

Review

Candida biofilms and their less susceptibility to antifungal drugs

Sadegh Khodavaissy¹, Faezeh Mohammadi², ShirinSadat Hashemi Fesharaki³, Shahla Samieeifard⁴, Peyman Solimani⁵, Hamid Badali^{2*}

1. Department of Medical Parasitology and Mycology, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.

2. Department of Medical Parasitology and Mycology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3. Department of Medical Parasitology and Mycology, Invasive Fungi Research Center (IFRC), Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.

4. Department of Medical Microbiology, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

5. Department of Medical Microbiology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

*.Corresponding Author: E-mail: Badalii@yahoo.com

(Received 28 October 2014; Accepted 5 February 2015)

Abstract

Candida species as opportunistic pathogens are liable to attack immunocompromised hosts and are the most common fungi isolated from nosocomial infections. Biofilms are structured microbial communities that are attached to a surface. Formation of biofilms by *Candida* species have been demonstrated on a number of devices, including central venous catheters, cardiovascular devices and urinary catheters. Successful management in the treatment of *Candida* biofilms depends on early diagnosis and treatment, the adequate choice of therapy and antifungal resistance. Biofilms formed by these organisms are associated with drastically enhanced ability to express resistance against most antifungal agents including amphotericin B and fluconazole. The expression of drug efflux pumps during the early phase of biofilm formation and alterations in membrane sterol composition contribute to resistance of these biofilms against antifungal agents. In this review, we will focus on the antifungal resistance exhibited by *Candida* biofilms and discuss the mechanisms underlying this resistance.

Keywords: Biofilm, *Candida* species, Antifungal therapy, Antifungal resistance, Nosocomial infections.

J Clin Exc 2014; 3(1): 58-71 (Persian).

اهمیت مقاومت های دارویی در بیوفیلیم کاندیدایی

صادق خداویسی^۱، فائزه محمدی^۲، شیرین السادات هاشمی فشارکی^۳، شهلا سمعی فرد^۴، پیمان سلیمانی^۵، حمید بدلی^{*۶}

چکیده

بیماری های تهاجمی و سیستمیک ایجاد شده بوسیله گونه های کاندیدا در میزبان های مستعد علی رغم درمان دارویی و جراحی از میزان مرگ و میر بالایی برخوردار می باشند. کاندیدیازیس یکی از بیماری های تهدید کننده حیات می باشد که تشخیص سریع و بموقع و شناسایی عوامل ایجاد کننده به همراه درمان دقیق می تواند از بروز موارد مرگ و میر بکاهد. بیوفیلیم در واقع به معنای اتصال، تجمع و تراکم پیچیده ارگانیسم ها بر روی سطوح مختلف خصوصاً سطوح پلیمریک است. با توجه به این که گونه های کاندیدایی ایجاد کننده بیوفیلیم از حساسیت کمتری نسبت به داروهای ضدقارچی بجز اکتینوکاندین ها و فرم لیپیدی آمفوتریسین B نشان می دهند، بنابراین درمان این نوع عفونت های ایجاد شده در حال حاضر بایستی بوسیله داروهای ضد قارچی دیگری با اثرات ضد قارچی بالا و سایتوتوکسیسیته کمی صورت گیرد. مکانیسم های مقاومت نظیر موتاسیون در هدف، کاهش نفوذپذیری سلول، پمپ های انتشاری و تغییر آنزیم ها بنظر می رسد که دلیل اصلی کاهش حساسیت ضد میکروبی در بیوفیلیم باشد. لذا مروری بر مقاومت های دارویی و مکانیسم های مقاومت در بیوفیلیم های کاندیدایی از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشد.

واژه های کلیدی: بیوفیلیم، کاندیدا، درمان ضد قارچی، مقاومت دارویی، عفونت های بیمارستانی.

مقدمه

پلیمرهای خارج سلولی غالباً لزج جا دارند و مشخصاً کمتر در معرض عوامل ضد میکروبی قرار می گیرند (۲). اولین نمونه شناخته شده بیوفیلیم در سیستم های پزشکی، پلاک دندان بر روی سطوح دندان بوده است. بسیاری از عفونت های ایمپلنتی در جمعیت های میکروبی، بر روی سطوح قطعاتی مانند سوندها و دریچه های قلب یافت می شود (۴،۳).

بیوفیلیم به فرم اجتماعات میکروبی شامل؛ یک مجموعه و یا ترکیبی از گونه های باکتری و قارچی گفته می شود که با اتصال به یک سطح، تشکیل ساختار می دهند (۱). در بسیاری از محیط های طبیعی، میکروارگانیسم ها نسبت به سلول های Free-Floating یا پلانکتونی بیشتر به صورت تشکیل بیوفیلیم می باشند. میکروارگانیسم های منفرد در بیوفیلیم ها در ماتریکس

۱. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، ایران

۲. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

۳. مرکز تحقیقات قارچ های تهاجمی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. گروه میکروپ شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران

۵. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

Email: badalii@yahoo.com.

* نویسنده مسئول: مازندران، ساری، کیلومتر ۱۸ جاده خزر آباد، دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۱۶

تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۳/۱۰/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۶

کاندیدا، پاتوژن فرصت طلبی است که قادر به ایجاد بیماری در افراد دارای نقص ایمنی و یا تضعیف شده می باشد. گونه های کاندیدا از عوامل اصلی عفونت های اکتسابی بیمارستانی هستند (۵). اهمیت آنها به عنوان پاتوژن های بیمارستانی در ارتباط با فاکتورهای ناشی از روش های مدرن پزشکی به ویژه مصرف داروهای سیتوتوکسیک و سرکوب کننده ایمنی، آنتی بیوتیک های قوی و انواع مختلف قطعات ایمپلنت می باشد.

براساس مطالعات انجام شده، کاندیدا چهارمین عامل متداول عفونت های بیمارستانی شناخته می شود (۶). بر روی سطوح کاتترها و سوندهای اینترواسکولاری و ادراری و نیز سایر ایمپلنت ها مانند؛ دریچه های پروستاتیک قلبی، بیوفیلم ناشی از کاندیدا، قابل تشخیص است (۷). همچنین مایع تزریقی از طریق سوند می تواند آلوده شود اما غالباً ارگانیسم ها از پوست بیمار و یا دست های کارکنان انتقال می یابد (۸، ۹).

در صورت کلونیزه کاندیدا در دستگاه گوارش، قادر به نفوذ به مخاط روده و تهاجم به بافت های اطراف و نهایتاً انتشار به سایر ارگان ها از طریق جریان خون خواهد بود. عفونت های سطحی کاندیدا ناشی از ایمپلنت ها، خطر کمتری دارند اما بطور متناوب با آن مواجه شده و می تواند رنج آور باشد. از جمله این موارد می توان بطور شایع به التهاب منشره مخاط دهان ناشی از استفاده از دندان مصنوعی و بیوفیلم روی سطح دندان مصنوعی آکرلیک تشکیل شده در اثر تجمع توام باکتری ها به ویژه استرپتوکوک و مخمر کاندیدا اشاره کرد (۱۰).

از دیگر بیوفیلم های تشکیل شده می توان به پروتزهای سیلکونی که در بیماران دچار ناراحتی حنجره استفاده می شود اشاره نمود. این پروتزها مستعد به تشکیل بیوفیلم های پلی میکروبی شامل کاندیدا بوده و به همین دلیل در طی چند ماه از بین می روند (۱۱).

تشکیل بیوفیلم کاندیدایی می تواند در ارتباط با استفاده از پروتز و یا کاتترهای پزشکی نباشد، به عنوان مثال: اندوکاردیت کاندیدایی در بیماران دارای سابقه ناراحتی قلبی مشاهده می شود. در این بیماران یک ترومبوس که شامل فیبرین و پلاکت بوده، بر روی سطح دریچه قلب گسترش یافته و توسط سلول های قارچی کلونیزه می گردد و در نهایت منجر به آمبولی می شود (۸).

به نظر می رسد که عفونت های سطوح اپیتلیال نیز می تواند در برگیرنده بیوفیلم های کاندیدایی باشد. در واژینیت های کاندیدایی، برخی از سلول های قارچی قادرند که با گونه های باکتریال فلور واژینال تشکیل بیوفیلم دهند که نادیده گرفتن آنها می تواند منجر به مقاومت در برابر درمان های ضد قارچی و نیز عود مکرر عفونت های کاندیدایی می شود.

بیوفیلم های باکتریایی و نقش آنها در بیماری، در سال های اخیر بطور وسیعی مطالعه شده اند ولی یافته های کمی از بیوفیلم های قارچی موجود است. این مقاله مروری بر نقش کاندیدا در تشکیل بیوفیلم و مکانیسم های مقاومت دارویی آن دارد.

سیستم های مدل بیوفیلم

سیستم های متنوعی به منظور شناسایی ویژگی های کلی بیوفیلم های کاندیدا استفاده شده اند که تقریباً تمامی این روش ها مشابه با روش های پیشین برای باکتری ها می باشد.

ساده ترین و اولین روش کمی جهت بررسی رشد جمعیت میکروارگانیسم بر روی سطوح از جمله کاتترها، روش کلورومتریک یا رنگ سنجی می باشد که بسته به استفاده از نمک تترازولیوم احیاء شده و یا لوسین وزن خشک بیوفیلم بررسی می گردد (۱۴-۱۲). یک روش مدلی مشابه نیز برای تشکیل بیوفیلم بر روی نوارهای آکرلیک دندان مصنوعی نیز استفاده شده است (۱۵). تمامی این روش ها قادر به اندازه گیری تشکیل بیوفیلم در شرایط ساکن انکوباسیون هستند. در شرایط In vivo،

بیوفیلم در حال گسترش غالباً تحت کنترل جریان مایع هستند. در شرایط آزمایشگاهی، این عمل به سادگی از طریق تکان دادن تدریجی بیوفیلم های در حال رشد بر روی صفحه سوند در غشای مایع انجام می پذیرد (۱۶). سایر سیستم های مصنوعی جریان دربرگیرنده تشکیل بیوفیلم بر روی فیلترهای سلولزی استوانه ای و یا در این سیستم ها دارای عملکرد پیچیده تری از روش استاتیک است (۱۷).

فاکتورهای مختلفی بر روی تشکیل بیوفیلم در شرایط In Vitro از جمله نوع گونه کاندیدا، نوع ماده سطح، جریان مایع و وجود باکتری موثر می باشند. در واقع ارتباط بین توانایی تشکیل بیوفیلم و پاتوژنیسته بر روی سطح کاترها توسط گونه های مختلف کاندیدا مورد بررسی قرار گرفته و مشاهده شده که رشد بیوفیلم ناشی از گونه های کاندیدا گلابراتا، پاراپسیلوزیس و تروپیکالیس نسبت به کاندیدا آلیکنس کمتر می باشد. یافته ها نشان می دهد که رشد بیوفیلم کاندیدا آلیکنس در شرایط آزمایشگاهی بیشتر از گونه های غیر کاندیدا آلیکنسی می باشد. از طرفی تشکیل بیوفیلم توسط گونه های غیر کاندیدا آلیکنس به ویژه تروپیکالیس و پاراپسیلوزیس در محیط حاوی ۸ درصد گلوکز، صورت می گیرد. بنابراین توانایی تشکیل بیوفیلم توسط این گونه ها در محلول های تزریقی حاوی غلظت بالای گلوکز اهمیت ویژه ای دارد (۱۸). همچنین ماهیت مواد استفاده شده در کاترها جهت تشکیل بیوفیلم توسط کاندیدا آلیکنس اهمیت دارد. در واقع تشکیل بیوفیلم بر روی کاترهای از جنس لاتکس یا سیلیکونی الاستومری نسبت به پلی وینیل کلرید^۱ بیشتر می باشد، اما بر روی پلی اورتان^۲ و یا سیلیکون ۱۰۰ درصد کاهش می یابد (۱۳).

در In Vivo کاترها و سایر ایمپلنت ها قادر به جذب سریع پروتئین های میزبان جهت تشکیل بیوفیلم می باشند.

کاترهای PVC در In Vitro با فیبرینوژن و یا کلاژن، تشکیل بیوفیلم توسط کاندیدا آلیکنس را چند برابر افزایش می دهند. بطور مشابه فیلم های سرمی و یا بزاق به تشکیل بیوفیلم های دندان های مصنوعی آکریلیک کمک می کنند. از جمله ویژگی های مهم هر بیوفیلم، تجمعات میکروبی احاطه شده در ماتریکس بیوپلیمری خارج سلولی است که توسط خود میکروارگانیسم ها تولید می شود (۴).

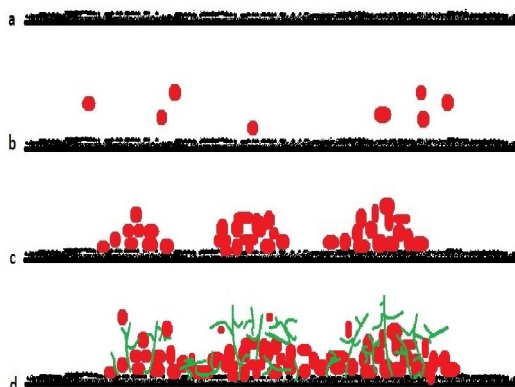
فراساختار^۳ بیوفیلم

از ویژگی های مهم بیوفیلم های کاندیدی وجود ترکیبی از فرم های مورفولوژی قارچ می باشد که توسط میکروسکوپ الکترونی مشاهده شده که بعد از ۶-۳ ساعت از اتصال سلول های مخمری، جرم تیوب تشکیل شده و پس از ۴۸ ساعت، بیوفیلم کامل بر روی کاتر که شامل شبکه متراکمی از مخمر، هایف و شبه هایف می باشد، تشکیل می شود (۱۴). فرم هایف بر روی محیط کشت مایع و یا بر سطح آگار محیط هایی با پایه نیتروژن و گلوکز مشاهده نمی شود. نکته قابل توجه، عدم رشد گونه های کاندیدا آلیکنس موتاسیون یافته بر روی کاترها به علت نقص در رشد فیلامان و یا فقدان فاکتورهای ترجمه Cph1p و Efg1p می باشد. مشاهده شده که گونه های کاندیدا آلیکنس فاقد ژن EFG1، تنها قادر به تشکیل لایه ای از سلول های مخمری در شرایط آزمایشگاهی می باشند. بنابراین مسیر پیام رسانی EFG1 در گسترش و پیشرفت بیوفیلم نقش پیچیده ای دارد. نقش مورفوزن در ساختار بیوفیلم ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی بررسی شده است (۱۹). بیوفیلم های تولید شده از گونه های وحشی کاندیدا آلیکنس با گونه های جهش یافته که قادر به رشد فرم های مخمری و هایفی نمی باشند، مقایسه گردیده و مشاهده شده است که بیوفیلم های تشکیل شده توسط گونه های وحشی کاندیدا آلیکنس، از دو لایه نازک و

^۱ - PVC

^۲ - Polyurethane

^۳ - Ultrastructure



شکل شماره ۱: مراحل تشکیل بیوفیلم کاندیدا آلیکس بر روی سطح کاتر از جنس PVC.

(a) در مرحله اول، پروتئین های میزبان جذب سطح کاتر می گردد (نقاط سیاه رنگ)
(b) در مرحله بعدی، اتصال مخمرها (قرمز رنگ) بر روی این سطح صورت می گیرد.
(c) در مرحله بعدی یک لایه بازال از میکروکلنی های مخمری تشکیل می گردد. با پیشرفت میکروکلنی ایجاد شده، ماتریکس مواد و لایه ای از هیف، سلول های مخمری و رشته های را احاطه می نمایند.

مقاومت دارویی بیوفیلم ها

بیوفیلم های میکروبی به طور آشکار به عوامل آنتی میکروبیال نظیر آنتی بیوتیک، ضد عفونی کننده ها و آفت کش های صنعتی مقاومت نشان می دهند. به عنوان مثال حضور باکتری در بیوفیلم باعث شده که ۱۰-۱۰۰۰ برابر در مقابل آنتی بیوتیک ها نسبت به سلول های پلانکتونیک، مقاومت نشان دهند. مقاومت بیوفیلم کاندیدیایی به عوامل ضد قارچی اولین بار در سال ۱۹۹۶ ثابت شد. عوامل ضد قارچی مانند؛ آمفوتریسین B، فلوکونازول، فلوستیزون، ایتراکونازول و کتوکونازول آزمایش شده اند (۲۳-۲۵). در جدول شماره ۱ وضعیت حساسیت به داروهای ضد قارچی ایزوله های کاندیدیایی رشد یافته به شکل بیوفیلمی بر روی بسترهای مختلف نشان داده شده است.

همه این عوامل فعالیت کمتری علیه بیوفیلم های ناشی از کاندیدا آلیکس تشکیل شده بر روی دیسک PVC، نسبت به سلول های پلانکتونی دارند (۴).

ضحیم که به ترتیب شامل تراکمی از سلول های مخمری و هایفی، تشکیل شده است.

گونه های موتاسیون یافته که قادر به رشد هایفی نبوده، تنها لایه مخمری تشکیل می دهند در حالی که گونه های جهش یافته که قادر به رشد مخمری نبوده تنها لایه ضخیمی از هایف را تشکیل می دهند. براساس یافته های به دست آمده، مشاهده شده که علی رغم تفاوت در ضخامت لایه تولید شده، هر دو فرم موتاسیون یافته قارچ، قادر به تشکیل بیوفیلم بوده و نشان داده شده که اگر چه دی مورفسم بودن قارچ شرط لازم برای تشکیل بیوفیلم نمی باشد ولی ممکن است برای گسترش ساختارهای فضایی ضروری باشد. بیوفیلم های تشکیل شده توسط گونه های موتاسیون یافته که قادر به رشد مخمری نمی باشند نسبت به سایر سوش ها، راحت تر از سطح کاترها جدا می گردند و این دلالت بر اهمیت لایه مخمری در تشکیل لایه مخمری دارد. مطالعات اخیر با CLSM^۴ نشان می دهند که بیوفیلم های تشکیل شده توسط کاندیدا آلیکس و کاندیدا دابلینسیس دارای ساختار سه بعدی مشابهی بوده که میکروکلنی ها توسط کانال های آب احاطه شده اند. مطالعات مشابه، ساختار دولایه ای مخمر هایف میکروکلونی های کاندیدا آلیکس را زمان رشد بیوفیلم بر روی سطوح پلاستیکی نشان می دهد (۲۰-۲۲). بیوفیلم باکتریایی با ماتریکس پلیمری بصورت اولیه پلی ساکارید خارجی و بیشتر بطور منفی شارژ می شوند. مقادیر مشابه پروتئین، اسید نوکلئیک و دیگر ترکیبات نیز حضور دارند و بیش از ۹۹ درصد ماتریکس بیوفیلم را آب تشکیل می دهد. در مقایسه ماتریکس کاندیدا آلیکس و اجزای آن با ارگانسم پلانکتونیک نشان داده شد که هر دو شامل کربوهیدرات، پروتئین و فسفر و هگزوزامین و همچنین گلوکز بیشتر (۱۶ درصد) نسبت به مانوز است که شامل گالاکتوز می باشد و این به عنوان یک ترکیب منحصر به فرد بیوفیلم پیشنهاد شده است (شکل شماره ۱).

⁴- Confocal laser scanning microscopy

آلیکس در شرایط آزمایشگاهی توسط دیگر محققین، ثابت شده است. کاسپوفانجین با مهار سنتز B و ۱ و ۳ گلوکان از اجزا اصلی ساختار دیوار سلولی کاندیدا، یک تارگت منحصر به فرد برای بیوفیلم کاندیدا می باشد (۲۶). این یافته ها ما را به سمت پیشرفت های مهمی جهت درمان عفونت های قارچی ایمپلنتی سوق می دهد.

مکانیسم های مقاومت دارویی

هنوز مکانیسم مقاومت دارویی بیوفیلم ها به خوبی درک نشده است. در مورد ژنتیک و اساس مولکولی مقاومت آنتی بیوتیکی باکتری ها اطلاعات زیادی در دسترس می باشد. مکانیسم های حفاظتی نظیر موتاسیون در هدف، کاهش نفوذ پذیری سلول، پمپ های انتشاری و تغییر آنزیم ها به نظر نمی رسد که دلیل اصلی کاهش حساسیت ضد میکروبی در بیوفیلم باشد، بطور مثال در باکتری هایی که فاقد جهش های حفاظتی یا پلاسمیدها یا سایر عناصر ژنتیکی متحرک حمل کننده ژن های مقاومت هستند زمانی که در وضعیت بیوفیلم رشد می کنند، حساسیت کمتری دارند. مکانیسم های احتمالی شامل نفوذ محدود دارو به داخل ماتریکس بیوفیلم، تغییر فنوتیپی که منجر به کاهش سرعت رشد یا محدودیت مواد غذایی می شود و بیان ژن های مقاومت می باشد (۲۸، ۲۷) که به ترتیب توضیح داده می شود.

۱- نفوذ محدود شده دارو به داخل ماتریکس بیوفیلم

برای مدت طولانی فرض بر این بود که مواد پلیمری خارج سلولی ماتریکس، دسترسی دارو به ارگانیزم ها را محدود می نماید. بسیاری از مطالعات بر روی بیوفیلم های باکتریایی نشان می دهند که ماتریکس به عنوان سد دفاعی مهم در جلوگیری از نفوذ دارو نمی باشد (۲۷). جهت بررسی نقش ماتریکس در مقاومت بیوفیلم تشکیل شده توسط کاندیدا آلیکس به عوامل ضد قارچی، حساسیت

جدول شماره ۱: حساسیت ضد قارچی ایزوله های کاندیدایی رشد یافته به شکل بیوفیلمی بر روی بسترهای مختلف (۳۵، ۳۶)				
داروی ضد قارچ	ارگانیزم	بستر	MIC بیوفیلم	MIC پلانکتونی
آمفوتریسین B	کاندیدا آلیکس	دندان مصنوعی	۸	۰/۲۵
	کاندیدا آلیکس	کانت	۴	۰/۵
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کانت	۸	۰/۲۵
فلوکنازول	کاندیدا آلیکس	دندان مصنوعی	>۶۴	۰/۲۵
	کاندیدا آلیکس	کانت	>۲۵۶	۱
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کانت	>۲۵۶	۸
ویکونازول	کاندیدا آلیکس	کانت	>۲۵۶	۰/۵
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کانت	۱۲۸	۰/۱۲۵
راواکونازول	کاندیدا آلیکس	کانت	۱۲۸	۰/۱
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کانت	مشخص نیست	۰/۱۲۵
NYT	کاندیدا آلیکس	دندان مصنوعی	۱۶	۱
	کاندیدا آلیکس	کانت	۱۶	۲
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کانت	۱۶	۰/۵
کاسپوفانژین	کاندیدا آلیکس	کانت	۰/۲۵	۰/۱۲۵
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کانت	۰/۱۲۵	۱
میکافانژین	کاندیدا آلیکس	کانت	۰/۳۵	۰/۰۰۱
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کانت	۰/۱۲۵	۰/۲۵
لیپوزومل آمفوتریسین B	کاندیدا آلیکس	کانت	۰/۳۵	۰/۵
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کانت	۱	۰/۰۶
تریپتین	کاندیدا آلیکس	کانت	۱۲۸	۳۲
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کانت	مشخص نیست	۴

غلظت های دارویی مورد نیاز برای کاهش ۵۰ درصد فعالیت متابولیکی این بیوفیلم ها، ۵-۸ برابر بیشتر از سلول های پلانکتونی است و ۲۰۰۰-۳۰ برابر بیشتر از MIC می باشد. با استفاده از میکروسکوپ الکترونی مشخص شده است که ساختار بیوفیلم در غلظتی با MIC برابر ۱۱ از آمفوتریسین B، دست نخورده باقی مانده است. بیوفیلم های تشکیل شده توسط گونه های غیر کاندیدا آلیکس مثل تروپیکالکس و پاراپسیلوزیس نیز مقاومت دارویی نشان می دهند. مطالعات انجام شده، مقاومت دارویی بیوفیلم های کاندیدایی رشد یافته بر روی سلولز، پلی استیرن، الاستومر های سیلکونی، پلی اورتان و دندان مصنوعی آکرلیک را نشان می دهند (۲۴). بیوفیلم های تشکیل شده توسط کاندیدا آلیکس و کاندیدا پاراپسیلوزیس به وضوح به دو تری آزول جدید (ویکونازول و راواکونازول) مقاومت نشان می دهند، ولی به نظر می رسد که فعالیت آنتی بیوفیلمی فرمولاسیون لیپیدی آمفوتریسین B و دو اکینوکاندین (کاسپوفانژین و میکوفانژین) مشخص شده است (۲۵). تاثیر کاسپوفانجین علیه بیوفیلم کاندیدا

بیوفیلیم‌های تشکیل شده با ماتریکس نسبتاً کم نسبت به بیوفیلیم‌های تشکیل شده با ماتریکس بیشتر، مقایسه شده است و مقاومت معنی‌داری در داروهای بررسی شده، مشاهده شده است. مطالعات مختلف اشاره به این موضوع دارند که بیوفیلیم‌های تشکیل شده با ماتریکس کمتر، نسبت به بیوفیلیم‌های دست نخورده، ۲۰ درصد مقاومت دارویی کمتری به آمفوتریسین B نشان می‌دهند و این دلالت بر نقش کم ماتریکس در مقاومت دارویی می‌باشد (۱۶، ۱۷).

۲- سرعت رشد کند یا محدودیت مواد مغذی

سلول‌های بیوفیلیم، به‌ویژه در ابتدای تشکیل، به دلیل محدودیت دسترسی به مواد غذایی، رشد آهسته‌ای دارند. کاهش سرعت رشد غالباً همراه با تغییر در ترکیب سطح سلول بوده که این امر در حساسیت میکروارگانیسم به عوامل آنتی میکروبیال موثر می‌باشد. سرعت رشد یک تنظیم کننده مهم از فعالیت دارو در بیوفیلیم می‌باشد (۲۷). در یک بررسی، میزان سرعت رشد و حساسیت سلول‌های بیوفیلیم تشکیل شده توسط کاندیدا آلیکنس و سلول‌های پلانکتونی با آمفوتریسین B مقایسه گردید و نشان داده شد که بیوفیلیم کاندیدایی در تمام سطوح رشد، به آمفوتریسین B مقاومت دارویی نشان می‌دهد اما سلول‌های پلانکتونی، تنها در سرعت رشد پایین، مقاومت دارویی نشان می‌دهند. در مطالعه Baillie و همکاران نشان داده شده که تشکیل بیوفیلیم در میزان کم آهن و گلوکز محیط، در سرعت‌های پایین اتفاق افتاده و به همان اندازه مقاومت به آمفوتریسین B نشان داده شده است. تشکیل بیوفیلیم در محدوده آهن، مشابه تشکیل بیوفیلیم در بدن است چرا که آهن موجود در بدن بیشتر به صورت کمپلکس با گلیکوپروتئین‌ها بوده و در نتیجه آهن، خارج از دسترس میکروارگانیسم می‌باشد. در این

مطالعه گزارش شد که سلول‌های دختر تشکیل دهنده بیوفیلیم در شرایط محدودیت آهن، نسبت به دارو حساسیت بیشتری نشان می‌دهند (۲۹). در یک عفونت منتشره حاد که در نتیجه آزاد شدن سلول‌های یک بیوفیلیم ایمپلنت می‌باشد، پاسخ سریعی به آمفوتریسین B نشان داده می‌شود در حالی که خود بیوفیلیم، بی‌اثر خواهد ماند.

۳- بیان مقاومت ژنی القا شده سطح

هنگامی که میکروارگانیسم به یک سطح متصل می‌شود، بیوفیلیم شکل گرفته و یک فوتوتیپ را بیان می‌نماید. شناسایی ژن‌های فعال و یا سرکوب شده در تشکیل بیوفیلیم کاندیدا با سلول‌های پلانکتونی مقایسه شده است. به عنوان مثال ژن‌های پمپ‌های خروج دارو^۵ که منجر به فوتوتیپ مقاومت چند دارویی می‌گردد مورد بررسی قرار گرفته است. کاندیدا آلیکنس دارای دو نوع پمپ خروج داروی متفاوت می‌باشد که شامل منتقل کننده ABC و تسهیل کننده ماژور بوده است که به ترتیب توسط ژن‌های CDR و MDR کد می‌شوند. اخیراً نشان داده شده که ژن هر دو نوع پمپ خروج دارو در طول تشکیل بیوفیلیم توسعه می‌یابند. مشاهده شده که هرگونه موتاسیون در این دو ژن، باعث افزایش حساسیت به فلوکونازول در سلول‌های پلانکتونی در حال رشد می‌گردد ولی همچنان فوتوتیپ مقاومت در طول رشد بیوفیلیم باقی می‌ماند (۳۰، ۳۱). این نتایج نشان می‌دهند که بیوفیلیم تشکیل شده توسط کاندیدا آلیکنس مشابه بیوفیلیم‌های تشکیل شده توسط باکتری‌ها، یک روند پیچیده‌ای بوده که نمی‌توان با مکانیسم‌های ملکولی توجیه نمود.

⁵-Efflux Pumps

۴- بیوفیلیم مخلوط قارچ و باکتری

باکتری ها اغلب با گونه های کاندیدا در شرایط In Vivo تشکیل بیوفیلیم پلی میکروبیال می دهند. کاندیدا آلیکس و استافیلوکوک اپیدرمیدیس به عنوان شایع ترین عوامل عفونت باکتریای، مشاهده شده اند. بررسی ها، تعامل بین استافیلوکوکوسی و سلول های مخمری و هایفی را نشان می دهند (۳۲). در واقع سلول های قارچی و باکتری، به ترتیب قادرند که فعالیت عوامل آنتی باکتریال و ضد قارچی را علیه بیوفیلیم تحت تاثیر قرار می دهند. به عنوان مثال وجود کاندیدا آلیکس در ترکیب بیوفیلیم، باعث افزایش مقاومت استافیلوکوک به ونکومايسين می شود. همچنین مقاومت کاندیدا به فلوکونازول در حضور استافیلوکوک، افزایش می یابد. اخیرا یک برهم کنش آنتاگونیستی بین کاندیدا آلیکس و پسودوموناس آئروژینوزا توضیح داده شده است (۳۳). در این ارتباط سودوموناس قادر است که بعد از تشکیل بیوفیلیم، به فرم رشته ای کاندیدا متصل شود و در نتیجه باعث مرگ هایفی قارچ شود ولی قادر به اتصال به فرم مخمری کاندیدا و مرگ آن نمی باشد. بررسی ها نشان می دهند که فاکتورهای ویروالانس متفاوت از جمله پیلی و ملکول های ترشحی مثل فسفولیپاز C در مرگ فرم هایفی قارچ نقش دارند (۳۴).

راهکارهای جدید مهار بیوفیلیم

با افزایش استفاده از دستگاه ها و ابزار پزشکی در دهه های گذشته، عفونت های مقاوم مرتبط با این ابزار پزشکی نیز ظهور پیدا کرده است که بیوفیلیم ها در مرکز این عفونت ها قرار دارند. از آنجا که بیوفیلیم ها بصورت تجمعات چند سلولی بر روی سطوح ظاهر می شوند و به این ترتیب از سیستم دفاعی میزبان و همچنین فعالیت آنتی بیوتیکی ایمن می مانند، تنها راه مطمئن برای

برطرف سازی عفونت های حاصل از بیوفیلیم ها، جداسازی دستگاه های آلوده از بیمار می باشد. راه های مهار بیوفیلیم ها شامل موارد جلوگیری از اتصال میکروبی، جلوگیری از رشد میکروبی، اختلال در ارتباط سلول به سلول و از هم پاشیدگی ماتریکس بیوفیلیم می باشد (۳۷).

مطالعات زیادی برای پی بردن به اتصال ارگانسیم در شرایط فیزیکی و شیمیایی با مدل سازی سلول های میکروبی با استناد به واکنش های الکترواستاتیک و هیدروفوبیک صورت گرفته است ولی این بررسی ها نتایج کمی را در برداشته است که یک دلیل آن می تواند در ارتباط با این موضوع باشد که اتصال میکروبی یک فرآیند زیستی فعال و نه یک تداخل شیمیایی منفعل است. دلیل دیگر این که اتصال معمولاً بواسطه زوائد پروتئین دار نظیر پیلی، فلاژل و فیبریا برقرار می شود نه توسط خواص شیمیایی ذرات سلولی. Singh و همکاران گزارش دادند که میکروارگانسیم سودوموناس آئروژینوزا تحت شرایط کمبود آهن هرگز حرکت کششی را متوقف نکرده و ساختار های بیوفیلیمی تشکیل می دهد. مواد طبیعی که باعث درهم آمیختگی عامل شلاته کننده آهن می شود، می تواند باعث کاهش تولید بیوفیلیم در این میکروارگانسیم ها شود (۳۸) که این حالت در ارتباط با قارچ کاندیدا نیز می تواند صدق کند. با توجه به تحقیقات صورت گرفته، مشخص شده است که دارو های اینوتروپیک رشد بیوفیلیم را بواسطه تسهیل انتقال آهن به ارگانسیم تحریک می کنند، در نتیجه مواد بیولوژیک مهارکننده آهن به عنوان عوامل ضد عفونت مورد استفاده قرار می گیرند. همچنین مشخص شد که برخی داروها نظیر نوراپی نفرین باعث تحریک رشد و تشکیل بیوفیلیم می شود. این یافته ها به دلیل اینکه راه های مهار تشکیل بیوفیلیم بواسطه محدود کردن سوبستراهای در دسترس مورد نیاز برای رشد میکروارگانسیم را مشخص می کند، در تشکیل بیوفیلیم کمک خواهد کرد (۳۹). یک راه دیگر برای تشکیل

آنتی‌بیوتیک‌ها در غیرفعال کردن بیوفیلم بواسطه کاهش ساخت پلی‌ساکاریدهای ماتریکس باشد. استیل‌اسیون پلی‌ساکاریدها می‌تواند بطور چشمگیری باعث تغییر ویژگی‌های فیزیکی آن شود در نتیجه سوبه‌های باکتریایی جهش یافته که قادر به تغییر اسکلت پلیمری با استیل‌اسیون نمی‌باشند، در تشکیل بیوفیلم دچار نقص می‌شوند (۴۳). جهت مهار بیوفیلم یک راهکار منفرد در طول زمان ناامیدکننده می‌باشد و بهتر است که برای رفع این مشکل راهکارهای دیگری نظیر جلوگیری از اتصال، ممانعت از رشد، اختلال در ارتباط و از هم پاشیدگی ماتریکس بیوفیلم نیز مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه گیری

امروزه استفاده از کاتترهای وریدی یا ادراری، دریچه‌های پروستتیک، مفاصل مصنوعی و پروتزها و سایر ایمپلنت‌های پزشکی مرسوم شده است. میکروارگانیزم‌های مختلف که توانایی تشکیل بیوفیلم را دارند می‌توانند روی این مواد چسبیده و با کلونیزاسیون و ایجاد عفونت مشکلات خاصی را ایجاد کنند. تحقیقات بر روی بیوفیلم‌های قارچی نسبت به باکتریایی کمتر صورت گرفته است. یافته نشان می‌دهد وقوع کاندیدایازیس با ایجاد بیوفیلم مرتبط است و سلول‌ها در هنگام ایجاد بیوفیلم نسبت به سلول‌هایی که در شرایط طبیعی در آزمایشگاه زندگی آزاد دارند خصوصیات کاملاً متفاوتی را نشان می‌دهند. تحقیقات متعدد بیانگر این موضوع است که تشکیل بیوفیلم باعث کاهش حساسیت نسبت به داروهای ضد قارچی می‌شود و بیوفیلم کاندیدایی نسبت به اکثر عوامل ضد قارچی جزء اکنیوکاندین‌ها و فرمولاسیون لیبیدی آمفوتریسین B مقاومت نشان می‌دهد. بیان پمپ‌های انتشاری دارو در طول فاز اولیه تشکیل بیوفیلم و تغییرات در ترکیبات استرولی غشاء موجب مقاومت بیوفیلم‌ها علیه آزول‌ها می‌شود. به نظر نمی‌رسد که غیرفعال بودن متابولیک و ماتریکس پلیمرهای خارج سلولی در مقاومت نقشی

بیوفیلم‌ها ارتباط سلول به سلول و یا کروم سنسینگ^۶ می‌باشد. مولکول‌های سیگنالی نفوذی که توسط اجتماعات باکتریایی تولید می‌شود، زمانی که اکثریت سلول‌ها حضور دارند، فاکتورهای بیماری‌زایی نظیر بیوفیلم‌ها را می‌کنند. سیستم کروم سنسینگ یک مثال از رفتار چندسلولی در دنیای تک سلولی ارگانیزم‌ها می‌باشد. در این پدیده ارگانیزم ملکول‌های شیمیایی تولید می‌کند که اغلب قابل انتشار بوده و وزن ملکولی کمی دارند که پس از خروج از سلول باکتری در اطراف آن تجمع می‌یابند به این ملکول‌های پیام رسان یا خودالقاءگر گفته می‌شود. این یافته‌ها اثبات می‌کند که با تداخل در این فرآیندهای سیگنالینگ می‌توان از تشکیل بیوفیلم ممانعت بعمل آورد (۴۰). از آنجایی که ماهیت سیستم ارتباط سلول به سلول یا کروم سنسینگ در قارچ‌ها در تشکیل بیوفیلم ناشی از قارچ‌ها نقش مهمی ایفا می‌نماید، نیاز به بررسی‌های بیشتر جهت درک بهتر از این سیستم احساس می‌شود.

مطالعات اخیر نشان می‌دهد که بسیاری از باکتری‌ها برای هماهنگ کردن رفتارهای گروهی از ملکول‌های پیام‌رسان استفاده می‌کنند. هنگامی که غلظت این ملکول‌ها در خارج از باکتری به بیش از مقدار آستانه برسد مسیرهای سیگنالی فعال می‌شوند و باکتری بوسیله تغییر دادن بیان ژن‌ها و تعدیل فرآیندهای فیزیولوژیکی در یک حالت دسته‌جمعی به این پیام‌ها پاسخ می‌دهند (۴۱). یکی دیگر از روش‌های جایگزین برای کنترل بیوفیلم، مورد هدف قرار دادن ماتریکس بیوفیلم به جای خود سلول‌ها می‌باشد. انحلال پلیمرهای ماتریکس و یا بلوکه کردن ساخت آنها، می‌تواند منجر به عدم چسبندگی در بیوفیلم شود. بطور مثال آنتی‌بیوتیک‌های ماکرولیدی حتی اگر بطور ضعیف باکتربوسیدال باشند، دارای اثرات درمانی علیه برخی از عفونت‌های ریه می‌باشند (۴۲). یکی از دلایل این موضوع می‌تواند مربوط به توانایی این

^۶ - Quorum Sensing

شبهات زیادی را به مکانیسم های موجود در بیوفیلرها نشان می دهد. سیگنال های درون سلولی در بیوفیلرهای ترکیبی از گونه های قارچی و باکتریایی، بسیار پیچیده بوده و بنابراین با درک بهتر این مکانیسم ها، قادر به شناسایی عوامل بیماری زا و مقاومت های دارویی خواهیم بود.

داشته باشند با این حال در بیوفیلرهای متشکل از گونه های مختلف، ماتریکس پلیمرهای خارج سلولی مانع نفوذ دارو در سراسر بیوفیلر می شود. این مکانیسم های چندگانه مقاومت در بیوفیلرهای قارچی طیف گسترده ای از دفاع را تشکیل می دهد که نسبت به تیپ های زیادی از عوامل ضد قارچی موثر می باشند و

References

1. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol*. 1995; 49:711-45.
2. O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Annual Reviews in Microbiology*. 2000; 54(1):49-79.
3. Donlan RM. Biofilms and device-associated infections. *Emerging infectious diseases*. 2001; 7(2):277.
4. Khodavaissy S, Nabili M, Davari B, Vahedi M. Evaluation of bacterial and fungal contamination in the health care workers' hands and rings in the intensive care unit. *Journal of preventive medicine and hygiene*. 2011; 52(4):215-218.
5. Solimani P, Salari S, khalizadeh S, Hassanzad M, Khodavaissy S, Abastabar M, et al. Use of PCR-RFLP and PCR-HWP1 for identification of *Candida* species isolated from cystic fibrosis patients. *Res Mol Med*. 2014; 2 (3):23-27
6. Fesharaki SH, Haghani I, Mousavi B, Kargar ML, Boroumand M, Anvari MS, Abbasi K, Meis JF, Badali H. Endocarditis due to a co-infection of *Candida albicans* and *Candida tropicalis* in a drug abuser. *J Med Microbiol*. 2013; 62(11):1763-1767.
7. Crump J, Collignon P. Intravascular catheter-associated infections. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2000; 19(1):1-8.
8. Goldmann D, Pier G. Pathogenesis of infections related to intravascular catheterization. *Clinical microbiology reviews*. 1993; 6(2):176-192.
9. Dickinson GM, Bisno AL. Infections associated with indwelling devices: concepts of pathogenesis; infections associated with intravascular devices. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1989; 33(5):597.
10. Khodavaissy S, Alialy M, Mahdavi Omran S, Habibi MR, Amri P, Monadi M, et al. The Study on Fungal Colonization of Respiratory Tract in Patients Admitted to Intensive Care Units of Sari and Babol hospitals. *Journal of Mashad University of Medical Sciences* 2011; 54: 177 - 184.
11. Van der Mei H, Free R, Elving G, Van Weissenbruch R, Albers F, Busscher H. Effect of probiotic bacteria on prevalence of yeasts in oropharyngeal biofilms on silicone rubber voice prostheses in vitro. *Journal of medical microbiology*. 2000; 49(8):713-718.
12. Baillie GS, Douglas LJ. *Candida* biofilms and their susceptibility to antifungal agents. *Methods in enzymology*. 1999; 310:644-56.
13. Hawser SP, Douglas LJ. Biofilm formation by *Candida* species on the surface of catheter materials in vitro. *Infection and immunity*. 1994; 62(3):915-21.
14. Hawser SP, Douglas LJ. Resistance of *Candida albicans* biofilms to antifungal agents in vitro. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1995; 39(9):2128-31.
15. Ramage G, Walle KV, Wickes BL, López-Ribot JL. Standardized method for in vitro antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2001; 45(9):2475-9.
16. Baillie GS, Douglas LJ. Role of dimorphism in the development of *Candida albicans* biofilms. *Journal of Medical Microbiology*. 1999; 48(7):671-9.

17. Baillie GS, Douglas LJ. Effect of Growth Rate on Resistance of *Candida albicans* Biofilms to Antifungal Agents. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1998; 42(8):1900-5.
18. Shin JH, Kee SJ, Shin MG, Kim SH, Shin DH, Lee SK, et al. Biofilm production by isolates of *Candida* species recovered from nonneutropenic patients: comparison of bloodstream isolates with isolates from other sources. *Journal of clinical microbiology*. 2002; 40(4):1244-8.
19. Ramage G, Vande Walle K, Lopez Ribot JL, Wickes BL. The filamentation pathway controlled by the Efg1 regulator protein is required for normal biofilm formation and development in *Candida albicans*. *FEMS microbiology letters*. 2002; 214(1):95-100.
20. Ramage G, Vande Walle K, Wickes BL, López-Ribot JL. Biofilm formation by *Candida dubliniensis*. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39: 3234-3240
21. Ramage G, Walle KV, Wickes BL, Lopez-Ribot JL. Characteristics of biofilm formation by *Candida albicans*. *Revista iberoamericana de micología*. 2001; 18(4):163-170.
22. handra J, Kuhn DM, Mukherjee PK, Hoyer LL, McCormick T, Ghannoum MA. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *Journal of bacteriology*. 2001; 183(18):5385-5394.
23. Lewis RE, Kontoyiannis DP, Darouiche RO, Raad II, Prince RA. Antifungal activity of amphotericin B, fluconazole, and voriconazole in an in vitro model of *Candida* catheter-related bloodstream infection. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2002; 46(11):3499-505.
24. Kuhn D, George T, Chandra J, Mukherjee P, Ghannoum M. Antifungal susceptibility of *Candida* biofilms: unique efficacy of amphotericin B lipid formulations and echinocandins. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2002; 46(6):1773-1780.
25. Bachmann SP, VandeWalle K, Ramage G, Patterson TF, Wickes BL, Graybill JR, et al. In vitro activity of caspofungin against *Candida albicans* biofilms. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2002; 46(11):3591-3596.
26. Baillie GS, Douglas LJ. Matrix polymers of *Candida* biofilms and their possible role in biofilm resistance to antifungal agents. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2000; 46(3):397-403.
27. Mah T-FC, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends in microbiology*. 2001; 9(1):34-39.
28. Lewis K. Riddle of biofilm resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2001; 45(4):999-1007.
29. Baillie GS, Douglas LJ. Iron-limited biofilms of *Candida albicans* and their susceptibility to amphotericin B. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1998; 42(8):2146-9.
30. Maira Litran T, Allison D, Gilbert P. Expression of the multiple antibiotic resistance operon (*mar*) during growth of *Escherichia coli* as a biofilm. *Journal of applied microbiology*. 2000; 88(2):243-7.
31. Brooun A, Liu S, Lewis K. A dose-response study of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2000; 44(3):640-646.
32. Adam B, Baillie GS, Douglas LJ. Mixed species biofilms of *Candida albicans* and *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of medical microbiology*. 2002; 51(4):344-349.
33. Skillman L, Sutherland I, Jones M. The role of exopolysaccharides in dual species biofilm development. *Journal of applied microbiology*. 1998; 85(S1):13-18.
34. Hogan DA, Kolter R. *Pseudomonas-Candida* interactions: an ecological role for virulence factors. *Science*. 2002; 296(5576):2229-2232.
35. Chandra J, Kuhn DM, Mukherjee PK, Hoyer LL, McCormick T, Ghannoum MA. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *Journal of bacteriology*. 2001; 183(18):5385-5394.
36. Kuhn D, George T, Chandra J, Mukherjee P, Ghannoum M. Antifungal susceptibility of *Candida* biofilms: unique efficacy of amphotericin B lipid formulations and echinocandins. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2002; 46(11):3591-3596.

- and chemotherapy. 2002; 46(6):1773-1780.
37. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin Microbiol Rev. 2002; 15: 167-93.
38. Singh PK, Parsek MR, Greenberg EP, Welsh MJ. A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development. Nature. 2002; 417: 552-55.
39. Davies DG, Parsek MR, Pearson JP, Iglewski BH, Costerton JW, Greenberg EP. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. Science. 1998; 280: 295-298.
40. Hentzer M, Riedel K, Rasmussen TB, Heydorn A, Andersen JB, Parsek MR, et al. Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria by a halogenated furanone compound. Microbiology. 2002; 148(1):87-102.
41. Kerksiek K. A life in slime biofilms rules the world. Infectionresearch news and perspectives. 2008; 9: 1571-1578.
42. Perumal P, Mekala S, Chaffin WLJ. Role for cell density in antifungal drug resistance in *Candida albicans* biofilms. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2007; 51(7):2454-2463.
43. Nivens DE, Ohman DE, Williams J, Franklin MJ. Role of alginate and its O acetylation in formation of *Pseudomonas aeruginosa* microcolonies and biofilms. J Bacteriol 2001; 183: 1047-57.

سوالات

۱- شایعترین عامل جدا شده از بیوفیلم‌های کاندیدای کدام گونه است؟

الف) تروپیکالیس

ب) گلابراتا

ج) الیکنس

د) پاراپسیلوزیس

۲- کدام گزینه برای مهار و پیشگیری از بیوفیلم مناسب نیست؟

الف) راهکار منفرد در طول زمان

ب) جلوگیری از اتصال

ج) ممانعت از رشد عامل

د) اختلال در ارتباط و از هم‌پاشیدگی ماتریکس بیوفیلم

۳- اتصال میکروبی در بیوفیلم معمولاً بواسطه کدام مورد صورت نمی‌گیرد؟

الف) زوائد پروتئین دار

ب) فلاژل

ج) فیبریا

د) خواص شیمیایی ذرات سلولی

۴- ساده ترین و اولین روش کمی جهت بررسی رشد جمعیت میکروارگانیسم بر روی سطوح کدام گزینه است؟

الف) کلورومتریک

ب) نوارهای آکرلیک

ج) تشکیل بیوفیلم روی سیلیکونی الاستومری

د) هیچکدام

۵- رشد بیوفیلم ناشی از کدام گونه کاندیدا از همه بیشتر است؟

الف) کاندیدا آلیکنس

ب) کاندیدا کلابراتا

ج) کاندیدا پاراپسیلوزیس

د) کاندیدا سودوتروپیکا

۶- در بررسی میکروسکوپ الکترونی، بیوفیلم کامل بر روی کاتتر بعد از چه مدتی تشکیل می‌شود؟

الف) ۱ ساعت

ب) ۳-۶ ساعت

ج) یک روز

د) دو روز

۷- مسیر پیام رسانی کدام ژن در گسترش و پیشرفت بیوفیلیم نقش مهمی دارد؟

الف) Hwp1

ب) Cph11p

ج) ITS

د) EFg1

۸- بیوفیلیم های تشکیل شده توسط کاندیدا آلبیکنس با کدام گونه دیگر دارای ساختار سه بعدی مشابه ای می باشد؟

الف) کاندیدا پاراپسیلوزیس

ب) کاندیدا دابلینسیس

ج) کاندیدا گلابراتا

د) کاندیدا تروپیکاليس

۹- کدامیک بیشترین ماده تشکیل دهنده ماتریکس بیوفیلیم می باشد؟

الف) پروتئین

ب) اسید نوکلئیک

ج) آب

د) کربوهیدرات

۱۰- کدام دارو ضد قارچی با مهار سنتز B ۱ و ۳ گلوکان دیوار سلولی کاندیدا، برای درمان بیوفیلیم کاندیدایی موثر

می باشد؟

الف) آمفوتریسین B

ب) فلوستیزین

ج) ایتراکونازول

د) کاسپوفانجین