

# Prostatiti croniche e biofilm

## *Chronic prostatitis and biofilm*

Riccardo Bartoletti, Tommaso Cai

Dipartimento di Area Critica Medico-Chirurgica, Unità di Urologia, Università degli studi di Firenze, Italy

**L**e patologie infiammatorie della prostata rappresentano oggi uno dei maggiori problemi sociali ed economici della popolazione di sesso maschile nel nostro Paese. In accordo ai dati della letteratura internazionale, la prevalenza di questa patologia oscilla, nell'ambito della Comunità Europea, tra valori compresi tra il 7% e il 14%, e coinvolge soprattutto la fascia di età tra 20 e 50 anni.

La prevalenza della prostatite batterica è inoltre documentata come estremamente bassa (7-13% di tutte le prostatiti) verosimilmente in relazione sia all'impiego ridotto di metodiche di indagine batteriologica e virale (test di Meares, tampone uretrale, ricerca di batteri e virus con metodiche di PCR), che alla possibilità di avere nel singolo paziente una scarsa espressione di patologia batterica nei liquidi biologici dovuta alla presenza di un biofilm intraghiandolare con conseguente liberazione dei soli batteri planctonici. Si tratta di una malattia di difficilissima eradicazione, rispetto alla quale anche noti gruppi di ricerca non sono giunti ad una conclusione definitiva, se non quella di constatare che, verosimilmente, la percentuale delle prostatiti batteriche è probabilmente molto più bassa rispetto al parametro atteso (1).

Una conoscenza più approfondita della patologia appare dunque un elemento imprescindibile per pianificare il futuro, e strumenti indispensabili sono gli studi osservazionali (2).

In questa prospettiva, nel periodo gennaio-giugno 2006 abbiamo condotto uno studio multicentrico, che ha coinvolto 28 centri urologici italiani, allo scopo di ottenere non solo dati inerenti alla prevalenza e all'incidenza della prostatite cronica/dolore pelvico cronico nella realtà italiana, ma anche dati che, scaturiti da una anamnesi accurata, da valutazioni comparative derivanti dall'uso di *scores* sintomatologici e dall'inquadramento clinico-strumentale-laboratori-

co, consentissero di caratterizzare meglio talune variabili, quali la dieta e lo stile di vita dei pazienti, che pure esercitano, in qualche misura, una certa influenza sulla patologia.

Nel periodo di studio, sono stati valutati 764 pazienti affetti da prostatite cronica e 152 soggetti sani (controlli). Per tutti i soggetti è stata rilevata una anamnesi accurata (stile di vita, alimentazione, abitudini sessuali, ecc.) e sono stati effettuati un esame obiettivo (comprensivo di esplorazione rettale [DRE, *Digital Rectal Examination*], ecografia transrettale [TRUS, *TransRectal UltraSound*] e flussometria) e un'analisi microbologica sui campioni da test di Meares e liquido seminale (urina primo getto, urina getto intermedio, secreto prostatico, urina post-massaggio prostatico, liquido seminale). A tutti i soggetti partecipanti allo studio sono stati inoltre somministrati dei questionari (NIH-CPSI, IPSS, IIEF-5, VAS) di valutazione degli *scores* sintomatologici.

In Tabella 1 sono riportati i dati anamnestici, le abitudini di vita e il comportamento sessuale dei pazienti arruolati nello studio. È da notare che talune caratteristiche, quali il fumo di sigaretta, una dieta caratterizzata da elevato tenore calorico e scarso consumo di vegetali, al pari della pratica del coito interrotto e di rapporti sessuali con più di un partner, sono state riscontrate in misura maggiore nei pazienti con prostatite rispetto ai controlli e la differenza si è rivelata statisticamente significativa ( $p < 0,001$  per ciascuno dei parametri considerati).

Un altro dato interessante è quello relativo alla presenza di una concomitante sintomatologia addominale, caratteristicamente presente nei pazienti con prostatite, e soprattutto di colon-irritabile.

Al pari della sintomatologia urinaria, infatti, anche quella addominale, in termini di costipazione, meteorismo e lenta digestione si è rivelata

**Tabella 1** - Dati anamnestici, stile di vita e comportamenti sessuali in 764 pazienti e 152 controlli.

	<i>Pazienti</i>	<i>Controlli</i>	<i>p</i>
<i>Età, mediana (range)</i>	34,9 (24-43)	36,3 (28-41)	0,81
<i>Livello di istruzione</i>			
scuola elementare	0%	0%	0,60
scuola media	8,8%	6,9%	
scuola superiore	62,9%	77,1%	
laurea	28,3%	16,0%	
<i>Fumo di sigaretta</i>	72,1%	46,3%	0,004
<i>Consumo di alcool</i>	63,0%	51,0%	0,52
<i>Dieta</i>			
carne/pesce/uova	35%	45%	0,06
latte/formaggio	28%	15%	0,001
pasta/riso/dolci	45%	15%	<0,001
verdura	15%	35%	<0,001
frutta (al giorno)	1,4	3,2	<0,001
bevande (ml)	1500	1800	0,79
uso di spezie	79,2%	65,1%	0,31
caffè (al giorno)	3	4	0,70
<i>Comportamento sessuale</i>			
1 partner	43%	64%	0,059
>1 partner	57%	36%	
<i>Metodi contraccettivi</i>			
nessun metodo contraccettivo	32%	40%	0,65
coito interrotto	41%	22%	0,001
preservativo	18%	28%	0,73
altro	9%	10%	0,99
<i>Patologie concomitanti</i>	3,2%	1,8%	0,90
<i>Trattamenti farmacologici concomitanti</i>	2,0%	1,0%	0,89

presente in misura maggiore nei pazienti rispetto ai controlli, con una differenza statisticamente significativa. La sindrome prostatica ha evidenziato una influenza negativa anche sul desiderio sessuale, sulla disfunzione erettile e sull'eiaculazione precoce ( $p < 0,001$ ). Il dolore - perineale, scrotale o sovrapubico - era presente nell'82% dei pazienti ma in nessuno dei soggetti di controllo (Tabella 2). Altrettanto significativa è risultata la differenza tra i sintomi riferiti, a mezzo dei questionari, dai pazienti rispetto ai controlli (Tabella 3).

In Tabella 4 sono schematizzati i risultati del test di Meares e Stamey, risultato positivo nel 13,3% dei pazienti e nel 2,9% dei controlli.

L'analisi microbiologica ha dunque evidenziato come una quota, sia pur esigua, di pazienti apparentemente sani presentasse un esame microbiologico positivo per la presenza di una patologia prostatica ad eziologia batterica. I tamponi uretrali di pazienti con prostatite risultati negativi al test di Meares e Stamey hanno invece

evidenziato una positività per patogeni a trasmissione sessuale nel 6% dei casi.

Complessivamente, per 225 (29,4%) dei 764 pazienti arruolati si trattava del primo episodio, mentre per 539 (70,6%) si trattava di un episodio successivo in pazienti già sottoposti a precedente trattamento. Nell'intero periodo dello studio, sono state effettuate 5.540 visite urologiche. I dati ottenuti dallo studio indicano una prevalenza della malattia, in Italia, pari al 13,8%, un dato comparabile a quello di altri Paesi europei (10-14%). Viceversa l'incidenza, stimata pari al 4,5% in relazione ai primi casi osservati, non è un dato ad oggi comparabile, ma appare tuttavia molto elevato (3).

All'esame clinico, sono risultati rilevanti taluni parametri, quali reperti anomali all'esplorazione rettale, addome meteorico, presenza di emorroidi e/o ragadi anali. Nell'ambito dei parametri ecografici assume invece una rilevanza clinica, e statistica, solo la presenza di calcificazioni intraprostatiche.

Nel complesso, il riscontro di prostatite batterica è stato molto basso (13,3%) benché più elevato rispetto alla media riportata in altri Paesi europei (7%). L'uso sistematico del test di Meares e Stamey ha consentito non solo una valutazione omogenea dei pazienti, ma anche la possibilità di ricorrere ad un trattamento mirato.

Alla luce dei dati fin qui presentati, e delle considerazioni ad essi inerenti, viene spontaneo interrogarsi in merito al fatto del perché si insista, in campo urologico, nel trattare la prostatite non batterica utilizzando antimicrobici associati a FANS, ottenendo spesso successi transitori di cura.

**Tabella 2** - Sintomi soggettivi osservati in 764 pazienti e 152 controlli.

	Pazienti (%)	Controlli (%)	p
<b>Sintomi addominali</b>	<b>63%</b>	<b>6%</b>	
costipazione	43,2	13,4	
diarrea	14,2	3,5	
meteorismo	24,5	5,5	<0,001
digestione lenta	6,3	8,0	
sintomi addominali multipli	11,8	69,6	
<b>Totale</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	
<b>Sintomi urinari</b>	<b>68%</b>	<b>0%</b>	
frequenza	40	-	
bruciore	1	-	
tenesmo	2	-	
difficoltà inizio minzione	12	-	<0,001
minzione dolorosa	13	-	
sintomi urinari multipli	32	-	
<b>Totale</b>	<b>100</b>	<b>0</b>	
<b>Sintomi sessuali</b>	<b>40%</b>	<b>8%</b>	
disfunzione erettile (ED)	69	-	
ejaculazione prematura (PE)	21	100	0,05
ED + PE	10	100	
<b>Totale</b>	<b>100</b>		
disturbi del desiderio sessuale	14	-	< 0,001
<b>Dolore</b>	<b>82%</b>	<b>0%</b>	
perineale	58		
scrotale	22		
sovrapubico	12		
basso addome	8		
<b>Totale</b>	<b>100</b>		
<b>Frequenza del dolore</b>			
frequenza giornaliera	96		
frequenza settimanale	4		
<b>Totale</b>	<b>100</b>		

In merito alla possibile eziopatogenesi batterica e virale/batterica della prostatite, le possibili ipotesi sulla via di diffusione sono quella canalicolare, ematica, linfo-ematica o per contiguità. Recentemente, alcuni autori hanno però focalizzato l'attenzione sulla presenza, e quindi sul possibile ruolo, delle comunità microbiche presenti nei biofilm batterici anche nel tratto gastrointestinale (4).

Questo dato presenta implicazioni molto interessanti che potrebbero estendersi anche ai pazienti che, nel nostro studio, presentavano un esame colturale positivo pur in assenza di sintomatologia.

D'altro canto, già altri autori hanno riscontrato una prostatite infiammatoria asintomatica (di IV tipo secondo la classificazione dei *National Institutes of Health*) nel 19% di giovani pazienti asintomatici, rilevata sulla base dei risultati dell'analisi dello sperma che evidenziava, in questi pazienti, una prevalenza importante di leucocitospermia (5).

L'aver isolato, nel nostro studio, batteri anche nel seme dei soggetti di controllo, asintomatici, pone dunque diversi quesiti relativi, ad esempio, alla possibile rilevanza di tale isolamento batterico ai fini della diagnosi, all'eventualità di porre, per tali soggetti, la diagnosi di prostatite di tipo IV.

Ancora, sarebbe opportuno comprendere se la presenza di batteri nel liquido seminale sia rile-

**Tabella 3** - Punteggio medio riscontrato ai questionari relativi ai sintomi soggettivi.

	Pazienti	Controlli	P
<b>Punteggio NIH</b>			
NIH Totale	19,3	2,9	
NIH Dolore	12,3	0,8	<0,001
NIH Urinario	4,0	0,3	
NIH Qualità di vita	7,2	0,2	
<b>IPSS score</b>			
IPSS Totale	11,3	3	
IPSS Urinario	7,8	2,1	<0,001
IPSS Nicturia	1,9	0,9	
IPSS Qualità di vita	3,6	0,9	
<b>IIIEF-5 score</b>	23,8	24,9	0,92
<b>VAS</b>			
nessun dolore	2%	100%	
lieve	63,2%	-	<0,001
moderato	14,7%	-	
grave	20,1%	-	

**Tabella 4 - Risultati del test Meares-Stamey e identificazione dei microrganismi.**

	N. pazienti (%)	N. controlli (%)	p
<b>Test Meares-Stamey positivo</b>	<b>102 (13,3)</b>	<b>4 (2,6)</b>	<b>&lt; 0,001</b>
Gram positivi	<b>50 (49)</b>	<b>1(25)</b>	<b>0,061</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	0	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	0	
<i>Staphylococcus hominis</i>	2	0	
<i>Enterococcus faecalis</i>	87	100	
Gram negativi	<b>52 (51)</b>	<b>3 (75)</b>	<b>0,077</b>
<i>Escherichia coli</i>	69	75	
<i>Proteus mirabilis</i>	4	0	
<i>Serratia</i> spp.	2	0	
<i>Enterobacter</i> spp.	8	25	
Batteri atipici	17	0	
<b>Tampone uretrale positivo</b>	<b>46 (6)</b>	<b>Non effettuato</b>	
<i>Chlamydia trachomatis</i>	12		
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	12		
<i>Mycoplasma hominis</i>	1		
Lieviti	<1		
HPV, HSV 1/2	74		

vante nella genesi della malattia o rappresenti, piuttosto, solo un'infezione secondaria.

Nell'interpretazione di una patologia ad eziologia batterica, si distinguono un'infezione primitiva, in cui i batteri sono la causa dell'infezione e dunque dell'infiammazione prostatica (malattie a trasmissione sessuale o altra via) e un'infezione secondaria, in cui si verifica una sovrapposizione batterica su un tessuto interessato da flogosi.

Una condizione di ipertono dello sfintere muscolare del pavimento pelvico costituisce un possibile esempio di infezione secondaria. In tal caso, infatti, si determinano dei meccanismi di difficile espulsione del contenuto urinario, con possibile reflusso intraprostatico che può rappresentare una base chimica sulla quale si verifica, successivamente, un impianto batterico o la formazione di un biofilm.

La prevalenza delle prostatiti batteriche è, verosimilmente, significativamente maggiore rispetto a quella attualmente stimata e a tale discrepanza concorre la particolare dinamica dei biofilm.

Infatti, diversamente dai batteri planctonici, rilevabili mediante gli standard microbiologici attuali, i microrganismi di un biofilm non sono identificabili con le metodiche comunemente impiegate. Altri microrganismi sono identificabili solo con metodiche più approfondite, e talvolta non sono identificabili affatto, per difetto tecnico o per assenza significativa di microrga-

nismi. Tutto questo può in qualche misura contribuire ad una sottostima della reale prevalenza delle prostatiti batteriche. La difficile identificazione, oltre che l'eradicazione, dei microrganismi indovati nel biofilm, rispetto a quelli planctonici, rendono ragione del fatto che l'impiego di terapie antibiotiche per il trattamento della prostatite può, di fatto, essere parzialmente o transitoriamente efficace.

Una prostatite batterica si associa a talune evidenze cliniche, individuabili nella frequente infezione da *E. coli* ed enterococchi fecali, nelle anomalie funzionali e patologiche intestinali coesistenti, nelle concomitanti malattie ano-retali, nelle malattie sessualmente trasmesse ma anche nella possibile presenza di "santuari" batterici intraparenchimali, nella calcolosi e nelle calcificazioni intraprostatiche.

Per quanto attiene alle infezioni urinarie da *E. coli*, è possibile individuare talune problematiche che coinvolgono, da un lato, le difese antibatteriche dell'ospite, consistenti, come si è già avuto modo di discutere, nel flusso urinario e nella minzione, nell'osmolalità e nel pH urinario, nella risposta infiammatoria (leucociti polimorfonucleati e citochine), inibitori dell'adesività batterica (mucopolisaccaridi vescicale e IgA secretorie) e, dall'altro, i fattori di virulenza del microrganismo, in particolare fimbrie P e di Tipo 1, che consentono una maggiore adesione del batterio ai recettori presenti sulle cellule uroepiteliali.

Altri fattori di virulenza sono individuabili nella presenza di flagelli, nella produzione di emolisina e aerobactina.

In particolare, Soto et al. hanno condotto uno studio in 151 ceppi di *E. coli* volto a determinare la possibile correlazione tra infezioni diverse del tratto urinario (cistite, pielonefrite e prostatite) e formazione di biofilm *in vitro* e presenza di fattori di urovirulenza (6).

I batteri contenuti nel biofilm hanno dei comportamenti fenotipicamente diversi dagli omologhi planctonici, tali da rendere impossibile effettuare terapie antibiotiche mirate, fondate sulla base di dati estrapolati dalle colonie planctoniche (routine microbiologica) e destinate a probabile insuccesso terapeutico.

Tra i fattori responsabili del fallimento terapeutico su biofilm si individuano la presenza di glicocalice, che riduce la penetrazione e la diffusione degli agenti antimicrobici negli strati profondi del biofilm, ma anche la velocità di crescita, ampiamente variabile, dei batteri nel biofilm, potendosi distinguere batteri a crescita lenta e batteri a crescita rapida.

Quelli a crescita lenta sono più resistenti alla terapia antibiotica e la limitazione di diffusione ai nutrienti determina un gradiente spaziale di crescita che induce l'espressione di fenotipi diversi nello stesso biofilm. I batteri a crescita rapida si riscontrano più facilmente in superficie, sono dotati di *binding proteins* per gli antibiotici, espresse in misura maggiore rispetto ai batteri a crescita lenta.

Inoltre, i batteri del biofilm sono così fenotipicamente diversi da quelli planctonici, in termini di

membrane di rivestimento e bersagli molecolari, che gli antibiotici non risultano efficaci (resistenza intrinseca).

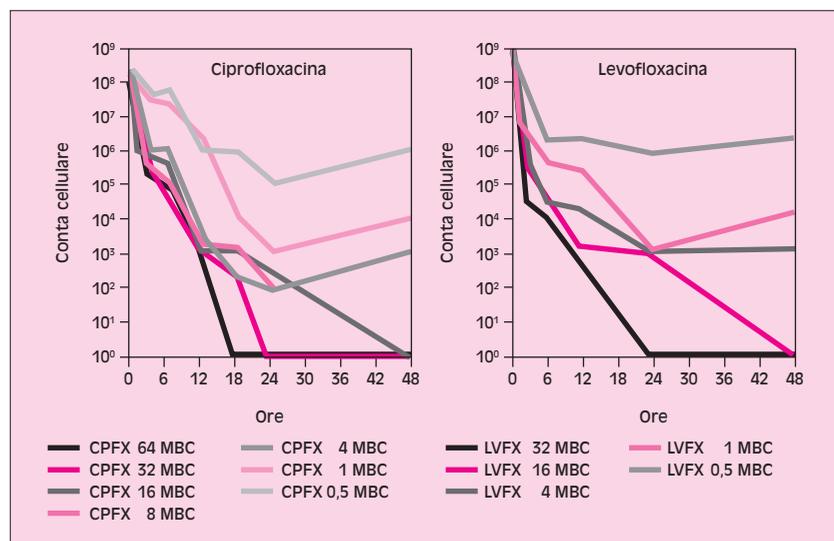
I batteri di un biofilm possono "sentire" l'ambiente esterno, comunicare fra loro e trasferire messaggi genetici, mediante plasmidi, nel contesto del biofilm, variando di conseguenza i determinanti di virulenza.

All'interno di un biofilm, i microrganismi possono usualmente sopravvivere all'esposizione ad antibiotici a concentrazioni di 1000-1500 volte più elevate rispetto alle concentrazioni utili all'eradicazione di batteri planctonici della stessa specie.

Questa caratteristica è legata soprattutto alla variabilità di crescita di queste tipologie batteriche. Delle possibili strategie di approfondimento potrebbero consistere nel testare sostanze antibiotiche su biofilm creato *in vitro* da batteri prelevati da pazienti con prostatite cronica non batterica ma anche nell'indagare sulla genesi delle calcificazioni intraprostatiche evidenziate alla microscopia elettronica, nell'intento di definirne l'esatta natura, oggi ancora affidata a ipotesi diverse, che vanno da quella di secreti prostatici amorfi calcificati ai santuari batterici, o alla reazione dell'ospite allo stimolo cronico.

Gli antibiotici attualmente in uso sono stati sviluppati e studiati per agire sui batteri planctonici e non organizzati in biofilm, ed esistono pochi studi che hanno valutato l'attività microbiologica di questi farmaci in questa particolare situazione.

Tra questi, Goto e collaboratori hanno valutato l'attività microbiologica dei due fluorochinoloni



**Grafico 1** - Curve di batteriocidia di levofloxacina e di ciprofloxacina nei confronti di ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* produttori di biofilm in un modello di urine artificiali.

**Tabella 5 - Concentrazione nella prostata di levofloxacin e ciprofloxacina [8-10].**

Concentrazioni medie allo steady state a:	Levofloxacin 500 mg (per os/ev)	Ciprofloxacina 500 mg (per os)	Ciprofloxacina 1000 mg (per os)
3 ore	17 µg/g*		4,29 µg/g**
4 ore	16 µg/g*	5,1 µg/g***	

\*Drusano G.L. et al.; *Antimicrob. Agents Chemother.* 44(8), 2046-2051, 2000. \*\*Lugg J. et al. *J. Chemother.* 20 (2), 213-218, 2008; \*\*\*Waldron R. et al.; *J. Antimicrob. Agents Chemoter.* 17, 544-545, 1986.

più utilizzati nelle infezioni urinarie (levofloxacin e ciprofloxacina) nei confronti dei ceppi di *P. aeruginosa* produttori di biofilm in un modello sperimentale di urine artificiali [(7)]. I risultati espressi mediante curve di batteriocidia, hanno evidenziato la capacità di entrambe le molecole di eradicare i batteri produttori di biofilm, a concentrazioni facilmente raggiungibili a livello urinario (Grafico 1).

Poco invece si conosce sui patogeni produttori di biofilm nella prostatite batterica cronica (PBC) e sul ruolo dei fluorochinoloni nella capacità disgregante di queste forme batteriche. I chinoloni sono molecole lipofile, anfotere, con elevata capacità di penetrazione nel parenchima prostatico. Levofloxacin, in particolare, mostra un elevato tropismo verso il tessuto prostatico (8-10) (Tabella 5).

Nella prospettiva di definire meglio gli aspetti relativi al ruolo del biofilm nella prostatite cronica e dei fluorochinoloni utilizzati nella terapia della PBC, abbiamo quindi intrapreso uno studio pre-clinico per valutare l'effetto modulatore di levofloxacin, ciprofloxacina e prulifloxacin sulla formazione di biofilm in microrganismi Gram positivi e Gram negativi. Obiettivo pri-

mario dello studio è la valutazione comparativa dell'efficacia di levofloxacin, rispetto ai comparatori ciprofloxacina e prulifloxacin, di interferire con la neoformazione di biofilm e con il biofilm preformato.

Costituiscono obiettivi secondari dello studio l'isolamento di microrganismi produttori di biofilm (*Staphylococcus* spp, *Enterococcus* spp, *E. coli* ed altri enterobatteri, *Pseudomonas aeruginosa*) da campioni urinari, secrezioni prostatiche/vescicole seminali e calcificazioni intraprostatiche, unitamente alla valutazione della capacità, di tali microrganismi, di produrre biofilm *in vitro* e alla caratterizzazione delle calcificazioni intraprostatiche mediante microscopia elettronica.

Il disegno dello studio prevede l'isolamento di 150 ceppi batterici, isolati da altrettanti pazienti adulti (>18 anni) con sintomi di prostatite cronica presenti da almeno 6 mesi. A breve saranno prodotti i dati sull'attività comparativa dei chinoloni studiati nella inibizione della formazione del biofilm.

**Key words:** biofilm, prostatitis, UTI, Meares-Stamey test.

## RIASSUNTO

Le patologie infiammatorie della prostata rappresentano oggi uno dei maggiori problemi sociali ed economici del sesso maschile nel nostro paese. La prevalenza di questa patologia nell'ambito dei paesi europei è di circa l'11-14%, soprattutto nella fascia di età fra 20 e 50 anni.

La prevalenza di prostatiti batteriche è inoltre documentata come estremamente bassa (7-13% di tutte le prostatiti) in relazione sia all'impiego ridotto di metodiche di indagine batteriologica e vi-

rale (test di Meares, tampone uretrale, ricerca di batteri e virus con metodiche di PCR), che alla possibilità di avere nel singolo paziente una scarsa espressione di patologia batterica nei liquidi biologici dovuta alla presenza di un biofilm intraghiandolare con conseguente liberazione dei soli batteri planctonici.

La presenza del biofilm diventa di fatto la possibile giustificazione di diagnosi difficili e trattamenti antibatterici inefficaci.

## SUMMARY

Nowadays, inflammatory prostatic diseases represent one of the main social and economic problems that affect male gender in our country. The disease's prevalence is estimated at 11-14% in European countries, and males aged between 20 and 50 years are the most affected subjects.

Bacterial prostatitis is documented at a very low prevalence (7-13% of prostatitis overall considered) due to either reduced utilization of viral and bacteriological tests

(Meares test, urethral swab, bacterial and viral PCR) or to the possibility that individual patients show a scarce expression of bacterial disease in biological fluids, because of intraglandular biofilm presence, with subsequent spreading of the sole plankton microorganisms.

Actually, the presence of a biofilm may possibly represent the reason for difficult diagnoses and ineffective antibacterial treatments.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] Naber K.G., Lobel B., Weidner W. et al. Further insights into endocrine disease. The enigma of prostatitis. An IPHC teaching Programme.
- [2] Bartoletti R., Cai T., Mondaini N., et al. and the Italian Prostatitis Study Group. Prevalence, incidence estimation, risk factors and characterization of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome in urological hospital outpatients in Italy: results of a multicenter case-control observational study. *J Urol.* 178 (6), 2411-2415, 2007.
- [3] Mehik A., Hellström P., Lukkarinen O., Sarpola A., Järvelin M. Epidemiology of prostatitis in Finnish men: a population-based cross-sectional study. *BJU Int.* 86 (4), 443-448, 2000.
- [4] Macfarlane S. Microbial biofilm communities in the gastrointestinal tract *J. Clin. Gastroenterol.* 42 (Suppl. 3), S142-S143, 2008.
- [5] Korrowits P., Ausmess K., Mandar R., Punab M. Prevalence of asymptomatic inflammatory (National Institutes of Health category IV) prostatitis in young men according to semen analysis. *Urology* 71 (6), 1010-1015, 2008.
- [6] Soto S.M., Smithson A., Martinez J.A., Horcajada J.P., Mensa J., Vila J. Biofilm formation in uropathogenic *Escherichia coli* strains: relationship with prostatitis, urovirulence factors and antimicrobial resistance. *J. Urol.* 177 (1), 365-368, 2007.
- [7] Goto T., Nakame Y., Nishida M., Ohi Y., In vitro bactericidal activities of beta-lactamases, amikacin, and fluoroquinolones against *Pseudomonas aeruginosa* biofilm in artificial urine. *Urology* 53, 1058-1062, 1999.
- [8] Drusano G.L., Preston S.L., Van Guilder M., et al. A population pharmacokinetic analysis of the penetration of the prostate by levofloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44 (8), 2046-2051, 2000.
- [9] Lugg J., Lettieri J., Stass H., Agarwal V. Determination of the concentration of ciprofloxacin in prostate tissue following administration of a single, 1000 mg, extended-release dose. *J. Chemother.* 20 (2), 213-218, 2008.
- [10] Waldron R., Arkell D.G., Wise R., Andrews J.M. The intraprostatic penetration of ciprofloxacin. *J. Antimicrob. Chemother.* 17 (4), 544-545, 1986.