *Carbohydr. Res.*, 2000; 323: 81–86
- [5] Bahrani F.K., Cook S., Hull R.A., Massad G., Mobley H.L.T.: *Proteus mirabilis* fimbriae: N-terminal amino acid sequence of a major fimbrial subunit and nucleotide sequences of the genes from two strains. *Infect. Immun.*, 1993; 61: 884–891
- [6] Bahrani F.K., Mobley H.L.: *Proteus mirabilis* MR/P fimbrial operon: genetic organization, nucleotide sequence, and conditions for expression. *J. Bacteriol.*, 1994; 176: 3412–3419
- [7] Bailey L., Agger S., Peterson L., Thompson J., Weaver T.: Crystallization of truncated hemolysin A from *Proteus mirabilis*. *Acta Crystallograph. Set F. Struct. Biol. Cryst. Commun.*, 2005; 61: 448–450
- [8] Bartodziejska B., Błaszczuk B., Wykrota M., Kwil I., Babicka D., Różalski A.: Badania hydrofobowości szczepów *Proteus vulgaris* oraz zdolności szczepów *Proteus vulgaris* i *Proteus penneri* do penetracji komórek nabłonka pęcherza moczowego HCV T-29. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 2002; 54: 335–345
- [9] Bartodziejska B., Shashkov A.S., Babicka D., Grachev A.A., Torzewska A., Paramonov N.A., Chernyak A.Y., Rozalski A., Knirel Y.A.: Structural and serological studies on a new acidic O-specific polysaccharide of *Proteus vulgaris* O32. *Eur. J. Biochem.*, 1998; 256: 488–493
- [10] Bassler B.L.: How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing. *Curr. Opin. Microbiol.*, 1999; 2: 582–587
- [11] Belas R.: The swarming phenomenon of *Proteus mirabilis*. *ASM News*, 1992; 58: 15–22
- [12] Belas R.: Expression of multiple flagellin-encoding genes of *Proteus mirabilis*. *J. Bacteriol.*, 1994; 176: 7169–7181
- [13] Belas R.: *Proteus mirabilis* swarmer differentiation and urinary tract infection. W: *Urinary tract infections, molecular pathogenesis and clinical management*. red. H.L.T. Mobley, J. W. Warren, ASM Press, Washington DC 1996: 245–269
- [14] Belas R., Goldman M., Ashliman K.: Genetic analysis of *Proteus mirabilis* mutants defective in swarmer cell elongation. *J. Bacteriol.*, 1995; 177: 823–828
- [15] Belas R., Manos J., Suvanasthi R.: *Proteus mirabilis* ZapA metalloprotease degrades a broad spectrum of substrates, including antimicrobial peptides. *Infect. Immun.*, 2004; 72: 5159–5167
- [16] Belas R., Schneider R., Melch M.: Characterization of *Proteus mirabilis* precocious swarming mutants: identification of *rsbA*, encoding a regulator of swarming behaviour. *J. Bacteriol.*, 1998; 180: 6126–6139
- [17] Belas R., Suvanasthi R.: The ability of *Proteus mirabilis* to sense surfaces and regulate virulence gene expression involves FliL, a flagellar basal body protein. *J. Bacteriol.*, 2005; 187: 6789–6803

- [18] Burall L.S., Harro J.M., Li X., Lockatell C.V., Himpel S.D., Hebel J.R., Johnson D.E., Mobley H.L.: *Proteus mirabilis* genes that contribute to pathogenesis of urinary tract infection: identification of 25 signature-tagged mutants attenuate at least 100-fold. *Infect. Immun.*, 2004; 72: 2922–2938
- [19] Cedzynski M., Swierko A.S., Ziolkowski A., Rozalski A., Kaca W., Paramonov N.A., Vinogradov E.V., Knirel Y.A., Kaca W.: Structural and immunochemical studies of two cross-reactive *Proteus mirabilis* O-antigens, O6 and O23, containing β 1 \rightarrow 3 linked 2-acetamido-2-deoxy-d-glucopyranose residues. *Microbiol. Immunol.*, 1998; 42: 7–14
- [20] Chippendale G.R., Warren J.W., Trifillis A.L., Mobley H.L.: Internalization of *Proteus mirabilis* by human renal epithelial cells. *Infect. Immun.*, 1994; 62: 3115–3121
- [21] Choong S., Whitfield H.: Biofilms and their role in infections in urology. *B. J. U. Int.*, 2000; 86: 935–941
- [22] Coker C., Poore C.A., Li X., Mobley H.L.: Pathogenesis of *Proteus mirabilis* urinary tract infections. *Microbes Infection*, 2000; 2: 1497–1505
- [23] Costerton J.W.: Introduction to biofilm. *Int. J. Antimicrobial Agents*, 1999; 11: 217–221.
- [24] Czarczyk K.: Czynniki warunkujące adhezję drobnoustrojów do powierzchni abiotycznych. *Post. Mikrobiol.*, 2004; 43: 267–283
- [25] Daniels R., Vanderleyden J., Michiels J.: Quorum sensing and swarming migration in bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2004; 28: 261–289
- [26] Davey M.E., O'Toole G.A.: Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2000; 64: 847–867
- [27] De Champs C., Bonnet R., Sirot D., Chanal C., Sirot J.: Clinical relevance of *Proteus mirabilis* in hospital patients: a two year survey. *J. Antimicrob. Chemother.* 2000; 45: 537–539
- [28] de Kievit T.R., Iglewski B.H.: Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. *Infect. Immun.*, 2000; 68: 4839–4849
- [29] Donlan R.M.: Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg. Infect. Dis.*, 2002; 8: 881–890
- [30] Donlan R.M., Costerton J.W.: Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2002; 15: 167–193
- [31] Doyle R.J.: Contribution of the hydrophobic effect to microbial infections. *Microbes Infect.*, 2000; 2: 391–400
- [32] Drechsel H., Thieken A., Reissbrodt R., Jung G., Winkelmann G.: α -Keto acids are novel siderophores in the genera *Proteus*, *Providencia* and *Morganella* and are produced by amino acid deaminases. *J. Bacteriol.*, 1993; 175: 2727–2733
- [33] Drenkard E.: Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Microbes Infect.*, 2003; 5: 1213–1219
- [34] Drzewiecka D., Sidorczyk Z.: Charakterystyka gatunku *Proteus penneri* – warunkowych patogenów człowieka. *Post. Mikrobiol.*, 2005; 44: 113–126
- [35] Drzewiecka D., Zych K., Sidorczyk Z.: Characterization and serological classification of a collection of *Proteus penneri* clinical strains. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 2004; 52: 121–128
- [36] Dufour A., Furness R.B., Hughes C.: Novel genes that upregulate the *Proteus mirabilis* *flhDC* master operon controlling flagellar biogenesis and swarming. *Mol. Microbiol.*, 1988; 29: 741–751
- [37] Dumanski A.J., Hedelin H., Edin-Liljegen A., Beauchemin D., McLean R.J.: Unique ability of *Proteus mirabilis* capsule to enhance mineral growth in infectious urinary calculi. *Infect. Immun.*, 1994; 62: 2998–3003
- [38] Ebringer A., Corbett M., Macafee Y., Baron P., Ptaszynska T., Wilson C., Avakian H., James D.C.: Antibodies to *Proteus* in rheumatoid arthritis. *Lancet*, 1985; 326: 305–307
- [39] Ebringer A., Rashid T.: Rheumatoid arthritis is an autoimmune disease triggered by *Proteus* urinary tract infection. *Clin. Dev. Immunol.*, 2006; 13: 41–48
- [40] Finlay B.B., Falkov S.: Common themes in microbial pathogenicity. *Microbiol. Rev.*, 1989; 53: 210–230
- [41] Fraser G.M., Claret L., Furness R., Gupta S., Hughes C.: Swarming-coupled expression of the *Proteus mirabilis* *hpmBA* haemolysin operon. *Microbiology*, 2002; 148: 2191–2201
- [42] Fudala R.: Aktywacja dopełniacza i wiązanie przeciwciał przez wybrane lipopolisacharydy *Proteus mirabilis*. Rozprawa doktorska, Uniwersytet Łódzki 2003
- [43] Furness R.B., Fraser G.M., Hay N.A., Hughes C.: Negative feedback from a *Proteus* class II flagellum export defect to the *flhDC* master operon controlling cell division and flagellum assembly. *J. Bacteriol.*, 1997; 179: 5585–5588
- [44] Gaston H.: *Proteus* – is it a likely aetiological factor in chronic polyarthritis? *Ann. Rheum. Dis.*, 1995; 54: 157–158
- [45] Gygi D., Bailey M.J., Allison C., Hughes C.: Requirement for FlhA in flagella assembly and swarm-cell differentiation by *Proteus mirabilis*. *Mol. Microbiol.*, 1995; 15: 761–769
- [46] Gygi D., Rahman M.M., Lai H.C., Carlson R., Guard-Petter J., Hughes C.: A cell surface polysaccharide that facilitates rapid population migration by differentiated swarm cell of *Proteus mirabilis*. *Mol. Microbiol.*, 1995; 17: 1167–1175
- [47] Hay N.A., Tipper D.J., Gygi D., Hughes C.: A nonswarming mutant of *Proteus mirabilis* lacks the Lrp global transcriptional regulator. *J. Bacteriol.*, 1997; 179: 4741–4746
- [48] Janda J.M., Abbot S.L.: *The Enterobacteriaceae*. ASM Press, Washington 2006: 233–259
- [49] Jankowski S.: Mechanizmy obronne chroniące bakterie Gram-ujemne przed bakteriofagowym działaniem dopełniacza. *Post. Mikrobiol.*, 1995; 34: 23–44
- [50] Jansen B.V., Lockatell C.V., Johnson D.E., Mobley H.L.: Visualisation of *Proteus mirabilis* morphotypes in the urinary tract: the elongated swimmer cells is rarely observed in ascending urinary tract infection. *Infect. Immun.*, 2003; 71: 3607–3613
- [51] Jaworski A., Serwecińska L., Sączek P.: Quorum sensing – komuni-kowanie się komórek w populacjach bakterii przy udziale chemicznych cząsteczek sygnałowych. *Post. Biol. Kom.*, 2005; 32: 231–256
- [52] Jones B.V., Young R., Mahenthalingam E., Stickler D.J.: Ultrastructure of *Proteus mirabilis* swimmer cell rafts and role of swarming in catheter associated urinary tract infection. *Infect. Immun.*, 2004; 72: 3941–3950
- [53] Kaca W., Knirel Y.A., Vinogradov E.V., Kotelko K.: Structure of the O-specific polysaccharide of *Proteus mirabilis* S 1959. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 1987; 35: 431–437
- [54] Kaca W., Ujazda E.: Aktywacja dopełniacza przez endotoksyny bakteryjne. *Post. Mikrobiol.*, 1998; 37: 421–427
- [55] Kaszowska M.: Budowa chemiczna i biosynteza lipopolisacharydu – ważnego składnika osłony komórkowej bakterii Gram-ujemnych. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2004; 58: 333–342
- [56] Kauffmann, F.: The bacteriology of *Enterobacteriaceae*. The Williams & Wilkins, Co. Baltimore 1966: 333–352
- [57] Knirel Y.A., Kaca W., Różalski A., Sidorczyk Z.: Structure of O-antigenic polysaccharides of *Proteus bacteria*. *Pol. J. Chem.*, 1999; 73: 859–907
- [58] Kocharova N.A., Torzewska A., Zatonsky G.V., Blaszczyk A., Bystrova O.V., Shashkov A.S., Knirel Y.A., Rozalski A.: Structure of the O-polysaccharide of *Providencia stuartii* O4 containing 4-(N-acetyl-L-aspartyl-4-yl)amino-4,6-dideoxy-D-glucose. *Carbohydr. Res.*, 2004; 339: 195–200
- [59] Kocharova N.A., Zatonsky G.V., Torzewska A., Maciejka Z., Bystrova O.V., Shashkov A.S., Knirel Y.A., Rozalski A.: Structure of the O-specific polysaccharide of *Providencia rustigianii* O14 containing N⁶-[(S)-1-carboxyethyl]-N⁶-(D-galacturonoyl)-L-lysine. *Carbohydr. Res.*, 2003; 338: 1009–1016
- [60] Kondakova A.N., Perepelov A.V., Bartodziejska B., Shashkov A.S., Senchenkova S.N., Wykrota M., Knirel Y.A., Rozalski A.: Structure of the acidic O-specific polysaccharide from *Proteus vulgaris* O39 containing 5,7-diacetamido-3,5,7,9-tetra-deoxy-1-glycero-1-manno-non-2-ulosonic acid. *Carbohydr. Res.*, 2001; 333: 241–249
- [61] Kondakova A.N., Senchenkova S.N., Gremyakov A.I., Shashkov A.S., Knirel Y.A., Fudala R., Kaca W.: Structure of the O-specific polysaccharide of *Proteus mirabilis* O38 containing 2-acetamidooethyl phosphate and N-linked d-aspartic acid. *Carbohydr. Res.*, 2003; 338: 2387–2392
- [62] Koronakis V., Cross M., Senior B., Koronakis E., Hughes C.: The secreted hemolysins of *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, and *Morganella morganii* are genetically related to each other and to the alpha-hemolysin of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 1987; 169: 1509–1515
- [63] Kotelko K., Kaca W., Różalski A., Deka M.: Some biological features of *Proteus bacilli*. 2. Haemolytic activities of *Proteus mirabilis* and *Proteus vulgaris* strains. *Acta Microbiol. Pol.*, 1983; 32: 345–351
- [64] Krajden S., Fuksa M., Petrea C., Crisp J., Penner J.L.: Expanded clinical spectrum of infections caused by *Proteus penneri*. *J. Clin. Microbiol.*, 1987; 25: 578–579
- [65] Krajewska-Pietrasik D., Cherniak A. Y., Różalski A.: Próba wykorzystania antygenów syntetycznych w badaniu swoistości antygenowej lipopolisacharydu *Proteus mirabilis* O27. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 1995; 47: 169–176

- [66] Krajewska-Pietrasik D., Różalski A., Bartodziejska B., Radziejewska-Lebrecht J., Mayer H., Kotelko K.: Properties of a deep *Proteus* R mutant isolated from clinical material. *APMIS*, 1991; 99: 499–506
- [67] Krajewska-Pietrasik D., Różalski A., Zych K., Gromska W., Chomiczewski K., Kotelko K.: Badania wybranych właściwości biologicznych komórek długich (swarm cells) *Proteus mirabilis*. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 1998; 50: 21–29
- [68] Kwil I.: Badania wybranych czynników chorobotwórczości szczepów *Proteus penneri*. Rozprawa doktorska, Uniwersytet Łódzki 2003
- [69] Lachica R.V.: Significance of hydrophobicity in the adhesiveness of pathogenic Gram-negative bacteria. W: *Microbiol cells surface hydrophobicity*. red. R.J. Doyle, M. Rosenberg, AMS, Washington, 1990: 297–314
- [70] Lai H.C., Gygi D., Fraser G.M., Hughes C.: A swarming defective mutant of *Proteus mirabilis* lacking a putative cation transporting membrane P-type ATPase. *Microbiology*, 1998; 144: 1957–1961
- [71] Lee K.K., Harrison B.A., Latta R., Altman E.: The binding of *Proteus mirabilis* nonagglutinating fimbriae to ganglio-series asialoglycolipids and lactosyl ceramide. *Can. J. Microbiol.*, 2000; 46: 961–966
- [72] Lewis, K.: Persister cells and the riddle of biofilm survival. *Biochemistry (Moscow)*, 2005; 70: 267–274
- [73] Li X., Johnson D.E., Mobley H.L.: Requirement of MrpH for mannose-resistant *Proteus*-like fimbria-mediated hemagglutination by *Proteus mirabilis*. *Infect. Immun.*, 1999; 67: 2822–2833
- [74] Li X., Mobley H.L.: MrpB functions as the terminator for assembly of *Proteus mirabilis* mannose-resistant *Proteus*-like fimbriae. *Infect. Immun.*, 1998; 66: 1759–1763
- [75] Li X., Zhao H., Geymonat L., Bahrani F., Johnson D.E., Mobley H.L.: *Proteus mirabilis* mannose-resistant, *Proteus*-like fimbriae: MrpG is located at the fimbrial tip and is required for fimbrial assembly. *Infect. Immun.*, 1997; 65: 1327–1334
- [76] Loomes L.M., Senior B.W., Kerr M.A.: A proteolytic enzyme secreted by *Proteus mirabilis* degrades immunoglobulins of the immunoglobulin A1 (IgA1), IgA2, and IgG isotypes. *Infect. Immun.*, 1990; 58: 1979–1985
- [77] Loomes L.M., Senior B.W., Kerr M.A.: Proteinases of *Proteus* sp. Purification, properties, and detection in urine in infected patients. *Infect. Immun.*, 1992; 60: 2267–2273
- [78] Lukasiewicz J., Ługowski C.: Biologiczna aktywność lipopolisacharydów. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2003; 57: 33–53
- [79] Manos J., Artimovich E., Belas R.: Enhanced motility of a *Proteus mirabilis* strain expressing hybrid FlaAB flagella. *Microbiology*, 2004; 150: 1291–1299
- [80] Manos J., Belas R.: Transcription of *Proteus mirabilis* *flaAB*. *Microbiology*, 2004; 150: 2857–2863
- [81] Massad G., Bahrani F.K., Mobley H.L.: *Proteus mirabilis* fimbriae: identification, isolation, and characterization of a new ambient temperature fimbriae (ATF). *Infect. Immun.*, 1994; 62: 1989–1994
- [82] Massad G., Fulkerson J.F., Watson D.C., Mobley H.L.: *Proteus mirabilis* ambient-temperature fimbriae: cloning and nucleotide sequence of the *atf* gene cluster. *Infect. Immun.*, 1996; 64: 4390–4395
- [83] Massad G., Lockatell C.V., Johnson D.E., Mobley H.L.: *Proteus mirabilis* fimbriae: construction of an isogenic *pmfA* mutant and analysis of virulence in a CBA mouse model of ascending urinary tract infection. *Infect. Immun.*, 1994; 62: 536–542
- [84] Massad G., Mobley H.L.: Genetic organization and complete nucleotide sequence of the *Proteus mirabilis* PMF fimbrial operon. *Gene*, 1994; 150: 101–104
- [85] Massad G., Zhao H., Mobley H.L.: *Proteus mirabilis* aminoacid deaminase: cloning, nucleotide sequence, and characterization of *aad*. *J. Bacteriol.*, 1995; 177: 5878–5883
- [86] McLean R.J.C., Nickel J.C., Cheng K.J., Costerton J.W.: The ecology and pathogenicity of urease-producing bacteria in the urinary tract. *Crit. Rev. Microbiol.*, 1988; 16: 37–79
- [87] Mielnik G., Doroszkiwicz W., Korzeniowska-Kowal A.: Struktury zewnętrzne bakterii Gram-ujemnych, a bakteriobójcza aktywność dopełniacza. *Post. Mikrobiol.*, 2004; 43: 39–57
- [88] Miller M.B., Bassler B.L.: Quorum sensing in bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.*, 2001; 55: 165–199
- [89] Mobley H.L.: Virulence of *Proteus mirabilis*. W: *Urinary tract infections, Molecular pathogenesis and clinical management*. red. H.L.T. Mobley, J.W. Warren, ASM Press, Washington DC 1996, 245–269
- [90] Mobley H.L., Chippendale G.R.: Hemagglutinin, urease, and hemolysin production by *Proteus mirabilis* from clinical sources. *J. Infect. Dis.*, 1990; 161: 525–530
- [91] Mobley H.L., Island M.D., Hausinger R.P.: Molecular biology of microbial ureases. *Microbiol. Rev.*, 1995; 59: 451–480
- [92] Morris N.S., Stickler D.J.: Encrustation of indwelling urethral catheters by *Proteus mirabilis* biofilm growing in human urine. *J. Hosp. Infect.*, 1998; 39: 227–234
- [93] Morris N.S., Stickler D.J., McLean R.J.: The development of bacterial biofilms on indwelling urethral catheters. *World J. Urol.*, 1999; 17: 345–350
- [94] Murphy C., Belas R.: Genomic rearrangements in the flagellin genes of *Proteus mirabilis*. *Mol. Microbiol.*, 1999; 31: 679–690
- [95] Nawrot U., Mokracka-Latajka G., Grzybek-Hrynciewicz J., Krzyżanowska B., Jankowski S.: Bactericidal activity of normal human serum against *Morganella*, *Proteus* and *Providencia* strains. *Acta Microbiol. Pol.*, 1995; 44: 55–61
- [96] Nicolle L.E., Strausbaugh L.J., Garibaldi R.A.: Infections and antibiotic resistance in nursing homes. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1996; 9: 1–17
- [97] Oelschlaeger T.A., Tall B.D.: Uptake pathway of clinical isolates of *Proteus mirabilis* into human epithelial cell lines. *Microb. Pathog.*, 1996; 21: 1–16
- [98] Ofek I., Hasty D.L., Doyle R.J.: Bacterial adhesion to animal cells and tissues. ASM Press. Washington DC 2003
- [99] O'Hara C.M., Brenner F.W., Miller J.M.: Classification, identification, and clinical significance of *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2000; 13: 534–546
- [100] Parkhomenko L.V., Koval'chuk V.K., Open'ko L.V.: The mechanisms of *Proteus mirabilis* resistance to the bactericidal action of blood serum. *Microbiol. Zh.*, 1992; 54: 81–87
- [101] Parsek M.R., Greenberg E.P.: Acyl-homoserine lactone quorum sensing in gram-negative bacteria: a signaling mechanism involved in association with higher organisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000; 97: 8789–8793
- [102] Peerbooms P.G., Verweij A.M., MacLaren D.M.: Vero cell invasiveness of *Proteus mirabilis*. *Infect. Immun.*, 1984; 43: 1068–1071
- [103] Pellegrino R., Galvalisi U., Scavone P., Sosa V., Zunino P.: Evaluation of *Proteus mirabilis* structural fimbrial proteins as antigens against urinary tract infections. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2003; 36: 103–110
- [104] Penner J.L.: The genera *Proteus*, *Providencia* and *Morganella*. W: *The Prokaryotes*, vol. III, red.: A. Balows, H.G. Truper, W. Harder, K.H. Schleider, Springer-Verlag, Berlin, Germany, 1992, 2849–2853
- [105] Perepelov A.V., Babicka D., Shashkov A.S., Arbatsky N.P., Senchenkova S.N., Rozalski A., Knirel Y.A.: Structure and cross-reactivity of the O-antigen of *Proteus vulgaris* O8. *Carbohydr. Res.*, 1999; 318: 186–192
- [106] Perepelov A.V., Torzewska A., Shashkov A.S., Senchenkova S.N., Rozalski A., Knirel Y.A.: Structure of a glycerol teichoic acid-like O-specific polysaccharide of *Proteus vulgaris* O12. *Eur. J. Biochem.*, 2000; 267: 788–793
- [107] Radziejewska-Lebrecht J., Shashkov A.S., Vinogradov E.V., Grosskurth H., Bartodziejska B., Rozalski A., Kaca W., Kononov L.O., Chernyak A.Y., Mayer H., Kochetkov N.K.: Structure and epitope character of O-specific polysaccharide of *Proteus mirabilis* O28 containing amides of d-galacturonic acid with l-serine and l-lysine. *Eur. J. Biochem.*, 1995; 230: 705–712
- [108] Rahman M.M., Guard-Petter J., Asokan K., Hughes C., Carlson R.W.: The structure of the colony migration factor from pathogenic *Proteus mirabilis*. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 22993–22998
- [109] Rashid T., Tiwana H., Wilson C., Ebringer A.: Rheumatoid arthritis as an autoimmune disease caused by *Proteus urinary* tract infections: a proposal for a therapeutic protocol. *Isr. Med. Assoc. J.*, 2001; 3: 675–680
- [110] Rather P.N.: Swarmer cell differentiation in *Proteus mirabilis*. *Environ. Microbiol.*, 2005; 7: 1065–1073
- [111] Różalski A.: Lipopolisacharyd bakterii Gram-ujemnych – struktura chemiczna, aktywność biologiczna i znaczenie w chorobotwórczości. I. Struktura chemiczna i właściwości fizyko-chemiczne lipopolisacharydów. *Post. Mikrobiol.*, 1995; 34: 289–315
- [112] Różalski A.: Lipopolisacharyd bakterii Gram-ujemnych-struktura chemiczna, aktywność biologiczna i znaczenie w chorobotwórczości. III. Lipopolisacharyd jako czynnik chorobotwórczości bakterii. *Post. Mikrobiol.*, 1995; 34: 339–363
- [113] Różalski A.: Cytolizyny i białka pokrewne wytwarzane przez bakterie Gram-ujemne. II. Hemolizyny bakterii z rodzajów *Aeromonas*, *Serratia*, *Proteus* i *Morganella* oraz białka bakterii Gram-ujemnych spokrewnione z cytolizynami. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 1996; 50: 363–374

- [114] Różalski A.: Molecular basis of the pathogenicity of *Proteus* bacteria. Adv. Clin. Exp. Med., 2002; 11: 3–18
- [115] Różalski A.: Lipopolisacharyd i inne czynniki chorobotwórczości pałeczek *Proteus*. Post. Mikrobiol., 2004; 43: 409–431
- [116] Różalski A., Długońska H., Kotelko K.: Cell invasiveness of *Proteus mirabilis* and *Proteus vulgaris* strains. Arch. Immunol. Ther. Exp., 1986; 34: 505–512
- [117] Różalski A., Kotelko K.: Hemolytic activity and invasiveness in strains of *Proteus penneri*. J. Clin. Microbiol., 1987; 25: 1094–1096
- [118] Różalski A., Kwil I., Babicka D., Torzewska A., Wykrota M., Bartodziejska B.: Molekularne podstawy chorobotwórczości bakterii z rodzaju *Proteus*. Mikrobiologia Medycyna, 1999; 1: 3–16
- [119] Różalski A., Serwecińska L., Dziadek J., Bartodziejska B., Stączek P., Łukowski S.: Hemolizyny *Escherichia coli* oraz pałeczek *Proteus* – aktywność biologiczna, determinacja genetyczna i znaczenie w chorobotwórczości. Post. Mikrobiol., 1992; 31: 75–89
- [120] Różalski A., Sidorczyk Z., Kotelko K.: Potential virulence factors of *Proteus bacilli*. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 1997; 61: 65–89
- [121] Różalski A., Torzewska A., Babicka D., Bartodziejska B., Kwil I., Wykrota M., Perepelov A.V., Kondakova A.N., Senchenkova S.N., Knirel Y.A.: Molekularne podstawy klasyfikacji serologicznej bakterii z rodzaju *Proteus* na przykładzie *Proteus vulgaris*. Materiały z VI Konferencji pt. "Biologia molekularna w diagnostyce chorób zakaźnych i biotechnologii", 2003, SGGW, Warszawa, 160–164
- [122] Różalski A., Torzewska A., Bartodziejska B., Babicka D., Kwil I., Perepelov A.V., Kondakova A.N., Senchenkova S.N., Knirel Y.A., Vinogradov E.V.: Struktura chemiczna, swoistość antygenowa znaczenie w chorobotwórczości lipopolisacharydu (LPS, endotoksyna) na przykładzie bakterii *Proteus vulgaris*. Wiadomości Chemiczne, 2002; 56: 585–604
- [123] Różalski A., Wykrota M. Some biological features of *Proteus* bacilli. 3. Comparison of haemolytic activity of *Proteus* and *Serratia* strains. Acta Microbiol. Pol., 1986; 35: 57–59
- [124] Scavone P., Sosa V., Pellegrino R., Galvalisi U., Zunino P.: Mucosal vaccination of mice with recombinant *Proteus mirabilis* structural fimbrial proteins. Microbes Infect., 2004; 6: 853–860
- [125] Schneider R., Lockett C.V., Johnson D., Belas R.: Detection and mutation of luxS-encoded autoinducer in *Proteus mirabilis*. Microbiology, 2002; 148: 773–782
- [126] Senior B.W., Anderson G.A., Morley K.D., Kerr M.A.: Evidence that patients with rheumatoid arthritis have asymptomatic "non significant" *Proteus mirabilis* bacteriuria more frequently than healthy controls. J. Infect., 1999; 38: 99–106
- [127] Shapiro E.D.: Infections of the urinary tract. Pediatr. Infect. Dis. J., 1992; 11: 165–168
- [128] Shashkov A.S., Toukach F.V., Paramonov N.A., Ziolkowski A., Senchenkova S.N., Kaca W., Knirel Y.A.: Structures of new acidic O-specific polysaccharides of the bacterium *Proteus mirabilis* serogroups O26 and O30. FEBS Lett., 1996; 386: 247–251
- [129] Sidorczyk Z., Kondakova A.N., Zych K., Senchenkova S.N., Shashkov A.S., Drzewiecka D., Knirel Y.A.: Structure of the O-polysaccharide of *Proteus myxofaciens*. Classification of the bacterium into a new *Proteus* O-serogroup. Eur. J. Biochem., 2003; 270: 3182–3188
- [130] Sidorczyk Z., Swierczko A., Knirel Y.A., Vinogradov E.V., Chernyak A.Y., Kononov L.O., Cedzynski M., Rozalski A., Kaca W., Shashkov A.S., Kochetkov N.K.: Structure and epitope specificity of the O-specific polysaccharide of *Proteus penneri* strain 12 (ATCC 33519) containing the amide of d-galacturonic acid with l-threonine. Eur. J. Biochem., 1995; 230: 713–721
- [131] Sidorczyk Z., Zähringer U., Rietschel E.T.: Chemical structure of the lipid A component of the lipopolysaccharide from the *Proteus mirabilis* Re mutant. Eur. J. Biochem., 1983; 137: 15–22
- [132] Sosa V., Schlapp G., Zunino P.: *Proteus mirabilis* isolates of different origins do not show correlation with virulence attributes and can colonize the urinary tract of mice. Microbiology, 2006; 152: 2149–2157
- [133] Soto G.E., Hultgren S.J.: Bacterial adhesins: common themes and variations in architecture and assembly. J. Bacteriol., 1999; 181: 1059–1071
- [134] Stańkowska D.: Działanie pochodnych laktonów homoseryny na pałeczki *Proteus* i komórki eukariotyczne. Praca doktorska, Uniwersytet Łódzki 2005
- [135] Stańkowska D., Kaca W.: Systemy komunikacji międzykomórkowej bakterii Gram-ujemnych i ich znaczenie w ekspresji cech fenotypowych. Post. Mikrobiol., 2005; 44: 99–111
- [136] Stickler D.J., Morgan S.D.: Modulation of crystalline *Proteus mirabilis* biofilm development on urinary catheters. J. Med. Microbiol., 2006; 55: 489–494
- [137] Stickler D., Morris N. S., McLean R. J., Fuqua C.: Biofilms on indwelling urethral catheters produce quorum-sensing signal molecules *in situ* and *in vitro*. Appl. Environ. Microbiol., 1998; 64: 3486–3490
- [138] Stickler D., Young R., Jones G., Sabbuba N., Morris N.: Why are Foley catheters so vulnerable to encrustation and blockage by crystalline bacterial biofilm? Urol. Res., 2003; 31: 306–311
- [139] Sturgill G.M., Rather P.N.: Evidence that putrescine acts as an extracellular signal required for swarming in *Proteus mirabilis*. Mol. Microbiol., 2004; 51: 437–446
- [140] Sturgill G.M., Siddiqui S., Ding X., Pecora N.D., Rather P.N.: Isolation of lacZ fusion to *Proteus mirabilis* genes regulated by intercellular signaling: potential role for the sugar phosphotransferase (Pts) system in regulation. FEMS Microbiol. Lett., 2002; 217: 43–50
- [141] Swihart K.G., Welch R.A.: Cytotoxic activity of *Proteus hemolysin* HpmA. Infect. Immun., 1990; 58: 1861–1869
- [142] Świerczko A.S., Cedzynski M., Ziolkowski A., Senchenkova S.N., Perepelov A.V., Knirel Y.A., Kaca W.: Structure and serological characterization of an N ε-(R)-l-carboxyethyl)-l-lysine-containing O-chain of the lipopolysaccharide of *Proteus mirabilis* O13. Arch. Immunol. Ther. Exp., 2001; 49: 163–169
- [143] Torzewska A.: Udział drobnoustrojów w powstawaniu kamieni moczowych. Post. Mikrobiol., 2003; 42: 39–53
- [144] Torzewska A., Kocharova N.A., Maszewska A., Knirel Y.A., Rozalski A.: Serological characterization of the O-specific polysaccharide of *Providencia alcalifaciens* O23. Arch. Immunol. Ther. Exp., 2004; 52: 43–49
- [145] Torzewska A., Kocharova N.A., Zatonsky G.V., Blaszczyk A., Bystrova O.V., Shashkov A.S., Knirel Y.A., Rozalski A.: Structure of the O-polysaccharide of *Providencia stuartii* O33 containing 4-(N-acetyl-d-aspart-4-yl)amino-4,6-dideoxy-d-glucose. FEMS Immunol. Med. Microbiol., 2004; 41: 133–139
- [146] Torzewska A., Stączek P., Różalski A.: The crystallization of urine mineral components may depend on the chemical nature of *Proteus* endotoxin polysaccharides. J. Medical. Microbiol., 2003; 52: 471–477
- [147] Toukach F.V., Bartodziejska B., Senchenkova S.N., Wykrota M., Shashkov A.S., Rozalski A., Knirel Y.A.: Structure of a new acidic O-antigen of *Proteus vulgaris* O22 containing O-acetylated 3-acetamido-3,6-dideoxy-d-glucose. Carbohydr. Res., 1999; 318: 146–153
- [148] Uphoff T.S., Welch R.A.: Nucleotide sequencing of the *Proteus mirabilis* calcium independent hemolysin genes (hpmA and hpmB) reveals sequence similarity with *Serratia marcescens* hemolysin genes (shlA and shlB). J. Bacteriol., 1990; 172: 1206–1216
- [149] Vila J., Gene A., Rullan J., Jimenez de Anta M.: Rapid detection of urinary tract infection caused by *Escherichia coli* or *Proteaeae species*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 1991; 10: 922–926
- [150] Vinogradov E.V., Krajewska-Pietrasik D., Kaca W., Shashkov A.S., Knirel Y.A., Kochetkov N.K.: Structure of *Proteus mirabilis* O27 O-specific polysaccharide containing amino acids and phosphoethanolamine. Eur. J. Biochem., 1989; 185: 645–650
- [151] Vinogradov E., Sidorczyk Z., Knirel Y.A.: Structure of lipopolysaccharide core region of the genus *Proteus*. Aust. J. Chem., 2002; 55: 61–67
- [152] Vinogradov E.V., Thomas-Oates E., Brade H., Holst O.: Structural investigations of the lipopolysaccharide from *Proteus mirabilis* R45 (Re-chemotype). J. Endotoxin Res., 1994; 1: 199–206
- [153] Walker K.E., Moghaddame-Jafari S., Lockett C.V., Johnson D., Belas R.: ZapA, the IgA-degrading metalloprotease of *Proteus mirabilis*, is a virulence factor expressed specifically in swarmer cells. Mol. Microbiol., 1999; 32: 825–836
- [154] Wang W.B., Lai H.C., Hsueh P.R., Chiou R.Y., Lin S.B., Liaw J.J.: Inhibition of swarming and virulence factor expression in *Proteus mirabilis* by resveratrol. J. Med. Microbiol., 2006; 55: 1313–1321
- [155] Warren J.W.: Clinical presentations and epidemiology of urinary tract infections. W: Urinary tract infections, Molecular pathogenesis and clinical management. red. H.L.T. Mobley, J.W. Warren, ASM Press, Washington DC, 1996, 2–28
- [156] Wassif C., Cheek D., Belas R.: Molecular analysis of metalloprotease from *Proteus mirabilis*. J. Bacteriol., 1995; 177: 5790–5798
- [157] Watnick P., Kolter R.: Biofilm, city of microbes. J. Bacteriol., 2000; 182: 2675–2679

- [158] Welch R.A.: Identification of two different hemolysin determinants in uropathogenic *Proteus* isolates. *Infect. Immun.*, 1987; 55: 2183–2190
- [159] Welch R.A.: Pore forming cytolysins of Gram-negative bacteria. *Mol. Microbiol.*, 1990; 5: 521–528
- [160] Zabłotni A.: Charakterystyka immunochemiczna i klasyfikacja serologiczna wybranych szczepów *Proteus mirabilis*. Rozprawa doktorska, Uniwersytet Łódzki 2006
- [161] Zhao H., Li X., Johnson D.E., Blomfeld I., Mobley H.L.: *In vivo* phase variation of MR/P fimbrial gene expression in *Proteus mirabilis* infecting the urinary tract. *Mol. Microbiol.*, 1997; 23: 1009–1019
- [162] Zhao H., Thompson R.B., Lockett V., Johnson D.E., Mobley H.L.: Use of fluorescent protein to assess urease gene expression by uropathogenic *Proteus mirabilis* during experimental ascending urinary tract infection. *Infect. Immun.*, 1998; 66: 330–335
- [163] Zunino P., Geymonat L., Allen A.G., Legnani-Fajardo C., Maskell D.J.: Virulence of *Proteus mirabilis* atf isogenic mutant is not impaired in a mouse model ascending urinary tract infection. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2000; 29: 137–143
- [164] Zunino P., Sosa P., Allen A.G., Preston A., Schlapp G., Maskell D.J.: *Proteus mirabilis* fimbriae (PMF) are important for both bladder and kidney colonization in mice. *Microbiology*, 2003; 149: 3231–3237