

**Review**

***Candida biofilms and their less susceptibility to antifungal drugs***

Sadegh Khodavaissy<sup>1</sup>, Faezeh Mohammadi<sup>2</sup>, ShirinSadat Hashemi Fesharaki<sup>3</sup>, Shahla Samieeifard<sup>4</sup>, Peyman Solimani<sup>5</sup>, Hamid Badali<sup>2\*</sup>

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<sup>۱</sup>، فائزه محمدی<sup>۲</sup>، شیرین السادات هاشمی فشارکی<sup>۳</sup>، شهلا سمعی فرد<sup>۴</sup>، پیمان سلیمانی<sup>۵</sup>، حمید بدلی<sup>۶\*</sup>

### 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 ارگانیزم ها بر روی سطوح مختلف خصوصا 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 غالبا لزج جا دارند و مشخصا 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 (۳،۴).

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، میکروارگانیزم ها نسبت به سلول های Free-Floathing یا پلانکتونی بیشتر به صورت تشکیل بیوفیلیم می باشند. میکروارگانیزم 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 میکروبی شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران

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

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

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۳/۱۰/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۱۶

Email: badalii@yahoo.com.

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

به نظر می‌رسد که عفونت‌های سطوح اپیتلیال نیز می‌تواند در برگزیده بیوفیلم‌های کاندیدایی باشند. در واژینیت‌های کاندیدایی، برخی از سلول‌های قارچی قادرند که با گونه‌های باکتریال فلور واژینال تشکیل بیوفیلم دهند که نادیده گرفتن آنها می‌تواند منجر به مقاومت در برابر درمان‌های ضد قارچی و نیز عود مکرر عفونت‌های کاندیدایی می‌شود.

بیوفیلم‌های باکتریایی و نقش آنها در بیماری، در سال‌های اخیر بطور وسیعی مطالعه شده‌اند ولی یافته‌های کمی از بیوفیلم‌های قارچی موجود است. این مقاله مروری بر نقش کاندیدا در تشکیل بیوفیلم و مکانیسم‌های مقاومت دارویی آن دارد.

### سیستم‌های مدل بیوفیلم

سیستم‌های متنوعی به منظور شناسایی ویژگی‌های کلی بیوفیلم‌های کاندیدا استفاده شده‌اند که تقریباً تمامی این روش‌ها مشابه با روش‌های پیشین برای باکتری‌ها می‌باشد.

ساده‌ترین و اولین روش کمی جهت بررسی رشد جمعیت میکروارگانیسم بر روی سطوح از جمله کاتترها، روش کلورومتریک یا رنگ‌سنجی می‌باشد که بسته به استفاده از نمک تترازولیوم احیاء شده و یا لوسین وزن خشک بیوفیلم بررسی می‌گردد (۱۴-۱۲). یک روش مدلی مشابه نیز برای تشکیل بیوفیلم بر روی نوارهای آکرلیک دندان مصنوعی نیز استفاده شده است (۱۵). تمامی این روش‌ها قادر به اندازه‌گیری تشکیل بیوفیلم در شرایط ساکن انکوباسیون هستند. در شرایط *In vivo*

کاندیدا، پاتوژن فرصت‌طلبی است که قادر به ایجاد بیماری در افراد دارای نقص ایمنی و یا تضعیف شده می‌باشد. گونه‌های کاندیدا از عوامل اصلی عفونت‌های اکتسابی بیمارستانی هستند (۵). اهمیت آنها به عنوان پاتوژن‌های بیمارستانی در ارتباط با فاکتورهای ناشی از روش‌های مدرن پزشکی به‌ویژه مصرف داروهای سیتوتوکسیک و سرکوب‌کننده ایمنی، آنتی‌بیوتیک‌های قوی و انواع مختلف قطعات ایمپلنت می‌باشد.

براساس مطالعات انجام شده، کاندیدا چهارمین عامل متداول عفونت‌های بیمارستانی شناخته می‌شود (۶). بر روی سطوح کاترها و سوندهای اینترواسکولاری و اداری و نیز سایر ایمپلنت‌ها مانند؛ دریچه‌های پروستاتیک قلبی، بیوفیلم ناشی از کاندیدا، قابل تشخیص است (۷). همچنین مایع تزریقی از طریق سوند می‌تواند آلوده شود اما غالباً ارگانیسم‌ها از پوست بیمار و یا دست‌های کارکنان انتقال می‌یابد (۸، ۹).

در صورت کلونیزه کاندیدا در دستگاه گوارش، قادر به نفوذ به مخاط روده و تهاجم به بافت‌های اطراف و نهایتاً انتشار به سایر ارگان‌ها از طریق جریان خون خواهد بود. عفونت‌های سطحی کاندیدا ناشی از ایمپلنت‌ها، خطر کمتری دارند اما بطور متناوب با آن مواجه شده و می‌تواند رنج آور باشد. از جمله این موارد می‌توان 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 باکتری‌ها به‌ویژه استرپتوکوک و مخمر کاندیدا اشاره کرد (۱۰).

از دیگر بیوفیلم‌های تشکیل شده می‌توان به پروتزهای سیلکونی که در بیماران دچار ناراحتی حنجره استفاده می‌شود اشاره نمود. این پروتزها مستعد به تشکیل بیوفیلم‌های پلی میکروبی شامل کاندیدا بوده و به همین دلیل در طی چند ماه از بین می‌روند (۱۱).

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

### فرا ساختار<sup>۳</sup> بیوفیلیم

از ویژگی های مهم بیوفیلیم های کاندیدایی 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، بیوفیلیم کامل بر روی کاتتر 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 کاتترها 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 بیوفیلیم نقش پیچیده ای دارد. نقش مورفوژنز در ساختار بیوفیلیم ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی بررسی شده است (۱۹). بیوفیلیم 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 بیوفیلیم های تشکیل شده توسط گونه های وحشی کاندیدا آلیکنس، از دو لایه نازک و

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

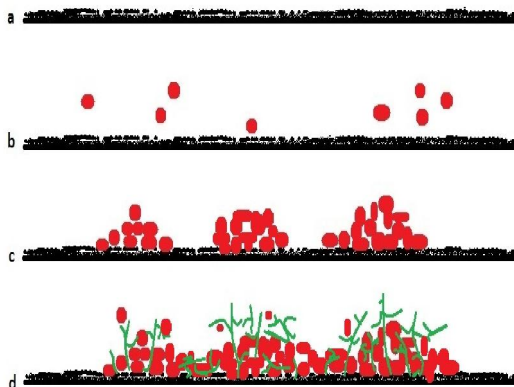
فاکتورهای مختلفی بر روی تشکیل بیوفیلیم در شرایط In Vitro از جمله نوع گونه کاندیدا، نوع ماده سطح، جریان مایع و وجود باکتری موثر می باشند. در واقع ارتباط بین توانایی تشکیل بیوفیلیم و پاتوژنیسیته بر روی سطح کاتترها توسط گونه های مختلف کاندیدا مورد بررسی قرار گرفته و مشاهده شده که رشد بیوفیلیم ناشی از گونه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

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

<sup>۱</sup> - PVC

<sup>۲</sup> - Polyurethane

<sup>۳</sup> - Ultrastructure



شکل شماره ۱: مراحل تشکیل بیوفیلم کاندیدا آلیکنس بر روی سطح کاتتر از جنس PVC.

(a) در مرحله اول، پروتئین های میزبان جذب سطح کاتتر 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 ای را احاطه می نمایند.

### مقاومت دارویی بیوفیلما

بیوفیلماهای 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 بیوفیلما باعث شده که ۱۰-۱۰۰۰ برابر در مقابل آنتی بیوتیک ها نسبت به سلول های پلانکتونیک، مقاومت نشان دهند. مقاومت بیوفیلما کاندیدایی به عوامل ضدقارچی اولین بار در سال ۱۹۹۶ ثابت شد. عوامل ضدقارچی مانند؛ آمفوتریسین B، فلوکونازول، فلوستیزون، ایتراکونازول و کتوکونازول آزمایش شده اند (۲۵-۲۳). در جدول شماره ۱ وضعیت حساسیت به داروهای ضد قارچی ایزوله های کاندیدایی رشد یافته به شکل بیوفیلما بر روی بسترهای مختلف نشان داده شده است.  
 همه این عوامل فعالیت کمتری علیه بیوفیلماهای ناشی از کاندیدا آلیکنس 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 بیوفیلما بوده و نشان داده شده که اگر چه دی مورفیسیم بودن قارچ شرط لازم برای تشکیل بیوفیلما نمی باشد ولی ممکن است برای گسترش ساختارهای فضایی ضروری باشد. بیوفیلماهای 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<sup>۴</sup> نشان می دهند که بیوفیلماهای تشکیل شده توسط کاندیدا آلیکنس 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 آلیکنس را زمان رشد بیوفیلما بر روی سطوح پلاستیکی نشان می دهد (۲۲-۲۰). بیوفیلما 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 بیوفیلما را آب تشکیل می دهد. در مقایسه ماتریکس کاندیدا آلیکنس و اجزای آن با ارگانیسیم 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 بیوفیلما پیشنهاد شده است (شکل شماره ۱).

<sup>4</sup>- 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 بیوفیلیم 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 بیوفیلیم 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 بیوفیلیم 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 بیوفیلیم رشد می کنند، حساسیت کمتری دارند. مکانیسم های احتمالی شامل نفوذ محدود دارو به داخل ماتریکس بیوفیلیم، 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 بیوفیلیم

برای مدت طولانی فرض بر این بود که مواد پلیمری خارج سلولی سلولی ماتریکس، دسترسی دارو به ارگانیزم ها را محدود می نماید. بسیاری از مطالعات بر روی بیوفیلیم 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 بیوفیلیم تشکیل شده توسط کاندیدا آلیکس به عوامل ضد قارچی، حساسیت

داروی ضد قارچ	ارگانیزم	بستر	MIC بیوفیلیم	MIC پلانکتونی
آمفوتریسین B	کاندیدا آلیکس	دندان مصنوعی	۸	۰/۲۵
	کاندیدا آلیکس	کانتور	۴	۰/۵
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کانتور	۸	۰/۲۵
فلوکنازول	کاندیدا آلیکس	دندان مصنوعی	>۶۴	۰/۲۵
	کاندیدا آلیکس	کانتور	>۲۵۶	۱
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کانتور	>۲۵۶	۸
ویکونازول	کاندیدا آلیکس	کانتور	>۲۵۶	۰/۵
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کانتور	۱۲۸	۰/۱۲۵
راواکونازول	کاندیدا آلیکس	کانتور	۱۲۸	۰/۱
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کانتور	مشخص نیست	۰/۱۲۵
NYT	کاندیدا آلیکس	دندان مصنوعی	۱۶	۱
	کاندیدا آلیکس	کانتور	۱۶	۲
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کانتور	۱۶	۰/۵
کاسپوفانژین	کاندیدا آلیکس	کانتور	۰/۲۵	۰/۱۲۵
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کانتور	۰/۱۲۵	۱
میکوفانژین	کاندیدا آلیکس	کانتور	۰/۳۵	۰/۰۰۱
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کانتور	۰/۱۲۵	۰/۲۵
لیپوزول آملوتریسین B	کاندیدا آلیکس	کانتور	۰/۲۵	۰/۵
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کانتور	۱	۰/۰۶
تریپتین	کاندیدا آلیکس	کانتور	۱۲۸	۳۲
	کاندیدا پاراپسیلوزیس	کانتور	مشخص نیست	۴

غلظت های دارویی مورد نیاز برای کاهش ۵۰ درصد فعالیت متابولیکی این بیوفیلیم 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 بیوفیلیم در غلظتی با MIC برابر ۱۱ از آمفوتریسین B، دست نخورده باقی مانده است. بیوفیلیم های تشکیل شده توسط گونه های غیر کاندیدا آلیکس مثل تروپیکالکس و پاراپسیلوزیس نیز مقاومت دارویی نشان می دهند. مطالعات انجام شده، مقاومت دارویی بیوفیلیم های کاندیدایی رشد یافته بر روی سلولز، پلی استیرن، الاستومرهای سیلکونی، پلی اورتان و دندان مصنوعی آکرلیک را نشان می دهند (۲۴). بیوفیلیم 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 بیوفیلیمی فرمولاسیون لیپیدی آمفوتریسین B و دو اکینوکاندین (کاسپوفانژین و مایکوفانژین) مشخص شده است (۲۵). تاثیر کاسپوفانجین علیه بیوفیلیم کاندیدا

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

### ۳- بیان مقاومت ژنی القا شده سطح

هنگامی که میکروارگانیسم به یک سطح متصل می‌شود، بیوفیلم شکل گرفته و یک فتوتیپ را بیان می‌نماید. شناسایی ژن‌های فعال و یا سرکوب شده در تشکیل بیوفیلم کاندیدا با سلول‌های پلانکتونی مقایسه شده است. به عنوان مثال ژن‌های پمپ‌های خروج دارو<sup>۵</sup> که منجر به فتوتیپ 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 بیوفیلم 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 فتوتیپ مقاومت در طول رشد بیوفیلم باقی می‌ماند (۳۰، ۳۱). این نتایج نشان می‌دهند که بیوفیلم تشکیل شده توسط کاندیدا آلیکنس مشابه بیوفیلم‌های تشکیل شده توسط باکتری‌ها، یک روند پیچیده‌ای بوده که نمی‌توان با مکانیسم‌های ملکولی توجیه نمود.

بیوفیلم‌های تشکیل شده با ماتریکس نسبتاً کم نسبت به بیوفیلم‌های 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 بیوفیلم‌های تشکیل شده با ماتریکس کمتر، نسبت به بیوفیلم‌های 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 بیوفیلم، 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 بیوفیلم می‌باشد (۲۷). در یک بررسی، میزان سرعت رشد و حساسیت سلول‌های بیوفیلم تشکیل شده توسط کاندیدا آلیکنس و سلول‌های پلانکتونی با آمفوتریسین B مقایسه گردید و نشان داده شد که بیوفیلم 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 بیوفیلم 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 بیوفیلم در محدوده آهن، مشابه تشکیل بیوفیلم 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

<sup>5</sup>-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 آلیکنس 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 ضدقارچی را علیه بیوفیلیم تحت تاثیر قرار می دهند. به عنوان مثال وجود کاندیدا آلیکنس 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 آلیکنس 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 ترشحي 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 معمولا 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 کشتی 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، درپچه‌های پروستتیک، مفصل 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 کاندیدیا‌زیس 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 اکتینوکاندین‌ها 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<sup>۶</sup> می‌باشد. مولکول‌های سیگنالی نفوذی که توسط اجتماعات باکتریایی تولید می‌شود، زمانیکه 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 خودالقاه‌گر 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

<sup>6</sup> - Quorum Sensing

شبهات زیادی را به مکانیسم های موجود در بیوفیلیم ها نشان می دهد. سیگنال های درون سلولی در بیوفیلیم های 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 بیوفیلیم های متشکل از گونه های مختلف، ماتریکس پلیمرهای خارج سلولی مانع نفوذ دارو در سراسر بیوفیلیم می شود. این مکانیسم های چندگانه مقاومت در بیوفیلیم های 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. Khodavaisy 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, Khodavaisy 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. Khodavaisy 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) تروپیکالینس

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 معمولا 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 میکروارگانیزم 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 بیوفیلم نقش مهمی دارد؟

الف) Hwp1

ب) Cph1p

ج) ITS

د) EFG1

۸- بیوفیلم های تشکیل شده توسط کاندیدا آلبیکنس با کدام گونه دیگر دارای ساختار سه بعدی مشابهی می باشد؟

الف) کاندیدا پاراپسیلوزیس

ب) کاندیدا دابلینسیس

ج) کاندیدا گلابراتا

د) کاندیدا تروپیکالیس

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

الف) پروتئین

ب) اسید نوکلئیک

ج) آب

د) کربوهیدرات

۱۰) کدام دارو ضد قارچی با مهار سنتز B<sub>1</sub> و ۳ گلوکان دیوار سلولی کاندیدا، برای درمان بیوفیلم کاندیدایی موثر می باشد؟

الف) آمفوتریسین B

ب) فلوستیوزین

ج) ایتراکونازول

د) کاسپوفانجین