

Biofilm i infekcije mokraćnog sustava

Zahirović, David

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:913502>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-03**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI
SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

David Zahirović

BIOFILM I INFEKCIJE MOKRAĆNOG SUSTAVA

Diplomski rad

Rijeka, 2021.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI
SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

David Zahirović

BIOFILM I INFEKCIJE MOKRAĆNOG SUSTAVA

Diplomski rad

Rijeka, 2021.

Mentor rada: izv.prof.dr.sc. Josip Španjol, dr. med.

Diplomski rad ocjenjen je dana _____ u/na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci,

pred povjerenstvom u sastavu:

1. izv. prof. dr. sc. Romano Oguić

2. izv. prof. dr. sc. Dean Markić

3. izv.prof. dr. sc. Alen Protić

Rad sadrži 26 stranica, 1 sliku i 72 literaturna navoda.

Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Cilj rada.....	1
3. Nastanak biofilma	2
4. Mikrobiološki sastav biofilma i njegove epidemiološke karakteristike.....	3
5. Biofilm i infekcije mokraćnog sustava.....	4
5.1. Biofilm i urinarni kateteri	4
5.2. Biofilm i opstrukcija lumena katetera	4
5.3. Biofilm i ureteralni stentovi.....	4
5.4. Biofilm i penilni implantati	5
5.5. Biofilm i artifičijelni urinarni sfinkteri (AUS)	5
5.6. Biofilm i mokraćni kamenci	5
5.7. Biofilm i kronični prostatitis.....	6
5.8. Biofilm i pijelonefritis	6
5.9. Biofilm i rekurentni cistitis.....	6
6. Infekcije uzrokovane biofilmom u uroginekologiji.....	7
6.1. Biofilm i bakterijska vaginoza.....	7
7. Dijagnoza infekcija mokraćnog sustava uzrokovanih biofilmom.....	8
8. Novi pristup liječenju i prevenciji infekcija mokraćnog sustava uzrokovanih biofilmom....	9
8.1. Prevencija nastanka biofilma na urinarnim kateterima	9
9. Antimikrobna rezistencija biofilma	13
10. Antimikrobno liječenje biofilma	13
11. Rasprava	14
12. Zaključci	16
13. Sažetak.....	17
14. Summary.....	18

15. Literatura	19
16. Životopis.....	26

Popis skraćenica i akronima

IBC - intracelularna bakterijska zajednica (*engl. intracellular bacterial community*)

GMP - gvanozin monofosfat (*engl. guanosine monophosphate*)

AUS - artifičijelni urinarni sfinkter (*engl. artificial urinary sphincter*)

PCR - polimerizirana lančana reakcija (*engl. polymerase chain reaction*)

FISH - fluorescentna in situ hibridizacija (*engl. fluorescence in situ hybridization*)

CAUTI - kateter povezane infekcije mokraćnog sustava (*engl. catheter associated urinary tract infections*)

EPS - izvanstanični matriks (*engl. extracellular polymeric substances*)

HSL - homoserin lakton

1. Uvod

Biofilm se definira kao nakupina mikroorganizama i njihovih izvanstaničnih produkata koji zajedno tvore funkcionalnu zajednicu priljubljenu za određenu površinu (1). Biofilm može nastati na urotelu ili na prostatolitima, međutim, njegov nastanak i potencijalno izazivanje mokraćne infekcije se češće povezuje s medicinskim implantatima kao što su uretralni kateteri, perkutane nefrostome, penilni implantati, testikularni implantati i artifičijelni sfinkteri (2). Uroinfekcije uzrokovane biofilmom predstavljaju izniman izazov u provođenju antimikrobne terapije budući da često pokazuju rezistenciju prema velikom broju antimikrobnih lijekova (3).

Mokraćna infekcija je infekcija bilo kojeg dijela mokraćnog sustava. Definira se kao bakteriurija ($>10^5$ CFU/kod odraslih, $>10^4$ CFU/kod djece) udružena sa specifičnim urološkim simptomima i znakovima (6). Razlikujemo infekcije gornjeg dijela (pijelonefritis, ureteritis) i donjeg dijela mokraćnog sustava (cistitis, uretritis). Osim što se klasificiraju po laboratorijskim parametrima i mikrobiološkom nalazu, važno ih je razlikovati i s obzirom na kliničku prezentaciju, prognozu i odgovor na liječenje pa se tako dijele na akutni nekomplikirani cistitis kod mladih žena, rekurentni cistitis kod mladih žena, akutni nekomplikirani pijelonefritis kod mladih žena, komplicirana mokraćna infekcija, mokraćna infekcija povezana s prisutnošću katetera, mokraćne infekcije kod muškaraca i asimptomatska bakteriurija (4). O važnosti mokraćnih infekcija govori i podatak da više od 40% žena na globalnoj razini tijekom života ima barem jednu epizodu infekcije mokraćnog sustava (5).

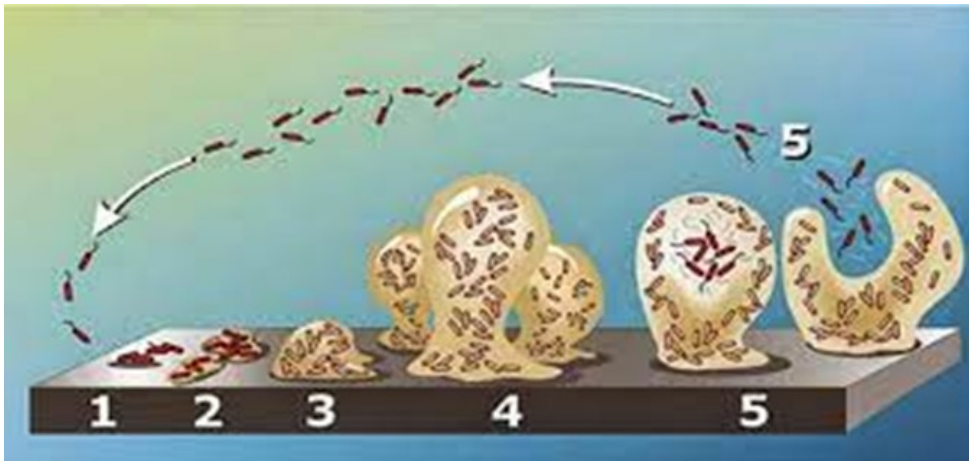
2. Cilj rada

Cilj rada je opisati etiologiju, epidemiologiju i patofiziologiju mokraćnih infekcija uzrokovanih biofilmom te njihovu kliničku prezentaciju, postavljanje dijagnoze i izazove u njihovoj prevenciji i liječenju s naglaskom na ulogu implantata, odnosno stranih tijela, u navedenim infekcijama.

3. Nastanak biofilma

Nastanak biofilma je složeni proces koji započinje prijanjanjem bakterije za površinu ili već stvorenu nakupinu bakterija. U tom procesu ključna je uloga adhezijskih molekula koje sintetizira sama bakterija. Tako nakupljene bakterije luče egzopolisaharide koji im osiguravaju nastanak funkcionalnog miljea. Također, može doći i do odvajanja pojedinih bakterija od nastalog biofilma pomoću polisaharidne liaze. Mikroorganizmi unutar biofilma međusobno komuniciraju („quorum sensing“), odnosno izmjenjuju svoje produkte te na taj način povećavaju svoju virulentnost i otpornost prema štetnim agensima. Mikroorganizmi u biofilmu imaju znatno manje metaboličke potrebe (7).

Biofilm nastaje kroz nekoliko definiranih koraka što prikazuje slika 1 (8). Prvo, dolazi do reverzibilnog prijanjanja planktonske (slobodne) bakterije na površinu. Osim prethodno spomenutih adhezijskih molekula, bitnu ulogu u ovome procesu imaju i pH ciljne površine, temperatura ciljne površine, bakterijske organele kao što je flagela te svojstvo kemotaksije bakterija (9). Sljedeći korak je ireverzibilno prijanjanje na površinu. Ključnu ulogu u tome koraku imaju specifični bakterijski proteini kao što su antigen 43 *E. coli* ili ABC protein *P. fluorescens* (10). U trećem koraku mikroorganizmi počinju lučiti egzopolisaharide koji tvore EPS (EPS može biti građen od celuloze, poliglukozamina, kapsularnih polisaharida, lipida te glikolipida) (11,12,13). U četvrtom koraku EPS je umnožen te dolazi do sazrijevanja samog biofilma (14). Peti korak obuhvaća potencijalno odvajanje mikroorganizama iz biofilma pomoću liaza. Smatra se da razina c-di-GMP regulira odvajanje ili ostanak bakterije. Točnije visoka razina c-di-GMP potiče sesilno ponašanje, dok niska razina dovodi do odvajanja (15). Nakon toga, odvojeni (slobodni) mogu započeti novi ciklus nastajanja biofilma na novom ciljnom mjestu.



Slika 1. Nastanak biofilma

(preuzeto iz: Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW. Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol.* 2002;56:187-209.)

4. Mikrobiološki sastav biofilma i njegove epidemiološke karakteristike

Oko 150 000 000 ljudi diljem svijeta godišnje oboli od infekcije mokraćnog sustava (16). Nekomplicirane infekcije mokraćnog sustava, cistitis i pijelonefritis, češće se javljaju kod žena te kod pacijenata s određenim faktorima rizika kao što su dijabetes, pretilost, spolna aktivnost, vaginalne infekcije i već preboljene, odnosno ponavljajuće, epizode uroinfekcije (17). Komplicirane uroinfekcije javljaju se kod pacijenata sa sljedećim stanjima: prisutnost katetera, urinarna opstrukcija, neurogeni mjehur, imunosupresija, transplantirani bubreg, strana tijela i organske anomalije (18). Mikroorganizmi koji najčešće čine biofilm su bakterije i određene vrste gljiva kao je *Candida spp.* Kod nekompliciranih uroinfekcija najčešći uzročnici su *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus faecalis*, group B *Streptococcus* (GBS), *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Candida spp* (17). Kod kompliciranih uroinfekcija najčešći uzročnici su *Enterococcus spp.*, *K. pneumoniae*, *Candida spp.*, *S. aureus*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* (19).

5. Biofilm i infekcije mokraćnog sustava

Smatra se kako je biofilm globalno odgovoran za više od 80% svih infekcija (20). Sukladno s time, infekcije biofilmom predstavljaju značajan problem i na području urologije. Biofilm može nastati na urotelu, prostatolitima i implantiranim stranim tijelima kao što je urinarni kateter (2).

5.1. Biofilm i urinarni kateteri

Nastanak bakteriurije i biofilma kod kateteriziranih pacijenata je vrlo čest. Biofilm može nastati na vanjskoj i unutarnjoj površini katetera (ekstraluminalno i intraluminalno). Adhezija bakterija ovisi o njihovoj hidrofobnosti i vrsti materijala izrade katetera. Ekstraluminalni biofilm može nastati na dva specifična načina. Prvi način obuhvaća kontaminaciju prilikom samog postavljanja katetera, a drugi naknadnu ascenziju bakterija na vanjski lumen kada je pacijent već kateteriziran. Bakterije koje stvaraju ekstraluminalni biofilm su endogene, tj. potječu iz gastrointestinalnog sustava. Intraluminalni biofilmovi nastaju od bakterije egzogenog podrijetla i najčešće nastaju zbog nepoštivanja aseptičnog načina rad od strane medicinskog osoblja (21).

5.2. Biofilm i opstrukcija lumena katetera

Kada biofilm čine bakterije koje luče ureazu, kao što je *Proteus mirabilis*, dolazi do nastanka amonijaka iz uree i posljedične alkalizacije urina. U takvom alkalnom miljeu nastaju kristali kalcijeveog i magnezijeveog fosfata i dolazi do inkrustracije. Nastali kristali ulažu se u matriks biofilma i dovode do opstrukcije lumena urinarnog katetera (22).

5.3. Biofilm i ureteralni stentovi

Smatra se da nakon postavljanja „double J“ stenta na više od 90% njih formira se biofilm. Međutim, samo oko 30% istih se klinički prezentira s kliničkim simptomima i znakovima (23). Također smatra se da će samo 30% formiranih biofilmova izazvati bakteriuriju što predstavlja izniman problem i

izazov u postavljanju dijagnoze (24).

5.4. Biofilm i penilni implantati

Biofilm je najčešći uzročnik subkliničke infekcije i posljedične kronične zdjelične boli kod pacijenata sa penilnim implantatima, a najčešći uzročnik takvih infekcija je *S. epidermidis*. Infekcija sa *S. epidermidis* može biti asimptomatska duži vremenski period. Suprotno tome, infekcije uzrokovane gram negativnim bakterijama (*Pseudomonas aeruginosa*, *E.coli* i *Proteus mirabilis*) daju simptome ubrzo nakon nastanka, odnosno ako su nastale prilikom samog postavljanja penilnog implantata, postat će simptomatske ubrzo nakon tog postupka. Kako bi se spriječio nastanak navedenih infekcija, implantati se impregniraju s antibiotskim i hidrofiličnim sredstvima. Ako ipak dođe do razvoja simptomatske infekcije, indicirana je uporaba antibiotika iz beta laktamske skupine. Ukoliko antibiotsko liječenje ne daje zadovoljavajuće rezultate, indicirana je zamjena penilnog implantata (25).

5.5. Biofilm i artifičijelni urinarni sfinkteri (AUS)

Razvoju biofilmske infekcije kod pacijenata s AUS-om pridonose rizični faktori kao što su bakteriurija, prolongirana urinarna retencija i uvećani mokraćni mjehur zbog prisustva rezidualnog urina. Ukoliko dođe do razvoja aktivne infekcije indicirano je kirurški implantirati novi AUS kao i provesti antibiotsko liječenje (26).

5.6. Biofilm i mokraćni kamenci

Patogeneza nastanka mokraćnih kamenaca opisana je u odjeljku 5.2. Nastanak formacije građene od struvitnih ili kalcijevih kamenaca osigurava povoljne uvjete za nastanak biofilma i prolongirane infekcije. Liječenje navedenog stanja sastoji se od uklanjanja kamenca i adekvatne antibiotske terapije (27).

5.7. Biofilm i kronični prostatitis

Kronični prostatitis je kronična upala prostate. Etiološki, kronični prostatitisi se dijele na infektivne (u pravilu bakterijske) i neinfektivne koji su uzrokovani udruživanjem neinfektivnih upalnih čimbenika i spazma okolnih mišića zdjelice. Simptomi su najčešće bol u međici i smetnje pri mokrenju (28). Slobodne bakterije također uzrokuju kronični prostatitis koji je lakše dijagnosticirati. Uzročnik je prisutan u uzorku urina ili sekretu prostate te ima povoljniji terapijski odgovor. Ukoliko je došlo do formiranja biofilma, uzročnik često neće biti prisutan u prethodno navedenim uzorcima, a odgovor na antibiotsku terapiju će biti lošiji iz razloga što bakterije u biofilmu imaju različitu molekularnu ekspresiju i metabolizam od slobodnih. Također, sam EPS biofilma predstavlja mehaničku barijeru za prodor antibiotika (29). Indicirano je antibiotsko liječenje s većim dozama antibiotika širokog spektra, međutim, samo liječenje i danas predstavlja poseban izazov u urologiji (30).

5.8. Biofilm i pijelonefritis

Bakterije nakon ascenzije ili vezikoureteralnog refluksa dolaze do bubrežnog tkiva i ondje mogu formirati biofilm. Najveću sposobnost formiranja biofilma u bubrežnom tkivu posjeduju *P.aeruginosa* i *E.coli* (31). Karakteristika biofilma koji uzrokuju pijelonefritis je tanji sloj EPS te za razliku od biofilma formiranog na stentu ili kateteru, ima bolji odgovor na antibiotsku terapiju (32).

5.9. Biofilm i rekurentni cistitis

Uropatogena *E.coli* je najčešći uzročnik rekurentnog cistitisa kod žena. U samoj kolonizaciji i potonjoj invaziji prijelaznog epitela mokraćnog mjehura najvažniju ulogu imaju adhezini FimH koji se nalaze na tip 1 pilima *E.coli*. *E.coli* se u mokraćnom mjehuru ubrzano razmnožava i formira klastere koji se potom organiziraju i stvaraju biofilm. Posebnost navedenih biofilmova je njihov visok stupanj organiziranost i intracelularni smještaj. Sukladno s time, nazivaju se intracelularne bakterijske

zajednice (IBC). *E.coli* također ima sposobnost odvajanja iz takve zajednice i formiranja nove. Zbog ovih mehanizama IBC pokazuje izniman stupanj antibiotske rezistencije. Važno je napomenuti kako bakterije koje se nalaze u navedenim intracelularnim zajednicama ne moraju biti prisutne u urinu što dodatno otežava postavljanje dijagnoze (33).

6. Infekcije uzrokovane biofilmom u uroginekologiji

6.1. Biofilm i bakterijska vaginoza

Bakterijska vaginoza je najčešći vaginalni poremećaj kod odraslih žena (34). Iako bakterijska vaginoza sama po sebi nije fatalna, pospješuje nastanak drugih bolesti kao što su spolno prenosive bolesti. Amselovi kriteriji za postavljanje dijagnoze bakterijske vaginoze obuhvaćaju: vaginalni pH iznad 4.5, miris po ribi, prisutnost tzv. „clue“ stanica u vaginalnom iscjetku te bijeli vaginalni iscjedak (35). U normalnoj ženskoj vaginalnoj flori dominiraju *Lactobacillus crispatus* i *Lactobacillus jensenii*. Kada dođe do promjene u flori, manjka laktobacila i dominacija bakterija kao što je *Gardnerella vaginalis*, dolazi do razvoja bakterijske vaginoze. *Gardnerella vaginalis* može formirati biofilm u kojem se osim nje same mogu nalaziti i *Streptococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Escherichia coli* i *Proteus spp.* (33). Neka istraživanja pokazuju kako je upravo biofilm odgovoran za relaps bakterijske vaginoze nakon terapije metronidazolom (36). Također, dokazano je kako prisutnost nekih drugih mikroorganizama, kao što su *L. reuteri* ili *L. iners*, dovodi do disrupcije biofilma i boljeg odgovora na terapiju (37).

7. Dijagnoza infekcija mokraćnog sustava uzrokovanih biofilmom

Specifičnost infekcija uzrokovanih biofilmom je što se vrlo rijetko prezentiraju kao akutne infekcije sa specifičnom kliničkom slikom, već je češće riječ o asimptomatskim ili infekcijama s oskudno izraženim simptomima. Uzorci za mikrobiološku dijagnostiku su pozitivni u manje od trećine slučajeva te je dodatno zahtjevno razlučiti radi li se o infekciji ili samo o kolonizaciji (38). Dijagnostički kriteriji za dokaz biofilmske infekcije nazivaju se Parsek-Singhovi kriteriji i imaju 6 kategorija: bakterije vezane za površinu (epitel ili umjetne površine implantata), izravan dokaz nakupine stanica uloženi u matriks u inficiranom tkivu, infekcija na određenom organskom sustavu, rezistencija na antibiotsku terapiju unatoč dokazu infekcije s PCR ili FISH tehnikom, negativna kultura unatoč jasnoj kliničkoj slici infekcije, neučinkovitost obrane domaćina unatoč imunološkoj upalnoj reakciji (39).

Za postavljanje dijagnoze simptomatske infekcije, kriteriji su sljedeći: bolesnik s urinarnim kateterom i najmanje jednim od znakova i simptoma bez drugog prepoznatljivog uzroka (vrućica veća od 38 °C, suprapubična bolnost ili bolnost lumbalne lože i pozitivna kultura urina s $\geq 10^5$ CFU/ml s ne više od 2 vrste mikroorganizama), bolesnik s urinarnim kateterom i najmanje jednim od znakova i simptoma bez drugog prepoznatljivog uzroka (vrućica veća od 38 °C, suprapubična bolnost ili bolnost lumbalne lože i pozitivna kultura urina s dokazom najmanje jednog od ovih nalaza: pozitivna leukocitna esteraza i/ili nitritni test trakom, piurija (uzorak urina s ≥ 10 leukocita/mm³ ili ≥ 3 leukocita u vidnom polju nativnog urina, mikroorganizmi u bojenju nativnog urina po Gramu i jedna pozitivna kultura urina s $\geq 10^3$ i $< 10^5$ CFU/ml s ne više od 2 vrste mikroorganizama= (38) (40).

PCR je laboratorijska tehnika u kojoj se određeni slijed gena može umnožiti veliki broj puta kako bi se taj slijed mogao proučiti, odnosno kako bi se dokazala specifičnost genetskog slijeda (41).

FISH je laboratorijska tehnika u kojoj se fluorescentne probe vežu samo za one gene koji ima visoki stupanj komplementarnosti prema toj istoj probi (42).

Cilj ovih kriterija je lakša i sigurnija dijagnoza te diferenciranje dijagnoze biofilmom uzrokovane infekcije i infekcije uzrokovane slobodnim bakterijama. Ponekad je za uspješnu dijagnozu potrebno

koristiti i invazivne postupke kao što je biopsija. Treba napomenuti da ako se biofilm formirao na samom stranom tijelu, odnosno implantatu, često je dijagnozu moguće postaviti tek kada se implantat odstrani iz organizma (39).

8. Novi pristup liječenju i prevenciji infekcija mokraćnog sustava uzrokovanih biofilmom

8.1. Prevencija nastanka biofilma na urinarnim kateterima

Ispravno pristupanje dijagnostičkim i terapijskim (poštivanje mjera asepsa) urološkim postupcima preventivno će djelovati na nastanak biofilma u mokraćnom sustavu. Urološki kateteri se tvornički oblažu kemijskim tvarima kao što su hidrogel, soli srebra i antibiotici (43). Međutim, neka istraživanja pokazuju da je učinak hidrogela upitan. Štoviše, određena istraživanja pokazuju kako hidrogel, ako se koristi izolirano, potiče još radikalniji nastanak biofilma. Iz toga razloga samome hidrogelu se dodaju bakteriostatske tvari pomoću kojih dolazi do prevencije nastanka biofilma (44). Kombinacija soli srebra i hidrogela reduciraju nastanak infekcija mokraćnog sustava kod kateteriziranih pacijenata (CAUTI) za 45% (45). Antibiotici kao što su minociklin ili rifampicin inhibiraju nastanak biofilma međutim njihova široka uporaba povezuje se s nastankom antimikrobne rezistencije (43).

8.2. Prevencija nastanka biofilma pomoću nanočestica

Nanočestica je definirana kao mikroskopska čestica manja od 100 nm. Nanočestice su danas predmet brojnih istraživanja jer pokazuju potencijalnu korist na područjima raznih grana znanosti pa tako i biomedicine. Mogu se vezati na membrane bakterijskih stanica ili čak penetrirati u njih i interferirati s bakterijskim nukleinskim kiselinama (46).

Nanočestice magnezijevog fluorida inhibitorno djeluju na nastanak biofilma formiranog od *E.coli* i *S. aureus* na površini urinarnog katetera. Sličan učinak ima itrijev fluorid kao i soli srebra (43).

8.3. Iontoforeza

Iontoforeza je uvođenje ljekovitih tvari u tijelo kroz kožu s pomoću galvanske struje. Pod utjecajem elektromagnetskoga polja lijek putuje od jedne elektrode prema suprotnoj i djeluje u koži, a nakon apsorpcije i na susjedna tkiva. In vitro istraživanja pokazuju da aplikacija tobramicina pomoću galvanske struje povećava njegov baktericidni učinak na biofilm građen od *P. aeruginosa*. Također se smatra kako iontoforeza otežava nastanak inkrustracije na urinarnim kateterima (43).

8.4. Enzimski inhibitori i njihovo preventivno djelovanje na nastanak biofilma i inkrustracije

Kristali kalcijevog i magnezijevog fosfata ulažu se u matriks biofilma i dovode do opstrukcije lumena urinarnog katetera (22). Određene tvari kao što su vanilična kiselina koja je sastavni dio zelenog čaja, vina i octa (47), sok od šljive (48) inhibitorno djeluju na enzim ureazu i na proces inkrustracije.

Utvrđeno je kako drugi glasnik ciklički GMP vrlo važan u procesu nastanka biofilma. Za nastanak cikličkog GMP ključno je djelovanje enzima digvanilat ciklaze (DGC). Molekule pod nazivom LP 3134, LP 3145, LP 4010 i LP 1062 inhibitorno djeluju na DGC i onemogućuju nastanak biofilma građenog od *P. mirabilis* i *A. baumannii* (49).

8.5. Liposomi

Liposomi su umjetno proizvedene vezikularne strukture građene of fosfolipida. Predmet su istraživanja farmakologije budući da mogu transportirati lijekove kroz ljudski organizam te ujedno poboljšati bioraspoloživost lijeka te ujedno spriječiti toksično djelovanje samog lijeka (50). Sukladno tome, lijekovi inkapsulirani u liposomu se mogu koristiti u liječenju infekcija uzrokovanih biofilmom budući da na taj način lijek (antibiotik) štiti od djelovanja EPS-a, odnosno od djelovanja enzima koji se nalaze u njemu (npr. beta laktamaza) (43). Istraživanja pokazuju kako antibiotik tobramicin i bizmut inkapsulirani u liposomu značajno uspješnije djeluju protiv biofilma građenog od *P. aeruginosa*. Suprotno tome kada se klaritromicin aplicirao na taj način pokazao je manju djelotvornost nego slobodan lijek (51).

8.6. Bakterijski antagonizam

Ova metoda je bazirana na teoriji da kolonizacija površine i formiranje biofilma jednom nepatogenom bakterijom onemogućuje isti proces uzrokovan patogenom bakterijom (52). Istraživanje je provedeno kod pacijenata s ozljedom leđne moždine koji su kontinuirano kateterizirani. Kateteri su se oblagali nepatogenim sojevima *E.coli* (*E.coli* 83972) te je kod pacijenata tijekom kateteriziranosti navedenim kateterom uočena smanjena incidencija simptomatskih infekcija mokraćnog sustava. Također, došlo je i do perzistentne kolonizacije navedenim sojem te se kod navedenih pacijenata u značajnom postotku smanjila incidencija infekcija mokraćnih puteva u godini dana praćenja nakon same kolonizacije(53, 54).

8.7. Bakteriofag

Bakteriofagi su virusi koji mogu inficirati bakteriju, narušiti njenu homeostazu i metabolizam te svojom replikacijom dovesti do lize same bakterije. Bakteriofag također posjeduje enzime (depolimerazu) koji ga štite („imuniziraju“) od djelovanja vanstaničnog matriksa te mu također omogućuju da proдре u samu srž biofilma (55). Tijekom istraživanja, na kateter obložen hidrogelom dodavali su se i bakteriofagi te je zaključeno kako takva formacija dovodi do degradacije biofilma građenog od *S.epidermidis*(56), *P.mirabilis* (57), *E.coli* (58) ili *P.aeruginosa* (58) za 90%.

8.8. Inhibicija „quorum sensing“

„Quorum sensing“ je oblik kemijske molekularne komunikacije između bakterija koja im omogućuje udruživanje u biofilm. Taj proces komunikacije također obuhvaća regulaciju ekspresije gena (7). Sukladno tome inhibicija navedenih procesa onemogućuje nastanak i progresiju biofilma. Inhibitori „quorum sensinga“ moraju imati određene karakteristike, a to su: niska molekularna masa, visoka specifičnost, netoksičnost prema domaćinu, neutralan učinak na metabolizam bakterija kako ne bi došlo do razvoja antimikrobne rezistencije i dostatna biorasploživost (59). Poznato je nekoliko inhibitora „quorum sensinga“, a znatan udio ih je izoliran iz prirode. Pirimidinon i HSL su dokazani

inhibitori nastanka biofilma formiranog od *S. aureus* (60). Ekstrakt češnjaka također djeluje inhibitory na „quorum sensing“ (61). RNA III peptid djeluje inhibitory na nastanak biofilma građenog od *S. epidermidis* (62).

8.9. Utjecaj niskoenergetskih površinskih akustičkih valova (SAW) na nastanak biofilma

Dokazano je na in vitro eksperimentu kako SAW pri snazi između 0.1 i 0.2 mW/cm², frekvenciji vibracije između 95 KHz i 220 kHz i amplitudi akustičnog tlaka između 0.1 i 0.22 kPa onemogućava adheziju gram pozitivnih i negativnih bakterija prilikom nastanka biofilma. Eksperiment je vršen i na kateteriziranim zečevima izloženim SAW-u što je dovelo do sterilnosti urina u trajanju od 7 dana, dok se kod kontrolne skupine bakteriurija javila unutar 36 sati od postavljanja katetera (63).

8.10. Utjecaj antiadhezijskih molekula na nastanak biofilma

Specifičnost antiadhezijskih molekula je djelovanje na samu adheziju između patogena i domaćina. Na taj način se onemogućuje nastanak biofilma u vrlo ranoj fazi. Navedeno djelovanje pokazuje proantocijanidin tip a koji se nalazi u ekstraktu brusnice te je iz tog razloga predmet brojnih istraživanja. Valja napomenuti kako navedeni učinak naročito onemogućuje nastanak biofilma formiranog od *E. coli* koji je ujedno jedan od najčešćih uzročnika infekcija mokraćnog sustava (64). Sličan učinak imaju i manozid i pilicid. Manozid onemogućuje sintezu FimH adhezina koji je nužan za adheziju na epitelne stanice domaćina. FimH je također sastavni dio *E. coli*. Štoviše, manozid i potencira učinak kotrimoksazola (65). Salicilat pokazuje također antiadhezivno djelovanje budući da inhibira ekspresiju fimbrija nužnih za adheziju bakterija (66). Zanimljiva je i teorija koja tvrdi kako EPS *E. coli* sadržava određene proteine koji onemogućuju adheziju nekih drugih bakterija kao što je *S. aureus* (67).

9. Antimikrobna rezistencija biofilma

Jedan od najvećih problema u domeni biofilma je njihov veliki potencijal za razvoj antimikrobne rezistencije. Smatra se kako biofilm može biti više od 1000 puta rezistentniji na antibiotike nego slobodne bakterije (43). Antimikrobna rezistencija biofilma se temelji na nekoliko sljedećih mehanizama. EPS onemogućava prodor određenih skupina antibiotika kao što su aminoglikozidi. U EPS također može doći do promjene razine pH i metalnih iona što dovodi do inaktivacije antibiotika. Međusobna komunikacija bakterija u biofilmu omogućava im međusobnu izmjenu gena odgovornih za sintezu enzima koji uzrokuju rezistenciju. Na primjeru biofilma građenog od *S.aureus* dokazano je kako navedena bakterija procesom konjugacije vrši izmjenu gena odgovornih za rezistenciju (68). Kao i planktonske bakterije, bakterije u biofilmu mogu sadržavati efluks crpku. U biofilmu mogu postojati bakterije koje imaju reducirani metabolizam što ih čini „nevidljivim“ za antibiotike. Takve bakterije čini stanoviti rezervoar za obnovu biofilma nakon što prođe djelovanje antibiotika. Smatra se upravo kako su prethodno navedene bakterije uzročnici brojnih kroničnih infekcija mokraćnog sustava. Rezistencija biofilma ovisi i o fazi njegovog rasta i razvoja. Sukladno tomu, rezistencija je najmanja u stadiju reverzibilne adhezije (prianjanja). U stadiju kada se počinje sintetizirati EPS dolazi do ireverzibilne adhezije što dovodi do porasta rezistencije (43).

10. Antimikrobno liječenje biofilma

Prethodno je opisan značaj antimikrobne rezistencije mokraćnih infekcija uzrokovanih biofilmom te je prema navedenim činjenicama nužan specijaliziran pristup liječenju takvih infekcija. Uzimanje primjerenog uzorka i potonja izrada antibiograma je indicirana. Antibiotici iz skupine makrolida pokazuju značajnu djelotvornost prema biofilmovima formiranih od gram negativnih bakterija (*P. aeruginosa*). Kombinacija makrolida i vankomicina pokazala se djelotvorna protiv biofilma kao i protiv infekcija uzrokovanih slobodnim bakterijama. Kombinacija makrolida i karbapenema pokazuje visoku penetraciju kroz vanstanični matriks biofilma do dubljih struktura što ih čini također vrlo djelotvornim. Iako su makrolidi djelotvorni protiv *S.aureus* koji ubrajamo u gram pozitivne

bakterije, smatra se kako je njihov učinak na ostale gram pozitivne bakterije koje mogu formirati biofilm i uzrokovati infekcije mokraćnog sustava upita. Štoviše, smatra se kako pri određenim dozama mogu dovesti do poboljšanja svojstava biofilma i antimikrobne rezistencije (43). Beta laktamski antibiotici i aminoglikozidi pokazuju veću učinkovitost prema biofilmovima u ranijim fazama razvoja („mlađi biofilmovi“) dok fluorokinoloni djeluju podjednako dobro na sve biofilm u svim fazama rasta i razvoja (69).

11. Rasprava

Biofilm se definira kao nakupina mikroorganizama i njihovih izvanstaničnih produkata koji zajedno tvore funkcionalnu zajednicu priljubljenu za određenu površinu (1). Biofilm može nastati na urotelu ili na prostatolitima, međutim, njegov nastanak i potencijalno izazivanje mokraćne infekcije se češće povezuje s medicinskim implantatima kao što su uretralni kateteri, perkutane nefrostome, penilni implantati, testikularni implantati, artificijelni sfinkteri itd. (2). Kateteriziranje pacijenata je jedan od najčešćih postupaka u urologiji, a smatra se kako infekcija mokraćnog sustava kod kateteriziranih pacijenata predstavlja više od 40% ukupnih nazokomijalnih infekcija (70). Pristup problematici biofilma se sastoji od poštivanja mjera asepse pri radu i prevenciji infekcije, ranog prepoznavanja simptoma infekcije i adekvatnog antimikrobnog liječenja. Za adekvatnu prevenciju biofilmom uzrokovanih infekcija mokraćnog sustava nužno je poznavati i same mehanizme nastanka biofilma kako bi se njegov nastanak mogao spriječiti u što ranijoj fazi. Urinarni kateteri se iz tog razloga oblažu raznim sredstvima kao što je hidrokoloidni gel ili soli srebra kako bi se otežala adhezija bakterija (44,45). Specifičnost antiadhezijskih molekula je djelovanje na samu adheziju između patogena i domaćina. Točnije na taj način se onemogućuje nastanak biofilma u vrlo ranoj fazi. Navedeno djelovanje pokazuje proantocijanidin tip a koji se nalazi u ekstraktu brusnice te je iz tog razloga predmet brojnih istraživanja. Valja napomenuti kako je navedeni učinak naročito onemogućuje nastanak biofilma formiranog od *E.coli* koji je ujedno jedan od najčešćih uzročnika infekcija mokraćnog sustava (64). Inkrustacija katetera predstavlja znatnu komplikaciju kod kateteriziranih

pacijenata. Njeno sprječavanje je jedan od glavnih izazova, a upotreba enzimskih inhibitora pokazuje veliki potencijal (22,43). Važno je poznavati prije spomenute Parsek-Singhove dijagnostičke kriterije te kriterije za postavljanje dijagnoze simptomatske infekcije zbog ispravnog i pravovremenog postavljanja dijagnoze kako bi se moglo pristupiti proceduri liječenja. Antimikrobno liječenje i rezistencija biofilma na antimikrobne lijekove predstavlja problem od globalne važnosti u svim granama medicine, naročito od pojave bakterija kao što je tip *M.tuberculosis* koji pokazuje rezistenciju prema vrlo širokom ili čak prema ukupnom spektru antimikrobne terapije (71). U domeni prevencije, navedeno je kako su kateteri oblagani antibioticima kako bi onemogućili razvoj biofilma. Međutim, u radu Sara M. Soto, navedeno je kako preventivna uporaba antibiotika dovodi do porasta antimikrobne rezistencije (43). Antimikrobno liječenje ovisi o nalazu antibiograma. Kombinacija makrolida i vankomicina pokazala se kao dobra za liječenje mokraćnih infekcija uzrokovanih biofilmom kao i infekcija uzrokovanih slobodnim bakterijama. U liječenju se još koriste i ostali beta laktamski antibiotici, aminoglikozidi i fluorokinoloni. Budući da je u prethodnim odlomcima navedena činjenica da antibiotici iz skupine beta laktama i aminoglikozida djeluju bolje na biofilm u njegovim ranijim fazama rasta i razvoja, a fluorokinoloni u svima fazama, pitanje o primarnoj upotrebi flurokinolona ostaje otvoreno. Štoviše, neki autori navode kako sama upotreba fluorokinolona (u prvom redu ciprofloksacina) ovisi o medicinskoj povijesti pacijenta i o lokalnoj bakterijskoj rezistenciji (72). Osim antimikrobnog liječenja važna je i redovita promjena katetera s obzirom na preporuku proizvođača. Ukoliko dođe do razvoja biofilma na ostalim medicinskim urološkim implantatima kao što su ureteralni stentovi, perkutane nefrostome, penilni implantati, testikularni implantati ili artifičijelni sfinkteri, također je nužno njihovo odstranjivanje i zamjena s novime (2).

12. Zaključci

Biofilm se definira kao nakupina mikroorganizama i njihovih izvanstaničnih produkata koji zajedno tvore funkcionalnu zajednicu priljubljenu za određenu površinu. Mokraćna infekcija je infekcija bilo kojeg dijela mokraćnog sustava. Razlikujemo infekcije gornjeg dijela (pijelonefritis, ureteritis) i donjeg dijela mokraćnog sustava (cistitis, uretritis). Razumijevanje procesa nastanka biofilma važno je i za prevenciju nastanka i potonje liječenje. Specifična građa biofilma osigurava mu povoljne uvjete za preživljavanje i daljnje razmnožavanje. Za prepoznavanje mokraćne infekcije uzrokovane biofilmom nužno je poznavati karakterističnu simptomatologiju, kroničan i rekurentan karakter infekcije kao i koristiti dijagnostičke kriterije. Biofilm pokazuje veliku tendenciju razvijanja antibiotske rezistencije, sukladno tomu prevencija nastanka biofilma je izuzetno važna kao i ciljana antibiotska terapija.

13. Sažetak

Biofilm se definira kao nakupina mikroorganizama i njihovih izvanstaničnih produkata koji zajedno tvore funkcionalnu zajednicu priljubljenu za određenu površinu. Mokraćna infekcija je infekcija bilo kojeg dijela mokraćnog sustava. Biofilm se može formirati na tjelesnom tkivu pacijenata (npr. urotel), ali vrlo često nastaje na stranim tijelima kao što su urinarni kateteri ili razni urološki implantati. Nastanak biofilma je složen proces koji se sastoji od nekoliko reverzibilnih i ireverzibilnih koraka. Biofilm je uobičajeno građen od bakterija (najčešće *E.coli*). Jedan od najvažnijih strukturalnih dijelova biofilma je ekstracelularni matriks. Osim akutnih, biofilm se povezuje kao uzročnik kroničnih i rekurentnih infekcija mokraćnog sustava. Postavljanje dijagnoze mokraćne infekcije uzrokovane biofilmom sastoji se od uzimanja anamneze, promatranja kliničke slike, fizikalnog pregleda i uzimanja uzoraka urina. Kriteriji za postavljanje dijagnoze nazivaju se Parsek-Singhovi kriteriji. Biofilm je često uzročnik infekcija koje pokazuju zavidan stupanj antibiotske rezistencije. Prevencija nastanka biofilma provodi se poštivanjem mjera asepse, upotrebe hidrogela, nanočestica, antiadhezijskih molekula, liposoma i enzimskih inhibitora. Liječenje se sastoji od antibiotske terapije kao i od kirurške zamjene određenog implantata ako se on smatra sjelom biofilma.

KLJUČNE RIJEČI: biofilm, mokraćna infekcija, urologija, antibiotska rezistencija, urinarni kateter

14. Summary

Biofilm is defined as functional community of microorganisms and their extracellular products which are attached to specific surface. Urinary infection is infection of any part of urinary tract. Biofilm can be formed on human body cells (urothel) or on foreign bodies (most often urinary catheter but also urinary implantas). Biofilm formation is complicated procedure which consists of reversible and irreversible steps. Biofilm usually consist of bacteria (most often *E.coli*). One of most important biofilm structural parts is extracellular matrix. Biofilm can cause acute infections of urinary tract as well as chronic and recurrent infections. Biofilm caused urinary tract infection diagnosis is based on anamnesis, clinical observation, physical exam and urine sampling. Vey useful are Parsek-Singh criteria. Biofilm infections are often connected to antibiotics resistance. Biofilm urinary tract infections can be prevented in different ways: compliance with asepsis measures, usage of gydrogel, nanoparticles, antiadhesive molecules, liposoms and enzyme inhibitors. Treatment is based on antibiotic therapy and on surgical replacement of urinary tract implant which is possible biofilm location.

KEY WORDS: biofilm, urinary tract infection, urology, antimicrobial resistance, urinary catheter

15. Literatura

1. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis.* 2002 Sep;8(9):881-90.
2. Tenke P, Kovacs B, Jäckel M, Nagy E. The role of biofilm infection in urology. *World J Urol.* 2006 Feb;24(1):13-20.
3. Mack D, Becker P, Chatterjee I, Dobinsky S, Knobloch JK, Peters G, et al. Mechanisms of biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*: functional molecules, regulatory circuits, and adaptive responses. *Int J Med Microbiol.* 2004 Sep;294(2-3):203-12.
4. Stamm WE, Hooton TM. Management of urinary tract infections in adults. *N Engl J Med.* 1993 Oct 28;329(18):1328-34.
5. Kunin CM. Urinary tract infections in females. *Clin Infect Dis.* 1994 Jan;18(1):1-10; quiz 11-2.
6. Burckhardt I, Zimmermann S. *Streptococcus pneumoniae* in urinary tracts of children with chronic kidney disease. *Emerg Infect Dis.* 2011 Jan;17(1):120-2.
7. Morović M, Biofilmske infekcije urinarnog trakta. *Medicus* 2012 ;21(1_UGI):43-46.
8. S Stowe SD, Richards JJ, Tucker AT, Thompson R, Melander C, Cavanagh J. Anti-biofilm compounds derived from marine sponges. *Mar Drugs.* 2011;9(10):2010-35.
9. Schmidt T, Kirschning A. Total synthesis of carolacton, a highly potent biofilm inhibitor. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2012 Jan 23;51(4):1063-6.
10. Hinsa SM, Espinosa-Urgel M, Ramos JL, O'Toole GA. Transition from reversible to irreversible attachment during biofilm formation by *Pseudomonas fluorescens* WCS365 requires an ABC transporter and a large secreted protein. *Mol Microbiol.* 2003 Aug;49(4):905-18.
11. Laue H, Schenk A, Li H, Lambertsen L, Neu TR, Molin S, Ullrich M. Contribution of alginate and levan production to biofilm formation by *Pseudomonas syringae*. *Microbiology (Reading).* 2006

Oct;152(Pt 10):2909-2918.

12. Agladze K, Wang X, Romeo T. Spatial periodicity of *Escherichia coli* K-12 biofilm microstructure initiates during a reversible, polar attachment phase of development and requires the polysaccharide adhesin PGA. *J Bacteriol.* 2005 Dec;187(24):8237-46

13. Mann EE, Wozniak DJ. *Pseudomonas* biofilm matrix composition and niche biology. *FEMS Microbiol Rev.* 2012 Jul;36(4):893-916.

14. Serra DO, Richter AM, Hengge R. Cellulose as an architectural element in spatially structured *Escherichia coli* biofilms. *J Bacteriol.* 2013 Dec;195(24):5540-54.

15. Kostakioti M, Hadjifrangiskou M, Hultgren SJ. Bacterial biofilms: development, dispersal, and therapeutic strategies in the dawn of the postantibiotic era. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2013 Apr 1;3(4):a010306.

16. Stamm WE, Norrby SR. Urinary tract infections: disease panorama and challenges. *J Infect Dis.* 2001 Mar 1;183 Suppl 1:S1-4.

17. Foxman B. Urinary tract infection syndromes: occurrence, recurrence, bacteriology, risk factors, and disease burden. *Infect Dis Clin North Am.* 2014 Mar;28(1):1-13.

18. Lichtenberger P, Hooton TM. Complicated urinary tract infections. *Curr Infect Dis Rep.* 2008 Nov;10(6):499-504.

19. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol.* 2015 May;13(5):269-84.

20. Stowe SD, Richards JJ, Tucker AT, Thompson R, Melander C, Cavanagh J. Anti-biofilm compounds derived from marine sponges. *Mar Drugs.* 2011;9(10):2010-35.

21. Warren JW. Catheter-associated urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents.* 2001 Apr;17(4):299-303.

22. Stickler DJ, Williams T, Jarman C, Howe N, Winters C (1995) The encrustation of urethral catheters. In: Wimpenny J, Handley P, Gilbert P, Lappin-Scott H, eds. *The life and death of biofilm.* Cardiff: Bioline 119-125

23. Reid G, Denstedt JD, Kang YS, Lam D, Nause C. Microbial adhesion and biofilm formation on ureteral stents in vitro and in vivo. *J Urol*. 1992 Nov;148(5):1592-4
24. Farsi HM, Mosli HA, Al-Zemaity MF, Bahnassy AA, Alvarez M. Bacteriuria and colonization of double-pigtail ureteral stents: long-term experience with 237 patients. *J Endourol*. 1995 Dec;9(6):469-72.
25. Cosentino M, Bianco M, Ruiz-Castañé E, Iafrate M. Treatment of Penile Prosthesis Implant's Infection. *Urol Int*. 2020;104(7-8):542-545
26. Magera JS Jr, Elliott DS. Artificial urinary sphincter infection: causative organisms in a contemporary series. *J Urol*. 2008 Dec;180(6):2475-8.
27. Marien T, Miller NL. Treatment of the Infected Stone. *Urol Clin North Am*. 2015 Nov;42(4):459-72.
28. MSD priručnik dijagnostike i terapije. [Internet]. [ažurirano 18.12.2014.; citirano 1.1.2021.]. Dostupno na <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/genitourinarne-bolesti/bolesti-prostate/prostatitis>
29. Choong S, Whitfield H. Biofilms and their role in infections in urology. *BJU Int*. 2000 Nov;86(8):935-41.
30. Gill BC, Shoskes DA. Bacterial prostatitis. *Curr Opin Infect Dis*. 2016 Feb;29(1):86-91.
31. Lagun LV, Atanasova IuV, Tapal'skiĭ DV. [Formation of microbial biofilms in causative agents of acute and chronic pyelonephritis]. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*. 2013 May-Jun;(3):18-23. Russian.
32. Nickel JC, Costerton JW, McLean RJ, Olson M. Bacterial biofilms: influence on the pathogenesis, diagnosis and treatment of urinary tract infections. *J Antimicrob Chemother*. 1994 May;33 Suppl A:31-41.
33. Graziottin A, Zanello PP, D'Errico G. Cristiti e vaginitis recidivanti: ruolo dei biofilm e delle persister cells. Dalla fisiopatologia a nuove strategie terapeutiche [Recurrent cystitis and vaginitis: role of biofilms and persister cells. From pathophysiology to new therapeutic strategies]. *Minerva*

Ginecol. 2014 Oct;66(5):497-512. Italian.

34. Sobel JD. What's new in bacterial vaginosis and trichomoniasis? *Infect Dis Clin North Am.* 2005 Jun;19(2):387-406.

35. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med.* 1983 Jan;74(1):14-22.

36. Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, Swidsinski S, Dörffel Y, Scholze J, et al. An adherent *Gardnerella vaginalis* biofilm persists on the vaginal epithelium after standard therapy with oral metronidazole. *Am J Obstet Gynecol.* 2008 Jan;198(1):97.e1-6.

37. Saunders S, Bocking A, Challis J, Reid G. Effect of *Lactobacillus* challenge on *Gardnerella vaginalis* biofilms. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2007 Apr 1;55(2):138-42.

38. Morović, M. (2012). 'Biofilmske infekcije urinarnog trakta', *Medicus*, 21(1_UGI), str. 43-46. Preuzeto s: <https://hrcak.srce.hr/89346> (Datum pristupa: 3.1.2021.)

39. Hall-Stoodley L, Stoodley P, Kathju S, Høiby N, Moser C, Costerton JW, et al. Towards diagnostic guidelines for biofilm-associated infections. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2012 Jul;65(2):127-45.

40. Gould CV, Umscheid CA, Agarwal RK, Kuntz G, Pegues DA; Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for prevention of catheter-associated urinary tract infections 2009. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2010 Apr;31(4):319-26.

41. MSD MANUAL. [Internet]. [ažurirano 8.2.2018; citirano 3.1.2021.]. Dostupno na <https://www.msdmanuals.com/enkr/home/fundamentals/genetics/genetic-diagnostic-technologies>

42. Wu Q, Li Y, Wang M, Pan XP, Tang YF. Fluorescence in situ hybridization rapidly detects three different pathogenic bacteria in urinary tract infection samples. *J Microbiol Methods.* 2010 Nov;83(2):175-8.

43. Soto SM. Importance of Biofilms in Urinary Tract Infections: New Therapeutic Approaches. *Advances in Biology Hindawi* [Internet]. 2014.[citirano 2.2.2021.];2014;58(2): 149-153

44. Kazmierska KA, Thompson R, Morris N, Long A, Ciach T. In vitro multicompartmental bladder model for assessing blockage of urinary catheters: effect of hydrogel coating on dynamics of *Proteus*

- mirabilis growth. *Urology*. 2010 Aug;76(2):515.e15-20.
45. Rupp ME, Fitzgerald T, Marion N, Helget V, Puumala S, Anderson JR, Fey PD. Effect of silver-coated urinary catheters: efficacy, cost-effectiveness, and antimicrobial resistance. *Am J Infect Control*. 2004 Dec;32(8):445-50.
46. Lellouche J, Kahana E, Elias S, Gedanken A, Banin E. Antibiofilm activity of nanosized magnesium fluoride. *Biomaterials*. 2009 Oct;30(30):5969-78.
47. Torzewska A, Rozalski A. Inhibition of crystallization caused by *Proteus mirabilis* during the development of infectious urolithiasis by various phenolic substances. *Microbiol Res*. 2014 Jul-Aug;169(7-8):579-84.
48. Zhu H, Sun X, Lu J, Wang M, Fang Y, Ge W. The effect of plum juice on the prevention of struvite calculus formation in vitro. *BJU Int*. 2012 Oct;110(8 Pt B):E362-7.
49. Sambanthamoorthy K, Luo C, Pattabiraman N, Feng X, Koestler B, Waters CM, et al. Identification of small molecules inhibiting diguanylate cyclases to control bacterial biofilm development. *Biofouling*. 2014 Jan;30(1):17-28.
50. Allison SD. Liposomal drug delivery. *J Infus Nurs*. 2007 Mar-Apr;30(2):89-95; quiz 120.
51. Alhajlan M, Alhariri M, Omri A. Efficacy and safety of liposomal clarithromycin and its effect on *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 Jun;57(6):2694-704.
52. Siddiq DM, Darouiche RO. New strategies to prevent catheter-associated urinary tract infections. *Nat Rev Urol*. 2012 Apr 17;9(6):305-14.
53. Prasad A, Cevallos ME, Riosa S, Darouiche RO, Trautner BW. A bacterial interference strategy for prevention of UTI in persons practicing intermittent catheterization. *Spinal Cord*. 2009 Jul;47(7):565-9.
54. Darouiche RO, Thornby JI, Cerra-Stewart C, Donovan WH, Hull RA. Bacterial interference for prevention of urinary tract infection: a prospective, randomized, placebo-controlled, double-blind pilot trial. *Clin Infect Dis*. 2005 Nov 15;41(10):1531-4.

55. Carson L, Gorman SP, Gilmore BF. The use of lytic bacteriophages in the prevention and eradication of biofilms of *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli*. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2010 Aug;59(3):447-55.
56. Curtin JJ, Donlan RM. Using bacteriophages to reduce formation of catheter-associated biofilms by *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Apr;50(4):1268-75.
57. Fu W, Forster T, Mayer O, Curtin JJ, Lehman SM, Donlan RM. Bacteriophage cocktail for the prevention of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* on catheters in an in vitro model system. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 Jan;54(1):397-404.
58. Carson L, Gorman SP, Gilmore BF. The use of lytic bacteriophages in the prevention and eradication of biofilms of *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli*. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2010 Aug;59(3):447-55.
59. Rasmussen TB, Givskov M. Quorum-sensing inhibitors as anti-pathogenic drugs. *Int J Med Microbiol*. 2006 Apr;296(2-3):149-61.
60. Lyon GJ, Mayville P, Muir TW, Novick RP. Rational design of a global inhibitor of the virulence response in *Staphylococcus aureus*, based in part on localization of the site of inhibition to the receptor-histidine kinase, AgrC. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 Nov 21;97(24):13330-5.
61. Rasmussen TB, Bjarnsholt T, Skindersoe ME, Hentzer M, Kristoffersen P, Kôte M, et al. Screening for quorum-sensing inhibitors (QSI) by use of a novel genetic system, the QSI selector. *J Bacteriol*. 2005 Mar;187(5):1799-814.
62. Balaban N, Gov Y, Giacometti A, Cirioni O, Ghiselli R, Mocchegiani F, et al. A chimeric peptide composed of a dermaseptin derivative and an RNA III-inhibiting peptide prevents graft-associated infections by antibiotic-resistant staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004 Jul;48(7):2544-
63. Hazan Z, Zumeris J, Jacob H, Raskin H, Kratysh G, et al. Effective prevention of microbial biofilm formation on medical devices by low-energy surface acoustic waves. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Dec;50(12):4144-52.
64. Jepson RG, Mihaljevic L, Craig J. Cranberries for preventing urinary tract infections. *Cochrane*

Database Syst Rev. 2001;(3):CD001321.

65. Cusumano CK, Pinkner JS, Han Z, Greene SE, Ford BA, Crowley JR, et al. Treatment and prevention of urinary tract infection with orally active FimH inhibitors. *Sci Transl Med*. 2011 Nov 16;3(109):109ra115.

66. Vila J, Soto SM. Salicylate increases the expression of marA and reduces in vitro biofilm formation in uropathogenic *Escherichia coli* by decreasing type 1 fimbriae expression. *Virulence*. 2012 May 1;3(3):280-5

67. Rendueles O, Travier L, Latour-Lambert P, Fontaine T, Magnus J, Denamur E, et al. Screening of *Escherichia coli* species biodiversity reveals new biofilm-associated antiadhesion polysaccharides. *mBio*. 2011 May 10;2(3):e00043-11.

68. Savage VJ, Chopra I, O'Neill AJ. *Staphylococcus aureus* biofilms promote horizontal transfer of antibiotic resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 Apr;57(4):1968-70.

69. Tenke P, Köves B, Nagy K, Hultgren SJ, Mendling W, Wullt B, et al. Update on biofilm infections in the urinary tract. *World J Urol*. 2012 Feb;30(1):51-7.

70. Nicolle LE. Urinary catheter-associated infections. *Infect Dis Clin North Am*. 2012 Mar;26(1):13-27.

71. Sharma D, Misba L, Khan AU. Antibiotics versus biofilm: an emerging battleground in microbial communities. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2019 May 16;8:76.

72. Carson C, Naber KG. Role of fluoroquinolones in the treatment of serious bacterial urinary tract infections. *Drugs*. 2004;64(12):1359-73.

16. Životopis

David Zahirović rođen je 19.6.1996. u Zagrebu, u Republici Hrvatskoj. Nakon završene Osnovne škole Ivana Kukuljevića u Sisku, pohađa opći smjer u Gimnaziji Sisak. Nakon završetka gimnazijskog obrazovanja i polaganja ispita državne mature, 2015. godine upisuje Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, smjer Medicina čiji je redoviti student bio svih 6 godina (od 2015. do 2021. godine). Od stranih jezika tečno govori engleski, a poznaje i njemački jezik.