

Bakteeribiofilmit infektiotaudeissa

Biofilmillä tarkoitetaan mikrobien muodostamaa järjestynyttä rakennetta, joka on kiinnittynyt elolliseen tai elottomaan pintaan. Tavanomainen bakteeriviljely soveltuu hyvin irralliseen kasvavien bakteerien tutkimukseen, kun taas biofilmissä olevien bakteerien viljely voi jäädä tulokseltaan negatiiviseksi. Tavanomaisten mikrobilääkkeiden teho biofilmissä oleviin bakteereihin on huono, vaikka irralliset bakteerit olisivat herkkiä niille. Biofilmimuoto voi myös suojata bakteeria immuunijärjestelmältä. Tyypillisiä biofilmi-infektioita ovat hammaskaries ja vierasesineinfektiot. Tulevaisuudessa biofilmi-infektioiden hoitoon käytetään mahdollisesti antimikrobihoidon lisänä lääkkeitä, jotka heikentävät bakteerien välistä viestintää ja vähentävät biofilminmuodostuskykyä.

Mikrobit muodostavat erilaisille pinnoille järjestyneitä rakenteita, joita kutsutaan biofilmiksi (Donlan ja Costerton 2002). Hammaskaries on hyvä esimerkki biofilmi-infektiosta, sillä se on pitkäaikainen infektiosairaus, jonka hoito tavanomaisilla lääkkeillä on yleensä tehotonta. Tyypillisiä muita biofilmi-infektioita ovat vierasesineinfektiot ja endokardiitti (Hall-Stoodley ym. 2004) (TAULUKKO 1). Tavallisissa infektiotaudeissa, kuten välikorvatulehduksessa ja virtsatieinfektiossa, biofilmimuotoiset bakteerit voivat johtaa taudin pitkittymiseen tai uusiutumiseen (TAULUKKO 1). Tässä katsauksessa keskitymme bakteeri-infektioihin, vaikka biofilmejä voivat muodostaa myös sienet ja normaaliflooraan kuuluvat bakteerit.

Biofilmi-käsitteen synty

Bakteerien tutkiminen perustui pitkään Robert Kochin ja hänen aikalaistensa 1800-luvulla kehittämään yksittäisten bakteerien eristämiseen ja viljelyyn puhtaina kasvustoina. Biofilmi-käsitteen loivat mikrobiologit ja insinöörit, jotka tutkivat vesistöjen kiviin tai vesiputkistoihin kiinnittyneitä useiden bakteerilajien muodostamia yhteisöjä (Costerton ym. 1995). 1970-luvulla osoitettiin, että Montanan vuoristojokien vedessä irrallisia bakteereita oli vain 8–20 solua millilitrassa, kun taas kivien pinnoille kiinnittyneet biofilmit sisälsivät bakteereita yli $10^6/\text{cm}^2$ (Geesey ym. 1977). Naudan pötsin selluloosakuituihin kiinnittyneitä bakteereita kuvattiin elektronimikroskopiolla 1970-luvulla. Tämä oli ensimmäisiä yrityksiä tutkia perusteellisesti monia bakteereita sisältävää elimistön ekosysteemiä (Costerton 2004). Teollisuudessa biofilmin

TAULUKKO 1. Esimerkkejä kliinisesti ongelmallisista biofilmi-infektioista.

Tauti	Aiheuttaja
Kystinen fibroosi	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Hammaskaries	<i>Streptococcus mutans</i>
Katetri- ja proteesi-infektiot	<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Candida albicans</i>
Endokardiitti	Streptokokit, stafylokokit
Krooninen välikorvatulehdus	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i>
Virtsatieinfektiot	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella</i>

haitallisella kasvulla veden kanssa kosketuksissa oleville pinnoille ja putkiin on pitkään ymmärretty olevan suuri taloudellinen merkitys. Biofilmien merkitys on osoittautunut tärkeäksi monien infektiotautien diagnostiikassa ja hoidossa (TAULUKOT 1 ja 2).

Biofilmin rakenne

Biofilmifenotyyppiä kutsutaan kirjallisuudessa myös irrallisia bakteereja, jotka ilmentävät nimenomaan biofilmissä tarpeellisia geenejä. Biofilmiä voi muodostua myös kudoksen sisään (Anderson ym. 2003). Biofilmin muodostumisessa ensimmäinen vaihe on bakteerien pysyvä kiinnittyminen pintaan (adheesio) (KUVA 1). Asteittain tuntien ja päivien kuluessa biofilmiin syntyy lukuisia bakteerikerroksia, jotka ovat usein solunulkoisen matriksin peittämiä. Biofilmin rakenne voi koostua yksinkertaisista bakteerikerroksista tai olla pitkälle järjestynyt, jolloin bakteerit muodostavat sienimäisiä kertymiä jättäen väliinsä vesikanavia (KUVA 1). Biofilmistä irtoaa bakteereita, jotka voivat aiheuttaa taudin leviämisen tai latentin taudin aktivaation. Bakteerit ilmentävät eri geenejä ollessaan kiinnittyneinä biofilmiin kuin irrallisina kasvaessaan (Oggioni ym. 2006). Vaikka bakteerien kasvu on biofilmissä hidasta, bakteerit voivat tuottaa siinä useampia proteiineja kuin irrallisina kasvaessaan (Sauer ym. 2002).

Monet tässä katsauksessa esiteltävät tutkimukset on tehty laboratoriossa käyttäen yhtä bakteerilajia, kun taas elimistössä biofilmin

muodostavat usein yhdessä eri bakteerilajit, jotka saattavat hyötyä toisistaan tai haitata toistensa kasvua. Biofilmissä esimerkiksi *Moraxella catarrhaliksen* tuottama beetalaktamaasi voi suojata antibioottivaikutukselta myös beetalaktamaasia tuottamatonta pneumokokkia (Budhani ym. 1998). *Streptococcus salivarius* puolestaan vähentää biofilmi-mallissa *Streptococcus mutansin* kasvua (Tamura ym. 2009).

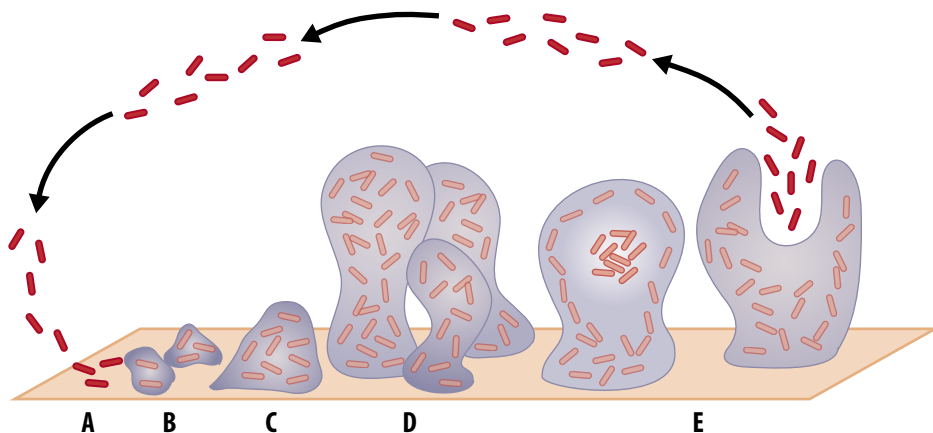
Biofilmi-infektion tutkiminen ja diagnoosi

Biofilmissä olevat bakteerit voivat aiheuttaa infektion, vaikka tavanomainen viljely ei sitä osoittaisi (TAULUKKO 2). Suora näyte infektiotuneelta alueelta voidaan kuvantaa käyttämällä pyyhkäisyelektronimikroskopiaa tai konfokaalimikroskopiaa. Fluoresoivalla väriaineella kyetään erottamaan soluseinämältään ehyet, elävät bakteerit kuolleista. Laboratoriossa kokeellisesti tutkittaessa biofilmi pyritään kasvattamaan halutulle pinnalle (KUVA 2). Elatusaineen virtauksella voidaan lisätä bakteerien biofilmi-muodostusta. Monimutkaisimmillaan biofilmi-reaktorissa voidaan muuttaa elatusaineen virtausta ja koostumusta erilaisilla koejärjestelyillä (Donlan ym. 2004). Yksinkertaisinta on kasvattaa planktonisia eli irrallisia bakteereita elatusaineessa polystyreenisellä kuoppalevyllä, jonka pohjaan bakteerit ensin kiinnittyvät ja tämän jälkeen muodostavat usean solukerroksen paksuisen biofilmin (Presterl ym. 2005). Irrallisten bakteerien pesun jälkeen kuoppa-

TAULUKKO 2. Irrallisena kasvavien bakteerien ja biofilmin eroja kliinikon kannalta.

	Irralliset bakteerit	Biofilmi
Rakenne	irrallisia soluja	bakteerien järjestynyt rakenne
Todentaminen	bakteeriviljely	kuvantaminen: pyyhkäisyelektronimikroskopia, konfokaalilaserimikroskopia
Bakteeriviljelyn tulos	yleensä positiivinen	usein negatiivinen, ellei bakteereja irroteta esimerkiksi sonikaatiolla
MIC-arvo ¹	kuvastaa lääkkeen tehoa	antimikrobinen hoito voi epäonnistua, vaikka MIC-arvo on pieni
Hoidon ongelma	antibioottiresistenssi	antibioottitoleranssi, lepotilassa olevat bakteerisolut

766 ¹Pienin bakteerien kasvun estävä lääkepitoisuus

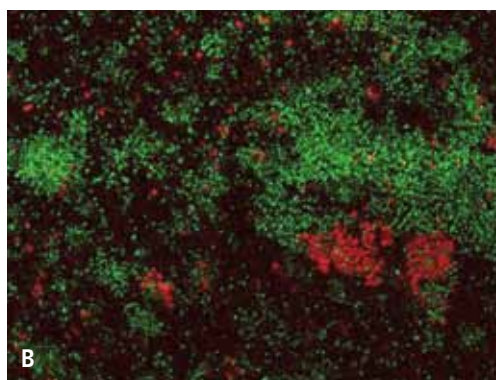
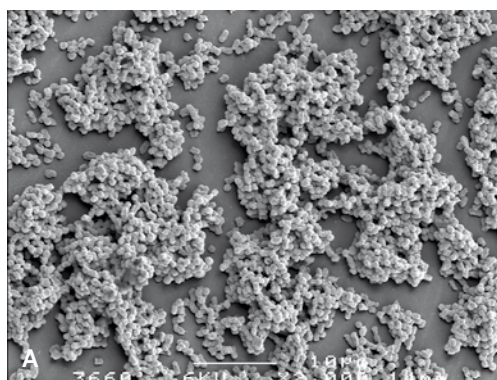


KUVA 1. Biofilmin synnyn vaiheet. **A)** Mikrobin kiinnittyminen elolliseen tai elottomaan pintaan. **B)** Irreversiibeli adheesio. **C)** Monisoluinen kerroksittainen rakenne. **D)** Osa mikrobeista muodostaa biofilmissä sienimäisiä rakenteita ja vesikanavia. **E)** Biofilmistä voi irrota mikrobeja, jotka saattavat aiheuttaa uuden infektion.

levyn pohjalle muodostunut biofilmi voidaan värjätä ja arvioida sen määrää mittaamalla optista tiheyttä. Tätä menetelmää voidaan käyttää testattaessa eri kantojen välisiä eroja biofilmin muodostamisessa, erilaisten kasvuolosuhteiden vaikutusten vertailemiseen ja geeniekspressiotutkimuksiin. Kun irralliset bakteerit on pesty pois pintaan kiinnittyneestä biofilmistä, tavanomainen pyyhkäisemällä otettu bakteeriviljelynäyte voi olla negatiivinen.

Antibioottitoleranssi

Biofilmissä olevan bakteerin hävittäminen mikrobilääkkeillä on vaikeaa, vaikka käytetty lääkeaine olisi todettu mikrobiologian laboratoriossa tehokkaaksi (TAULUKKO 2). Antibioottipitoisuudet, jotka ovat tarpeen biofilmimuodossa olevan bakteerin kasvun estämiseksi (minimum biofilm inhibitory concentration, MBIC), ovat yleensä monin-



KUVA 2. Biofilmin olemassaolon voi osoittaa kuvantamisella, vaikka muut bakteriologiset tutkimukset jäisivät tuloksiltaan negatiivisiksi. **A)** Pyyhkäisyelektronimikroskopiakuva kaksi vuorokautta laboratoriossa polystyreenipinnalle kasvatetusta *Escherichia coli*n muodostamasta biofilmistä. Suurennos x 2000. **B)** Samassa vaiheessa otettu konfokaalilasermikroskopiakuva. Fluoresoiva väriaine (LIVE/DEAD, Invitrogen) erottaa elävät (vihreä) ja kuolleet bakteerit (punainen) toisistaan. Suurennos x 40.

YDINASIAAT

- ▶ Biofilmi on johonkin pintaan kiinnittynyt tai kudoksensisäinen bakteeriyhteisö.
- ▶ Esimerkiksi vierasesineinfektiot ja endokardiitti ovat biofilmi-infektioita.
- ▶ Biofilmi-infektioiden diagnostiikka ja hoito on vaativaa.
- ▶ Tulevaisuudessa bakteerien viestintäjärjestelmän estäjät saattavat auttaa biofilmi-infektioiden hoidossa.

kertaisia verrattuna pitoisuuksiin, jotka estävät täysin irrallisten bakteerien kasvua (minimum bactericidal concentration, MBC) ja jopa tuhatkertaisia verrattuna pitoisuuteen, joka estää irrallisten bakteerien kasvua (minimum inhibitory concentration, MIC) (TAULUKKO 2) (Cirioni ym. 2006, Sandoe ym. 2006).

Sekä bakteriostaattisille että bakteriosidisille antibiooteille syntyvän toleranssin kehittymisen ja biofilmin muodostumisen välinen yhteys tunnetaan vielä huonosti. Toleranssin synnyssä ovat todennäköisesti keskeisiä lepotilassa olevat, pysyvät, jakautumattomat bakteerit (persister cells), jotka säilyvät hengissä sellaisissakin antibioottipitoisuuksissa, joissa irrallinen ja normaalisti jakautuva ja toimiva bakteeri kuolee (Lewis 2007). Biofilmin sisällä solunulkoinen matriksi suojelee lepotilassa olevia bakteereja antibiooteilta ja immuunipuolustukselta. Antibioottipitoisuuden pienennyttyä biofilmin sisällä lepotilassa ollut bakteeri alkaa jakautua uudelleen, ja näin infektio uusi tai pitkittyy.

Quorum sensing – bakteerien viestintäjärjestelmä

Bakteerit ovat yksisoluisia eliöitä, joita on eniten tutkittu viljelymaljoilla ja liuoksissa irrallisina kasvatettuina. Biofilmin järjestynyt rakenne ja bakteerisolujen välinen viestintä

muistuttavat kuitenkin monisoluisen eliön toimintaa (Davies ym. 1998). Näitä bakteerisolujen välisiä hienostuneita viestejä kutsutaan quorum sensing -ilmiöksi. Quorum-termiä käytetään englannin kielessä kuvaamaan pienintä lukumäärää läsnäolevia, joka tekee kokouksesta päätösvaltaisen. Myös bakteereille läsnä olevien solujen lukumäärän eli bakteeritiheyden aistiminen on tärkeää, joten nimitys on osuva. Gramnegatiivisten bakteerien erittämät asylyhomoseriinilaktoni- eli AHL-molekyylit ja grampositiivisten streptokokkien erittämät peptidit kuten CSP (competence stimulating peptide) (Suntharalingam ja Cvitkovitch 2005, Williams ja Camara 2009) ovat paljon tutkittuja quorum sensing -välittäjäaineita, jotka biofilmimuodostuksen lisäksi vaikuttavat mikrobien taudinaiheuttamiskykyyn (Hentzer ym. 2003, Kowalko ja Sobert 2008). Myös bakteerien luonnossa tuottamat antibiootit voivat olla osa bakteerien viestintäjärjestelmää, eikä niiden ainoa tarkoitus ole tuhota toisia mikrobeja (Mlot 2009).

Quorum sensing -estäjät

Biofilmissä olevaan bakteeriin kohdistuvan hoidon tulee perustua lääkkeeseen, joka estää bakteerien välistä viestintää ja tätä kautta niiden kykyä muodostaa biofilmiä. Tällainen lääkitys saa biofilmissä olevat bakteerit käyttäytymään kuten irralliset bakteerit, jolloin tavallisen antimikrobisen hoidon teho paranee selvästi. Tulevaisuudessa biofilmi-infektion lääkehoidossa käytetäänkin mahdollisesti yhdistelmä-lääkitystä, jolloin tavalliseen antimikrobiseen aineeseen yhdistetään bakteerien välistä viestintää vähentävä quorum sensing -estäjä.

Yksi ensimmäisistä bakteerien väliseen viestintään vaikuttavista aineista löydettiin Australian vesistöissä elävästä *Delisea pulchra* -levästä, jonka todettiin erittävän furanonia (Manefield ym. 1999). Furanonin tiedetään vaikuttavan monien gramnegatiivisten bakteerien väliseen AHL-viestintään. Furanoni vähentää *Pseudomonas aeruginosan* taudinaiheuttamiskykyä vaikeuttamalla sen viestintää (Wu ym. 2004). Stafylokokki-infektioissa

on todettu RIP-peptidin (RNAIII:a inhiboiva peptidi) estävän eläinmallissa stafylokokki-biofilmiä muodostumista, lisäävän tavanomaisen antibiootihoidon tehoa ja tehostavan vierasesine- ja haavainfektioiden hoitoa (Simonetti ym. 2008). RIP-peptidi muistuttaa rakenteeltaan läheisesti haavojen luontaislääkinnässä Pohjois-Amerikassa käytettyä ainetta, jota on saatu amerikantaikapähkinän (*Hamamelis virginiana*) lehdistä ja kuoresta (Kiran ym. 2008). Useita lupaavia aineita on löydetty *Pseudomonas aeruginosa* mahdolliseksi quorum sensing -estäjiksi, kun luonnontuotteita ja jo käytössä olevia lääkkeitä on seulottu systemaattisesti (Yang ym. 2009).

Biofilmi-infektioita

Tyypillisiä biofilmi-infektioita ovat vierasesineinfektiot ja kystistä fibroosia sairastavien krooniset keuhkoinfektiot, joiden diagnostiikka ja hoito ovat ongelmallisia (TAULUKKO 1). Biofilmiä muodostumisella voi olla merkitystä tavallisten infektiotautien kuten virtsatieinfektioiden ja välikorvatulehdusten uusimisen ja pitkittymisen selittäjänä (TAULUKKO 1).

Tehohoito-potilaiden infektiot. Potilailla, joilla hoito edellyttää vierasesineiden pitkäaikaista käyttöä, on suuri riski saada biofilmi-infektioita (TAULUKKO 1). Vierasesineen pintaan muodostuva biofilmi ei ole stabiili limakerros vaan elävistä bakteereista koostuva organisiemi. Biofilmi ei aina ehdi aiheuttaa tautia, mutta ulkoisten olosuhteiden muuttuessa tai bakteerikasvuston ollessa runsasta biofilmistä irtoaa bakteereita, jotka voivat aiheuttaa potilaalle oireisen, veriviljelypositiivisen taudin (KUVA 1). Tällaisen taudin aiheuttajia ovat yleisimmin koagulaasinegatiiviset stafylokokit, mutta muutkin stafylokokit, gramnegatiiviset sauvat ja kandidalajit voivat aiheuttaa tehohoitopotilaan sairaalassa alkaneen sepsiksen (TAULUKKO 1). Antimikrobisella hoidolla ei tällöin aina saada hyvää vastetta niissäkään tapauksissa, joissa taudinaiheuttaja on mikrobiologian laboratoriossa irrallisilla bakteereilla tutkittuna herkkä käytetyille hoidolle. Samoin perussairausten hoidolle välttämättömien katetrien poisto voi olla ongelmallista.

Yllättävät tekijät saattavat lisätä tehohoitopotilaan vierasesineen pinnalle syntyvän biofilmi-infektion riskiä. Kokeellisissa laboratoriotutkimuksissa on havaittu, että katekoliamiinit, kuten noradrenaliini ja dobutamiini, voivat lisätä *Staphylococcus epidermidiksen* kykyä muodostaa biofilmiä (Lyte ym. 2003). Myös aminoglykosidiantibioottien on osoitettu lisäävän pieninä pitoisuuksina *Pseudomonas aeruginosa* ja *Escherichia coli* biofilmiä muodostusta (Hoffman ym. 2005).

Tehohoitopotilaiden biofilmi-infektioiden hoito perustuu nykyään katetri-infektioiden ehkäisyyn, johon kuuluvat mahdollisimman hyvä hygienia katetrin asennuksen ja jatkohoidon yhteydessä sekä katetrin poisto heti, kun sitä ei enää tarvita. Antimikrobisilla aineilla päällystettyjen katetrien käyttö voi toimia ehkäisyssä (Centers for Disease Control and Prevention 2002). Eläinkokeissa on käytetty onnistuneesti keskuslaskimokatetri-infektioiden hoidossa tavanomaisten antimikrobisten aineiden yhdistämistä stafylokokkien RIP-peptidiin, joka kykenee muuttamaan biofilmin irrallisiksi bakteereiksi (Cirioni ym. 2006). Ihmisillä vastaavia tutkimuksia ei ole tietääksemme tehty.

Tekonivelinfektio on esimerkki vierasesineen pinnalle muodostuvasta biofilmi-infektioista, jonka diagnostiikka ja hoito on vaikeaa (TAULUKKO 1 ja 2). Kyseessä on kliinisesti merkittävä ongelma, sillä Suomessa tehdään vuosittain noin sata uusintaleikkausta pelkästään polven tekonivelen infektion takia. Myöhäisen proteesi-infektion tavallinen hoitotapa on potilaan kannalta hankala, sillä vanhan proteesin poistamisen jälkeen potilasta hoidetaan kuuden viikon ajan antibiooteilla ennen kuin uusi proteesi asennetaan (Jämsen yms. 2005).

Merkittävä osa proteesi-infektioista voi jäädä ilman mikrobiologista varmistusta, jos käytetään vain tavanomaista bakteeriviljelyä. Proteesien pinnalta tavanomaisen viljelyn lisäksi tehty biofilmin irrottaminen äänienergialla (sonikointi) lisää positiivisten viljelylöydösten määrää. Samoin positiivisten löydösten määrä kasvaa, jos käytetään näytteiden kuvantamiseksi immunofluoresenssimikroskopiaa tai bakteerien 16S-ribosomaalisen RNA-geenin

osoittamista PCR-tutkimuksella (Tunney ym. 1999). Trampuzin ym. (2007) suuressa potilasaineistossa sonikointi lisäsi bakteeriviljelyn sensitiivisyyttä 61 %:sta 79 %:iin. Menetelmä paransi bakteeriviljelyn herkkyyttä erityisesti potilailla, jotka olivat saaneet antimikrobista hoitoa kahden viikon sisällä ennen proteesinpoistoleikkausta.

Toistaiseksi tekonivelinfektioiden hoito perustuu tavanomaiseen mikrobilääkehoitoon ja tarvittaessa tekonivelen poistoon. Koe-eläinmallissa on onnistuneesti estetty RIP-peptidillä *S. aureus* -biofilmin muodostumista rotan ihon alle istutettuun, ortopedisissa leikkauksissa käytettävään akryylimuoviin (Anguita-Alonso ym. 2007).

Kystistä fibroosia sairastavien keuhko-infektiot. Kystinen fibroosi on yleisin peittyvästi periytyvä sairaus monissa kehittyneissä maissa. *CFTR*-geenin virhe aiheuttaa kloridin kuljetuksen häiriön epiteelisoluissa ja huonontaa limakalvon toimintaa erityisesti keuhkoissa. Poikkeavan limakalvotoiminnan vuoksi kystistä fibroosia sairastavien keuhkot ovat otollinen paikka krooniselle bakteeri-infektioille. Erityisesti *Pseudomonas aeruginosan* krooninen kantajuus on tavallista, ja se nopeuttaa keuhkojen toiminnan huononemista (McPhail ym. 2008). Muidenkin bakteerin kuten *Haemophilus influenzae* on osoitettu muodostavan biofilmejä kystistä fibroosia sairastavien alahengitysteihin (Starner ym. 2006). Vuosia kestävä infektiota aikana keuhkoihin valikoituu geneettisten mutaatioiden kautta krooniseen biofilmi-infektioon hyvin soveltuva bakteerikanta (Smith ym. 2006).

Virtsatieinfektiot. Naisista 60 % sairastaa vähintään yhden virtsarakontulehduksen elämänsä aikana. Näistä infektioista joka kolmas uusiutuu seuraavan vuoden kuluessa (Foxman ym. 2000). Noin 20–30 % virtsatieinfektioon sairastuneista lapsista saa ainakin yhden uusintainfektion muutaman kuukauden kuluessa ensimmäisestä (Nuutinen ja Uhari 2001). Virtsatieinfektion aiheuttaa yleensä uropatogeeninen *Escherichia coli* -kanta, joka kykenee kiinnittymään rakon epiteeliin.

Jos virtsatieinfektion antibiootihoidon jälkeen virtsa on bakteeriviljelyn perusteel-

la puhdas, hoitovastetta pidetään hyvänä. Osassa uusiutuvista tapauksista virtsatieinfektio saattaa kuitenkin olla virtsarakossa biofilmiolomuodossa pysyvien bakteerien aiheuttama (TAULUKKO 1). Eläinmallissa on osoitettu, että virtsarakon seinämässä on todettavissa infektion aikana solunsisäisiin tiloihin syntyviä, *Escherichia coli* -bakteerien muodostamia biofilmirakenteita (Anderson ym. 2003). Ihmisiltä kerätyistä virtsanäytteistä on pystytty kuvantamaan näitä solunsisäisiä bakteerikertymiä elektroni- ja immunofluorensensimikroskopian avulla (Rosen ym. 2007). On houkuttelevaa ajatella, että virtsarakon seinämän biofilminäisessä muodossa olevat bakteerit voisivat toimia lähtökohtana uusiutuville virtsatieinfektioille silloinkin, kun virtsanäyte on bakteeriviljelyn perusteella tulkittu infektioiden välillä puhtaaksi. Omassa tutkimuksessamme olemme havainneet, että *Escherichia coli* -kantojen kyky muodostaa biofilmiä laboratorio-olosuhteissa on yhteydessä virtsatieinfektion kliiniseen taudinkuvaan. Pyelonefriittiä sairastavilta eristetyt kannat muodostivat enemmän biofilmiä verrattuna niihin, jotka oli eristetty rakkotasoista infektiota sairastavilta (Salo ym. 2009). Löydös voi mahdollisesti selittyä biofilmiä hyvin muodostavien kantojen pysyvyydestä virtsateissä, jolloin niiden todennäköisyys aiheuttaa ylempien virtsateiden infektiota kasvaa.

Välikorvatulehdus. Lapsen äkillinen välikorvatulehdus voi johtaa antibiootihoidosta huolimatta krooniseen välikorvaeritteeseen eli liimakorvatautiin. Totunnaisesti on ajateltu, että korvatorven huono toiminta sinänsä johtaa välikorvan huonoon ilmastoitumiseen ja sitä kautta pitkittyneeseen oireiluun, sillä kroonisen välikorvaeritteen bakteeriviljely jää usein tulokseltaan negatiiviseksi. Kuitenkin pneumokokki-bakteerin genomia kyetään usein osoittamaan viljelynegatiivisesta lasten välikorvaeritteestä herkällä PCR-menetelmällä (Palmu ym. 2004).

Kaikki kolme tärkeintä lasten välikorvatulehdusta aiheuttavaa bakteeria, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* ja *Moraxella catarrhalis*, muodostavat hyvin biofilmiä sekä laboratorio-olosuhteissa että

elimistössä (TAULUKKO 1). Chinchilloilla tehdyissä kokeissa on osoitettu, että *Haemophilus influenzae* kykenee muodostamaan elävistä bakteereista koostuvan biofilmin eläimen välikorvaan (Ehrlich ym. 2002). Hall-Stoodley ym. (2006) totesivat lasten toistuvissa korvatulehduksissa tai liimakorvataudissa lähes aina bakteeribiofilmiä välikorvassa (46:ssa 50:stä välikorvaepiteelinäytteestä). Samanaikaisesti vain joka viidennen tutkitun lapsen välikorvaerite oli viljelypositiivinen ja PCR paljasti vähintään yhden taudinaiheuttajan kaikissa tutkituissa tapauksissa. Verrokkipotilailta sisäkorvaimplanttileikkauksen yhteydessä otetuista näytteistä ei kyetty osoittamaan bakteeribiofilmiä. Myös Tonnaerin ym. (2009) tutkimuksessa löydettiin sisäkorvaimplanttileikkauksen

yhteydessä muuten terveiltä lapsilta otetuista välikorvanäytteistä enintään 10 %:ssa biofilmifragmentteja. Biofilmbakteerien merkityksestä lasten korvatulehdusten hoidossa ei vielä ole tutkimustietoa.

Lopuksi

Biofilmimuodossa olevat bakteerit viestivät keskenään, mukautuvat erilaisiin olosuhteisiin, suojautuvat immuunipuolustukselta ja ovat usein tolerantteja mikrobilääkkeille. Biofilmin muodostuminen on haaste myös diagnostiikalle. Tulevaisuudessa biofilmien muodostukseen ja bakteerisolujen väliseen viestintään kohdistuvat lääkeaineet saattavat auttaa biofilmi-infektioiden hoidossa. ■

TERHI TAPIAINEN, LT, erikoislääkäri

JARMO SALO, LL, erikoislääkäri

MATTI UHARI, professori

Oulun yliopiston lastentautien klinikka
PL 5000, 90014 Oulun yliopisto

Summary

Bacterial biofilms in infectious diseases

Biofilm refers to an organized structure formed by microbes and attached either to an organic or a nonliving surface. The efficacy of conventional antimicrobial drugs against bacteria residing within the biofilm is poor, although planktonic bacteria would be susceptible to them. The biofilm format may also protect bacteria from the immune system. Typical biofilm infections include dental caries and foreign body infections. In the future, treatment of biofilm infections may in addition to antimicrobial therapy utilize drugs that weaken the signaling between bacteria and decrease the ability to form biofilm.

SIDONNAISUUDET

TERHI TAPIAINEN: Osallistunut ICAAC-kongressiin Wyethin kustantamana 2009.

JARMO SALO: Toiminut lastentautien asiantuntijana Coronaria-konsernin verkkopalveluissa ja osallistunut ESPE-kongressiin IPSENin kustantamana 2009 ja Novo Nordiskin kustantamana 2008.

MATTI UHARI: Ei sidonnaisuuksia.

KIRJALLISUUTTA

- Anderson GG, Palermo JJ, Schilling JD, Roth R, Heuser J, Hultgren SJ. Intracellular bacterial biofilm-like pods in urinary tract infections. *Science* 2003;301:105–7.
- Anguita-Alonso P, Giacometti A, Cirioni O, ym. RNAIII-inhibiting-peptide-loaded polymethylmethacrylate prevents in vivo *Staphylococcus aureus* biofilm formation. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:2594–6.
- Budhani RK, Struthers JK. Interaction of *Streptococcus pneumoniae* and *Moraxella catarrhalis*: investigation of the indirect pathogenic role of beta-lactamase-producing moraxellae by use of a continuous-culture biofilm system. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:2521–6.
- Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *MMWR* 2002;51:5–11.
- Cirioni O, Giacometti A, Ghiselli R, ym. RNAIII-inhibiting peptide significantly reduces bacterial load and enhances the effect of antibiotics in the treatment of central venous catheter-associated *Staphylococcus aureus* infections. *J Infect Dis* 2006;193:180–6.
- Costerton JW. A short history of the development of the biofilm concept. Kirjassa: Ghannoum M, O'Toole G, toim. *Microbial biofilms*. Washington, DC: ASM Press 2004, s. 4–19.
- Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995;49:711–45.
- Davies DG, Parsek MR, Pearson JP, Iglewski BH, Costerton JW, Greenberg EP. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science* 1998;280:295–8.
- Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:167–93.
- Donlan RM, Priede JA, Heyes CD, ym. Model system for growing and quantifying *Streptococcus pneumoniae* biofilms in situ and in real time. *Appl Environ Microbiol* 2004;70:4980–8.
- Ehrlich GD, Veeh R, Wang X, ym. Mucosal biofilm formation on middle-ear mucosa in the chinchilla model of otitis media. *JAMA* 2002;287:1710–5.
- Foxman B, Barlow R, D'Arcy H, Gillespie B, Sobel JD. Urinary tract infection: self-reported incidence and associated costs. *Ann Epidemiol* 2000;10:509–15.
- Geesey GG, Richardson WT, Yeomans HG, Irvin RT, Costerton JW. Microscopic examination of natural sessile bacterial populations from an alpine stream. *Can J Microbiol* 1977;23:1733–6.
- Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* 2004;2:95–108.
- Hall-Stoodley L, Hu FZ, Gieseke A, ym. Direct detection of bacterial biofilms on the middle-ear mucosa of children with chronic otitis media. *JAMA* 2006;296:202–11.
- Hentzer M, Wu H, Andersen JB, ym. Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence by quorum sensing inhibitors. *EMBO J* 2003;22:3803–15.
- Hoffman LR, D'Argenio DA, MacCoss MJ, Zhang Z, Jones RA, Miller SI. Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm formation. *Nature* 2005;436:1171–5.
- Jämsen E, Pajamäki J, Halonen P, Moilanen T, Puolakka T, Lehto M. Mitä tehdä, kun epäilee polven tekonivelen infektiota? *Suom Lääkäril* 2005;42:4245–8.
- Kiran MD, Adikesavan NV, Cirioni O, ym. Discovery of a quorum-sensing inhibitor of drug-resistant staphylococcal infections by structure-based virtual screening. *Mol Pharmacol* 2008;73:1578–86.
- Kowalko JE, Sebert ME. The *Streptococcus pneumoniae* competence regulatory system influences respiratory tract colonization. *Infect Immun* 2008;76:3131–40.
- Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nat Rev Microbiol* 2007;5:48–56.
- Lyte M, Freestone PP, Neal CP, ym. Stimulation of *Staphylococcus epidermidis* growth and biofilm formation by catecholamine inotropes. *Lancet* 2003;361:130–5.
- Manefield M, de Nys R, Kumar N, ym. Evidence that halogenated furanones from *Delisea pulchra* inhibit acylated homoserine lactone (AHL)-mediated gene expression by displacing the AHL signal from its receptor protein. *Microbiology* 1999;145 (Pt 2):283–91.
- McPhail GL, Acton JD, Fenchel MC, Amin RS, Seid M. Improvements in lung function outcomes in children with cystic fibrosis are associated with better nutrition, fewer chronic *pseudomonas aeruginosa* infections, and dornase alfa use. *J Pediatr* 2008;153:752–7.
- Mlot C. Microbiology. Antibiotics in nature: beyond biological warfare. *Science* 2009;324:1637–9.
- Nuutinen M, Uhari M. Recurrence and follow-up after urinary tract infection under the age of 1 year. *Pediatr Nephrol* 2001;16:69–72.
- Oggioni MR, Trappetti C, Kadioglu A, ym. Switch from planktonic to sessile life: a major event in pneumococcal pathogenesis. *Mol Microbiol* 2006;61:1196–210.
- Palmu AA, Saukkoripi PA, Lahdenkari MI, ym. Does the presence of pneumococcal DNA in middle-ear fluid indicate pneumococcal etiology in acute otitis media? *J Infect Dis* 2004;189:775–84.
- Presterl E, Grisold AJ, Reichmann S, Hirschl AM, Georgopoulos A, Graninger W. Viridans streptococci in endocarditis and neutropenic sepsis: biofilm formation and effects of antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 2005;55:45–50.
- Rosen DA, Hooton TM, Stamm WE, Humphrey PA, Hultgren SJ. Detection of intracellular bacterial communities in human urinary tract infection. *PLoS Med* 2007;4:e329.
- Salo J, Sevander JJ, Tapiainen T, ym. Biofilm formation by *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infections. *Clin Nephrol* 2009;71:501–7.
- Sandoe JA, Wysome J, West AP, Heritage J, Wilcox MH. Measurement of ampicillin, vancomycin, linezolid and gentamicin activity against enterococcal biofilms. *J Antimicrob Chemother* 2006;57:767–70.
- Sauer K, Camper AK, Ehrlich GD, Costerton JW, Davies DG. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *J Bacteriol* 2002;184:1140–54.
- Simonetti O, Cirioni O, Ghiselli R, ym. RNAIII-inhibiting peptide enhances healing of wounds infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:2205–11.
- Smith EE, Buckley DG, Wu Z, ym. Genetic adaptation by *Pseudomonas aeruginosa* to the airways of cystic fibrosis patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:8487–92.
- Starner TD, Zhang N, Kim G, Apicella MA, McCray PB, Jr. *Haemophilus influenzae* forms biofilms on airway epithelia: implications in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:213–20.
- Suntharalingam P, Cvitkovitch DG. Quorum sensing in streptococcal biofilm formation. *Trends Microbiol* 2005;13:3–6.
- Tamura S, Yonezawa H, Motegi M, ym. Inhibiting effects of *Streptococcus salivarius* on competence-stimulating peptide-dependent biofilm formation by *Streptococcus mutans*. *Oral Microbiol Immunol* 2009;24:152–61.
- Tonnaer EL, Mylanus EA, Mulder JJ, Curfs JH. Detection of bacteria in healthy middle ears during cochlear implantation. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2009;135:232–7.
- Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ, ym. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. *N Engl J Med* 2007;357:654–63.
- Tunney MM, Patrick S, Curran MD, ym. Detection of prosthetic hip infection at revision arthroplasty by immunofluorescence microscopy and PCR amplification of the bacterial 16S rRNA gene. *J Clin Microbiol* 1999;37:3281–90.
- Williams P, Camara M. Quorum sensing and environmental adaptation in *Pseudomonas aeruginosa*: a tale of regulatory networks and multifunctional signal molecules. *Curr Opin Microbiol* 2009;12:182–91.
- Wu H, Song Z, Hentzer M, ym. Synthetic furanones inhibit quorum-sensing and enhance bacterial clearance in *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in mice. *J Antimicrob Chemother* 2004;53:1054–61.
- Yang L, Rybtke MT, Jakobsen TH, ym. Computer-aided identification of recognized drugs as *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53:2432–43.