

DOROTA WOJNICZ

Wpływ stężeń podprogowych antybiotyków na zdolności adhezyjne bakterii

The Influence of Subinhibitory Concentrations of Antibiotics on the Bacterial Adhesion

Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej AM we Wrocławiu

Streszczenie

Adhezja to jeden z najważniejszych czynników wirulencji bakterii. W medycynie odgrywa ona istotną rolę w patogenezie zakażeń. Wiele chorób bakteryjnych rozpoczyna się od bezpośredniego kontaktu patogenu z komórkami nabłonkowymi gospodarza. Hydrofobowość powierzchni komórek, fimbrie, otoczki są odpowiedzialne za kolonizację tkanek gospodarza lub biomateriałów (cewników, drenów). Rezultatem końcowym adhezji jest agregacja bakterii i tworzenie biofilmu. Często podczas terapii antybiotykami drobnoustroje przez większość czasu są poddane działaniu leku o stężeniu podprogowym (sub-MIC), które ich nie zabija. Może ono jednak zmodyfikować zewnętrzną powierzchnię komórek bakterii i zmienić ich funkcje, między innymi zdolność przylegania do śródbłonna. W pracy przedstawiono aktualny stan badań dotyczących wpływu dawek podprogowych wybranych leków na adhezję drobnoustrojów oraz struktur z nią związanych. Wiedzę na ten temat oraz znajomość farmakodynamiki i farmakokinetyki antybiotyków należy brać pod uwagę w racjonalnej terapii lekowej (*Adv Clin Exp Med* 2007, 16, 1, 141–148).

Słowa kluczowe: adhezja bakteryjna, stężenia podprogowe, antybiotyki.

Abstract

A bacterial adherence is one of the most important factor of virulence. In medicine it plays an essential role in the pathogenesis of infections. A direct contact between a pathogen and the host epithelial cells is an initial step in the development of bacterial diseases. Hydrophobicity of cell surfaces, fimbriae, capsules are responsible for a colonization of tissues or biomaterial surfaces (catheters, drains). The final effect of adhesion is bacterial aggregation and form of biofilm. An antibiotic is often presents at the infection site in subinhibitory concentration (sub-MIC), that does not kill of microorganisms. It has also been observed that sub-MIC of various antimicrobials are able to modify the molecular architecture of the external surface of bacteria and some bacterial function, for example the ability to adhere to the epithelial cells, thus influencing bacterial virulence. I have reviewed data in the literature on the action of sub-MIC of antibiotics on the bacterial adhesion and on the structures joined with it. The knowledge of the effects on bacteria exposed to sub-MIC of antimicrobials, and the correlation of these pharmacodynamic findings with pharmacokinetics curves, is considered to be useful for optimizing therapy (*Adv Clin Exp Med* 2007, 16, 1, 141–148).

Key words: bacterial adhesion, subinhibitory concentrations, antibiotics.

W medycynie adhezja drobnoustrojów odgrywa istotną rolę w patogenezie zakażeń. Wiele chorób bakteryjnych rozpoczyna się od bezpośredniego kontaktu patogenu z nabłonkiem pokrywającym drogi oddechowe, moczowe czy przewód pokarmowy [1].

Adhezja to jeden z najważniejszych czynników wirulencji bakterii. Opiera się na dwóch pod-

stawowych mechanizmach. Pierwszy z nich jest związany z nieswoistymi interakcjami międzycząsteczkowymi, spośród których najważniejszą rolę przypisuje się właściwościom hydrofobowym powierzchni komórek bakteryjnych. Grupy polarne aminokwasów wchodzących w skład struktur błony zewnętrznej bakterii Gram-ujemnych determinują hydrofilowy charakter ich powierzchni. Prze-

waga natomiast polarnych grup hydrofobowych redukuje powinowactwo komórek do wody. Wynikiem tego jest tendencja do agregacji i adherencji drobnoustrojów. Do pozostałych nieswoistych czynników zalicza się siły Van der Waalsa, wiązania wodorowe oraz jonowe. Drugi mechanizm obejmuje oddziaływania między bakteryjnymi strukturami o charakterze adhezyn (fimbrialne, fibrylarne lub bezpostaciowe białka) a błonowymi receptorami komórek eukariotycznych. Drobnoustroje, mając zdolności adhezyjne, kolonizują błony śluzowe gospodarza i rozprzestrzeniają się w jego organizmie, m.in. do krwi, dróg moczowych, opon mózgowo-rdzeniowych i narządów, co w następstwie prowadzi często do rozwoju stanu zapalnego. Trwałe wiązanie się z powierzchnią komórek gospodarza pozwala bakteriom przeciwstawić się mechanizmom obronnym makroorganizmu, do których zalicza się ruch rzęsek komórek śródbłonkowych czy obmywanie tkanek przez wydzieliny śluzowe [2, 3].

Patogeny mają także zdolność przylegania do powierzchni stałych, nieożywionych. W praktyce medycznej mogą być przyczyną zakażeń u pacjentów, u których w celach diagnostycznych lub terapeutycznych stosuje się przedmioty wykonane z materiałów syntetycznych (implanty z tworzyw sztucznych, cewniki, dreny, zespolenia naczyniowe, protezy stawowe i kostne, soczewki kontaktowe) [4].

Rezultatem końcowym adhezji jest agregacja bakterii i tworzenie mikrokolonii na powierzchni błon śluzowych lub biomateriałach. Bardzo ważnym czynnikiem odpowiedzialnym za proces stabilizacji zasiedlenia jest zdolność drobnoustrojów do wytwarzania zewnątrzkomórkowego śluzu – glikokaliksu. Śluz, komórki bakterii, glikoproteiny płynów ustrojowych i gromadzące się komórki zapalne gospodarza tworzą warstwę biofilmu. W początkowej fazie jego powstawania, w której dominują nieswoiste oddziaływania fizyko-chemiczne, znaczącą rolę odgrywa hydrofobowa powierzchnia komórek bakteryjnych [5].

Uważa się, że 60–80% przewlekłych zakażeń m.in. zapaleń płuc, wsierdza, pęcherza i dróg moczowych, szpiku kostnego oraz ran oparzeniowych jest związane z powstawaniem biofilmów. Zakażenia te mają szczególne znaczenie, ponieważ mają zwykle charakter przewlekły, niejednokrotnie groźny dla życia pacjenta, a bakterie tworzące biofilm są odporne zarówno na działanie prawie wszystkich leków przeciwbakteryjnych, jak i na mechanizmy odpornościowe człowieka. Dzieje się tak, ponieważ po podaniu pacjentowi antybiotyku giną jedynie te komórki, które oderwały się od powierzchni i zaczęły rozprzestrzeniać po organizmie. Ich zabicie powoduje krótkotrwałe

zniknięcie objawów chorobowych, jednak bakterie tworzące biofilm żyją nadal i szybko następuje nawrót choroby. Jest niepokojące także to, że żyjące w bezpośrednim kontakcie drobnoustroje mają mechanizmy porozumiewania się. Nośnikami informacji są związki chemiczne, które po przekroczeniu krytycznego stężenia mogą synchronizować aktywność całego biofilmu w kierunku korzystnym dla drobnoustrojów, np. przez zwiększenie wydzielania toksyn [6, 7].

Wpływ dawek podprogowych antybiotyków na drobnoustroje

W przypadku zakażenia jednym ze wskaźników charakteryzujących relację między antybiotykiem a drobnoustrojem jest tzw. minimalne stężenie hamujące wzrost (MIC) (*minimal inhibitory concentration*). Jest to najmniejsze stężenie leku, które całkowicie hamuje wzrost bakterii. Powszechnie uważa się, że dobry skutek terapeutyczny (eradykację patogenu) można osiągnąć wówczas, gdy między kolejnymi dawkami leku, przez około połowę czasu, stężenie antybiotyku przewyższa wartość MIC. Często jednak podczas terapii antybiotykami drobnoustroje przez większość czasu są poddane działaniu leku o stężeniu podprogowym, czyli niższym niż MIC (*sub-MIC* – *subminimal inhibitory concentration*) [8]. Wydaje się, że jest bardzo przydatna znajomość wpływu dawek podprogowych na drobnoustroje, zwłaszcza w przypadku leków, których penetracja do niektórych tkanek i narządów jest ograniczona. Przykładem może być penicylina benzylowa oraz antybiotyki aminoglikozydowe, których przenikanie do kości jest utrudnione, a ich stężenia są mniejsze niż MIC. Chinolony, makrolidy oraz aminoglikozydy gorzej infiltrują do płynu mózgowo-rdzeniowego przez barierę krew-mózg. Ograniczona jest również penetracja leków aminoglikozydowych do płuc, a ich stężenie w wydzielinie drzewa oskrzelowego jest niewielkie [9, 10].

Mimo że podprogowe stężenia leków nie zabijają bakterii, są one w stanie indukować zmiany w morfologii i strukturach powierzchniowych komórek, hamować wytwarzanie toksyn oraz adhezję do komórek gospodarza [8]. Znajomość wpływu dawek sub-MICs leków na drobnoustroje w połączeniu ze wskaźnikami farmakodynamicznymi leku, może okazać się bardzo przydatna w racjonalnej terapii antybiotykami. Stężenia podprogowe przyczyniają się jednak do wyselekcjonowania szczepów opornych, a powstawanie

zmienionych morfologicznie komórek bakteryjnych utrudnia ich rozpoznanie [11–13].

Wpływ sub-MICs antybiotyków β -laktamowych na adhezję

β -laktamy są najliczniejszą i najczęściej stosowaną podczas terapii lekowej grupą antybiotyków. Do najważniejszych w tej grupie zalicza się penicyliny, cefalosporyny i karbapenemy. Ich działanie przeciwbakteryjne polega na hamowaniu aktywności transpeptydaz (białek wiążących penicyliny – PBP) uczestniczących w syntezie peptydoglikanu ściany komórkowej bakterii, które pozbawione sztywnej struktury łatwo ulegają lizie pod wpływem enzymów autolitycznych. Leki te są aktywne wobec bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych, niewrażliwe są natomiast drobnoustroje pozbawione ściany komórkowej (*Mycoplasma*, *Legionella*, *Chlamydia*) [14].

W obecności sub-MICs antybiotyków β -laktamowych powstają długie, niezdolne do podziału komórki bakteryjne, tzw. filamenty. W badaniach przeprowadzonych na pałeczkach jelitowych oraz niefermentujących wykazano, że zmiany morfologiczne mają znaczący wpływ na właściwości adhezyjne drobnoustrojów. Formy nitkowate mają mniejsze zdolności przylegania w porównaniu z bakteriami niepoddanymi działaniu stężeń podprogowych leków. Vranes [15] wykazała korelację między zmianami kształtu komórek *Escherichia coli* a utratą zdolności adhezyjnych do nabłonka przejściowego pod wpływem sub-MICs ceftazydymu, ciprofloksacyny i azytromycyny. Najskuteczniej działał ceftazydym. Antybiotyk ten już w stężeniu 1/16 MIC powodował, że około 60% pałeczek nie wiązało się do śródbłonka. Wraz ze wzrostem sub-MICs, bez względu na rodzaj leku, zmniejszała się liczba bakterii wiązanych na komórkach nabłonkowych. Przyczyną tego zjawiska były zmiany w ścianie komórkowej, polegające na jej rozwarstwieniu, któremu towarzyszyły ubytki w jej warstwie powierzchniowej. Podobne wyniki przedstawili Braga et al. [16], przyleganie do nabłonka znacznie powiększonych komórek *Staphylococcus aureus* i wydłużonych *Escherichia coli* było ograniczone. Inkubacja szczepów *E. coli* w obecności 1/2, 1/4 i 1/8 MIC cefodyzimu powodowała utratę zdolności adhezyjnych u około 90% bakterii, co wiązało się z zanikiem fimbrii. Autorzy przypuszczali, że ich utrata z powierzchni komórek bakteryjnych mogła być skutkiem zaburzeń w syntezie ściany komórkowej. Wykazali oni także korelację między malejącymi zdolno-

ściami adhezyjnymi szczepu a zmniejszoną liczbą komórek o właściwościach hydrofobowych.

Inkubacja szczepów *Acinetobacter baumannii* w 1/4 lub 1/16 MIC meropenemu najskuteczniej zmieniała charakter powierzchni z hydrofobowych na hydrofilne [17]. Zwierchlewski i Gospodarek [18] zaobserwowali również wzrost liczby komórek *Acinetobacter* spp. o właściwościach hydrofilnych pod wpływem działania 1/2 MIC imipenemu.

Wyniki doświadczeń przeprowadzonych przez Gallardo-Moreno et al. [19] wskazują na to, że szczep *Enterococcus faecalis* rosnący w obecności 1/4 MIC ampicyliny utracił zdolności adhezyjne, zarówno do hydrofilnej szklanej powierzchni, jak i silikonu o właściwościach hydrofobowych. W warunkach *in vivo* cecha ta zmniejszyłaby ryzyko zakażenia układu moczowego przez *E. faecalis* u pacjentów zacewnikowanych.

Fonseca et al. [20] wykazali zależność między zmianami morfologicznymi *Pseudomonas aeruginosa* spowodowanymi 1/2 MIC piperacyliny z tazobaktamem a zdolnością przylegania do płytek polistyrenowych. Komórki o wydłużonym kształcie nie przyczepiały się do abiotycznej powierzchni. Była również zahamowana synteza biofilmu, który ogrywa znaczącą rolę w adhezji. Stężenia podprogowe dikloksacyliny powodowały wytwarzanie biofilmu o mniejszej gęstości i biomasie przez szczepy *Staphylococcus epidermidis* i *Staphylococcus haemolyticus*. Również powierzchnia tych bakterii utraciła swoje właściwości hydrofobowe [21].

Wpływ sub-MICs antybiotyków hamujących syntezę białek na zdolności adhezyjne

Aminoglikozydy

Antybiotyki aminoglikozydowe wiążą się trwale z podjednostką mniejszą rybosomu (30S), co prowadzi do zaburzenia odczytu informacji genetycznej i zahamowania syntezy białek bakteryjnych. Antibakteryjne działanie aminoglikozydów obejmuje *Mycobacterium tuberculosis* oraz bakterie Gram-ujemne, z wyjątkiem pałeczek z rodzaju *Haemophilus*. Niektóre leki z tej grupy są aktywne także wobec gronkowców. Niewielka aktywność wobec ziarniaków Gram-dodatnich sprawia, że aminoglikozydy muszą być kojarzone z β -laktamami. Leki te nie wykazują natomiast działania w stosunku do bakterii beztlenowych [9].

W badaniach własnych wykazano, że stężenia

podprogowe (1/2-1/32 MIC) amikacyny zmniejszały liczbę pałeczek *E. coli* o powierzchniach hydrofobowych w porównaniu z zawiesinami niezawierającymi antybiotyku [22]. Zmiany powierzchni komórek *Klebsiella pneumoniae* pod wpływem sub-MICs aminoglikozydów (1/4, 1/8 i 1/16 MIC) odnotowała także Hostacka [23]. Wyniki te są bardzo interesujące, ponieważ stężenia 1/4 i 1/8 MIC amikacyny, netylmocyny i gentamocyny powodowały zmniejszanie się liczby komórek o charakterze hydrofobowym. W obecności natomiast stężenia 1/16 MIC amikacyny i gentamocyny zwiększała się liczba pałeczek *K. pneumoniae* o właściwościach hydrofobowych. Chisari et al. [24] zaobserwowali wzrost adhezyności gronkowców koagulazoujemnych, inkubowanych w obecności 1/2, 1/4 i 1/8 MIC gentamocyny, netylmocyny i tobramocyny, do powierzchni soczewek kontaktowych. Te same natomiast stężenia podprogowe gentamocyny hamowały przyleganie pałeczek *E. coli* do nabłonka pochwowego [25]. Doświadczenia przeprowadzone na uropatogennych szczepach *E. coli* wykazały, że bakterie hodowane w obecności amikacyny utraciły zdolność adhezyjną do nabłonka prześciowego [26].

Tetracykliny

Działanie przeciwbakteryjne tetracyklin polega na blokowaniu małej podjednostki rybosomu 30S, co uniemożliwia wiązanie aminoacylo-tRNA. Charakteryzują się szerokim zakresem działania, obejmującym bakterie Gram-dodatnie, Gram-ujemne oraz drobnoustroje atypowe (*Rickettsia*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*) i krętki. Są stosowane przede wszystkim w nieswoistych zakażeniach dróg oddechowych oraz zapaleniach cewki moczowej [9].

Rachid et al. [27] wykazali, że stężenia podprogowe tetracykliny wzmacniały ekspresję operonu *ica* w komórkach *S. epidermidis*. Operon ten zawiera geny kodujące enzymy, biorące udział w syntezie polisacharydowej adhezyny, która uczestniczy w tworzeniu biofilmu.

Makrolidy

Miejszem docelowego działania makrolidów jest podjednostka 23S rybosomalnego RNA, w wyniku czego dochodzi do blokowania biosyntezy białka. Są to antybiotyki o działaniu bakteriostatycznym, charakteryzujące się bardzo szerokim zakresem przeciwbakteryjnym, aktywne wobec bakterii tlenowych, beztlenowych, atypowych oraz krętków. Wśród tlenowych ziarenkowców Gram-dodatnich, pałeczek Gram-ujemnych oraz beztlenowców, w ostatnich latach pojawiły się szczepy odporne. Makrolidy stosuje się w leczeniu

zakażeń wywołanych przez ziarniaki Gram-dodatnie, zwłaszcza skóry, tkanek miękkich i kości [9].

Badania przeprowadzone przez Lo Bue et al. [28] wykazały, że 75% szczepów *Porphyromonas gingivalis*, które są odpowiedzialne za zapalenie przyzębia, inkubowanych w obecności 1/8 MIC azytromocyny, utraciło zdolność do syntezy fimbrii. Zahamowanie adhezji *in vivo* tych bakterii do nabłonka jamy ustnej uniemożliwiłoby jego kolonizację i rozwój stanu zapalnego. Scaglione et al. [29] wykazali, że adhezja *Bordetella pertussis* do powierzchni ludzkich komórek nabłonkowych jest zdecydowanie zaburzona w obecności klarytromocyny w stężeniu osiąganym *in vivo* w oskrzelach. Stwierdzono, że klarytromocyna zaburza syntezę białek adhezyjnych, a nieprawidłowe adhezyny nie mogą skutecznie związać bakterii z receptorami na powierzchni komórek gospodarza. Ishida et al. [30] wykazali, że adhezja *P. aeruginosa* i *Branhamella catarrhalis* do nabłonka urzęsionego w jamie nosowej jest zdecydowanie ograniczona w obecności stężeń podprogowych erytromocyny. Ekspozycja szczepów *P. aeruginosa* na 1/4 MIC erytromocyny znacząco zmniejszała liczbę fimbrii na jednej komórce bakteryjnej [31]. Carfartan et al. [32] zwrócili uwagę na to, że wyizolowane z płwociny osób chorych na mukowiscydozę szczepy *P. aeruginosa*, inkubowane w obecności azytromocyny w stężeniach poniżej wartości MIC, traciły zdolność przylegania do warstwy śluzu oskrzelowego. Wozniak et al. [33] natomiast zaobserwowali, że komórki *P. aeruginosa* w obecności stężeń podprogowych klatromocyny nie miały fimbrii. Dopiero po 24 godz. inkubacji pałeczek ropy błękitnej autorzy za pomocą mikroskopu konfokalnego stwierdzili zmiany w strukturze biofilmu, co mogło ułatwić cząsteczkom antybiotyku dotarcie do wnętrza bakterii. Także sub-MICs azytromocyny nie hamowały tworzenia biofilmu przez *P. aeruginosa*, zmieniały jedynie jego strukturę. Zmiany w matriks biofilmu mogą ograniczyć rozprzestrzenianie się zakażenia w makroorganizmie [34]. Jednym z produktów bakteryjnych ułatwiających adhezję jest alginian. Substancja ta zwiększa zdolność śluzowych szczepów *P. aeruginosa* do wiązania się z powierzchnią nabłonka oddechowego. Jest to jeden z ważniejszych czynników odpowiadających za wirulencję *P. aeruginosa* u chorych na mukowiscydozę. Stwierdzono, że erytromocyna w dawce 1/4 MIC hamuje wytwarzanie alginianu przez pałeczkę ropy błękitnej [35].

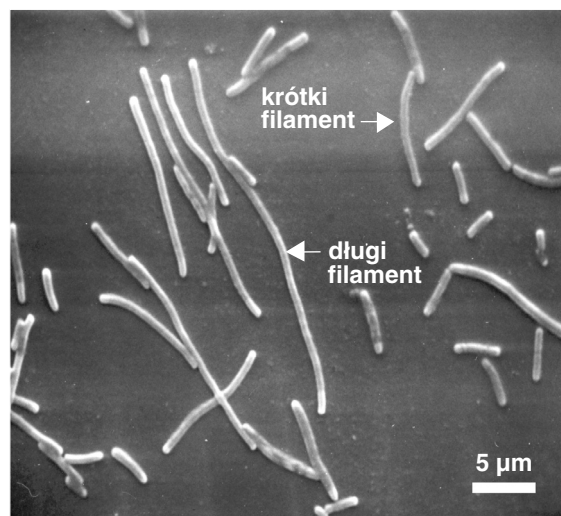
Stężenia podprogowe erytromocyny hamowały adhezję komórek *Streptococcus pneumoniae* do nabłonka. Prawdopodobnie było to spowodowane zmniejszeniem liczby cząsteczek adhezyjnych, które nie wiązały się z receptorami komórek eukariotycznych [36].

Przyleganie pałeczek *Klebsiella pneumoniae* do zarodkowych komórek nabłonkowych jelita cienkiego zostało zahamowane w wyniku działania stężeń 1/2-1/32 MIC roksytromycyny [37].

Wpływ sub-MICs inhibitorów replikacji DNA na zdolności adhezyjne

O skuteczności klinicznej chinolonów decyduje nie tylko ich stężenie w ognisku zakażenia, ale również czas utrzymywania się stężenia hamującego wzrost bakterii. Zalicza się je do grupy inhibitorów bakteryjnej topoiizomerazy II (gyraza DNA) i topoiizomerazy IV. Gyraza jest odpowiedzialna za utrzymanie w cząsteczce DNA ujemnych skrętów helisy, kompensujących skręty dodatnie, powstające w wyniku działania enzymów replikacyjnych. Proces ten jest konieczny do prawidłowego funkcjonowania komórki. Zablockowanie aktywności gyrazy prowadzi do nadmiaru skrętów dodatnich i zahamowania replikacji DNA. Po zakończeniu replikacji topoiizomeraza IV powoduje rozdzielenie siostrzanych nici DNA. Jej zablockowanie przez chinolon uniemożliwia tę separację. Wykazano, że topoiizomeraza II jest głównym miejscem docelowym działania chinolonów u bakterii Gram-ujemnych, topoiizomeraza IV zaś u ziarniaków Gram-dodatnich [9]. Chinolony wykazują aktywność bakterioobójczą wobec pałeczek jelitowych, *H. influenzae* i *Neisseria*, niewielką lub brak aktywności wobec niefermentujących pałeczek Gram-ujemnych, beztlenowców oraz drobnoustrojów Gram-dodatnich. Ważną cechą chinolonów jest ich wnikanie do wnętrza makrofagów i neutrofilów, co ma znaczenie w leczeniu zakażeń wywołanych przez chlamydie, mykoplazmy, *Legionella* czy *Mycobacterium*. Są stosowane przede wszystkim w zakażeniach układu moczowego i w mniejszym stopniu w zakażeniach układu pokarmowego, wywołanych przez pałeczki jelitowe [14].

Braga et al. [38] wykazali korelację między zmianami kształtu komórek *S. aureus* oraz *Moraxella catarrhalis*, powodowanymi przez sub-MICs moksifloksacyny a ich zdolnościami adhezyjnymi. Antybiotyk ten znacząco zmniejszał liczbę bakterii przylegających do nabłonka. W badaniach własnych zaobserwowano także taką zależność [26]. Komórki *E. coli* pod wpływem stężeń podprogowych ciprofloksacyny tworzyły filamenty (ryc. 1) i nie ulegały adhezji do nabłonka przejściowego. Wyniki otrzymane przez Ravizolla et al. [39] wskazują na to, że sub-MICs lomefloksacyny hamowały ekspresję fimbrii u *E. coli* oraz ich zdolności adhezyjne do komórek śródbłonka jedynie w fazie logarytmicznego wzrostu bakterii.



Ryc. 1. Zmiany morfologiczne komórek szczepu *E. coli* w 1/2 MIC ciprofloksacyny

Fig. 1. The morphological changes of *E. coli* cells in 1/2 MIC of ciprofloxacin

Inkubacja bakterii w obecności chinolonów miała wpływ na właściwości hydrofobowe szczepów. W doświadczeniach przeprowadzonych na pałeczkach *E. coli* stwierdzono, że w hodowlach zawierających stężenia podprogowe ciprofloksacyny znacząco zmniejszył się odsetek pałeczek *E. coli* o powierzchniach hydrofobowych [26]. Ekspozycja szczepów *P. aeruginosa* na stężenia podprogowe fluorochinolonów ograniczyła liczbę komórek bakteryjnych o powierzchni hydrofobowej. Najwięcej bakterii o powierzchni hydrofilnej było obecnych w hodowlach zawierających stężenie 1/16 MIC ciprofloksacyny, enoksacyny lub norfloksacyny oraz 1/4 MIC ofloksacyny i pefloksacyny [40]. Majtan i Majtanowa [41, 42] zaobserwowali, że najwięcej komórek szczepów *Salmonella enteritidis* oraz *Enterobacter cloacae* zmieniła swoją powierzchnię na hydrofilną w obecności 1/4 MIC chinolonów.

Braga et al. [43] stwierdzili, że szczepy *E. coli* traciły zdolność do hemaglutynacji po inkubacji w obecności 1/4 i 1/8 MIC rufloksacyny, co bezpośrednio było związane z brakiem fimbrii. Zmniejszała się również liczba pałeczek *E. coli* ulegających adhezji do komórek nabłonkowych. Baskin et al. [44] opisali wpływ sub-MICs trzech leków należących do fluorochinolonów: ciprofloksacyny, ofloksacyny i lewofloksacyny na zdolności hemaglutynacyjne uropatogennych szczepów *E. coli*. Otrzymane wyniki wskazywały, że drobnoustroje poddane działaniu 1/2 MIC wszystkich trzech chinolonów, 1/4 MIC ofloksacyny lub lewofloksacyny, a także 1/8 i 1/16 MIC lewofloksacyny nie zlepiały erytrocytów. Autorzy wykazali zależność między stężeniem leku a jego wpływem na zmniejszenie zdolności przylegania bakterii do

komórek nabłonkowych. Im większe było sub-MIC chinolonów, tym mniej pałeczek *E. coli* ulegało adhezji. Aktywność stężeń podprogowych ciprofloksacyny i lewofloksacyny wobec szczepów *E. coli* badali również Drago et al. [45]. Stężenie 1/4 MIC obu leków powodowało, że 36–43% komórek pałeczek utraciło zdolność przylegania do nabłonka. Sub-MICs gatifloksacyny, zwłaszcza 1/2, 1/4 i 1/8 MIC także ograniczały zdolności hemaglutynacyjne szczepów *E. coli* i *S. aureus* oraz ich adhezję do komórek śródbłonkowych [46].

Yassien et al. [47] badali wpływ wybranych chinolonów na tworzenie biofilmu przez szczepy *S. epidermidis* oraz ich adhezję do plastikowych powierzchni i cewników naczyniowych. Bakterie inkubowane w obecności stężeń podprogowych tworzyły biofilm o mniejszej gęstości, co znacznie ograniczało ich zdolności przylegania.

Podsumowanie

Przyczepność bakterii ma duże znaczenie w patogenezie i przebiegu klinicznym zakażeń. Zdolności adhezyjne bakterii to jeden z najważniejszych czynników wirulencji. Właściwość ta zależy m.in. od obecności fimbrii, które tworzą względnie trwałe, nieodwracalny związek z powierzchniami tkanek gospodarza. Wykazują one znacznie mniejsze siły odpychania w stosunku do komórek nabłonka i ułatwiają drobnoustrojom przyleganie do ujemnie naładowanych powierzchni śródbłonka. Przyczyną ograniczenia adhezji drobnoustrojów do komórek

nabłonkowych pod wpływem sub-MICs stosowanych leków, może być utrata zdolności do syntezy fimbrii, w wyniku czego jest utrudniona kolonizacja tkanek gospodarza.

Wielu autorów zwróciło również uwagę na zależność między właściwościami hydrofobowymi powierzchni bakteryjnych a procesem przylegania zarówno do powierzchni biotycznych, jak i abiotycznych. Zmiana charakteru powierzchni z hydrofobowej na hydrofilną ogranicza lub uniemożliwia zdolności adhezyjne.

Można przypuszczać, że zaobserwowane w warunkach *in vitro* hamowanie zdolności przylegania komórek bakteryjnych potencjalnie może występować również w warunkach *in vivo*. Nie można zatem lekceważyć działania antybiotyków w stężeniach podprogowych, przede wszystkim dlatego, że w terapii wielu zakażeń (ropnie, przewłokle *osteomyelitis*) antybiotyki nie zawsze docierają do miejsca zakażenia w stężeniach hamujących wzrost czy bakteriobójczych dla bakterii. Należy także pamiętać o tym, że podprogowe stężenia leku w ognisku zakażenia sprzyjają selekcji szczepów, które nabyły oporność na antybiotyki stosowany w terapii w wyniku najprostszego procesu genetycznego, jakim jest mutacja. Choć zjawisko to zachodzi rzadko, to jednak duża liczba bakterii w ognisku zakażenia i małe stężenie leku w środowisku są czynnikami sprzyjającymi namnażaniu się powstałych w ten sposób szczepów opornych. Im czas utrzymywania się antybiotyku w stężeniu subinhibicyjnym jest dłuższy, tym ryzyko selekcji szczepu opornego jest większe.

Piśmiennictwo

- [1] Wilson JW, Schurr MJ, LeBlanc CL, Ramamurthy R, Buchanan KL, Nickerson CA: Mechanisms of bacterial pathogenicity. *Postgrad Med J* 2002, 78, 216–224.
- [2] Kraśnicki K, Gospodarek E: Adhezja pałeczek *Acinetobacter spp.* do paraksylenu. *Med Dośw Mikrobiol* 2004, 56, 179–185.
- [3] Przondo-Mordarska A: Właściwości adhezyjne bakterii podstawą zasiedlania i zakażeń organizmu ludzkiego. *Post Mikrobiol* 2004, 43, Supl.1, 116.
- [4] Czarczyk K: Czynniki warunkujące adhezję drobnoustrojów do powierzchni abiotycznych. *Post Mikrobiol* 2004, 43, 267–283.
- [5] Wolska K, Jakubczak A: Wykrywanie biofilmu *Pseudomonas aeruginosa* na biomateriałach medycznych. *Med Dośw Mikrobiol* 2003, 55, 371–378.
- [6] Fux CA, Stoodley P, Hall-Stoodley L, Costerton JW: Bacterial biofilms: a diagnostic and therapeutic challenge. *Expert Rev Anti-infect Ther* 2003, 1, 667–683.
- [7] Dunne WM: Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? *Clin Microbiol Rev* 2002, 15, 155–166.
- [8] Braga PC, Dal Sasso M, Sala MT: Sub-MIC concentrations of cefodizime interfere with various factors affecting bacterial virulence. *J Antimicrob Chemother* 2000, 45, 15–25.
- [9] Dzierżanowska D.: Antybiotyko-terapia praktyczna. α medica Press, Bielsko-Biała 2000.
- [10] Leone M, Sampol-Manos E, Santelli D, Grabowski S, Alliez B, Durand A, Lacarelle B, Claude M: Brain tissue penetration of ciprofloxacin following a single intravenous dose *J Antimicrob Chemother* 2002, 50, 607–609.
- [11] Eick S, Schmitt A, Sachse S, Schmidt KH, Pfister W: *In vitro* antibacterial activity of fluoroquinolones against *Porphyromonas gingivalis* strains. *J Antimicrob Chemother* 2004, 54, 553–556.
- [12] Henderson-Begg SK, Livermore DM, Hall LMC: Effect of subinhibitory concentrations of antibiotics on mutation frequency in *Streptococcus pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother* 2006, 57, 849–854.
- [13] Gillespie SH, Basu S, Dickens AL, O'Sullivan DM, McHugh TD: Effect of subinhibitory concentrations of ciprofloxacin on *Mycobacterium fortuitum* mutation rates. *J Antimicrob Chemother* 2005, 56, 344–348.

- [14] Mosiewicz J, Tutka P: Główne zasady antybiotykoterapii zakażeń układu oddechowego. *Terapia* 2005, 1, 54–56.
- [15] Vranes J: Effect of subinhibitory concentrations of ceftazidime, ciprofloxacin and azithromycin on the hemagglutination and adherence of uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Chemotherapy* 1996, 42, 177–185.
- [16] Braga PC, Dal Sasso M, Sala MT: Sub-MIC concentrations of cefodizime interfere with various factors affecting bacterial virulence. *Antimicrob Chemother* 2000, 45, 15–25.
- [17] Hostacka A: Alterations in surface hydrophobicity of *Acinetobacter baumannii* induced by meropenem. *Folia Microbiol* 1999, 44, 267–270.
- [18] Zwierzchlewski T, Gospodarek E: Wpływ sub-MIC imipenemu i netilmycyny na właściwości hydrofobowe pałeczek *Acinetobacter* spp. *Post Mikrobiol* 2004, 42, 171.
- [19] Gallardo-Moreno AM, Van der Mei HC, Busscher HJ, Gonzalez-Martin ML, Bruque JM, Perez-Giraldo C: Adhesion of *Enterococcus faecalis* 1131 grown under subinhibitory concentrations of ampicillin and vancomycin to a hydrophilic and a hydrophobic substratum. *FEMS Microbiol Lett* 2001, 203, 75–79.
- [20] Fonseca AP, Extremina C, Fonseca AF, Sousa JC: Effect of subinhibitory concentration of piperacillin/tazobactam on *Pseudomonas aeruginosa*. *J Med Microbiol* 2004, 53, 903–910.
- [21] Cerca N, Martins S, Sillankorva S, Jefferson KK, Pier GB, Oliveira R, Azeredo J: Effects of growth in the presence of subinhibitory concentrations of dicloxacillin on *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus haemolyticus* biofilms. *Appl Environ Microbiol* 2005, 71, 8677–8682.
- [22] Wojnicz D, Cisowska A, Jankowski S, Doroszkiewicz W: Wpływ stężeń podprogowych amikacyny na hydrofobowość powierzchni pałeczek *Escherichia coli* izolowanych od dzieci z zakażeniami układu moczowego. *Pol Merk Lek* 2002, 12, 387–390.
- [23] Hostacka A: Changes in serum sensitivity and hydrophobicity in a clinical isolate of *Klebsiella pneumoniae* treated with subinhibitory concentrations of aminoglycosides. *Zbl Bakt* 1998, 288, 519–526.
- [24] Chisari G, Accossano S, Reibaldi M: Effect of aminoglycosides (sub-MICs) on adherence of coagulase-negative *Staphylococci* to intraocular lens surface. *J Chemother* 2002, 14, 574–578.
- [25] Vidya KC, Mallya PS, Rao PS: Inhibition of bacterial adhesion by subinhibitory concentrations of antibiotics. *Indian J Med Microbiol* 2005, 23, 102–105.
- [26] Wojnicz D: Wpływ stężeń podprogowych amikacyny i ciprofloksacyny na właściwości pałeczek *Escherichia coli* izolowanych z moczu dzieci z zakażeniami układu moczowego. Praca doktorska, Akademia Medyczna, Wrocław, 2005.
- [27] Rachid S, Ohlsen K, Witte W, Hacker J, Ziebuhr W: Effect of subinhibitory antibiotic concentrations on polysaccharide intercellular adhesin expression in biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrobial Agents Chemother* 2000, 44, 3357–3363.
- [28] Lo Bue AM, Rossetti B, Cali G, Nicoletti G, Condorelli F: Antimicrobial interference of a subinhibitory concentration of azithromycin on fimbrial production of *Porphyromonas gingivalis*. *J Antimicrob Chemther* 1997, 40, 653–657.
- [29] Scaglione F, Demartini S, Ferrara F, Maccarinelli G, Cocuzza C, Frascini F: Effect of antibiotics on *Bordetella pertussis* adhering activity: hypothesis regarding mechanism of action. *Chemotherapy* 1994, 40, 215–220.
- [30] Ishida LK, Ikeda K, Tanno N, Takasaka T, Nishioka K, Tanno Y: Erythromycin inhibits adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* and *Branhamella catarrhalis* to human nasal epithelial cells. *Am J Rhinol* 1995, 9, 53–55.
- [31] Yamasaki T, Ichimiya T, Hirai K, Hiramatsu K, Nasu M: Effect of antimicrobial agents on the piliation of *Pseudomonas aeruginosa* and adherence to mouse tracheal epithelium. *J Chemother* 1997, 9, 32–37.
- [32] Carfartan G, Gerardin P, Turck D, Husson MO: Effect of subinhibitory concentrations of azithromycin on adherence of *Pseudomonas aeruginosa* to bronchial mucins collected from cystic fibrosis patients. *J Antimicrob Chemother* 2004, 53, 686–688.
- [33] Wozniak DJ, Keyser R: Effects of subinhibitory concentrations of macrolide antibiotics on *Pseudomonas aeruginosa*. *Chest* 2004, 125, 62–69.
- [34] Gillis RJ, Iglewski BH: Azithromycin retards *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation. *J Clin Microbiol* 2004, 42, 5842–5845.
- [35] Majtan V, Hybenova D: Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* alginate expression by subinhibitory concentrations of antibiotics. *Folia Microbiol* 1996, 41, 61–64.
- [36] Lagrou K, Peetermans WE, Jorissen M, Verhaegen J, Van Damme J, Van Eldere J: Subinhibitory concentrations of erythromycin reduce pneumococcal adherence to respiratory epithelial cells *in vitro*. *J Antimicrob Chemother* 2000, 46, 717–723.
- [37] Favre-Bonté S, Forestier C, Joly B: Inhibitory effect of roxithromycin on adhesion of *Klebsiella pneumoniae* strains 3051, CF504 and LM21. *J Antimicrob Chemother* 1998, 41, Suppl B, 51–55.
- [38] Braga PC, Culici M, Ricci D, Dal Sasso M: Morphostructural damage and the inhibition of bacterial adhesiveness of *Staphylococcus aureus* and *Moraxella catarrhalis* induced by moxifloxacin. *J Chemother* 2003, 15, 543–550.
- [39] Ravizzola G, Longo M, Pollara P, De Francesco M, Pizzi R: Effect of subinhibitory concentrations of lomefloxacin on bacterial adherence. *Microbiologica* 1994, 17, 211–216.
- [40] Majtan V, Majtanova L: The effect of subinhibitory concentrations of quinolones on cell surface hydrophobicity of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biologia* 1998, 53, 713–717.
- [41] Majtan V, Majtanova L: Influence of subinhibitory concentrations of antibiotics on surface hydrophobicity of *Salmonella enteritidis*. *Arzneim Forsch/Drug Res* 1998, 48, 697–700.
- [42] Majtan V, Majtanova L: *In vitro* activity of subinhibitory concentrations of quinolones on the surface hydrophobicity of *Enterobacter cloacae*. *Microbios* 1998, 95, 117–123.

- [43] **Braga PC, Sala MT, Dal Sasso M:** Pharmacodynamic effects of subinhibitory concentrations of rifloxacin on bacterial virulence factors. *Antimicrob Agents Chemother* 1999, 43, 1013–1019.
- [44] **Baskin H, Dogan Y, Bahar IH, Yulug N:** Effect of subminimal inhibitory concentrations of three fluoroquinolones on adherence of uropathogenic strains of *Escherichia coli*. *Int J Antimicrob Agents* 2002, 19, 79–82.
- [45] **Drago L, De Vecchi E, Mombelli B, Nicola L, Valli M, Gismondo MR:** Activity of levofloxacin and ciprofloxacin against urinary pathogens. *J Antimicrob Chemother* 2001, 48, 37–45.
- [46] **Dal Sasso M, Bovio C, Culici M, Braga PC:** Interference of sub-inhibitory concentrations of gatifloxacin on various determinants of bacterial virulence. *J Chemother* 2002, 14, 473–482.
- [47] **Yassien M, Khardori N:** Interaction between biofilms formed by *Staphylococcus epidermidis* and quinolones. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001, 40, 79–89.

Adres do korespondencji:

Dorota Wojnicz
Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej AM
ul. Mikulicza-Radeckiego 9
50-367 Wrocław
tel.: +48 071 784 15 12
e-mail: wojnicz@biolog.am.wroc.pl

Conflict of interest: None declared

Praca wpłynęła do Redakcji: 25.07.2006 r.

Po recenzji: 10.08.2006 r.

Zaakceptowano do druku: 29.08.2006 r.

Received: 25.07.2006

Revised: 10.08.2006

Accepted: 29.08.2006