

Biofilm – zdroj infekcie

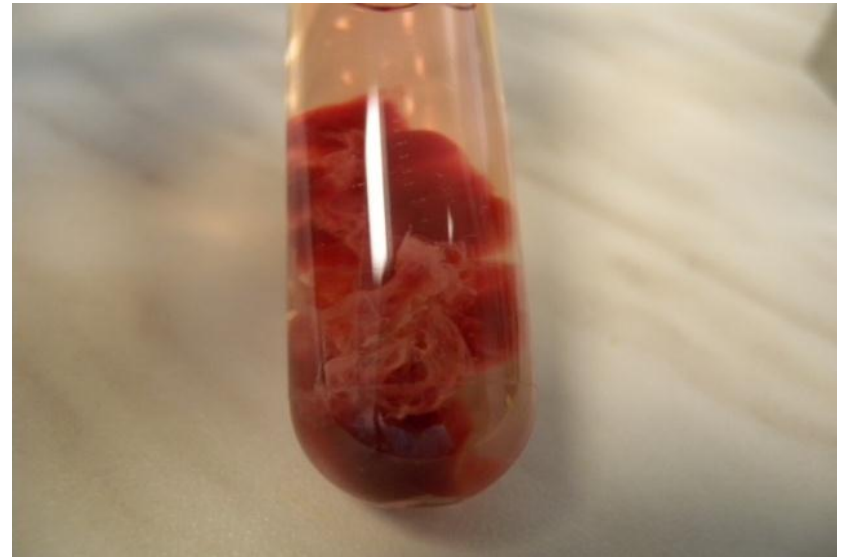
Martin Sojka, RÚVZ so sídlom v Komárne

Pár slov na úvod

- biofilmy sú štruktúrované komunity bakteriálnych buniek, uzavreté v polymérnych substanciiach, ktoré aspoň z časti produkujú, adherované na neživé alebo živé povrchy (Costerton et al., 1999)
- „Biofilm je agregát mikroorganizmov prichytených k povrchu a k sebe navzájom, obalený vrstvou extracelulárnych polymérnych substancii s protektívnou a adhezívnou funkciou“ (Sadashivaiah and Mysore, 2010)
- biofilm tvoriace baktérie sú
 - fenotypicky a fyziologicky odlišné
 - často so zníženým metabolizmom
 - uzavreté v masívnej štruktúre extracelulárnych polysacharidov
- biofilmy sú považované za jednu z príčin chronicity rán, infekcií súvisiacich s implantátmi a mnohých ďalších...
- prítomné sú často polymikrobiálne komunity (napr. Wolcott et al., 2010, Attinger a Wolcott, 2012, Price et al., 2009)
- nevyhnutnosť adekvátnych modelov pre testovanie účinnosti antibiofilmových terapií a látok
 - v súčasnosti sa používajú planktonické baktérie

Biofilm v prírode

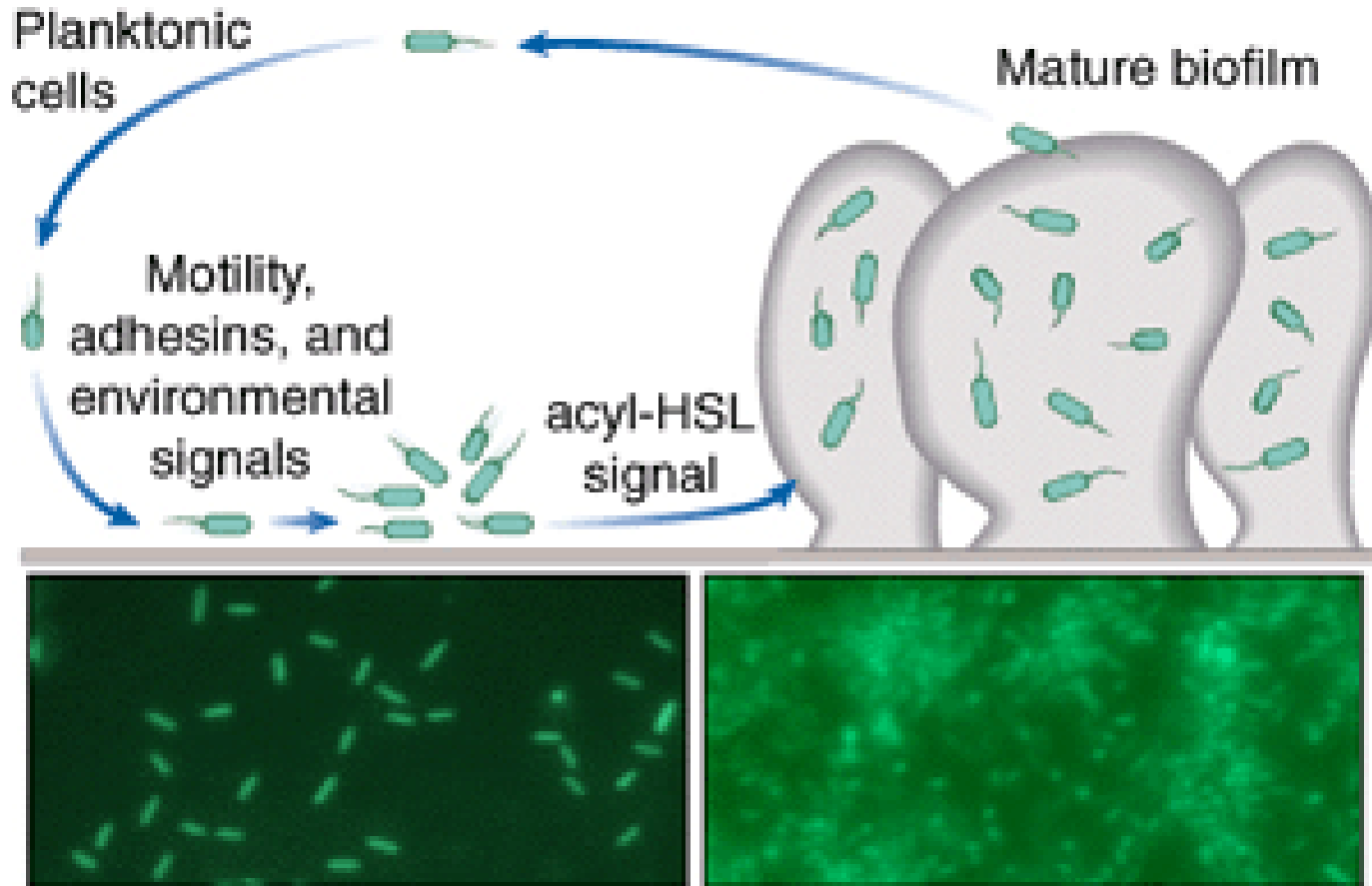
- Biofilmy poskytujú mikroorganizmom mnohé výhody oproti planktonickým MO
- Biofilm je najčastejšou formou existencie baktérií v prírode (od povlakov v riekach až po zubný plak)



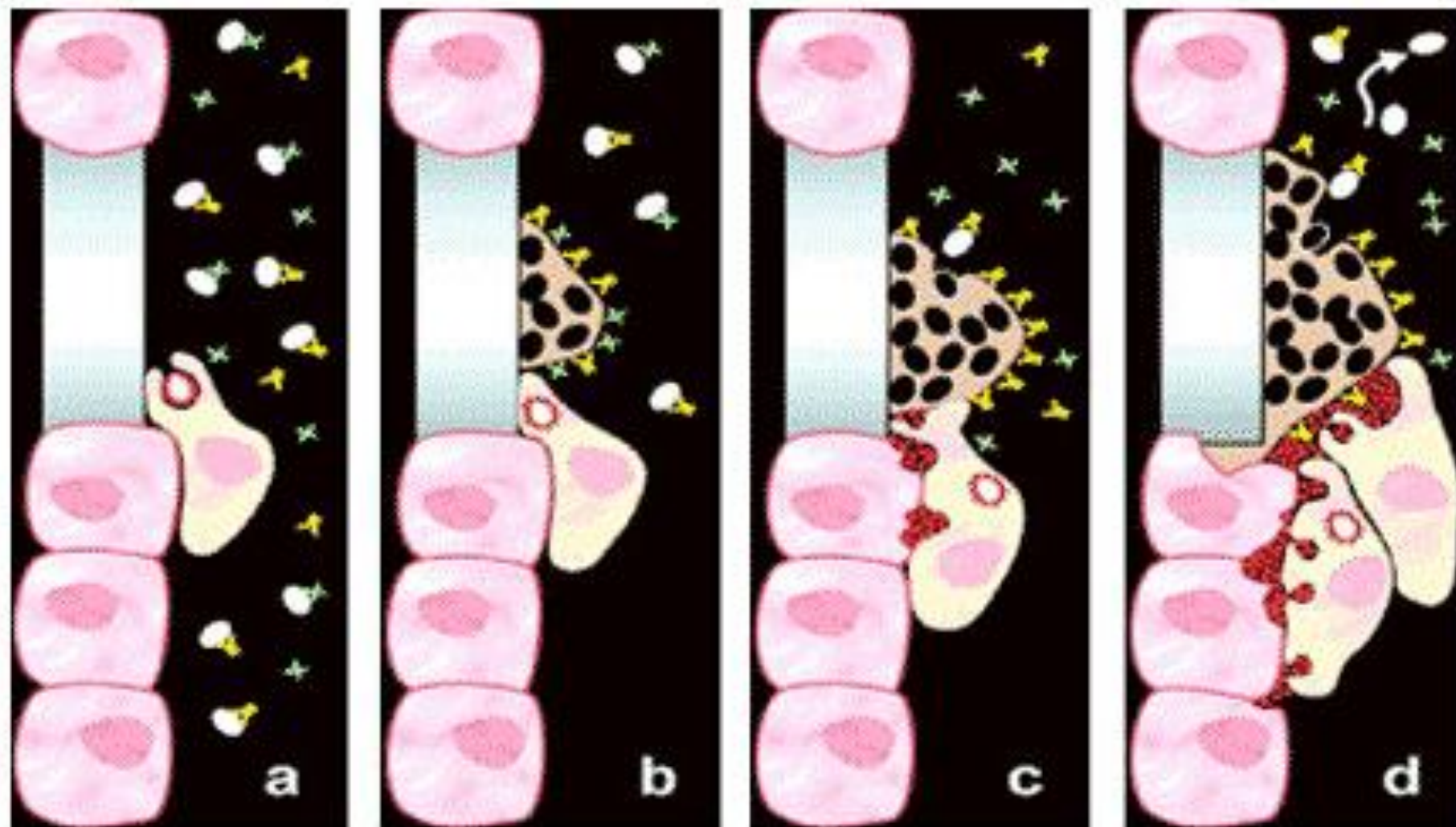
Ktoré baktérie tvoria biofilm?

- V súčasnosti sa predpokladá že produkcia biofilmu je vlastnosťou univerzálnou pre všetky baktérie (snáď aj všetky mikróby) v prírode
 - mnohokrát mnohodruhové spoločenstvá, kde sa jednotlivé mikroorganizmy navzájom podporujú a vytvárajú si priaznivé mikroprostredie

Ako sa biofilm tvorí



Mechanism of Biofilm Formation



✕ Antibiotic

▲ Antibody

○ Planktonic cell

● Biofilm cell

■ Phagocyte enzymes

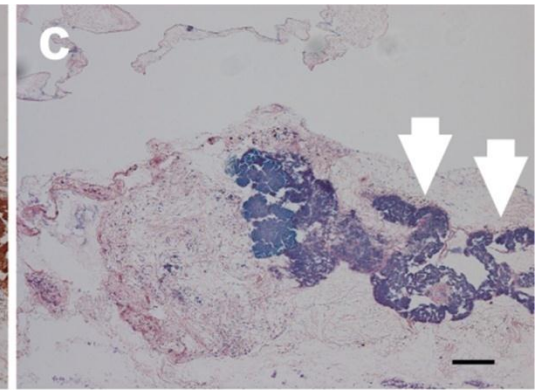
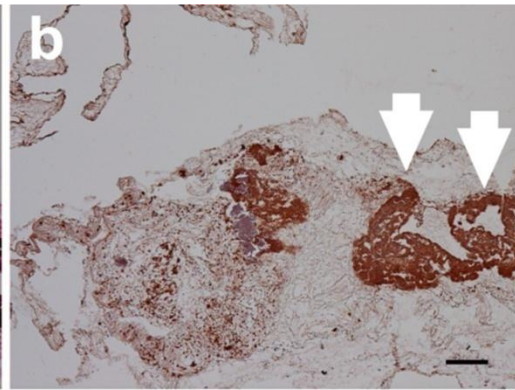
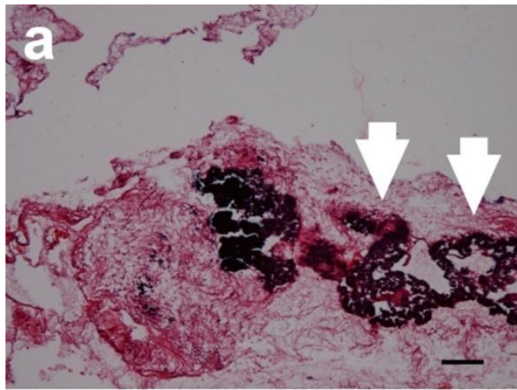
Mikromorfológia biofilmu

Gram

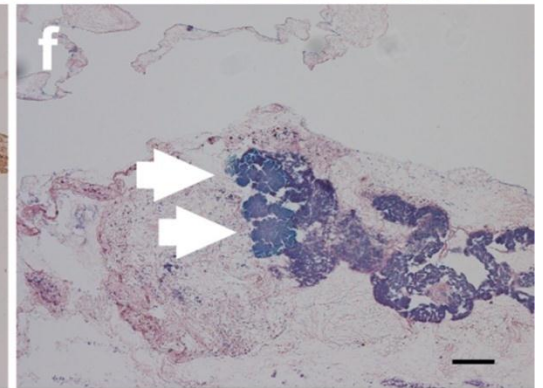
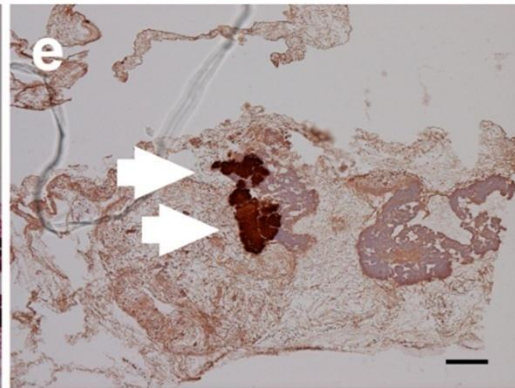
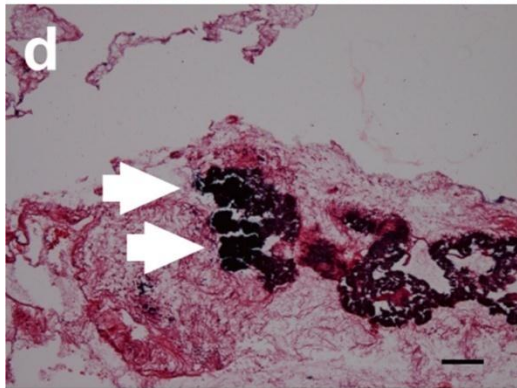
IHC

PAS-AB

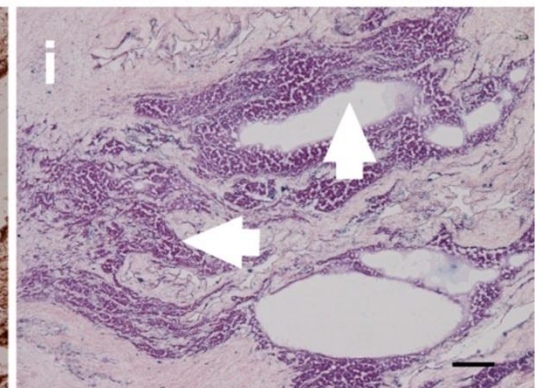
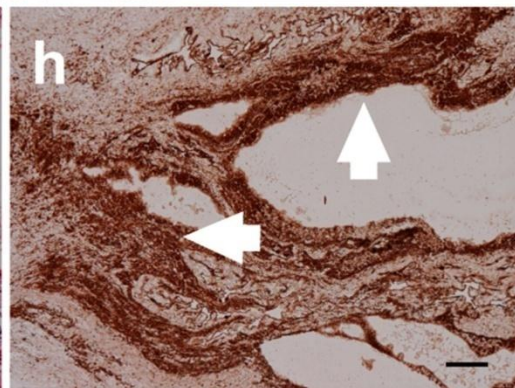
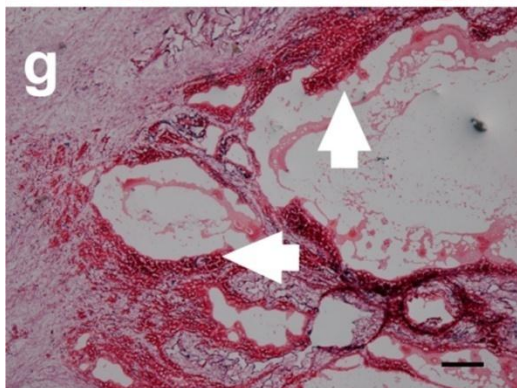
S. aureus

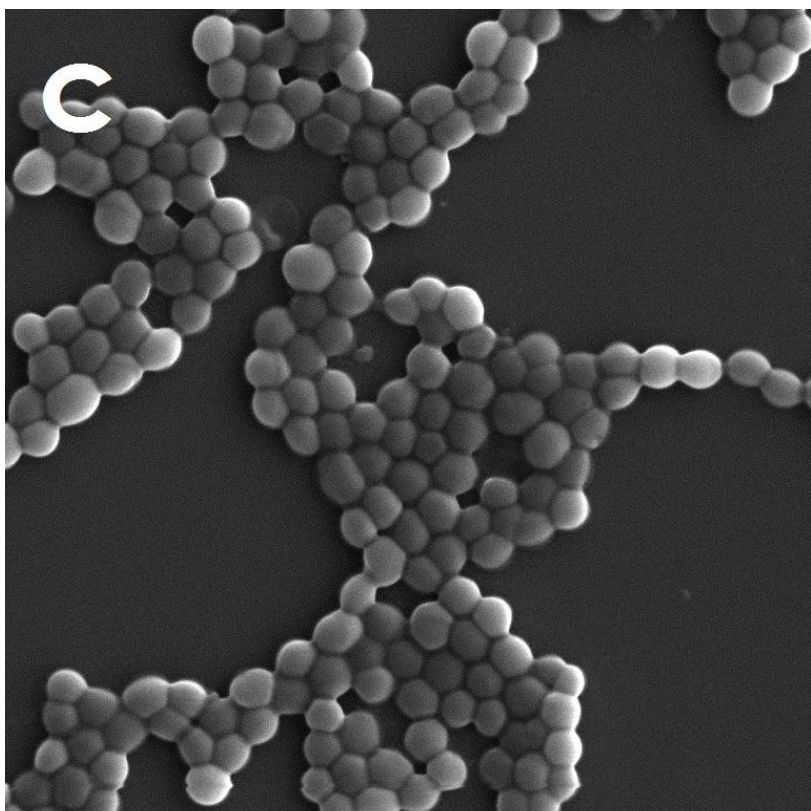


P. aeruginosa



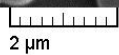
E. faecalis



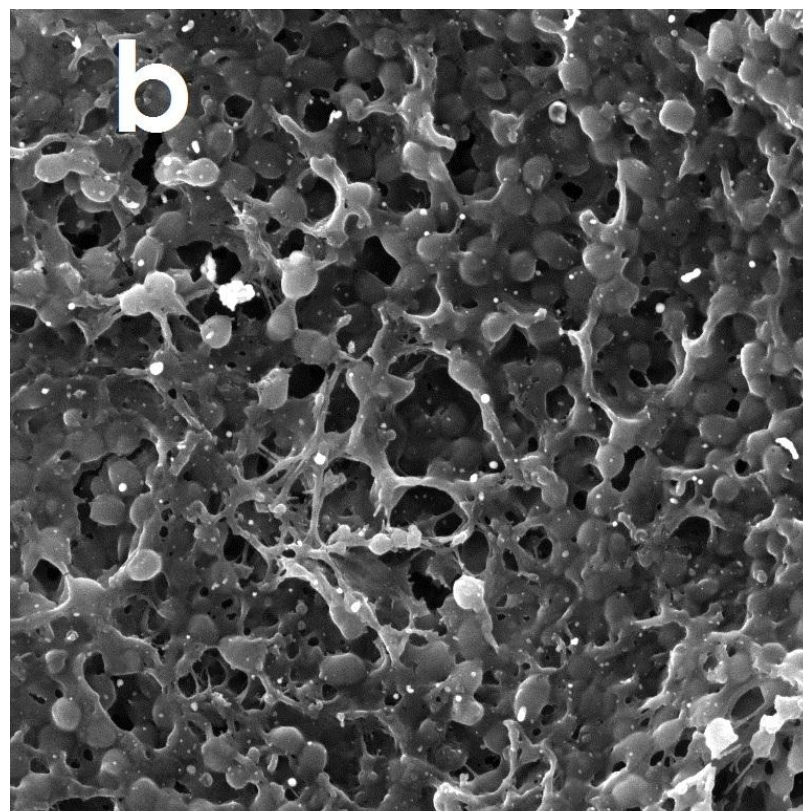


SEM HV: 10.00 kV
SEM MAG: 10.00 kx
Date(m/d/y): 02/06/13

WD: 10.2920 mm
Det: SE Detector
SM: RESOLUTION

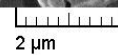


VEGA\\ TESCAN
Digital Microscopy Imaging



SEM HV: 10.00 kV
SEM MAG: 10.00 kx
Date(m/d/y): 01/17/13

WD: 3.5466 mm
Det: SE Detector
SM: RESOLUTION



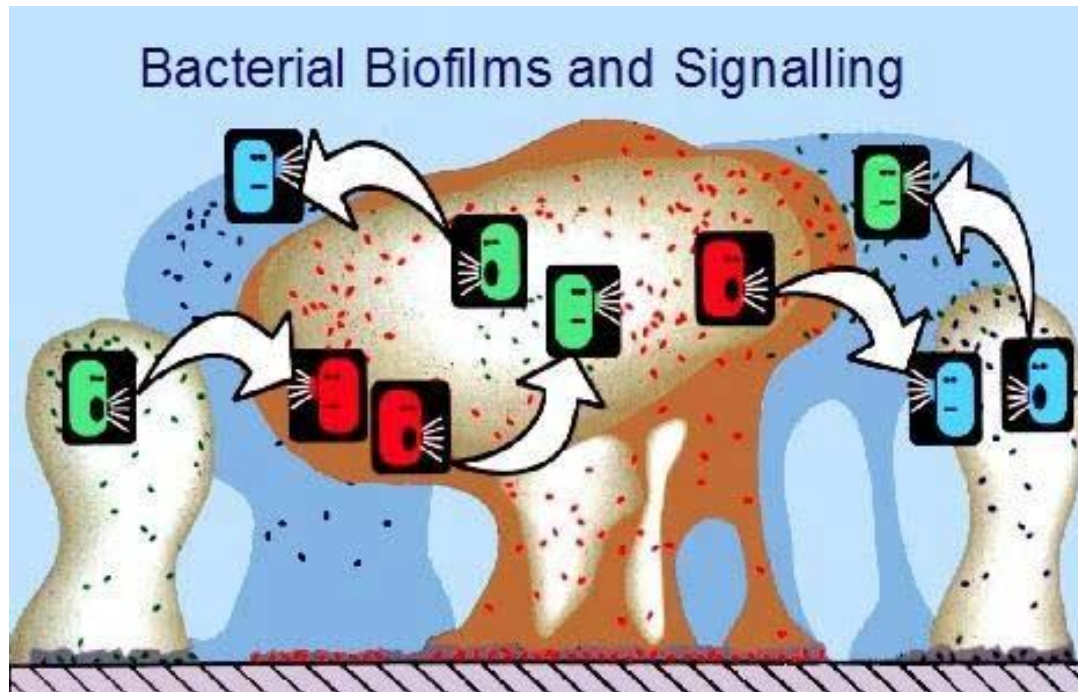
VEGA\\ TESCAN
Digital Microscopy Imaging

Bakteriálna bunka v biofilme

- Pomalý rast a množenie
- Zvýšená rezistencia voči antibiotikám, chemoterapeutikám, dezinficienciám,...
- Zvýšená frekvencia vertikálneho i horizontálneho génového transferu

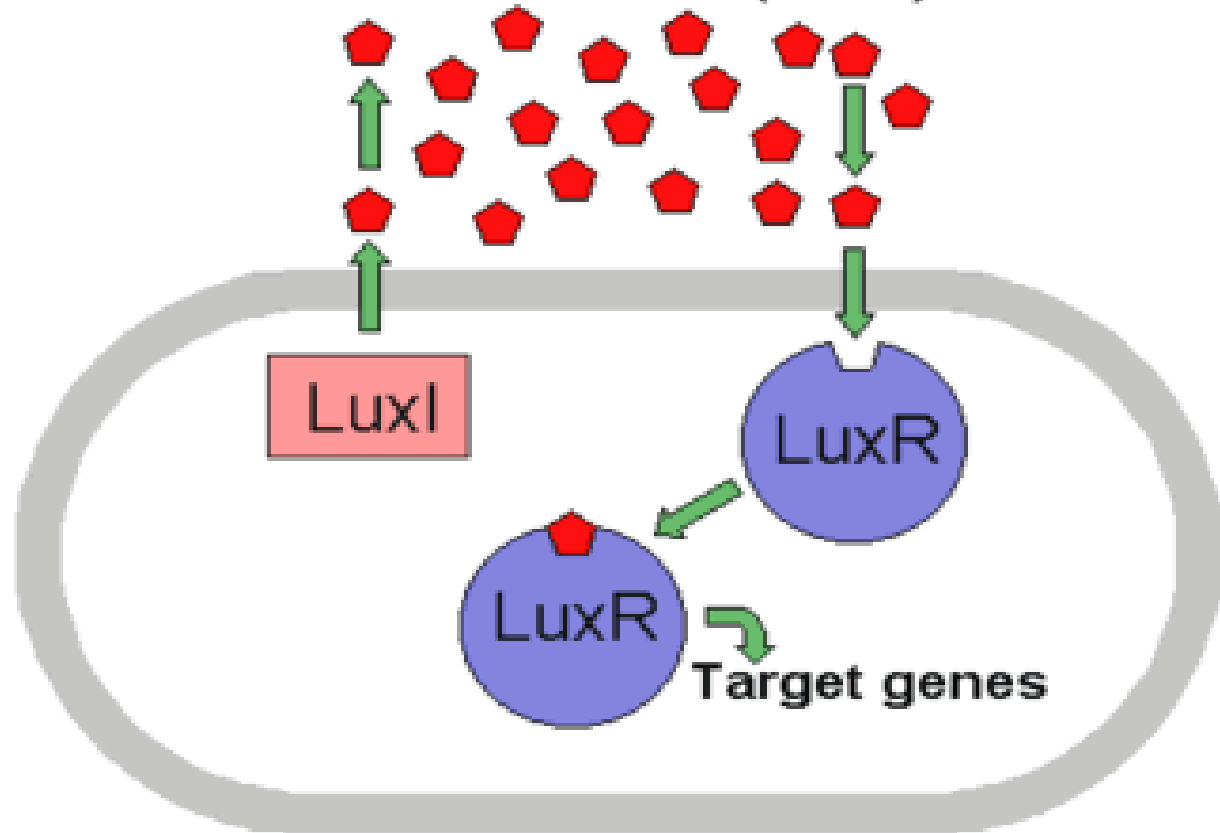
Quorum sensing

- Systém „komunikácie“ medzi baktériami v konzorciu
- Zdieľaný mnohokrát aj medzidruhovo
- Systém detekcie „dostatočného počtu“ jedincov
 - Regulátor expresie mnohých génov, ako napr. produkcie toxínov, adhezínov, polysacharidov, ...



Gram negativne

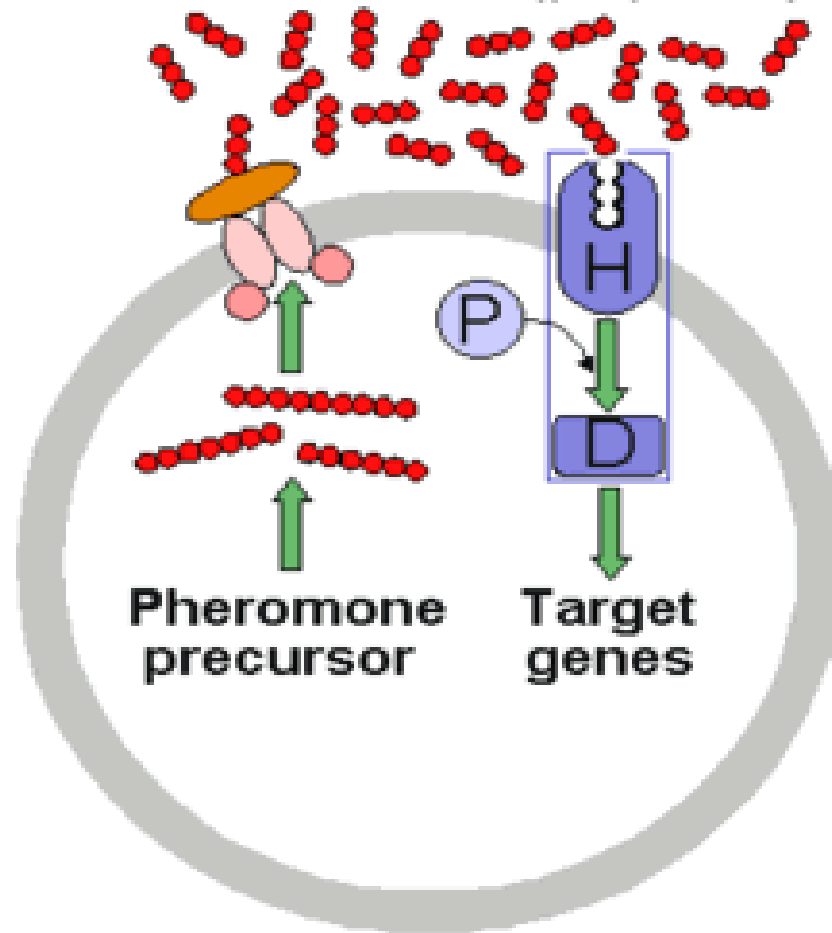
Autoinducer (AHL)



Gram-negative bacteria

Gram pozitívne

Autoinducer (peptide)



Gram-positive bacteria

- Mnohé štúdie potvrdzujú vzťah tvorby bakteriálneho biofilmu k rozličným chronickým infekciám a infekciám so vzťahom k implantátom
- Infekcie stredného ucha, uropoetického a genitálneho traktu, ochorenia dýchacích ciest u pacientov s cystickou fibrózou, ale aj osteomyelitídy, infekcie kože, rán a mäkkých tkanív

Survival Strategies of Infectious Biofilms

C.A. Fux, J. W. Costerton et al

Trends in Microbiology

- Čoraz viac sa ukazuje že baktérie v biofilme vykazujú násobne vyššie rezistencie k antiinfekčným látkam
- Väčšina testov citlivosti využíva planktonické baktérie
- (prakticky všetky rutinne používané)

- Chronické infekcie a infekcie z implantátov často nereagujú na terapiu látkami, ktoré sa v *in vitro* zdajú byť účinné

Prečo?

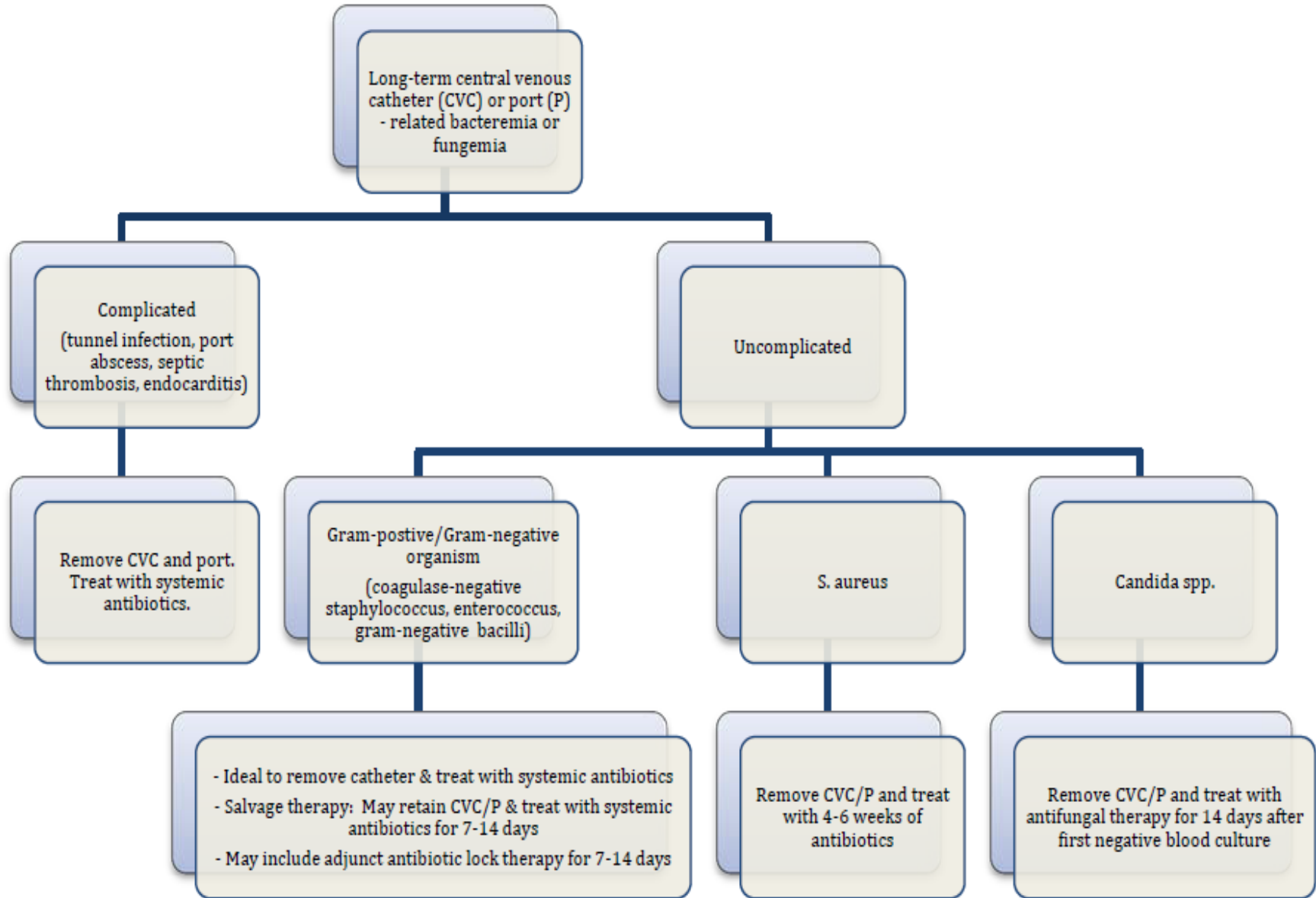
- V biofilme sa tvorí gradient antibiotika
- V spodných vrstvách biofilmu je mnohokrát prostredie mikroaerofilné alebo úplne anaeróbne a s nízkymi koncentráciami živín
- Biofilmové baktérie v maturovanom biofilme sa množia len veľmi málo alebo vôbec
- Blízkosť baktérií v biofilme uľahčuje horizontálny transfer génov (aj rezistencie)
- Sekretované/extracelulárne enzýmy štiepiace ATB „pomáhajú“ aj okolitým bunkám, ktoré tieto enzýmy neprodukurujú
- Matrix uľahčuje zvyšovanie koncentrácie degradačných enzýmov v biofilme
- Produkcia betalaktamáz viacerými G- baktériami v biofilmovom stave prudko stúpa (zdá sa byť regulovaná podobne ako produkcia EPS)

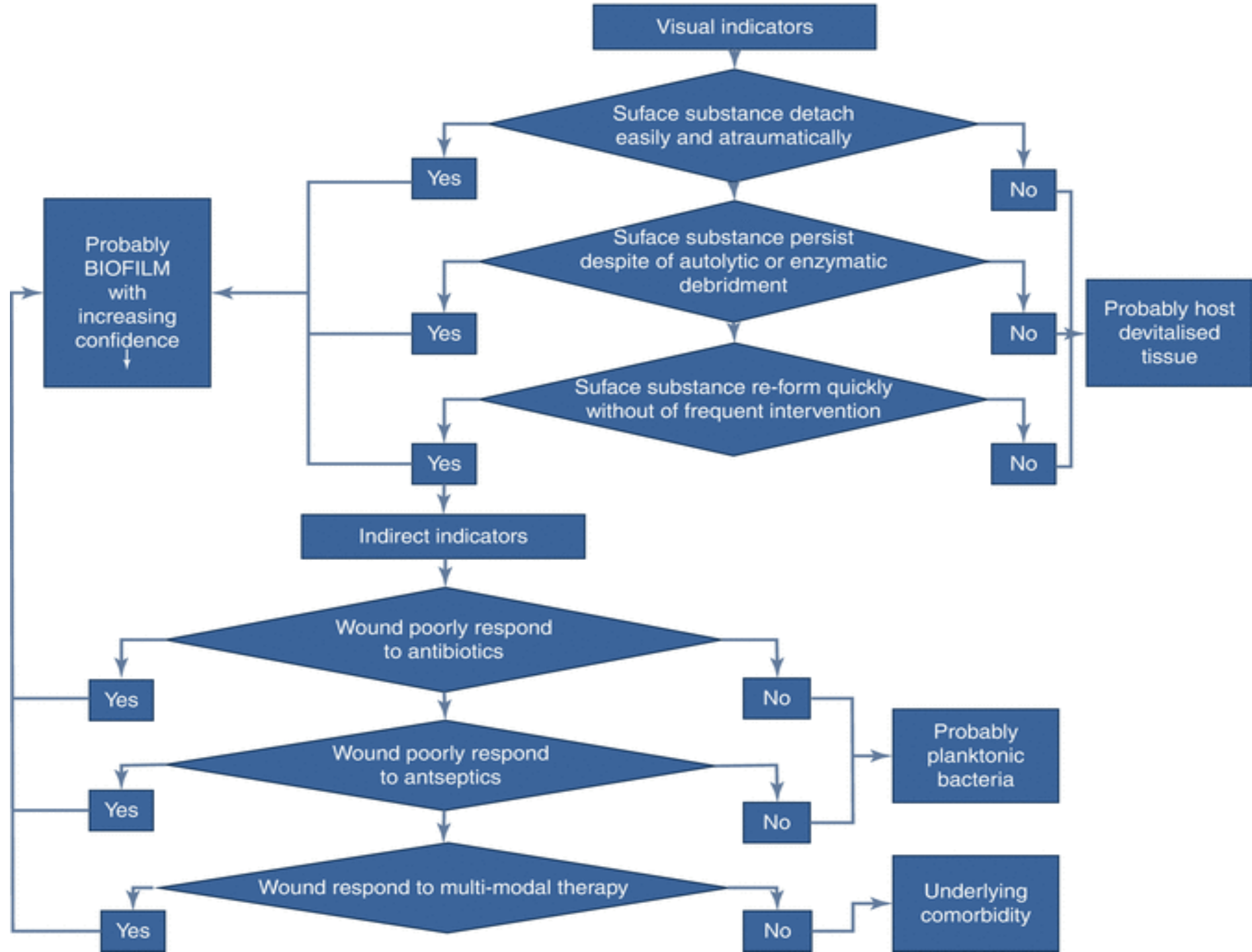
Operón MAR

- **Multiple Antibiotic Resistance** operón(y) (*Mar*) je viazaný na chromozóm
- Kóduje permeázy AcrB, zodpovedné za aktívny eflux mnohých xenobiotík z bunky
- Vyskytuje sa u mnohých baktérií
- Môže byť regulovaný nielen expozíciou subinhibičným koncentráciám ATB, ukazuje sa že býva nadexprimovaný u pomaly sa množiacich buniek...
- Nie je regulovaný cez AHL ako quorum sensing systémy, ale je spojený so syntézou exopolysacharidov
- Predpokladá sa jeho veľká účasť na vysokej rezistencii biofilmových baktérií

- prihliadajúc k zvýšenej rezistencii biofilm tvoriacich baktérií je základom terapie
 - odstránenie biofilmu (debridement rany, odstránenie cudzieho telesa, odstránenie implantátu, katétra, ...)
 - použitie anti-biofilmových látok (antibiotiká, dezinficienciá, rôzne prírodné látky,...)
- **neadekvátna terapia** biofilmových infekcií **stimuluje tvorbu** ďalšieho **biofilmu** mikroorganizmami

B. IDSA Treatment Guideline Algorithm:¹

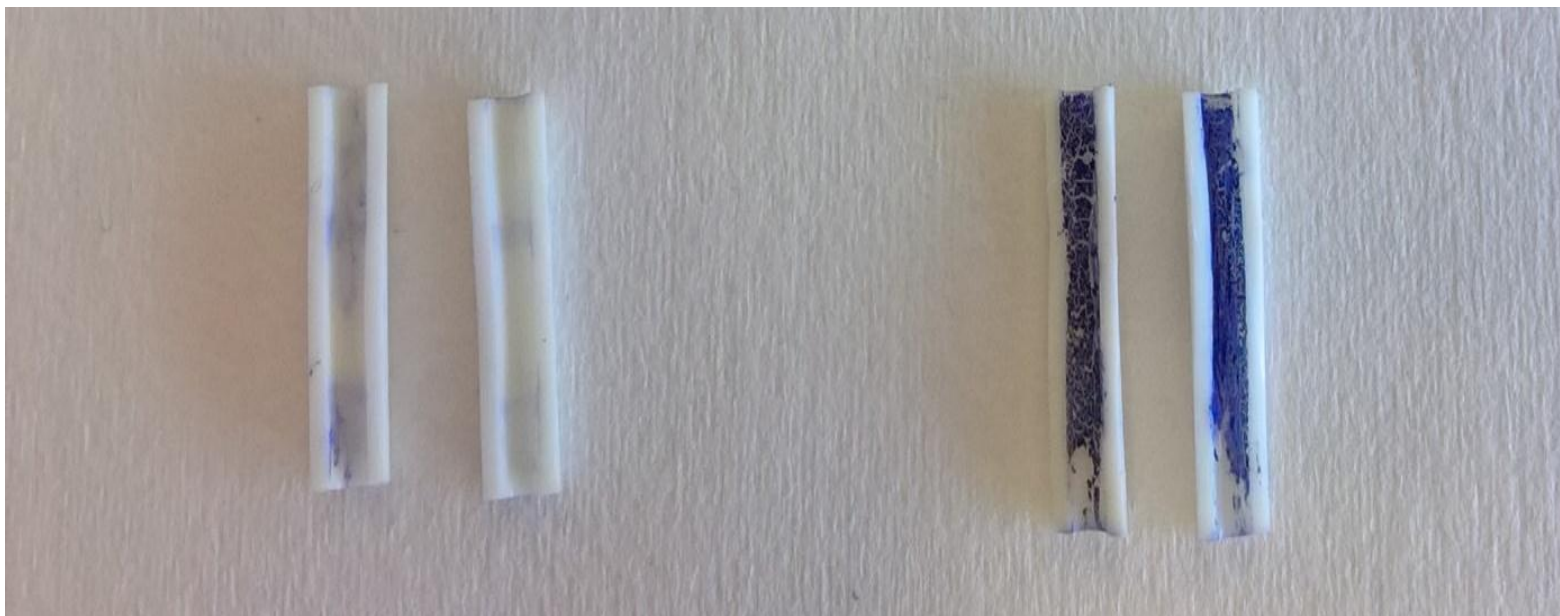




Ideálne krytie rán

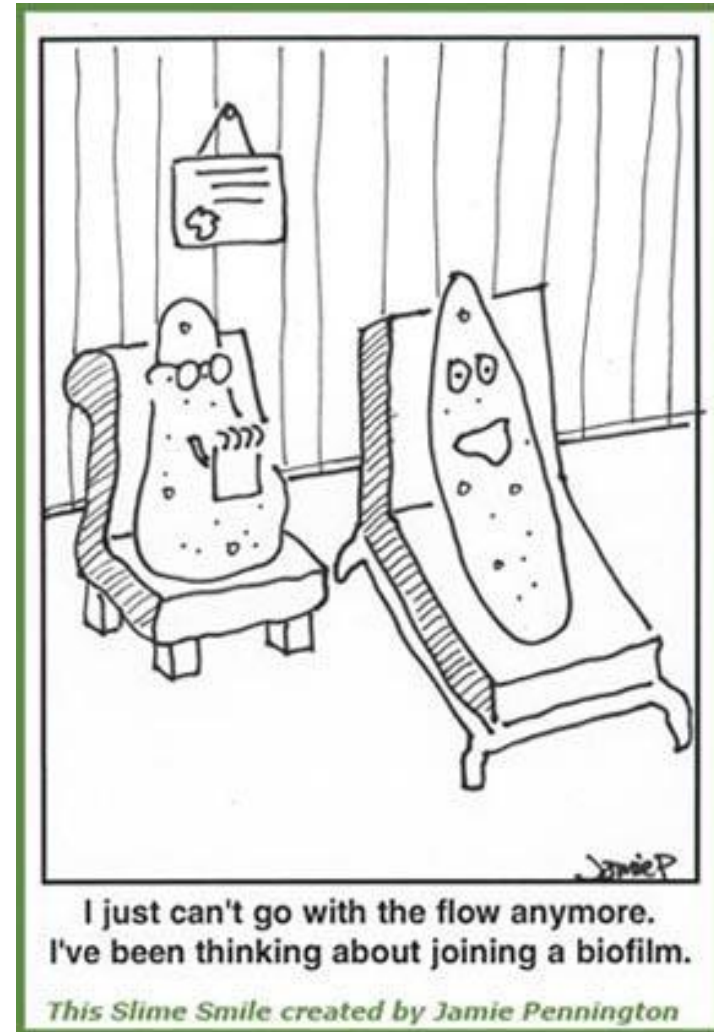


... ale platí aj pre stratégie boja proti iným druhom biofilmov



Záver

- biofilm
 - jedna z foriem existencie mikroorganizmov
 - jedna z príčin zabraňujúcich hojeniu rán
 - jeden zo zdrojov infekcie u pacientov s umelými implantátmi
 - jeden z dlhodobo zanedbávaných aspektov života baktérií
- baktérie v biofilme sa diametrálne líšia od planktonických foriem
 - výsledok testovania na planktonických baktériách sa mnohokrát nedá vzťahovať na biofilm
 - jednoduchšie je predísť jeho produkcii ako snaha o jeho eradikáciu



ĎAKUJEM ZA POZORNOST