توانایی تولید بیوفیلم در باکتری های جدا شده از سوند های ادراری

گله باغ رحمانی[۱]، پریسا محمدی[۲*]، احیا عبدی عالی[۳]

۱.دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشگاه الزهرا
۲.میکروب شناس، استادیار دانشگاه الزهرا
۳.میکروب شناس، دانشیار دانشگاه الزهرا

* **نشانی برای مکاتبه:** تهران، میدان ونک، ده ونک، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه الزهرا (س)تلفن : ۸-۸۸۰۴۴۰۵۱–۰۹۸۲۱، نمابر ۰۹۸۲۱-۸۸۰۵۸۹۱۲ ، p.mohammadi@alzahra.ac.ir

دریافت مقاله: آبان نود پذیرش برای چاپ: دی نود

چکیده

سابقه و هدف: *امروزه سوندهای ادراری یکی از وسایل پزشکی مهم و پرکاربرد در بخش های مختلف بیمارستانی است که عوارض ناشی از استعمال طولانی مدت سوندها خطرات جدی را به دنبال خواهد داشت. لذا این مطالعه به منظور شناسایی باکتری های پاتوژن موجود بر سطح سوند و بررسی توانایی آن ها در تشکیل بیوفیلم انجام گرفت.*

روش کار: *در این بررسی ۵۰ نمونه سوند ادراری از بیماران مختلف بستری در بخش ICU بیمارستان خانواده ارتش بررسی گردید. باکتری های جدا شده با استفاده از تست های بیوشیمیایی شناسایی و توانایی تشکیل بیوفیلم آن ها با روش پلیتمیکروتیتر و کریستال ویوله سنجش شد.*

یافته ها: *در این مطالعه درصدهای متفاوتی از باکتری های مختلف بدست آمد که شامل باکتری های گرم منفی۱۹/۴۴٪ Escherichia spp، ۱۲/۹۶٪ Acinetobacterspp، ۶/۴۸٪ Pseudomonas spp، ۴/۶۲٪Klebsiellaspp، ۱/۸۵٪ Entrobacterspp و باکتری های گرم مثبت با فراوانی ۱۹/۴۴٪ Entrococcusspp و۱۰/۱۸٪Staphylococcusspp بود. همچنین ۲۵٪ مخمر نیز جدا شد. بررسی ها نشان داد که حدود ۸۴٪ باکتریها قادر به تشکیل بیوفیلم هستند که قوی ترین بیوفیلم ها متعلق به گونه های Acinetobacterspp و Pseudomonasspp بود.*

نتیجه گیری: *باکتری های گرم منفی بیوفیلم بیشتر و قوی تری تشکیل دادند که احتمالا به ویژگی های خاص ساختمان خارجی این باکتری ها مربوط است.*

واژگان کلیدی: ***بیوفیلم، کاتتر ادراری، عفونت های ادراری***

مقدمه

سوندهای ادراری لوله های باریک، منعطف و توخالی هستند که امروزه به عنوان یکی از وسایل پزشکی مهم و پرکاربرد در بخش های مختلف بیمارستانی مورد استفاده قرار می گیرند و از آن ها برای تخلیه ادرار بیمارانی که تحت جراحی های باز شکمی از جمله هیسترکتومی آبدومینال، سزارین، پروستاتکتومی قرار گرفته اند و یا برای کنترل ادرار افراد مبتلا به بی اختیاری ادراری به طور گسترده ای استفاده می شود(۱،۲). با این حال در صورت استفاده نادرست و طولانی مدت از سوند های ادراری، این وسایل یکی از مهمترین عوامل زمینه ساز عفونت های مجرای ادراری در بیماران بستری در بیمارستان ها محسوب می شوند که عوارض ناشی از آن خطرات جدی از جمله عفونت های خونی و یا مرگ ومیر را به دنبال خواهد داشت(۲،۳). میکروارگانیسم هایی که به هر طریقی به داخل سوند راه یافته اند می توانند به سطح سوند بچسبند و تشکیل بیوفیلم دهند که منجر به ایجاد عوارضی از قبیل عفونت های ادراری مرتبط با سوندهای ادراری، التهاب مزمن کلیوی، پیلونفریت مزمن، ایجاد سنگ های کلیوی و مثانه ای، باکتریمی و سپسیس می شود(۶-۴). بیوفیلم به تجمعی از سلول های میکروبی گفته می شود که به طور غیر قابل برگشت به یک سطح می چسبند و در قالبی از لایه ی اگزوپلی ساکاریدی قرارمی گیرند که به دلیل خصوصیات ویژه آنها از جمله مقاومت زیاد به آنتی بیوتیک ها، مواد ضد میکروبی، بیوسایدها و پرتوی UV و سرعت بالای تغییرات ژنتیکی بسیار مورد توجه قرار گرفته اند(۸-۶). بنابراین به دلیل اهمیت ونقش سوندهای ادراری در ایجاد عفونت و عوارض ناشی از استعمال این وسایل پزشکی، بر آن شدیم که باکتری های پاتوژن موجود بر سطح آنها را مورد شناسایی قرار داده وسپس این سویه ها را از نظر میزان تشکیل بیوفیلم مطالعه نماییم.

روش کار

در این بررسی ۵۰ نمونه سوند ادراری از بیماران سوند گذاری شده مربوط به بخش ICU بیمارستان خانواده ارتش طی ماه های آبان ۱۳۸۸ تا فروردین ۱۳۸۹ جمع آوری و مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه های سوند ادراری به هنگام تعویض سوندهای بیماران جمع آوری گردید و قسمت نوک ابتدایی آن توسط قیچی استریل بریده شد. نمونه های سوند بلافاصله توسط ظرف های حاوی بافر فسفات استریل واجدpH۷/۲به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه الزهرا منتقل شد. پس از انتقال به آزمایشگاه در همان ظروف حاوی بافر توسط دستگاه سونیکاتور مدل(Elma, S60) به مدت ۲ دقیقه تحت تاثیر امواج صوتی قرار داده شد (۹).بعد از ورتکس کردن(Harmony VTX-3000L) نمونه ها به مدت ۲ دقیقه، از سوسپانسیون میکروبی به طریق کشت مارپیچی بر محیط آگار خوندار و EMB (Merck)کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴-۱۸ ساعت گرماگذاری گردید.از کلنی های خالص بدست آمده رنگ آمیزی گرم انجام شد و با استفاده از محیط های افتراقی و بیوشیمیایی نظیر TSI، SIM، MRVP، P agar، OF، سیمون سیترات، اوره، نیترات، تخمیر قندهای مختلف (Merck) نسبت به شناسایی باکتری های گرم منفی جدا شده از نمونه های سوند اقدام گردید. کوکسی های گرم مثبت نیز با استفاده از تست هایی نظیر کاتالاز، نیترات، بایل اسکولین، تست تحمل نمکی و تست تخمیر قندهای مختلف از جمله مانیتول (Merck) مورد شناسایی قرار گرفت.

جهت بررسی تشکیل بیوفیلم در سویه ها از پلیت میکروتیتر ۹۶ چاهکی (Orange) استفاده شد. بدین منظور، ابتدا از باکتری مورد نظر در محیط TSA حاوی ۰/۲٪ گلوکز (Merck) کشت داده شد. بعد از ۲۴ ساعت گرماگذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، از کلنی های خالص به محیط TSB حاوی ۰/۲٪ گلوکزتلقیح شد تا سپانسیونی با جذب نوری معادل لوله نیم مک فارلند حاصل شود. سپس µl ۲۰۰ از این سوسپانسیون به هر چاهک پلیت میکروتیتر اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرماگذاری شد. در مرحله ی بعد محتوی هر چاهک خالی شدو به منظور حذف باکتری هایی که تشکیل بیوفیلم نداده اند هر چاهک ۳-۲ مرتبه با µl ۲۰۰PBSاستریل شستشو داده شد. سپس µl ۱۵۰ متانول (Merck) مطلق به مدت ۱۰ دقیقه اضافه گردید.بعد از این مرحله µl ۲۰۰ کریستال ویوله به مدت ۲۰ دقیقه به هر چاهک اضافه شد. پس از شستشوی کریستال ویوله در زیر جریان ملایم آب، به هر چاهک µl ۱۵۰ اسید استیک گلاسیال ۳۳٪ (Merck)اضافه گردید و با استفاده از دستگاه ELISA reader مدل (UV/VIS SpectrometerT80^{+}) مقدار جذب رنگ موجود در هر چاهک در۶۵۰nm خوانده شد(۱۲-۱۰). میزان توانایی تشکیل بیوفیلم طبق طبقه بندیElhairy در سال ۲۰۰۸ محاسبه گردید. طبق این دسته بندی چاهک هایی که میزان جذب آن ها برابر با کنترل منفی است میزان تشکیل بیوفیلم در آن ها صفر و چاهک هایی که میزان جذب در آن ها ۲ برابر کنترل منفی است ضعیف در نظر گرفته می شود. اگر جذب چاهک ۴ برابر کنترل منفی باشد تشکیل بیوفیلم متوسط است و جذب بیش از ۴ برابر کنترل منفی بیوفیلم قوی در نظرگرفته می شود (۱۳).

یافته ها

پس از کشت سوسپانسیون باکتریایی حاصل از سونیکاسیون و ورتکس کردن نمونه های واجد سوند، ۸۱ سویه باکتری و ۲۷ سویه مخمر جدا شد. سویه های باکتری به روش کلاسیک مورد شناسایی قرار گرفت.

در این بررسی ۵۰ نمونه سوند ادراری مورد بررسی قرار گرفت که ۳۰ عدد آن از بیماران زن و ۲۰ عدد از بیماران مرد جدا شد. از میان ۱۰۸ میکروارگانیسم جدا شده ۷۶٪ (۱۷ مخمر و ۶۷ باکتری) آن متعلق به زنان و ۲۴٪(۱۰ مخمر و ۱۶ باکتری) آن ها از مردان جدا گشت(جدول ۱).

در گروه کوکسی های گرم مثبت کاتالاز مثبت، ۱۱ باکتری جدا و مورد ارزیابی قرار گرفت که همه ی این موارد به جنس Staphyloccocus تعلق داشت. همچنین ۲۱ کوکسی گرم مثبت کاتالاز منفی جدا شد که متعلق به جنس Enteroccocus بود. در بین باکتری های جدا شده ۲۸ مورد باکتری گرم منفی تخمیری مشاهده شد که به جنس های Escherichia، Klebsiella،Enterobacter متعلق بودند و نهایتا تعداد ۲۱ باکتری غیر تخمیری متعلق به گونه هایAcinetobacterbaumannii و Pseudomonasaeruginosa جدا و شناسایی گردید(جدول ۱). تعداد ۲۷ مخمر نیز جدا شد که مورد شناسایی قرار نگرفت.

جدول۱: فراوانی باکتری های جدا شده از سطح سوندهای ادراری براساس جنس بیماران

سویه های جدا شده	درصد سویه های جدا شده	زن	مرد
Yeast	٪۲۵	٪۹/۲۵	٪۱۵/۷۴
Escherichia coli	٪۱۶/۶۶	٪۰/۹۲	٪۱۵/۷۴
Acinetobacte r bumannii	٪۱۲/۹۶	٪۵/۵۵	٪۸/۳۳
Entrococcusfaecalis	٪۱۰/۱۸	٪۰/۹۲	٪۹/۲۵
Pseudomonas aeruginosa	٪۶/۴۸	٪۰/۹۲	٪۵/۵۵
Staphylococcus epidermidis	٪۶/۴۸	٪۰	٪۶/۴۸
Staphylococcus aureus	٪۳/۷۰	٪۰/۹۲	٪۲/۷۸
Klebsiella pneumonia	٪۲/۷۸	٪۰.	٪۲/۷۸
Escherichia hermannii	٪۲/۷۸	٪۰/۹۲	٪۱/۸۵
Enterococcus solitaries	٪۲/۷۸	٪۱/۸۵	٪۰/۹۲
Enterococcus faecium	٪۱/۸۵	٪۰	٪۱/۸۵
Entrobacterspp	٪۱/۸۵	٪۰	٪۱/۸۵
Klebsiellaterrigena	٪۱/۸۵	٪۰/۹۲	٪۰/۹۲
Other *Enterococcus spp*	٪۴/۶۲	٪۱/۸۵	٪۲/۷۸

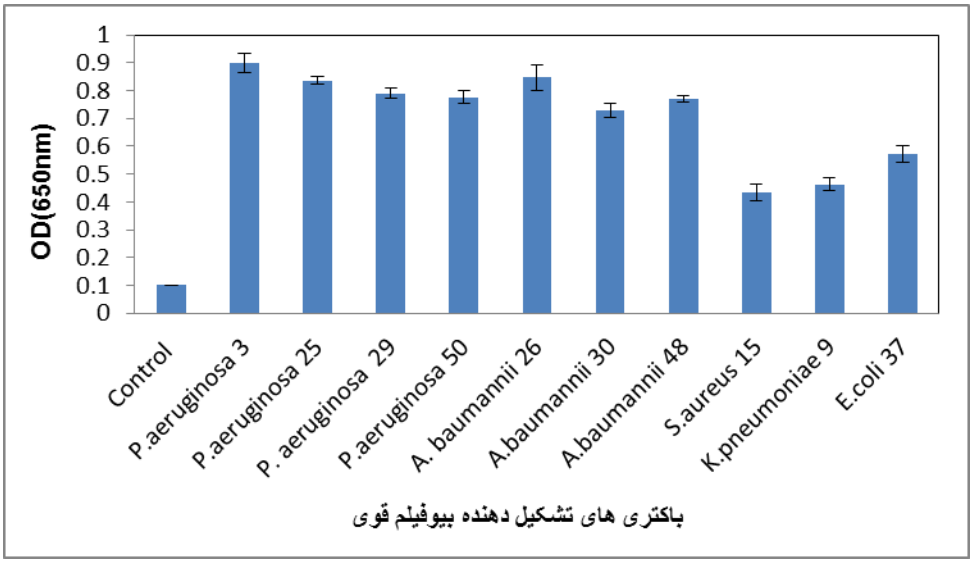
نود و شش درصد بیماران مورد بررسی یک یا چند مورد از آنتی بیوتیک های ایمی پنم، سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین، تازوسین، مترونیدازول و وانکومایسین را استفاده کرده بودند. در ۲۲ درصد موارد بیماران تحت درمان تک دارویی و در ۷۸درصد موارد تحت درمان چند دارویی مورد قرار گرفته بودند. البته قابل ذکر است که در ۸ درصد بیمارانی که از این آنتی بیوتیک ها استفاده کرده بودند هیچ میکروارگانیسمی در محیط کشت جدا نشد.

حدود ۸۰٪ از جدایه ها قادر به تشکیل بیوفیلم در پلیت میکروتیتر بودند. میزان توانایی گونه های باکتریایی جدا شده از سطح سوندهای ادراری در تشکیل بیوفیلم در جدول ۲ارائه شده است که ۶۰٪ آن ها متعلق به باکتری های گرم منفی و ۴۰ ٪ متعلق به باکتری های گرم مثبت است. از نظر شدت توانایی تشکیل بیوفیلم ۱۲/۳۴٪ سویه ها توانایی تشکیل بیوفیلم قوی داشتند. ۱۶/۴٪ سویه ها توانایی متوسط و ۵۵/۵۵٪ آن ها توانایی ضعیفی در تشکیل بیوفیلم داشتند. گونه های *Acinetobacterspp* و *Pseudomonas spp*نسبت به سایر گونه ها قادر به تشکیل بیوفیلم قوی تری بر سطح سوندهای ادراری بودند (نمودار ۱).

متوسط طول مدت استفاده ازسوند در ارگانیسم هایی که بیوفیلم قوی، متوسط و ضعیف تشکیل دادند به ترتیب ۱۶، ۱۴/۵ و ۱۲ روز بود.

جدول ۲: میزان توانایی تشکیل بیوفیلم در باکتری های جدا شده از سطح سوند ادراری

	بیوفیلم قوی	بیوفیلم متوسط	بیوفیلم ضعیف	عدم تشکیل بیوفیلم
Acinetobacterspp	٪۳/۷۰	٪۷/۴۰	٪۶/۱۷	٪۰
Pseudomonas spp	٪۴/۹۳	٪۱/۲۳	٪۲/۴۶	٪۰
Escherichia spp	٪۱/۲۳	٪۱/۲۳	٪۱۷.۲۸	**٪۶/۱۷**
Klebsiellaspp	٪۱/۲۳	٪۱/۲۳	٪۲/۴۶	**٪۱/۲۳**
Staphylococcus psp	٪۱/۲۳	٪۲/۴۶	٪۶/۱۷	**٪۳/۷۰**
Entrococcusspp	٪۰	٪۱/۲۳	٪۱۹/۷۵	**٪۴/۹۳**
Entrobacterspp	٪۰	٪۱/۲۳	٪۱/۲۳	٪۰



نمودار ۱: میزان جذب بیوفیلم قوی باکتریهای مختلف

بحث

دستگاه ادراری در حالت عادی و نرمال به دلیل ترشحات ضد میکروبی دیواره مثانه، غلظت بالای اوره و اسمولاریته بالای ادرار، استریل و عاری از وجود هر گونه میکروارگانیسمی است. اما اگر به هر دلیلی میکروارگانیسم های پاتوژن به داخل دستگاه ادراری راه یابند عفونت اتفاق می افتد.

مطالعات نشان می دهد که عفونت های ادراری یکی از شایع ترین عفونت های بیمارستانی است و حدود ۳۰٪ از عفونت های بیمارستانی را شامل می شود که بیشتر از ۸۰٪ این عفونت ها بااستفاده از سوندهای ادراری مرتبط می باشد(۱۴،۱۱). میکروارگانیسم ها از طریق دو مکانیسم داخل لومنی و خارج لومنی به دستگاه ادراری و مثانه راه یافته و به سطح سوند متصل میشوند و تشکیل بیوفیلم میدهند که این بیوفیلم به عنوان کانونی برای عفونت عمل می کند. یکی از علل عدم موفقیت در پیشگیری از عفونت های مرتبط با سوندهای ادراری، تشکیل بیوفیلم توسط میکروارگانیسم های پاتوژن بر سطح سوند طی مدت ۲۴-۸ ساعت بعد از سوند گذاری است(۱۵). بنابراین هر چه سوند به مدت طولانی تری مورد استفاده قرار گیرد احتمال تشکیل بیوفیلم و ایجاد عفونت افزایش می یابد.

با بررسی طول مدت استفاده از سوند در بیماران مشاهده شد که باکتری هایی که قادر به تشکیل بیوفیلم قوی تری بودند متعلق به بیمارانی هستند که در آن ها طول مدت استفاده از سوند طولانی تر بوده است.

بیمارانی که باکتری های جدا شده از آن ها قادر به تشکیل بیوفیلم متوسط، ضعیف و یا قادر به تشکیل بیوفیلم نبودند مدت زمان کوتاه تری حامل سوند بودند. بنظر می رسد که زمان طولانی تر کمک به سازگاری بیشتر و تشکیل قوی تر بیوفیلم می کند. نکته قابل ذکر این است که بیماران مورد مطالعه در طول مدت استفاده از سوندتحت درمان آنتی بیوتیک های سیستمیکی همچون ایمی پنم، سفتریاکسون، سیپروفلوکساسین، تازوسین، مترونیدازول و وانکومایسین بودند و به رغم مصرف آنتی بیوتیک ها توانستند بیوفیلم تشکیل دهندکه حاکی از مقاوم بودن این باکتری ها نسبت به دوز آنتی بیوتیک های مورد استفاده بوده است.

در این بررسی ۵۰ نمونه سوند ادراری مورد بررسی قرار گرفت که ۳۰ عدد آن از بیماران زن و ۲۰ عدد از بیماران مرد جدا شد. از میان ۱۰۸ میکروارگانیسم جدا شده ۷۶٪ (۱۷ مخمر و ۶۷ باکتری) آن متعلق به زنان و ۲۴٪(۱۰ مخمر و ۱۶ باکتری) آن ها از مردان جدا گشت که این مطلب موید آسیب پذیر تر بودن زنان نسبت به مردان است. بنظر می رسد دلیل این مطلب نزدیک بودن پیشابراه به مقعد در زنان می باشد. بنابر این سوند در زنان بیشتر با باسیل های گرم منفی روده ای کلونیزه می شود.

در اکثر مطالعاتی که قبلا در این زمینه صورت گرفته است قسمت ابتدایی نوک سوند برای نمونه گیری استفاده شده است و برای جداسازی باکتری های سطح داخلی و خارجی سوند از سواب و یا کشت مستقیم سطح آن استفاده گردید. در مطالعه حاضر نیز از قسمت ۵-۱۰cm ابتدایی نوک سوند برای کشت انتخاب شد. استفاده از تیمارهای فیزیکی سونیکاسیون و ورتکس نمودن، باکتری های بیشتری رادر این مطالعه جدا نمود. در این بررسی سویه های کلبسیلا، آسینتوباکتر، پسودوموناِ، ایشرشیاکلی، انتروکوکوس، انتروباکتر و استافیلوکوکوس از سطح سوند جداشد که برخی از این باکتری ها در مطالعات Wang و همکاران در سال ۲۰۱۰ وMatsukawaو همکاران در سال ۲۰۰۴نیز گزارش شده است(۱۱،۱۶). در این مطالعه مشخص شد که باکتری های Escherichia coli،Pseudomonas aeruginosa، Enterococcus faecalis و Klebsiellapnuemoniae از شایع ترین باکتری های جدا شده از سطح سوندمی باشند.همچنین نشان داده شده که باکتری های E.coliو Enteroccocusspp از فراوانی بیشتری برخوردار بودند. بطورکلی مجموع باکتری های گرم منفی راه یافته به داخل سوند بیشتر از تعداد کل باکتری های گرم مثبت راه یافته به داخل سوند می باشد که ناشی از فلور پیشابراه انتهایی در افراد می باشد.

اکثر باکتری های جدا شده از سطح سوند قادر به تشکیل بیوفیلم بر سطح سوند هستند که Wangو همکاران در سال ۲۰۱۰و Stickler در سال ۲۰۰۸ نیز نتایج مشابه با این مطالعه را گزارش کرده اند(۱۷،۱۱).بررسی توانایی تشکیل بیوفیلم در باکتری های جدا شده از سوند نشان داد که باکتری های گرم منفی مخصوصا Pseudomonas sppو Acinetobacterspp نسبت به باکتری های گرم مثبت، قادر به تشکیل بیوفیلم های قوی تری بر سطح سوندهای اداری هستند که شاید مربوط به وجود زواید خارج سلولی مانند پیلی و ترکیبات دیواره سلولی در این باکتری ها باشد. به علاوه تشکیل بیوفیلم بر سطح سوند بستگی به موارد دیگری مانند طول مدت استفاده، نوع میکروارگانیسم، ترکیبات استفاده شده در ساخت سوند و خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن و سرعت جریان مایع بستگی دارد(۱۸،۱۷).اهمیت نتایج حاصله بیشتر هنگامی مشخص می گردد که به عوارض ناشی از سوندگذاری مانند عفونت، باکتریوری و باکتریمی ناشی از تشکیل بیوفیلم توسط باکتری ها بر سطح سوند بعد از سوندگذاری در دستگاه ادراری توجه شود.

نتیجه گیری

باکتری های پاتوژنی که به داخل سوندهای ادراری راه می یابند قادرند که به سطح سوند بچسبند و تشکیل بیوفیلم دهند که در این میان باکتری های گرم منفی توانایی تشکیل بیوفیلم بیشتری از خود نشان دادند.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاری کارکنان بخش ICU بیمارستان خانواده ارتش بخصوص خانم ارتقاییو خانم محمدی مهر که در جمع آوری نمونه ها همکاری داشته اند نهایت تقدیر و تشکر به عمل می آید.

REFERENCES

1. Kunin CM. Genitourinary infection in the patient at risk: Extrinsic risk factors.American Journal Medicine.1984 May; 76 (5A): 131-9.

2. Maki GD, Paul AT. Engineering out the risk for infection with urinary catheters.Emerging Infectious Diseases. 2001 March-April;7 (2): 342-7.

3. Apisamthanarak A,Rutjanaweek S,Wichansawakun S, Runanabunjerdkul H,Patthranitima P,Thongphubth K, et al. Initial inappropriate urinary catheters use in tertiary- care center: Incidence, risk factors and outcomes.American Journal Infection center. 2007 Nov; 35 (9): 594-9.

4. Nasr A. State of the globe: Catheterizations continue to cultivate urinary infection.Journal of Global Infection Diseases. 2010May-Aug; 2: 81-2.

5. Waren JW, Muncie HL,Hebel JR, Hall-Craggs M. Long term urethral catheterization increases risk of chronic pyelonephritis and renal infection.J American Geriatr Society.1994 Dec; 42: 1286-90.

6. Trautner WB,Darouiche OR. Catheter- associated infection: Pathogenesis Affects Prevention. American Medical Association.2004 Apr; 164: 842-50.

7. Elasiri MO, Miller RV. Study of the response of a biofilm bacterial community to UV radiation. Applied Environment Microbiology;1999 May; 65:2025-31.

8. Parakash B,Veeregowda BM,Krishnappa G. Biofilms: A survival strategy of bacteria. Current Sciences.2003 Nov; 85: 1299-307.

9. Jones GL, Muller CT, Reilly MO, Stickler DJ. Effect of Triclosan on the development of bacterial biofilms by urinary tract pathogens on urinary catheters.Journal of Antimicrobial Chemotherapy.2006 Nov; 57: 266-72.

10. Darouiche OR,Mansouri DM,Gawanda VP,Madhyastha S. Antimicrobial and anti-biofilm efficacy of Triclosan and Dispersin B combination. Journal of Microbial Chemotherapy. 2009 May; 64: 88-93.

11. Wang X,Lunsdorf H,Ehren I, Brauner A,Romling U. Characteristics of biofilms from urinary tract catheters and presence of biofilm-related component in Esherichia coli.Current Microbiology.2010 Dec; 60: 446-53.

12. Abdi-Ali A,Mohammadi-mehr M, Agha-AlaeiY. Bactericidal activity of various antibiotics against biofilm-producing Pseudomonasaeruginosa. International Journal of Microbial Agents.2006 March; 27: 196-200.

13. Elhairy MH. Biofilm formation by endospore-forming bacilli on plastic surface under some food- related and environmental stress conditions.Global Journal of Biotechnology and Biochemistry. 2008; 3 (2): 69-78.

14. Mousavian M, Mashali K. Assay of bacterialinfectionsafterurinarycatheterization, and determination ofantibioticresistance inbacteriaisolated frompatients. Scientific Journal of HamadanUniversityof Medical SciencesandHealth Services,1383, 32: 29-34.

15. Staint S, Chenoweth CE. Biofilms and catheter- associated urinary tract infection. Infect Disease Clinical North American.2003, Jun; 28: 68-75.

16. Yakandawala N,Gawande PV,Lovetri K,Madhyastha S. Effect of ovotransferrin, protamine sulfate and EDTA combination on biofilm formation by catheter- associated bacteria. Journal of Applied Microbiology.2007 June; 102: 722-7.

17. Stickler DJ.Bacterial biofilms in patient with indwelling urinary catheters.Nature Clinical Practice Urology.2008 Nov; 5(11): 598-608.

18. Barford JMT, Coates ARM. The pathogenesis of catheter-associated urinary tract infection.Journal of Infection Prevention.2008 Sep; 10 (2): 50-6.