

بیوفیلیم باکتریایی

- 1- معین حمیدی، کارشناس ارشد میکروبیولوژی
- 2- معاد بنی طرفی، دانشجوی کارشناس ارشد بیوتکنولوژی میکروبی

در طبیعت باکتری‌ها به دو شکل پلانکتونیک و بیوفیلیم یافت می‌شوند (1). بیوفیلیم باکتریایی، تجمعات پیچیده باکتری‌ها هستند که در یک پوشش گلیکوکالیکس محصور شده و به سطوح مخاطی می‌چسبند (2). بیوفیلیم را می‌توان به‌عنوان استراتژی دانست که بعضی از میکروارگانیسم‌ها از آن استفاده می‌کنند تا بتوانند خود را از اثرات و نیروهای زیانباری که در محیط طبیعی و بدن میزبان است حفظ کرده و این‌گونه شانس بقای خود را افزایش دهند. زیست لایه توسط گروه‌های مختلفی از باکتری‌ها ساخته می‌شود و به علت مشکلاتی که به وجود می‌آورند در پزشکی و صنعت از اهمیت بالایی برخوردارند. بیوفیلیم‌ها در سال 1978 توسط کاسترتون در مورد باکتری‌ها شرح داده شدند. در بیوفیلیم‌های باکتریال، باکتری‌ها می‌توانند از اجتماع یک گونه واحد باکتریایی باشند یا می‌توانند اجتماعی از چند گونه متفاوت باشند (3,4). مهم‌ترین خاصیت متمایز بیوفیلیم‌ها تفاوت در رشد آن‌ها می‌باشد که سبب مقاومت دارویی و نیاز به درمان متفاوت و روش‌های متمایز شناسایی بیوفیلیم‌ها می‌گردد (5). بیوفیلیم‌ها مانند اسپور باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بوده (6) به طوری که برخی از محققین ادعا می‌کنند که مقاومت بیوفیلیم نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها هزار برابر پلانکتونیک است (7,8,9). بیوفیلیم‌ها با عوامل ضد باکتریایی مثل ضد عفونی‌کننده‌ها، حرارت، خشک کردن از بین نمی‌روند بر روی سطح باقی مانده و خصوصاً در بیمارستان‌ها سبب آلودگی و انتقال بیماری‌های عفونی می‌گردند (10) و به‌طور فیزیکی از باکتری‌ها در برابر سیستم ایمنی میزبان و آنتی‌بیوتیک‌ها محافظت می‌کند (11,13). این پدیده یکی از علل عود بیماری‌های عفونی است. باکتری‌های موجود در سطح بیوفیلیم توسط آنتی‌بیوتیک و سیستم ایمنی میزبان، نابود شده ولی باکتری موجود در عمق بیوفیلیم زنده می‌ماند (6). پس از قطع آنتی‌بیوتیک، باکتری‌های مقیم بیوفیلیم رشد و تکثیر پیدا نموده و بیماری عفونی برگشت دوباره‌ای خواهد داشت. از طرفی اگر سیستم ایمنی میزبان مشکل داشته باشد مقاومت دارویی و عود زودتر مشاهده می‌شود (13,6).

دلایل ایجاد بیوفیلیم:

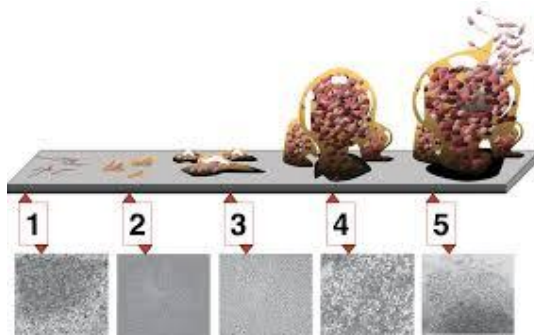
بیوفیلیم به سطوح چسبیده و در بین آن‌ها تقسیم کار صورت می‌گیرد. در واقع، قابلیت متابولیکی جامعه سلولی در سطح مطلوبی افزایش می‌یابد. کلونیزاسیون راحت‌تر صورت می‌گیرد و در برابر جریان خون و ادرار پابرجا مانده و باکتری‌های بیوفیلیم از دسترس سیستم ایمنی میزبان مانند فاگوسیتوز در امان می‌مانند. انتقال ژن راحت‌تر صورت می‌گیرد و به دنبال آن ژن‌های ویروانس تولید و غلظت بالایی از سم خارجی (اگزوتوکسین) ایجاد می‌شود. کوروم سنسینگ (Quorum Sensing) یک نوع ارتباط خاص بین باکتری‌ها است و به تشکیل بیوفیلیم باکتری‌ها کمک نموده و آن‌ها را در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها محافظت می‌کند (14,9).

- مراحل تشکیل بیوفیلیم

تشکیل بیوفیلیم 3 مرحله‌ی کلی دارد، 1- تشکیل 2- گسترش 3- پراکندگی

- 1- تشکیل: تشکیل بیوفیلیم با اتصال میکروارگانیسم‌های آزاد شناور به سطوح اتفاق می‌افتد.
- 2- گسترش: گسترش بیوفیلیم شامل 5 مرحله می‌باشد: الف) اتصال اولیه ب) اتصال برگشت‌ناپذیر ج) بلوغ د) پراکندگی.

3- پراکندگی: جدا شدن سلول‌ها از کلنی بیوفیلیم، یک مرحله‌ی ضروری از چرخه‌ی زندگی بیوفیلیم است که بیوفیلیم را قادر می‌سازد که سطوح جدید را کلنیزه کنند.



شکل مراحل تشکیل بیوفیلیم

مقاومت در بیوفیلیم باکتری‌ها:

- 1- محدودیت نفوذ عوامل میکروبی: پوشش پلی‌ساکاریدی همانند سد نفوذ بیوسایدها، آنتی‌بیوتیک‌ها و پپتیدهای ضد میکروبی را محدود می‌کند.
- 2- تغییرات فیزیولوژیکی و اثر آن بر میزان رشد و فعالیت متابولیکی: میزان دسترسی به مواد غذایی و اکسیژن موجب تراکم باکتریایی متفاوت در سرتاسر بیوفیلیم می‌شود. به طوری که باکتری‌های واقع در پیرامون بیوفیلیم دسترسی بهتری به مواد غذایی و اکسیژن نسبت به باکتری‌های واقع در عمق اجتماع بیوفیلیم دارند. تفاوت در میزان دسترسی به مواد غذایی و اکسیژن در بیوفیلیم موجب فعالیت متابولیکی متفاوت در میان باکتری‌ها می‌شود؛ زیرا بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها در ابتدا بیوفیلیم که فعال است اثر می‌گذارند.
- 3- فنوتیپ اختصاصی بیوفیلیم: باکتری‌ها پس از اتصال به سطح مورد نظر تحت تأثیر تغییرات فیزیولوژیکی، متابولیک و فنوتیپیک متعددی قرار می‌گیرند. ایجاد فنوتیپ اختصاصی بیوفیلیم می‌تواند منجر به فعال‌سازی مکانیسم‌هایی شود که برای ایجاد فعالیت نسبت به ضد میکروب‌ها ضروری می‌باشد (15).

هتروژنیته بیوفیلیمی: شیب‌های مواد غذایی، ترکیبات زائد و فاکتورهای سیگنال دهنده باعث این ناهمگنی درون بیوفیلیم می‌شوند. پیشرفت‌های اخیر تکنولوژی، امکان تصویرسازی هتروژنیته درون بیوفیلیم را به محققان داده است. به‌عنوان مثال رنگ‌آمیزی با *acridin orange* برای شناسایی نواحی بیوفیلیم که دارای سرعت رشد متفاوت هستند به کار می‌رود. اساس روش نسبت محتویات *RNA-DNA* می‌باشد. این متد در ابتدا روی کلنی‌های باکتریایی به کار گرفته شد. نواحی نارنجی (نسبت *RNA* بالا) به سرعت‌های بالای رشد مربوط بودند و نواحی سبز زرد (نسبت *RNA* پایین) سلول‌ها را با سرعت رشد آرام نشان می‌دادند. زمانی که این متد روی بیوفیلیم‌های 7 روزه آزمایش شد، رنگ نارنجی، سطوح مجاور محیط

را رنگ کرد و مرکز بیوفیلیم به رنگ سبز زرد درآمد. این هتروژنیتهی درون بیوفیلیم برای سنتز پروتئین‌ها و فعالیت‌های تنفسی وجود داشت درحالی که محتویات DNA درون بیوفیلیم نسبتاً ثابت بود.

روش‌های مبارزه با بیوفیلیم:

- 1) باکتروفاژها به‌عنوان روشی نوین برای مقابله با بیوفیلیم مورد استفاده قرار گرفتند (16، 17). فاژتراپی در گذشته مطرح بوده، بر استفاده از فاژهای لایتیک و مقابله با عفونت باکتریایی استوار می‌باشد.
- 2) استفاده از پوشش ضد باکتریایی روی وسایل پزشکی مانند کاتتر و آنژیوکت که به نام پوشش سطحی فعال معروف است. با این کار، از اتصال باکتری در اولین قدم جلوگیری می‌شود.
- 3) بیوالکتریک‌ها از تشکیل بیوفیلیم جلوگیری و از طرفی سبب افزایش فعالیت آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شوند. در این روش به همراه تجویز آنتی‌بیوتیک از جریان الکتریکی ضعیف $2 - 1/5$ ولتی استفاده می‌شود (18).
- 4) امواج اولتراسوند با فرکانس پایین (70 کیلوهرتز) سبب تسهیل انتقال آنتی‌بیوتیک‌ها به داخل بیوفیلیم می‌گردند. اولتراسوند احتمالاً باعث افزایش انتقال مواد غذایی و اکسیژن شده و در نتیجه رشد باکتری‌ها را افزایش می‌دهد و به همین دلیل آنتی‌بیوتیک‌ها مؤثرتر خواهند بود (19).
- 5) سیستم پلیمری: ذرات نانو پلی‌استر، هیدروژل، میسل‌ها و فیبرها ناقلین مؤثر داروها می‌باشند (22).
- 6) ترکیب درمانی: تعدادی از دانشمندان فعالیت هم‌افزایی و ترکیب درمانی را علیه بیوفیلیم سودوموناس ایروزینوزا پیشنهاد می‌کنند (20).
- 7) ان-استیل سیتوزین: ان-استیل سیتوزین ماده ضد باکتریایی غیر آنتی‌بیوتیکی است (9).
- 8) استفاده از عسل
- 9) شلاتورهای فلزات: مانند EDTA سبب لیز و افزایش حساسیت به عوامل ضد میکروبی در شکل پلانکتونیکی باکتری‌ها می‌شود (21).

مشکلات بیوفیلیم‌های باکتریایی: بیوفیلیم‌های باکتریایی قادرند گستره‌ی عظیمی از مشکلات را در محیط‌های صنعتی و پزشکی و غیره ایجاد کنند، در اینجا تعدادی از مشکلات به‌وجود آمده از بیوفیلیم باکتریایی مطرح می‌شود.

1. آسیب‌های ناشی از بیوفیلیم در صنعت: بیوفیلیم‌ها می‌توانند داخل لوله‌ها رشد و تکثیر یابند که سبب مسدود شدن و خراب شدن تدریجی وسایل و تجهیزات شوند.
2. آسیب‌ها در صنعت غذایی: بیوفیلیم‌ها باعث کاهش کیفیت شیر یا آلودگی در مواد غذایی می‌شوند.
3. تشکیل پلاک دندان
4. ایجاد بیماری عفونی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی

References

- 1) Lewis K. Riddle of biofilm resistance. *Antimicrob Agents and Chemother* 2001; 45(4): 999-1007.

- 2) Gilpin DF, Graham J, Elborn JS, Tunney MM. Biofilm foundation and antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolates cultured before and after antibiotic treatment of an acute exacerbation of pulmonary infection. *J Cyst Fibros* 2008; 7(2): S39.

- 3) Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P (February 2004). "Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases". *J Clin Invest* 2004; 114(2): 95-103. [doi:10.1038/nrmicro821](https://doi.org/10.1038/nrmicro821). [PMID 15040259](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15040259/).

- 4) Lear, G; Lewis, GD (editor) (2012). *Microbial Biofilms: Current Research and Applications*. انتشارات دانشگاهی کایستر. [ISBN 978-1-904455-96-7](https://www.isbn-international.org/product/978-1-904455-96-7).

- 5) Hoiby N, Bjarnsholt T, Givskov M, Molin S, Ciofu S. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *Intern J Antimicrob Agents* 2010; 35 322-32.

- 6) Stewart PS, Costerton JW, "Antibiotic resistance of bacteria in biofilms". *Lancet* 2001, 358, 135-8.

- 7) Mulcahy H, Charron-Mazenod L, Lewenza S. Extracellular DNA chelates cations and induces antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *PLoS Pathog* 2008; 4(11): e1000213.

- 8) Fricks-Lima J, Hendrickson CM, Allgaier M, Zhuo H, Wiener-Kronish JP, Lynch SV, et al. Differences in biofilm formation and antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from airways of mechanically ventilated patients and cystic fibrosis patients. *Intern J Antimicrob Agents* 2011; 37, 309-315.

- 9) Bjarnsholt T, Jensen PO, Fiandaca MJ, Pedersen J, Hansen CR, Andersen CB, *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients. *Pediatr Pulmonol* 2009; 44: 547-58.

- 10) Branda SS, Vik S, Friedman L, Kolter R. Biofilms: the matrix revisited. *Trends Microbiol* 2005; 13(1): 20-6.

- 11) Hoyle BD, Jass, Costerton JW. The biofilm

glycocalyx as a resistance factor. *J Antimicrob Chemother* 1990; 26: 1-5

12) Von Eiff C, Heilmann C, Peters G. New aspects in the molecular basis of polymer-associated infections due to staphylococci. *Eur J Clin Microbiol* 1999;

Infect Dis 18: 843-6.

13) Lewis K. Riddle of biofilm resistance. *Antimicrob*

Agents and Chemother 2001; 45(4): 999-1007.

14) Mulcahy H, Charron-Mazenod L, Lewenza S. Extracellular DNA chelates cations and induces antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*

Biofilms. *PLoS Pathog* 2008; 4(11): e1000213.

15) M. Whiteley, M.G. Bangera, R.E. Bumgarner, M.R. Parsek, G.M.

Aeruginosa biofilms, *nature*.2001:413:860 -865.

16) Azeredo J, Sutherland IW. The use of phages for the Removal of infectious biofilms. *Curr Pharm Biotechnol*

2008;9:261-6.

17) O'Toole G, Kaplan H, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Annu Rev Microbiol*

2000;54:49-79.

18) Costerton W, Ellis B, Lam K, Johnson F, Khoury AE. "Mechanism of electrical enhancement of efficacy of antibiotics in killing biofilm bacteria".

Antimicrob Agents Chemo 1994; 38: 2803-9.

19) Rediske AM, Roeder BL, Nelson JL, Robison RL, Schaalje GB, Robison RA. "Pulsed ultrasound enhances the killing of *Escherichia coli* biofilms by aminoglycoside antibiotics in vivo". *Antimicrob*

Agents Chemo 2000; 44: 771-2.

20) Abdi-Ali A, Mohammadi-Mehr M, Agha Alaei Y. Bactericidal activity of various antibiotics against biofilm-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J*

Antimicrob Agents 2006; 27: 196-200.

21) Turakhia MH, Cooksey KE, Characklis WG. Influence of calcium-specific chelant on biofilm

removal. *Appl Environ Microbiol* 1983; 46: 1236-8.

23) قوطاسلو، رضا؛ صلاحی اشلقی، بهناز؛ 1391. بیوفیلیم پseudوموناس/ایروژینوزا و روش های پیشگیری

و درمان های تازه آن. مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان. 12(9).