proLékaře.cz | 27.11.2026

Tvorba biofilmu močovými patogénmi izolovanými z chronických a rekurentných infekcií močových ciest a vplyv biofilmu na *in vitro* účinok gentamicínu a kolistínu

Vašková S.[1, 2], Slobodníková L.[3], Fajtl D.[4], Blažíčková S.[1, 2], Botek R. [1, 2], Melicháčová V.[1]

[1]Laboratóriá Piešťany, spol. s r. o., Piešťany
[2]Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnavská univerzita, Trnava
[3]Mikrobiologický ústav LFUK a UNB, Bratislava
[4]Urologická ambulancia DF-REN, spol. s r. o., Hlohovec

SÚHRN

Cieľ štúdie: V in vitro podmienkach porovnať tvorbu biofilmu bakteriálnymi kmeňmi izolovanými z chronických infekcií močových ciest (IMC) s kmeňmi izolovanými z akútnych nekomplikovaných IMC, stanoviť účinok gentamicínu a kolistínu na biofilmovú formu rastu týchto kmeňov a na základe výsledkov odhadnúť terapeutický účinok testovaných antibiotík pri liečbe pacientov s predpokladanou prítomnosťou biofilmu v močových cestách.
Materiál a metódy: Súbor 40 bakteriálnych kmeňov opakovane izolovaných od pacientov s chronickými alebo rekurentnými IMC sa porovnával so súborom 40 kmeňov z akútnych IMC. Oba súbory obsahovali približne rovnaký počet vyšetrených kmeňov *Escherichia coli, Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis* a *Pseudomonas aeruginosa*. Tvorba biofilmu sa testovala in vitro metódou v polystyrénových mikrotitračných platničkách. Hodnoty MIC a MBC gentamicínu a kolistínu sa stanovili bujónovou mikrodiluènou metódou. Hodnoty minimálnych biofilm inhibujúcich koncentrácií (MBIC) sa overovali mikrodiluènou metódou a hodnoty minimálnych biofilm eradikujúcich koncentrácií (MBEC) sa následne zisťovali detekciou neinaktivovaných baktérií kultiváciou v médiu bez antibiotík. Výsledky sa štatisticky analyzovali Fisherovým exaktným testom a Studentovým t-testom.
Výsledky: Biofilm tvorilo 90 % kmeňov z chronických IMC a len 52 % kmeňov z akútnych IMC (p = 0,0004). Hodnoty MBIC gentamicínu sa u kmeňov tvoriacich biofilm pohybovali v rozmedzí 4–256 mg/l a hodnoty MBIC kolistínu v rozmedzí 2–64 mg/l . Minimálne biofilm eradikujúce koncentrácie boli ešte vyššie – v prípade gentamicínu 8 až > 512 mg/l a kolistínu 32 až > 512 mg/l (rozdiely medzi hodnotami MIC a MBIC, resp. MBEC, boli štatisticky vysoko signifikantné; p < 0,0001). Dá sa predpokladať, že terapeutický účinok parenterálne podávaného gentamicínu alebo kolistínu na močové infekcie s prítomnosťou biofilmu by bol napriek ich vysokým koncentráciám dosahovaným v moči pomerne neistý. Zvýšené koncentrácie liečiv by sa mohli dosiahnuť pri lokálnom instilačnom podaní do močového mechúra, doposiaľ však chýbajú presne stanovené interpretačné kritériá pre hodnoty MBEC, ako aj klinické štúdie oprávňujúce využiť takéto výsledky pri predikcii klinickej úspešnosti liečby.
Záver: Laboratórne testovanie tvorby biofilmu a stanovenie hodnôt MBIC a MBEC antibiotík v prípade kmeňov produkujúcich biofilm by mohlo byť vhodným doplnkom diagnostiky chronických a rekurentných IMC. Ošetrujúcemu lekárovi by poskytli informácie nevyhnutné pre spoľahlivejšiu individualizovanú terapiu a znížili by riziko vzniku a selekcie multirezistentných kmeňov baktérií počas opakovanej a eradikačne neúčinnej liečby chronických a rekurentných IMC.

KĽÚČOVÉ SLOVÁ

chronické a rekurentné infekcie močových ciest – bakteriálny biofilm – MBIC – MBEC – gentamicín – kolistín

ABSTRACT

Vašková S., Slobodníková L., Fajtl D., Blažíčková S., Botek R., Melicháčová V.: Biofilm-producing potential of urinary pathogens isolated from chronic and recurrent urinary tract infections and impact of biofilm on gentamicin and colistin *in vitro* efficacy
Aim: The presented study was to compare in vitro biofilm production by bacterial strains from chronic/recurrent and from acute non-complicated UTIs. The activity of gentamicin and colistin on biofilm form of these strains has also been detected, with goal to predict the gentamicin and colistin therapeutic efficacy in the antimicrobial treatment of patients with a suspected presence of biofilm in urinary tract.
Material and methods: The group of 40 bacterial strains repeatedly isolated from patients with chronic or recurrent UTIs was compared with the group of 40 strains from acute UTIs. Both groups contained comparable number of strains of *Escherichia coli, Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis* and *Pseudomonas aeruginosa*. Biofilm production was assessed by method in polystyrene microtiter plate. The MIC and MBC values of gentamicin and colistin were detected by broth microdilution assay. The minimal biofilm inhibitory (MBIC) and biofilm eradication concentrations (MBEC) were tested by microdilution method. Non-inactivated biofilm-associated bacteria were detected after overnight incubation in broth medium free of antimicrobials. The statistical analysis of results was performed by Fisher's exact test and by Student's t-test.
Results: Biofilm was produced by 90% strains from chronic UTIs, but only by 52% of strains from acute UTIs (p = 0.0004). In the biofilm producing strains, the MBIC values of gentamicin reached from four to 256 mg/L, the MBIC levels of colistin from two to 64 mg/L. The minimal biofilm eradicating concentrations were even higher: for gentamicin from eight to > 512 mg/L, and for colistin from 32 to > 512 mg/L. The differences between MIC and MBIC/MBEC levels were statistically highly significant (p < 0.0001).

proLékaře.cz | 27.11.2026

Presumably, the therapeutic success of parenterally applied gentamicin or colistin on biofilm-related urinary tract infections would be, without respect to the high concentration of gentamicin or colistin achievable in urine during parenteral application, rather unpredictable. Local intravesical instillation would allow for achieving higher gentamicin and colistin concentrations; however, there is need for interpretation criteria for MBEC values concerning therapy, as well as for clinical studies allowing for application of those values to predict clinical success of therapy.
Conclusions: Laboratory detection of biofilm production and evaluation of the MBIC/MBEC values of antimicrobials for strains producing biofilm might be a valuable complement to the microbiologic diagnostics of chronic and recurrent UTIs. It might provide valuable information for more reliable individualised therapy and so decrease the risk of emergence and selection of multiresistant strains during repeated and non-eradicating therapy of chronic and recurrent UTIs.

KEYWORDS
chronic and recurrent urinary tract infections – bacterial biofilm – MBIC – MBEC – gentamicin – colistin

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 69, 2020, č. 1, s. 3–9

ÚVOD

Rekurentné IMC sa podľa najnovších smerníc Európskej urologickej spoločnosti [2] definujú ako nekomplikované alebo komplikované IMC s frekvenciou výskytu aspoň tri razy do roka, alebo dva razy za posledných 6 mesiacov. S rizikom komplikovaných IMC treba rátať u mužov, gravidných žien, pacientov s anatomickými a funkčnými poruchami močového traktu, s permanentnými močovými katétrami, chorobami obličiek a/alebo základným ochorením, ktoré vedie k zníženiu obranyschopnosti. Za IMC asociované s katétrami sa považujú infekcie pacientov s katétrom v močových cestách, alebo pacientov, ktorí mali prítomný močový katéter do 48 hodín pred vznikom infekcie [2].
Vo všeobecnosti je najčastejším pôvodcom IMC *Escherichia coli*, menej často býva pôvodcom *Klebsiella* spp., *Staphylococcus saprophyticus* (vyskytuje sa najmä u mladých sexuálne aktívnych žien), *Enterococcus* spp. *Streptococcus agalactiae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* a *Candida albicans* [2, 6, 10]. Infekcie spojené s močovým katétrom vyvoláva podobné spektrum baktérií, ku ktorým sa pripájajú aj koaguláza negatívne stafylokoky, predovšetkým *Staphylococcus epidermidis* [1, 2, 16].
Rekurentné IMC vznikajú buď reinfekciou (t.j. opakovanou, najčastejšie ascendentnou infekciou) alebo relapsom perzistentnej infekcie [13]. Rizikovým faktorom reinfekcie je u žien kolonizácia vaginálnej sliznice alebo intestinálneho traktu močovým patogénom, ktorý z tohto rezervoára opakovane invaduje do močových ciest. U mužov sa ascendentné rekurentné infekcie týkajú najmä najmladších a najstarších vekových skupín a najčastejším zdrojom infekcie je kolonizovaný predkožkový vak [2]. V prípade perzistentnej infekcie nie je pôvodca eradikovaný ani 2-týždňovou terapiou antimikrobiálnymi liečivami s laboratórne overenou účinnosťou, prežíva v močovom trakte a po určitom čase vyvoláva relaps infekcie [7].
Perzistujúce mikroorganizmy môžu byť v močovom trakte prítomné intracelulárne v bunkách močového epitelu, alebo sú asociované s biofilmom [10, 13]. Biofilm sa v močových cestách môže vytvoriť buď na povrchu cudzích telies (katétrov, stentov, močových kameňov), alebo na povrchu natívnych tkanív a slizníc, obvykle poškodených primárnym patologickým procesom [10, 14]. Pri infekciách vznikajúcich z mikrobiálnych biofilmov kolonizujúcich katétre v močových cestách vstupujú pôvodcovia do močového mechúra ascendentne po katétri komunikujúcom s vonkajším prostredím [16] a často sú exogénneho pôvodu ako následok kontaminácie katétrov pri ich inzercii a nesprávnej – neaseptickej – manipulácii s katétrom a zberným vakom.
Mikroorganizmy získavajú v biofilme zvýšenú odolnosť voči antimikrobiálnym látkam a obranným mechanizmom hostiteľa [14]. Koncentrácie antibiotík, ktoré eradikujú mikroorganizmy v biofilme, obvykle výrazne presahujú minimálne inhibičné koncentrácie (MIC) a minimálne mikrobicídne koncentrácie detegované laboratórnymi testami v planktonickej kultúre. Antimikrobiálne liečivá podávané pacientovi s infekciou spojenou s biofilmom na základe hodnôt MIC tak obvykle pôsobia len na planktonické mikroorganizmy dispergované z biofilmu a poskytujú len supresívnu terapiu bez eradikácie pôvodcu z biofilmového ložiska. Optimálna stratégia terapie biofilmových infekcií pacientov so zavedenými močovými katétrami alebo stentami preto zahŕňa adekvátnu antibiotickú liečbu s výmenou katétra, resp. stentu [10, 13, 14]. U pacientov s opakovanými IMC bez prítomnosti cudzieho telesa by na základe *in vitro* štúdie biofilm tvoriacich kmeňov *E. coli* izolovaných z opakovaných IMC detí mohli pozitívne pôsobiť cefalosporíny III. generácie, fluorochinolóny a aminoglykozidy [12]. Pre zvyšujúci sa výskyt multirezistentných gramnegatívnych baktérií, ktoré sú rezistentné voči betalaktámovým antibiotikám aj voči fluorochinolónom, sa v súčasnosti dostáva okrem aminoglykozidov do popredia kolistín [4, 19]. Tieto antibiotiká sa môžu podať aj lokálne – instiláciou do močového mechúra [11], čo zvyšuje úspešnosť liečby IMC s prítomnosťou biofilmu. Vzhľadom na uvedené fakty bolo cieľom prezentovanej štúdie zistiť schopnosť baktérií izolovaných od pacientov s IMC tvoriť biofilm a overiť účinok kolistínu a gentamicínu na biofilmovú formu rastu týchto baktérií.

MATERIÁL A METÓDY

Do štúdie bolo zahrnutých 80 kmeňov gramnegatívnych paličiek vykultivovaných v čistej kultúre v počte ≥ 10^5 KTJ/ml z moču pacientov s infekciami močových ciest. Vylúčené boli kmene od pacientov s neurogénny-

proLékaře.cz | 27.11.2026

Tabuľka 1. Druhové zastúpenie kmeňov v testovaných súboroch a ich schopnosť tvoriť biofilm
Table 1. Microbial species in the tested groups and their ability to form biofilm

Bakteriálny druh	Akútne IMC		Chronické a rekurentné IMC	
	Počet kmeňov	Kmene tvoriace biofilm	Počet kmeňov	Kmene tvoriace biofilm
Escherichia coli	32	16	25	21
Klebsiella pneumoniae	5	2	6	6
Klebsiella oxytoca	–	–	3	3
Proteus mirabilis	2	2	4	4
Pseudomonas aeruginosa	1	1	2	2

mi urogenitálnymi poruchami a s renálnou alebo hepatálnou insuficienciou. Štyridsať kmeňov pochádzalo z moču pacientov s chronickými a opakovanými infekciami močových ciest. Pri opakovanej kultivácii vzoriek moču týchto pacientov, odobratých v intervaloch 2–20 týždňov, sa opakovane zachytili rovnaké kmene baktérií s rovnakými hodnotami MIC testovaných antibiotík, a to v období minimálne 2 rokov. Kmene pochádzali od 32 žien (vekový priemer 63 rokov) a 8 mužov (vekový priemer 67 rokov). Nekomplikované IMC malo 12 pacientov, močový katéter bol prítomný u 5 pacientov, močový J-J stent u 7 pacientov, močové kamene malo 5 pacientov a prostatolitiázu 1 pacient. Desať pacientov malo *diabetes mellitus*. Do druhej skupiny bolo zaradených 40 kmeňov gramnegatívnych paličiek izolovaných od pacientov s akútnymi infekciami močových ciest – od 35 žien s vekovým priemerom 51 rokov a od 5 mužov s vekovým priemerom 50 rokov. Títo pacienti nemali iné faktory, ktoré môžu komplikovať priebeh močových infekcií, než mužské pohlavie u 5 pacientov. Obe skupiny kmeňov boli pre lepšie vzájomné porovnanie zostavené tak, aby obsahovali približne rovnaké spektrum bakteriálnych druhov s porovnateľným počtom kmeňov (tab. 1).

Spracovanie vzoriek moču, kultivácia a identifikácia izolovaných kmeňov sa uskutočnila štandardnými laboratórnymi diagnostickými postupmi [18]. Pri testovaní citlivosti bakteriálnych kmeňov sa postupovalo podľa odporúčaní EUCASTu [9]. Ako multirezistentné sa označili kmene s rezistenciou voči minimálne jednému antibiotiku z minimálne troch skupín antibiotík, pričom prirodzená rezistencia bakteriálnych druhov voči antibiotikám sa nebrala do úvahy [20] – šlo konkrétne o prirodzenú rezistenciu *Klebsiella pneumoniae* a *K. oxytoca* voči ampicilínu, *Proteus mirabilis* voči tetracyklínu, tigecyklínu, kolistínu a nitrofurantoínu a *Pseudomonas aeruginosa* voči ampicilínu, ampicilínu so sulbaktámom, cefazolínu, cefotaxímu, ertapenému, trimetoprimu so sulfametoxazolom, tetracyklínu a tigecyklínu.

Tvorba biofilmu sa testovala mikrometódou v 96-jamkovej mikrotitračnej doštičke podľa Stepanoviča et al. [22] s niektorými modifikáciami. Použil sa tryptózový sójový bujón (TSB; Oxoid, UK), v ktorom sa pripravili suspenzie testovaných baktérií z 18-hodinových kultúr na krvnom agare. Do jamiek mikrotitračnej doštičky s plochým dnom (Sarsted, USA) sa napipetovalo po 180 ml TSB a následne po 20 ml prislúchajúcej bakteriálnej suspenzie so zákalom zodpovedajúcim 0,5 McFarlandovej zákalovej stupnice (~ 10^8 KTJ/ml). Konečný počet baktérií v jednotlivých jamkách bol približne 2 . 10^5/ml. Ako pozitívna kontrola sa použil izolát *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérovar Typhimurium DT 208 (zbierka mikroorganizmov ÚM SZU, Bratislava). Slepé vzorky (blank) tvorilo po 200 ml TSB bez baktérií. Všetky vzorky sa testovali v troch paralelných jamkách. Naočkované mikrotitračné platničky sa staticky kultivovali 24 hodín pri 35 °C. Po kultivácii sa z jednotlivých jamiek odsalo médium, 3-krát sa premyli fosfátovým fyziologickým roztokom (pH 7,4), biofilm vytvorený na povrchu jamiek sa fixoval pridaním 160 ml metanolu a zafarbil sa kryštálovou violeťou (Becton Dickinson). Jamky sa po farbení premyli pod tečúcou vodou a po vysušení sa farbivo absorbované biofilmom rozpustilo v 96 % etanole, ktorý sa pridal do každej jamky v objeme 160 ml. Intenzita sfarbenia sa merala spektrofotometricky pri 570 nm (MRX Microplate Reader, Dynex Technologies, USA). Výsledky sa vyhodnotili porovnaním so slepými vzorkami obsahujúcimi médium bez baktérií. Hraničná hodnota optickej denzity pre tvorbu biofilmu (ODc) sa vypočítala spočítaním priemernej hodnoty OD slepých vzoriek a trojnásobku smerodajnej odchýlky. Kmene s OD < ODc sa vyhodnotili ako netvoriace biofilm, s OD v intervale od ODc do 2 x ODc ako tvoriace biofilm len slabo (+); s OD od 2 x ODc do 4 x ODc ako tvoriace biofilm stredne silne (++) a s OD vyššou než 4 x ODc ako kmene silne tvoriace biofilm (+++) [22].

Výsledky tvorby biofilmu sa štatisticky analyzovali Fisherovým exaktným testom.

Minimálna inhibičná koncentrácia (MIC) a minimálna baktericídna koncentrácia (MBC) gentamicínu a kolistínu (Sigma-Aldrich, USA) sa testovala bujónovou mikrodilučnou metódou podľa EUCASTu [9]. Citlivosť na kolistín sa netestovala v prípade kmeňov baktérií, ktoré sú prirodzene rezistentné voči kolistínu.

Aktivita gentamicínu a kolistínu na biofilmovú formu rastu sa testovala u všetkých kmeňov tvoriacich biofilm. Zisťovali sa minimálne koncentrácie inhibujúce biofilm (MBIC) a minimálne koncentrácie eradikujúce biofilm (MBEC). Pri testovaní sa postupovalo modifikovanou metódou podľa autorov Holá et al. [15]. Biofilm testovaných baktérií sa pripravil v mikroplatničkách v TSB, podobne ako pri testovaní tvorby biofilmu. Premytím biofilmov sa odstránili baktérie neintegrované do biofilmu a do jamiek s biofilmom sa pridali antibiotiká dvojkovo nariedené v MHB v koncentračnom intervale od 0,125 do 512 mg/l. Koncentrácie sa zvolili v súlade s odporúčaniami pre *in vitro* testovanie citlivosti na antibiotiká [9] a na základe zistených hodnôt MIC a MBC gentamicínu a kolistínu. Po ďalšej 24-hodinovej inkubácii pri 35 °C sa výsledky odčítali vizuálne – hodnotil sa vznik zákalu, resp. jeho neprítomnosť. Potom sa médium s antibiotikami odsalo a jamky sa 3-krát premyli 300 µl PBS. Do premytých jamiek sa pridalo

proLékaře.cz | 27.11.2026

Tabuľka 2. Získaná rezistencia testovaných kmeňov z močových infekcií
Table 2. Acquired resistance in the tested strains

Rezistencia	Počet kmeňov (%)	
ATB	akútne IMC	chronické IMC
AMP*	19 (48 %)	24 (60 %)
AMS*	19 (48 %)	21 (53 %)
CUR	11 (28 %)	21 (53 %)
CTA*	10 (25 %)	21 (53 %)
CTZ	6 (15 %)	11 (28 %)
CIP	13 (33 %)	30 (75 %)
TRS	13 (33 %)	27 (68 %)
GEN	9 (23 %)	17 (43 %)
TET*	12 (30 %)	22 (55 %)
SCP	1 (3 %)	2 (5 %)
NIT*	1 (3 %)	1 (3 %)
TIG*	0	1 (3 %)
AMI	0	3 (8 %)
ERT*	0	0
MER	0	0
COL*	0	0
Multirezistencia	16 (40 %)	32 (80 %)**

ATB – antimikróbne liečivo, AMI – amikacín, AMP – ampicilín, AMS – ampicilín-sulbaktám, CIP – ciprofloxacín, COL – kolistín, CTA – cefotaxím, CTZ – ceftazidím, CUR – cefuroxím, ERT – ertapeném, GEN – gentamicín, MER – meropeném, NIT – nitrofurantoín, SCP – cefoperazón-sulbaktám, TET – tetracyklín, TIG – tigecyklín, TRS – trimetoprim-sulfametoxazol; *druhy s prirodzenou rezistenciou nie sú zahrnuté, **p = 0,0005

ATB – antimicrobial drug, AMI – amicacin, AMP – ampicillin, AMS – ampicilin sulbactame, CIP – ciprophloxacin, COL – colistin, CTA – cefotaxim, CTZ – cephtazidim, CUR – cefuroxim, ERT – ertapenem, GEN – gentamicin, MER – meropenem, NIT – nitrophurantoin, SCP – cephoperazon sulbactame, TET – tetracycline, TIG – tigecycline, TRS – trimetoprime sulphametoxazole; *species with natural resistance are not included, **P = 0.0005

médium bez antibiotík. Po inkubácii 24 hodín pri 35 °C sa vizuálne odčítala prítomnosť, resp. neprítomnosť rastu baktérií (vzniknutý zákal alebo médium bez zákalu) a určila sa hodnota MBEC. Výsledky sa štatisticky analyzovali Studentovým t-testom.

VÝSLEDKY

V skupine kmeňov izolovaných od pacientov s chronickými IMC bolo 32 (80 %) multirezistentných. V súbore kmeňov od pacientov s akútnymi IMC ich bolo o polovicu menej – iba 16 (40 %), čo je štatisticky vysoko signifikantný rozdiel (p = 0,0005) (tab. 2). Medzi kmeňmi od pacientov s chronickými a opakovanými IMC sa najčastejšie vyskytovala získaná rezistencia voči ciprofloxacínu (30 kmeňov), po nej nasledovala rezistencia voči trimetoprimu so sulfametoxazolom (27 kmeňov), ampicilínu (24 kmeňov), tetracyklínu (22 kmeňov), cefuroxímu, ampicilínu so sulbaktámom a cefotaxímu (po 21 kmeňov), gentamicínu (17 kmeňov) a ceftazidímu (11 kmeňov). Voči ertapenému, meropenému a kolistínu nebola zaznamenaná žiadna získaná rezistencia. V súbore kmeňov z akútnych IMC sa najčastejšie vyskytovala získaná rezistencia voči ampicilínu a chránenému ampicilínu (19 kmeňov), nasledovala rezistencia voči ciprofloxacínu a trimetoprimu so sulfametoxazolom (13 kmeňov), tetracyklínu (12 kmeňov), cefuroxímu (11 kmeňov), cefotaxímu (10 kmeňov); získaná rezistencia voči ertapenému, meropenému, tigecyklínu, amikacínu a kolistínu nebola zaznamenaná (tab. 2).

V skupine 40 kmeňov izolovaných od pacientov s chronickými IMC sa zaznamenala tvorba biofilmu až v 36 prípadoch (90 %). Na rozdiel od nich, v skupine s akútnymi IMC tvorilo biofilm len 21 kmeňov (52 %) – viď tab. 1. Tento rozdiel bol štatisticky vysoko signifikantný (p = 0,0004). Silne tvorilo biofilm 7 kmeňov z chronických IMC a 4 kmene z akútnych IMC. Stredne silne tvorilo biofilm 19 kmeňov z chronických a 7 kmeňov z akútnych IMC a slabou tvorbou biofilmu sa vyznačovalo 9 kmeňov z chronických infekcií a 10 kmeňov z akútnych IMC (graf 1).

Pravdepodobný endogénny pôvod sa stanovil pri 28 kmeňoch z chronických IMC (70 %); izolovali sa prevažne od žien ktoré mali opakované gynekologické infekcie a/alebo cystolitiázu (n = 25; 89 %) a od pacienta s prostatolitiázou. Z týchto kmeňov 26 (93 %) tvorilo biofilm. Asociácia s kolonizovaným cudzím telesom (permanentný urologický katéter, urologický J-J stent) bola prítomná u 12 kmeňov (30 %), z ktorých 10 (83 %) tvorilo biofilm. Rozdiely v tvorbe biofilmu kmeňmi s predpokladaným endogénnym pôvodom a kmeňmi asociovanými s cudzím telesom neboli štatisticky signifikantné.

Hodnoty MIC gentamicínu stanovené bujónovou mikrodilučnou metódou sa pohybovali v intervale od 0,125 mg/l do 64 mg/l (tab. 3). Hodnoty MBC jednotlivých kmeňov boli v porovnaní s MIC niekedy až o 3 riedenia vyššie. Hodnoty MIC kolistínu mali hodnotu 0,125–2 mg/l, s výnim-

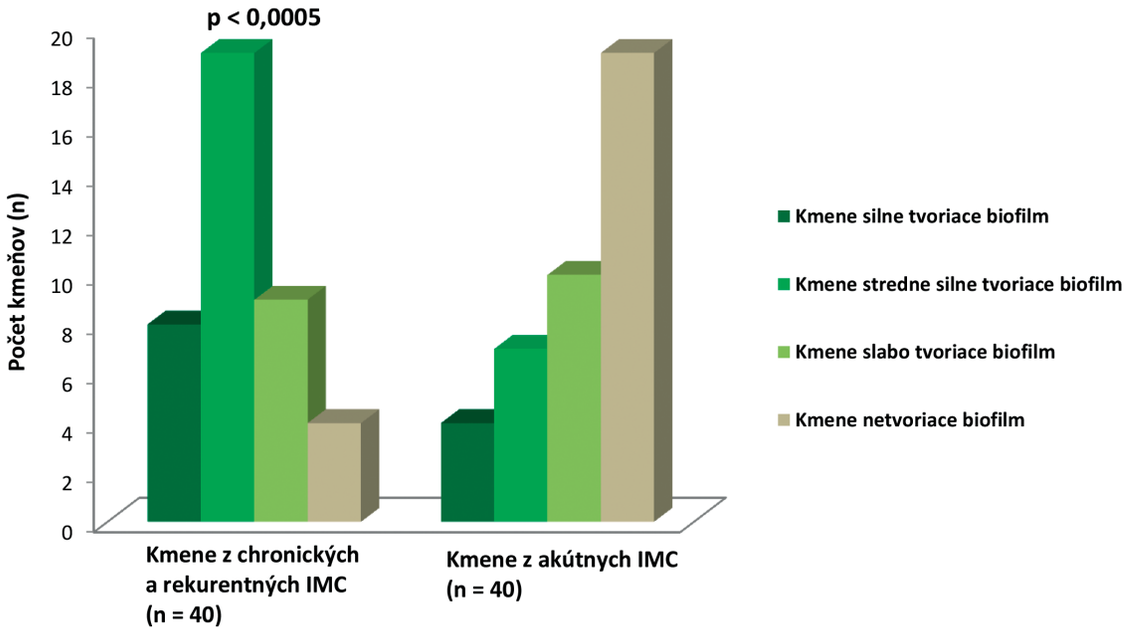
Tabuľka 3. Minimálne biofilm inhibujúce koncentrácie (MBIC) a minimálne biofilm eradikujúce koncentrácie (MBEC) gentamicínu a kolistínu
Table 3. The minimal biofilm inhibitory concentrations (MBICs) and minimal biofilm eradication concentrations (MBECs) of gentamicin and colistin

	Chronické IMC	Akútne IMC
Gentamicín [mg/l] (n = 57)		
MIC	0,125–64	
MBC	0,125–64	
MBIC	4–256***	4–64***
MBEC	8 až > 512***	
Kolistín [mg/l] (n = 53) 1		
MIC	0,125–2	
MBC		
MBIC	2–64***	
MBEC	32 až > 512***	

[1]izoláty *P. mirabilis* (n = 4) neboli testované; ***p < 0,0001
IMC – infekcie močových ciest; MIC – minimálna inhibičná koncentrácia; MBC – minimálna baktericídna koncentrácia; MBIC – minimálna biofilm inhibujúca koncentrácia; MBEC – minimálna biofilm eradikujúca koncentrácia

[1]isolates *P. mirabilis* (N = 4) or tested; ***P < 0.0001
IMC – urinary tract infections; MIC – minimum inhibitory concentration; MBC – minimum bactericidal concentration; MBIC – minimal biofilm inhibiting concentration; MBEC – minimal biofilm eradicating concentration

proLékaře.cz | 27.11.2026



Graf 1. *In vitro* tvorba biofilmu analyzovanými bakteriálnymi kmeňmi
Figure 1. *In vitro* biofilm formation by analyzed bacterial strains

kou kmeňov *P. mirabilis*, ktoré sú voči kolistínu primárne rezistentné. Hodnoty MBC kolistínu boli u všetkých testovaných kmeňov identické s hodnotami MIC.
V skupine 57 kmeňov, ktoré tvorili biofilm, sa otestovala schopnosť gentamicínu a kolistínu inhibovať a eradikovať baktérie v biofilme. Hodnoty MBIC gentamicínu sa v prípade kmeňov z chronických a recidivujúcich IMC pohybovali v rozmedzí 4–256 mg/l a v prípade kmeňov z akútnych IMC od 4 do 64 mg/l. Tieto hodnoty boli o 1–5 riedení vyššie ako zodpovedajúce hodnoty MIC (viď tab. 3). Na eradikáciu biofilmu *in vitro* bolo potrebné použiť gentamicín v koncentrácii 8 až > 512 mg/l.
Pri sledovaní účinku kolistínu na baktérie v biofilme sa v porovnaní s MIC zistili o 3–9 riedení vyššie koncentrácie MBIC (2–64 mg/l). Hodnoty MBEC boli v rozmedzí od 32 mg/l do > 512 mg/l. Z testovania sa vynechali kmene *P. mirabilis*, ktoré sú voči kolistínu prirodzene rezistentné (testovalo sa iba 53 kmeňov) – viď tab. 3.
Rozdiely v hodnotách MIC a MBIC gentamicínu aj kolistínu boli štatisticky vysoko signifikantné a podobne boli vysoko signifikantné aj rozdiely medzi ich hodnotami MBC a MBEC ($p < 0,0001$).

DISKUSIA

Zastúpenie bakteriálnych druhov gramnegatívnych paličiek analyzovaných v našej štúdii korešponduje so spektrom a zastúpením jednotlivých bakteriálnych druhov vyvolávajúcich IMC v Európe [1, 2]. S literárnymi údajmi podobne korešponduje aj zvýšená frekvencia výskytu multirezistentných kmeňov izolovaných z chronických a rekurentných infekcií [21], k čomu pravdepodobne prispieva aj schopnosť baktérií tvoriť biofilm – opäť signifikantne vyššia v skupine baktérií izolovaných z chronických infekcií. Vyšší počet kmeňov tvoriacich biofilm medzi multirezistentnými kmeňmi baktérií izlovanými z močových ciest zaznamenali aj ďalší autori [1, 5]. Multirezistentné kmene močových patogénov vznikajú pod tlakom antibiotík pri opakovane podávanej antibiotickej terapii, ktorá nie je pre baktérie rastúce v biofilme eradikujúca [1].
Výsledky našej štúdie ďalej naznačujú, že o schopnosti močových patogénov tvoriť biofilm by sa malo uvažovať nielen u pacientov s IMC asociovanými s močovými katétrami, stentmi alebo kameňmi, ako definujú odporúčania ESCMID [14], ale aj u pacientov s chronickými IMC bez cudzieho telesa. Prítomnosť cudzieho telesa v močových cestách totiž nebola jednoznačne na prvom mieste v súvislosti s výskytom kmeňov tvoriacich biofilm v nami hodnotených súboroch kmeňov. Aj u pacientov s chronickými a rekurentnými IMC bez cudzieho telesa v močových cestách sa tvorba biofilmu pravdepodobne môže podieľať na patogenéze infekcie, čo by sa malo zohľadňovať aj pri liečbe.
Terapeutický prístup v prípade chronických a opakovaných IMC by mal byť odlišný ako pri akútnych IMC dolných močových ciest, pretože baktérie z chronických infekcií rastúce v biofilme sú v porovnaní s planktonickou formou buniek eradikovateľné len niekoľkonásobne vyššími koncentráciami antimikrobiálnych látok [14]. Napriek mnohým publikovaným štúdiám a niekoľkým štandardizovaným metódam testovania hodnôt MBIC a MBEC nie je v mikrobiologickej diagnostickej praxi doposiaľ testovanie citlivosti baktérií v biofilme rutinne dostupné. V našej štúdii sa pri testovaní účinku antibiotík na bakteriálny biofilm využila vysoko citlivá

proLékaře.cz | 27.11.2026

metóda, detegujúca MBIC sledovaním inhibície rastu baktérií v bujónovej mikrometóde a neprítomnosť životaschopných baktérií po antibiotickej expozícii kultiváciou premytého exponovaného biofilmu v mikrotitračnej jamke po pridaní čerstvého média bez antibiotík [15]. Na testovanie antibiofilmového účinku sa zvolili baktericídne antibiotiká gentamicín a kolistín. Vybrali sa na základe zistených hodnôt MIC, farmakokinetických vlastností [3, 8], pre možnosť lokálneho podania intravezikulárnou instiláciou [8, 11] a pre svoju schopnosť potláčať v subinhibičných koncentráciách tvorbu biofilmu pri niektorých baktériách infikujúcich močové cesty [17].

Dá sa predpokladať, že kmene močových patogénov tvoriace biofilm *in vitro* ho tvoria aj v močovom mechúre pacientov. Vzhľadom na vysoké hodnoty MBIC a MBEC gentamicínu a kolistínu sa preto nedá vylúčiť terapeutické zlyhanie týchto antibiotík, a to aj napriek ich vysokým koncentráciám v moči pri intravenóznom podaní, rozdielnym podmienkam rastu baktérií v močových cestách a v *in vitro* teste, a napriek odlišnému prostrediu pôsobenia antibiotík v močových cestách. Otázkou ostáva, či by lokálne podanie týchto antibiotík instiláciou do močového mechúra prinieslo úspešnejšiu eradikáciu biofilmu. *In vitro* získané hodnoty MBEC by tomu teoreticky nasvedčovali. Instiláciou je možné v močovom mechúre bezpečne dosiahnuť až dvojnásobne vyššie koncentrácie gentamicínu (480 mg/l) než pri intravenóznom podaní (50–200 mg/l) [3, 8]. Takáto koncentrácia inhibovala *in vitro* biofilmový rast všetkých nami testovaných kmeňov a eradikovala biofilm 21 kmeňov z recidivujúcich a 13 kmeňov z akútnych IMC. K podobným teoretickým úvahám vedú aj nami namerané hodnoty MBEC kolistínsulfátu.

I keď sa v literatúre opisujú individuálne prípady pacientov úspešne liečených instilačnou terapiou gentamicínom alebo kolistínom [11, 23], pre aplikáciu takejto terapie na základe *in vitro* testov MBEC je potrebné v rutinných mikrobiologických diagnostických laboratóriách zaviesť štandardizovanú metódu testovania citlivosti baktérií rastúcich v biofilme, vypracovať interpretačné kritériá hodnôt MBEC pre terapiu a podporiť ich rozsiahlejšími klinickými štúdiami.

ZÁVER

Medzi pôvodcami chronických a opakovaných močových infekcií sa v našej štúdii zistili signifikantne vyššie počty multirezistentných kmeňov, ako aj kmeňov tvoriacich biofilm, v porovnaní s kmeňmi z akútnych močových infekcií. Tvorba biofilmu mala vplyv na niekoľkonásobné zvýšenie koncentrácií gentamicínu a kolistínu potrebného na *in vitro* eradikáciu baktérií v porovnaní s planktonickou formou rastu. Biofilmový rast kmeňov baktérií v močových cestách pacientov by čiastočne vysvetľoval príčiny zlyhania terapie.

Zistilo sa tiež, že prítomnosť cudzieho telesa v močových cestách nebola výlučným faktorom asociovaným s výskytom kmeňov tvoriacich biofilm. Aj u pacientov s chronickými a rekurentnými infekciami močových ciest bez cudzieho telesa v močových cestách je potrebné uvažovať o úlohe biofilmu v patogenéze infekcie.

LITERATÚRA

1. Alves MJ, Barreira JC, Carvalho I, et al. Propensity for biofilm formation by clinical isolates from urinary tract infections: developing a multifactorial predictive model to improve antibiotherapy. J Med Microbiol, 2014;63(3):471–477.
2. Bonkat G, Pickard R, Bartoletti R, et al. EAU Guidelines on urological infections. European Association of Urology, EAU Guidelines Office, Arnhem, The Netherlands, 2018, 66 pp. [cit. 2019-20-02]. Dostupné na www: < http://uroweb.org/guidelines/compilations-of-all-guidelines/>. ISBN 978-94-92671-01-1.
3. Cox L, He C, Bevins J, et al. Gentamicin bladder instillations decrease symptomatic urinary tract infections in neurogenic bladder patients on intermittent catheterization. Can Urol Assoc J, 2017;11(9):E350–E354.
4. Cui P, Niu H, Shi W, et al. Disruption of membrane by colistin kills uropathogenic *Escherichia coli* persisters and enhances killing of other antibiotics. Antimicrob Agents Chemother, 2016;60(11):6867–6871.
5. Černohorská L, Sláviková P. Pseudomonas aeruginosa, její rezistence k vybraným antibiotikům a tvorba biofilmu u kmenů izolovaných od pacientů s infekcí močových cest. Epidemiol Mikrobiol Imunol, 2009;58(4):154–157.
6. Černohorská L, Votava M. Staphylococcus saprophyticus – jeho rezistence k vybraným antibiotikům a tvorba biofilmu u kmenů izolovaných z moče. Epidemiol Mikrobiol Imunol, 2010;59(2):88–91.
7. Delcaru C, Alexandru I, Podgoreanu P, et al. Microbial biofilms in urinary tract infections and prostatitis: Etiology, pathogenicity, and combating strategies. Pathogens, 2016;5(4):65.
8. Defoor W, Ferguson D, Mashni S, et al. Safety of gentamicin bladder irrigations in complex urological cases. J Urol, 2006;175(5):1861–1864.
9. European Commitee On Antimicrobial Susceptibility Testing. Antimicrobial susceptibility testing [online]. [cit. 2019-20-02]. Dostupné na www: <http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/>.
10. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, et al. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. Nat Rev Microbiol, 2015;13(5):269–284.
11. Giua R, Pedone C, Cortese L, et al. Colistin bladder instillation, an alternative way of treating multi-resistant Acinetobacter urinary tract infection: a case series and review of literature. Infection, 2014;42(1):199–202.
12. González M-J, Robino L, Iribarnegaray V, et al. Effect of different antibiotics on biofilm produced by uropathogenic Escherichia coli isolated from children with urinary tract infection. Pathog Dis, 2017;75(4). doi:10.1093/femspd/ftx053.
13. Jhang JF, Kuo HC. Recent advances in recurrent urinary tract infection from pathogenesis and biomarkers to prevention. Ci Ji Yi Xue Za Zhi, 2017;29(3):131–137.
14. Høiby N, Bjarnsholt T, Moser C, et al. ESCMID guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections. Clin Microbiol Infect, 2014;21(1):S1–S25.
15. Holá V, Růžička F, Tejkalová R, et al. Stanovení citlivosti k antibiotikům u biofilm pozitívních forem mikroorganizmů. Klin mikrobiol inf lék, 2004:10(5):218–222.
16. Holá V, Růžička F. The formation of poly-microbial biofilms on urinary catheters. In: Tenke P (ed) Urinary tract infections, InTech; 2011, s. 153–172. [cit. 2019-20-02]. Dostupné na www: < http://www.intechopen.com/books/urinary-tract-infections/the-formation-of-poly-microbial-biofilms-on-urinary-catheters>. ISBN: 978-953-307-757-4.

proLékaře.cz | 27.11.2026

17. Hoštacká A, Čižnár I. Aminoglykozidy a kolistín potláčajú tvorbu biofilmu u Klebsiella pneumoniae. Epidemiol Mikrobiol Imunol, 2008;57(3):101–105.
18. Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, et al (eds). Manual of Clinical Microbiology, Eleventh Edition. Washington, D.C.: ASM Press; 2015.
19. Luque S, Escano C, Sorli L, et al. Urinary concentrations of colistimethate and formed colistin after intravenous administration in patients with multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Antimicrob Agents Chemother, 2017;61(8):1–5.
20. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect, 2012;18(3):268–281.
21. Sanchez CJ Jr, Mende K, Beckius ML, et al. Biofilm formation by clinical isolates and the implications in chronic infections. MBC Infect Dis, 2013;13:47. doi: 10.1186/1471-2334-13-47.
22. Stepanović S, Vuković D, Hola V, et al. Quantification of biofilm formation in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. APMIS, 2007;115(8):891–899.
23. Volkow-Fernández P, Rodríguez CF, Cornejo-Juárez P. Intravesical colistin irrigation to treet multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* urinary tract infection – a case report. J Med Case Rep, 2012;6: 426. doi: 10.1186/1752-1947-6-426.

Do redakce došlo dne 1. 4. 2019.

Adresa pro korespondenci:

RNDr. Silvia Vašková, PhD.
Laboratória Piešťany, spol. s r. o.
Sad A. Kmeťa 22
921 01 Piešťany
Slovenská republika
e-mail: silvi.vaskova@gmail.com

OBLASTNÍ NEMOCNICE KOLÍN
akciová společnost

přijme:

Vedoucího lékaře ATB centra při OLM

Požadujeme:
min. 6 let praxe v oboru • specializaci v oboru lékařská mikrobiologie či infekční lékařství

Nabízíme:
zázemí perspektivní nemocnice • špičkově vybavené pracoviště • motivující mzdové ohodnocení • podporu dalšího rozvoje • zaměstnanecké benefity (cafeteria systém)

Bližší informace včetně mzdového ohodnocení při osobním pohovoru.

Kontakt:
Mgr. Daniel Veselý, oddělení lidských zdrojů
Telefon: 321 756 616
E-mail: daniel.vesely@nemocnicekolin.cz

Inzerce A201001062 ▶