

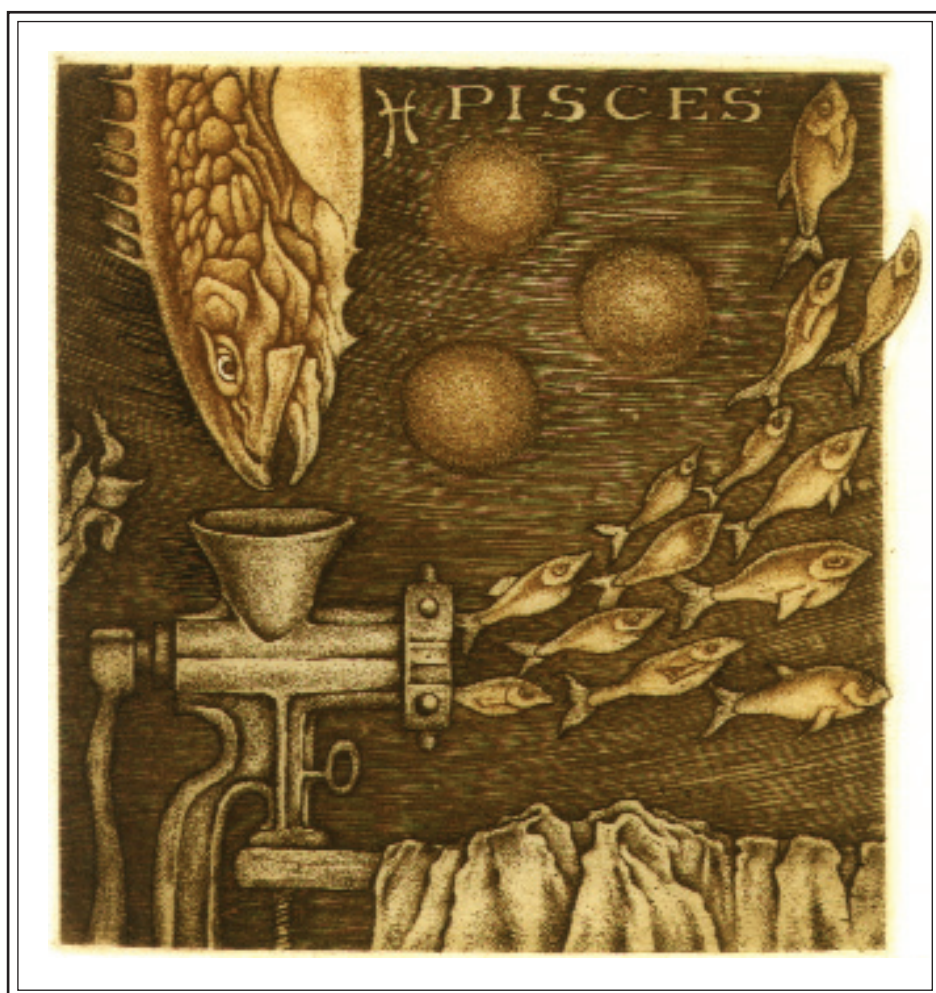
ISSN 1643-0050

magazyn OTORYNO-  
LARYNGOLOGICZNY

WYDANIE SPECJALNE ● luty 2007

**Biofilmy bakteryjne  
w przewlekłym zapaleniu  
zatok przynosowych**

dr James N. Palmer, lek. Norbert P. Górski



---

# Biofilmy bakteryjne w przewlekłym zapaleniu zatok przynosowych

dr James N. Palmer<sup>1</sup>, lek. Norbert P. Górski<sup>2</sup>

## BACTERIAL BIOFILMS IN CHRONIC RHINOSINUSITIS

Bacterial biofilms are three-dimensional aggregates of bacteria that have recently been shown to play a major role in many chronic infections, such as pneumonia in cystic fibrosis patients, endocarditis, and culture-negative otitis media. Chronic sinusitis is a disease that is not only notoriously difficult to treat, but has a wide range of impacts on society, both with respect to quality of life and economic cost. Over the last two decades, there has been a great refinement of both medical and surgical treatment strategies for chronic sinusitis, but there are many patients who continue to suffer. One particularly vexing subcategory of patients with chronic sinusitis includes those who continue to have recalcitrant infections despite surgically opened sinus cavities and what appears to be appropriate culture-directed antibiotic therapy. There is growing evidence that bacterial biofilms may play a role in some forms of chronic sinusitis, and the existence of bacterial biofilms may help to explain the recalcitrant infections often encountered. New directions in therapy aimed at biofilms may provide some success in treatment for patients with chronic sinusitis.

### KEY WORDS:

bacterial biofilms, chronic sinusitis, antibiotic resistance

---

<sup>1</sup>Division of Rhinology, Department of ORL-HNS, University of Pennsylvania  
Head: prof. Eugene N. Meyer

<sup>2</sup>Katedra i Klinika Otolaryngologii AM w Warszawie  
Kierownik: prof. dr hab. med. Kazimierz Niemczyk  
ul. Banacha 1a, 02-097 Warszawa

Biofilmy bakteryjne są to trójwymiarowe skupiska bakterii, które, jak ostatnio udowodniono, odgrywają istotną rolę w patogenezie wielu przewlekłych stanów zapalnych, takich jak: zapalenie płuc u chorych na mukowiscydozę, zapalenie wsierdza i wysiękowe zapalenie ucha środkowego o ujemnym posiewie.

Przewlekłe zapalenie zatok przynosowych (PZZP) jest chorobą nie tylko bardzo trudną do leczenia, lecz także wywierającą wpływ na społeczeństwo w odniesieniu do jakości życia i kosztów ekonomicznych. Przez ostatnie dwie dekady jesteśmy świadkami znacznych zmian w strategii leczenia PZZP zarówno zachowawczego, jak i chirurgicznego. Ciągłe jednak stwierdza się znaczną liczbę chorych cierpiących z tego powodu. Szczególnie trudni terapeutycznie są pacjenci z PZZP, u których mimo chirurgicznego otwarcia zatok i właściwej celowanej antybiotykoterapii występują odporne i nawracające, niepoddające się leczeniu infekcje.

Istnieje coraz więcej dowodów na to, że bakteryjne biofilmy mogą pełnić istotną funkcję w patogenezie niektórych typów PZZP, ich obecnością można również wytłumaczyć odporne na leczenie lub nawracające infekcje. Nowe kierunki terapii uwzględniające istnienie biofilmów jako patogenu mogą zapewnić większy odsetek powodzeń w leczeniu pacjentów z PZZP.

Zapalenie zatok przynosowych jest jedną z najczęstszych przyczyn zgłaszania się pacjentów do lekarza. Reguła ta odnosi się do wszystkich krajów świata o umiarkowanym klimacie. Ostatnio opublikowane w Stanach Zjednoczonych dane określają, że problem ten dotyczy 16% populacji: choroba ogranicza aktywność pacjentów przez 73 mln dni w roku, jest przyczyną 13 mln wizyt lekarskich i wytwarza łączny koszt wysokości 6 mld dolarów rocznie. Wpływa ona

---

również na wiele dziedzin życia społecznego, jak również na jakość życia, ocenianą za pomocą ankiety SF-36 (standardowa ankieta służąca ocenie stanu zdrowia i wyników leczenia) [11, 15, 16]. Amerykańska Akademia Otolaryngologii – Chirurgii Głowy i Szyi (AAO-H&NS) wyróżniła w roku 1997, ze zmianami dokonanymi w roku 2003, dwa typy zapalenia zatok przynosowych w zależności od czasu trwania dolegliwości: ostre (trwające mniej niż 4 tygodnie) i przewlekłe (trwające ponad 12 tygodni), natomiast zapalenie trwające więcej niż 4 a mniej niż 12 tygodni określono jako podostre [1]. Pacjenci cierpiący z powodu PZZP mają znacznie obniżoną jakość życia ze względu na dolegliwości specyficzne dla tej choroby oraz występowanie innych problemów pogarszających ogólny stan zdrowia. Interesujące jest, że w badaniach dotyczących oceny stanu zdrowia w odniesieniu do bólu fizycznego i funkcji społecznej gorzej swój stan zdrowia oceniali pacjenci wymagający zabiegu chirurgicznego zatok przynosowych niż ci, którzy cierpieli z powodu przewlekłej obturacyjnej choroby płuc czy choroby niedokrwiennej serca.

Przewlekłe zapalenie zatok przynosowych może być rozpoznane na podstawie następujących objawów: ograniczenie drożności nosa, obecność wydzieliny w jamie nosa, bóle twarzy i głowy, zaburzenia węchu, podwyższenie temperatury ciała oraz na podstawie stwierdzenia charakterystycznych zmian w obrazach tomografii komputerowej zatok przynosowych, jak również w badaniu endoskopowym jamy nosa.

Niezależnie od prób narzucenia procesowi diagnostycznemu rygorystycznych i sztywnych zasad postępowania, jest oczywiste, że istnieje wiele form PZZP o różnej etiologii. Takie czynniki, jak: astma, alergiczny nieżyt nosa, zakażenia bakteriami Gram-dodatnimi, Gram-ujemnymi i grzybami, polipy nosa, astma aspirynowa, zapalenie kości, superantygeny bakteryjne i inne uwarunkowania indywidualne mogą doprowadzić do rozwinięcia się PZZP.

### **Przewlekłe zapalenie zatok przynosowych a zakażenia szczepami *Pseudomonas aeruginosa***

Przewlekłe zapalenia zatok przynosowych wywołane przez bakterie Gram-ujemne budzą szczególne zainteresowanie badaczy ze względu na trudności w ich leczeniu. W tej grupie zakażeń *Pseudomonas aeruginosa* jest hodowany w znaczącym odsetku, a prawidłowo prowadzona

antybiotykoterapia często nie jest w stanie eradykować tego drobnoustroju, który wydaje się być organizmem odpowiedzialnym za infekcję. PZZP wywołane zakażeniami *Pseudomonas* były w przeszłości przedmiotem licznych badań. Stwierdzono, że w tych przypadkach mamy do czynienia z nasilonym uszkodzeniem zewnątrzcytoplazmatycznym. Jego stopień był znacznie większy niż w eksperymentalnych modelach PZZP wywołanych za pomocą innych bakterii, np. *Streptococcus pneumoniae* [2, 13]. W modelu zwierzęcym u królika odnotowywano wiele zmian morfologicznych: obrzęk, zanikanie gruczołów położonych w błonie śluzowej, owrzodzenia, utratę rzęsek, włóknienie, przebudowę kości i późniejsze zmiany w komórkach kubkowych [18]. Ponieważ wiadomo, że w innych częściach organizmu ludzkiego odporne zakażenia wiążą się również z występowaniem biofilmów wytworzonych przez *Pseudomonas aeruginosa*, istotne wydaje się pytanie, czy formowanie biofilmów przez szczepy *Pseudomonas* może być odpowiedzialne za tę oporną postać PZZP?

### **Czym jest biofilm?**

Biofilm jest samopowstającą społecznością wielokomórkową złożoną z drobnoustrojów. Komórki tworzące biofilm wytwarzają dość cienką polimeryczną macierz (ang. *matrix*) zawierającą polisacharydy, kwasy nukleinowe i białka. Macierz ma określoną strukturę i przylega do powierzchni struktur organicznych i nieorganicznych [3]. Może zwierać komórki grzybów i bakterii, które komunikują się ze sobą oraz współpracują. Jest oczywiste, że dopiero zaczynamy poznawać różne formy biofilmów i ich morfologię. Odkryciem niepodlegającym wątpliwości jest fakt, że bakterie bytujące w biofilmie mają wzory ekspresji genów inne niż bakterie w formie planktonowej (ang. *planktonic*), czyli wolne, niezwiązane z otaczającymi tkankami, swobodnie unoszące się w płynach ustrojowych. Oznacza to, że geny drobnoustrojów żyjących w biofilmie ulegają ekspresji, co powoduje znaczne odmienności ich fenotypu w porównaniu z bakteriami w formie planktonowej. Jedną z takich odmienności w biofilmie jest stwierdzenie zwiększonej częstości poziomego przenoszenia genów między bakteriami, co prawdopodobnie wpływa na dostosowywanie się tych drobnoustrojów do zmieniających się warunków środowiska.

Początki nauki o biofilmach były związane z wodą, z instytucjami inżynierskimi zajmującymi się wodociągami. Osady i zanieczyszczenia



---

## Biofilmy bakteryjne

biologiczne spotykane w rurach wodociągowych są przykładem występowania biofilmów w naturze. Dopiero w ostatnim czasie odnotowano istotne znaczenie biofilmów w medycynie klinicznej [4]. Pospolita płytką bakteryjną, jaką jest kamień nazębny, jest prawdopodobnie najbardziej poznaną formą biofilmu w organizmie człowieka. Anton van Leeuwenhoek, żyjący na przełomie XVII i XVIII wieku wynalazca mikroskopu, który powiększał ok. 300 razy, i odkrywca bakterii, obserwował pierwsze biofilmy, które uzyskiwał przez zeskrobywanie płytki bakteryjnej ze swoich zębów i oglądał *animacule* za pomocą swego prymitywnego mikroskopu. Jednakże, od końca XIX stulecia do czasów obecnych mikrobiolodzy badali fizjologię i funkcję pojedynczych komórek obecnych w płynnych hodowlach bakterii. Pokoleniom lekarzy i naukowców przekazywano wiedzę, że bakterie to tylko pojedyncze komórki lub zbiory komórek bakteryjnych unoszące się bądź pływające w jakimś płynie. W rzeczywistości jako rynolodzy ciągle podzielamy ten punkt widzenia. Gdy zgłasza się pacjent z opornym zakażeniem, pierwszym podejmowanym działaniem jest pobranie pod kontrolą endoskopu materiału do badania bakteriologicznego, najlepiej przez zanurzenie sączka w wydzielinach znajdujących się w jamie nosa lub chorej zatoce. Ten sączek po przetransportowaniu do laboratorium bakteriologicznego jest z wielką uwagą przenoszony kolejno z płytki na płytkę z agarem, dopóki nie pozostanie pojedyncza kolonia bakteryjna, będąca potomstwem pojedynczej komórki bakterii (formy planktonowej). Wtedy po wzroście kolonii określa się jej wrażliwość na poszczególne antybiotyki. Powoli zaczyna docierać do świadomości badaczy, że ta sama bakteria obecna w organizmie pacjenta w postaci biofilmu i w formie wolnej, z którą mamy do czynienia na płytce z agarem, ma bardzo różne właściwości, m. in. wrażliwość na antybiotyki może być istotnie różna [5, 17]. Badania nad bakteriami koncentrowały się nad ich formą planktonową prawdopodobnie z powodu trudności technicznych związanych z badaniem biofilmów. Dopiero najnowsze osiągnięcia metod badawczych umożliwiają prowadzenie tych badań.

Już teraz wiadomo, że powinniśmy przewartościować wiedzę na temat bakterii i zakażeń bakteryjnych, gdyż wyniki badań prowadzonych w warunkach odpowiadających naturalnemu środowisku bakterii pokazują zupełnie inne, niż dotychczas sądzono relacje pomiędzy bakterią a gospodarzem.

Biofilmy bakteryjne są to zorganizowane skupiska bakterii przytwierdzone do powierzchni wewnętrznych organizmów żywych: błon śluzowych, śródbłonna naczyń krwionośnych i limfatycznych czy też powierzchni sprzętów medycznych mających kontakt z wnętrzem organizmu: kaniul, drenów czy rurek tracheostomijnych. Powstają ze zbioru przypadkowych i niezależnych od siebie bakterii unoszących się w płynie jak plankton, które następnie przyczepiają się do powierzchni i zaczynają formować mikrokolonie. Gdy gęstość bakterii osiąga punkt krytyczny, rozpoczyna się międzybakteryjna wymiana sygnału. Zjawisko to określa się jako odczucie kworum (ang. *quorum sensing*) [7]. Wywołuje ono kaskadę ekspresji białek, która ostatecznie prowadzi do powstania fenotypu biofilmu. Fenotyp ten charakteryzuje się formowaniem wież, warstw i kanałów wodnych – czyli *syncytium* stworzonego z pojedynczych bakterii przejawiających funkcjonalną heterogenność wewnątrz społeczności. Spoidłem dla tych struktur bakteryjnych jest macierz składająca się z wydzielonych przez bakterie egzopolisacharydów, tworząca prawie 90% objętości biofilmu. Obecne w biofilmie bakterie o charakterystycznym fenotypie mogą pozostawać niewrażliwe na mechanizmy obronne gospodarza i objawiać zmniejszoną wrażliwość na ogólną bądź miejscową antybiotykoterapię. Z biofilmu mogą uwalniać się bakterie w formie wolnej (planktonowej), przyczyniające się do powstawania nowych ognisk infekcji w odległych rejonach organizmu.

Obecność biofilmów w organizmie gospodarza może być bardzo niebezpieczna z powodu ich oporności na terapię antybiotykami. Stwierdzono, że bakterie żyjące w biofilmie są w stanie przeżyć nawet po zastosowaniu stężeń antybiotyków tysiące razy większych niż zabójcze dla bakterii w formie planktonowej.

Powstało kilka teorii próbujących wytłumaczyć tę oporność [24]. Jedna z nich mówi, że polisacharydowy płaszcz powoduje spowolnioną lub niekompletną penetracją antybiotyku w głąb biofilmu. Badania, w których określano stężenia antybiotyków wewnątrz biofilmów, wydają się przeczyć tej teorii. Pomiarzy stężeń wykazały, że antybiotyki mogą skutecznie przenikać do biofilmu dzięki kanałom wodnym, przez które przedostają się do jego rdzeniowych rejonów. Znaczenie ma prawdopodobnie to, że woda stanowi znaczną część całkowitej masy biofilmu. Inna

z teorii mówi, że antybiotyki penetrujące do wewnątrz biofilmu mogą być dezaktywowane lub neutralizowane, zwłaszcza wówczas, gdy dodatkowo naładowany antybiotyk wchodziłby w interakcje z ujemnie naładowanym polimerem macierzy biofilmu. Inna hipoteza sugeruje, że nagromadzenie hamujących produktów przemiany materii lub wyczerpanie potrzebnego substratu może przesunąć bakterie z podstawnych warstw biofilmu do stanu niewzrostowego, określanego jako zatrzymana animacja (ang. *suspended animation*), dzięki któremu bakterie nabierają względnej oporności na antybiotyki. Zmiana składników i ich stężeń może doprowadzić do powstania sił osmotycznych, które jako czynniki drażniące powodują reakcję bakterii skutkującą zmniejszeniem kanałów porynowych w ich otocze i w konsekwencji o wiele mniej skuteczne przenikanie antybiotyku do cytoplazmy bakterii. Tak więc zmienione w biofilmie cechy fenotypowe bakterii mają duże znaczenie dla jego funkcji. Znaczenie praktyczne dla klinicysty ma stwierdzenie, że podawanie antybiotyków w dawkach leczniczych powoduje śmierć bakterii na powierzchni biofilmu, natomiast bakterie żyjące w jego głębi przeżywają, zapewniając materiał do dalszego wzrostu.

Przypuszcza się, że biofilmy odgrywają istotną rolę w wielu procesach infekcyjnych, m.in. w próchnicy zębów, paradontozie, wysiękowym zapaleniu ucha środkowego, infekcji układu mięśniowo-szkieletowego, martwiczych zapaleniach powięzi, infekcjach dróg żółciowych, zapaleniu szpiku kostnego, przewlekłym zapaleniu gruczołu krokowego, rodzinnie występującym odzastawkowym zapaleniu wsierdza czy zapaleniu płuc w przebiegu mukowiscydozy. Ponadto istnieje długa lista zakażeń nosokomialnych, w których są obecne biofilmy. Są to: zapalenie płuc występujące na oddziałach intensywnej opieki medycznej u pacjentów zaintubowanych, zakażenia szwów po zabiegach chirurgicznych, zakażenia spojówek u osób używających soczewek kontaktowych, odcewnikowe zapalenia pęcherza moczowego, zakażenia miejscowe i posocznice od cewników założonych do żył centralnych. W praktyce laryngologicznej istotne znaczenie ma obecność biofilmów na rurkach tracheostomijnych, protezach głosowych, drenach wentylacyjnych ucha środkowego, co może skutkować wystąpieniem respiratorowego zapalenia płuc czy przewlekłego wysiękowego zapalenia ucha środkowego. Biofilmy powstają także na implantach: zastawkach serca, protezach

ortopedycznych, rozrusznikach serca czy implantach ślimakowych. Obecność biofilmu sama w sobie nie musi mieć negatywnych konsekwencji, lecz osiągnięcie przez niego w piątym stadium rozwoju może powodować rozsiew uwolnionych bakterii planktonowych, skutkujący chorobami układowymi.

Często uważa się, że przewlekłe zapalenie ucha środkowego oraz przewlekłe zapalenie zatok przynosowych mają ze sobą wiele wspólnego, albowiem obie postaci zapalenia dotyczą jam powietrznych zawartych w trzewioczaszce, pokrytych nabłonkiem urzęsionym. Od lat wiadomo, że w przewlekłym wysiękowym zapaleniu ucha środkowego 70% posiewów jest jałowych. W coraz liczniejszych doniesieniach stwierdza się, że za te jałowe posiewy oraz względną oporność na antybiotykoterapię, przy dobrej skuteczności paracentezy błony bębenkowej z założeniem drenażu wentylacyjnego ucha środkowego, jest odpowiedzialny biofilm na wyściółce ucha środkowego. Ehrlich i in. [8] użyli zwierzęcego modelu zapalenia ucha środkowego u szynszyli, wywołanego zakażeniem *Haemophilus influenzae*, i oceniali przebieg choroby za pomocą mikroskopu elektronowego, by określić model morfologiczny. Na podstawie tego modelu udało się wyróżnić pięć stadiów tworzenia się biofilmu:

- I. – bakterie mocują się do powierzchni, rozpoczynając kaskadę ekspresji genów i umożliwiając komunikację pomiędzy sobą w celu określenia, czy wystąpiło odczucie quorum,
- II. – bakterie przylegają ściśle do powierzchni,
- III. – powstają agregaty bakterii, formujące kolonie,
- IV. – dojrzewanie biofilmu i różnicowanie agregatów bakteryjnych w złożone formy wież o kształcie grzyba,
- V. – uwalnianie się pojedynczych bakterii lub ich skupisk do otaczającego środowiska.

Piąty stopień formowania biofilmu – oddzielenie się od niego bakterii lub ich skupisk w formie planktonu, jest fazą, z którą klinicyści są najbardziej zaznajomieni. Nikomu nie są obce nawrotowe epizody gorączki o przebiegu heptycznym, trudno poddającej się leczeniu przeciwbakteryjnemu. Siły uwalniające (np. pobieranie za pomocą sączka materiału do badania bakteriologicznego) lub aktywne przetwarzanie molekularne biofilmu powodują rozsiew pojedynczych komórek lub małych konglomeratów bakteryjnych, które są zdolne do wytworzenia biofilmu w innym miejscu organizmu.

W obu modelach – zapalenia ucha środkowego u szynszyli i zapalenia zatok przynosowych u królików – proces formowania biofilmu zajmuje tylko 5 dni. Wspomniane wieże zawierają kanały wodne, które umożliwiają dyfuzję substancji odżywczych i usuwanie odpadów metabolicznych, a egzomukopolisacharydy, z których wieże są zbudowane, otaczają miliony mikrośrodków: mikrokolonii bakteryjnych. Taka budowa biofilmu zapewnia bakteriom większą odporność na zmiany otaczającego środowiska oraz umożliwia symbiotyczną koegzystencję bakterii tlenowych i beztlenowych czy grzybów, przypominającą sposób funkcjonowania organizmów wielokomórkowych [14].

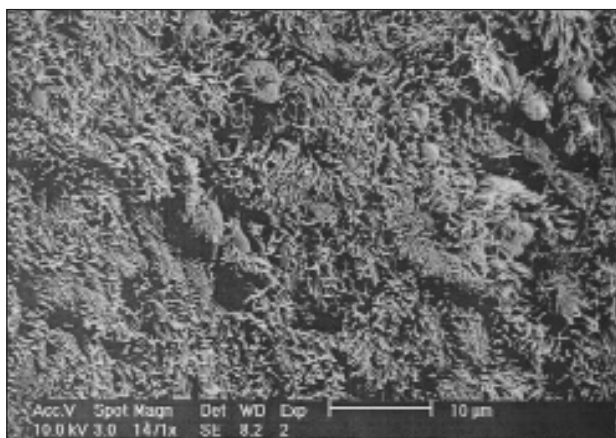
Należy zauważyć, że nie wszystkie biofilmy mają taką samą morfologię, ponieważ fenotyp biofilmu w wysokim stopniu zależy od środowiska, w którym powstaje. Nie powinno być zaskoczeniem, że większość mikrobiologicznych badań laboratoryjnych biofilmów prowadzi się w różnego rodzaju komorach przepływowych. Biofilmy pierwotnie zostały bowiem odkryte w rurach wodociągowych i drażniący wpływ ruchu cieczy wydaje się stymulować bakterie do wytworzenia biofilmu.

Niezmiernie ważne jest zrozumienie istoty biofilmu tworzącego się na błonie śluzowej [21]. Takie biofilmy w odniesieniu do ekspresji genowej i natury ich środowiska nie będą identyczne z obecnymi na wewnętrznych powierzchniach organizmu (np. wewnętrznych powierzchniach naczyń krwionośnych), ponieważ będą zmodyfikowane przez odpowiedź zapalną gospodarza oraz mogą zawierać pewne białka – produkty przemiany materii czy wydzieliny komórkowe gospodarza.

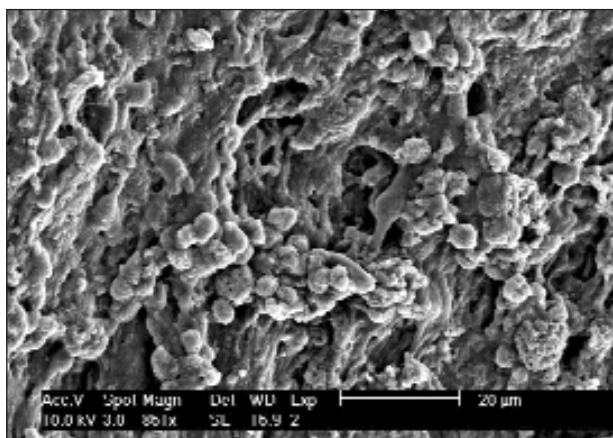
## Biofilmy bateryjne a przewlekłe zapalenie zatok przynosowych

Ponieważ istnieje teoria łącząca występowanie opornych infekcji w przebiegu PZZP z obecnością biofilmów bakteryjnych, konieczne stało się przeprowadzenie badań wykazujących, czy rzeczywiście biofilmy bakteryjne są obecne w tej jednostce chorobowej. Pierwszym krokiem było wykazanie, czy biofilmy są stwierdzane w ciałach obcych umieszczonych wewnątrz zatok przynosowych, np. w drenach zakładanych do zatok czołowych podczas zabiegu operacyjnego wykonywanego z powodu przewlekłego zapalenia zatok czołowych. Wydawało się, że sytuacja ta będzie analogiczna jak w przypadku dreników usznych stosowanych w leczeniu wysiękowego zapalenia ucha środkowego. W laboratorium poddano ocenie dreny silastikowe, które pozostawały w organizmie pacjenta od 1 do 4 tygodni po operacji endoskopowej zatok przynosowych. Niezwłocznie po ich usunięciu przeprowadzono badanie pod mikroskopem elektronowym oraz badanie bakteriologiczne z hodowlą. We wszystkich przypadkach na podstawie kryteriów morfologicznych wykazano obecność biofilmów bakteryjnych. Stwierdzono kanały wodne, glikokaliks i trójwymiarową strukturę. Z pięciu posiewów wyhodowano *Staphylococcus aureus*, o którym wiadomo, że formuje biofilmy [19, 20].

Następnym krokiem było stworzenie modelu zwierzęcego. Wybrany został dobrze opisany model zapalenia zatok przynosowych u królika. Ujście prawej zatoki szczękowej u białego królika nowozelandzkiego zostało zamknięte, a zatokę nastrzyknięto zawiesiną bakterii *Pseudomonas*

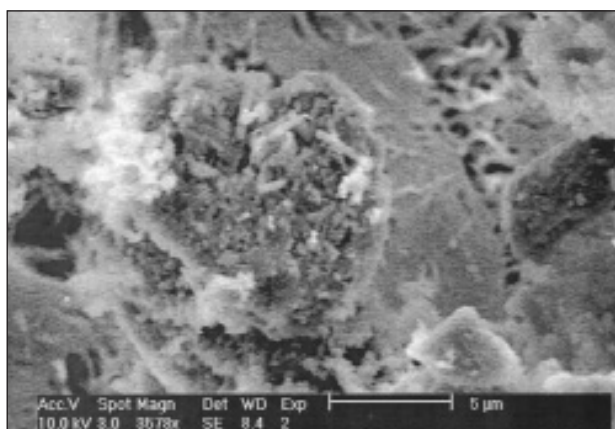


Ryc. 1. Błona śluzowa o prawidłowym wyglądzie pobrana z wnętrza zatoki szczękowej królika podczas zabiegu symulowanej chirurgii (ang. *sham surgery*).



Ryc. 2. Biofilm stworzony przez *Pseudomonas* w zatoce szczękowej królika 20 dni po zakażeniu. Widoczne formacje wież, agregaty przestrzenne, struktura biofilmu.



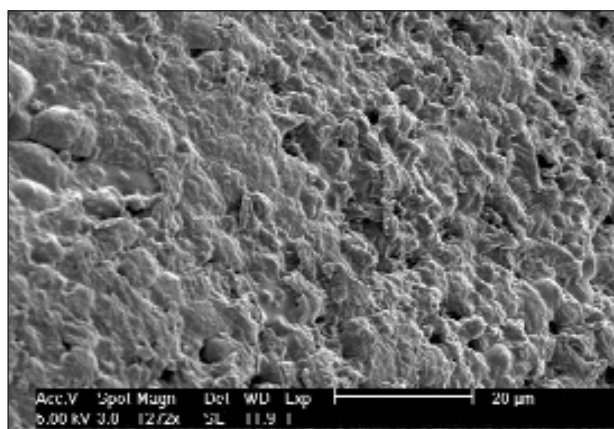


Ryc. 3. Przekrój macieży biofilmu wytworzonego przez bakterie *Pseudomonas* widziany pod mikroskopem elektronowym. Charakterystyczna dla biofilmu tworzonych przez bakterie Gram-ujemne morfologia wież widoczna na przełamanej jego powierzchni.

*aeruginosa*, znajdujących się w fazie wzrostu, których patogenność dla zwierząt wykazano uprzednio. Króliki zostały przebadane w 1, 5, 10 i 20 dniu, a pobraną z zatoki treść ropną posiano na obecność *Pseudomonas aeruginosa*. Błona śluzowa została zbadana pod mikroskopem elektronowym (ryciny 1–4). Obrazy od dnia 1 do 20 wykazują wzrost biofilmu z obecnością wydzielonej egzopolisacharydowej macierzy, kanałami wodnymi i pałeczkami *Pseudomonas*. Symulowany zabieg chirurgiczny, jak również zamknięcie ujść zatok bez umieszczania w nich bakterii wykazały podczas badania prawidłową błonę śluzową [20]. Wyniki przytoczonych badań udowadniają, że bakteryjne biofilmy są obecne w zapaleniu zatok przynosowych.

Następnym etapem było przeprowadzenie badań na ludziach. Po uzyskaniu zgody komisji etycznej i zgody pacjentów pobrano małe próbki błony śluzowej z jam nosa i zatok przynosowych od 16 pacjentów poddawanych reoperacjom zatok, ponieważ nie przyniosły im poprawy ani antybiotykoterapia, ani poprzednie zabiegi operacyjne. Próbki zostały poddane badaniu pod mikroskopem elektronowym, w którym wykazano obraz zakażenia z obecnością komórek stanu zapalnego i utratę rzęsek komórkowych. W 4 próbkach stwierdzono także prawie całkowite pokrycie rzęsek przez trójwymiarowy kożuch. Po dokładnym badaniu ujawniono w nim pałeczkowate struktury i kanały wodne substancji będącej prawdopodobnie egzopolisacharydową macierzą. Hodowle u tych pacjentów wykazały wzrost *Pseudomonas aeruginosa* w formie mukoidalnej [6].

Także inne zespoły badały możliwość istnienia biofilmów bakteryjnych u pacjentów z PZZP.



Ryc. 4. Błona śluzowa pobrana z zatoki szczękowej człowieka. Widoczny biofilm o morfologii charakterystycznej dla szczepów *Pseudomonas*.

Metody stosowane w tych badaniach obejmowały badanie z zastosowaniem mikroskopu elektronowego, mikroskopię transmisyjno-elektronową i fluorescencyjną hybrydyzację *in situ* (FISH) [9, 22, 23]. Warto odnotować, że te metody są komplementarne i mogą wykazać obecność nie tylko pałeczek *Pseudomonas sp.*, lecz także *Staphylococcus aureus*.

### Biofilmy bakteryjne w PZZP – perspektywy na przyszłość

Mimo że dotychczas przeprowadzone badania zaczęły dopiero dotykać istoty problemu, należy przypuszczać, że biofilmy bakteryjne odgrywają istotną rolę w etiopatologii PZZP. Dalsze badania będą zapewne prowadzone z zastosowaniem laserowej konfokalnej mikroskopii skaningowej w celu lepszego uwidocznienia wież, kanałów wodnych i innych charakterystycznych struktur morfologicznych. Również zastosowanie metod immunohistochemicznych umożliwi identyfikację bakterii. Wraz z postępem badań dotyczących natury biofilmów na poziomie komórkowym i molekularnym mogą pojawić się nowe standardy leczenia i eradykacji biofilmów. Terapia uderzająca w specyficzne miejsca na różnych etapach molekularnego cyklu życiowego biofilmu, jak np. zakłócenie fazy przyczepiania przez rozerwanie wież typu IV *Pseudomonas sp.* lub zakłócenie odczucia kworum, wydaje się metodą fantastyczną, lecz jakże obiecującą.

Prawdopodobnie PZZP ma wiele czynników etiologicznych, lecz obecnie tylko jedną wspólną

---

metodę leczenia. Użyteczną analogią kliniczną może być niewydolność krążenia, która powstaje wskutek różnych procesów chorobowych, jak kardiomiopatia niedokrwienna, wady zastawek, kardiomiopatia o etiologii wirusowej, kardiomiopatia przerostowa rodzinna i wielu innych, lecz terapia jest zawsze taka sama: leczenie inotropowe i redukcja obciążenia następczego (ang. *afterload reduction*).

Przewlekłe zapalenie zatok przynosowych zapewne ma wiele wywołujących je czynników, które mogą być od siebie niezależne, jak np. zakażenie bakteryjne (zarówno przez formy wolne bakterii, jak i o typie biofilmu), odmienności budowy anatomicznej, alergia, czynniki genetyczne, zakażenie grzybicze, nadreaktywność dróg oddechowych, superantygeny i wiele innych. Leczenie jednak pozostaje takie samo: przeciwbakteryjne i przeciwzapalne w połączeniu z chirurgicznym przywróceniem wentylacji i drenażu zakażonych zatok. Należy podkreślić, że być może jest to właśnie optymalna i właściwa terapia usuwająca problemy związane z obecnością biofilmów bakteryjnych. *Per analogiam* najbardziej skutecznym sposobem leczenia wysiękowego zapalenia ucha środkowego jest umieszczenie w błonie bębenkowej dreniku i przywrócenie wentylacji, dzięki czemu zwiększa się stężenie tlenu w uchu środkowym, a sprawna wentylacja wspomaga naturalne mechanizmy obronne organizmu.

Nawet w przypadku leczenia zakończonego powodzeniem wydaje się, że biofilmy bakteryjne mogą obniżać odporność organizmu i przyczyniać się zarówno do powstawania, jak i do nawrotu choroby. Nadzieję niesie ze sobą leczenie z zastosowaniem niskich dawek makrolidów. Terapia ta wydaje się doskonała w przypadkach, w których odpowiedzialność za powstanie PZZP jest przypisywana biofilmowi bakteryjnemu. Niezależnie od tego, że stosowane dawki makrolidów są o wiele niższe niż określone MIC dla pałeczek *Pseudomonas*, wykazano pewną skuteczność w zmniejszeniu się tworzenia biofilmów po zastosowaniu tej metody leczenia [10, 25, 12]. Makrolidy prawdopodobnie działają nie tylko przeciwbakteryjnie, lecz także modulują przebieg zakażenia, ponieważ wpływają na przesyłanie informacji między bakteriami oraz na immunomodulację. Mechanizmy stojące za tym częściowym sukcesem wymagają dalszego badania; istnieje wiele kwestii, które należy wyjaśnić, by pojąć, czym są i jak leczyć te przewlekłe infekcje?

Metody terapeutyczne w odniesieniu do biofilmów są obecnie na etapie rozważań teoretycznych i wstępnych eksperymentów. Wyjaśnienia wymagają relacje pomiędzy biofilmem bakteryjnym a mechanizmami obronnymi gospodarza. Konieczne jest wynalezienie metod, które będą wykorzystywały nie tylko właściwości bakterio-bójcze antybiotyków, lecz także niszczyły samą strukturę biofilmów. ●

Komentarz do tego artykułu możesz przedstawić na stronie  
[www.magazynorl.pl](http://www.magazynorl.pl)



1. Benninger M., Ferguson B., Hadley J. i in. (2003) Adult chronic rhinosinusitis: definitions, diagnosis, epidemiology, and pathophysiology. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 129 (3 suppl.), S 1-32.
2. Bolger W.E., Leonard Jr.D., Dick E.J., Stierna P. (1997) Gram-negative sinusitis: a bacteriologic and histologic study in rabbits. *American Journal of Rhinology* 11, 15-25.
3. Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg E.P. (1999) Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284, 1318-1322.
4. Costerton J.W., Stewart P.S. Battling biofilms: the war is against bacterial colonies that cause some of the most tenacious infections known. The weapon is knowledge of the enemy's communication system. *Science*.
5. Costerton J.W., Veeh R., Shirtliff M. i in. (2003) The application of biofilms science to the study and control of chronic bacterial infections. *J. Clin. Invest.* 112, 1466-1477.
6. Cryer J., Schipor I., Perloff J.R., Palmer J.N. (2004) Evidence of bacterial biofilms in human chronic sinusitis. *ORL J Otorhinolaryngol. Relat. Spec.* 66 (3), 155-158.
7. Davies D.G., Parsek M.R., Pearson J.P., Iglewski B.H., Costerton J.W., Greenberg E.P. (1998) The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilms. *Science* 280, 295-298.
8. Ehrlich G.D., Veeh R., Wang X., Costerton J.W., Hayes J.D., Hu F.Z., Daigle B.J., Ehrlich M.D., Post J.C. (2002) Mucosal biofilms formation on middle-ear mucosa in the chinchilla model of otitis media. *JAMA*.
9. Ferguson B.J., Stolz D. (2004) Demonstration of biofilm in human chronic bacterial rhinosinusitis. Abstract. American Rhinologic Society 50<sup>th</sup> Annual Meeting Sept., New York City NY, 65.
10. Gillis R.J., Iglewski B.H. (2004) Azithromycin retards *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation. *Journal of Clinical Microbiology* 42 (12), VI, 5842-5845.
11. Gliklich R.E., Metson R. (1995) The health impact of chronic sinusitis in patients seeking otolaryngologic care. *Otolaryngology-Head and Neck Surg.* 113, 104-109.
12. Górski N.P., Gromek I. (2005) Zastosowanie makrolidów w leczeniu przewlekłego zapalenia zatok przynosowych. *Mag. Otorinolaryngologiczny, wydanie specjalne, sierpień*, 3-15.
13. Khalid A.N., Quraishi S.A., Kennedy D.W. (2004) Long-term quality of life measures after functional endoscopic sinus surgery. *Am. J. Rhinol.* 18 (3), 131-136.
14. Mah T.C., O'Toole G.A. (2001) Mechanisms of biofilms resistance to antimicrobial agents. *Trends in Microbiology* Jan, 9 (1), 34-39.
15. Murphy M.P., Fishman P., Short S.O., Sullivan S.D., Yueh B., Weymuller E.A. (2002) Health care utilization and cost amount adults with chronic rhinosinusitis enrolled in a health maintenance organization. *Otolaryngology-Head and Neck Surg.* 127 (5), 367-376.
16. Osguthorpe J.D. (2001) Adult rhinosinusitis: diagnosis and management. *Am. Fam. Physician* 63 (1), 69-76.
17. Parsek M.R., Singh P.K. (2002) Bacterial biofilms. An emerging link to disease pathogenesis. *Annual Review of Microbiology.* 57, 677-701.
18. Perloff J.R., Gannon F.H., Bolger W.E., Montone K.T., Orlandi R., Kennedy D.W. (2001) Bone involvement in sinusitis: an apparent pathway for the spread of disease. *Laryngoscope* 110, 2096-2099.
19. Perloff J.R., Palmer J.N. (2004) Evidence of bacterial biofilms on frontal recess stents in patients with chronic rhinosinusitis. *Am. J. Rhinol.* 18 (6), 377-380.
20. Perloff J.R., Palmer J.N. (2005) Evidence of bacterial biofilms in a rabbit model of sinusitis. *Am. J. Rhinol.*, 19 (1), 1-6.
21. Post J.C., Stoodley P., Hall-Stoodley L., Ehrlich G.D. (2004) The role of biofilms in otolaryngologic infections. *Otolaryngology and Head and Neck Surgery* 12, 185-190.
22. Ramadan H.H., Sanclement J.A., Thomas J.G. (2005) Chronic rhinosinusitis and biofilms. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 132 (3), 414-417.
23. Sanderson S.R., Leid J.G., Hunsaker D.H. (2004) Bacterial biofilms on the sinus mucosa of human subjects with chronic rhinosinusitis. Abstract American Acad of Otolaryngic Allergy Annual Meeting Sept, New York City, NY.
24. Stewart P.S., Costerton J.W. (2001) Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* 358, 135-138.
25. Wozniak D.J., Keyser R. (2004) Effects of subinhibitory concentrations of macrolide antibiotics on *Pseudomonas aeruginosa*. *Chest*, 125, S 62S-69.

Wydawca nie ponosi odpowiedzialności za treść reklam i ogłoszeń.

© Wydawca: Wydawnictwo EGERIA B. Krzeska. 02-218 Warszawa 124, skr. poczt. 60

Ilustracja na okładce: P. Szadkowski. Opracowanie graficzne, skład i łamanie: M-art, tel. 739 88 24

[www.magazynorl.pl](http://www.magazynorl.pl)