

Received: 2015.10.07
Accepted: 2016.05.05
Published: 2016.09.30

Szczepionki w zapobieganiu zakażeniom układu moczowego, wywołwanym przez bakterie z rodzaju *Proteus*

Vaccines in prophylaxis of urinary tract infections caused by the bacteria from the genus *Proteus*

Dominika Drzewiecka, Gabriela Lewandowska

Zakład Mikrobiologii Ogólnej, Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii, Uniwersytet Łódzki

Streszczenie

Zakażenia układu moczowego (ZUM) są istotnym zagrożeniem dla kobiet, osób z obniżoną odpornością, wadami anatomicznymi układu moczowego, pacjentów hospitalizowanych i cewnikowanych. Pałeczki z rodzaju *Proteus*, głównie *P. mirabilis*, są ważnym czynnikiem etiologicznym infekcji układu moczowego. Powodują często zakażenia chroniczne, nawrotowe, z groźnymi powikłaniami, zwłaszcza w postaci powstawania kamieni moczowych, do czego przyczynia się intensywne wytwarzanie ureazy – enzymu, który powoduje alkalizację moczu, a także inne czynniki chorobotwórczości tych bakterii. Rosnąca antybiotykooporność i zdolność do przeżywania wewnątrz kamieni moczowych utrudnia eradykację pałeczek *Proteus* spp. z układu moczowego. Dobrym rozwiązaniem problemu infekcji tymi bakteriami mogą być szczepienia ochronne, które zyskały zainteresowanie osób ankietowanych, mimo zaznaczających się także w naszym kraju postaw antyszczepionkowych. Obecnie funkcjonują cztery szczepionki wieloważne, złożone z zabitych komórek różnych uropatogenów, w tym pałeczek *Proteus* spp. Są przyjmowane dopochwowo lub doustnie, wymagają wielu dawek przypominających. Zmniejszają prawdopodobieństwo reinfekcji u pacjentów chorych na nawracające ZUM, choć mechanizmy odpowiedzi układu odpornościowego nie są dokładnie określone. Obiecujące wyniki przyniosły badania, prowadzone na modelu mysim, nad szczepionkami podjednostkowymi, koniugowanymi, w których z powodzeniem stosowano różne antygeny powierzchniowe *P. mirabilis*, np. Pta czy OMPs, jedynie flagelina rzęsek nie spełniła wymagań immunogenu szczepionkowego. Najlepsze, jak dotąd, wyniki uzyskano w szczepieniach donosowych, wykorzystujących antygeny fimbrii MR/P z adiuwantem MPL lub toksyną cholery, a także dokonując ekspresji tych antygenów w *Lactococcus lactis* i w *Salmonella Typhimurium*. Skutkowało to wzrostem stężenia przeciwciał surowicznych i wydzielniczych oraz ochroną przed zakażeniem układu moczowego tymi pałeczkami.

Słowa kluczowe:

Proteus • zakażenie układu moczowego • szczepionka • antygen • przeciwciało

Summary

Urinary tract infections (UTIs) pose a threat especially to women, the individuals with weakened immunity or with abnormalities in the urinary tract as well as to hospitalized and catheterized patients. The bacteria from the genus *Proteus*, especially *P. mirabilis*, are important UTI pathogenic factors. They frequently cause chronic, recurrent or severely complicated infections, resulting in the urinary stones production due to urease and other virulence factors. The ability to survive inside the stones and the increasing antibiotic resistance make it



difficult to eradicate the bacteria from the urinary tract. A good solution to the problem may be the vaccination which obtained the interest from the surveyed persons, in spite of the antivaccination attitudes visible also in Poland. Currently, there are four vaccines available, composed of killed cells of different uropathogens, including *Proteus* spp. They are administered intranasally or vaginally and require many booster doses. They decrease the probability of reinfection in patients suffering from recurrent UTIs but the mechanisms of the immune response have not been exactly defined. Promising results were obtained in the studies on a mice model concerning the subunit, conjugated vaccines in which various *P. mirabilis* surface antigens (with the exception of flagellin) were successfully employed. Hitherto, the best results were obtained by the intranasal vaccinations, using MR/P fimbriae antigens with MPL or cholera toxin adjuvants and the antigens expressed in *Lactococcus lactis* or *Salmonella* Typhimurium. It led to an increase in the levels of the specific serum and mucosal antibodies resulting in the protection against *P. mirabilis* UTIs.

Keywords: *Proteus* • urinary tract infection • vaccine • antigen • antibody

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1220606>

Word count: 6049
Tables: 2
Figures: –
References: 60

Adres autorki: dr Dominika Drzewiecka, Zakład Mikrobiologii Ogólnej, Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź; e-mail: domkam@biol.uni.lodz.pl

Wykaz skrótów: **CAUTI** – zakażenia układu moczowego związane z cewnikowaniem (catheter-associated urinary tract infections); **cfu** – jednostka koloniotwórcza (colony forming unit); **IFN-γ** – interferon γ; **LAB** – bakterie kwasu mlekowego (lactic acid bacteria); **LPS** – lipopolisacharyd; **MPL** – monofosforyl-lipid A (monophosphoryl lipid A); **OMPs** – białka błony zewnętrznej (outer membrane proteins); **UPEC** – uropatogenna *Escherichia coli* (uropathogenic *E. coli*); **ZUM (UTI)** – zakażenia układu moczowego (urinary tract infections).

ZAKAŻENIA UKŁADU MOCZOWEGO

Zakażenia układu moczowego (ZUM, UTI – urinary tract infections) są związane z obecnością drobnoustrojów w układzie moczowym powyżej zwieracza pęcherza moczowego [13]. Należą do najczęstszych chorób infekcyjnych, gdyż stanowią około 20% wszystkich infekcji pozaszpitalnych i nawet do 50% infekcji wewnątrzszpitalnych [26]. Prawdopodobnie, w warunkach fizjologicznych, mocz jest jałowy w górnych odcinkach dróg moczowych, czyli w nerkach i moczowodach, a w dolnych odcinkach powyżej ujścia cewki moczowej. Ujście to jest skolonizowane przez mikroflorę fizjologiczną, w większości przez pałeczki kwasu mlekowego, gronkowce koagulazoujemne, paciorkowce i maczugowce, które chronią układ moczowy przed infekcją uropatogenami [41]. Jest to tzw. odporność kolonizacyjna. Do innych mechanizmów chroniących drogi moczowe przed zakażeniem należą: wydzielina gruczołu krokowego mężczyzn, zawierająca cynk, niskie pH moczu, mechaniczne splukiwanie bakterii przez strumień moczu, zluszczenie się komórek

nabłonka układu moczowego, substancje przeciwbakteryjne błony śluzowej, takie jak przeciwciała wydzielnicze, cytokiny, peptydy, laktoferyna, neutrofile i in. [41], a także kwaśne pH wydzieliny pochwy i fizjologiczna mikroflora pochwy, duże stężenie mocznika i kwasów organicznych w moczu [5].

Z wiekiem mechanizmy odporności ulegają osłabieniu, dlatego w wieku starszym, podobnie jak w wieku niemowlęcym, kiedy układ odpornościowy nie jest jeszcze dostatecznie rozwinięty, podatność na infekcje układu moczowego jest większa. Czynniki sprzyjające rozwojowi ZUM i ważne w profilaktyce tych zakażeń przedstawiono w tabeli 1.

Warto podkreślić, że ZUM występują około dziesięć [13] do trzydziestu [41] razy częściej u kobiet niż u mężczyzn, z wyjątkiem okresu niemowlęcego i starczego. Powodem tego stanu u kobiet jest anatomiczna bliskość ujścia cewki moczowej i odbytu, który jest głównym rezerwuarem patogenów, podobnie jak przedsionek pochwy i okolica

Tabela 1. Czynniki sprzyjające i zapobiegające ZUM [13,26,41]

Czynniki sprzyjające ZUM	Profilaktyka ZUM
wiek niemowlęcy i starczy	przyjmowanie dużej ilości płynów
ciąża (bakteriuria u 4-10 % ciężarnych)	częste, regularne i całkowite opróżnianie pęcherza
zastój moczu	opróżnianie pęcherza po stosunku płciowym i przed snem
reflaks pęcherzowo-moczowodowy	przestrzeganie zasad higieny intymnej
kamienie moczowe	unikanie i leczenie zaparć
antybiotykoterapia – pojawianie się oporności (także szczepów niepatogennych)	unikanie kąpeli w niebadanych kąpieliskach oraz w wannie z dodatkiem środków pieniących
cukrzyca i inne zaburzenia metaboliczne	przyjmowanie preparatów z żurawiną
obniżenie odporności organizmu (np. leczenie immunosupresyjne, AIDS)	leczenie zapaleń narządów rodnych
cewnikowanie	leczenie wad anatomicznych i schorzeń układu moczowego
aktywność seksualna, zwłaszcza kobiet	
stany zapalne narządów płciowych	
Pasożyty przewodu pokarmowego	

podnapletkowa u mężczyzn [26]. Szacuje się, że bakterie bytujące pod napletkiem są przyczyną 30% przypadków ZUM u chłopców, a pacjenci obrzezani chorują dziesięć razy rzadziej [5]. Do pierwszego roku życia częściej chorują chłopcy niż dziewczynki, potem w tej statystyce przeważają kobiety. Szacuje się, że jedna na trzy kobiety do 24 roku życia i około 50% kobiet w ogóle przeżywa chociaż jeden epizod ZUM [53]. Bakteriurię wykrywa się u około 1% mężczyzn między pierwszym a pięćdziesiątym rokiem życia. Później częstość wzrasta do co najmniej 3% w wieku 70 lat [13]. Inni autorzy podają ponad 10% częstość ZUM u mężczyzn sześćdziesięcioletnich i ponad 20% u kobiet w tym wieku [41], 5-10% u starszych mężczyzn i 10-20% u starszych kobiet [38] lub dwa razy większą u kobiet [26]. ZUM są najczęstszymi infekcjami osób starszych. Aż 25-50% mieszkańców domów spokojnej starości stale cierpi na bakteriurię, często asymptomatyczną [38].

Zakażenia układu moczowego mogą mieć przebieg ostry lub przewlekły. U prawie 20% młodych kobiet obserwuje się nawroty ZUM, czyli ponowne pojawienie się objawów ostrych, wywołanych przez ten sam drobnoustroj, do dwóch tygodni po zakończeniu leczenia lub reinfekcje ZUM, czyli pojawienie się objawów po ponad dwóch-trzech tygodniach od zakończenia leczenia [13]. W około 25-35% ZUM występują reinfekcje w ciągu trzech do sześciu miesięcy po pierwszym epizodzie, w 60% powodowane przez ten sam drobnoustroj [44]. Objawami ostrego zapalenia pęcherza (*cystitis acuta*), czyli infekcji dolnych dróg moczowych, są najczęściej nasilone zaburzenia oddawania moczu (dysuria) – częstomocz, nagłe parcia, pieczenie, ból w okolicy nadłonowej i stany podgorączkowe. Brak ogólnych objawów zapalenia. Do objawów ostrego odmiedniczkowego zapalenia nerek (*pyelonephritis acuta*), czyli infekcji górnych dróg moczowych, należą: dysuria, jednostronne lub obustronne bóle w okolicy lędźwiowej czasem promieniujące do spojenia łonowego, podwyższona do 38-39 °C ciepłota ciała z dreszczami, a w stanach ciężkich – bóle brzucha, głowy, mięśni, nudności, wymioty i wzrost temperatury powyżej 39 °C. Powikłania ZUM mogą obejmować posocznice

nerkopochodną, utrudnienia w odpływie moczu, kamienie moczowe, niewydolność nerek [13,26].

Szczególnie negatywną rolę w nabywaniu ZUM pełni cewnikowanie dróg moczowych. ZUM związane z cewnikowaniem to najczęstsze infekcje szpitalne (aż 40% zakażeń nabytych podczas hospitalizacji), w dużej mierze są to autoinfekcje mikroflorą jelitową [3]. Wśród wewnątrzszpitalnych ZUM aż 90% to zakażenia nabyte przez instrumentację dróg moczowych. Drobnoustroje dostają się do układu moczowego podczas wprowadzania lub usuwania cewnika, przemieszczają się także po jego powierzchni. Każdy dzień z cewnikiem moczowym zwiększa o 3-10% prawdopodobieństwo wystąpienia ZUM, które po miesiącu równe jest 100%. W ponad 90% przypadków są to bakterie bezobjawowe, które przeważnie ustępują samoistnie po usunięciu cewnika. U pacjentów cewnikowanych należy zachować szczególne zasady ostrożności, polegające na częstych wymianach cewnika czy zachowaniu zasady grawitacji. Nieskuteczne jest natomiast płukanie pęcherza roztworem antybiotyków lub odkażanie ujścia cewki moczowej [13,26].

Cewniki urologiczne, tak jak poszczególne części układu moczowego, mogą być trwale i skutecznie kolonizowane przez uropatogeny, osiedlające się w postaci biofilmu. Postać biofilmu jest szczególnie korzystna dla drobnoustrojów, które są w ten sposób chronione przed niektórymi czynnikami środowiska i znacznie bardziej odporne na substancje bakteriobójcze czy mechanizmy obronne układu odpornościowego gospodarza. Biofilm intensywnie tworzy się na polimerach, z których są wykonywane cewniki (propylen, polistyren, silikon, polichlorek winylu, lateks silikonowany), a to zmniejsza ich światło i utrudnia przepływ moczu. Mimo wielu badań nie udało się jeszcze opracować materiału, który skutecznie hamowałby adhezję drobnoustrojów i powstawanie biofilmu [42].

Do zakażenia układu moczowego dochodzi przede wszystkim drogą wstępującą (ponad 90% przypadków),



jedynie 2-3% to zakażenia drogą krwionośną lub limfatyczną [13,41]. Dowodem bakteriurynego ZUM jest stwierdzenie bakteriomoczu znamiennego (bakteriurii), czyli wykrycie bakterii w liczbie $\geq 10^5$ cfu (colony forming unit) w 1 ml moczu u osób bez objawów ZUM i u kobiet z objawami klinicznymi (przy czym w zakażeniu *Escherichia coli* wystarczy wykrycie $\geq 10^2$ cfu/ml przy jednoczesnej leukocyturii) lub w liczbie $\geq 10^3$ cfu/ml u mężczyzn z objawami ZUM. Należy podkreślić, że o bakteriomoczu znamienym świadczy każda liczba bakterii, wyhodowana z próbki moczu pobranej z nadłonowego nakłucia pęcherza moczowego [13].

ZUM wywołują głównie bakterie, rzadko wirusy (*Herpes simplex*, adenowirusy), grzyby lub inne pasożyty. Wśród grzybów dominują drożdże z rodzaju *Candida*, które wywołują zakażenia zwłaszcza po antybiotykoterapii, a także *Aspergillus* i *Cryptococcus*. Nieliczne zakażenia przez układ krwionośny i przez układ limfatyczny są wywoływane przez *Mycobacterium tuberculosis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* spp. i rodzaj *Salmonella*. Zdarzają się także ZUM spowodowane przez bakterie przenoszone drogą płciową, takie jak *Chlamydia trachomatis* czy *Neisseria gonorrhoeae*. Zakażenia bakteriami Gram-dodatnimi nie przekraczają 10% przypadków, natomiast zdecydowana większość wstępujących zakażeń układu moczowego jest spowodowana przez bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*. U pacjentów hospitalizowanych ZUM wywoływać może *Serratia marcescens*. Najczęstszym czynnikiem etiologicznym jest *E. coli*, która jest odpowiedzialna, jak się szacuje, za około 90% przypadków ZUM pozaszpitalnych i około 50% wewnątrzszpitalnych. Wśród innych bakterii uropatogennych są wymieniane: *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *P. aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* [13,26,41]. U osób starszych z moczu izoluje się też *Citrobacter* spp., *Providencia* spp., *Morganella morganii* i paciorkowce grupy B [38].

PAŁECZKI *PROTEUS* SPP. JAKO UROPATOGENY

Bakterie z rodzaju *Proteus* to Gram-ujemne pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae*, które są istotnym czynnikiem etiologicznym zakażeń układu moczowego. Są klasyfikowane na drugim-czwartym miejscu po *E. coli* jako czynnik sprawczy zakażeń, zarówno szpitalnych, jak i pozaszpitalnych. Powodują około 5,5% ZUM u pacjentów niehospitalizowanych, z 90% udziałem *E. coli*. Były np. przyczyną 5,4% nieskomplikowanych UTI u Hiszpanek z 81,8% udziałem *E. coli* i 7,9% *Klebsiella pneumoniae* [12], stanowiły też 6,9% izolatów z UTI w Grecji, z 68,9% udziałem *E. coli* i 6,4% *K. pneumoniae* [34]. Szacuje się, że *Proteus* spp. odpowiada aż za 22% przypadków zakażeń wewnątrzszpitalnych (z 50% udziałem *E. coli*) [13]. Na przykład w Indiach *P. mirabilis* izolowany był aż z 25% szpitalnych ZUM, głównie od młodych kobiet w ciąży, przy czym obserwowano umiejscowioną plazmidowo wielolekooporność szczepów [25]. Najnowsze doniesienia wskazują na nieco mniejszy udział *Proteus* spp. w infekcjach układu moczowego, gdyż wśród pacjentów hospitalizowanych w Iranie bakterie te spowo-

dowały niecałe 11% ZUM i były na trzecim miejscu po *E. coli* (prawie 52%) i *K. pneumoniae* (ponad 16%) [55], natomiast wśród hospitalizowanych dzieci w wieku 0-6 lat w Turcji były czwartą po *E. coli*, *Klebsiella* spp. i *Enterobacter* spp. przyczyną ZUM, powodując ponad 5% infekcji wśród małych pacjentów i wykazując najwyższy stopień oporności na nitrofurantoinę – lek często stosowany w zakażeniach układu moczowego [9]. Pałeczki z rodzaju *Proteus* są izolowane od 30% zakażonych chłopców w wieku starszym niż pół roku, gdyż kolonizują okolicę podnapletkową [26]. Pałeczki te są również wymieniane wśród bakterii, powodujących sporadyczne przypadki zakażenia drogą krwiopochodną [41]. Są głównym czynnikiem sprawczym zapalenia nerek, stercza i kamicy moczowej, odpowiadają aż za 44% ZUM związanych z cewnikowaniem (CAUTI – catheter associated urinary tract infection) w Stanach Zjednoczonych [3]. Są uważane za drugą po *E. coli* przyczynę bakteriurii związanych z cewnikowaniem i najczęstszą przyczynę skomplikowanych ZUM [42].

Bakterie z rodzaju *Proteus* są uważane za patogeny oportunistyczne, jednak wykształciły wiele mechanizmów umożliwiających im wywoływanie infekcji (w tym przede wszystkim wewnątrzszpitalnych) i patogenność, zwłaszcza ran i dróg moczowych. Czynniki wirulencji tych bakterii i ich rolę w kolonizacji i patogenezie układu moczowego przedstawiono w tabeli 2.

Izolaty związane z CAUTI mogą mieć znacznie szerszy zakres i wykazywać silniejszą ekspresję czynników chorobotwórczości w porównaniu z izolatami z kału osób zdrowych [18]. Jelita są naturalnym rezerwuarem pałeczek *Proteus* spp., które występują w kale u kilku procent ludzi, nie wywołując symptomów choroby. Najbardziej chorobotwórczym i rozpowszechnionym wśród pacjentów gatunkiem jest *P. mirabilis*, który odpowiada za ponad 3% ZUM pozaszpitalnych i prawie 13% wewnątrzszpitalnych, ale pozostałe gatunki (*P. vulgaris*, *P. penneri*, *P. hauseri* i trzy nienazwane gatunki genomowe, oznaczone numerami 4, 5 i 6 [40]) także mają udział w patogenezie dróg moczowych, powodując prawie 2,5% ZUM pozaszpitalnych i ponad 9% wewnątrzszpitalnych [13].

Proteus spp. jest istotnym i groźnym uropatogendem z kilku powodów. Przede wszystkim intensywnie wytwarza ureazę – metaloenzym zawierający atomy niklu, katalizujący reakcję rozkładu mocznika do amoniaku i karbaminianu, który spontanicznie rozpada się do dwutlenku węgla i drugiej cząsteczki amoniaku. Ekspresja genów *ure* kodujących ureazę jest indukowana u *P. mirabilis* obecnością mocznika za pomocą regulatora *UreR* i prawdopodobnie regulowana przez pH środowiska. Enzym związany z komórką – w cytoplazmie lub osłonach komórkowych – jest efektywnym czynnikiem chorobotwórczości, odgrywającym istotną rolę w kolonizacji układu moczowego, co wykazano w porównaniu z mutantem ureazoujemnym. Ureaza nie tylko dostarcza komórkom bakteryjnym źródła azotu w postaci jonów amonowych, ale także w sposób drastyczny zmienia właściwości moczu. Powstają szkodliwe dla komórek gospodarza amoniak i wodoro-

Tabela 2. Rola czynników chorobotwórczości *Proteus* spp. w patogenezie ZUM [3,45]

Czynnik wirulencji	Znaczenie
Ureaza	powstawanie kamieni moczowych i drażniących produktów rozkładu mocznika
Rzęski	pływanie w środowisku moczu lub pełzanie po powierzchni nabłonka lub cewnika
Fimbrie i aglutyniny	adhezja do nabłonka lub powierzchni cewnika
Biofilm	kolonizacja powierzchni nabłonka i cewnika, ochrona bakterii przed czynnikami szkodliwymi
Polisacharydy O-swoiste i otoczkowe	ułatwianie wzrostu rozpełzłego, formowania kamieni moczowych i biofilmu
Hemolizyny	cytotoksyczność
Agglutynina Pta	cytotoksyczność, agregacja komórek
Inwazyjność	wnikanie do komórek nabłonka
Proteazy	degradacja przeciwciał

tlenek amonu, podnosząc pH moczu, które w warunkach fizjologicznych jest lekko kwaśne. Może to być groźne dla zdrowia człowieka. W pH kwaśnym sole, obecne w moczu, występują w postaci zjonizowanej, czyli rozpuszczalnej. Gdy środowisko moczu pod wpływem działania ureazy i powstających jonów amonowych alkalizuje się, rozpuszczone dotychczas sole zmieniają się w postać niezdysonowaną, krystalizują i wytrącają z moczu w postaci początkowo małych, a stopniowo coraz większych kryształów, przekształcających się w kamienie moczowe, powstające głównie ze struwitu ($MgNH_4PO_4 \times 6H_2O$) oraz węglanu apatytu [$Ca_{10}(PO_4)_6CO_3$] [7]. Należy podkreślić, że tzw. infekcyjne kamienie moczowe, czyli wywołane przez długotrwałe zakażenia bakteriami ureazododatnimi (oprócz *Proteus* spp. np. *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Ureaplasma ureolyticum*), aż w 70% przypadków są spowodowane właśnie przez bakterie z rodzaju *Proteus*, które przeżywiają wewnątrz kamieni, intensyfikując ich powiększanie się. Kamienie mogą powstawać w pęcherzu i nerkach, rzadziej w moczowodach. Leczenie kamicy moczowej wiąże się z chirurgicznym usunięciem kamieni lub ich endoskopowym rozkruszeniem oraz antybiotykoterapią, stosowaną także po zabiegu w celu zniszczenia drobno-ustrojów, które wydostały się z wnętrza kamieni. Kamica jest ciężką chorobą, która ma charakter nawrotowy, a nieleczona może doprowadzić do utraty nerek, a nawet do śmierci [56]. Tworzenie kamieni jest związane z rodzajem glikokaliksu obecnego na powierzchni bakterii i często zachodzi w biofilmie powstającym w układzie moczowym, gdyż ujemnie naładowane polisacharydy macierzy biofilmu przyciągają wytrącające się kationy, tworząc załazek krystalizacji. Jest to ważne, zwłaszcza w biofilmie powstającym na powierzchni cewników urologicznych, gdyż może spowodować ich zacopowanie [21]. *P. mirabilis* jest jednym z częstszych składników biofilmów cewnikowych, zwłaszcza mieszanych, które stanowią ponad 70%, wykazuje przy tym wyraźną lekooporność i jest najczęstszym mikroorganizmem izolowanym z ZUM związanych z cewnikowaniem [3,37]. Oprócz glikokaliksu także cukrowa część O-swoista lipopolisacharydu pałeczek *Proteus* spp. wpływa na powstawanie kamieni moczowych. W zależności od ich budowy chemicznej polisacharydy O-swoiste mogą wzmagać lub hamować proces powsta-

wania kamieni moczowych, przy czym obecność ujemnie naładowanych reszt sprzyja ich tworzeniu [56]. Obecnie schemat klasyfikacji serologicznej bakterii z rodzaju *Proteus* obejmuje 80 serogrup O [51]. Antygeny O szczepów należących do tych serogrup charakteryzują się zróżnicowaną strukturą, ale większość z nich cechuje się kwasowością (ładunkiem ujemnym), związaną z obecnością reszt kwasów uronowych, innych kwasów organicznych i fosforanu [27]. Cztery ostatnie serogrupy (O77, O78, O79 i O80) wyodrębniono na podstawie badań szczepów izolowanych w Polsce od pacjentów z regionu łódzkiego [2,14,15,51].

Inną charakterystyczną cechą bakterii z rodzaju *Proteus*, mającą niebagatelne znaczenie w kolonizacji przez nie układu moczowego, jest ich zdolność do wzrostu rozpełzłego na podłożu stałym. Zdolność, obserwowana także u innych bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich, w rodzaju *Proteus* jest szczególnie wyraźna. Bakterie te w ciągu doby mogą pokonać na podłożu agarowym odległość nawet powyżej 80 mm [28]. Pełzanie jest charakterystyczne dla komórek długich, tzw. swimmer cells, powstających z krótkich, pływających pałeczek, tzw. swimmer cells. Oprócz znacznie wydłużonych rozmiarów (nawet pięćdziesięciokrotnie) i powielonych nukleoidów, komórki pełzające mają zwielokrotnioną liczbę rzęsek umożliwiających ruch, natomiast zredukowaną liczbę fimbrii odpowiedzialnych za przyleganie do powierzchni, gdyż ich główną funkcją jest prawdopodobnie szybkie rozprzestrzenianie się, np. po powierzchni nabłonka układu moczowego lub cewnika urologicznego. Komórki długie cechują też silniejsze właściwości inwazyjne oraz zwiększone wydzielanie hemolizyny HpmA, ureazy i metaloproteazy ZapA degradującej przeciwciała IgA. Powstawać i pełzać mogą w odpowiedzi na sygnał biochemiczny, np. aminokwasy i ich pochodne powstałe w czasie hydrolyzy przeciwciał wytworzonych przez organizm w celu zwalczania infekcji [3,45]. Wykazano, że *P. mirabilis* jest zdolny do migracji po różnych typach cewników ze średnią prędkością 1 cm na 8-13,5 godz., w zależności od typu powierzchni cewnika. Wolniejszy ruch zaobserwowano po hydrofobowej powierzchni cewników silikonowych, znacząco szybszy po cewnikach pokrytych hydrofilowym żelem lub nawet srebrem. Okazało się więc, że związki srebra nie hamowały wzrostu rozpełzłego [54].



Podejmuje się badania nad składem cewników i substancji powlekających cewniki, zastosowaniem bakteriofagów, a także nad substancjami zaburzającymi komunikację bakteryjną *quorum sensing*, co ma na celu hamowanie tworzenia biofilmu bakteryjnego na powierzchni cewników i jednocześnie nie powoduje selekcji szczepów opornych, w odróżnieniu od antybiotykoterapii. Badania są obiecujące, jednak nie zakończyły się, jak dotąd, sukcesem [21,42].

Chroniczne infekcje spowodowane przez *Proteus* spp., zwłaszcza przez *P. mirabilis*, są częste, gdyż eradykacja drobnoustrojów może być utrudniona z powodu ich przeżywania wewnątrz kamieni moczowych oraz długotrwałego stosowania cewników. Pałeczki te są stosunkowo wrażliwe na działanie antybiotyków powszechnie stosowanych w leczeniu ZUM, jednak są naturalnie odporne na tetracyklinę i nitrofurantoinę, rośnie ich oporność na ampicylinę i trimetoprim, mogą być również rezerwuarem kodowanych plazmidowo β -laktamaz [11,38] i innych genów lekooporności, o czym wspomniano wyżej. Istotnym zagrożeniem staje się wielolekooporność szczepów *P. mirabilis* powodujących infekcje układu moczowego [10].

Wykazano, że izolaty kliniczne z różnych źródeł i izolaty pozakliniczne *P. mirabilis* mogą wykazywać podobne czynniki chorobotwórczości i porównywalną zdolność do infekcji układu moczowego u myszy [52]. Przebycie zakażenia układu moczowego spowodowanego przez *P. mirabilis* nie chroni przed powtórny zakażeniem szczepem homologicznym, o czym świadczą nawracające infekcje tym patogenem u ludzi i co potwierdzono także doświadczalnie na myszach [23].

PREPARATY SZCZEPIONKOWE

Dobrym rozwiązaniem narastającego problemu trudnych w leczeniu, powikłanych i nawracających zakażeń układu moczowego mogą być szczepienia profilaktyczne. Szczepienia jako sposób zapobiegania infekcjom powodowanym przez bakterie z rodzaju *Proteus*, zwłaszcza przez *P. mirabilis*, byłyby istotne zwłaszcza wobec coraz mniejszej skuteczności dostępnych antybiotyków [20]. Precyzując grupę potencjalnych adresatów takiej szczepionki, należałoby wśród nich przede wszystkim wskazać [30]:

- osoby z anatomicznymi lub funkcjonalnymi anomaliami w obrębie układu moczowego,
- osoby długotrwanie cewnikowane,
- kobiety z prawidłowo funkcjonującym układem moczowym, ale doświadczające nawracających ZUM o etiologii *E. coli*.

Szczepienia, oprócz higieny, są uważane za najskuteczniejszą metodę profilaktyki zakażeń. Zawarte w szczepionkach antygeny immunogenne mają wzbudzać

odpowiedź humoralną i/lub komórkową w organizmie szczepionej osoby. Szczepionki mogą zawierać całe atenuowane komórki drobnoustrojów, żywe lub martwe. Są skuteczne, gdyż zawierają wiele antygenów, ale ich skład nie jest dobrze określony. Natomiast tzw. szczepionki podjednostkowe, tworzone z oczyszczonych antygenów przez koniugację z nośnikiem, mają dobrze zdefiniowany skład i dużą swoistość, ale nie są tak efektywne, wymagają zastosowania adiuwantów i często wielu dawek przypominających [22]. Pamięć immunologiczna, jako wynik szczepienia, umożliwia ma szybką odpowiedź układu odpornościowego na zakażenie, co jest podstawowe w wakcynacji [8].

Należy pamiętać, że mikroorganizmy z rodzaju *Proteus* przez zdolność do tworzenia kamieni moczowych zmieniają nieskomplikowane ZUM w powikłane, często bardzo poważne i chroniczne. Zagraża to zwłaszcza kobietom i nie musi być związane z wadami anatomicznymi lub fizjologicznymi układu moczowego. Zakażenia są trudne do zwalczania, gdyż bakterie przeżywają wewnątrz kamieni, które są trwałym rezerwuarem patogenów. Dlatego szczepionki byłyby dobrą alternatywą terapii antybiotykowej, która obecnie jest najszerzej stosowanym sposobem eliminacji ZUM [31]. Terapia ta jednak często nie daje oczekiwanych rezultatów, a jej działaniem niepożądanym jest narastająca antybiotykkooporność wśród pałeczek *Proteus* spp., w tym powstawanie szczepów wielolekoopornych. Jest także bardziej kosztowna, a przy tym mniej korzystna dla pacjenta, ponieważ ma zwalczać infekcję, do której już doszło i która poczyniła mniejsze lub większe szkody w organizmie chorego. Szczepienia natomiast mają zapobiec infekcji, chroniąc przed jej potencjalnymi skutkami.

Ze względu na to, że bakterie z rodzaju *Proteus* występują w jelicie tylko u kilku procent ludzi, można uznać, że szczepienia ewentualnie eliminujące ten drobnoustrój z kału miałyby niewielki wpływ na fizjologiczną mikroflorę jelitową osób szczepionych. Ponadto mikroorganizmy te wytwarzają wiele konserwatywnych antygenów powierzchniowych, w mniejszym lub większym stopniu wspólnych dla różnych szczepów, które mogą być składową szczepionek i celem mechanizmów odporności poszczepiennej [30,31]. Można wśród nich wymienić np. składniki fimbrii, rzęsek, białek błony zewnętrznej czy lipopolisacharydu (LPS). Niestety LPS, czyli endotoksyna obecna na komórkach uropatogenów Gram-ujemnych (w tym *Proteus* spp.) zagraża jako czynnik prozapalny [20]. Dlatego przy konstruowaniu szczepionki należy wziąć pod uwagę przede wszystkim jej skuteczność i bezpieczeństwo, koszty, a także drogę podania szczepionki. Szczepionka chroniąca przed ZUM powinna wywoływać przede wszystkim powstanie na błonach śluzowych w układzie moczowym i pochwie przeciwciał wydzielniczych, chroniących przed kolonizacją układu moczowego przez uropatogeny, dlatego właściwą drogą podania takiej szczepionki wydaje się powierzchnia błon śluzowych. Ważne jest także to, że szczepionka, podawana w prosty i wygodny dla pacjenta sposób, łatwiej zdobę-

dzie szeroką akceptacją wśród potencjalnych odbiorców [20], szczególnie w dobie narastających ruchów antyszczepionkowych, intensyfikujących się także w Polsce [35]. Szczepienia ochronne okazały się bardzo skuteczne w całkowitej eradykacji wirusa ospy prawdziwej na świecie i poważnie ograniczyły występowanie innych groźnych chorób zakaźnych, np. poliomyelitis, krztuśca, odry, błonicy czy różyczki. Mimo to właściwie od początków wakcynacji, z większą czy mniejszą intensywnością, aktywizują się postawy przeciwne szczepieniom. Nie mają uzasadnienia naukowego, a wynikają głównie ze strachu spowodowanego niewiedzą, często niestety podsycanego przez media, w tym Internet. Na szczęście w Polsce podstawowym źródłem wiedzy o szczepieniach profilaktycznych wciąż jest lekarz (dla 97% ankietowanych), pielęgniarka i farmaceuta, dopiero na czwartym miejscu jest Internet; około 95% Polaków poddaje się szczepieniom [35].

W celu sprawdzenia czy ewentualna szczepionka chroniąca przed ZUM, wywoływanym przez bakterie z rodzaju *Proteus*, znalazłaby odbiorców i cieszyła się zainteresowaniem wśród potencjalnych adresatów, wiosną 2015 r. przeprowadzono ankietę internetową, w której wzięło udział 82 respondentów, głównie młodych, w wieku 18-25 lat (58,5%) i 25-40 lat (24,4%), 2 osoby w wieku 12-17 lat, 8 w wieku 41-60 lat i 4 w wieku powyżej 60 lat, w tym 71 kobiet (86,6%) i 11 mężczyzn (13,4%). 25 osób deklarowało, że posiada dzieci, 31 osób przyznało, że problem ZUM dotknął je osobiście, w tym tylko 2 mężczyzn i aż 29 (40,9%) kobiet, co potwierdza przytoczone wyżej dane [13,41,53]. Aż 71 respondentów (86,6%) wiedziało, że główną przyczyną ZUM są bakterie. Tylko 7 ankietowanych (8,5%) zaznaczyło, że temat szczepień jest im obcy i absolutnie ich nie interesuje, 52 ankietowanych (63,4%) zadeklarowało, że temat ten jest im dość znany i 23 ankietowanych (28,1%) określiło, że temat jest im bliski i interesujący. Tylko 4 osoby (4,9%) przyznały, że są przeciwnikami szczepień, natomiast 31 osób odpowiedziało, że mają mieszane uczucia, boją się szczepień, ale nie uważają, że należy z nich całkowicie zrezygnować. Większość, czyli 47 ankietowanych (57,3%) uznało, że należy się szczepić i poszukiwać nowych szczepionek. Czytając krótkie wyjaśnienia dotyczące zagrożeń związanych z ZUM i bakterii, które je powodują, aż 54 osoby ankietowane (65,9%), w tym wszystkie powyżej 60 roku życia, zadeklarowały, że zaszczepiłyby siebie i swoje dziecko wiedząc, że szczepionka jest bezpłatna, przyjmowana doustnie lub donosowo i obarczona niskim ryzykiem. 20 osób nie miało zdania na ten temat, a 8 osób (9,8%; tylko kobiety) nie zdecydowałyby się na takie szczepienia. Należy jednak zauważyć, że w grupie osób posiadających dzieci odsetek chętnych był niższy i wynosił 56%, natomiast odsetek osób przeciwnych wzrósł do 24%. Respondenci zdrowi i ci, którzy chorowali na ZUM, znajdowali się zarówno wśród zwolenników, jak i przeciwników szczepień. Wyniki przeprowadzonej ankiety internetowej wskazują na obawy i niechęć, jakie wzbudza temat szczepień wśród pewnej części społeczeństwa, jednak pokazują także, że bezpieczna, skuteczna i tania

szczepionka zapobiegająca ZUM *Proteus* spp. budzi zainteresowanie i zyskałaby odbiorców.

Prace nad szczepionką, chroniącą przed zakażeniem układu moczowego bakteriami z rodzaju *Proteus*, prowadzono już w latach sześćdziesiątych i siedemdziesiątych XX w., rozważając podanie doustne i iniekcje [24].

Moayeri i wsp. [36] analizowali możliwość wykorzystania białek błony zewnętrznej (outer membrane proteins – OMPs) i LPS wybranego szczepu *P. mirabilis* jako potencjalnych składników szczepionek, chroniących przed infekcją układu moczowego spowodowaną przez te drobnoustroje. Szczepionkę zawierającą jeden lub drugi składnik wraz z kompletnym adiuwantem Freund'a podawano domięśniowo myszom. Szczepionka OMPs zniwelowała śmiertelność i chroniła myszy przed infekcją nerek szczepem homologicznym i czterema innymi heterologicznymi szczepami tego samego gatunku, natomiast szczepionka LPS nie działała protekcyjnie, choć poziom swoistych przeciwciał surowiczych IgG był w obu wypadkach podobny. Nielubowicz i wsp. [39] zidentyfikowali aż 37 białkowych antygenów błony zewnętrznej *P. mirabilis*, które były rozpoznawane przez swoiste przeciwciała, obecne w surowicach myszy zakażonych tymi bakteriami przezcewkowo. 23 antygeny to białka błony zewnętrznej (poryny, lipoproteiny, toksyny i inne), pozostałe antygeny to białka nieekspozowane na powierzchni błony zewnętrznej, w tym enzymy. Dwa białka błony (PMI0842 i PMI2596), związane z pozyskaniem żelaza i mające znaczenie w chorobotwórczości *P. mirabilis* w układzie moczowym, wytypowano jako potencjalne antygeny do wykorzystania w konstruowaniu szczepionek. Rekombinowane białko błony zewnętrznej OmpA, którego ekspresji dokonano w grzybie *Pichia pastoris*, wraz z roślinnym adiuwantem polisacharydowym z pyłku sosny *Pinus massoniana* – TPPPS, zostało niedawno z powodzeniem użyte jako składnik szczepionki podawanej podskórnie kurczakom, dającej 80% skuteczności przeciwko infekcji szczepem homologicznym, podanym z pokarmem [60].

Alamuri i wsp. [1] zaproponowali inny antygen powierzchniowy *P. mirabilis* jako składnik immunogeny preparatu szczepionkowego, chroniącego przed infekcją układu moczowego tymi pałeczkami. Wykorzystali toksyczną aglutyninę (Pta – proteus toxic agglutinin) – autotransporter związany z błoną zewnętrzną *P. mirabilis*, będący alkaliczną proteazą. Adiuwant (toksynę cholery) związano kowalencyjnie z rekombinowaną, atenuowaną Pta oraz niezależnie z domeną α tego białka. Szczepionki podawano myszom donosowo w trzech dawkach, wzbudzając wytwarzanie surowiczych IgG oraz IgA w moczu na poziomie znacząco wyższym niż w grupie kontrolnej, co było skorelowane z działaniem ochronnym przed zakażeniem układu moczowego szczepem homologicznym. Autorzy wykryli również gen *pta* kodujący toksyczną aglutyninę w 24 zbadanych szczepach *P. mirabilis*, izolowanych z cewników urologicznych, z przypadków zapalenia nerek i z kału. Ekspresja tego genu nie zachowuje



dziła jednak w izolatach z kału, co kieruje zakres działania potencjalnej szczepionki na szczepy uropatogenne *P. mirabilis*.

Wang i wsp. [58] zaproponowali wykorzystanie mutantu *hfq* *P. mirabilis* jako atenuowanego składnika szczepionki chroniącej przed ZUM. Wykazali, że brak małego białka Hfq, będącego potranskrypcyjnym regulatorem wiążącym małe RNA (sRNA), mRNA i ułatwiającym interakcje między cząsteczkami RNA, ogranicza wiele czynników chorobotwórczości tych pałeczek (np. ruchliwość, tworzenie biofilmu, adherencję, inwazyjność, ekspresję hemolizyn, barierę przepuszczalności błony zewnętrznej), a mutant *hfq* ma ograniczoną zdolność do kolonizacji układu moczowego myszy.

Najwięcej prac poświęcono antygenom fimbriowym i wydają się najbardziej obiecującym celem badań mających na celu uzyskanie skutecznej szczepionki, chroniącej przed zakażeniem układu moczowego o etiologii *Proteus* spp. W ZUM spowodowanym przez *P. mirabilis* odgrywają rolę zwłaszcza fimbrie: MR/P, PMF i NAF (wcześniej znane jako UCA) i to one stały się obiektem badań.

Na początku lat dziewięćdziesiątych ub.w. Bahrani i wsp. [4] wykazali, że eksperymentalne zakażenie układu moczowego myszy szczepem *P. mirabilis* wzbudza w surowicy zwierząt powstawanie swoistych przeciwciał, skierowanych przeciwko fimbriom MR/P, a także przeciwko LPS użytego szczepu. Wykrywano również przeciwciała antyrzęskowe, mające zdolność immobilizacji komórek szczepu zakażającego. Johnson i wsp. [23] potwierdzili wyniki badań poprzedników. W surowicach zakażonych przezcewkowo myszy wykrywano przeciwciała klasy IgM i IgG, skierowane przeciwko antygenom fimbrii PMF i MR/P oraz rzęsek, a także przeciwko innym, niezidentyfikowanym antygenom powierzchniowym zakażającego szczepu *P. mirabilis*. Niestety nawet ich duże ilości nie chroniły zwierząt przed reinfekcją. Jedynie obecność przeciwciał surowicznych klasy IgA korelowała z protekcją przed powtórny zakażeniem, jednak tylko u niewielkiego odsetka myszy przeciwciała te powstały.

W innych pracach skoncentrowano się na otrzymywaniu oczyszczonych preparatów białek fimbrii i poszukiwaniu odpowiedniego sposobu podania szczepionki, co umożliwiłoby uzyskanie protekcyjnej odpowiedzi immunologicznej organizmu, chroniącej przed wywołanym następnie zakażeniem układu moczowego. Rekombinowane białka strukturalne fimbrii: MrpA, UcaA i PmfA, uzyskane przez Pellegrino i wsp. [43] z uropatogennego szczepu klinicznego *P. mirabilis*, były niezależnie podawane podskórnie myszom, w pięciu dawkach, w postaci szczepionki z kompletnym, a następnie niekompletnym adiuwantem Freund. Wszystkie typy szczepionek wzbudziły wytwarzanie przeciwciał surowicznych klasy IgG oraz klasy IgG i IgA w moczu. Szczepionka MrpA wykazywała działanie ochronne przed infekcją układu moczowego, którą wywołało ekspery-

mentalnie podając szczep homologiczny przezcewkowo lub hematogenie, natomiast szczepionka UcaA chroniła tylko przed zakażeniem hematogenym. Badacze z tego samego ośrodka [48] wykorzystali wspomniane białka strukturalne fimbrii MrpA, UcaA i PmfA jako szczepionki (bez adiuwantu), zmieniając jednak drogę podania – na błony śluzowe nosa lub układu moczowego. Tak jak poprzednio preparaty podawane były w pięciu dawkach. Ponownie dla preparatów MrpA i UcaA osiągnięto obiecujące rezultaty, zwłaszcza stosując donosową aplikację szczepionki. Stwierdzono znaczący wzrost stężenia przeciwciał klasy IgG i/lub IgA w surowicy i/lub w moczu, któremu towarzyszyła protekcja przed zakażeniem wstępującym układu moczowego szczepem homologicznym. Stwierdzono również, że dodatek adiuwantu w postaci toksyny cholery do szczepionki MrpA, choć nie wpływa znacząco na protekcję przed zakażeniem, wzmacnia odpowiedź humoralną i komórkową układu odpornościowego szczepionych myszy [47]. Osiągnięciem wspomnianych wyżej autorów było także uzyskanie szczepionki rekombinowanej, zawierającej probiotyczne bakterie kwasu mlekowego (LAB – lactic acid bacteria) *Lactococcus lactis*, w których uzyskano ekspresję wykorzystywanego wcześniej z powodzeniem białka fimbriowego MrpA *P. mirabilis* w postaci związanej ze ścianą komórkową lub wydzielanej poza komórkę [46]. Podobnie jak poprzednio zastosowano pięciokrotne donosowe szczepienie myszy laboratoryjnych. Obydwa sposoby ekspresji antygeny szczepionkowego przez komórki nośnika okazały się skuteczne. Szczepionka, w której antygen MrpA wydzielany był przez komórki LAB, wzbudzała silne wytwarzanie surowicznych IgG oraz *in vitro* interferonu γ (IFN- γ) przez limfocyty (splenocyty) wyizolowane ze szczepionych myszy, natomiast szczepionka z antygenem związanym powodowała znaczący wzrost stężenia surowicznych IgA, nie obserwowano natomiast znaczącego wzrostu stężenia przeciwciał w moczu. Co ważne, po wywołaniu eksperymentalnego ZUM u zwierząt doświadczalnych obserwowano znacząco niższy stopień kolonizacji nerek i niższy stopień kolonizacji pęcherza moczowego w porównaniu z grupą kontrolną. Wyniki przeprowadzonych badań wyraźnie wskazały, że białko fimbriowe MrpA jest dobrym kandydatem na antygen szczepionki, mającej chronić przed ZUM o etiologii *P. mirabilis*, a najlepszą drogą podania są błony śluzowe, np. otworów nosowych. *L. lactis* okazał się skutecznym nośnikiem antygeny, co potwierdził dotychczasowe doniesienia o użyteczności LAB jako wektora antygenów w konstrukcji szczepionek i immunoprofilaktyce [59]. Scavone i wsp. [49] użyli jeszcze innego nośnika – wykorzystali atenuowany szczep *Salmonella* Typhimurium, w którym dokonano ekspresji rekombinowanego białka MrpA *P. mirabilis* z nietoksycznym, immunogennym fragmentem toksyny tężcowej. W wyniku dwukrotnego szczepienia donosowego uzyskano znaczący wzrost stężenia surowicznych IgG i IgA przeciwko MrpA *P. mirabilis* i LPS *S. Typhimurium* u immunizowanych myszy oraz ochronę przed infekcją szczepem homologicznym *P. mirabilis* – obserwowano znacząco niższy stopień kolo-

nizacji nie tylko w nerkach, ale i w pęcherzu, czego nie odnotowano po zastosowaniu jako nośnika *L. lactis*.

Skuteczność szczepień białkiem MrpA porównano z zastosowaniem innego antygeny powierzchniowego – białka rzęsek flageliny. Scavone i wsp. [50] podali myszom donosowo w pięciu dawkach, jak poprzednio, białko MrpA, oczyszczoną flagellinę *P. mirabilis* lub oba preparaty jednocześnie. Okazało się, że szczepienie flageliną nie tylko nie wzmagało wytwarzania swoistych przeciwciał w surowicy lub moczu zwierząt, ale wręcz neutralizowało wpływ protekcyjny preparatu MrpA na infekcję przezcewkową szczepem *P. mirabilis*. Podobnie negatywne wyniki uzyskali Umpierrez i wsp. [57], którzy stwierdzili, że flagelina wzbudzała wydzielanie chemokin prozapalnych *in vitro* przez komórki pęcherza linii T24. Podanie flageliny przezcewkowo do pęcherza myszy wzbudzało reakcję zapalną i nacieki leukocytów w nabłonku pęcherza, jednak nie chroniło zwierząt doświadczalnych przed rozwojem wywołanego eksperymentalnie ZUM, a nawet wzmagało kolonizację nerek przez *P. mirabilis*, w porównaniu z grupą kontrolną myszy, którym nie podawano flageliny.

Li i wsp. [30] porównali skuteczność szczepienia antygenami fimbrii MR/P i całymi komórkami. Zastosowali jako składnik szczepionki całe komórki *P. mirabilis* zabite formaliną, które podawano myszom laboratoryjnym w trzech dawkach podskórnie (z adiuwantem Freund'a) lub na błony śluzowe nosa, układu pokarmowego lub moczowego. Podanie podskórne i donosowe chroniło przed kolonizacją pęcherza i nerek w wywołanym następnie eksperymentalnym ZUM szczepem homologicznym, obserwowano duże stężenie przeciwciał surowicznych IgG. U myszy szczepionych donosowo odnotowano duże stężenie surowicznych IgA oraz obu typów przeciwciał w moczu, pęcherzu, pochwie i żółci. Identyczne szczepienia fimbriami MR/P także działały protekcyjnie na zakażane myszy, wzbudzając wytwarzanie swoistych przeciwciał surowicznych IgG, gdy zastosowano drogę donosową i przezcewkową, immunizacja donosowa wzbudzała też wytwarzanie surowicznych IgA i obu typów przeciwciał w żółci. Najlepsze rezultaty autorzy [29,30] uzyskali dla adhezyny MrpH fimbrii MR/P i N-końcowej domeny tej adhezyny wiążącej receptor, przyłączonych do odpowiednich nośników (białko wiążące maltozę, toksyna cholery). Jako składniki szczepionki donosowej wzbudzały wytwarzanie IgG i IgA w surowicy, układzie moczowym i pochwie, skutecznie chroniąc myszy przed ZUM szczepem homologicznym. Co więcej, badacze ci udowodnili, że MrpH jest białkiem konserwatywnym, wspólnym dla różnych szczepów *P. mirabilis*, dzięki czemu potencjalna szczepionka może mieć odpowiednio szeroki zakres działania.

Habibi i wsp. [17] otrzymali preparat szczepionkowy o jeszcze szerszym zakresie działania, skierowany przeciwko dwóm groźnym gatunkom bakterii uropatogennych. Uzyskano koniugat białkowego antygeny fimbriowego MrpH *P. mirabilis* z również białkowym anty-

genem FimH fimbrii typu 1 uropatogennej *E. coli* (UPEC) i dodano adiuwant MPL – monofosforylolipid A (nietoksyczna, immunoaktywna pochodna LPS *Salmonella minnesota*). Preparat, podawany w trzech dawkach donosowo [17] lub podskórnie [16] był skuteczniejszy niż antygeny składowe osobno lub koniugat obu białek bez adiuwantu. Szczepionka wzbudzała odpowiedź immunologiczną myszy w postaci wytwarzania przeciwciał IgG i IgA, które w znacząco większych ilościach niż w grupie kontrolnej wykrywano w surowicy, moczu, popłuczynach nosa i pochwy zwierząt immunizowanych. Surowicze IgG utrzymywały się na wysokim poziomie przez 6 miesięcy po wacytacji. Szczepienie donosowe skutkowało jednak znacząco wyższym stężeniem wydzielniczych przeciwciał IgA. Preparat wzbudzał też proliferację splenocytów wyizolowanych od myszy szczepionych i *in vitro* wytwarzanie przez nie cytokin: IFN- γ i IL-4, -17, -12 i -2, przy czym splenocyty myszy szczepionych podskórnie wytwarzały znacząco więcej IL-2. Immunizowane zwierzęta wykazywały znacznie mniejszą podatność na kolonizację układu moczowego przez *P. mirabilis* lub UPEC niż grupa kontrolna. Zaproponowany preparat szczepionkowy, podany donosowo lub podskórnie, wywoływał zatem odpowiedź komórkową i humoralną, zarówno na błonach śluzowych, jak i długotrwałą systemową. Te wszystkie typy reakcji układu odpornościowego wydają się mieć znaczenie w zwalczaniu zakażeń układu moczowego o charakterze nawracającym [16,17].

Dostępne na rynku standaryzowane szczepionki, mające zapobiegać zakażeniom układu moczowego, zawierają zabite komórki różnych uropatogenów, w tym bakterii z rodzaju *Proteus* [6,8,20]. Jedną z najstarszych (lata osiemdziesiąte ub.w.) jest Urovac® (SolcoBasel, Szwajcaria i Protein Express, USA), która składa się z dziesięciu zabitych ciepłem szczepów, wyizolowanych od kobiet cierpiących na ostre ZUM, w tym sześciu szczepów *E. coli* i pojedynczych szczepów *P. mirabilis*, *Morganella morganii*, *K. pneumoniae* i *E. faecalis* (10⁹ komórek na dawkę). Początkowo szczepionka podawana była domięśniowo, ale działania niepożądane, prawdopodobnie wywołane przez obecną na komórkach endotoksynę, spowodowały, że zmieniono drogę podania na dopochwową, co ograniczyło (choć nie wyeliminowało) wcześniejsze działania niepożądane, a immunogenność szczepionki potwierdzono na myszach i małpach [6,20]. Szczepionka, podawana w trzech cotygodniowych dawkach wstępnych i trzech comiesięcznych dawkach przypominających, zmniejszała podatność na ZUM u pacjentek z nawracającymi infekcjami układu moczowego, nie wykryto jednak znaczącego wzrostu miana przeciwciał IgG i IgA w moczu i pochwie w stosunku do grupy placebo [19]. Inne, zaproponowane w latach dziewięćdziesiątych ub.w., preparaty szczepionkowe to Urvakol® (Instytut Mikrobiologii, Ołomuniec, Czechy) i Urostim (Bulbio, Narodowe Centrum Chorób Infekcyjnych i Pasożytniczych, Sofia, Bułgaria) [20]. Urvakol® zawiera cztery szczepy inaktywowanych komórek *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa* i *E. faecalis* w postaci tabletki, którą należy przyjmować doustnie codziennie rano przez sześć miesięcy, natomiast Urostim zawiera zliofilizowane



lizaty *E. coli*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae* i *E. faecalis* również w postaci tabletki, którą należy przyjmować doustnie codziennie rano przez 12 miesięcy. Działanie immunostymulujące szczepionek wykazywano na modelu zwierzęcym i ludzkim, a jako skutek immunizacji podawano wzrost stężenia swoistych przeciwciał w surowicy i ślinie, zwłaszcza wydzielniczych IgA w moczu oraz poprawę zdrowia u znacznego odsetka pacjentów, ale w celu przeprowadzenia analiz statystycznych należałoby inaczej skonstruować badania kliniczne [6,20]. Ostatnim preparatem szczepionkowym, skierowanym przeciwko zakażeniom układu moczowego, jest zarejestrowany w 2011 r. Uromune® (Immunotek, Hiszpania) [32]. Szczepionka składa się z dwóch fiolek, zawierających 10^9 /ml inaktywowanych komórek wyselekcjonowanych szczepów bakterii, uważanych za główne czynniki etiologiczne nawracających zakażeń układu moczowego w Hiszpanii (w równych ilościach): *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris* i *E. faecalis*. Powinna być przyjmowana przez trzy miesiące codziennie, podjęzykowo, w postaci dwóch wdmuchnięć po 100 μ l (10^8 komórek) każde, należy ją 1-2 min przytrzymać w ustach, po czym połknąć, unikając jednoczesnego przyjmowania pokarmów lub płynów. Badania porównawcze dwóch grup kobiet (po 160 osób) cierpiących na nawracające zakażenia układu moczowego, z których jedna otrzymywała szczepionkę, a druga była leczona antybiotykami, wykazały, że trzymiesięczne szczepienie doustne dość skutecznie obniżało prawdopodobieństwo zakażenia różnymi uropatogenami, także gatunkami nieobecnymi w preparacie szczepionkowym. Liczba infekcji była znacząco mniejsza niż w grupie przyjmującej antybiotyki. Niestety w zakażeniach *P. mirabilis* liczba ZUM po szczepieniach była początkowo mała, by po 15 miesiącach dorównać liczbie infekcji, zanotowanych w tej grupie trzy miesiące przed rozpoczęciem szczepień. Trzeba jednak zauważyć, że liczba zakażeń układu moczowego wywołanych przez *P. mirabilis* była w grupie szczepionej trzykrotnie mniejsza niż w grupie przyjmującej antybiotyki [32]. Analogiczne badania w ponad dwukrotnie większych grupach badanych przyniosły jeszcze bardziej obiecujące rezultaty, gdyż 81% osób z grupy otrzymującej szczepionkę przez 12 miesięcy po zakończeniu immunizacji nie doświadczyło incydentu ZUM, a pozostałe dopiero średnio po 180 dniach (najwcześniej po 60 dniach), natomiast w grupie leczonej antybiotykami u wszystkich pacjentów nastąpiła reinfekcja i to już średnio po 19 dniach od zakończenia kuracji (najwcześniej po 5 dniach). W grupie osób szczepionych, w przeciwieństwie do grupy przyjmującej antybiotyki, nie zanotowano infekcji *P. mirabilis* i *P. vulgaris* po zakończeniu immunizacji [33]. Dla szczepionki Uromune® nie sygnalizowano niekorzystnych działań niepożądanych. Brak jednak informacji na temat siły i typu reakcji układu odpornościowego osób szczepionych na immunizację [32,33].

PODSUMOWANIE

Szczepienia profilaktyczne są ważnym sposobem zapobiegania chorobom zakaźnym. Minimalizują ryzyko infekcji danym patogenem lub osłabiają skutki ewentu-

alnego zakażenia. Koszty szczepień są niższe niż koszty leczenia i dla pacjenta, i dla służby zdrowia. Mimo pojawiających się od lat ruchów antyszczepionkowych, które próbują zdeprecjonować znaczenie wakcynacji, niepodważalne sukcesy prowadzonych na całym świecie szczepień ochronnych sprawiają, że przeważający odsetek obywateli naszego kraju (około 95%) decyduje się na szczepienia [36]. Szczepionki chroniące przed infekcjami układu moczowego mogą być polecane dobrze określonej grupie odbiorców, gdyż ZUM stanowią istotne zagrożenie zwłaszcza dla kobiet, osób z obniżoną odpornością, pacjentów hospitalizowanych i cewnikowanych.

Dostępne obecnie komercyjne szczepionki, skierowane przeciwko patogenom układu moczowego, w tym pałeczkom z rodzaju *Proteus*, składają się z zabitych komórek różnych szczepów bakterii uropatogennych. Są to szczepionki wieloważne, dające odporność krzyżową, choć często nie są sprecyzowane konkretne skutki ich działania na układ odpornościowy osób immunizowanych. Udokumentowanym skutkiem ich stosowania jest ograniczenie liczby reinfekcji u chorych cierpiących na nawrotowe ZUM. Nieskomplikowana, doustna lub dopochwowa droga podania umożliwia pacjentom łatwą i samodzielną aplikację preparatu, co jest ważne dlatego, że szczepionki te wymagają wielu lub bardzo wielu dawek przypominających. Droga podania na błony śluzowe minimalizuje też ryzyko działań niepożądanych, związanych z obecnością endotoksyny w ścianie komórkowej uropatogenów Gram-ujemnych.

Od dłuższego czasu trwają także badania nad opracowaniem szczepionek podjednostkowych, koniugowanych z wybranymi nośnikami, które będą zawierały odpowiednio dobrane, immunogenne fragmenty antygenów powierzchniowych *P. mirabilis*, skutecznie i długotrwale chroniących przed infekcją układu moczowego tymi warunkowymi patogenami. W dobrze udokumentowanych próbach na myszach laboratoryjnych zastosowanie flageliny – białka rzęsek, przyniosło niekorzystne wyniki, natomiast najbardziej obiecujące wyniki wydają się dotyczyć przede wszystkim białek fimbrii MR/P, a także toksycznej aglutyniny Pta i białek błony zewnętrznej OMPs jako antygenów. Wykazano konserwatywność i rozpowszechnienie antygenów MrpH i Pta wśród uropatogennych szczepów *P. mirabilis*, co zwiększa uniwersalność szczepionek konstruowanych na bazie tych antygenów. Obiecujące próby ze szczepionkami, zawierającymi skoniugowane antygeny fimbrii *P. mirabilis* i UPEC, jeszcze bardziej rozszerzają zakres działania profilaktycznego tych preparatów. Najbardziej skutecznym sposobem podania analizowanych szczepionek jest przede wszystkim podanie donosowe, a także podskórne. Wykazano, że dobre skutki przynosi zastosowanie adiuwantu MPL, toksyny cholery lub uzyskanie ekspresji wybranych antygenów *P. mirabilis* w komórkach *Salmonella Typhimurium* lub probiotycznych LAB. Wyniki badań prowadzonych na myszach sugerują, że w profilaktyce i ochronie przed ZUM odgrywają rolę zarówno mechanizmy komórkowe,

jak i humoralne. Istotna jest obecność na błonach śluzowych przeciwciał wydzielniczych klasy IgA, utrudniających kolonizację nabłonka układu moczowego, a także przeciwciał surowicznych, zwłaszcza przeciwciał klasy IgG, długotrwanie utrzymujących się na odpowiednim poziomie. Jest to ważne w nawrotowym charakterze infekcji układu moczowego. Przedstawione prace dają nadzieję chorym na nawracające lub skomplikowane ZUM, z powikłaniami w postaci kamieni moczowych,

a także osobom nimi zagrożonym (np. pacjentom długotrwanie cewnikowanym) na opracowanie bezpiecznego preparatu szczepionkowego o dobrze udokumentowanym działaniu, zawierającego wyselekcjonowane, silnie immunogenne antygeny bakterii uropatogennych. Preparat ten w sposób skuteczny będzie chronił przed zakażeniami układu moczowego, spowodowanymi nie tylko przez pałeczki *Proteus* spp., ale też inne patogeny układu moczowego.

PIŚMIENICTWO

- [1] Alamuri P., Eaton K.A., Himpel S.D., Smith S.N., Mobley H.L.: Vaccination with proteus toxic agglutinin, a hemolysin-independent cytotoxin in vivo, protects against *Proteus mirabilis* urinary tract infection. *Infect. Immun.*, 2009; 77: 632-641
- [2] Arbatsky N.P., Drzewiecka D., Palusiak A., Shashkov A.S., Zablotni A., Sivińska M., Knirel Y.A.: Structure of a Kdo-containing O polysaccharide representing *Proteus* O79, a newly described serogroup for some clinical *Proteus* genomospecies isolates from Poland. *Carbohydr. Res.*, 2013; 379: 100-105
- [3] Armbruster C.E., Mobley H.L.: Merging mythology and morphology: the multifaceted lifestyle of *Proteus mirabilis*. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2012; 10: 743-754
- [4] Bahrani F.K., Johnson D.E., Robbins D., Mobley H.L.: *Proteus mirabilis* flagella and MR/P fimbriae: isolation, purification, N-terminal analysis, and serum antibody response following experimental urinary tract infection. *Infect. Immun.*, 1991; 59: 3574-3580
- [5] Bochniewska V., Jung A., Żuber J.: Zakażenie układu moczowego u dzieci. *Pediatr. Med. Rodz.*, 2012; 8, 12-22
- [6] Brumbaugh A.R., Mobley H.L.: Preventing urinary tract infection: progress toward an effective *Escherichia coli* vaccine. *Expert. Rev. Vaccines*, 2012; 11: 663-676
- [7] Burne R.A., Chen Y.Y.: Bacterial ureases in infectious diseases. *Microbes Infect.*, 2000; 2: 533-542
- [8] Carraro-Eduardo J.C., Gava I.A.: Use of vaccines for prophylaxis of urinary tract infections. *J. Bras. Nefrol.*, 2012; 34: 178-183
- [9] Coban B., Ülkü N., Kaplan H., Topal B., Erdogan H., Baskin E.: Five-year assessment of causative agents and antibiotic resistances in urinary tract infections. *Turk Pediatr. Ars.*, 2014; 49: 124-129
- [10] Cohen-Nahum K., Saidel-Odes L., Riesenberk K., Schlaeffer F., Borer A.: Urinary tract infections caused by multi-drug resistant *Proteus mirabilis*: risk factors and clinical outcomes. *Infection*, 2010; 38: 41-46
- [11] Coker C., Poore C.A., Li X., Mobley H.L.: Pathogenesis of *Proteus mirabilis* urinary tract infection. *Microbes Infect.*, 2000; 2: 1497-1505
- [12] Cuevas O., Cercenado E., Gimeno M., Marín M., Coronel P., Bouza E.: Comparative in vitro activity of cefditoren and other antimicrobials against *Enterobacteriaceae* causing community-acquired uncomplicated urinary tract infections in women: a Spanish nationwide multicenter study. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 2010; 67: 251-260
- [13] Czekalski S.: Zakażenie układu moczowego – ostre, nawracające, przewlekłe, powikłane. *Przewodnik Lekarza*, 2010; 2: 46-53
- [14] Drzewiecka D., Arbatsky N.P., Shashkov A.S., Stączek P., Knirel Y.A., Sidorczyk Z.: Structure and serological properties of the O-antigen of two clinical *Proteus mirabilis* strains classified into a new *Proteus* O77 serogroup. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2008; 54: 185-194
- [15] Drzewiecka D., Arbatsky N.P., Stączek P., Shashkov A.S., Knirel Y.A., Sidorczyk Z.: Structural and serological studies of the O-polysaccharide of strains from a newly created *Proteus* O78 serogroup prevalent in Polish patients. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2010; 58: 269-276
- [16] Habibi M., Asadi Karam M.R., Bouzari S.: Evaluation of the effect of MPL and delivery route on immunogenicity and protectivity of different formulations of FimH and MrpH from uropathogenic *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis* in a UTI mouse model. *Int. Immunopharmacol.*, 2015; 28: 70-78
- [17] Habibi M., Asadi Karam M.R., Shokrgozar M.A., Oloomi M., Jafari A., Bouzari S.: Intranasal immunization with fusion protein MrpH-FimH and MPL adjuvant confers protection against urinary tract infections caused by uropathogenic *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Mol. Immunol.*, 2015; 64: 285-294
- [18] Hola V., Peroutkova T., Ruzicka F.: Virulence factors in *Proteus* bacteria from biofilm communities of catheter-associated urinary tract infections. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2012; 65: 343-349
- [19] Hopkins W.J., Elkahwaji J., Beierle L.M., Levenson G.E., Uehling D.T.: Vaginal mucosal vaccine for recurrent urinary tract infections in women: results of a phase 2 clinical trial. *J. Urol.*, 2007; 177: 1349-1353
- [20] Hopkins W.J., Uehling D.T.: Vaccine development for the prevention of urinary tract infections. *Curr. Infect. Dis. Rep.*, 2002; 4: 509-513
- [21] Jacobsen S.M., Shirtliff M.E.: *Proteus mirabilis* biofilms and catheter-associated urinary tract infections. *Virulence*, 2011; 2: 460-465
- [22] Jarzab A., Skowicki M., Witkowska D.: Szczepionki podjednostkowe – antygeny, nośniki, metody koniugacji i rola adiuwantów. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013; 67: 1128-1143
- [23] Johnson D.E., Bahrani F.K., Lockatell C.V., Drachenberg C.B., Hebel J.R., Belas R., Warren J.W., Mobley H.L.: Serum immunoglobulin response and protection from homologous challenge by *Proteus mirabilis* in a mouse model of ascending urinary tract infection. *Infect. Immun.*, 1999; 67: 6683-6687
- [24] Jones R.J.: Oral vaccination against *Proteus mirabilis*. *Br. J. Exp. Pathol.*, 1976; 57: 395-399
- [25] Khan A.U., Musharraf A.: Plasmid-mediated multiple antibiotic resistance in *Proteus mirabilis* isolated from patients with urinary tract infection. *Med. Sci. Monit.*, 2004; 10: 598-602
- [26] Kiliś-Pstrusińska K.: Zakażenia układu moczowego. *Praktyka Lekarska*, 2012; 72: 5-13
- [27] Knirel Y.A., Perepelov A.V., Kondakova A.N., Senchenkova S.N., Sidorczyk Z., Różalski A., Kaca W.: Structure and serology of O-antigens as the basis for classification of *Proteus* strains. *Innate Immun.*, 2011; 17: 70-96
- [28] Kwil I., Kaźmierczak D., Różalski A.: Swarming growth and resistance of *Proteus penneri* and *Proteus vulgaris* strains to normal human serum. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2013; 22: 165-175
- [29] Li X., Erbe J.L., Lockatell C.V., Johnson D.E., Jobling M.G., Holmes R.K., Mobley H.L.: Use of translational fusion of the MrpH fimbrial adhesin-binding domain with the cholera toxin A2 domain, coex-



- pressed with the cholera toxin B subunit, as an intranasal vaccine to prevent experimental urinary tract infection by *Proteus mirabilis*. *Infect. Immun.*, 2004; 72: 7306-7310
- [30] Li X., Lockett C.V., Johnson D.E., Lane M.C., Warren J., Mobley H. L.: Development of an intranasal vaccine to prevent urinary tract infection by *Proteus mirabilis*. *Infect. Immun.*, 2004; 72: 66-75
- [31] Li X., Mobley H.L.: Vaccines for *Proteus mirabilis* in urinary tract infection. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2002; 19: 461-465
- [32] Lorenzo-Gómez M.F., Padilla-Fernández B., García-Criado F.J., Mirón-Canelo J.A., Gil-Vicente A., Nieto-Huertos A., Silva-Abuín J.M.: Evaluation of a therapeutic vaccine for the prevention of recurrent urinary tract infections versus prophylactic treatment with antibiotics. *Int. Urogynecol. J.*, 2013; 24: 127-134
- [33] Lorenzo-Gómez M.F., Padilla-Fernández B., García-Cenador M.B., Virseda-Rodríguez Á.J., Martín-García I., Sánchez-Escudero A., Vicente-Arroyo M.J., Mirón-Canelo J.A.: Comparison of sublingual therapeutic vaccine with antibiotics for the prophylaxis of recurrent urinary tract infections. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2015; 5: 50
- [34] Maraki S., Mantadakis E., Michailidis L., Samonis G.: Changing antibiotic susceptibilities of community-acquired uropathogens in Greece, 2005-2010. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, 2013; 46: 202-209
- [35] Marchewka A.K., Majewska A., Młynarczyk G.: Działalność ruchu antyszczepionkowego, rola środków masowego komunikowania oraz wpływ poglądów religijnych na postawę wobec szczepień ochronnych. *Post. Mikrobiol.*, 2015; 54: 95-102
- [36] Moayeri N., Collins C.M., O'Hanley P.: Efficacy of a *Proteus mirabilis* outer membrane protein vaccine in preventing experimental *Proteus pyelonephritis* in a BALB/c mouse model. *Infect. Immun.*, 1991; 59: 3778-3786
- [37] Moryl M., Torzewska A., Jałmużna P., Różalski A.: Analysis of *Proteus mirabilis* distribution in multi-species biofilms on urinary catheters and determination of bacteria resistance to antimicrobial agents. *Pol. J. Microbiol.*, 2013; 62: 377-384
- [38] Nicolle L.E.: Resistant pathogens in urinary tract infections. *J. Am. Geriatr. Soc.*, 2002; 50: S230-S235
- [39] Nielubowicz G.R., Smith S.N., Mobley H.L.: Outer membrane antigens of the uropathogen *Proteus mirabilis* recognized by the humoral response during experimental murine urinary tract infection. *Infect. Immun.*, 2008; 76: 4222-4231
- [40] O'Hara C.M., Brenner F.W., Steigerwalt A.G., Hill B.C., Holmes B., Grimont P.A., Hawkey P.M., Penner J.L., Miller J.M., Brenner D.: Classification of *Proteus vulgaris* biogroup 3 with recognition of *Proteus hauseri* sp. nov., nom. rev. and unnamed *Proteus* genomospecies 4, 5 and 6. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2000; 50: 1869-1875
- [41] Okrągła E., Szychowska K., Wolska L.: Mechanizmy utrzymania sterylności układu moczowego. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2014; 68: 684-694
- [42] Ostrowska K., Strzelczyk A., Różalski A., Stączek P.: Biofilm bakteryjny jako przyczyna zakażeń układu moczowego – mikroorganizmy patogenne, metody prewencji i eradykacji. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013; 67: 1027-1033
- [43] Pellegrino R., Galvalisi U., Scavone P., Sosa V., Zunino P.: Evaluation of *Proteus mirabilis* structural fimbrial proteins as antigens against urinary tract infections. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2003; 36: 103-110
- [44] Ronald A.: The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens. *Am. J. Med.*, 2002; 113: 14S-19S
- [45] Różalski A., Torzewska A., Moryl M., Kwil I., Maszewska A., Ostrowska K., Drzewiecka D., Zablotni A., Palusiak A., Siwińska M., Stączek P.: *Proteus* sp. – an opportunistic bacterial pathogen – classification, swarming growth, clinical significance and virulence factors. *Folia Biol. Oecol.*, 2012; 8: 1-17
- [46] Scavone P., Miyoshi A., Rial A., Chabalgoity A., Langella P., Azevedo V., Zunino P.: Intranasal immunisation with recombinant *Lactococcus lactis* displaying either anchored or secreted forms of *Proteus mirabilis* MrpA fimbrial protein confers specific immune response and induces a significant reduction of kidney bacterial colonisation in mice. *Microbes Infect.*, 2007; 9: 821-828
- [47] Scavone P., Rial A., Umpiérrez A., Chabalgoity A., Zunino P.: Effects of the administration of cholera toxin as a mucosal adjuvant on the immune and protective response induced by *Proteus mirabilis* MrpA fimbrial protein in the urinary tract. *Microbiol. Immunol.*, 2009; 53: 233-240
- [48] Scavone P., Sosa V., Pellegrino R., Galvalisi U., Zunino P.: Mucosal vaccination of mice with recombinant *Proteus mirabilis* structural fimbrial proteins. *Microbes Infect.*, 2004; 6: 853-860
- [49] Scavone P., Umpiérrez A., Maskell D.J., Zunino P.: Nasal immunization with attenuated *Salmonella* Typhimurium expressing an MrpA-TetC fusion protein significantly reduces *Proteus mirabilis* colonization in the mouse urinary tract. *J. Med. Microbiol.*, 2011; 60: 899-904
- [50] Scavone P., Umpiérrez A., Rial A., Chabalgoity J.A., Zunino P.: Native flagellin does not protect mice against an experimental *Proteus mirabilis* ascending urinary tract infection and neutralizes the protective effect of MrpA fimbrial protein. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2014; 105: 1139-1148
- [51] Siwińska M., Levina E.A., Ovchinnikova O.G., Drzewiecka D., Shashkov A.S., Różalski A., Knirel Y.A.: Classification of a *Proteus penneri* clinical isolate with a unique O-antigen structure to a new *Proteus* serogroup, O80. *Carbohydr. Res.*, 2015; 407: 131-136
- [52] Sosa V., Schlapp G., Zunino P.: *Proteus mirabilis* isolates of different origins do not show correlation with virulence attributes and can colonize the urinary tract of mice. *Microbiology*, 2006; 152: 2149-2157
- [53] Stamm W.E.: Scientific and clinical challenges in the management of urinary tract infections. *Am. J. Med.*, 2002; 113: 1S-4S
- [54] Stickler D., Hughes G.: Ability of *Proteus mirabilis* to swarm over urethral catheters. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 1999; 18: 206-208
- [55] Tajbakhsh E., Tajbakhsh S., Khamesipour F.: Isolation and molecular detection of Gram-negative bacteria causing urinary tract infection in patients referred to Shahrekord hospitals, Iran. *Iran. Red Crescent Med. J.*, 2015; 17: e24779
- [56] Torzewska A.: Udział drobnoustrojów w powstawaniu kamieni moczowych. *Postępy Mikrobiol.*, 2003; 42: 39-53
- [57] Umpiérrez A., Scavone P., Romanin D., Marqués J.M., Chabalgoity J.A., Rumbo M., Zunino P.: Innate immune responses to *Proteus mirabilis* flagellin in the urinary tract. *Microbes Infect.*, 2013; 15: 688-696
- [58] Wang M.C., Chien H.F., Tsai Y.L., Liu M.C., Liaw S.J.: The RNA chaperone Hfq is involved in stress tolerance and virulence in uropathogenic *Proteus mirabilis*. *PLoS One*, 2014; 9: e85626
- [59] Wyszyńska A., Kobierecka P., Jagusztyn-Krynicka E.K.: Bakterie kwasu mlekowego (LAB) jako wektory do konstrukcji szczepionek. *Postępy Mikrobiol.*, 2015; 54: 141-153
- [60] Zhang Y., Yang S., Dai X., Liu L., Jiang X., Shao M., Chi S., Wang C., Yu C., Wei K., Zhu R.: Protective immunity induced by the vaccination of recombinant *Proteus mirabilis* OmpA expressed in *Pichia pastoris*. *Protein Expr. Purif.*, 2015; 105: 33-38

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.