تشکیل بیوفیلم و کورلای در میان سویه های اشرشیا کلای جداشده از عفونت های ادراری در تهران. ۱۳۹۵

فاتح رحیمی[۱]*، جلال مهماندوست[۲]

۱-دکترای تخصصی باکتری شناسی، دانشیار بخش میکروب شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان
۲-کارشناس ارشد میکروبیولوژی، بخش میکروب شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

***نشانی برای مکاتبه:** اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، بخش میکروب شناسی f.rahimi@sci.ui.ac.ir

دریافت مقاله: بهمن نود و شش پذیرش برای چاپ: اردیبهشت نود و هفت

چکیده

سابقه و هدف: *بیوفیلم های باکتریایی با بسیاری از عفونتهای مزمن و پایدار مرتبط می باشند. باکتریهای مولد بیوفیلم نسبت به بسیاری از آنتی بیوتیکها و سیستمهای دفاعی مقاوم هستند که همین امر درمان و ریشه کنی عفونتهای ناشی از بیوفیلم را بسیار دشوار می سازد. این مطالعه با هدف بررسی فنوتیپی تشکیل بیوفیلم و کورلای در میان سویه های اشرشیا کلای مولد بیوفیلم جداسازی شده از عفونتهای ادراری در میان بیماران در شهر تهران در سال ۱۳۹۵به انجام رسیده است.*

روش کار: *در این مطالعه در مجموع ۲۰۰ نمونه ادراری از بیماران مبتلا به عفونتهای دستگاه ادراری در شهر تهران جمع آوری شدند و حضور جدایه های اشرشیا کلای با استفاده از پرایمرهای اختصاصی مورد شناسایی قرار گرفت. توانایی تولید بیوفیلم، کورلای و سلولز در میان جدایه ها با روشهای آزمون کیفی ژلوز قرمز کنگو و آزمون کمی میکروتیتر پلیت مورد ارزیابی قرار گرفتند.*

یافته ها: *در میان تمامی جدایه ها، ۱۲۴ سویه (۶۲ درصد) به عنوان اشرشیا کلای مورد شناسایی قرار گرفتند و به ترتیب، ۱۶ (۳ درصد)، ۱۹ (۱۵ درصد) و ۱۱ (۹ درصد) از سویه ها، واجد مورفوتایپهای rdar، bdar و pdar با قابلیت تولید بیوفیلم بودند. همچنین، ۷۸ سویه (۶۳ درصد) قادر به تشکیل بیوفیلم نبودند. علاوه بر این، با استفاده از آزمون میکروتیتر پلیت ۱۵ درصد و ۳۹ درصد سویه ها نیز به ترتیب مولد بیوفیلم قوی و بیوفیلم ضعیف بودند.*

نتیجه گیری: *نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده نقش مهم کورلای و سلولز در اتصال و تشکیل بیوفیلم در میان سویه های اشرشیا کلای جداسازی شده از بیماران مبتلا به عفونتهای دستگاه ادراری است.*

واژگان کلیدی: اشرشیا کلای، عفونت ادراری، بیوفیلم، کورلای، سلولز، کنگورد آگار، آزمون میکروتیترپلیت

مقدمه

عفونتهای ادراری از جمله شایع ترین عفونتهای باکتریایی به شمار می روند که سالانه باعث ابتلای ۱۵۰ میلیون نفر در سراسر دنیا می شوند(۱). عفونتهای ادراری اغلب در خانمها مشاهده می شود؛ به - طوری که ۲۰ درصد از خانمها در طول عمر خود، دست کم یک بار در سال و ۳ درصد از آنها بیش از یک بار در سال ابتلای به این عفونت را تجربه می کنند. شیوع این عفونتها در آقایان در بیشتر سنین به جز سنین کودکی، کمتر از خانمها است(۲). عفونتهای ادراری شامل عفونتهای میزراه، مثانه، میزنای و کلیه هستند(۳). از نظر بالینی، عفونتهای ادراری را می توان به دو دسته ساده و پیچیده تقسیم کرد(۱). عفونتهای ادراری ساده، افرادی را درگیر می کنند که سالم هستند و هیچگونه ناهنجاری ساختاری و عصبی در دستگاه ادراری ندارند. در مقابل، عفونتهای ادراری پیچیده، عفونتهایی هستند که باعث ابتلای افراد درگیر با عوامل تضعیف کننده دستگاه ادراری و سیستم ایمنی مانند انسداد مجاری ادراری و احتباس ادرار توسط بیماریهای عصبی، سرکوب سیستم ایمنی میزبان، نارسایی کلیه، پیوند کلیه، بارداری و حضور اجسام خارجی مانند سنگ در دستگاه ادراری و سوندهای ادراری می شوند(۱, ۴).

اشرشیا کلای، مقیم همسفره روده بزرگ انسان است که تنها چند ساعت بعد از تولد در دستگاه گوارش نوزادان مستقر می شود(۴, ۵). اگرچه بیشتر سویه های *اشرشیا کلای*، بدون ایجاد هرگونه عفونتی در دستگاه گوارش زندگی می کنند اما برخی از سویه ها با کسب توانایی ایجاد عفونتهای خطرناک داخل روده ای و خارج روده ای مانند بیماری اسهالی شبه *کلرا*، عفونتهای ادراری، مننژیت و گندخونی مستثنی می شوند. جدایه هایی از باکتری *اشرشیا کلای*

که باعث عفونتهای ادراری می شوند به عنوان بیماری زای ادراری شناخته می شوند. بیماری زایی این باکتریها با توجه به کسب ژنهای بیماری زایی همراه با عوامل درگیر در اتصال، تکثیر و زنده ماندن در دستگاه ادراری، یک فرآیند چندمرحله ای است(۵). باکتریهایی که در دستگاه ادراری تکثیر پیدا می کنند به سمت مثانه حرکت نموده و باعث ایجاد عفونتهای کلیه می شوند که همراه با علائم مشخص عفونت ادراری شامل درد، بی قراری و تکرر ادرار می باشد(۶, ۷). *اشرشیا کلای* اوروپاتوژنیک واجد مجموعه ای از عوامل بیماری زایی است که به زنده ماندن آن در شرایط سخت دستگاه ادراری کمک می کند. تعداد زیادی از این عوامل بیماری زایی در اتصال و زنده - ماندن *اشرشیا کلای* اوروپاتوژنیک در دستگاه گوارش به عنوان مخزن اولیه آن، نقش دارند(۴).

کورلای جزء پروتئین اصلی یک ماتریکس پیچیده خارج سلولی است که توسط بسیاری از اعضای خانواده *انتروباکتریاسه* تولید می شود. کورلای در اواخر دهه ۱۹۸۰ و در میان سویه های *اشرشیا کلای* مولد بیماری ماستیت در گاو شناسایی گردید. فیبرهای کورلای نقش بسیار مهمی در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک و بیماری زای *اشرشیا کلای* و گونه های *سالمونلا* ایفا می نمایند و در چسبندگی به سطوح، تجمع سلولی و تشکیل بیوفیلم دخیل می باشند. ساختار و بیوژنز کورلای در میان تمامی فیبرهای باکتریایی شناخته شده بسیار منحصر به فرد است و متعلق به یک کلاس در حال رشد از الیاف شناخته شده تحت عنوان آمیلوئید است(۸, ۹).

این مطالعه با هدف بررسی فنوتیپی تشکیل بیوفیلم و کورلای در میان سویه های *اشرشیا کلای* مولد بیوفیلم جداسازی شده از عفونتهای ادراری در میان بیماران در یک بیمارستان در سال ۱۳۹۵به انجام رسیده است.

روش کار

جهت انجام این بررسی در طی ۱ سال ۲۰۰ بیمار مبتلا به عفونت ادراری در یک بیمارستان در شهر تهران، انتخاب شدند و نمونه گیری از این بیماران به عمل آمد. نمونه ها بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شدند و بر روی محیط مک کانکی آگار (Biolife, Italy) کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. پس از اتمام این مدت کلنیهای صورتی رنگ به عنوان جدایه های لاکتوز مثبت انتخاب شدند و با آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی *tufA* به عنوان سویه های *اشرشیا کلای* مورد شناسایی قرار گفتند(۱۰).

جهت تعیین کیفی تولید بیوفیلم در میان سویه های *اشرشیا کلای* جداسازی شده از عفونتهای ادراری از محیط ژلوز قرمز کنگو بر اساس دستورالعمل Romling استفاده شد (۱۱). جدایه های مختلف *اشرشیا کلای* به صورت خطی بر روی محیط ژلوز قرمز کنگو کشت داده شدند و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری گردیدند. پس از این مدت، پلیتها جهت تعیین مورفولوژی کلنی هرکدام از جدایه ها مورد بررسی قرار گرفتند. جدایه های واجد کلنیهای قرمز، خشک و خشن (مورفوتایپ rdar) به عنوان جدایه‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلم و تولیدکننده فیمبریه مجعد و سلولز، جدایه های واجد کلنیهای قهوه ای، خشک و خشن (مورفوتایپ bdar) به عنوان جدایه های تشکیل دهنده بیوفیلم و تولیدکننده فیمبریه مجعد، جدایه های واجد کلنیهای صورتی، خشک و خشن (مورفوتایپ pdar) به عنوان جدایه‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلم و تولیدکننده سلولز شناخته شدند. اما جدایه های واجد کلنیهای سفید رنگ و صاف (مورفوتایپ saw) به عنوان جدایه های فاقد توانایی تشکیل بیوفیلم، فیمبریه مجعد و سلولز مورد شناسایی قرار گرفتند.

به منظور تعیین کمی تولید بیوفیلم در میان سویه های *اشرشیا کلای* از روش میکروتیتر پلیت بر اساس روش Kai-Larsen و همکاران استفاده شد (۹). برای این منظور میزان جذب نوری در طول موج ۵۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه خوانشگر الایزا (Stat fax-2100) بررسی و تفسیر شد: بر این اساس، تولیدکننده قوی بیوفیلم ($OD570 > 0.2$)، تولیدکننده ضعیف بیوفیلم ($0.1 \leq OD570 \leq 0.2$) و فاقد توانایی تشکیل بیوفیلم ($OD570 < 0.1$).

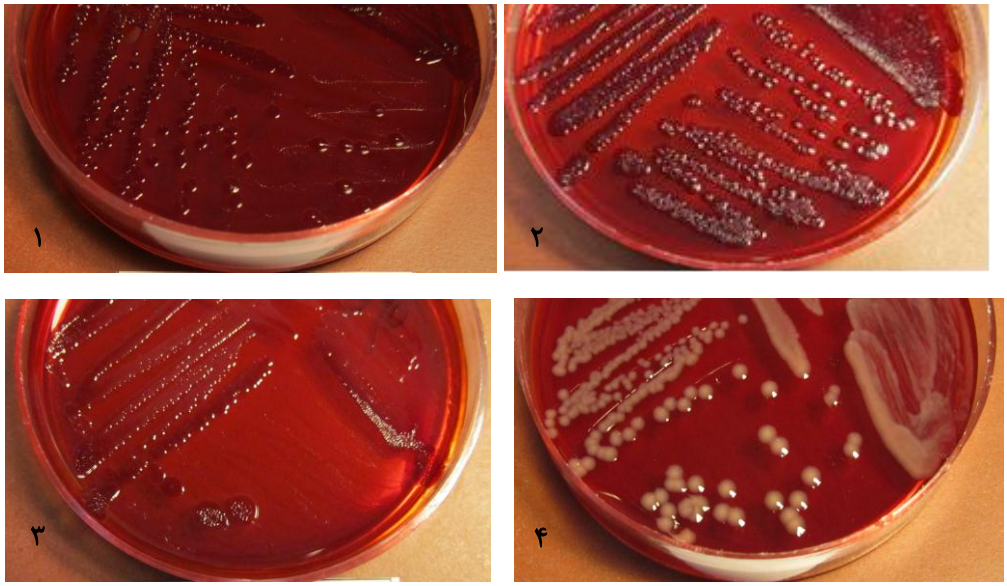
برای استخراج DNA جهت انجام آزمونهای PCR مختلف، از روش جوشاندن بر اساس دستورالعمل Kai-Larsen و همکاران استفاده گردید (۹). برای این منظور، یک کلنی از جدایه باکتریایی در میکروتیوب استریل واجد ۱۵۰ میکرولیتر آب دیونیزه استریل حل شد و سپس به خوبی ورتکس گردید. میکروتیوب واجد باکتری حل شده در آب دیونیزه به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شد و سپس به - مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفیوژ با g × ۱۱۰۰۰ سانتریفیوژ گردید و مایع رویی به عنوان الگوی DNA جهت انجام PCR مورد استفاده قرار گرفت.

جهت شناسایی و تأیید جدایه های *اشرشیا کلای*، از آزمون PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *tufA* (رمزکننده پروتئین عامل طویل کننده EF-TU) Vareille و همکاران استفاده گردید(۱۰).

یافته ها

با استفاده از آزمون PCR با پرایمرهای اختصاصی در مجموع ۱۲۴ سویه *اشرشیا کلای* از ۲۰۰ بیمار مبتلا به عفونت ادراری در یک بیمارستان در شهر تهران جدا ، شناسایی و تأیید شد.

جهت تعیین توانایی تولید کورلای، سلولز و تشکیل بیوفیلم در میان جدایه های *اشرشیا کلای* جداشده از عفونت ادراری به روش کیفی، از آزمون کشت باکتریها بر روی محیط ژلوز قرمز کنگو و انکوباسیون به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد استفاده گردید. بر اساس نتایج حاصل از آزمون کیفی تشکیل بیوفیلم و توانایی تولید کورلای و سلولز در میان سویه های *اشرشیا کلای* جداشده از عفونت ادراری (تصویر ۱)، مشخص گردید که در مجموع ۱۶ سویه (۱۳ درصد) واجد توانایی تشکیل بیوفیلم همراه با تولید کورلای و سلولز بودند و کلنیهای آنها واجد مورفوتایپ rdar (قرمز، خشک و خشن) بودند (شکل ۳-۲). همچنین، ۱۹ سویه (۱۵ درصد) واجد مورفوتایپ bdar (قهوه‌ای، خشک و خشن) بوده و قادر به تشکیل بیوفیلم همراه با تولید کورلای بودند. علاوه براین، ۱۱ جدایه (۹ درصد) نیز قادر به تشکیل بیوفیلم همراه با تولید سلولز بودند و کلنیهای آنها واجد مورفوتایپ pdar (صورتی، خشک و خشن) بود. بنابراین، ۷۸ سویه (۶۳) نیز واجد مورفوتایپ saw و کلنیهای سفید رنگ بوده و فاقد توانایی تشکیل بیوفیلم و تولید کورلای و سلولز بودند و تنها ۴۶ سویه (۳۷ درصد) به عنوان سویه های مولد بیوفیلم شناسایی شدند.



تصویر ۱- کلنیهای *اشرشیا کلای* ۱: واجد مورفوتایپ rdar، ۲: واجد مورفوتایپ bdar، ۳: مورفوتایپ pdar، ۴: مورفوتایپ saw.

جهت تعیین توانایی تشکیل بیوفیلم به‌روش کمی در میان ۴۶ سویه *اشرشیا کلای* واجد کلنی با مورفوتایپهای rdar، bdar یا pdar، از آزمون میکروتیتر پلیت استفاده گردید و جذب نوری در طول موج ۵۷۰ نانومتر پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری اندازه‌گیری شد. بر این اساس، ۷ سویه (۱۵ درصد) دارای بیوفیلم قوی ($OD570 > 0.2$)، ۱۸ سویه (۳۹ درصد) دارای بیوفیلم ضعیف ($0.1 \leq OD570 \leq 0.2$) و ۲۱ سویه (۴۶ درصد) فاقد توانایی تشکیل بیوفیلم ($OD570 < 0.1$) در روش میکروتیتر پلیت بودند.

بحث

عفونتهای ادراری از جمله شایع ترین و شناخته شده ترین عفونتها در انسان به شمار می روند که باعث ابتلای افراد در سنین مختلف می شوند. این عفونتها معمولا دردناک هستند و در میان خانمها از شیوع بالاتری برخوردار می باشند. عفونتهای ادراری در بیشتر موارد به صورت تک گیر هستند که در صورت تشخیص صحیح و درمان مناسب در طی چند روز برطرف خواهند شد. اما در پاره ای از موارد، عفونتها به صورت عود شونده هستند که معمولا ناشی از تشکیل بیوفیلم توسط جدایه هایی است که باعث ایجاد آسیبهای غیرقابل بازگشت در افراد می شود و درمان مناسب نیازمند صرف هزینه بالا است و در بسیاری از موارد نیز با شکست مواجه می شود. عفونتهای ادراری سالانه حدود ۳/۵ میلیارد دلار به آمریکا خسارت می زنند که در بیش از ۷۵ درصد موارد، *اشرشیا کلای* اوروپاتوژنیک به عنوان عامل ایجاد عفونت شناخته می شود (۱). شایع ترین عامل ایجاد عفونتهای ادراری، باکتری *اشرشیا کلای* است و بیشتر جدایه های آن نسبت به آنتی بیوتیکهای آمپی سیلین، آموکسی‌سیلین-کلاولانیک اسید، نورفلوکساسین، سفوروکسیم، سفتریاکسون و کوتریماکسوزول مقاوم هستند (۱۲). دیابت، بیماریهای کلیوی و استفاده از سوندهای ادراری از جمله عوامل خطر مرتبط با عفونتهای ادراری به شمار می روند که این عفونتها را پیچیده و درمان آنها را پرهزینه و مشکل می سازند (۱۳). تشکیل بیوفیلم به مراتب عفونت را پیچیده تر می کند و زیستگاهی مناسب برای باکتریهای مقاوم به آنتی بیوتیک را فراهم می سازد (۱۲).

به منظور پی بردن به ساختار دقیق بیوفیلم *اشرشیا کلای* اوروپاتوژنیک، مطالعه ای توسط Hung و همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام گرفت. در این مطالعه مشخص شد که این باکتری واجد بیوفیلم به شدت منظم و همراه با ماتریکسی پیچیده است که ساختارهای ظریف این ماتریکس در *اشرشیا کلای* اوروپاتوژنیک با موقعیتهای فضایی کاملا مشخص و جدا از هم قرار گرفته اند. تصاویر میکروسکوپ الکترونی از بیوفیلم شناور (پلیکل) این باکتری نشان داد که فیبرهای ماتریکس بیوفیلم *اشرشیا کلای* اوروپاتوژنیک در لایه های رویی و در تماس با هوا متراکمتر از لایه های زیرین هستند. همچنین فیبرهای ماتریکس در اطراف باکتری به شدت به هم تنیده می شوند اما کاملا باکتری را نمی پوشانند و حدفاصل این دو را وزیکولهای غشایی فرا گرفته است. بررسی بیوشیمیایی به همراه ایجاد جهش در سویه های تشکیل‌دهنده بیوفیلم *اشرشیا کلای* اوروپاتوژنیک، فیمبریه مجعد را به عنوان جزء اصلی تشکیل دهنده بیوفیلم تأیید کرد و نقش سلولز، فلاژل و فیمبریه نوع I را در حفظ تمامیت و استحکام بیوفیلم آشکار نمود (۱۴).

سالانه حدود ۵۰۰ هزار عفونت ادراری وابسته به سوند (CAUTI) در آمریکا گزارش می شود (۱۵). ارتباط میان بیوفیلم و مقاومت آنتی بیوتیکی در عفونتهای ادراری مرتبط با سوندهای ادراری مورد مطالعه قرار گرفته است و *اشرشیا کلای* فراوانترین باکتری بیماری زای جداسازی شده در آن مطالعات است. در این مطالعه، مشخص شد که سویه های تشکیل دهنده بیوفیلم نسبت به سویه های فاقد این توانایی، نسبت به آنتی بیوتیکهای آمپی سیلین، سفوتاکسیم، نورفلوکساسین و نالیدیکسیک اسید مقاومتر هستند (۱۶). علاوه بر این، بیوفیلمها نسبت به سلولهای فاگوسیت کننده میزبان نیز مقاوم هستند (۴, ۹).

در مطالعاتی که بر روی موشهای مبتلا به عفونتهای ادراری انجام شده است، *اشرشیا کلای* اوروپاتوژنیک در مراحل اولیه عفونت به سلولهای اپیتلیال مثانه متصل و به آنها حمله می کند (۱۷). علیرغم پاسخ شدید التهابی و ریزش سلولهای اپیتلیال مثانه، تیتر بالایی از *اشرشیا کلای* اوروپاتوژنیک در مثانه به مدت چندین روز باقی می ماند (۱۸). ظاهرا، حمله *اشرشیا کلای* اوروپاتوژنیک به سلولهای سطحی مثانه و مخفی شدن در آنها با سازوکار وابسته به FimH انجام می گیرد که منجر به شکست ایمنی ذاتی در مقابل این باکتری می شود (۱۸). تکثیر این باکتری در سلولهای اپیتلیال مثانه منجر به بالا ماندن تیتر *اشرشیا کلای* اوروپاتوژنیک در مثانه می - شود. این باکتری در این زیستگاه های داخل سلولی مخازنی را در مثانه تشکیل می دهند که می توانند ماهها بدون ریزش در ادرار مقاومت نمایند. این باکتریها کاملا نسبت به دوره های سه- و ده-روز آنتی بیوتیکی مقاومت نشان می دهند (۱۸, ۱۹). بنابراین، علاوه بر روده و واژن، مثانه نیز می تواند به عنوان مخزنی برای این باکتری عمل کند و منبعی برای التهاب مثانه عودکننده باشد که در جمعیت زیادی از زنان مبتلا به عفونت ادراری مشاهده می شود (۱۸).

در مطالعه ای در هند (۲۰)، از میان ۱۰۰ سویه *اشرشیا کلای* که توانایی تشکیل بیوفیلم در آنها مورد ارزیابی قرار گرفت، معلوم شد که در روش لوله، ۱۷ سویه از لحاظ تشکیل بیوفیلم به شدت مثبت، ۱۹ سویه نسبتا مثبت و ۳۶ سویه به طور ضعیفی مثبت بودند. در روش قرمز کنگو، ۲۳ سویه از لحاظ تشکیل بیوفیلم به شدت مثبت، ۳۷ سویه نسبتا مثبت و ۴۰ سویه به طور ضعیفی مثبت بودند اما در روش میکروتیتر پلیت، ۶ سویه از لحاظ تشکیل بیوفیلم به شدت مثبت، ۸۰ سویه نسبتا مثبت و ۱۴ سویه به طور ضعیفی مثبت بودند.

در مطالعه ای در ایران (۲۱)، از روش میکروتیتر پلیت متفاوتی نسبت به روش استفاده شده در این تحقیق برای ارزیابی میزان تشکیل بیوفیلم در سویه های *اشرشیا کلای* استفاده شد. این روش با استفاده از دستورالعمل ارائه شده توسط O'Toole and [۳۲۷] Kolter و Dusane و همکاران (۲۲) صورت گرفت. با استفاده از این روش، مشخص شد که از ۱۵۶ جدایه *اشرشیا کلای* اوروپاتوژنیک، ۱۷/۳ درصد توانایی تشکیل بیوفیلم قوی، ۱۸/۶ درصد توانایی تشکیل بیوفیلم نسبتا قوی، ۴۹/۴ درصد توانایی تشکیل بیوفیلم ضعیف و ۱۴/۷ درصد فاقد توانایی تشکیل بیوفیلم بودند.

در مطالعه ای دیگر در ایران (۲۳)، از روش قرمز کنگو متفاوتی نسبت به روش استفاده شده در این تحقیق برای تعیین کیفی تشکیل بیوفیلم در سویه های *اشرشیا کلای* اوروپاتوژنیک استفاده شد. در آن مطالعه، محیط ژلوز قرمز کنگو با استفاده از دستورالعمل توصیف شده توسط Solati و همکاران (۲۴) تهیه شد. همچنین، از انکوباسیون ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد استفاده شد. در این روش، جدایه های تشکیل دهنده بیوفیلم قوی با کلنیهای کریستالی خشک و سیاه رنگ، جدایه های تشکیل دهنده بیوفیلم نسبتا قوی با کلنیهای سیاه رنگ بدون حالت خشک و کریستالی و جدایه های تشکیل دهنده بیوفیلم ضعیف با کلنیهای صورتی رنگ به همراه نقطه ای سیاه رنگ در مرکز کلنی مشخص شدند. بر اساس نتایج حاصل مشخص گرددی که از بین ۱۳۰ جدایه *اشرشیا کلای*، ۸۰ جدایه (۶۱/۵۳ درصد) توانایی تشکیل بیوفیلم داشتند. از بین ۸۰ جدایه تشکیل دهنده بیوفیلم، ۱۵ جدایه (۱۸/۷۵ درصد) بیوفیلم قوی، ۲۰ جدایه (۲۵ درصد) بیوفیلم نسبتا قوی و ۴۵ جدایه (۵۶/۲۵ درصد) بیوفیلم ضعیفی را بر روی محیط ژلوز قرمز کنگو تشکیل دادند. همچنین، جدایه های فاقد توانایی تشکیل بیوفیلم، کلنیهای صورتی رنگ یا زرد رنگ را بر روی محیط ژلوز قرمز کنگو تشکیل دادند.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان دهنده فراوانی جدایه های *اشرشیا کلای* مولد بیوفیلم، کورلای و سلولز در میان بیماران مبتلا به عفونت ادراری است. با توجه به اینکه بسیاری از موارد عفونتهای ادراری مربوط به عفونتهای عودشونده است که ناشی از تشکیل بیوفیلم در سیستم ادراری تناسلی است، لذا درمان صحیح و اصولی عفونتهای ادراری می تواند میکروارگانیسمهای مولد عفونتهای ادراری را به طور کامل حذف و ریشه کن نماید و از تشکیل عفونتهای عودشونده ممانعت نماید. بررسیهای بیشتر در زمینه ژنهای دخیل در فرآیند تشکیل بیوفیلم در میان این جدایه ها و همچنین اثربخشی داروهای مختلف جدید جهت ممانعت از تشکیل بیوفیلم و یا حذف آنها در گروه میکروبشناسی دانشگاه اصفهان در حال انجام است که به زودی نتایج اولیه آنها منتشر خواهند شد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه در قالب بخشی از پایان نامه دانشجویی کارشناسی ارشد رشته میکروبیولوژی با حمایت معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه اصفهان به انجام رسیده است.

REFERENCES

1. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. Nature Reviews Microbiology. 2015;13(5):269-84.
2. Soto SM. Importance of biofilms in urinary tract infections: new therapeutic approaches. Advances in Biology. 2014;2014.
3. Barber AE, Norton JP, Spivak AM, Mulvey MA. Urinary tract infections: current and emerging management strategies. Clinical Infectious Diseases. 2013;57(5):719-24.
4. Hancock V, Dahl M, Klemm P. Abolition of biofilm formation in urinary tract *Escherichia coli* and *Klebsiella* isolates by metal interference through competition for fur. Applied and Environmental Microbiology. 2010;76(12):3836-41.
5. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. Nature Reviews Microbiology. 2004;2(2):123-40.
6. Moreno E, Andreu A, Pigrau C, Kuskowski MA, Johnson JR, Prats G. Relationship between *Escherichia coli* strains causing acute cystitis in women and the fecal *E. coli* population of the host. Journal of Clinical Microbiology. 2008;46(8):2529-34.
7. Czaja C, Stamm W, Stapleton A, Roberts P, Hawn T, Scholes D, et al. Prospective cohort study of microbial and inflammatory events immediately preceding *Escherichia coli* recurrent urinary tract infection in women. The Journal of Infectious Diseases. 2009;200(4):528-36.
8. Barnhart MM, Chapman MR. Curli biogenesis and function. Annual Review of Microbiology. 2006;60:131-47.
9. Kai-Larsen Y, Lüthje P, Chromek M, Peters V, Wang X, Holm Å, et al. Uropathogenic *Escherichia coli* modulates immune responses and its curli fimbriae interact with the antimicrobial peptide LL-37. PLoS Pathogens. 2010;6(7):e1001010.
10. Vareille M, De Sablet T, Hindré T, Martin C, Gobert AP. Nitric oxide inhibits Shiga-toxin synthesis by enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2007;104(24):10199-204.
11. Römling U. Genetic and phenotypic analysis of multicellular behavior in *Salmonella typhimurium*. Methods in Enzymology. 2001;336:48-59.
12. Sharma G, Sharma S, Sharma P, Chandola D, Dang S, Gupta S, et al. *Escherichia coli* biofilm: development and therapeutic strategies. Journal of Applied Microbiology. 2016;121(2):309-19.
13. Niranjan V, Malini A. Antimicrobial resistance pattern in *Escherichia coli* causing urinary tract infection among inpatients. The Indian Journal of Medical Research. 2014;139(6):945.
14. Hung C, Zhou Y, Pinkner JS, Dodson KW, Crowley JR, Heuser J, et al. *Escherichia coli* biofilms have an organized and complex extracellular matrix structure. MBio. 2013;4(5):e00645-13.
15. Oman KS, Makic MBF, Fink R, Schraeder N, Hulett T, Keech T, et al. Nurse-directed interventions to reduce catheter-associated urinary tract infections. American Journal of Infection Control. 2012;40(6):548-53.
16. Ito A, Taniuchi A, May T, Kawata K, Okabe S. Increased antibiotic resistance of *Escherichia coli* in mature biofilms. Applied and Environmental Microbiology. 2009;75(12):4093-100.

17. Justice SS, Hunstad DA, Seed PC, Hultgren SJ. Filamentation by *Escherichia coli* subverts innate defenses during urinary tract infection. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2006;103(52):19884-9.
18. Mulvey MA, Schilling JD, Hultgren SJ. Establishment of a persistent *Escherichia coli* reservoir during the acute phase of a bladder infection. Infection and Immunity. 2001;69(7):4572-9.
19. Schilling JD, Lorenz RG, Hultgren SJ. Effect of trimethoprim-sulfamethoxazole on recurrent bacteriuria and bacterial persistence in mice infected with uropathogenic *Escherichia coli*. Infection and Immunity. 2002;70(12):7042-9.
20. Ponnusamy P, Natarajan V, Sevanan M. In vitro biofilm formation by uropathogenic *Escherichia coli* and their antimicrobial susceptibility pattern. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 2012;5(3):210-3.
21. Tabasi M, Karam MRA, Habibi M, Yekaninejad MS, Bouzari S. Phenotypic assays to determine virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) isolates and their correlation with antibiotic resistance pattern. Osong Public Health and Research Perspectives. 2015;6(4):261-8.
22. Dusane D, Rajput J, Kumar A, Nancharaiah Y, Venugopalan V, Zinjarde S. Disruption of fungal and bacterial biofilms by lauroyl glucose. Letters in Applied Microbiology. 2008;47(5):374-9.
23. Tajbakhsh E, Ahmadi P, Abedpour-Dehkordi E, Arbab-Soleimani N, Khamesipour F. Biofilm formation, antimicrobial susceptibility, serogroups and virulence genes of uropathogenic *E. coli* isolated from clinical samples in Iran. Antimicrobial Resistance & Infection Control. 2016;5(1):11.
24. Solati SM, Tajbakhsh E, Khamesipour F, Gugnani HC. Prevalence of virulence genes of biofilm producing strains of *Staphylococcus epidermidis* isolated from clinical samples in Iran. AMB Express. 2015;5(1):47.