

ZAKAŻENIA UKŁADU MOCZOWEGO Z UDZIAŁEM *PROTEUS MIRABILIS* – ROLA BIOFILMU I INKRUSTACJI CEWNIKA UROLOGICZNEGO

Dominik M. Matusiak*

Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Zakład Mikrobiologii Ogólnej, Łódź

Wpłynęło w styczniu 2014 r.

1. Zakażenia układu moczowego. 2. *Proteus mirabilis* – charakterystyka ogólna. 3. Biofilm – definicja, opis. 4. Biofilm na cewniku urologicznym i jego inkrustacja. 5. Zapobieganie i leczenie CAUTI u osób poddanych cewnikowaniu. 6. Podsumowanie

Urinary tract infections caused by *Proteus mirabilis* – role of the biofilm and the encrustation of the urological catheter

Abstract: Urinary tract infection (UTI) is one of the most common nosocomial infections. *Proteus mirabilis* is important Gram-negative, dimorphic and motile pathogen (*Enterobacteriaceae* family), causing UTI – especially in catheterized patients. Key elements leading to CAUTI are: catheter colonization, mono- or multi-species biofilm formation and the long period of the catheterization. Biofilm is microorganisms' protective and dynamic community, attached to surface and embedded in extracellular matrix (mainly polysaccharides). *P. mirabilis* can easily adhere to catheter surface and cause its encrustation and blockage (due to urine alkalization by urease, leading to struvite and apatite crystals precipitation). Struvite contains magnesium ammonium phosphate and apatite – calcium phosphate. Urine flow obstruction can elicit pyelonephritis. Other uropathogens, producing urease e.g. *Morganella morganii*, *Providencia stuartii*, *Escherichia coli* (some strains), *Klebsiella pneumoniae* rather rarely cause catheter blockage. There have been proposed many solutions, preventing catheter biofilm colonization or disrupting formed consortium. However by this time there is no high-effective and broadly used remedy. One of the solutions is the impregnation of the catheters with silver, EDTA, antiseptics (e.g. triclosan, chlorhexidine), antibiotics, heparin or lactoferrin – short-term and insufficient-concentration release, risk of the resistance onset, sometimes non-wide spectrum activity. This solutions are generally moderately effective and postpones the emergence of bacteruria. Another approach (experimental) for example is to inhibit urease or the quorum sensing. The surface of the catheter also could be more hydrophilic and smooth, to inhibit the bacterial attachment.

1. Urinary tract infections. 2. *Proteus mirabilis* – general description. 3. Biofilm – definition, characterization. 4. Biofilm on urinary catheter and its encrustation. 5. Prophylaxis and treatment of CAUTI in catheterized patients. 6. Summary

Słowa kluczowe: biofilm, cewnikowanie, *Proteus mirabilis*, ZUM

Key words: biofilm, catheterisation, CAUTI, *Proteus mirabilis*

1. Zakażenie układu moczowego

Zakażenia układu moczowego (ZUM, UTI – *urinary tract infection*) należą do bardzo częstych infekcji szpitalnych. ZUM często mają charakter endogenny; są wywołane drobnoustrojami pochodzącymi ze skóry czy układu pokarmowego. Infekcje te mogą też mieć źródło egzogenne, kiedy np. mikroorganizmy przeniesione zostają na pacjenta przez personel medyczny lub infekcja następuje na drodze stosunku płciowego. Zakażenia mogą być wywoływane przez jeden lub więcej gatunków drobnoustrojów (jedno- lub wielogatunkowe). Mogą przebiegać drogą wstępującą, kiedy patogeny kolejno kolonizują cewkę moczową, pęcherz, gruczoł krokowy, moczowody, nerki, lub drogą przez krew albo naczynia limfatyczne (zakażenie hemato- i limfogenne), także przez przetoki [19, 21, 26, 29].

W warunkach szpitalnych i pozaszpitalnych najczęstszym uropatogenem jest *Escherichia coli*. Z mniejszą częstością zakażenie układu moczowego wywołują: *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*,

Enterobacter aerogenes, *Providencia stuartii*, *Morganella morganii*, *Serratia* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *Staphylococcus epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Candida albicans*. Rzadziej infekcje układu moczowego powodowane są przez *Chlamydia trachomatis*, *Ureoplasma urealyticum*, *Garnderella vaginalis*, *Corynebacterium urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycobacterium* sp. (prątki), *Candida glabrata*, *C. tropicalis*.

Wśród wyżej wymienionych rodzajów: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Providencia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Serratia*, należą do rodziny *Enterobacteriaceae* – są to to Gram-ujemne, względnie beztlenowe, prototroficzne (o małych wymaganiach odżywczych), nieprzetrwalnikujące pałeczki o długości do 6 µm i średnicy do 2 µm. Nie występuje u nich oksydaza cytochromowa, wytwarzają katalazę. Część z nich stanowi naturalną florę jelitową ludzi i zwierząt (np. *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*), a niektóre to bezwzględnie patogeny (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*). Wytwarzają

* Autor korespondencyjny: Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Zakład Mikrobiologii Ogólnej, ul. Banacha 12/16, 90-231 Łódź; matusiak@acer.biol.uni.lodz.pl

fimbrii, część jest urzęsiona oraz rozkłada mocznik z udziałem ureazy. Inną wspólną cechą jest obecność endotoksyny w komórce [15, 18, 19, 21].

Do czynników wirulencji *E. coli* można zaliczyć m.in.: adhezyny fimbriowe (np. typu 1, P lub pap – *pyelonephritis-associated pili*, S, M, F1C, Auf) i nie-fimbriowe (np. Dr, Iha), ruchliwość, siderofory (np. aerobaktyna, enterobaktyna), CNF1 (*cytotoxic necrotising factor 1*), Sat (*secreted autotransporter toxin*), SisA i SisB (hamują reakcję zapalną na wczesnym etapie infekcji), hemolizynę Hla, proteazy; ponadto system pobierania cynku oraz inwazyjność – tworzenie wewnątrzkomórkowych zbiorowości bakteryjnych (o skróconej długości komórek) w pęcherzu (zaobserwowano w modelu mysim) [8, 11, 22].

UTI może mieć charakter objawowy lub bezobjawowy. Zakażenia bezobjawowe lub skąpoobjawowe występują często u dzieci i osób starszych, także w przypadku CAUTI (*catheter-associated urinary tract infection*). Wśród symptomów zakażenia objawowego wymienia się: zmętnienie moczu, hematurię (krwiomocz), pyurię (ropomocz), częstą mikcję (oddawanie moczu), dysurię (ból przy oddawaniu moczu), ból żebrowo-kręgowy, a także nieprzyjemny zapach moczu, gorączkę, inkontynencję (nieprzyjęcie moczu) [4, 15, 19].

Do ZUM predysponują: płeć żeńska (wiek dorosły, krótsza cewka moczowa), płeć męska (wiek dziecięcy), młody oraz podeszły wiek, funkcjonalne lub anatomiczne wady układu moczowego (np. refluks pęcherzowo-moczowodowy), uszkodzenie układu nerwowego (niekontrolowanie mikcji), zabiegi chirurgiczne lub diagnostyczne w układzie moczopłciowym (w tym przezcewkowa resekcja prostaty, cytoskopia). Czynniki sprzyjającymi zakażeniu dróg moczowych są również: hipertrofia (przerost) prostaty (upośle-

dzenie przepływu moczu i niecałkowite opróżnianie pęcherza), cukrzyca, immunosupresja, kamica, ciąża, cewnikowanie oraz otwarty system katetyzacji. Im dłuższy czas od wprowadzenia cewnika, tym większe prawdopodobieństwo infekcji. Jedni autorzy podają, że to ryzyko wzrasta o 3–10% na dobę, inni że o 5%. Po kilku tygodniach CAUTI może wystąpić niemal u każdego pacjenta [8, 11, 19, 21, 26, 35].

Infekcja układu moczowego może skutkować szeregiem powikłań: kamica moczową (w pęcherzu lub nerkach), blokadą cewnika, zapaleniem gruczołu krokowego (prostaty) lub najądrza, odmiedniczkowym zapaleniem nerek (i ich uszkodzeniem), bakteriecią, sepsą (posocznica) [4, 15].

Przed ZUM chronią m.in.: mechaniczne usuwanie drobnoustrojów z pęcherza i cewki strumieniem moczu, kwaśny odczyn moczu, fagocytoza, wytwarzanie przeciwciał oraz białek wiążących żelazo (laktoferyna, transferyna, lipokalina-2). Rola ochronną ma również naturalna flora cewki moczowej, złuszczenie się komórek nabłonka pokrywającego drogi moczowe, antybakteryjne właściwości mukopolisacharydów błony śluzowej pęcherza, β -defensyna, katelicyna LL-37 oraz glikoproteina Tamma-Horsfalla (zapobiega adhezji bakterii – wiąże fimbrii typu I). Rola adaptacyjnej odpowiedzi immunologicznej w zakażeniach układu moczowego jest mniej poznana [19, 21, 22].

2. *Proteus mirabilis* – charakterystyka ogólna

Proteus mirabilis jest Gram-ujemną, prototroficzną, urzęsioną perytrychalnie i nieprzetrwalnikującą krótką pałeczką o długości 1–2 μm , należąca do rodziny *Enterobacteriaceae*. Szczególnym przejawem zdolności do

Wyjaśnienie zastosowanych skrótów

Ag43	– antigen 43, antygen 43,	LPS	– lipopolisacharyd,
AHL	– <i>N-acyl-L-homoserine lactones</i> , laktony N-acylo-L-homoseryny,	MR/K	– <i>mannose-resistant/Klebsiella-like</i> , fimbrii mannozo-oporne typowe dla <i>Klebsiella</i> ,
AMPs	– <i>antimicrobial peptides</i> , peptydy przeciwdrobnoustrojowe,	MR/P	– <i>mannose-resistant/Proteus-like</i> , fimbrii mannozo-oporne typowe dla <i>Proteus</i> ,
ATF	– <i>ambient temperature fimbriae</i> , fimbrii temperatury środowiskowej,	NAF	– <i>nonagglutinating fimbriae</i> , fimbrii nieaglutynujące,
CAUTI	– <i>catheter-associated urinary tract infection</i> , zakażenie układu moczowego związane z cewnikowaniem,	PMF	– <i>Proteus mirabilis fimbriae</i> , fimbrii <i>Proteus mirabilis</i> ,
CMCS	– <i>carboxymethyl chitosan</i> , karboksymetylowy chitosan,	PMP	– <i>Proteus mirabilis P-like fimbriae</i> , fimbrii <i>Proteus mirabilis</i> P-podobne,
CNF1	– <i>cytotoxic necrotising factor 1</i> , cytotoksyczny czynnik nekrotyzujący 1,	pap	– <i>pyelonephritis-associated pili</i> , fimbrii związane z odmiedniczkowym zapaleniem nerek,
CNS	– <i>coagulase-negative Staphylococci</i> , gronkowce koagulazoujemne,	Pta	– <i>Proteus toxic agglutinin</i> , toksyczna aglutynina <i>Proteus</i> ,
CS	– <i>quorum sensing</i> ,	podłoże LB	– podłoże Luria-Bertani,
ECM	– <i>extracellular matrix</i> , zewnątrzkomórkowa macierz,	Sat	– <i>secreted autotransporter toxin</i> , wydzielana toksyna autotransporterowa,
EDTA	– <i>ethylenediaminetetraacetic acid</i> , kwas etylenodiaminotetraoctowy,	SOD	– <i>superoxide dismutase</i> , dysmutaza ponadtlenkowa,
EPS	– <i>extracellular polymeric substances</i> , zewnątrzkomórkowe polimery,	UCA	– <i>uroepithelial cell adhesin</i> , adhezyna dla komórek nabłonkowych układu moczowego,
ESBL	– <i>extended-spectrum beta-lactamases</i> , beta-laktamazy o rozszerzonym spektrum działania,	UTI	– <i>urinary tract infection</i> , zakażenie układu moczowego,
		ZUM	– zakażenie układu moczowego

ruchu tego drobnoustroju jest wzrost rozpełzły (mgławicowy). *P. mirabilis* zalicza się do patogenów oportunistycznych, tj. wywołujących infekcje u osób z obniżoną odpornością. Pałeczki *Proteus* występują powszechnie w środowisku. Można je znaleźć w wodzie, glebie, nawozie naturalnym, ale są także obecne w jelitach ssaków. Charakterystyczną cechą tej bakterii jest dimorfizm. Może występować w formie krótkich komórek w hodowli płynnej (*swimmer cells*) oraz na powierzchni stałej w postaci długich (10–80 µm), wielonukleoidowych, silnie urzęsionych oraz o zwiększonej ekspresji niektórych genów czynników wirulencji (np. flageliny, ureazy, HmpA, ZapA) – *swarmer cells* [14, 19, 21, 29].

Najczęściej izolowane od pacjentów są szczepy zaliczane do serotypów: O3, O6, O10, O26, O27, O28, O30 [29].

Na genom *P. mirabilis* (szczep kliniczny HI4320) składa się kolisty chromosom o długości ok. 4 mln pz (38.9% par zasad G+C) oraz plazmid (pHI4320) zawierający ponad 36 tys. nukleotydów. Genom zawiera niecałe 4 tys. sekwencji kodujących i siedem operonów rRNA. Wykryto również profagi (3 kompletne i 3 defektywne). Chromosom *P. mirabilis* jest mniejszy od innych bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* (średnio 4.6 mln pz) [23].

Poza ZUM opisywany drobnoustrój wywołuje także zakażenia ran, układu oddechowego, oczu, uszu, gardła, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych u dzieci oraz reumatoidalne zapalenie stawów. Przebyte UTI nie nadaje odporności. W rodzaju *Proteus* znaczenie kliniczne mają również pałeczki *P. vulgaris* i *P. penneri*. Jednakże najczęściej izolowanym z materiału klinicznego patogenem jest *P. mirabilis*. Gatunek ten jest częstym drobnoustrojem powodującym CAUTI (oraz inkrustację katetera i jego blokadę); natomiast sporadycznie powoduje zakażenia układu moczowego u osób niecewnikowanych. Do czynników chorobotwórczości omawianego drobnoustroju zalicza się m.in.: rzęski (i ich zmienność fazową), fimbrie, adhezyny niefimbriowe, ureazę (metaloenzym zawierający nikiel), proteazy (w tym metaloproteazę cynkową ZapA; rozkładają m.in. przeciwciała, składniki dopełniacza, peptydy przeciwdrobnoustrojowe, kolagen, fibronektynę, lamininę), SOD (*superoxide dismutase*), hemolizyny (HpmA i HlyA), cytoksynę Pta (*Proteus toxic agglutinin* – subtilino-podobna proteaza serynowa), siderofory, LPS (lipopolisacharyd), inwazyjność (zdolność wnikania do komórek), ESBL (*extended-spectrum beta-lactamases*). Beta-laktamazy o rozszerzonym spektrum działania występują również u niektórych szczepów *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter* sp., szczególnie u izolatów szpitalnych [11, 21, 22, 26, 28, 29, 32].

Rola wzrostu rozpełzłego w patogenezie oraz tworzeniu biofilmu jest niejasna. Doniesienia dotyczące tego zagadnienia bywają rozbieżne. Część badaczy

postuluje, że ta forma wzrostu bakterii ułatwia tworzenie biofilmu i wywołanie zakażenia układu moczowego. Według innych nie ma takiego znaczenia [12, 29, 30].

P. mirabilis wytwarza następujące rodzaje adhezyn fimbriowych: mannozo-oporne typowe dla *Proteus* (MR/P – *mannose-resistant/Proteus-like*), mannozo-oporne typowe dla *Klebsiella* (MR/K – *mannose-resistant/Klebsiella-like*), UCA/NAF (*uroepithelial cell adhesin/nonagglutinating fimbriae*), PMF (*Proteus mirabilis fimbriae*), ATF (*ambient temperature fimbriae*), PMP (*Proteus mirabilis P-like fimbriae*). Nie wszystkie wyżej wymienione typy fimbrii występują jednocześnie u danego szczepu oraz tylko niektóre pełnią rolę czynników patogennych u bakterii podczas ZUM (np. MR/P – rola w zakażeniu drogą wstępującą, UCA, PMF). Prawdopodobnie fimbrie mannozo-oporne typowe dla *Proteus* ułatwiają tworzenie biofilmu na wczesnym etapie (być może poprzez interakcje komórka-komórka), ale przeszkadzają w późniejszym rozwoju konsorcjum bakteryjnego. Na podstawie analizy genomu przypuszcza się, że u *P. mirabilis* może występować 17 typów fimbrii. Dotychczas wykryto sześć [8, 13, 23, 29].

Opisywany drobnoustrój zdolny jest do wywoływania zjawiska tworzenia kamieni moczowych (infekcyjnych) w pęcherzu lub nerkach, które zbudowane są z apatyty lub struwitu. Struktury te mogą stanowić ochronną niszę, w której bakterie *Proteus* sp. rezydują (źródło nawracających zakażeń). Szacuje się, że pałeczki te odpowiadają za powstawanie 70% kamieni o etiologii bakteryjnej (pozostałe 30% powodują inne drobnoustroje). Kamica występuje dwa razy częściej u kobiet niż u mężczyzn; może być bezobjawowa [21, 27, 35]. Bywa przyczyną poważnych komplikacji podczas przebiegu zakażenia (np. kolki nerkowej).

3. Biofilm

Biofilm definiuje się jako „społeczność” mikroorganizmów przytwierdzoną do stałej powierzchni, zamkniętą w macierzy zewnątrzkomórkowej. Drobnoustroje w tej społeczności różnią się fenotypowo od form wolnożyjących. Struktura biofilmu jest dynamiczna. Mogą go tworzyć drobnoustroje jednego gatunku, jak i kilku gatunków. Przypuszcza się, że większość bakterii na świecie żyje w tej postaci – biofilm jest powszechny [5, 24, 27].

Żelowa macierz, stanowiąca osłonę bakterii, zawiera polisacharydy, białka (np. enzymy), lipidy i kwasy nukleinowe. Macierz zewnątrzkomórkową nazywa się też ECM (*extracellular matrix*) i glikokaliksem. Szacuje się, że ok. 10–25% biofilmu stanowią komórki bakterii, a 75–90% EPS (*extracellular polymeric substances*). ECM mogą tworzyć polisacharydy otoczkowe bakterii wraz z częścią O-swoistą LPS [24, 29, 32, 37, 41].

Biofilm przyjmuje kształt płaski lub często podobny do grzyba. W przypadku *P. mirabilis* zaobserwowano, że forma płaska powstaje w hodowli bakterii na podłożu ze sztucznym moczem. Na podłożu LB (Luria-Bertani) obserwuje się natomiast biofilm o większej grubości, pokrywający większą powierzchnię badaną, przypominający kształtem grzyb. Biofilm ma strukturę warstwową; zawiera warstwę kondycjonującą, główną (podstawową) i zewnętrzną. Konsorcjum drobnoustrojów może również zawierać kanały wodne odpowiedzialne za transport substancji odżywczych i tlenu oraz za odprowadzanie metabolitów. U *P. mirabilis* stwierdzono większą liczbę kanałów wodnych w hodowli na bulionie Luria-Bertani. Natomiast w przypadku namnażania tego drobnoustroju w sztucznym moczu zauważono liczniejsze występowanie komórek długich (*swarmer cells*) [12, 14, 24, 30, 37].

Biofilm często jest spotykany w instalacjach wodnych, w jelitach i w układzie moczowo-płciowym u kobiet (korzystna obecność zapobiegająca kolonizacji przez patogeny), tworzy też płytkę nazębną. Wzrost bakterii w tej formie skutkuje trudnymi do wyleczenia, chronicznymi i nawracającymi zakażeniami, w tym ran i układu moczowego. Pojawia się na powierzchni implantów i niejednokrotnie stwarza konieczność ich wymiany, np. protezy stawu. Szacuje się, że biofilm może odgrywać rolę nawet w 60–80% przypadków zakażeń u ludzi [2, 20, 24, 27, 28, 38, 44]. Może także oddziaływać negatywnie np. na instalacje, procesy przemysłowe (m.in. blokując filtry), ale jest również wykorzystywany przez człowieka np. w bioremediacji zanieczyszczeń [5].

Biofilm dla mikroorganizmów stanowi środowisko ochronne, zwiększające szanse na przeżycie. Pozwala na współpracę metaboliczną różnych gatunków. Jednakże oprócz oddziaływań symbiotycznych (współpraca metaboliczna) w biofilmie mogą zachodzić między drobnoustrojami oddziaływania antagonistyczne oraz sukcesja. Mikroorganizmy w biofilmie są mniej wrażliwe na niekorzystne warunki środowiskowe, środki odkażające, antybiotyki (MIC wyższe nawet 1000–1500 krotnie) oraz na działanie układu odpornościowego, stąd trudność w jego eradykacji. Biofilm rzadko jest eliminowany przez sprawny układ immunologiczny, a subletalne stężenia antybiotyków intensyfikują jego tworzenie. Jego oporność wynika m.in. z tego, że EPS stanowi barierę mechaniczną, a w głębszych warstwach biofilmu obserwuje się spowolniony metabolizm (mniej tlenu i substancji odżywczych, nagromadzenie produktów przemiany materii) oraz intensywnie zachodzi horyzontalny transfer genów [2, 9, 10, 24, 28, 38]; występuje również zwiększona częstość mutacji [27].

Powstawanie i natura biofilmu nie są jeszcze w pełni poznane, także dla rodzaju *Proteus*. Tworzenie się

konsorcjum zależy od różnych czynników. W tym od mikroorganizmów oraz od warunków zewnętrznych (np. pH, temperatury), dostępu substancji odżywczych, właściwości powierzchni (chropowate i hydrofobowe łatwiej pokrywane są biofilmem). Bardzo ważną rolę koordynującą w formowaniu konsorcjum odgrywa QS (*quorum sensing*). Reguluje także wytwarzanie czynników wirulencji. U bakterii Gram-ujemnych najlepiej poznane cząsteczki sygnałowe QS to AHL (*N-acyl-L-homoserine lactones*), występuje również system oparty na pochodnych 4-chinolonu. U drobnoustrojów Gram-dodatnich natomiast obecne są systemy *quorum sensing* AgrD i AI2/Lux (ten drugi obecny również u Gram-ujemnych) [2, 5, 9, 24, 25, 27, 30, 31].

Tworzenie się biofilmu jest procesem złożonym, w którym można wyróżnić następujące etapy: pojawienie się warstwy kondycjonującej, adhezja, dojrzewanie biofilmu (namnażanie się mikroorganizmów) oraz rozpad konsorcjum (uwalnianie komórek). W przypadku implantów warstwa kondycjonująca może zawierać różne związki organiczne, polisacharydy, białka pochodzące z płynów ustrojowych (np. albuminę, fibronektynę, fibrynogen, glikoproteiny), które zmieniają właściwości powierzchni i ułatwiają (dostępne są też odmienne dane) wiązanie się mikroorganizmów. Drugim etapem tworzenia biofilmu jest adhezja. Na początku zachodzi na drodze odwracalnej – z udziałem sił van der Waalsa, hydrofobowych, kwas-zasada oraz elektrostatycznych. Następnie ma miejsce adhezja nieodwracalna z udziałem EPS. Ostatnim etapem procesu powstawania biofilmu jest rozpad konsorcjum – odgrywają tutaj rolę wydzielane enzymy (np. liaza alginianowa u *P. aeruginosa* czy liaza N-acetylo-heparosanowa u *E. coli*) oraz ruchliwość; stymulatorem tego procesu może być niedobór substancji odżywczych. Dekompozycja biofilmu umożliwia jego rozprzestrzenianie [5, 7, 24, 27, 37, 38].

4. Biofilm na cewniku urologicznym i jego inkrustacja

Cewnikowanie osłabia naturalne mechanizmy obronne organizmu. Powoduje, że mocz powoli spływa do odbieralnika i nie przepłykuje cewki moczowej, pogarsza ukrwienie, podrażnia lub uszkadza nabłonek. Do wystąpienia CAUTI niezbędna jest zdolność drobnoustrojów do adhezji do katetera, tworzenie biofilmu oraz odpowiednio długi czas cewnikowania. Drobnoustroje łatwo ulegają adhezji do wszystkich obecnie stosowanych typów cewników. Nie ma także wysoce skutecznych i powszechnie stosowanych sposobów rozwiązania tego problemu. Przyczyną łatwego przylegania mikroorganizmów jest hydrofobowa i chropowata (tworząca mikronisze) powierzchnia kateterów.

Kolonizacja może obejmować jego zewnętrzną lub wewnętrzną powierzchnię. CAUTI często w początkowym etapie wywołują bakterie: *S. epidermidis*, *E. coli*, *E. faecalis*; a następnie dodatkowo: *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *P. stuartii*, *M. morgani*, *K. pneumoniae* [21, 24, 32, 39]. UTI związane z cewnikowaniem powodują również *S. aureus*, *K. oxytoca* [43].

W badaniach wymazów z 96 usuniętych cewników (z powierzchni zewnętrznej i wewnętrznej) najczęściej wykrywano gronkowce koagulazoujemne (CNS – *coagulase-negative Staphylococci*, np. *S. epidermidis*), *E. faecalis*, *S. aureus* oraz *E. coli* (łącznie 18 różnych gatunków). CNS izolowano najczęściej wtedy, gdy cewnikowanie trwało krócej niż jeden miesiąc. Natomiast *S. aureus* i *E. faecalis* wykrywano tylko przy katetyzacji trwającej ponad tydzień. W przypadku *E. coli* i *K. pneumoniae* nie zauważono zależności występowania na cewniku od czasu katetyzacji. Najintensywniej biofilm tworzyła pałeczka ropy błękitnej, a najslabiej pałeczka okrężnicy (na polistyrenie). W 68% przypadków (uwzględniając również 83 izolaty z moczu od osób cewnikowanych) obserwowano wielogatunkową kolonizację (do pięciu różnych drobnoustrojów jednocześnie). Na czterech kateterach (z 96) zauważono współwystępowanie w biofilmie mikroorganizmów Gram-ujemnych i Gram-dodatnich. Przypuszczalnie szczepy szorstkie R (*rough*, LPS pozbawiony części O-swoistej) intensywniej tworzą biofilm; niektórzy badacze sugeruje również, że są mniej patogene [43]. Obecność biofilmu *S. epidermidis* na cewniku prawdopodobnie ułatwia adhezję *P. mirabilis* do powierzchni [12].

W przypadku *E. coli* sugeruje się, że kluczowymi do formowania biofilmu są ruchliwość oraz fimbrie typu 1 i CsgA oraz białko autotransporterowe Ag43 (*Antigen 43*) – sprzyjają autoagregacji (oddziaływania komórka-komórka) i przyleganiu do powierzchni abiotycznych; adhezyny te umożliwiają również formowanie dojrzałego biofilmu w kształcie podobnym do grzyba. Szczepy nieruchliwe wolniej tworzą biofilm [8, 43]. W skład ECM pałeczki okrężnicy wchodzi: celuloza, kwas kolaminowy oraz poli-beta-1,6-N-acetylo-D-glukozamina [11].

W przypadku drobnoustrojów zdolnych wytwarzać ureazę (np. *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. rettgeri*, *P. stuartii*, *M. morgani*, *E. coli* – niektóre szczepy, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. marcescens*) możliwa jest w mniejszym bądź większym stopniu również inkrustacja cewnika głównie kryształami struwitu i apatyty. Rozkład mocznika przez ureazę (powstaje amoniak i dwutlenek węgla) prowadzi do alkalizacji moczu; ponadto amoniak uszkadza nabłonek dróg moczowych. Podwyższenie pH moczu zmniejsza rozpuszczalność soli i skutkuje precypitacją kryształów struwitu ($MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$, fosforan amonowo-

-magnezowy) i (hydroksy- lub węglano-) apatyty ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, $Ca_{10}(PO_4)CO_3$, fosforan wapnia). Ureaza *P. mirabilis* ok. 6–10 razy sprawniej hydroлізуje mocznik w porównaniu do innych uropatogenów wytwarzających ten enzym. Silną inkrustację katetera powodują również *P. vulgaris* i *P. rettgeri*. Szczepy ureazo-ujemne nie przejawiają takiej cechy, także wolniej adherują do powierzchni cewnika [4, 11, 21, 32–35, 38, 40]. Inni badacze zaobserwowali, że *P. stuartii* NSM24 działa hamująco na proces inkrustacji z udziałem *P. mirabilis* (w ok. 50% przypadków występują jednocześnie na cewniku) [16].

Stwierdzono, że w trakcie namnażania szczepu referencyjnego *P. mirabilis* NCTC 11938 w reaktorze CDC do hodowli biofilmu pojawiał się w przeważającej ilości hydroksyapatyt. Najintensywniejsza inkrustacja miała miejsce przy wartości przepływu sztucznego moczu w reaktorze równej 3 mL/min. Przy pH 7–8 najpierw precypitował struwit, który działał jako zarodek krystalizacji dla hydroksyapatytu. Interakcje między jonami wapnia i magnezu (oraz innymi jonami) w moczu są złożone. pH w którym dochodzi do krystalizacji minerałów może być zmienne. Na cewniku może również odkładać się szczawian wapnia (ze względu na słabą rozpuszczalność) czy kwas moczowy. Inkrustacja często rozpoczyna się od ujścia cewnika (dosyć nierówna powierzchnia w tym miejscu) lub regionu balonu w pęcherzu. Precypitat, gdy pojawia się na zewnętrznej powierzchni cewnika, uszkadza śluzówkę cewki, pęcherza oraz powoduje ból przy wyjmowaniu katetera. Warstwa kryształów zwiększa nierówność powierzchni oraz ochrania bakterie przed substancjami bójczymi (np. którymi był impregnowany cewnik). Zaburzenia metaboliczne (np. hiperkalciuria – zwiększenie wydalania wapnia z moczem) mogą intensyfikować inkrustację lub prawdopodobnie stanowić samodzielny czynnik sprawczy tego procesu. Osadzenie się kryształów może spowodować blokadę katetera i zatrzymanie moczu (w konsekwencji ból, refluks pęcherzowo-moczowodowy oraz infekcja nerek) lub jego wyciek. Do utraty drożności światła cewnika czasami doprowadza także sam biofilm (rola egzopolisacharydów wytwarzanych przez *P. aeruginosa* czy *K. pneumoniae*). Prawdopodobnie EPS, otoczki i ściana komórkowa bakterii ułatwiają krystalizację struwitu i apatyty, ponieważ wiążą kationy, stanowią zarodki krystalizacji i stabilizują minerały. Charakter kwaśny LPS, zawierający np. kwasy uronowe, sprawia, że lipopolisacharyd zyskuje ładunek ujemny i wiąże jony dodatnie. Większe stężenie jonów wapnia i magnezu w moczu zwiększa ryzyko inkrustacji katetera [6, 8, 12, 18, 25, 32, 35, 36, 40].

W innym badaniu polegającym na hodowli biofilmu *E. coli* i *P. mirabilis* na powierzchni poliuretanu, zaobserwowano intensywniejsze odkładanie białek i silniejszą inkrustację powodowane przez *P. mirabilis*, podczas

gdy wzrost pałeczki okrężnicy nadawał powierzchni bardziej hydrofilowe właściwości [40].

pH moczu u danego pacjenta zmienia się w czasie oraz wśród pacjentów występuje zróżnicowana podatność na alkalizację moczu z udziałem bakterii; stąd stworzono podział osób hospitalizowanych na „blokerów” i „nie-blokerów”. U osób w drugiej grupie generalnie występuje większa kwasowość moczu i mniejsze ryzyko blokady cewnika, co oznacza rzadszą konieczność wymiany katetera. Zróżnicowana podatność pacjentów przejawia się dużą rozpiętością czasu potrzebnego do inkrustacji cewnika – 2–98 dni [17, 22, 32, 36].

5. Zapobieganie i leczenie CAUTI u osób poddanych cewnikowaniu

Zaproponowano wiele sposobów zapobiegania i rozwiązywania problemu CAUTI.

Prostym rozwiązaniem jest stosowanie katetyzacji w przypadkach, gdy jest to naprawdę konieczne i usuwanie cewnika z chwilą ustania wskazań do jego obecności lub kiedy zbliża się czas po którym dochodzi do jego blokady. Nadzorowanie czasu cewnikowania poszczególnych pacjentów, np. w szpitalu ułatwiłaby komputerowa baza danych. Nie powinno się także stosować cewnika dla ułatwienia pracy personelu medycznego [11, 18].

Stosowano również płukanie pęcherza, cewnika oraz zbiornika na mocz roztworem soli, kwasu (np. octowego), etanolu czy antybiotyku (np. neomycyna, polimyksyna) bez wielkiego powodzenia. Proponowane jest również płukanie katetera roztworem z ekstraktem rośliny *Ibicella lutea* z Ameryki Południowej. Napełnianie balonu roztworem kwasu migdałowego jest mało skuteczne. Mycie i odkażanie ujścia cewki (np. mydłem i wodą) nie jest wystarczające w profilaktyce ZUM [11, 12, 18, 39].

Właściwa aplikacja cewnika, w pomieszczeniu o wysokiej jałowości powietrza (np. na sali operacyjnej) redukuje ryzyko CAUTI. Nie jest zalecane także stosowanie otwartego systemu cewnikowania (brak szczelnego połączenia katetera z workiem na mocz). Worek winien być opróżniany co cztery do sześciu godzin, aby zapobiec migracji bakterii ze zbiornika do cewnika [11, 18, 39].

Innym rozwiązaniem jest impregnacja lub powlekanie (poprzez zanurzenie w płynie, nałożenie maści) cewnika substancjami zmniejszającymi adhezję drobnoustrojów lub o właściwościach antyseptycznych. Przykładowo może to być srebro w postaci stopu, tlenku lub jego soli (kosztowny zabieg), triklosan (napełnianie balonu, nieskuteczne wobec *P. rettgerii*, *M. morgani*,

P. aeruginosa i *Enterococcus* sp.; różna wrażliwość szczepów *P. mirabilis*), chlorohexydydina (część drobnoustrojów uzyskała oporność), gendyna (połączenie fioletu krystalicznego i chlorohexydydiny), sulfadiazyna (sulfonamid, ryzyko alergii), peptydy o działaniu przeciwdrobnoustrojowym (AMPs – *antimicrobial peptides*), antybiotyki (np. nitrofurazon, nitrofurantoina – nieskuteczna wobec *Proteus* sp., gentamycyna, rifampicyna, minocyklina, fluorochinolony, trimetoprim; także do napełniania balonu, ryzyko alergii), chitosan (i jego karboksymetylowa pochodna – CMCS – *carboxymethyl chitosan*, właściwości przeciwdrobnoustrojowe), heparyna (zapobiega krystalizacji i utrudnia adhezję, silnie elektroujemna), albumina (być może utrudnia adhezję), hydrożel (np. agarozowy – być może ogranicza adhezję drobnoustrojów), laktoferyna i owotransferyna (wiążą jony żelaza), substancje chelatujące (EDTA – *ethylenediaminetetraacetic acid* – absorbuje jony żelaza, wapnia i magnezu), biosurfaktanty (utrudniają adhezję), czwartorzędowe związki amoniowe. Skuteczność wymienionych sposobów ograniczenia formowania się biofilmu na cewniku i jego inkrustacji nie jest w pełni zadawalająca. Dane na ten temat są niewystarczające i bywają rozbieżne. Zastosowanie impregnacji lub powlekanie katetera określoną substancją opóźnia tylko moment pojawienia się zakażenia. Największą skuteczność obserwuje się przy cewnikowaniu nie dłuższym niż tydzień. Problemem jest uwalnianie związków działających przeciwdrobnoustrojowo przez krótki okres czasu i w niewystarczającym stężeniu, ryzyko nabycia oporności (np. na jony srebra, triklosan) oraz nie zawsze szerokie spektrum działania. Niektóre z wymienionych rozwiązań są stosowane klinicznie (np. powlekanie srebrem), inne natomiast pozostają w fazie badań. Cześć badaczy sugeruje, że stosowanie hydrożelu jest nieskuteczne lub nawet ułatwia tworzenie biofilmu (żel na bazie poliwinylpirolidonu).

W przypadku napełniania balonu cewnika substancjami bójcymi, tylko triklosan i kwas nalidyksowy dyfundują przez silikon w wystarczających stężeniach; natomiast gentamycyna i fluorochinolony łatwo przenikają przez balon wykonany z poliuretanu. W trakcie cewnikowania można również wprowadzić antybiotykoterapię (profilaktycznie lub terapeutycznie), jednakże ryzykując selekcją szczepów lekoopornych. Antybiotyki wykazują skuteczność głównie na wczesnym etapie formowania biofilmu, natomiast niewielką względem dojrzałego biofilm. Wyjątkiem są fluorochinolony, które względnie dobrze penetrują EPS. W przypadku CAUTI, objawiające się bakteriurią bez innych poważnych symptomów u pacjenta, generalnie zaleca się nie stosowanie antybiotyków. Nie dotyczy to kobiet w ciąży czy osób poddanych immunosupresji. Dobór chemioterapeutyków powinien uwzględniać gatunek drobnoustroju chorobotwórczego oraz jego wrażliwości na leki.

Gram-ujemne uropatogeny pochodzenia jelitowego często charakteryzują się wielolekoopornością [3, 7, 10, 11, 12, 17, 18, 26, 28, 32, 37–39, 42, 44]. Zamiast antybiotyków można zastosować farmakologiczne środki moczopędne stymulujące wypłukanie drobnoustrojów z układu moczowego.

Z chwilą pojawienia się ZUM zalecane jest wyminięcie cewnika. W przeciwnym razie terapia może okazać się nieskuteczna; po jego wyjęciu wyleczenie może być samoistne. Zastosowanie katetera o nieoptymalnym rozmiarze powoduje dyskomfort u pacjenta i zwiększa ryzyko infekcji. Alternatywą są katetyryzacja nadłonowa i zewnętrzna (tylko u mężczyzn) [11, 18, 43].

W przypadku infekcyjnej kamicy moczowej konieczne jest usunięcie mineralnych aglomeratów, aby zapobiec nawrotom choroby. Trudności w leczeniu może nastęrczać zakażenie gruczołu krokowego z udziałem biofilmu, które ma charakter nawracający (terapia 6–12 tygodni). W sytuacji stwierdzenia wad anatomicznych układu moczowego predysponujących do ZUM, stosuje się niekiedy leczenie chirurgiczne [15, 26, 37].

Wśród eksperymentalnych metod profilaktyki czy terapii CAUTI można wymienić inhibicję sideroforów bakteryjnych, ureazy (np. fluorofamid, kwas acetylohydroksamowy) lub *quorum sensing* (np. kwas taniowy – AHL, furanony – AHL i AI2/Lux, peptyd RNAIII – AgrD; utrudnienie stanowi obecność kilku systemów komunikacji) [2, 8, 24].

Inne, obiecujące rozwiązanie opiera się na zwiększeniu objętości wypijanych płynów (rozcieńczenie moczu i zmniejszenie stężenia jonów) i spożywaniu cytrynianu (np. w sokach owocowych z cytryn i pomarańczy). Kwas cytrynowy, jako naturalny związek chelatujący, tworzy kompleksy z kationami wapnia i magnezu. Dostępne są rozbieżne dane na temat skuteczności zastosowania kwasu cytrynowego [1, 36]. Ograniczeniem tej metody jest to, że część pacjentów może być uczulona na owoce cytrusowe.

Proponowane jest również zastosowanie innych typów tworzyw, bardziej gładkich (szczególnie przy ujściu cewnika) i bardziej hydrofilowych – co zmniejsza adhezję mikroorganizmów. Jednakże sama modyfikacja powierzchni cewnika może nie być wystarczająca w dłuższej perspektywie czasu jego stosowania. Niektóre typy polimerów łatwiej od innych są kolonizowane przez drobnoustroje. Silikon jest bardziej podatny niż poliuretan, poliwinyl czy teflon. Jednakże ma gładszą powierzchnię od lateksu (najczęściej używany) oraz cewniki z tego tworzywa są cieńsze. Może konieczne będzie udoskonalenie samej konstrukcji katetera, np. poprzez zwiększenie średnicy wewnętrznej (mniejsze ryzyko utraty drożności) [3, 28, 32–34].

Nowatorskim rozwiązaniem jest niszczenie biofilmu falą akustyczną o niskiej energii 100–300 kHz (ultra-

dźwięki, działa też przeciwadhezyjnie), prądem (podłączanym do cewnika za pomocą srebrnych elektrod) czy bakteriofagami litycznymi (wadą zwykle wąska specyficzność fagów w stosunku do danego gatunku czy szczepu) [7, 12, 32]. Biofilm można by również degradować w niektórych przypadkach przez działanie liazы alginianowej czy DNazy [9].

Postulowano możliwość zapobiegania CAUTI, poprzez celową kolonizację cewnika niepatogennym szczepem *E. coli* 83972 [11]. Nie można jednak całkowicie wykluczyć zagrożenia ze strony niechorobotwórczego szczepu choćby, ze względu na obecność lipolisacharydu w błonie zewnętrznej ściany komórkowej.

Opracowano również detektor umieszczony w zbiorniku na mocz, wykrywający na wczesnym etapie inkrustację katetera. Zbudowany jest z tworzywa sztucznego pokrytego indykatorem pH – błękitem bromotymolowym, który zmienia barwę z żółtej na niebieską przy alkalizacji moczu. Informuje on z wyprzedzeniem ok. 17–24 godzin, kiedy należy wymienić cewnik, aby zapobiec jego blokadzie [16].

Pomocna byłaby także szczepionka przeciw *P. mirabilis* czy *E. coli*. Podejmowane są badania w celu stworzenia takiego preparatu. Picie soku żurawinowego czy terapia hormonalna po menopauzie może zapobiegać zakażeniu, ale nie ma co do tego pewności. Można by przeciwdziałać tworzeniu biofilmu, poprzez inhibicję syntezy wybranego składnika ECM. Podaż kwasu askorbinowego (witaminy C) w celu zakwaszenia moczu i zapobieganiu CAUTI jest mało skuteczna [8, 11, 22, 36].

6. Podsumowanie

Zakażenie układu moczowego jest jednym z najczęstszych rodzajów infekcji szpitalnych. Jednym z uropatogenów jest Gram-ujemna bakteria *P. mirabilis*. A elementem największego ryzyka, predysponującym do infekcji z jej udziałem jest obecność cewnika. Drobnoustroje łatwo ulegają adhezji do wszystkich obecnie stosowanych typów cewników i tworzą na nich biofilm. Postulowane, testowane oraz stosowane są różne rozwiązania – o umiarkowanej lub niskiej skuteczności, mające zapobiec pojawieniu się biofilmu lub usunąć go, gdy jest już obecny na powierzchni katetera. Problemem jest brak jasno określonych kryteriów skuteczności metod mających zapobiegać CAUTI. Na stan obecny nie ma w pełni udanych i szeroko rozpo- wszechnionych sposobów walki z omawianym problemem. Rozwiązania te w dużej mierze opóźniają tylko moment pojawienia się kolonizacji, inkrustacji i objawów zakażenia, np. bakteriurii. Prosty sposób jest ograniczenie stosowania oraz skrócenie czasu cewnikowania do minimum. Można by ponadto

wprowadzić do zastosowania cewniki cieńsze, o większej średnicy światła, wykonane z bardziej gładkiego i hydrofilowego tworzywa (utrudniające adhezję drobnoustrojów). Dodatkowo mogłyby być impregnowane np. srebrem, heparyną, laktoferyną, EDTA, antyseptykiem lub antybiotykiem. Problem stanowi uwalnianie substancji aktywnych w krótkim okresie czasu i w niewystarczającej koncentracji, ryzyko nabycia oporności, nie zawsze szerokie spektrum działania i kwestie finansowe. Przykładowo dostępne handlowo cewniki urologiczne impregnowane srebrem, w porównaniu z tradycyjnymi, opóźniają tylko o kilka dni pojawienie się biofilmu na cewniku czy bakteriiurii u pacjenta. Inne postulowane, eksperymentalne metody, sugerują np. zastosowanie fagów litycznych, spożycie soku żurawinowego, inhibicję ureazy, sideroforów czy *quorum sensing*. Obiecujące (ale niewystarczające) są doniesienia, wskazujące na skuteczność zwiększenia podaży płynów (rozcieńczenie moczu) i spożycia kwasu cytrynowego (np. w sokach owocowych), który wiąże kationy dwuwartościowe. W celu zwiększenia skuteczności można by jednocześnie zastosować kilka sposobów zapobiegania UTI u osób cewnikowanych. Wyleczenie zakażenia układu moczowego bez usunięcia katetera może okazać się niemożliwe.

Przyczyny narastania problemu CAUTI można dopatrywać się w powszechnie występującym procesie starzenia się społeczeństwa w krajach rozwiniętych (cewnikowanie obłożnie chorych osób w podeszłym wieku) [23]. Również w niechęci producentów do inwestycji w kosztowne badania, mające na celu udoskonalenie kateterów pod kątem kolonizacji bakteryjnej.

Piśmiennictwo

- Broomfield R.J., Morgan S.D., Khan A., Stickler D.J.: Crystalline bacterial biofilm formation on urinary catheters by urease-producing urinary tract pathogens: a simple method of control. *J. Med. Microbiol.* **58**, 1367–1375 (2009)
- Chen L., Wen Y.: The role of the bacterial biofilm in persistent infections and control strategies. *Int. J. Oral. Sci.* **3**, 66–73 (2011)
- Evliyaoglu Y., Kobaner M., Celebi H., Yelsel K., Dogan A.: The efficacy of a novel antibacterial hydroxyapatite nanoparticle-coated indwelling catheter in preventing biofilm formation and catheter-associated urinary tract infection in rabbits. *Urol. Res.* **39**, 443–449 (2011)
- Feneley R.C.L., Kunin C.M., Stickler D.J.: An indwelling urinary catheter for the 21st century. *BJU Intern.* **109**, 1746–1749 (2011)
- Garrett R.R., Bhakoo M., Zhang Z.: Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. *Progress Natural Sci.* **18**, 1049–1056 (2008)
- Gilmore B.F., Hamill T.M., Jones D.S., Gorman S.P.: Validation of the CDC biofilm reactor as a dynamic model for assessment of encrustation formation on urological device materials. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Appl. Biomaterials*, **93B**, 128–140 (2009)
- Gottenbos B., Busscher H.J., van der Mei H.C., Nieuwenhuis P.: Pathogenesis and prevention of biomaterial centered infections. *J. Materials Sci.: Materials in Medicine*, **13**, 717–722 (2002)
- Hatt J.K., Rather P.N.: Role of bacterial biofilms in urinary tract infections. *Current Topics Microbiol. Immunol.* **322**, 163–192 (2008)
- Hoiby N., Cofu O., Johansen H.K., Song Z., Moser C., Jensen P.O., Molin S., Givskov M., Tolker-Nielsen T., Bjarnsholt T.: The clinical impact of bacterial biofilms. *Int. J. Oral Sci.* **3**, 55–65 (2011)
- Hooper S.J., Percival S.L., Cochrane C.A., Williams D.W.: Biofilms and implication in medical devices in humans and animals. *Springer Series on Biofilms*, **6**, 191–203 (2011)
- Jacobsen S.M., Stickler S.J., Mobley H.L.T., Shirtiff M.E.: Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clin. Microbiol. Rev.* **21**, 26–59 (2008)
- Jacobsen S., Shirtiff M.E.: *Proteus mirabilis* biofilms and catheter-associated urinary tract infections. *Virulence*, **2**, 460–465 (2011)
- Jansen A.M., Lockett V., Johnson D.E., Mobley H.L.T.: Mannose-resistant *Proteus*-like fimbriae are produced by most *Proteus mirabilis* strains infecting the urinary tract, dictate the in vivo localization of bacteria, and contribute to biofilm formation. *Infect. Immun.* **72**, 7294–7305 (2004)
- Jones S.M., Yerly J., Hu Y., Ceri H., Martinuzzi R.: Structure of *Proteus mirabilis* biofilms grown in artificial urine and standard laboratory media. *FEMS Microbiol. Lett.* **268**, 16–21 (2007)
- Lindsay E.N., Urinary tract infection (w) The Aging Kidney in Health and Disease, Machas Nunez J.F., Cameron J.S., Oreopoulos D.G., Springer, New York, 2008, s. 165
- Malic S., Waters M. G.J., Basil L., Stickler D.J., Williams D.W.: Development of an “early warning” sensor for encrustation of urinary catheters following *Proteus* infection. *J. Biomed. Mater. Res. Part B*, **100B**, 133–137 (2012)
- Mathur S., Suller M.T.E., Stickler D.J., Feneley R.C.L.: Prospective study of individuals with long-term urinary catheters colonized with *Proteus* species. *BJU Intern.* **97**, 121–128 (2006)
- Michota F., Indwelling urinary catheters (w) Genitourinary Pain and Inflammation: Diagnosis and Management, Potts J.M., Humana Press, New York, 2008, s. 375
- Mikrobiologia medyczna: Krótkie wykłady, red. Szewczyk E. M., PWN, Warszawa, 2008, s. 155, s. 365
- Moran A.P., Annuk H. Recent advances in understanding biofilms of mucosae. *Rev. Environmen. Sci. Bio/Technology*, **2**, 121–140 (2003)
- Diagnostyka bakteriologiczna, red. Szewczyk E.M., PWN, Warszawa, 2009, s. 111, s. 247
- Nielubowicz G.R., Mobley H.L.T.: Host-pathogen interactions in urinary tract infection. *Nature Rev. Urology*, **7**, 430–441 (2010)
- Pearson M.M., Sebahia M., Churcher C., Quail M.A., Seshasayee A.S., Luscombe N.M., Abdellah Z., Arrowsmith C., Atkin B., Chillingworth T.: Complete genome sequence of uropathogenic *Proteus mirabilis*, a master of both adherence and motility. *J. Bacteriol.* **190**, 4027–4037 (2008)
- Percival S.L., Malic S., Cruz H., Williams D.W.: Introduction to biofilms. *Biofilms Veterinary Med.* **6**, 41–68 (2011)
- Perry T.D., Klepac-Ceraj V., Zhang X.V., Mcnamara C.J., Polz M.F., Martin S.T., Berke N., Mitchell R.: Binding of harvested bacterial exopolymers to the surface of calcite. *Environ. Sci. Technol.* **39**, 8870–8875 (2005)
- Prajapati B.S., Prajapati R.B., Patel P.S.: Advances in management of urinary tract infections. *Ind. J. Pediatrics*, **75**, 809–814 (2008)
- Richards J.J., Melander C.: Controlling bacterial biofilms. *Chem-BioChem*, **10**, 2287–2294 (2009)
- Rodrigues L.R.: Inhibition of bacterial adhesion on medical devices. *Adv. Exp. Med. Biol.* **715**, 351–367 (2011)

29. Różalski A., Stączek P., *Proteus* (w) Molecular Detection of Human Bacterial Pathogens, Dongyou L., CRC Press, Boca Raton, 2011, s. 979
30. Schlapp G., Scavone P., Zunino P., Härtel S.: Development of 3D architecture of uropathogenic *Proteus mirabilis* batch culture biofilms – A quantitative confocal microscopy approach. *J. Microbiol. Meth.* **87**, 234–240 (2011)
31. Stankowska D., Czerwonka G., Rozalska S., Grosicka M., Dziadek J., Kaca W.: Influence of quorum sensing signal molecules on biofilm formation in *Proteus mirabilis* O18. *Folia Microbiol.* **57**, 53–60 (2012)
32. Stickler D.J.: Bacterial biofilms in patients with indwelling urinary catheters. *Nature Clinical Practice Urology*, **5**, 598–608 (2008)
33. Stickler D.J., Lear J.C., Morris N.S., Downer A., Cadd D.H., Feast W.J.: Observation on the adherence of *Proteus mirabilis* onto polymer surfaces. *J. Appl. Microbiol.* **100**, 1028–1033 (2006)
34. Stickler D., Young R., Jones G., Sabbuda N., Morris N.: Why are Foley catheters so vulnerable to encrustation and blockage by crystalline bacterial biofilm? *Urol. Res.* **31**, 306–311 (2003)
35. Stroup S., Auge B.K.: Urinary infections and struvite stones. *Urinary Tract Stone Disease*, 217–224 (2011)
36. Suller M.T.E., Anthony V.J., Mathur S., Feneley R.C.L., Greenman J., Stickler J.D.: Factors modulating the pH at which calcium and magnesium phosphates precipitate from human urine. *Urol. Res.* **33**, 254–260 (2005)
37. Tenke P., Johansen T.E.B. i wsp.: Update on biofilm infections in urinary tract. *World. J. Urol.* **30**, 51–57 (2012) (cytowana praca jest dziełem 13 autorów)
38. Tenke P., Kovacs B., Jäckel M., Nagy E.: The role of biofilm infection in urology. *World. J. Urol.* **24**, 13–20 (2006)
39. Thomsen T.R., Hall-Stoodley L., Moser C., Stoodley P., The role of bacterial biofilms in infections of catheters and shunts (w) *Biofilm Infections*, Bjarnsholt T., Jensen P.O., Moser C., Hoiby N., Springer, New York, 2011, s. 91
40. Venkatesan N., Shroff S., Jehachandran K., Doble M.: Effect of uropathogens on in vitro encrustation of polyurethane double J ureteral stents. *Urol. Res.* **39**, 29–37 (2011)
41. Vertes A., Hitchins V., Philips K.S.: Analytical challenges of microbial biofilms on medical devices. *Anal. Chem.* **84**, 3858–3866 (2012)
42. Wang R., Neoh K.G., Shi Z., Kang E., Tambyah P.A., Chiong E.: Inhibition of *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis* adhesion and biofilm formation on medical grade silicone surface. *Biotechnol. Bioengineering*, **109**, 336–345 (2011)
43. Wang X., Lünsdorf H., Ehrén I., Brauner A., Römling U.: Characteristics of biofilms from urinary tract catheters and presence of biofilm-related components in *Escherichia coli*. *Curr. Microbiol.* **60**, 446–453 (2012)
44. Yakandawala N., Gawande P. V., LoVetri K., Madhyastha S.: Effect of ovotransferin, protamine sulfate and EDTA combination on biofilm formation by catheter-associated bacteria. *J. Appl. Microbiol.* **102**, 722–727 (2007)

